



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การวิเคราะห์ความหลากหลายพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยในเขตภาคเหนือ
โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์และไมโทคอนเดรีย มาร์คเกอร์

โดย

ศุภมิตร เมฆฉาย และคณะ

30 พฤศจิกายน 2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การวิเคราะห์ความหลากหลายพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยในเขตภาคเหนือ
โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์และไมโทคอนเดรีย มาร์คเกอร์

คณะผู้วิจัย

ศุภมิตร เมฆฉาย

สิริวดี ชมเดช

กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ชุดโครงการ

การผลิตโคพื้นเมือง : ระบบการผลิตและโอกาสทางการตลาด

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการ การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายไมโทคอนเดรียไมโครแซทเทลไลต์ และ ไมโทคอนเดรีย มาร์คเกอร์ นี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยของสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (RDG5020005) ภายใต้ชุดโครงการ การผลิตโคพื้นเมือง : ระบบการผลิตและโอกาสทางการตลาด คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ประสานงานโครงการ (รศ.ดร. ญาณิน โอบาสพัฒนกิจ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้) ของชุดโครงการดังกล่าวไว้ ณ ที่นี้ ขอขอบคุณโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยสาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนเครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ทางด้าน molecular biology สำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ. ส.พญ. นุชา สิมะสาธิตกุล, ผศ. ดร. ณัฐพล จงกลกิจ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อาจารย์ณครินทร์ พริบไหว สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดและเนื้อโคจากจังหวัดลำพูนและลำปาง ขอขอบคุณ รศ. ดร. สมปอง สรวมศิริ อาจารย์ไพโรจน์ ศิลม้น ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างโคเนื้อจากจังหวัดเชียงใหม่และแพร่ ขอขอบคุณ ดร.ธนันท์ สุภกิจจานนท์ และ ดร. ณัฐมา เฉลิมเสน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา วิทยาเขตพิษณุโลก ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างโคเนื้อจากจังหวัดพิษณุโลก ขอขอบคุณ รศ.ดร. สุวัฒน์ รัตนธนาธิ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้มุ่งมั่นอนุรักษ์พันธุกรรมของโคขาวลำพูนของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งโครงการวิจัยนี้ได้ใช้ประโยชน์จากแหล่งพันธุกรรมดังกล่าว และขอขอบคุณ รศ. ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ชุดไมโครแซทเทลไลต์ มาร์คเกอร์ ในการวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงการให้โอกาสที่ดีๆ ในทางวิชาการ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วยเช่นกัน

ท้ายสุดขอขอบคุณนายเทียนชัย อุ่นบ้าน และ นายถนอมศักดิ์ เชื้อตันนันท นักศึกษาปริญญาเอก และนางสาวจิราพร ปาลี ที่เป็นกำลังสำคัญ ช่วยเหลือให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

รหัสโครงการ: RDG5020005

ชื่อโครงการ: การวิเคราะห์ความหลากหลายพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยในเขตภาคเหนือ โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์และไมโตคอนเดรีย มาร์คเกอร์

ชื่อนักวิจัย: ผศ.ดร. ศุภมิตร เมฆฉาย

ผศ. ดร. สิริวิดี ชมเดช

อาจารย์ ดร. น.สพ. กรกฎ งานวงศ์พานิชย์

สถาบัน: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาควิชาพรีคลินิก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail address: agismkch@chiangmai.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 6 เดือน (1 ธันวาคม 2549 – 30 พฤษภาคม 2550)

บทคัดย่อ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยในเขตภาคเหนือ จำนวน 5 แหล่ง (เชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง และพิษณุโลก) และโคชาวลำพูน ถูกวิเคราะห์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ไมโครแซทเทลไลท์ และ ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโตรคอนเดรียในบริเวณ D-loop ผลการศึกษาพบว่าไมโครแซทเทลไลท์ของ โคพื้นเมือง จำนวน 20 ตำแหน่ง มีอัลลีลทั้งหมด 119 อัลลีล ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.95 อัลลีล/ไพรเมอร์ โดยมีค่า heterozygosity เฉลี่ยเท่ากับ 0.426 ± 0.306 และมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) เฉลี่ยเท่ากับ 0.136 ± 0.046 ข้อมูลไมโครแซทเทลไลท์ สามารถแบ่งกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 โคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ และแพร่ และกลุ่ม 2 โคพื้นเมืองในเขตจังหวัดลำพูน ลำปาง และพิษณุโลก และโคชาวลำพูน สำหรับข้อมูลความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขต ภาคเหนือ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่มที่เหมือน และแตกต่างจากโคพื้นเมืองจากเอเชียใต้) จากผล การศึกษาในครั้งนี้ชี้ได้ว่า โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ มีลักษณะทางพันธุกรรมคล้ายคลึงกันสูง โดยโค พื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่ มีความใกล้ชิดกับโคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่ มากกว่าโคพื้นเมืองจากจังหวัดลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคชาวลำพูน ตามลำดับ นอกจากนี้โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือส่วนใหญ่มีพันธุกรรมของ mtDNA (D-loop) แตกต่างจากโคพื้นเมืองจากแถบภูมิภาคเอเชียใต้ ยุโรป และแอฟริกา อย่างชัดเจน

คำหลัก: ความหลากหลาย พันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลท์ ไมโตคอนเดรีย มาร์คเกอร์

Project Code: RDG5020005

Project Title: Analysis of Genetic Diversity of Northern Thai Native Beef Cattle by Microsatellite and Mitochondrial markers

Investigator: Assist. Prof. Dr. Supamit Mekchay

Dr. Sriwadee Chomdej

Dr. Korakot Nganvongpanit

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University

Department of Veterinary Preclinical Science, Faculty of Veterinary Medicine

Chiang Mai University,

E-mail address: agismkch@chiangmai.ac.th

Project Period : 6 months (1 December 2006 – May 2007)

Abstract

Genetic diversity of northern Thai native beef cattles from 5 locations (Chiang Mai, Phrae, Lamphun, Lampang and Pitsanulok) and White Lamphun cattle breeds was analysed by using microsatellite markers and mitochondrial DNA (D-loop) sequence. A total of 119 alleles of 20 microsatellites were detected in Thai native cattles and the mean number of alleles was 5.95 per locus. An average heterozygosity and genetic distance among of northern Thai native cattles were 0.426 ± 0.306 and 0.136 ± 0.046 , respectively. Genetic variation based on microsatellite markers, Thai native cattles could be divided into 2 groups: (1) Chiang Mai and Phrae Thai native cattles and (2) Lamphun, Lampang, Pitsanulok and White Lamphun cattle breeds. Moreover, the mtDNA (D-loop) nucleotide sequence of the northern Thai native cattles are clearly separated into 2 groups (similar and non-similar to southern Asia cattle breeds). Results indicated that Thai native cattles are highly genetic similarity. The Chiang Mai cattles are closely related to Phrae cattles, but are separated from the Lamphun, Lampang, Pitsanulok cattles and White Lamphun cattle breeds, respectively. Additionally, the mtDNA (D-loop) sequence of the most northern Thai native cattles are distinguished from southern Asia, European and African cattle breeds.

Keywords: Genetics, Diversity, Microsatellite, Mitochondrial DNA, D-loop, Marker

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	2
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	6
3.1 อุปกรณ์	6
3.1.1 สัตว์ทดลอง	6
3.1.2 สารเคมี	6
3.1.3 สารละลาย	7
3.1.4 เอนไซม์	7
3.1.5 ชุดสารเคมีสำเร็จรูป	7
3.1.6 อุปกรณ์และเครื่องมือ	8
3.2 วิธีการทดลอง	8
3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด และกล้ามเนื้อ	8
3.2.2 การวิเคราะห์ genotype ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ ในโคพื้นเมือง	9
3.2.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียในบริเวณ D-loop ของโค	10
3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	11
บทที่ 4 ผลการทดลอง	12
4.1 ข้อมูลสัตว์ทดลอง	12
4.2 ผลการวิเคราะห์ genotype ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์	16
4.3 การกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ของโคพื้นเมือง ในเขตภาคเหนือ	18
4.4 ผลการวิเคราะห์ Phylogenic tree จากเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์	32
4.5 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียในบริเวณ D-loop	35

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 5	วิจารณ์ผลการทดลอง	40
	5.1 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย โมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์	40
	5.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop)	42
	เอกสารอ้างอิง	45
	ภาคผนวก	48

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2-1	ลักษณะสีของโคพื้นเมืองในประเทศไทย
ภาพที่ 4-1	ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ และแพร่
ภาพที่ 4-2	ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดลำพูน และลำปาง
ภาพที่ 4-3	ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดพิษณุโลก
ภาพที่ 4-4	ตัวอย่างโคขาวลำพูน จากภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ภาพที่ 4-5	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ETH152 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-6	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ETH225 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-7	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HEL1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-8	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HRH1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-9	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS001 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-10	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS005 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-11	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS014 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน
ภาพที่ 4-12	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ OCAM ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4-13	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ BM2113 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	24
ภาพที่ 4-14	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ BOLADRB2 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และ โคขาวลำพูน	25
ภาพที่ 4-15	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ETH131 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	26
ภาพที่ 4-16	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HEL5 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	27
ภาพที่ 4-17	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ RBP3 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	27
ภาพที่ 4-18	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ TGLA116 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	28
ภาพที่ 4-19	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ BM203 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	29
ภาพที่ 4-20	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HUII77 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และ โคขาวลำพูน	30
ภาพที่ 4-21	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ TGLA153 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	30
ภาพที่ 4-22	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ IGF1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	31

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 4-23	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ CSSMO65 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	32
ภาพที่ 4-24	การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ UWCA9 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน	33
ภาพที่ 4-25	ความสัมพันธ์ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน ในรูป Phylogenetic tree	34
ภาพที่ 4-26	ความผันแปรทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน ในรูปแบบ Principal component analysis (PCA)	35
ภาพที่ 4-27	เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ mitochondrial DNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองใน เขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชณุโลก โคขาวลำพูน และโคนม	37
ภาพที่ 4-28	Phylogenetic tree ของ mtDNA (D-loop) แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโคพื้นเมือง โคนม และโคในฐานข้อมูล GenBank	39
ภาพผนวก 1	แสดงตัวอย่างการวิเคราะห์ขนาดแถบเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ ของ BM203 เทียบกับขนาดแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ด้วยโปรแกรม GeneTool (SynGene, USA)	48
ภาพผนวก 2	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ ETH152, ETH225, HEL1, HRH1, ILSTS001, ILSTS005, ILSTS014, OCAM, BM2113, BOLADRB2, ETH131, HEL5, RBP3, TGLA116, BM203, HUUJII77, TGLA153, IGF1, CSSM065 และ UWCA9	49

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 3 -1	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ไมโครแซทเทลไลต์	9
ตารางที่ 4-1	ขนาดอัลลีล จำนวนอัลลีล ความถี่ ค่า Heterozygosity และค่า power of discrimination ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ	17
ตารางที่ 4-2	ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อไพรเมอร์ ค่า observed Heterozygosity และ expected Heterozygosity ของไมโครแซทเทลไลต์ภายในกลุ่มโคพื้นเมืองจากเขตภาคเหนือ	17
ตารางที่ 4-3	ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ	33
ตารางที่ 4-4	ค่า Identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ระหว่างโคพื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิชญ์โลก โคขาวลำพูน และคอนม	38
ตารางที่ 5-1	ขนาดอัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือเปรียบเทียบกับข้อมูลของ ISAG/FAO	41
ตารางภาคผนวกที่ 1	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ ETH152 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	53
ตารางภาคผนวกที่ 2	แสดงจำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ ETH225 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	53
ตารางภาคผนวกที่ 3	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ HEL1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	54
ตารางภาคผนวกที่ 4	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ HRH1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	54
ตารางภาคผนวกที่ 5	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS001 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	55
ตารางภาคผนวกที่ 6	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS005 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	55
ตารางภาคผนวกที่ 7	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS014 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	56
ตารางภาคผนวกที่ 8	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ OCAM ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	56
ตารางภาคผนวกที่ 9	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลต์ BM2113 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางภาคผนวกที่ 10	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ BOLADRB2 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	57
ตารางภาคผนวกที่ 11	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ ETH131 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	58
ตารางภาคผนวกที่ 12	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ HEL5 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	58
ตารางภาคผนวกที่ 13	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ RBP3 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	59
ตารางภาคผนวกที่ 14	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ TGLA116 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	59
ตารางภาคผนวกที่ 15	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ BM203 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	60
ตารางภาคผนวกที่ 16	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ HUJII77 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	60
ตารางภาคผนวกที่ 17	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ TGLA153 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	61
ตารางภาคผนวกที่ 18	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ IGF1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	61
ตารางภาคผนวกที่ 19	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ CSSM065 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	61
ตารางภาคผนวกที่ 20	จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ UWCA9 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน	62

บทที่ 1

บทนำ

โคพื้นเมืองของประเทศไทย มีขนาดโครงร่างค่อนข้างเล็ก แต่ทนทานต่อสภาพอากาศร้อนชื้น ทนโรคพยาธิและแมลงได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพอากาศได้ดี หาอาหารเก่ง และให้ลูกดก โคพื้นเมืองมีลักษณะขนที่สั้นเกรียน และมีสีแตกต่างกันออกไป เช่น ดำ น้ำตาล ขาว เป็นต้น สำหรับโคพื้นเมืองที่เลี้ยงอยู่ทั่วประเทศสามารถแบ่งตามลักษณะภายนอกและถิ่นที่อยู่อาศัย ได้เป็น 4 สายพันธุ์ คือ 1) โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ หรือ โคขาวลำพูน 2) โคพื้นเมืองในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือ โคอีสาน 3) โคพื้นเมืองในเขตภาคกลาง หรือ โคลาน และ 4) โคพื้นเมืองในเขตภาคใต้ หรือ โคชน

โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ประกอบด้วย โคขาวลำพูนและโคพื้นเมืองพันธุ์อื่น ๆ สามารถพบได้ในเขตภาคเหนือ โดยโคขาวลำพูน พบได้มากโดยเฉพาะในจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ รวมถึงจังหวัดพะเยา ลำปาง และเชียงราย โคขาวลำพูนมีลักษณะโดดเด่น ลำตัวมีสีขาวนวล และมีรูปร่างที่สูงใหญ่ มีความสวยงามเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ทำให้โคขาวลำพูนถูกคัดเลือกเป็นพระโคในพระราชพิธีจรดพระนังคัลแรกนาขวัญ ปัจจุบันโคขาวลำพูนพันธุ์แท้หาได้ค่อนข้างยาก ทำให้กรมปศุสัตว์และมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตระหนักถึงความสำคัญของโคขาวลำพูน จึงได้จัดทำโครงการอนุรักษ์โคขาวลำพูน เพื่ออนุรักษ์พันธุ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์ของโคขาวลำพูนอย่างยั่งยืน

การศึกษาเกี่ยวกับพันธุกรรมของโคขาวลำพูน และโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ มีข้อมูลค่อนข้างจำกัด การจัดจำแนกกลุ่มสัตว์ในอดีตที่ผ่านมา มักใช้ลักษณะปรากฏภายนอกหรือการใช้คาริโอไทป์ (karyotype) ซึ่งไม่สามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของโคในกลุ่ม *Bos indicus* ออกจากกันได้อย่างชัดเจน ศิริลักษณ์ (2537) ได้เสนอแนวทางการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสัตว์พื้นเมือง โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์เป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ ซึ่งมีความเหมาะสมกว่าการใช้เครื่องหมายโมเลกุลโปรตีน (protein marker) เมื่อต้องการรายละเอียดในการแยกแยะความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสูงมากๆ ปัจจุบันเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ เป็นที่นิยม และยอมรับ ซึ่งประสบความสำเร็จในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์หลาย ๆ ชนิด อาทิเช่น โค (Ibeagha-Awemu et al., 2004) เสือโคร่ง (Xu et al., 2004) สุนัข (Thuy et al., 2006) นอกจากนี้ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ในบริเวณ D-loop ยังถูกใช้เป็นเครื่องมือศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม รวมถึงจัดจำแนกกลุ่มสัตว์ได้เช่นกัน (Tsuji et al., 2005)

ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้ต้องการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคขาวลำพูน และโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ และ ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ในบริเวณ D-loop เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการอนุรักษ์และการปรับปรุงพันธุ์ รวมถึงขึ้นทะเบียนพันธุ์ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคขาวลำพูนและโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ และ ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอในบริเวณ D-loop

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

โคพื้นเมืองจัดอยู่ใน Phylum Chordata, Class Mammalia, Order Artiodactyla, Suborder Ruminantia, Family Bovidae, Subfamily Bovinae, Genus Bos, Species Bos indicus โคพื้นเมืองของประเทศไทย มีขนาดโครงร่างค่อนข้างเล็ก แต่ทนทานต่อสภาพอากาศร้อนชื้น โรคพยาธิและแมลงได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพอากาศได้ดี หายากและให้ลูกดก โคพื้นเมืองมีลักษณะขนสั้นและมีสีแตกต่างกันออกไปมีตั้งแต่สีขาว จนกระทั่งสีน้ำตาลแดง บางครั้งอาจพบสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 2-1) สำหรับ โคพื้นเมืองที่เลี้ยงอยู่ทั่วประเทศสามารถแบ่งตามลักษณะภายนอกและถิ่นที่อยู่อาศัย ได้เป็น 4 สายพันธุ์ คือ 1) โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ หรือ โคขาวลำพูน 2) โคพื้นเมืองในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือ โคอีสาน 3) โคพื้นเมืองในเขตภาคกลาง หรือ โคลาน และ 4) โคพื้นเมืองในเขตภาคใต้ หรือ โคชน

โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ประกอบด้วย โคขาวลำพูนและโคพื้นเมืองพันธุ์อื่น ๆ สามารถพบได้ในเขตภาคเหนือ โดยโคขาวลำพูน พบได้มากโดยเฉพาะในจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ รวมถึงจังหวัดพะเยา ลำปาง และเชียงราย โคขาวลำพูนมีลักษณะโดดเด่นเนื่องจากมีรูปร่างที่สูงใหญ่ อีกทั้งยังมีความสวยงามอันเนื่องมาจากลักษณะเฉพาะ 15 ประการ ได้แก่ 1) เนื้อเขามีสีน้ำตาล 2) เนื้อกีบมีสีน้ำตาลส้ม 3) ขอบตามีสีชมพูส้ม ไม่มีจุดต่างขาว 4) เนื้อจมูกมีสีชมพูส้ม ไม่มีจุดต่างขาว 5) เนื้อทวารต่าง ๆ มีสีชมพูส้ม ไม่มีจุดต่างขาว 6) ขนพู่หางมีสีขาว 7) หน้าผากมีลักษณะแบน 8) เหนียงสะดือมีลักษณะสั้น ติดพื้นท้อง 9) เหนียงคอมีขนาดปานกลาง 10) ใบหูมีขนาดเล็กและกาง 11) ขนลำตัวมีสีขาวเกรียน 12) นัยน์ตามีสีน้ำตาลดำ 13) ขนตามีสีขาว 14) หน้งมีสีชมพูส้ม และ 15) ตะโพนกมีความสูงปานกลาง โคขาวลำพูนมีสมรรถภาพการสืบพันธุ์ และเจริญเติบโตอยู่ในเกณฑ์ดี ถึงแม้ว่าจะได้รับการเลี้ยงดูอย่างจำกัด และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีการรบกวนของโรคพยาธิต่างๆ โคขาวลำพูนมีน้ำหนักแรกเกิดประมาณ 18 กิโลกรัม น้ำหนักหย่านมเมื่ออายุ 7 เดือน ประมาณ 80 กิโลกรัม (สุวัฒน์, 2533; 2527; โชค และคณะ 2534; นิรันดร์ และคณะ, 2538) และมีความสมบูรณ์ของร่างกาย (body condition score) ใกล้เคียงกับโคพื้นเมืองพันธุ์อื่น (เพทาย และคณะ, 2536) และมีเปอร์เซ็นต์ซากอยู่ระหว่าง 53-58 เปอร์เซ็นต์ (สัญญาชัย และคณะ, 2532; สุวัฒน์, 2533; นิรันดร์ และคณะ, 2538)

ส่วนโคพื้นเมืองพันธุ์อื่นๆ นั้น มีลักษณะรูปร่าง โดยทั่วไปเป็นสีเหลือง เมื่อสังเกตจากด้านข้าง สีขนน้ำตาลแดง หรือขาว ท้องหย่อนเล็กน้อย เหนียงคอหย่อนเล็กน้อย บริเวณหนังสะดือ และหนังหุ้มลิ้นแคบติดพื้นท้อง แนวสันหลังเรียบ ถึงแอ่นเล็กน้อย ส่วนตะโพนก (hump) ตั้งอยู่บนหลังเหนือไหล่ โดยโคเพศผู้มีขนาดลำตัวใหญ่กว่าโคเพศเมียเล็กน้อย ส่วนหัว และรูปโครงใบหน้าแหลมตามีขนาดเรียวเล็กกว่าโคยุโรป ใบหูของโคพื้นเมือง มีขนาดเล็ก และกางออกจากลำตัว ซึ่งแตกต่างจากโคยุโรปที่มีหูขนาดใหญ่และใหญ่กว่า ลักษณะรูปร่างของเขาสั้นโค้งเข้าหากัน มีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีเนื้อไปจนกระทั่งสีน้ำตาลเข้ม



ภาพที่ 2-1 ลักษณะสีของโคพื้นเมืองในประเทศไทย

การศึกษาเกี่ยวกับพันธุกรรมของโคขาวลำพูน และโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือมีข้อมูลค่อนข้างจำกัด โดยการจัดจำแนกกลุ่มโคในอดีตที่ผ่านมา มักใช้ลักษณะปรากฏภายนอก อาทิเช่นการจำแนกกลุ่มโค *Bos indicus* ออกจากโค *Bos Taurus* คือ การใช้ลักษณะมีโหนก (humped) และไม่มีโหนก (humpless) (Baig et al., 2005) หรือการใช้คาริโอไทป์ (karyotype) (สุวัฒน์, 2527) หรือแม้กระทั่งการใช้โปรตีนเป็นตัวบ่งชี้ (protein marker) ซึ่งวิธีการดังกล่าวไม่สามารถจัดจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของโคในกลุ่ม *Bos indicus* ออกจากกันได้อย่างชัดเจน

ปัจจุบันเทคนิคทางด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular genetic) ถูกนำมาประยุกต์ใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เทคนิคที่นิยมใช้กันคือ เครื่องหมายโมเลกุล ไมโครแซทเทลไลต์ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสูงมากๆ เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ คือส่วนของดีเอ็นเอ ที่มีการเรียงตัวของลำดับเบสซ้ำกันเป็นชุดสั้นๆ (Short Tandem Repeat) พบกระจายอยู่ทั่วทั้งจีโนม (Genome) ของสิ่งมีชีวิต ปัจจุบันเทคนิคไมโครแซทเทลไลต์ เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวาง และประสบความสำเร็จในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์หลาย ๆ ชนิด อาทิเช่น โค (Ibeagha-Awemu et al., 2004; MacHugh et al., 1994) เสือโคร่ง (Xu et al., 2005) และ สุนัข (Thuy et al., 2006) ดังรายงานของ MacHugh et al. (1994) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ จำนวน 12 ตำแหน่ง สามารถแยกความแตกต่างของโค ที่มีแหล่งกำเนิดจากแอฟริกัน และยุโรปออกจากกันได้ ในขณะที่ Hansen et al. (2002) ใช้ เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ จำนวน 15 ตำแหน่ง ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโคในประเทศแคนาดา จำนวน 4 สายพันธุ์ (Canadienne, Brown Swiss, Holstein และ Jersey) พบว่าโคพันธุ์ Brown Swiss มีความใกล้ชิดกับโคพันธุ์ Holstein ส่วนโคพันธุ์ Canadienne และ Jersey มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ห่างกันมากที่สุด เช่นเดียวกันกับ Machado et al. (2003) ได้ใช้ไมโครแซทเทลไลต์ จำนวน 9 ตำแหน่ง เพื่อการจำแนกโค จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ Gyr, Nellore, Guzerat และ Holstein เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถแยกโค Holstein (*Bos taurus*) ออกจาก โคพันธุ์ Gyr, Nellore, Guzerat (*Bos indicus*) ได้

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโค นอกจากใช้ไมโครแซทเทลไลต์แล้ว ปัจจุบันยังสามารถใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA, mtDNA) ในบริเวณ D-loop เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม รวมถึงจัดจำแนกกลุ่มสัตว์ได้ด้วยเช่นกัน (Tsuiji et al., 2004) ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) มีความหลากหลายสูง มีการถ่ายทอดมาจากแม่เท่านั้น จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของโค และในปัจจุบันข้อมูล mtDNA ของโคทั้ง *Bos taurus* และ *Bos indicus* ถูกวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์อย่างสมบูรณ์เป็นที่เรียบร้อยแล้ว (GenBank accession no. V00654, DQ124406, AB074963, NC_005971, AY126697, AF492350) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Bovine mtDNA นั้นมีความยาว 16,338 bp และประกอบด้วย ยีน rRNAs, tRNAs และ polypeptides จำนวน 2, 22 และ 13 ตำแหน่ง (Wu et al., 2000)

สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคจากแหล่งต่างๆ นั้นมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง (Loftus et al., 1994; Bradley et al., 1996; Mannen et al., 1998; Tsuiji et al., 2004; Kim et al., 2003; Pfeiffer et al., 2005; Lei et al., 2006) โคจากประเทศแถบยุโรป (Aberdeen Angus, Hereford, Jersey, Charolais, Simmental, