

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญภาพ	ญ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	3
2.1 ประวัติไก่พื้นเมือง	3
2.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่	6
2.3 การศึกษาพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ	6
2.4 การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต	7
2.5 เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 สัตว์ทดลอง	12
3.1.1 การเก็บตัวอย่างเลือด	12
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.1 สารเคมี	12
3.2.2 สารละลาย	13
3.2.3 เอนไซม์	13
3.2.4 ชุดสารเคมีสำเร็จรูป	14
3.2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์	14
3.3 วิธีการทดลอง	15
3.3.1 การสกัด DNA	15
3.3.2 การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณของ DNA	16
3.4 วิธีการค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ของไก่ประดู่หางดำ	16
3.4.1 ขั้นตอนเทคนิค AFLP	16
3.4.2 การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลจาก AFLP	22
3.4.3 การโคลน AFLP fragment	23
3.4.4 การสกัด Plasmid DNA	25
3.4.5 Sequence analysis	26
3.4.6 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล DNA อย่างง่าย	27
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	29

บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 ผลจากการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล AFLP	30
4.1.1 ผลการคัดกรองเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จากตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากการรวมตัวอย่างดีเอ็นเอไก่เข้าด้วยกัน	30
4.1.2 การคัดกรองลายพิมพ์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จากตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่เป็นรายตัว	30
4.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ	38

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	45
5.1 ค่าความถี่จีโอโนไทป์ และความถี่อัลลีลของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP	45
5.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ	45
5.2.1 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า HWE	46
5.2.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PIC	46
5.2.3 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PI	47
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	49
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวก	57
ประวัติผู้เขียน	61

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ไพรมเมอร์สำหรับคัดกรองเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่บ่งชี้ลักษณะ ไก่ประดู่หางดำ	23
2	ไพรมเมอร์ โปรแกรม PCR และเอนไซม์ตัดจำเพาะสำหรับตรวจความ ผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ	27
3	ชุดไพรมเมอร์ที่มีศักยภาพต่อการบ่งชี้ลักษณะไก่ประดู่หางดำ เหลืองหาง ขาว แดง และซี	31
4	เครื่องหมายโมเลกุล AFLP พัฒนาให้อยู่ในรูปแบบ co-dominant (PCR-RFLP)	34
5	ความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีลของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ของ ไก่พันธุ์ประดู่หางดำ	39
6	ค่า probability of identity (PI), ค่า (Polymorphism information content (PIC) และค่า Hardy-Weinberg (HWE)	40

