

Thesis Title	Phylogenetics of Thai Native Pigs in Northern Area	
Author	Mr. Rangsun Charoensook	
Degree	Master of Science (Agriculture) Animal Science	
Thesis Advisory Committee	Lect. Dr. Kesinee Gatphayak	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Therdchai Vearasilp	Member

ABSTRACT

The conservation of genetic diversity in indigenous breeds is now an important concept that all countries emphasize on. The study of their genetic information and the preservation are very important steps for the development of genetic resources in the future. Mitochondrial DNA (mtDNA) sequence analysis is one molecular technique that is used to analyze genetic variation and phylogeny of indigenous pig breeds in many countries. To date, little is known about the genetics of indigenous Thai pigs. The objective of this study was to identify genetic variation and phylogenetic relationships by mtDNA D-loop region sequence analysis of Thai native pigs of the Northern area compared with wild boars, and some further Asian and European pig breeds.

The mtDNA sequence studies were carried out using either blood, ear clip or hair samples of 55 Thai native pigs and wild boars collected in eight locations (Muang Mae Hongson, Tung Hua-chang, Jhom Thong, Chiang Dao, Fang, Viang Chai and Chiang San) from four Northern Thailand provinces (Chiang Mai, Chiang Rai, Lamphun and Mae Hongson). The mtDNA D-loop region was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and sequenced by primer walking using several oligonucleotides. Nucleotide

sequence lengths of 1264 to 1324 base pair (bp) were found, depending on the structure of the variable number tandem repeat (VNTR) CGTGCGTACA in the mtDNA D-loop region. For a total of 1044 bp of the mtDNA D-loop region (without the VNTR motif) sequence comparisons between the indigenous Thai pigs and 18 further pig mtDNA sequences taken from GeneBank were performed (3 Chinese, 1 Korean, 1 Japanese, 1 Vietnamese, and 7 European indigenous pig breeds as well as 3 Asian, and 2 European wild boars). The sequence alignment has revealed nucleotide variations (including gaps) at 54 from 1047 positions (percentage of polymorphisms: 5.16%). Thai native pigs and Thai wild boars showed a highly variable region of 33 polymorphic sites compared with *Sus scrofa* (representing 3.15%). Within groups comparisons displayed 19 polymorphic sites, representing variation of 1.82%. A total 32 different mtDNA haplotypes were found and 14 of them were specific for Thai pigs. Nine mtDNA haplotypes each were specific for Asian and European breeds. A neighbor-joining tree has been constructed using the distance matrix calculation and evaluated by a bootstrap test. The Warthog (*Phacochoerus aethiopicus*) sequence was also determined and used as an outgroup. The results show that the indigenous Thai pigs were grouped to the other Asian breeds and were distinctly different from European breeds. The results of this study indicate that mtDNA D-loop sequence analysis proved to be a valuable tool for revealing genetic relationships and genetic diversity among the different Thai pig breeds. The genetic information from this study will be a benefit for conservation purposes and utilization of Thai indigenous pigs as an important genetic resource in the future.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรไทยพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ

ผู้เขียน นายรังสรรค์ เจริญสุข

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สัตวศาสตร์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อ.ดร. เกศินี เกตุพยัคฆ์

ประธานกรรมการ

รศ.ดร. เทอดชัย เวียรศิลป์

กรรมการ

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันนี้หลายประเทศทั่วโลกกำลังให้ความสำคัญกับการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสายพันธุ์สัตว์พื้นเมือง การศึกษาถึงแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรมต่างๆ และการรักษาไว้ นับเป็นขั้นตอนที่สำคัญยิ่งสำหรับการพัฒนาแหล่งทรัพยากรทางพันธุกรรมต่อไปในอนาคต การวิเคราะห์สายลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (mtDNA) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสายพันธุ์สุกรพื้นเมืองในหลายประเทศ แต่ด้วยความรู้เกี่ยวกับพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองที่มีอยู่น้อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการสายพันธุ์และความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้วิธีการทางอนุพันธุศาสตร์ ศึกษาค่าความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณดีลูปของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของสุกรไทยพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ เปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมของสุกรเอเชียและยุโรปบางสายพันธุ์ การศึกษาสายลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอทำโดยเก็บตัวอย่างเลือด เนื้อเยื่อใบหู หรือ ขน ของสุกรไทยพื้นเมือง จาก 8 อำเภอ ใน 4 จังหวัดภาคเหนือ ได้แก่ อำเภอเมืองจังหวัดแม่ฮ่องสอน อำเภอทุ่งหัวช้างจังหวัดลำพูน อำเภอจอมทอง อำเภอเชียงดาว อำเภอฝางจังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงชัย อำเภอเชียงแสนจังหวัดเชียงราย และสุกรป่าจำนวน 55 ตัวอย่าง เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มจำนวนไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอบริเวณตำแหน่งดีลูป (D-loop region) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่

โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction; PCR) และวิเคราะห์สายลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Primer walking โดยใช้ 8 ไพรเมอร์ที่ต่อเนื่องกัน พบว่าสายลำดับนิวคลีโอไทด์มีความยาวอยู่ในช่วง 1264 ถึง 1324 คู่เบส ขึ้นอยู่กับความแปรปรวนของจำนวนหน่วยซ้ำ (Variable number tandem repeats; VNTR) CGTGCGTACA สายลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการเปรียบเทียบถูกนำมาตัดหน่วยซ้ำออกให้เหลือทั้งหมด 1044 คู่เบส แล้วนำมาเปรียบเทียบกับสายลำดับนิวคลีโอไทด์ของสุกรพื้นเมืองจากประเทศจีน 3 สายพันธุ์ จากประเทศเกาหลี ญี่ปุ่น และเวียดนาม อย่างละ 1 สายพันธุ์ สุกรสายพันธุ์ยุโรป 7 สายพันธุ์ สุกรป่าเอเชีย 3 สายพันธุ์ และสุกรป่ายุโรป 2 สายพันธุ์ รวมทั้งสิ้น 18 สายพันธุ์ จากฐานข้อมูลพันธุกรรมผ่านเครือข่ายอินเทอร์เน็ต (GenBank) โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Sus scrofa* เป็นตัวเปรียบเทียบ แสดงให้เห็นความแปรปรวนของสายลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 54 ตำแหน่งจากทั้งสิ้น 1047 ตำแหน่ง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความหลากหลาย 5.16% แยกเป็นความแปรปรวนจากสุกรไทยพื้นเมืองและสุกรป่าไทย 33 ตำแหน่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความหลากหลาย 3.15% ส่วนการเปรียบเทียบเฉพาะภายในกลุ่มสุกรไทย แสดงให้เห็นความแปรปรวน 19 ตำแหน่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความหลากหลาย 1.85% นอกจากนี้ยังพบ Haplotype ทั้งหมด 32 แบบ ประกอบด้วย Haplotype ของสุกรไทย 14 แบบ และพบ Haplotype ของสุกรสายพันธุ์เอเชียและยุโรปอย่างละ 9 แบบ จากการสร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic trees) ด้วย Neighbour-joining method ผ่านการสุ่มทดสอบแบบ Bootstrap โดยใช้ Warthog (*Phacochoerus aethiopicus*) เป็นตัวเปรียบเทียบนอกกลุ่ม (Outgroup) พบว่าสุกรไทยพื้นเมืองมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมและมีสายวิวัฒนาการร่วมกับกลุ่มสุกรสายพันธุ์เอเชีย แยกกันกับกลุ่มสุกรสายพันธุ์ยุโรป และสามารถจำแนกสุกรภายในแต่ละกลุ่มออกจากกันได้อย่างชัดเจน ข้อมูลทางพันธุกรรมที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพันธุกรรมของสุกรไทยพื้นเมืองอย่างยั่งยืนต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved