สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะพื้นเมืองของไทย

ในเขตกรุงเทพมหานครโดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์

Genetic Diversity of Thai Native Goats Raised in Bangkok

Using Microsatellite

โดย

รศ.ดร. กันยา ตันติวิสุทธิกุล

และ

ผศ. จันทร์พร เจ้าทรัพย์

RCH
SF
383.5
.T5
ก392ค

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 83867
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ย. 2551

ได้รับเงินสนับสนุนการวิจัยจากหมวดเงินรายได้

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ 2549

b.11985902

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย เรื่อง ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะพื้นเมืองของไทยในเขตกรุงเทพมหานคร โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์ นี้ ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการสนับสนุนงานวิจัยที่มุ่งเน้นผลิตนักวิจัยหน้าใหม่โดยใช้เงินรายได้ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ 2549 เป็นจำนวนเงิน 37,000 บาท (สามหมื่นเจ็ดพันบาทถ้วน) ได้บรรลุผลตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ โดยได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือจากบุคคลากรหลายฝ่าย เช่น เกษตรกรเจ้าของฟาร์มแพะ ได้แก่ คุณสมาน กามีฮา คุณปรีชา นาคะเบา คุณปรีชา นุสและ คุณสุรชัย นุดนาบี ผอ.สุเทพ พงศ์พิริยะพานิช คุณสมหวัง บำเพ็ญกลึง และคุณสมาน กรีสและ รวมถึงสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์หนองกวาง จังหวัดราชบุรี นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บเลือดแพะและสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ นางสาววราภรณ์ น้อยตั้ง นายฉัตรชัย ทองย้อย และนายพงศ์สันติ์ ทรงสีสด และนางสาวพร-พิมล บุญวงค์ นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้ได้ความช่วยเหลือดูแลนักศึกษารุ่นน้องในขณะปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ อาจารย์ทัศนีย์ ตรัยรัตน์-อภิวัน คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยมหานคร ที่ได้ช่วยวิเคราะห์ข้อมูลในเบื้องต้น คุณเจริญศรี วุฒฑกุล เจ้าหน้าที่บริหารภาควิชาครุศาสตร์เกษตร ที่ได้ช่วยจัดทำเอกสารเบิกจ่ายและยืมเงิน โครงการวิจัยเงินรายได้ คณะ ฯ รวมถึงบุคลากรฝ่ายงานนโยบายและแผนของคณะฯ และที่ขาดไม่ได้คือ อาจารย์ ดร.กัญญา จิระ-เจริญรัตน์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ซึ่งได้ให้ความอนุเคราะห์สารเคมีและเครื่องมือบางชิ้น จนทำให้งานวิจัยสำเร็จ เนื่องจากงบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนครั้งนี้ไม่เพียงพอ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคคลและหน่วยงานที่ได้กล่าวนามมาข้างต้น ที่ได้ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือจนโครงการวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้ คือ 1) สำรวจประชากรแพะที่ศึกษา 2) ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ทั้งภายในประชากรและระหว่างประชากรที่ศึกษา และ3) สร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของประชากรแพะที่ศึกษา โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดแพะพร้อมสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR จากนั้นใช้ไพเมอร์ทั้งหมด 5 โลคัส คือ INRA0023 HSC SRCRSP0024 OarFCB0020 และ SRCRSP0023 ตามคำแนะนำของ ISAG/FAO เพื่อศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของประชากรแพะ

ผลการวิจัยพบว่า ประชากรแพะในเขตกรุงเทพฯ ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีทั้งหมด 7 ประชากร โดยมาจากเขตประเวศ 3 ประชากร หนองจอก 3 ประชากร คลองสามวา 1 ประชากร และนอกเขตกรุงเทพฯ อีก 1 ประชากรซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่มาจากสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์หนองกวาง จังหวัดราชบุรี รวมทั้งสิ้น 28 ตัว

ในจำนวนไพเมอร์ที่นำมาใช้ในการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรม 5 โลคัสนั้น มีเพียง 3 โลคัสเท่านั้นที่ สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้พันธุกรรมในแพะที่เลี้ยงในประเทศได้ คือ INRA0023 HSC และOarFCB0020 ในด้านความผันแปรทางพันธุกรรมของประชากรที่ศึกษานั้น เมื่อทำการทดสอบความสมดุลย์ของประชากร (Hardy-Weinberg Equilibrium) พบว่า ประชากรส่วนใหญ่อยู่ในสมดุลย์ จำนวนอัลลิวที่สังเกตได้ของโลคัส INRA0023 จะมากที่สุด คือ 5.000 และพบในประชากรส่วนใหญ่ ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้เฉลี่ยของประชากรทั้ง 8 กลุ่ม ในโลคัส INRA0023 HSC และ OarFCB0020 เท่ากับ 0.689 0.619 และ 0.384 ตามลำดับ

แผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการถูกสร้างโดยใช้ระยะห่างทางพันธุกรรมของ Nei โดยใช้วิธี UPGMA ชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ประชากรที่ศึกษานั้น ถูกแยกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มประชากรในกรุงเทพมหานคร (กลุ่ม 1-7) และกลุ่มนอกกรุงเทพมหานคร (กลุ่ม 8) ประชากรภายในกรุงเทพมหานครนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย คือ ประชากรกลุ่มที่ 1 กับ 2 กลุ่มที่ 6 กับ 7 และกลุ่มที่ 3 4 กับ 5 มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Aims of this research were: 1) to study characteristic of goat population studied, 2) to study genetic variation within and between the populations using microsatellite markers, and 3) to create phylogenetic tree of the populations. Blood sample was collected and DNA was extracted. The DNA was amplified by using PCR technique. The five microsatellite markers, ISAG/FAO recommended, such as INRA0023, HSC, SRCRSP0024, OarFCB0020 and SRCRSP0023, were used to study the genetic variation.

The result showed that total of eight populations, 28 goats, were used as samples. Seven populations were from different districts of Bangkok, namely, Praveth, Nonjok and Klong Samwa (3, 3 and 1 populations, respectively). The other one was a control population from Ratchaburi Province.

Only three markers, INRA0023, HSC and OarFCB0020, could be used as genetic markers for the populations studied. For the genetic variation of the populations, the result was shown that most of the populations studied were in Hardy-Weinberg equilibrium. The highest observed alleles were found in the INRA0023 locus (5.000) in the most populations. Average heterozygosity of the populations in INRA0023, HSC and OarFCB0020 were 0.689, 0.619 and 0.384, respectively.

A phylogenetic tree was constructed based on Nei's genetic distance by UPGMA method. The dendrogram was clearly divided the populations into two groups; one consisting seven populations in Bangkok and the other was the population outside Bangkok. The populations within Bangkok could be divided into three subgroups; pop 1 and 2, pop 6 and 7, and pop 3, 4 and 5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ .... ก

บทคัดย่อภาษาไทย .... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... ค

สารบัญ .... ง

สารบัญตาราง .... จ

สารบัญภาพ .... ฉ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและความเป็นมา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 1

1.3 กรอบแนวความคิด 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

1.5 ระยะเวลาและสถานที่ในการทำวิจัย 2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 พันธุ์แพะ 4

2.2 ความหลากหลายทางชีวภาพ 7

2.3 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม 8

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะ 8

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 11

3.1 ขั้นตอนและวิธีการวิจัย 11

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล 17

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 19

4.1 ผลการสำรวจกลุ่มประชากรแพะ 19

4.2 ผลการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 20

4.3 ผลการศึกษาแผนผังการวิวัฒนาการของประชากรที่ศึกษา 26

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 28

บรรณานุกรม 30

ภาคผนวก ก 32

ภาคผนวก ข 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 ผลการทดสอบ Hardy-Weinberg equilibrium โดยวิธี Chi-square test และ Likelihood ratio test ในประชากรที่ศึกษาในแต่ละโลคัส 22

4.2 สรุปค่าความผันแปรทางพันธุกรรมของโลคัสทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา 23

4.3 สรุปค่าทางสถิติของเฮทเทอโรไซโกซิตี้ของโลคัสทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา....24

4.4 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (เหนือเส้นทแยงมุม) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรที่ศึกษา(ใต้เส้นทแยงมุม) โดยใช้ Nei (1972) 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า
4.1 ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพันธุกรรมในประชากรที่ศึกษา 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมา

แพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก มนุษย์ใช้แพะเป็นแหล่งอาหารโปรตีนประเภทเนื้อ และนม แพะสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เลี้ยงง่าย และมีเลี้ยงกันทั่วโลก เนื่องจากแพะเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง สมาพันธ์ยุโรปจึงได้จัดตั้งโครงการ ECONOGENE ซึ่งเป็นงานวิจัยเกี่ยวกับพันธุกรรมของสัตว์เศรษฐกิจ โดยมีโครงการเครือข่ายเพื่อวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพของแกะและแพะในยุโรป (http://lasig.epfl.ch/projets/econogene) ซึ่งส่งผลให้ประเทศอื่น ๆ หันมาสนใจความหลากหลายทางชีวภาพของทรัพยากรที่เป็นพืชและสัตว์เพื่อเป็นการอนุรักษ์และดำรงไว้ซึ่งพันธุกรรมเดิมของสัตว์มากขึ้น รวมถึงประเทศไทยด้วย

การเลี้ยงแพะในประเทศไทยนั้น มีมานานแล้ว พันธุ์แพะในประเทศจะมีทั้งแพะพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศโดยกรมปศุสัตว์ โดยส่วนใหญ่จะมีการเลี้ยงกันมากในภาคใต้ ภาคเหนือ และภาคกลาง โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีประชากรที่นับถือศาสนาอิสลามจะมีการเลี้ยงแพะกันมากเพื่อใช้ในพิธีการทางศาสนา

กรุงเทพมหานคร เป็นแหล่งหนึ่งที่มีการเลี้ยงแพะมากเช่นกันโดยเลี้ยงเป็นฝูง ๆ ละประมาณ 10-30 ตัว โดยเฉพาะในเขตลาดกระบัง หนองจอก มีนบุรี ประเวศ และสวนหลวง ซึ่งมีประชากรที่นับถือศาสนาอิสลามอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก จึงทำให้เกิดแนวคิดที่จะศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรแพะในกรุงเทพมหานคร กอปรกับห้องปฏิบัติการของภาควิชาครุศาสตร์เกษตรนั้น มีเครื่องมือและอุปกรณ์ส่วนหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับพันธุศาสตร์โมเลกุลสามารถรองรับงานวิจัยด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของสัตว์ได้ งานวิจัยเรื่องนี้จึงเกิดขึ้น โดยจะเน้นศึกษาประชากรแพะในเขตที่ใกล้เคียงกับสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ เขตลาดกระบัง หนองจอก มีนบุรี คลองสามวา และประเวศ ซึ่งงานวิจัยนี้จะสร้างองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับสัตว์พื้นเมืองชนิดนี้ในประเทศไทยและยังเป็นการเสริมสร้างองค์ความรู้ดังกล่าวในการเรียนการสอนวิชาที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ของภาควิชาครุศาสตร์เกษตรด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

งานวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ คือ

1. สำรวจประชากรแพะที่ศึกษา
2. ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ทั้งภายในประชากรและระหว่างประชากรที่ศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของประชากรแพะที่ศึกษา

1.3 กรอบแนวความคิด

แพะ เป็นสัตว์ที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีการเลี้ยงกันในประเทศมานานแล้ว เลี้ยงไว้เพื่อบริโภคเนื้อและน้ำนม โดยเลี้ยงกันมากในประชากรที่นับถือศาสนาอิสลาม ในต่างประเทศนั้น ได้จัดตั้งโครงการวิจัยเรื่องแพะ-แกะ จนมีเครือข่ายไปทั่วยุโรป (http://lasig.epfl.ch/projets/econogene/) เพื่อศึกษาพันธุ์แพะที่มีอยู่ในยุโรปด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพใหม่ ๆ แต่ในประเทศไทยนั้น การศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะในประเทศนั้นยังมีน้อย โดยเฉพาะแพะพื้นเมืองนั้น มีจำเป็นต้องทำการอนุรักษ์ไว้เพื่อดำรงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม ด้วยเหตุนี้ จึงเกิดแนวความคิดว่า ควรทำการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะพื้นเมืองของไทยบ้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในเขตกรุงเทพมหานครที่มีประชากรที่นับถือศาสนาอิสลามอาศัยอยู่ซึ่งมีการเลี้ยงแพะกันมาก คือ เขตลาดกระบัง หนองจอก มีนบุรี คลองสามวา และประเวศ กอปรกับห้องปฏิบัติการของภาควิชาครุศาสตร์เกษตรมีความพร้อมในส่วนของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่จะใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับหนึ่ง รวมถึงเป็นการสร้างองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับสัตว์พื้นเมืองชนิดนี้ในประเทศไทยและยังเป็นการเสริมสร้างองค์ความรู้ดังกล่าวในการเรียนการสอนวิชาที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ของภาควิชาครุศาสตร์เกษตรด้วย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป
2. บริการความรู้แก่ประชาชนหรือนักวิชาการที่สนใจ
3. เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต
4. เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรกลุ่มเลี้ยงแพะ
5. สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ให้มีความรู้เกี่ยวกับเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

เกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ กรมปศุสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม หน่วยงานวิชาการ / มหาวิทยาลัยที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงสัตว์เล็ก

1.5 ระยะเวลาและสถานที่ในการทำวิจัย

1. ระยะเวลาในการทำวิจัยครั้งนี้ ตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2548 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2549
2. สถานที่ในการทำวิจัย มี ดังนี้

1) สถานที่ทำการทดลองคือห้องปฏิบัติการเพิ่มผลผลิตทางด้านการเกษตร ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) สถานที่เก็บตัวอย่างเลือดแพะนั้น จะทำการสำรวจแหล่งเลี้ยงแพะในเขตลาดกระบัง หนองจอก คลองสามวา มีนบุรี ประเวศ และสวนหลวง จากนั้น ทำการติดต่อประสานงานระหว่างหน่วยงานของคณะ และเจ้าของฟาร์มแพะ เพื่อขอเข้าเก็บตัวอย่างเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พันธุ์แพะ

แพะ จัดอยู่ในสกุลแคพรา ซึ่งมีอยู่ 5 สปีชีส์ (species) คือ

1. *Capra ibex*: แพะไอเบกซ์ (ibex) เป็นแพะป่าที่มีเขาโค้งงอ

2. *Capra pyrenaic*: แพะป่าสเปน (spanish wild goat) หรือที่เรียกกันว่า สแปนิช ไอเบกซ์ (spanish ibex)

3. *Capra caucas* : แพะป่าเทอร์(Tur)

4. *Capra hircus*: แพะเบซอร์หรือแพะพาซัง (Bezoar or Pasang)

5. *Capra falconer* : แพะมาร์คอร์ (Markhor)

แพะใน 3 สปีชีส์แรก ได้แก่ แพะไอเบกซ์ แพะสแปนิชไอเบกซ์ และแพะป่าเทอร์นั้นไม่ใช่บรรพบุรุษของแพะบ้าน บรรพบุรุษของแพะบ้านซึ่งเป็นแพะที่เลี้ยงกันอยู่ในปัจจุบันคือแพะเบซอร์ ส่วนแพะมาร์คอร์นั้น อาจจะมีสายเลือดเข้ามาปะปนกับแพะบ้านอยู่บ้าง โดยเฉพาะแพะที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียกลาง เช่น แพะแองโกลาและแคชเมียร์ เป็นต้น (บุญเสริม ชีวะอิสระกุล, 2546)

การจำแนกพันธุ์แพะ โดยถือประโยชน์ใช้สอย สามารถที่จะแบ่งแพะออกได้เป็นพวกต่าง ๆ คือ แพะเนื้อ แพะกึ่งเนื้อกึ่งนม แพะกึ่งเนื้อกึ่งขน/หนัง และแพะนม (บุญเสริม ชีวะอิสระกุล, 2546)

1. พันธุ์แพะเนื้อพื้นเมืองของไทย ประกอบด้วย

1.1 แพะดอย ได้แก่ แพะพื้นเมืองที่เลี้ยงกันบนพื้นที่สูงของภาคเหนือ มีขนาดตัวเล็ก น้ำหนักโตเต็มที่ไม่เกิน 30 กิโลกรัม มีสีต่าง ๆ กัน เช่น สีน้ำตาลแดง สีดำ โดยมากตามแนวเส้นหลังลำตัวและใต้ท้องมักมีสีเข้ม หน้าตรง หูตั้ง มีเขาทั้งตัวผู้และตัวเมีย ให้ลูกดก มักคลอดลูกแฝด เต้านมและหัวนมมีขนาดเล็ก ขาสั้น เป็นแพะที่หากินเก่ง ทนต่อสภาพแวดล้อมดี

1.2 แพะเมืองหรือแพะพื้นราบภาคเหนือ เป็นแพะที่มีขนาดกลางอยู่ระหว่างแพะดอยกับแพะบังกาลา น้ำหนักโตเต็มที่ 38 - 40 กิโลกรัม มีหลายสีเหมือนแพะดอย บางตัวมีจุดขาวสลับสีน้ำตาลหรือดำ มีความสูงกว่าแพะดอย หูขนาดกลางค่อนข้างตูบ หน้าตรง มีลักษณะกลาง ๆ ระหว่างแพะดอยกับแพะบังกาลา เต้านม หัวนมมีขนาดต่างกันได้มาก บางตัวสามารถนำขึ้นรีดนมได้

1.3 แพะพื้นเมืองปักษ์ใต้ตามที่มีผู้รายงานไว้ น่าจะมีขนาดเล็กกว่าแพะทางภาคเหนือ แต่ลักษณะทั่วไปคล้ายแพะดอย โดยวินัย ประลมกาญจน์ (http://www.webhost.wu.ac.th/agri/Animal/Article/Goat01.htm) กล่าวว่า มีลักษณะภายนอกสีดำ น้ำตาล หรือน้ำตาลสลับดำ อาจมีสีขาวหรือเหลืองปนเข้ามาบ้าง มีเขา มีขนาดลำตัวไม่ใหญ่มาก มีลักษณะคล้ายแพะพันธุ์พื้นเมืองของประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาเลเซีย เมื่ออายุ 1 ปี ถ้าเลี้ยงภายใต้การเลี้ยงแบบชนบท จะมีน้ำหนักประมาณ 15 กิโลกรัม แต่ถ้ามีการจัดการด้านอาหารที่ดี จะมีน้ำหนักเพิ่มถึง 25-30 กิโลกรัม แพะพื้นเมืองภาคใต้ มีการเลี้ยงกันหนาแน่นใน 5 จังหวัด ได้แก่ สงขลา สตูล ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส นอกจาก 5 จังหวัดดังกล่าวแล้ว ยังพบว่า มีการเลี้ยงแพะกันมากในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์มากกว่า 50,000 ตัว โดยเฉพาะที่อำเภอปราณบุรี มีประมาณ 3,000 ตัว (กัมปนาท ขันตระกูล, 2548)

1.4 แพะบังกาลา หรือที่เรียกว่าแพะอินเดีย นำเข้ามาทางชายแดนพม่า มีขนาดใหญ่ตัวผู้โตเต็มที่มีน้ำหนักประมาณ 60 - 70 กิโลกรัม ขายาว หูใหญ่ตูบ ใบหน้าโค้ง มีหัวนมยาว มีทั้งที่มีเขาและไม่มีเขาและมีสีต่าง ๆ กัน เข้าใจว่าอาจเป็นแพะอินเดียหรือลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ

2. พันธุ์ต่างประเทศ พันธุ์แพะต่างประเทศที่มีการเลี้ยงในประเทศไทย (http://www.farmthai.com/animal/goat/pan.html) ได้แก่

2.1 แพะพันธุ์ซาเนน (Saanen) เป็นแพะที่ให้น้ำนม มีขนาดลำตัวใหญ่ ให้ผลผลิตนมสูงกว่าพันธุ์แพะนมอื่น ๆ กรมปศุสัตว์จึงได้นำเข้ามาเลี้ยงเพื่อปรับปรุงพันธุ์แพะนม ลักษณะเด่นโดยทั่วไปเป็นแพะขนสั้น มีทั้งขนสีขาว สีครีมหรือสีน้ำตาลอ่อน ๆ ดั้งจมูกและใบหน้ามีลักษณะตรง ใบหูเล็กและตั้งชี้ไปข้างหน้า เมื่อโตเต็มที่จะหนักประมาณ 60 กิโลกรัม สูงประมาณ 70-90 เซนติเมตร ให้น้ำนมประมาณวันละ 2 ลิตร ระยะเวลาการให้นมนานถึง 200 วัน ประเทศที่นิยมเลี้ยงแพะพันธุ์นี้ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ มาเลเซีย ฟิลิปปินส์และประเทศไทย ปัญหาในการเลี้ยงแพะพันธุ์ซาเนนในบ้านเราก็คือ การปรับตัวเข้ากับภูมิอากาศจะไม่ค่อยดีนัก หากเลี้ยงแพะพันธุ์นี้ไว้ในลักษณะขังคอกตลอดเวลา (ไม่ให้ตากแดด ตากลม ตากฝน) ก็จะทำให้ปัญหาเรื่องการเจ็บป่วยลดลงได้ ผลผลิตก็จะดีตามมา

2.2 แพะพันธุ์แองโกลนูเบียน (Anglo-Nubian) เป็นแพะนมขนาดใหญ่ มีหลายสี เช่น ดำ เทา ครีม น้ำตาล น้ำตาลแดง และมีจุดหรือด่างขนาดต่าง ๆ ดั้งจมูกมีลักษณะโด่งและงุ้ม ใบหูยาวและปรก โดยส่วนมากแพะพันธุ์นี้จะไม่มีเขา หากมีเขามักจะสั้นและเอนแนบติดกับหนังหัว ขนสั้นละเอียดเป็นมัน ช่วงขายาว(สูง) ทำให้เต้านมอยู่สูงกว่า ระดับพื้นมาก ช่วยให้เต้านมไม่ได้รับบาดเจ็บเนื่องจากหนามวัชพืชเกี่ยว และทำให้ง่ายต่อการรีดนม ให้ผลผลิตนมประมาณ 1.5 ลิตรต่อวัน ระยะเวลาให้น้ำนมประมาณ 165 วัน ด้วยข้อดีต่างๆ กรมปศุสัตว์จึงได้นำเข้ามาเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อปรับปรุงพันธุ์แพะพื้นเมืองในบ้านเราให้มีขนาดใหญ่และสูงขึ้น

2.3 อัลไพน์(Alpine) มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่เทือกเขาแอลพ์ ในประเทศสวิสเซอร์แลนด์และออสเตรีย เป็นแพะที่เลี้ยงกันมากที่สุดในทวีปยุโรป แต่ละประเทศได้มีการปรับปรุงแพะพันธุ์นี้ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในประเทศของตน จนเกิดเป็นแพะพันธุ์อัลไพน์สายต่าง ๆ เช่น สวิสอัลไพน์ เฟรนซ์อัลไพน์ อิตาเลียนอัลไพน์และบริทิซอัลไพน์ เป็นต้น แพะพันธุ์นี้มีขนาดปานกลาง เมื่อโตเต็มวัยจะมีความสูงที่หัวไหล่ 75 – 80 เซนติเมตร เพศผู้มีน้ำหนักประมาณ 65 กิโลกรัม ส่วนเพศเมียจะหนัก 60 กิโลกรัม แพะพันธุ์นี้ขนไม่ยาวมากนัก มีสีไม่ค่อยแน่นอนซึ่งมีตั้งแต่สี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดำจนถึงสีขาว ใบหูมีขนาดเล็กและตั้ง ลำคอยาว อาจจะมีเขาหรือไม่มีเขาก็ได้และมีจมูกตั้งตรง วัตถุประสงค์ของการเลี้ยงแพะพันธุ์นี้เพื่อการผลิตนมเป็นหลักและเนื้อเป็นรอง โดยเฉลี่ยสามารถผลิตน้ำนมได้ 0.9 – 1.3 กิโลกรัมต่อวัน มีไขมันนมร้อยละ 3.6

2.4 แพะพันธุ์ท๊อกเกนเบิร์ก (Toggenburg) มีถิ่นกำเนิดแถบเทือกเขาทอร์กเกนเบอร์กทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศสวิสเซอร์แลนด์ สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพอากาศได้หลายประเภท จึงมีการเลี้ยงในประเทศเขตร้อนหลายประเทศ และหมู่เกาะอินเดียตะวันตก แพะพันธุ์นี้เป็นแพะที่มีขนาดใหญ่กลาง เมื่อโตเต็มวัยจะมีความสูงที่หัวไหล่ 65 - 75 เซนติเมตร เพศผู้มีน้ำหนักประมาณ 65 กิโลกรัม ส่วนเพศเมียจะหนัก 50 กิโลกรัม มีขนสั้นและขนของเพศผู้จะยาวกว่าของเพศเมีย โดยทั่วไปจะมีสีน้ำตาล น้ำตาลแก่หรือสีเทาแกมเหลืองและมีสีขาวเป็นทางบริเวณใบหน้าจากเหนือตาทั้งสองข้างลงมาบรรจบกันที่เหนือจมูก นอกจากนี้จะมีสีขาวที่ขอบใบหู ตะโพก จากเข่าถึงข้อเท้าทั้งสี่และบางส่วนที่หาง ใบหูสั้นและชี้ไปข้างหน้า ส่วนใหญ่มีเขาทั้งเพศผู้และเมีย มีคอบางและยาว การเลี้ยงแพะพันธุ์นี้เพื่อการให้นมเป็นหลัก สามารถให้นมได้ประมาณวันละ 1 กิโลกรัมแต่อาจสูงกว่านี้ได้ขึ้นอยู่กับการดูแลเลี้ยงดู ซึ่งอาจให้น้ำนมสูงถึง 3 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน

2.5 แพะบัวร์หรือบอร์(Boer) กรมปศุสัตว์นำเข้ามาจากประเทศแอฟริกาใต้ เมื่อปี พ.ศ. 2539 เป็นแพะที่พบอยู่ทั่วไปในทวีปแอฟริกาใต้ บางครั้งเรียกว่าพันธุ์อัฟริกันเดอร์ (Africander) เนื่องจากแพะพันธุ์นี้มีลักษณะภายนอกที่แตกต่างกันจึงแบ่งแพะพันธุ์นี้เป็น 3 ประเภทคือ พันธุ์บอร์ทั่วไป พันธุ์บอร์ขนยาว และพันธุ์บอร์ที่ไม่มีเขา ในต่างประเทศได้มีการปรับปรุงแพะพันธุ์นี้ให้มีลักษณะของโครงกระดูกที่แข็งแรง กระดูกซี่โครงกางออกทำให้ลำตัวใหญ่และกว้างขึ้น มีลำตัวยาวและกล้ามเนื้อมาก ทำให้มีลักษณะเป็นแพะเนื้อ ลักษณะภายนอกของแพะพันธุ์นี้ส่วนใหญ่มีเขาจมูกโด่งและงุ้ม ใบหูยาวปรก ขนอาจมีขนาดตั้งแต่สั้นจนถึงยาวพอประมาณ ส่วนใหญ่แพะพันธุ์นี้มีสีขาวตลอดตัว ส่วนหัวและลำคอมีสีน้ำตาล ผลผลิตของแพะพันธุ์นี้สามารถให้ทั้งเนื้อ นม และหนังได้ดี เมื่อโตเต็มวัยเพศผู้มีน้ำหนักประมาณ 90 กิโลกรัม ส่วนเพศเมียหนักประมาณ 65 กิโลกรัม

สำหรับการเลี้ยงแพะในเขตกรุงเทพมหานครนั้น อัฒน์ ภูแจ้ง และอาณัติ อุ่นเรือน (2547) ทำการศึกษา การเลี้ยงแพะในฟาร์มขนาดกลางและขนาดใหญ่ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ได้รายงานว่า วัตถุประสงค์ในการเลี้ยงแพะของเกษตรกร จะเน้นเพื่อการผลิตน้ำนมมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 57.14 เนื่องจากมีความต้องการผลผลิตนมแพะเพื่อบริโภคและจำหน่าย จึงมีการเลี้ยงแพะนมเป็นจำนวนมาก รองลงมาคือ การให้เนื้อมีค่าร้อยละ 25 เพื่อบริโภคเองและจำหน่ายบางครั้งคราวส่วนวัตถุประสงค์ทั้งการให้เนื้อและนมมีค่าน้อยที่สุดคือ ร้อยละ 17.86 โดยแพะที่เลี้ยงนั้น ส่วนใหญ่เป็นแพะภายในท้องถิ่น ละแวกใกล้เคียงหรืออยู่ในเขตกรุงเทพมหานครคิดเป็นร้อยละ 68.18 นอกจากนี้อีกร้อยละ 31.82 เป็นแพะที่ซื้อมาจากต่างจังหวัดได้แก่ กาญจนบุรี ราชบุรี ลพบุรี ส่วนพันธุ์แพะที่เลี้ยงนั้น พบว่ามีการเลี้ยงแพะพันธุ์ซาเนนมากที่สุด (ร้อยละ 44.29) รองลงมาเป็น ลูกผสมซาเนน (ร้อยละ 18.18) พันธุ์แองโกลนูเบียน (ร้อยละ 10.36) ลูกผสมซาเนนและแองโกลนูเบียน (ร้อยละ 6.98) ลูกผสมแองโกล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นูเบียนและบอร์ (ร้อยละ 5.29) พันธุ์อัลไพน์ (ร้อยละ 3.70) ลูกผสมแองโกลนูเบียนผสมพื้นเมือง (ร้อยละ 2.54) พันธุ์พื้นเมือง (ร้อยละ 0.95) และพันธุ์ท๊อกเกนเบิร์ก (ร้อยละ 0.32)

2.2 ความหลากหลายทางชีวภาพ

ความหลากหลายทางชีวภาพตรงกับคำภาษาอังกฤษว่า Biodiversity นักชีววิทยากล่าวถึง ความหลากหลายทางชีวภาพใน 3 ระดับ ดังนี้ (http://swu.ac.th/royal/book2/)

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ได้แก่ ความหลากหลายขององค์ประกอบทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต ซึ่งแสดงออกด้วยลักษณะ ทางพันธุกรรมต่างๆ ที่ปรากฏให้เห็นโดยทั่วไปทั้งภายในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันและระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน ระดับความแตกต่างนี้เองที่ใช้กำหนดความใกล้ชิดหรือความห่างของสิ่งมีชีวิตในสายวิวัฒนาการ สิ่งมีชีวิตที่สืบทอดลูกหลานด้วยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศหรือ สิ่งมีชีวิตที่เป็นฝาแฝดเหมือน ย่อมมีองค์ประกอบพันธุกรรมเหมือนกันเกือบทั้งหมด เนื่องจากเปรียบเหมือนภาพพิมพ์ของกันและกันสิ่งมีชีวิตที่สืบทอดมาจากต้นตระกูลเดียวกัน ย่อมมีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม มากกว่าสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่ญาติกัน ยิ่งห่างก็ยิ่งต่างกันมากยิ่งขึ้น จนกลายเป็นสิ่งมีชีวิตต่างชนิดต่างกลุ่มหรือต่างอาณาจักรกัน ตามลำดับ นักชีววิทยามีเทคนิคการวัดความหลากหลายทางพันธุกรรมหลายวิธี แต่ทุกวิธีอาศัยความแตกต่างขององค์ประกอบทางพันธุกรรมเป็นดัชนีในการวัด หากสิ่งมีชีวิตชนิดใดมีองค์ประกอบทางพันธุกรรมเป็นแบบเดียวกันทั้งหมด ย่อมแสดงว่าสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นไม่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม

2. ความหลากหลายของชนิดหรือชนิดพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต (species diversity) ความหลากหลายแบบนี้วัดได้จากจำนวนชนิดของสิ่งมีชีวิต และจำนวนประชากรของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด รวมทั้งโครงสร้างอายุและเพศของประชากรด้วย

3. ความหลากหลายของระบบนิเวศ (ecological diversity) ระบบนิเวศแต่ละระบบเป็นแหล่งของถิ่นที่อยู่อาศัย (habitat) ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ซึ่งมีปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพที่เหมาะสมกับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดในระบบนิเวศนั้น สิ่งมีชีวิตบางชนิดมีวิวัฒนาการมาในทิศทางที่สามารถปรับตัวให้อยู่ได้ในระบบนิเวศที่หลากหลาย แต่บางชนิดก็อยู่ได้เพียงระบบนิเวศที่มีภาวะเฉพาะเจาะจงเท่านั้น ความหลากหลายของระบบนิเวศขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนประชากรของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศนั้น ๆ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดผ่านกระบวนการวิวัฒนาการในอดีต และมีขีดจำกัดที่จะดำรงอยู่ในภาวะความแปรปรวนของสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรของมันเองส่วนหนึ่ง และขึ้นอยู่กับความรุนแรงของความแปรปรวนของสิ่งแวดล้อมอีกส่วนหนึ่ง หากไม่มีทั้งความหลากหลายทางพันธุกรรมและความหลากหลายของระบบนิเวศ สิ่งมีชีวิตกลุ่มนั้นย่อมไร้ทางเลือกและหมดหนทางที่จะอยู่รอดเพื่อสืบทอดลูกหลานต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยการใช้เครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular markers) โดยเฉพาะการตรวจสอบระดับดีเอ็นเอนั้นมีหลายเทคนิค ที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นเทคนิคที่ได้นำมาใช้ในการศึกษาครั้งคือ การทำเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA markers) ซึ่งหมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่บนตำแหน่งหนึ่ง ๆ บนโครโมโซมหรือในออร์แกนเนลล์(mtDNA) การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้ เนื่องจากเกิดความแปรปรวนของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือเกิดโพลีมอร์ฟีซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนั่นเอง วิธีการตรวจสอบดีเอ็นเออาจทำได้โดยใช้วิธีไฮบริไดเซชันหรือวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์เป็นหลัก (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2545) ซึ่งมีหลายวิธีได้แก่ อาร์เอฟแอลพี (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) อาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) วีเอ็นทีอาร์ (Variable Number of Tandem Repeats, VNTRs) ซึ่งการทำเครื่องหมาย VNTRs มี 2 ชนิด คือ มินิแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ หรือการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ(DNA fingerprinting) และไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งเป็นวิธีการที่นำมาใช้กับการศึกษาครั้งนี้ โดยมีวิธีการโดยย่อ ดังนี้

การตรวจสอบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยไพเมอร์ที่ใช้ควรจะห่างจากบริเวณชุดซ้ำของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอน้อยที่สุด และควรจะมีขนาดและ GC content พอเพียง เพื่อให้ไพเมอร์เข้าไปจับกับดีเอ็นเอแม่พิมพ์ในตำแหน่งเดียวเท่านั้น (Scribner and Pearce, 2000) จากนั้นนำผลผลิตจากการทำพีซีอาร์มาแยกขนาดด้วยเทคนิคอิเล็คโตรโฟเรซีส ซึ่งเจลที่นิยมใช้โดยทั่วไปคือ โพลีอะคริลาไมด์เจล การตรวจสอบผลจะสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การใช้สารกัมมันตภาพรังสี และวิธีที่ปลอดสารกัมมันตภาพรังสี ซึ่งวิธีหลังนี้อาจทำโดยการย้อมเจลด้วยเอธิเดียมโบรไมด์หรือวิธี Silver-stain และการติดฉลากผลผลิตจากการทำพีซีอาร์ด้วยสารฟลูออเรสเซนท์ (Koreth *et al.* 1996)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะ

Li *et al.* (2002)ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรแพะพื้นเมืองของจีนจำนวน 12 ประชากรโดยการวิเคราะห์ด้วยไมโครแซทเทลไลท์ ตรวจสอบพันธุกรรมของประชากรแพะโดยใช้ เครื่องหมายที่แนะนำโดยโครงการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพของแกะ-แพะของสมาพันธ์ยุโรป (EU Sheep and Goat Biodiversity Project) จำนวน 17 เครื่องหมาย โดยทดสอบกับแพะจำนวนทั้งสิ้น 452 ตัว พบว่า ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้เฉลี่ยที่คาดหวังและที่ได้จากการสังเกตของประชากรอยู่ระหว่าง 0.611 – 0.784 และ 0.602-0.783 ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อทำแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ พบว่า ประชากรของแพะนั้น แตกต่างกันตามแหล่งภูมิประเทศและถิ่นกำเนิดและการอพยพข้ามประเทศจีน ซึ่งผลจากการวิจัยทำให้สามารถจัดกลุ่มประชากรของแพะในประเทศจีนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Joshi *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาแผนผังทางภูมิศาสตร์และถิ่นกำเนิดของแพะพื้นเมืองอินเดีย จำนวน 363 ตัวจาก 10 พันธุ์ ซึ่งแตกต่างกันทางด้านพันธุ์และถิ่นกำเนิดโดยการใช้ข้อมูลจากลำดับดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรีย (mtDNA sequence) ซึ่งพบว่า มีความแตกต่างของโครงสร้างทางพันธุกรรมของแพะพันธุ์ต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Sultana *et al.* (2003) ทำการศึกษาความหลากหลายของดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรีย (mtDNA) และของจีน cytochrome b ของแพะปากีสถาน(*Capra hircus*) จำนวน 13 พันธุ์ และแพะป่า 1 พันธุ์ (*Capra aegagrus blythi*) ได้วิเคราะห์และลำดับแผนผังวิวัฒนาการของแพะ ซึ่งพบว่า แบ่งออกเป็น 4 เส้นทาง ซึ่งหมายถึงแพะปากีสถานที่ทำการศึกษานั้น มี 4 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์แพะป่านั้น จะแตกต่างจากสายพันธุ์แพะบ้าน

Di Stasio (2001) ได้รายงานเกี่ยวกับไมโครแซทเทลไลท์ 18 โลไซที่นำมาใช้ในการศึกษาพันธุกรรมของแพะ คือ Multiplex 1 ได้แก่ SHC-ILST0019-INRA0005-INRA0063-MAF0065-SRCRSP005-SRCRSP008-SRCRSP0024 Multiplex 2 ได้แก่ CSRD0247-ILSTS0087-INRA0023-McM0527-OarFCB0020-SRCRSP0023 และเครื่องหมายอื่น ๆ ได้แก่ BM1258-BM1329-BM1818-INRA0132 เนื่องจากในงานวิจัยครั้งนี้ ได้เลือกเครื่องหมายดังกล่าวมาเพียง 5 โลคัส ซึ่งในแต่ละโลคัส มีลำดับของไพรเมอร์ เป็นดังนี้

Multiplex 1:

Locus	Primer sequences	Dye
HSC	CTG CCA ATG CAG AGA CAC AAG A	6 FAM
	GTC TGT CTC CTG TCT TGT CAT C	
SRCRSP0024	AGC AAG AAG TGT CCA CTG ACA G	6 FAM
	TCT AGG TCC ATC TGT GTT ATT GC	

Multiplex 2:

Locus	Primer sequences	Dye
INRA0023	GAG TAG AGC TAC AAG ATA AAC TTC	TET
	TAA CTA CAG GGT GTT AGA TGA ACT	
OarFCB0020	GGA AAA CCC CCA TAT ATA CCT ATA C	TET
	AAA TGT GTT TAA GAT TCC ATA CAT GTG	
SRCRSP0023	TGA ACG GGT AAA GAT GTG	6 FAM
	TGT TTT TAA TGG CTG AGT AG	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครแซทเทลไลท์แต่ละโลคัสที่ศึกษามีขนาดแตกต่างกัน ดังนี้

โลคัส	ขนาด
HSC	271-304
SRCRSP0024	139-175
INRA0023	197-215
OarFCB0020	093-117
SRCRSP0023	085-123

สำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะพื้นเมืองในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแพะที่เลี้ยงในเขตกรุงเทพมหานครนั้น เท่าที่ได้ทำการตรวจค้นเอกสารยังไม่พบว่าได้มีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนและวิธีการวิจัย

ในขั้นตอนและวิธีในการวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1. ขั้นตอนในภาคสนาม

1.1 สำรวจแหล่งที่มีการเลี้ยงแพะพื้นเมืองในเขตกรุงเทพฯ ได้แก่ เขตลาดกระบัง หนองจอก คลองสามวา มีนบุรี ประเวศ และสวนหลวง

1.2 ติดต่อกับเกษตรกรเพื่อขอซื้อตัวอย่างเลือดแพะ

1.3 ทำการเก็บเลือดแพะ โดยจัดเตรียมอุปกรณ์และสารเคมีดังต่อไปนี้

1.3.1 อุปกรณ์ในการเก็บเลือดแพะ

1. เข็มฉีดยา เบอร์ 18
2. Syringe ขนาด 5 มล.
3. Eppendorf tubes ขนาด 1.5 มล.
4. Micropipette ขนาดต่าง ๆ
5. ปากคีบ
6. สำลี
7. กล่องสำหรับเก็บตัวอย่างที่อยู่ใน Eppendorf tubes
8. กล่องใส่น้ำแข็ง

1.3.2 สารเคมีในการเก็บเลือดแพะ

1. EDTA 10%
2. แอลกอฮอล์ 70%.
3. น้ำกลั่นผ่านการ sterile

1.3.3 วิธีการ

เตรียม EDTA ให้เป็น EDTA พร้อมใช้ 10% โดยการนำ EDTA มาชั่งจำนวน 10 กรัม และนำมาละลายด้วยน้ำ sterile 90 ml หลังจากนั้นเอาไป Auto cave ที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนที่จะใช้ไมโครไปเปตต์ดูดสารไปใส่ใน Eppendorf tube 1.5 ml จำนวน 30 ไมโครลิตรก่อนนำไปเก็บเลือด

การเก็บเลือดจะต้องทำด้วยความสะอาดเพื่อไม่ให้มีการปนเปื้อนของเลือดตัวอย่างที่เก็บมาและเพื่อไม่ให้เกิดการติดเชื้อบริเวณแผลที่เราเจาะเลือดมาจากแพะ เราจะเก็บเลือดจากบริเวณเส้นเลือดดำใหญ่ (Jugular vein) ที่คอของแพะ โดยการใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดบริเวณคอที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตำแหน่งของเส้นเลือดก่อนที่จะใช้เข็มเบอร์ 18 เจาะดูดเอาเลือดออกมา ดูดเลือดออกมาประมาณ 4 มล. แบ่งใส่ Eppendorf tube 1.5 ml ที่มี EDTA อยู่จำนวน 3 หลอดต่อ 1 ตัวแพะและแช่ตัวอย่างที่เก็บได้ไว้ในกล่องใส่น้ำแข็ง

หมายเหตุ แพะที่นำมาใช้เป็นกลุ่มตัวอย่างนี้ จะต้องไม่มีความสัมพันธ์ทางเครือญาติกัน

2. ขั้นตอนในห้องปฏิบัติการ

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Li *et. al.*(1997) โดยมีอุปกรณ์และสารเคมีและวิธีการดังต่อไปนี้

2.1.1 อุปกรณ์ในการสกัดดีเอ็นเอจากเลือด

1. Pipette tip ที่ผ่านการ sterile
2. Micropipette ขนาดต่าง ๆ จำนวน 1 ชุด
3. เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge) ยี่ห้อ Hettich Zentrifugen
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Vortex) ยี่ห้อ Scientific Industries
5. Heating block ยี่ห้อ Stuart Scientific
6. Eppendorf tube ขนาด 1.5 มล. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
7. ที่วาง Eppendorf tube
8. กระดาษทิชชู่
9. บีกเกอร์
10. ขวดสำหรับการเก็บสารละลาย

2.1.2 สารเคมีในการสกัดดีเอ็นเอจากเลือด

1. Buffer A ประกอบด้วย 0.32 M Sucrose 10 mM Tris-HCl 5 mM $MgCl_2$
2. Buffer B ประกอบด้วย 20 mM Tris-HCl 4 mM Na_2 EDTA 100 mM NaCl
3. Proteinase K ปริมาตร 500 μl
4. 5.3 M NaCl ปริมาตร 200 มล.
5. Isopropanol ปริมาตร 200 มล.
6. 70% Ethanol ปริมาตร 500 มล.
7. 10%SDS (10% Sodium Dodecyl Sulfate) ปริมาตร 200 มล.
8. น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 500 มล.

2.1.3 วิธีการ ขั้นตอนในการสกัดดีเอ็นเอ มีดังนี้

1. การทำให้เซลล์แตก (Cell lysis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ไมโครไปเปตต์ ดูด Buffer A มา 150 µl ใส่ลงใน Eppendorf tube 1.5 ml และดูดเลือดแพะที่เราเก็บมาเอาตรงส่วนชั้นกลางระหว่างน้ำกับเม็ดเลือดแดงจะเป็นส่วนที่มีลักษณะออกสีขาวเพราะเป็นส่วนที่มีดีเอ็นเออยู่ดูดมา 150 µl ลงใน Eppendorf tube เดียวกัน หลังจากนั้นดูดน้ำกลั่น sterile 300 µl ใส่ลงไปใน Eppendorf tube invert (เขย่าขึ้นลงเบา ๆ) ประมาณ 3 นาที หลังจากนั้นปั่นด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge) ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที พอครบเอาออกจากเครื่องเทน้ำทิ้งจะเหลือตะกอนที่ติดอยู่ที่ก้นหลอดคว่ำทิ้งไว้ให้น้ำแห้งพอหมาด ให้ทำวิธีการเดิมซ้ำอีกครั้งจนสีแดงของเลือดจางลง

2. การย่อยโปรตีน

ละลายตะกอนด้วย Buffer B 300 µl และใส่ 10%SDS 30% ลงไป และเอาไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex 30 วินาที เติม Proteinase K 5 µl และนำไปใส่ลงในเครื่อง Heating block ที่อุณหภูมิ 65° ซ 5 นาที พอครบเติม 5.3 M NaCl 200 µl นำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex อีก 30 วินาที ปั่นด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง 13,000 เป็นเวลา 2 นาที พอครบ ใช้ไมโครไปเปตต์ ดูดน้ำส่วนใสใส่ไว้ใน Eppendorf tube หลอดใหม่ ส่วนตะกอนเอาทิ้งไป

3. การตกตะกอนดีเอ็นเอ

นำ Eppendorf tube ที่มีนำส่วนใสมาเติม Cole Isopropanol 500 µl Invert แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องไม่น้อยกว่า 5 นาที พอครบปั่นด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง 13,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที พอครบเทน้ำทิ้ง จะเห็นดีเอ็นเอติดอยู่ที่ก้นหลอด ขณะที่เทน้ำทิ้ง ให้เทเบา ๆ เพราะอาจทำให้ดีเอ็นเอหลุดมาด้วยพร้อมกับน้ำทิ้งได้ หลังจากนั้นคว่ำ Eppendorf tube ทิ้งไว้ให้น้ำในหลอดแห้ง

4. การล้างดีเอ็นเอ

เมื่อหลอดดีเอ็นเอแห้งแล้ว เติม 70% Ethanol 500 µl ทำการ invert แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที หลังจากนั้น เท 70% Ethanol ทิ้ง แล้วคว่ำ Eppendorf tube ให้ดีเอ็นเอแห้ง พอแห้งแล้ว ละลายดีเอ็นเอด้วยน้ำ sterile 50 µl ก่อนที่จะนำไปเก็บในตู้แช่แข็ง -20° ซ

2.2 การวัดความเข้มข้นดีเอ็นเอ

การวัดความเข้มข้นดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer เพื่อหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอก่อนที่จะทำ PCR (เมื่อวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอแล้ว จะสามารถหาปริมาณดีเอ็นเอที่จะใส่ในการทำ PCR ในแต่ละหลอด) อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการในการวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอ มีดังนี้

2.2.1 อุปกรณ์

1. Pipette tip
2. Micropipette ขนาด 1000 µl
3. กระดาษทิชชู่
4. ที่วางหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. บีกเกอร์

2.2.2 สารเคมี

1. ดีเอ็นเอที่เจือจาง

2. น้ำกลั่นที่ sterile แล้ว

2.2.3 วิธีการ

ก่อนที่จะนำดีเอ็นเอไปวัดความเข้มข้นนั้น ต้องทำการเจือจางดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นก่อน โดยมีวิธีทำให้เจือจางคือ ต้องทำให้ดีเอ็นเอและน้ำกลั่นมีปริมาตร 300 µl โดยใช้การเจือจาง 1:50 คือ ดีเอ็นเอ 1 µl ต่อน้ำกลั่น 50 µl จะเท่ากับดีเอ็นเอ 6 µl ผสมกับน้ำกลั่น 294 µl

ขั้นตอนการวัด คือ ต้องเปิดเครื่อง spectrometer เพื่ออุ่นเครื่องก่อนการใช้งานเป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นเซทเครื่องตามคู่มือ และดูดน้ำกลั่นใส่ในหลอด cuvette ของเครื่อง spectrophotometer เพื่อเป็นตัวมาตรฐาน หลังจากนั้น ก็เทน้ำทิ้ง แล้วดูดดีเอ็นเอใส่ cuvette จากนั้นใส่หลอด cuvette ลงในช่อง slid ในเครื่อง เครื่องจะอ่านค่าให้ เมื่ออ่านค่าเสร็จให้เท cuvette เพื่อทิ้งดีเอ็นเอ ล้าง cuvette ด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นก็ทำเหมือนเดิมแต่ใช้ดีเอ็นเอตัวใหม่ ทำจนหมดทุกตัวจดค่าเอาไว้ (ดีเอ็นเอที่จะนำมาทำ PCR จะต้องมีความเข้มข้นมากกว่า 50 µg/µl ขึ้นไปจึงจะทำ PCR ได้)

2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR amplification) ด้วยวิธีการของ Crawford *et. al.* (1995) โดยใช้ microsatellite markers จำนวน 5 loci (http://139.222.64.94) ซึ่งมีอุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการดังต่อไปนี้

2.3.1 อุปกรณ์

1. Pipette tip

2. PCR tube

3. Micropipette จำนวน 1 ชุด

4. เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge) ยี่ห้อ Hettich Zentrifugen

5. Vortex ยี่ห้อ Scientific Industries

6. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR machine) ยี่ห้อ.HYBAID

2.3.2 สารเคมี

1. sterilized H_2O

2. 10X buffer

3. 25 mM $MgCl_2$

4. 10 mM dNTP

5. Primers ประกอบด้วย 1) HSC F-R 2) SRCRSP0024 F-R
3) INRA0023 F-R 4) OarFCB0020 F-R 5) SRCRSP0023 F-R

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. 5U/ µl Tag polymerase

7. DNA

* จำนวนสารที่ใช้จะนำจำนวนหลอดดีเอ็นเอที่จะทำ PCR มาบวกหนึ่ง คูณด้วยจำนวนสารจะออกมาเป็นสารที่ใช้แต่ละตัว ส่วนดีเอ็นเอและ sterile H_2O จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ถ้าดีเอ็นเอเข้มข้นน้อย ต้องใส่ดีเอ็นเอปริมาณมากและเติมน้ำปริมาณน้อย ในทางกลับกันถ้าดีเอ็นเอมีความเข้มข้นมากให้ใส่ดีเอ็นเอน้อย (ไม่ต่ำกว่า 1 µl) เติมน้ำให้มาก เมื่อนำสารทุกตัวมารวมกันจะต้องมีจำนวน 15 µl

2.3.3 วิธีการ

ก่อนที่จะทำ PCR หากค่าดีเอ็นเอมีความเข้มข้นสูง ต้องคำนวณปรับค่าดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้นสูงนั้น ให้มีความเข้มข้นอยู่ที่ 200 µg/µl ก่อน โดยการนำมาเจือจางด้วยน้ำ sterile โดยใช้สูตร

$$m_1v_1 = m_2v_2$$

m_1 = ความเข้มข้นดีเอ็นเอ

v_1 = จำนวนดีเอ็นเอที่จะใช้เจือจาง

m_2 = ความเข้มข้นดีเอ็นเอที่ต้องการ (200 µg/µl)

v_2 = จำนวนดีเอ็นเอเมื่อเจือจางแล้ว

เมื่อได้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ต้องการแล้ว ก็จะมาทำ Marker โดยการคิดจากจำนวนหลอดดีเอ็นเอที่จะทำ PCR แล้วดูดใส่หลอดที่จะใช้เป็น Marker โดยดูดตามลำดับคือ sterile H_2O, 10X buffer, 25 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP, HSC F, HSC R, INRA0023F, INRA0023R, OarFCB0020F, OarFCB0020R, SRCRSP0023F, SRCRSP0023R, 5U/ µl Tag polymerase, DNA เมื่อทำ Marker เรียบร้อยแล้วก็จะนำมาแบ่งใส่ Tube PCR ตามจำนวนดีเอ็นเอที่จะทำ PCR เมื่อแบ่งเสร็จก็ใช้ไมโครไปเปตต์ดึงดีเอ็นเอมาใส่ Tube PCR ที่มี Marker อยู่ (ก่อนจะดึงดีเอ็นเอ ควรเอาดีเอ็นเอไปเขย่าด้วยเครื่อง Vortex ก่อน) เมื่อเติมดีเอ็นเอครบทุกหลอดก็นำ PCR tube ที่ทำเสร็จแล้วไปใส่ในเครื่อง PCR ซึ่งมีขั้นตอนในการทำงาน 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การแยกสายดีเอ็นเอ (Denaturation) เป็นการแยกสายดีเอ็นเอต้นแบบจากสภาพสายคู่ ให้เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวใช้ อุณหภูมิ 92 – 95° ซ

ขั้นตอนที่ 2 การเข้าจับของไพรเมอร์ (Annealing) เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลง ทำให้ดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ขนาด 15 – 25 นิวคลีโอไทด์ หรือไพรเมอร์ (primer) เข้าจับกับสายดีเอ็นเอต้นแบบ โดยลดอุณหภูมิให้ต่ำลงในระดับที่ใกล้เคียงกับ Melting temperature (TM) ของไพรเมอร์ใช้อุณหภูมิ 50 – 65 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 3 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ (Extension) เป็นการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากส่วนปลาย 5 ของไพรเมอร์ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสาย โดยอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์ DNA polymerase ใช้อุณหภูมิ 72 – 75 องศาเซลเซียส ผลจากการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ทำให้ได้ดีเอ็นเอสายใหม่ ที่มีลำดับเบสคู่ผสมกับสายดีเอ็นเอต้นแบบและมีไพรเมอร์เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย

เมื่อครบ 3 ขั้นตอน จะถือเป็น 1 รอบ เครื่อง PCR จะทำงาน วนประมาณ 30 – 35 รอบ จะได้ปริมาณดีเอ็นเพิ่มขึ้นเป็นล้านเท่า

เมื่อเครื่องหยุดทำงานให้นำ PCR tube ไปเก็บไว้ที่ตู้แช่เย็น -20° ซ เพื่อรอนำไปทำอิเล็กโทรโฟริซีสต่อไป

2.4 การแยกความแตกต่างของดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโทรโฟริซีส

การแยกความแตกต่างของดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโทรโฟริซีส มีอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดังต่อไปนี้

2.4.1 อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่
2. ช้อนตักสาร
3. กระบะเทเจล
4. เจลแชมเบอร์ ยี่ห้อ BIO-RAD
5. ขวดเก็บสารขนาด 1000 มล.
6. เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius
7. ไมโครเวฟ

2.4.2 สารเคมี

1. Ethidium bromide
2. Marker 100 basepairs
3. Agarose
4. TBE 1X Buffer (Tris - borate)

2.4.3 วิธีการ

อิเล็กโทรโฟริซีสจะเริ่มจากการประกอบกระบะเทเจลโดยกระบะเทเจลจะประกอบด้วยตัวกระบะแผ่นรองเจลและหวีเมื่อประกอบเสร็จก็จะมาเตรียมอะกาโรสเจลที่จะใช้ในการรันเจลคือจะชั่งอะกาโรส 2 กรัมใส่ในขวดรูปชมพู่และเติม TBE 1X Buffer ลงไป 200 ml ต้มให้เจลละลายจนใสด้วยไมโครเวฟ ทิ้งไว้เห็นเย็น แต่อย่าทิ้งไว้นานเพราะเจลจะแข็งเทไม่ได้ เมื่อเจลอุ่นลงให้เทเจลใส่ลงในกระบะเทเจลที่เตรียมไว้ เมื่อเทเจลเรียบร้อยแล้วรอให้เจลแห้งก็นำออกจากกระบะมาใส่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ยังเครื่องเจลแชมเบอร์พอใส่เรียบร้อยก็เท TBE 1X Buffer ลงไปให้ท่วมเจล จนหมดแต่อย่าให้ท่วมมาก หลังจากนั้นก็นำกระดาษพาราฟิล์มมาหยด Ethidium bromide ลงไป 2 μl โดยใช้ไมโครไปเปตต์ และนำดีเอ็นเอ 4 μl มา Mix รวมกัน นำดีเอ็นเอที่ Mix แล้วมาหยอดลงในหลุมโดยเว้นหลุมที่ 1 ไว้เพื่อหยอด Marker เมื่อหยอดดีเอ็นเอจนหมดทุกหลุมหมดแล้วก็จะหยอด Marker เป็นตัวสุดท้ายก็ปิดฝาเปิดเครื่องเจลแชมเบอร์โดยตั้งที่ไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 40 นาที จึงนำเจลที่ทำอิเล็กโทรโฟริซีสไปถ่ายภาพเพื่อดูผลที่ได้

สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ จะต้องใช้เจลขนาดใหญ่ จึงได้จ้างศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพวิทยาเขตกำแพงแสนทำการรันเจลให้ โดยการ load sample ลงบน 4.5 % Denaturing polyacrylamide gel จากนั้นทำ electrophoresis เพื่อแยกแถบ DNA และสุดท้ายย้อมแผ่นเจลด้วยวิธี Silver- staining (Promega Corporation, n.d. และ Sambrook and Russell, 2001) นำผลที่ได้ไปถ่ายภาพด้วย gel document

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การจัดเตรียมข้อมูล โดยทำการแปลงข้อมูลจากแถบ DNA ที่เกิดขึ้นบนเจลให้เป็น จีโนไทป์ที่เป็นโฮโมไซโกต หรือเฮตเทอโรไซโกต

2. คำนวณค่าต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรม POPGENE v. 1.32 (Yeh *et. al.* 1999) ดังนี้

2.1 ความถี่ของอัลลิว

คำนวณความถี่ของอัลลิลในแต่ละโลคัสของแต่ละประชากร โดยใช้สูตร

$$Xi = \frac{2Ho + He}{2N}$$

Xi = ความถี่ของอัลลิวที่ i

Ho = จำนวนตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบโฮโมไซโกต

He = จำนวนตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบเฮตเทอโรไซโกต

N = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

2.2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร

1. จำนวนอัลลิวเฉลี่ยต่อโลคัสในแต่ละประชากร (number of alleles per locus, N) คำนวณโดย

$$N = \frac{\text{จำนวนอัลลิวรวมทุกโลคัส}}{\text{จำนวนโลคัสทั้งหมดที่ศึกษา}}$$

2. ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ที่ได้จากการสังเกต (observed heterozygosity, Ho) คำนวณโดย

$$Ho = \frac{\text{จำนวนตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบเฮตเทอโรไซโกต}}{\text{จำนวนตัวอย่างทั้งหมด}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

83867

และคำนวณค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ที่ได้จากการสังเกตเฉลี่ยต่อโลคัส ($\overline{Ho}$) สำหรับแต่ละประชากร โดย

$$\overline{Ho} = \frac{\sum Ho}{\text{จำนวนโลคัสทั้งหมดที่ศึกษา}}$$

3. ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ที่ได้จากทฤษฎี (expected heterozygosity, He) ในแต่ละโลคัส ของแต่ละประชากร ตามสูตร Nei, 1978 คือ

$$He = 2n (1 - \sum X_i^2)/2n\text{-}1)$$

เมื่อ Xi = ความถี่ของอัลลีลที่ i

n = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

และคำนวณค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี้ที่ได้จากทฤษฎีเฉลี่ยต่อโลคัส ($\overline{He}$) ในแต่ละประชากร ตามสูตร

$$\overline{He} = \frac{\sum He}{\text{จำนวนโลคัสทั้งหมดที่ศึกษา}}$$

2.3 ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร

ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance, D) เป็นค่าที่แสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร ในการศึกษานี้ จะคำนวณค่า Nei 's genetic distance ตามสูตร Nei (1972) คือ

$$D = -\ln I$$

เมื่อ $I = Jxy/\sqrt{JxJy}$

โดย Jx = ค่าเฉลี่ยของ $\sum x_i^2$ ทุกโลคัส

Jy = ค่าเฉลี่ยของ $\sum y_i^2$ ทุกโลคัส

Jxy = ค่าเฉลี่ยของ $\sum x_i y_i$ ทุกโลคัส

เมื่อ xi = ความถี่ของอัลลีล i ในประชากร X

yi = ความถี่ของอัลลีล i ประชากร Y

3. สร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) โดยการนำข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรมมาสร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ(Dendrogram) Based Nei's (1972) Genetic distance: Method = UPGMA Modified from NEIGHBOR procedure of PHYLIP Version 3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการสำรวจกลุ่มประชากรแพะ

จากการติดต่อกับเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะในเขตกรุงเทพมหานครทั้งหมด 12 ราย ทั้งในเขตสวนหลวง ประเวศ หนองจอก มีนบุรี คลองสามวา และลาดกระบัง พบว่า มีเกษตรกรน้อยรายที่เลี้ยงแพะพื้นเมืองของไทย ส่วนใหญ่เลี้ยงแพะพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ และแพะพันธุ์บังกาลาที่จัดว่าเป็นแพะพื้นเมืองของไทย แต่พบว่า เกษตรกรที่ได้ทำการสำรวจนั้น ยินดีให้นักวิจัยเข้าทำการเก็บเลือดแพะมีทั้งหมด 7 ราย และกลุ่มควบคุมอีก 1 กลุ่ม รวม 28 ตัว ดังนี้

ประชากรกลุ่มที่ 1 จำนวน 4 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ คุณสมาน กามีฮา ที่อยู่เลขที่ 85/1 ม.8 ถ.จระเข้ขบ แขวงประเวศ เขตประเวศ (ถ.เฉลิมพระเกียรติ ซอย 66) โทรศัพท์ 02-328 8204 ซึ่งเป็นฟาร์มแพะและแกะเลี้ยงเพื่อเอาเนื้อ พันธุ์แพะที่เลี้ยงได้แก่ บังกาลา แองโกลนูเบียน พื้นเมือง และลูกผสม โรงเรือนที่ใช้เลี้ยง เป็นโรงเรือนเดียว ไม่ได้ยกพื้นสูง ภายในแบ่งออกเป็น มี 2 คอกใหญ่ ๆ แพะจะถูกเลี้ยงรวมกันเป็นฝูงส่วนใหญ่นำมาจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก

ประชากรกลุ่มที่ 2 จำนวน 4 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ คุณปรีชา นาคะเบา ที่อยู่ ซอยสุเหร่าใหม่ ถ.ผดุงพันธ์ เขตหนองจอก เป็นฟาร์มแพะนม ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ซาเนน โรงเรือนเป็นแบบยกพื้นสูง เป็นโรงเรือนเดียว แพะถูกขังเดี่ยวในแต่ละคอก

ประชากรกลุ่มที่ 3 จำนวน 4 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ คุณปรีชา นุสและ ตั้งอยู่เลขที่ 38/1 ม. 6 ซอยนุสและ ถนนประชาสโมสร แขวงทรายกองดินใต้ เขตคลองสามวา (โทรศัพท์: 081-617 9820) เป็นฟาร์มแพะนม ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ซาเนน ซึ่งซื้อพันธุ์แพะซาเนนโดยตรงจากต่างประเทศ เช่น จากจีน (หลาวซาน) นิวซีแลนด์ ออสเตรเลีย และจากกรมปศุสัตว์เอง (ปากช่อง) ลักษณะโรงเรือนเป็นแบบยกพื้นสูง เป็นโรงเรือน 2-3 โรง แพะถูกขังเดี่ยวในแต่ละคอก และมีคอกรวมสำหรับแพะที่มีขนาดเล็ก ฟาร์มแห่งนี้ นับว่าเป็นฟาร์มแพะนมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในกลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ยกเว้นประชากรกลุ่มที่ 8 ซึ่งเป็นฟาร์มของรัฐ

ประชากรกลุ่มที่ 4 จำนวน 2 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ คุณสุรชัย นุดนาบี แขวงลำผักชี เขตหนองจอก กทม. เป็นฟาร์มขนาดเล็ก โรงเรือนกั้นเป็นคอก แพะที่เลี้ยงเป็นแพะนม มีพันธุ์ซาเนน และลูกผสม

ประชากรกลุ่มที่ 5 จำนวน 3 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ ผอ.สุเทพ พงศ์พิริยะพานิช อยู่ใกล้กับฟาร์มของคุณสุรชัย นุดนาบี เป็นฟาร์มแพะนม มีหลายพันธุ์ ได้แก่ ซาเนน ท็อกเก่นเบิร์ก และลูกผสม ลักษณะโรงเรือน เป็นโรงเรือนเดียว แพะถูกขังเดี่ยวในแต่ละคอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประชากรกลุ่มที่ 6 จำนวน 4 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ คุณสมหวัง บำเพ็ญกลึง ตั้งอยู่ในแขวงดอกไม้ เขตประเวศ แพะที่เลี้ยงเป็นแพะเลี้ยงเพื่อเอาเนื้อและนม พันธุ์แพะที่เลี้ยง ได้แก่ บังกาลา แองโกลนูเบี่ยน อัลไพน์ และลูกผสม ลักษณะโรงเรือน เป็นโรงเรือนเดียว ดังแปลงมาจากโรงเรือนเลี้ยงไก่ ภายในโรงเรือนมีทั้งคอกที่ขังเดี่ยว (ส่วนใหญ่เป็นพ่อพันธุ์) และคอกขังรวม เป็นโรงเรือนที่ตั้งอยู่บนบ่อน้ำ โดยด้านล่างจะเลี้ยงปลา

ประชากรกลุ่มที่ 7 จำนวน 4 ตัว เป็นแพะของเกษตรกรชื่อ คุณสมาน กรีสและ ตั้งอยู่ในแขวงดอกไม้ เขตประเวศ ใกล้กับฟาร์มของคุณสมหวัง บำเพ็ญกลึง เป็นฟาร์มแพะนม พันธุ์ที่เลี้ยงได้แก่ ท็อกเก่นเบิร์ก ซาเนน แองโกลนูเบี่ยน และลูกผสม

ประชากรกลุ่มที่ 8 จำนวน 3 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม จากสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์หนองกวาง จ.ราชบุรี แพะที่เลี้ยงเป็นพันธุ์บอร์ ซาเนน แองโกลนูเบียน และลูกผสม

ภาพแพะที่นำมาเป็นตัวอย่างในการวิจัยครั้งนี้ สามารถดูได้จากภาคผนวก ก

4.2 ผลการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

จากการใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ทั้งหมด 5 โลคัส คือ INRA0023 HSC SRCRSP0024 OarFCB0020 และ SRCRSP0023 พบว่า สามารถพบโพลีมอร์ฟิคเพียง 3 โลคัส คือ HSC INRA0023 และ OarFCB0020 ส่วน SRCRSP0024 และ SRCRSP0023 นั้น ไม่พบโพลีมอร์ฟิค (ภาคผนวก ข) โดยพบโพลีมอร์ฟิคของHSC อยู่ระหว่าง 274 ถึง 300 bp ของ INRA0023 อยู่ระหว่าง 197 ถึง 225 bp และของ OarFCB0020 อยู่ระหว่าง 99 ถึง 117 bp

ผลการศึกษา Hardy-Weinberg equilibrium ในแต่ละโลคัสของประชากรที่ศึกษา โดยใช้ Chi-square test และ Likelihood ratio test ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 ซึ่งจะเห็นว่า ประชากรในแต่ละโลคัสส่วนใหญ่จะเข้าสู่ Hardy-Weinberg equilibrium ยกเว้น ประชากรกลุ่มที่ 1 ตรงโลคัส HSC และ OarFCB0020 ส่วนในประชากรกลุ่มที่ 7 ตรงโลคัส OarFCB0020 นั้น ไม่สามารถทดสอบ Hardy-Weinberg equilibrium ได้เนื่องจาก โพลีมอร์ฟิคที่ได้เป็นโมโนโพลีมอร์ฟิค จึงทำให้สรุปได้ว่า จำนวนพอลีมอร์ฟิคโลไซที่พบในกลุ่มประชากรที่ศึกษาส่วนใหญ่จะเท่ากับ 3 ยกเว้นในประชากรกลุ่มที่ 7 ซึ่งพบเพียง 2 โลไซ เท่านั้น

ส่วนค่าความผันแปรทางพันธุกรรมของโลคัสทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา ได้สรุปไว้ในตารางที่ 4.2 จะเห็นว่า จำนวนอัลลิวที่สังเกตได้ของโลคัส INRA0023 จะมากที่สุดในประชากรกลุ่มที่ 1 2 3 5 7 และ 8 ในโลคัส HSC จำนวนอัลลิวดังกล่าวจะพบมากที่สุดในประชากรกลุ่มที่ 4 ส่วนประชากรกลุ่มที่ 6 นั้น จำนวนอัลลิวที่สังเกตได้จะเท่ากับในโลคัส INTA2003 คือ 4.000 เป็นที่น่าสังเกตว่า จำนวนอัลลิวที่สังเกตได้บนโลคัส OarFCB0020 มีจำนวนน้อยที่สุด ยกเว้นในประชากรกลุ่มที่ 2 ซึ่งเท่ากับ HSC คือ 3.000 และกลุ่มที่ 8 ซึ่งเท่ากับ INRA0023 คือ 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้ของโลคัสทั้งหมดในประชากรที่ศึกษาทั้งที่คำนวณโดยใช้วิธีของ Levene (1949) และวิธีของ Nei (1973) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่า ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้ที่คาดหวังที่คำนวณโดยวิธีของ Levene (1949) นั้น สูงกว่าที่คำนวณโดยวิธีของ Nei (1973) อย่างไรก็ตาม ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้เฉลี่ยของประชากรทั้ง 8 กลุ่ม ในโลคัส INRA0023 HSC และ OarFCB0020 เท่ากับ 0.689 0.619 และ 0.384 ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเฮทเทอโรไซโกซิตี้ของทุกโลคัสในทุกกลุ่มประชากรที่ศึกษา เท่ากับ 0.564 $\pm$0.160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบ Hardy-Weinberg equilibrium โดยวิธี Chi-square test และ Likelihood ratio test ในประชากรที่ศึกษาในแต่ละโลคัส

	ประชากรกลุ่มที่ 1			ประชากรกลุ่มที่ 2			ประชากรกลุ่มที่ 3			ประชากรกลุ่มที่ 4		
	INRA0023	HSC	OarFCB0020	INRA0023	HSC	OarFCB0020	INRA0023	HSC	OarFCB0020	INRA0023	HSC	OarFCB0020
Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium												
Chi-square	10.000	14.667	3.000	17.000	3.778	3.778	7.667	3.778	0.000	4.000	4.000	0.000
df	10	3	1	10	3	3	6	3	1	3	6	1
Probability	0.440	0.002	0.083	0.074	0.286	0.286	0.264	0.286	1.000	0.261	0.677	1.000
Likelihood ratio test for Hardy-Weinberg equilibrium												
G-square	8.400243	11.172	4.477	12.795	4.581	4.581	8.40	4.581	0.000	4.394	4.394	0.000
df	10	3	1	10	3	3	6	3	1	3	6	1
Probability	0.590	0.011	0.034	0.235	0.205	0.205	0.210	0.205	1.000	0.222	0.623	1.000
	ประชากรกลุ่มที่ 5			ประชากรกลุ่มที่ 6			ประชากรกลุ่มที่ 7			ประชากรกลุ่มที่ 8		
Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium												
Chi-square:	7.000	2.000	0.000	10.000	5.333	0.000	7.200	5.333	-	2.000	0.000	5.333
df	10	3	1	6	6	1	6	3	-	3	1	3
Probability:	0.725	0.572	1.000	0.125	0.502	1.000	0.303	0.149	-	0.572	1.000	0.149
Likelihood ratio test for Hardy-Weinberg equilibrium												
G-square :	6.884	2.490	0.000	8.976	5.262	0.000	5.911	5.262	-	2.490	0.000	5.262
Df	10	3	1	6	6	1	6	3	-	3	1	3
Probability	0.736	0.477	1.000	0.175	0.511	1.000	0.433	0.154	-	0.477	1.000	0.154

\- Monomorphic locus

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 สรุปค่าความผันแปรทางพันธุกรรมของโลคัสทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา

ประชากร	โลคัส	ขนาดตัวอย่าง	na*	ne*
กลุ่มที่ 1	INRA0023	8	5.000	4.000
	HSC	8	3.000	2.667
	OarFCB0020	8	2.000	2.000
	Mean	8	3.333	2.889
	St. Dev		1.528	1.018
กลุ่มที่ 2	INRA0023	8	5.000	4.571
	HSC	8	3.000	2.909
	OarFCB0020	8	3.000	2.909
	Mean	8	3.667	3.463
	St. Dev		1.155	0.960
กลุ่มที่ 3	INRA0023	8	4.000	3.556
	HSC	8	3.000	2.909
	OarFCB0020	4	2.000	1.600
	Mean	7	3.000	2.688
	St. Dev		1.000	0.996
กลุ่มที่ 4	INRA0023	4	3.000	2.667
	HSC	4	4.000	4.000
	OarFCB0020	4	2.000	1.600
	Mean	4	3.000	2.756
	St. Dev		1.000	1.202
กลุ่มที่ 5	INRA0023	6	5.000	4.500
	HSC	6	3.000	2.571
	OarFCB0020	6	2.000	1.385
	Mean	6	3.333	2.819
	St. Dev		1.528	1.572
กลุ่มที่ 6	INRA0023	8	4.000	3.200
	HSC	6	4.000	3.000
	OarFCB0020	6	2.000	1.385
	Mean	7	3.333	2.528
	St. Dev		1.155	0.995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ประชากร	โลคัส	ขนาดตัวอย่าง	na*	ne*
กลุ่มที่ 7	INRA0023	8	4.000	2.286
	HSC	6	3.000	2.571
	OarFCB0020	6	1.000	1.000
	Mean	7	2.667	1.952
	St. Dev		1.528	0.837
กลุ่มที่ 8	INRA0023	6	3.000	2.571
	HSC	4	2.000	1.600
	OarFCB0020	6	3.000	2.571
	Mean	5	2.667	2.248
	St. Dev		0.577	0.561

* na = Observed number of alleles

* ne = Effective number of alleles ตาม Kimura and Crow (1964)

ตารางที่ 4.3 สรุปค่าทางสถิติของเฮทเทอโรไซโกซิตี้ของโลคัสทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา

โลคัส	ขนาดตัวอย่าง	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
ประชากรกลุ่มที่ 1							
INRA0023	8	0.250	0.750	0.143	0.857	0.750	0.689
HSC	8	1.000	0.000	0.286	0.714	0.625	0.619
OarFCB0020	8	0.000	1.000	0.429	0.571	0.500	0.384
Mean	8	0.417	0.583	0.286	0.714	0.625	0.564
St. Dev		0.520	0.520	0.143	0.143	0.125	0.160
ประชากรกลุ่มที่ 2							
INRA0023	8	0.250	0.750	0.107	0.893	0.781	0.689
HSC	8	0.250	0.750	0.250	0.750	0.656	0.619
OarFCB0020	8	0.250	0.750	0.250	0.750	0.656	0.384
Mean	8	0.250	0.750	0.202	0.798	0.698	0.564
St. Dev		0.000	0.000	0.082	0.082	0.072	0.160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

โลคัส	ขนาดตัวอย่าง	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
ประชากรกลุ่มที่ 3							
INRA0023	8	0.250	0.750	0.179	0.821	0.719	0.689
HSC	8	0.250	0.750	0.250	0.750	0.656	0.619
OarFCB0020	4	0.500	0.500	0.500	0.500	0.375	0.384
Mean	7	0.333	0.667	0.310	0.690	0.583	0.564
St. Dev		0.144	0.144	0.169	0.169	0.183	0.160
ประชากรกลุ่มที่ 4							
INRA0023	4	0.500	0.500	0.167	0.833	0.625	0.689
HSC	4	0.000	1.000	0.000	1.000	0.750	0.619
OarFCB0020	4	0.500	0.500	0.500	0.500	0.375	0.384
Mean	4	0.333	0.667	0.222	0.778	0.583	0.564
St. Dev		0.289	0.289	0.255	0.255	0.191	0.160
ประชากรกลุ่มที่ 5							
INRA0023	6	0.000	1.000	0.067	0.933	0.778	0.689
HSC	6	0.333	0.667	0.267	0.733	0.611	0.619
OarFCB0020	6	0.667	0.333	0.667	0.333	0.278	0.384
Mean	6	0.333	0.667	0.333	0.667	0.556	0.564
St. Dev		0.333	0.333	0.306	0.306	0.255	0.160
ประชากรกลุ่มที่ 6							
INRA0023	8	0.000	1.000	0.214	0.786	0.688	0.689
HSC	6	0.333	0.667	0.200	0.800	0.667	0.619
OarFCB0020	6	0.667	0.333	0.667	0.333	0.278	0.384
Mean	7	0.333	0.667	0.360	0.640	0.544	0.564
St. Dev		0.333	0.333	0.265	0.265	0.231	0.160
ประชากรกลุ่มที่ 7							
INRA0023	8	0.500	0.500	0.357	0.643	0.563	0.689
HSC	6	0.667	0.333	0.267	0.733	0.611	0.619
OarFCB0020	6	1.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.384
Mean	7	0.722	0.278	0.541	0.459	0.391	0.564
St. Dev		0.255	0.255	0.400	0.400	0.340	0.160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

โลคัส	ขนาดตัวอย่าง	Obs_Hom	Obs_Het	Exp_Hom*	Exp_Het*	Nei**	Ave_Het
ประชากรกลุ่มที่ 8							
INRA0023	6	0.333	0.667	0.267	0.733	0.611	0.689
HSC	4	0.500	0.500	0.500	0.500	0.375	0.619
OarFCB0020	6	0.667	0.333	0.267	0.733	0.611	0.384
Mean	5	0.500	0.500	0.344	0.656	0.532	0.564
St. Dev		0.167	0.167	0.135	0.135	0.136	0.160

Obs_Hom = Observed Homozygosity, Obs_Het = Observed Heterozygosity,

Ave_Het= Average Heterozygosity

*Expected homozygosty and heterozygosity were computed using Levene (1949)

** Nei's (1973) expected heterozygosity

4.3 ผลการศึกษาแผนผังการวิวัฒนาการของประชากรที่ศึกษา

จากการศึกษาความเหมือนและระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรที่ศึกษา (ตารางที่ 4.4) พบว่า หากเปรียบเทียบประชากรที่อยู่ในเขตกรุงเทพมหานครแล้ว จะเห็นว่า แพะในกลุ่มที่ 6 และ 7 จะมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมมากที่สุด คือ 0.9358 ส่วนในกลุ่มที่ 1 และ 5 จะมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมน้อยที่สุด คือเท่ากับ 0.5784

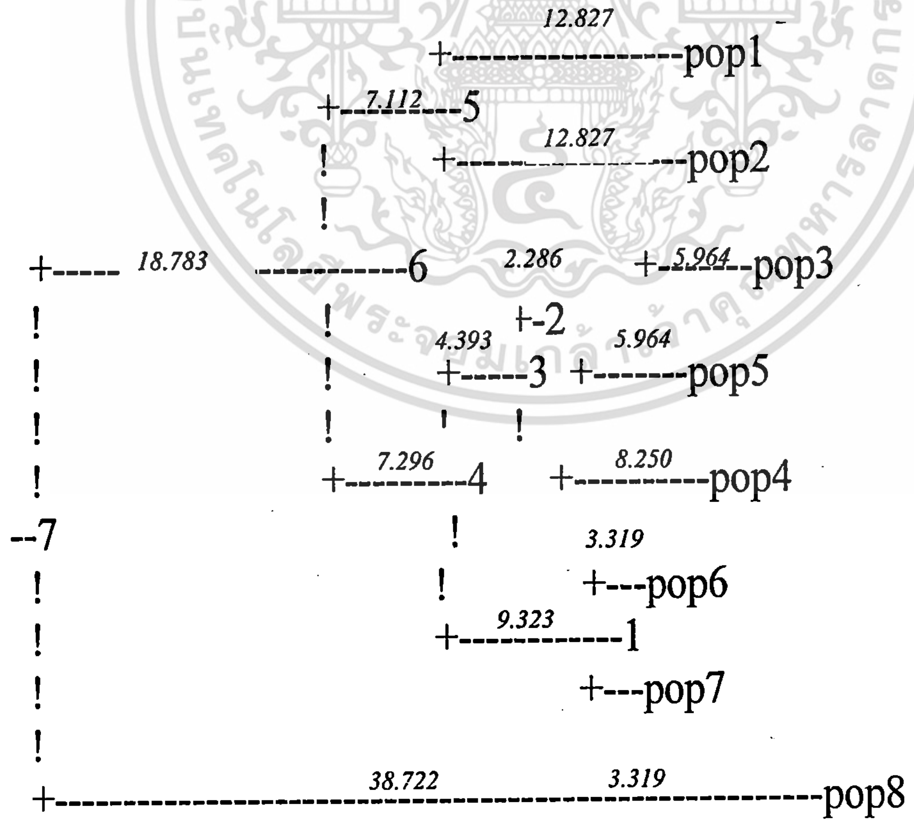
ตารางที่ 4.4 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (เหนือเส้นทแยงมุม) และค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของประชากรที่ศึกษา(ใต้เส้นทแยงมุม) โดยใช้ Nei (1972)

pop ID	1	2	3	4	5	6	7	8
1	****	0.7737	0.7642	0.6588	0.5784	0.7599	0.7013	0.5970
2	0.2565	****	0.6900	0.7047	0.6633	0.6268	0.5911	0.3695
3	0.2689	0.3711	****	0.8250	0.8876	0.7966	0.8066	0.5428
4	0.4173	0.3500	0.1924	****	0.8714	0.7089	0.7239	0.5035
5	0.5476	0.4105	0.1193	0.1376	****	0.8124	0.8188	0.4570
6	0.2746	0.4671	0.2274	0.3440	0.2078	****	0.9358	0.4111
7	0.3549	0.5258	0.2149	0.3231	0.1999	0.0664	****	0.3905
8	0.5158	0.9955	0.6110	0.6863	0.7831	0.8890	0.9404	****

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม เป็นที่สังเกตว่า หากเปรียบเทียบแพะในกลุ่ม 1-7 กับแพะในกลุ่มที่ 8 แล้ว จะพบว่า มีความเหมือนกันทางพันธุกรรมน้อยกว่าในกลุ่มเดียวกัน (1-7) ยกเว้น กลุ่มที่ 1 ซึ่งมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมเกือบ 60 เปอร์เซ็นต์ (0.5970) และกลุ่มที่ 8 มีระยะห่างทางพันธุกรรมจากกลุ่มที่ 1-7 โดยห่างจากกลุ่มที่ 2 มากที่สุด ถึง 99.55 เปอร์เซ็นต์ (0.9955)

เมื่อนำค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมาทำการวิเคราะห์ เพื่อสร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) จะได้ดังภาพที่ 4.1 พบว่า ระยะห่างทางพันธุกรรมสามารถแยกออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1-7 และ 8 อย่างชัดเจน เนื่องจากกลุ่มที่ 1-7 เป็นแพะที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คืออยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร ส่วนกลุ่มที่ 8 เป็นกลุ่มควบคุม (นอกเขตกรุงเทพมหานคร) จะเห็นว่าภายในกลุ่มประชากรที่ 1 และ 2 มีความใกล้ชิดกันมาก เช่นเดียวกับประชากรกลุ่มที่ 6 และ 7 ซึ่งข้อมูลจากการสัมภาษณ์เกษตรกรเจ้าของแพะ พบว่า เกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 1 ได้แนะนำคณะวิจัยให้ไปเก็บข้อมูลจากเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 2 ซึ่งได้มีการซื้อขายแพะซึ่งกันและกัน เช่นเดียวกับเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 6 และ 7 ซึ่งมีฟาร์มอยู่ใกล้เคียงกัน มีการซื้อขาย แลกเปลี่ยนแพะกัน ส่วนเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 3 นอกจากจะอยู่ใกล้กับเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 4 แล้ว ยังนำแพะจากเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 4 มาเลี้ยงด้วย ในขณะเดียวกันเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 4 ได้ซื้อแพะจากเกษตรกรเจ้าของแพะกลุ่มที่ 5 ดังนั้น ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของประชากรแพะในกลุ่มที่ 3-4-5 จึงมีมากกว่าประชากรแพะในกลุ่มที่ 1 กับกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 6 กับกลุ่มที่ 7



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพันธุกรรมในประชากรที่ศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยครั้งนี้สรุปผลได้ว่า

1. จำนวนประชากรแพะในเขตกรุงเทพฯ ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีทั้งหมด 7 ประชากร โดยมาจากเขตประเวศ 3 ประชากร หนองจอก 3 ประชากร คลองสามวา 1 ประชากร และนอกเขตกรุงเทพฯ อีก 1 ประชากรซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมที่มาจากอำเภอหนองกวาง จังหวัดราชบุรี รวมทั้งสิ้น 28 ตัว

2. เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ทั้งหมดที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มี 5 โลคัส คือ INRA0023 HSC SRCRSP0024 OarFCB0020 และ SRCRSP0023 การวิจัยพบว่า สามารถพบโพลีมอร์ฟิคเพียง 3 โลคัส คือ INRA0023 HSC และOarFCB0020 ส่วน SRCRSP0024 และ SRCRSP0023 นั้น ไม่พบโพลีมอร์ฟิค นั่นหมายถึง INRA0023 HSC และOarFCB0020 สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้พันธุกรรมในแพะที่เลี้ยงในประเทศได้

3. ประชากรที่ศึกษาในแต่ละโลคัสส่วนใหญ่อยู่ในสมดุลย์ของ Hardy-Weinberg ยกเว้นประชากรกลุ่มที่ 1 ตรงโลคัส HSC และOarFCB0020 ส่วนประชากรกลุ่มที่ 7 ตรงโลคัส OarFCB0020นั้น ไม่พบโพลีมอร์ฟิค

4. จำนวนอัลลิวที่สังเกตได้ของโลคัส INRA0023 จะมากที่สุด คือ 5.000 และพบในประชากรส่วนใหญ่ ค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี้เฉลี่ยของประชากรทั้ง 8 กลุ่ม ในโลคัส INRA0023 HSC และ OarFCB0020 เท่ากับ 0.689 0.619 และ 0.384 ตามลำดับ

5. แผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ชี้ให้เห็นว่า มี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มประชากรในกรุงเทพมหานคร (กลุ่ม 1-7) และกลุ่มนอกกรุงเทพมหานคร (กลุ่ม 8) อย่างชัดเจน โดยในกลุ่มประชากรในกรุงเทพมหานครนั้น ความสัมพันธ์ระหว่างประชากรไม่ได้มาจากการที่อยู่ฟาร์มตั้งในเขตเดียวกัน แต่เนื่องจากการซื้อขายแลกเปลี่ยนแพะของเกษตรกร ซึ่งมีการซื้อขายข้ามเขตกัน แล้วแต่พันธุ์แพะที่เกษตรกรสนใจ

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ ได้รับงบประมาณสนับสนุนเพียง 37,000 บาท (สามหมื่นเจ็ดพันบาทถ้วน) ซึ่งนับว่าเป็นงบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนน้อยมาก หากเปรียบเทียบกับงานวิจัยในด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในครั้งต่อไป คือ หากได้รับงบประมาณสนับสนุนที่มากขึ้น ควรจะเพิ่มจำนวนประชากรแพะให้หลากหลายกว่าการวิจัยครั้งนี้ รวมถึงแพะพันธุ์พื้นเมืองที่หาได้ในเขตจังหวัดภาคใต้ และควรเพิ่มจำนวนเครื่องหมายพันธุกรรมให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากกว่าที่ได้ทำการวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งจะทำให้ทราบว่า โลคัสใดบ้างสามารถใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้พันธุกรรมของแพะที่เลี้ยงในประเทศได้บ้าง ทั้งนี้เพื่อนำมาใช้ประโยชน์กับลักษณะทางเศรษฐกิจได้ เช่น การคัดเลือกแพะที่มีความสามารถในการให้ลูกแฝด 3 หรือให้ปริมาณน้ำนมมากได้ และควรมีการทำวิจัยเพื่อค้นหาเครื่องหมายพันธุกรรมที่บ่งชี้ถึงความเป็นแพะพื้นเมืองของไทยด้วย ทั้งนี้ เพื่อเป็นการอนุรักษ์สัตว์พื้นเมืองที่นับวันจะสูญหายไป ให้คงอยู่ในประเทศ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กัมปนาท ขันตระกูล. 2548 สินทรัพย์ชุมชน: หนุนเลี้ยง “แพะ” เป็นสัตว์เศรษฐกิจ. กรุงเทพ ธุรกิจคอลัมน์จุดประกาย ประจำวันที่ 26 มิถุนายน 2548.

ธำรง ทองจำรูญ และคณะ [Online. Avialable: http://www.dld.go.th/breeding/PDFRearch/Small/goat_na.pdf

บุญเสริม ชีวะอิสระกุล. 2546. **การเลี้ยงดูและจัดการแพะ.** เชียงใหม่ : ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 145 หน้า

วินัย ประลมกาญจน์. [Online]. Available:http://www.webhost.wu.ac.th/agri/Animal/Article/Goat01.htm)

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัฒน์ ภูแจ้ง และอาณัติ อุ่นเรือน. 2547. การเลี้ยงแพะในฟาร์มขนาดกลางและขนาดใหญ่ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ 10520.

Crawford *et. al.* 1995. An autosomal genetic linkage map of the sheep genome, Genetics 140: 703-724.

Di Stasio, L. 2001. Applied Genetics in Sheep and Goats. Panels of markers for parentage verification tested at the 2001/02 ISAG comparison test. [Online]Available: www.isag.org.uk/pdf/2005_PanelsMarkersSheepGoats.pdf.

Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version3.5c. University of Washington, Seattle.

http://lasig.epfl.ch/projets/econogene

http://swu.ac.th/royal/book2/

http://www.dld.go.th/breeding/PDFResearch/Small/goat_na.pdf

http://webhost.wu.ac.th/agri/Animal/Article/Goat01.htm

Li, X. *et al.* 1997. Isolation of DNA from the blood lysed in the pig farm, J. Hebei Agr. Univ. 20: 84-86.

Li, M.H. *et al.* 2002. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populationsbased on microsatellite analysis. Genet. Sel. Evol. 34:729-744.

Joshi, M.B. *et al.* 2004. Phylogeography and Origin of Indian Domestic Goats. Mol. Biol. Evol. 21(3):454-462.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Koreth, J. *et al*. 1996. "Microsatellites and PCR genomic Analysis." J. Pathol. 178:239-248.

Nei, M. 1978. "Estimate of Average Heterozygosity and Genetic from small Number of Individual." **Genetics**. 89:583-590.

Sambrook, J. and Russell, D.W. 2001. Molecular Cloning A Laboratory Manual. Vol. 1, 2 3rd New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Scribner, K.T. and Pearce, J.M. 2000. "Microsatellites : Evolutionary and Methodological Background and Empirical Applications at Individual, Population and Phylogenetic Levels." 235-273. in Barker, A.J. Molecular Methods in Ecology. Oxford: Alden Press.

Sultana, S. *et al*. 2003. Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. Animal Genetics. 34 (6):417.

Yeh, F.C. *et al.* 1999. POPGENE version 1.32 [Online]. Available: http://www.ualberta.ca~fyeh/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก ประชากรแพะที่ใช้ในการศึกษา

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 1	1. เพศเมีย แองโกลนูเบียน (เลือดเต็ม) น้ำตาล-ขาว (น้ำนมสูง)	
	2. เพศเมีย แองโกลนูเบียน (เลือดเต็ม) น้ำตาลเข้มทั้งตัว	
	3. เพศผู้ ซาแนน สีขาว เลือดสูง	
	4. เพศเมีย ซาแนน สีขาว ลูกตัวเล็ก	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 2	1. เพศผู้ ซาเนน พ่อพันธุ์ตัวเดียวที่ใช้งานได้	
	2. เพศเมีย ซาเนน ขาว	
	3. เพศเมีย ซาเนน ขาว	
	4. เพศผู้ ซาเนน ขาว	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 3	1. เพศผู้ พันธุ์ซาเนนเลือด 100 จากออสเตรเลีย (No.207)	
	2. เพศผู้ ลูกผสมระหว่าง พ่อเหลาซานกับแม่ซาเนน(No.204)	
	3. เพศผู้ ซาเนน เกิดในฟาร์ม โดยพ่อมาจากศูนย์ปากช่อง (No.201)	
	4. เพศผู้ ลูกผสมซาเนน พ่อมาจากนิวซีแลนด์ (No.211)	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 4	1. เพศเมีย ซาเนนดำ จากพ่อและแม่ซาเนนดำ อายุ 8 ด.	
	2. เพศผู้ ซาเนน สีขาว	
กลุ่มที่ 5	1. เพศเมีย Troggenburg สีน้ำตาล สายเดิมอยู่ที่ศูนย์เชียงใหม่	
	2. เพศเมีย ซาเนน	
	3. เพศผู้ ซาเนน ไม่ได้เป็นลูกใคร ในฟาร์ม	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 6	1. เพศผู้ ลูกผสมแองโกลกับบังกาลา สีน้ำตาลเข้ม	
	2. เพศผู้ ซาเนน	
	3. เพศเมีย บังกาลาเลือด 100 อายุ 10 กว่าปีแล้ว	
	4. เพศผู้ สีดำ มาจากสระบุรี ไม่ทราบพันธุ์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 7	1. เพศเมีย Troggenburg	
	2. เพศเมีย บังกาลา	
	3. เพศผู้ ซาเนน	
	4. เพศเมีย บังกาลา	

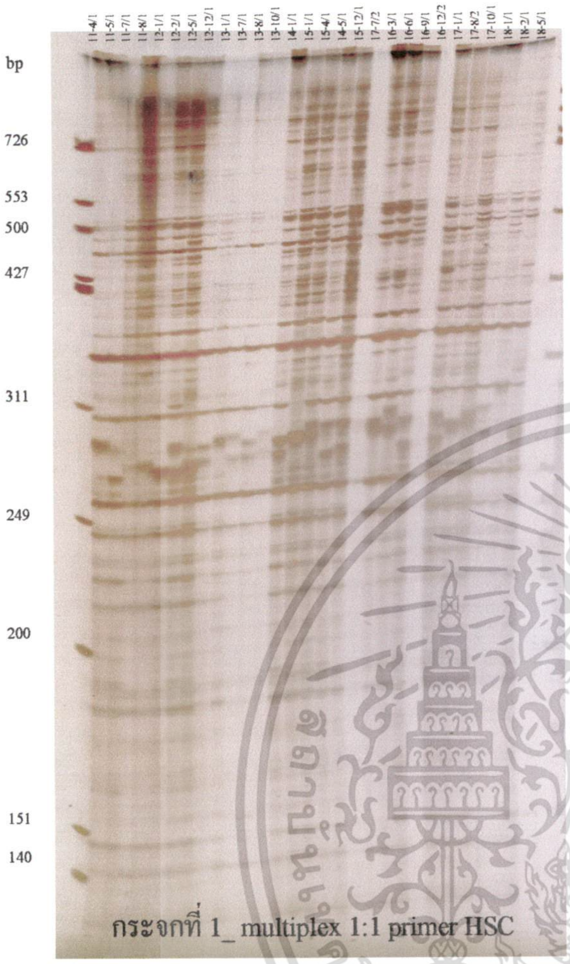
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

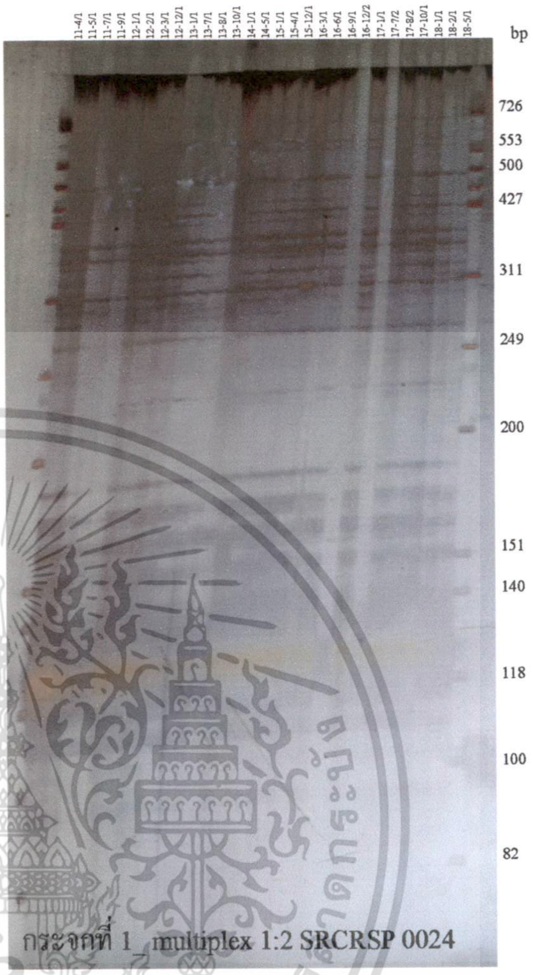
ภาคผนวก ก (ต่อ)

ประชากร	ลักษณะที่สังเกตได้	รูปร่าง
กลุ่มที่ 8	1. เพศผู้ พันธุ์บอร์	
	2. เพศเมีย พันธุ์บอร์	
	3. เพศเมีย พันธุ์แองโกลนูเบียน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

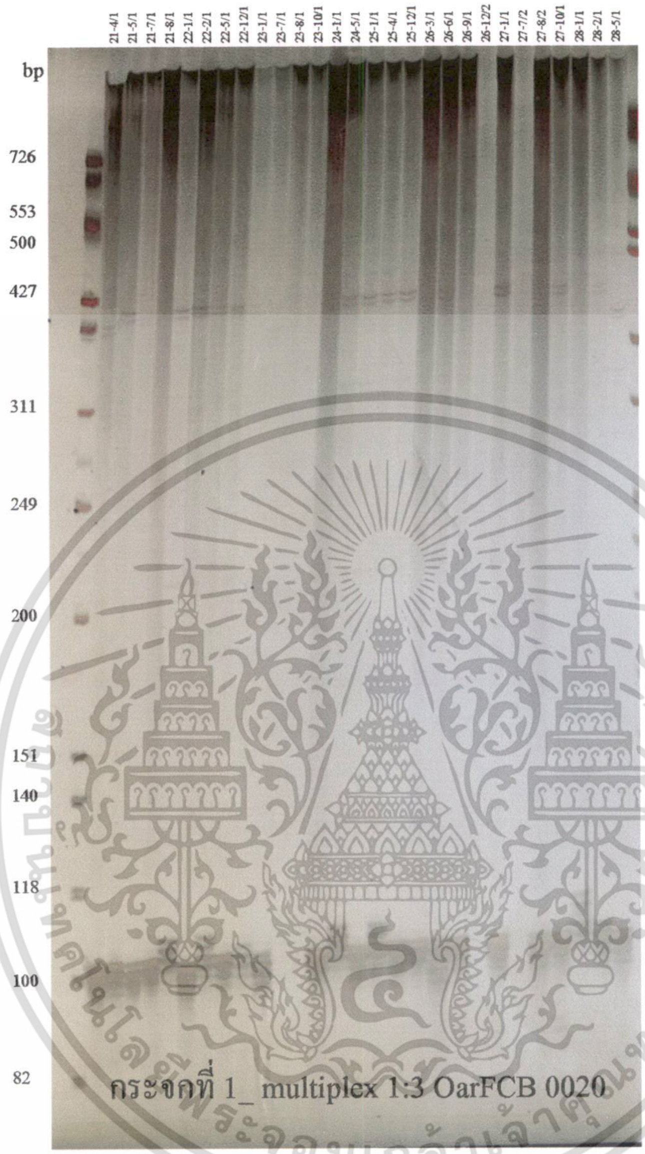
ภาคผนวก ข แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอิเล็กโทรฟอริซีสในแต่ละโลคัส





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข (ต่อ)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้