สารบัญภาพ

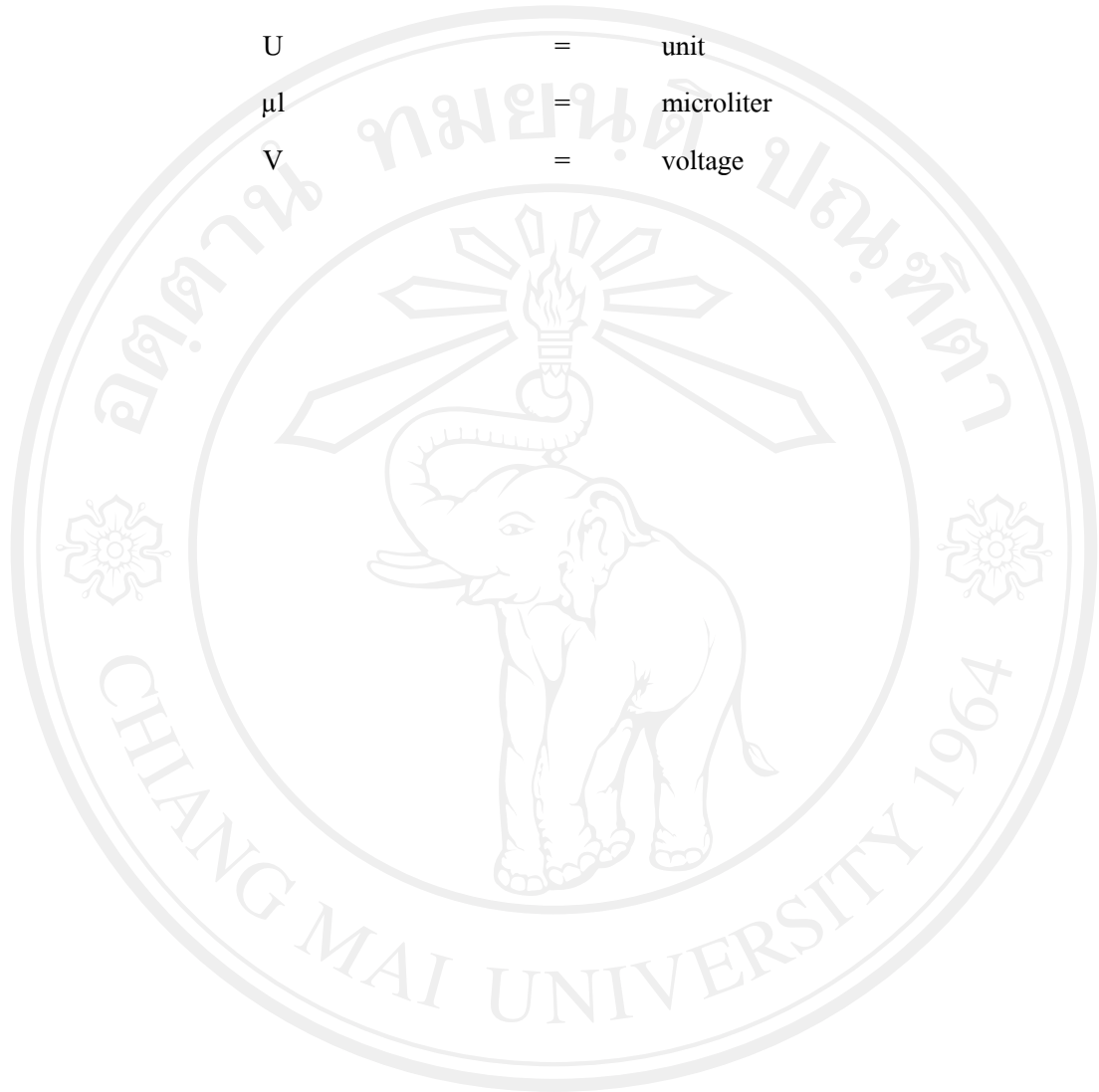
ภาพ		หน้า
1	พันธุ์ของไก่พื้นเมือง a) ไก่ประดู่หางดำ b) ไก่เหลืองหางขาว c) ไก่แดง และ d) ไก่ซี	5
2	ผลการตรวจคุณภาพ DNA	16
3	การตรวจสอบรูปแบบ AFLP ด้วย denaturing polyacrylamide gel electrophoresis	21
4	การย้อมแถบ DNA ด้วยวิธี silver stained	22
5	ตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ของไก่ประดู่หางดำ, ไก่เหลืองหางขาว, ไก่แดง และไก่ซี ที่ได้จากการรวมตัวอย่างดีเอ็นเอเข้าด้วยกัน	32
6	ตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ของไก่ประดู่หางดำ ไก่เหลืองหางขาว, ไก่แดง และไก่ซี ที่ได้จากตัวอย่างดีเอ็นเอเป็นรายตัว	33
7	ตัวอย่างผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP01 (a) - AFLP10 (j) ด้วยเทคนิค PCR-RFLP	35
8	ตัวอย่างผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP11 (a) - AFLP20 (j) ด้วยเทคนิค PCR-RFLP	36
9	ตัวอย่างผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP21 (a) - AFLP27 (g) ด้วยเทคนิค PCR-RFP	37
10	การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับจำแนกไก่ประดู่หางดำ โดยพิจารณาจาก a) ค่าสมมูลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (HWE) b) ค่า polymorphic information content (PIC) และ c) ค่า probability of identity (PI)	43

อักษรย่อและสัญลักษณ์

A	=	adenine
APS	=	ammonium persulfate
bp	=	base pair
C	=	cytosine
°C	=	centigrade
DNA	=	deoxyribonucleic acid
dNTP	=	deoxyribonucleotide triphosphate
EDTA	=	disodium ethylene diamine tetraacetic acid
G	=	guanine
Glu	=	glutamic
Lys	=	lysine
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
mM	=	millimolar
nM	=	nanometre
ng	=	nanogram
O.D.	=	optical density
PBS	=	phosphate-buffered saline
PCR	=	polymerase chain reaction
pH	=	potential of hydrogen ion
pmol	=	picomol
rpm	=	rotations per minute
T	=	thymine
TAE	=	Tris-acetate-EDTA
TE	=	Tris-EDTA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

TEMED	=	N,N,N',N'-tetramethylenediamine
Thr	=	Threonine
U	=	unit
μ l	=	microliter
V	=	voltage



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved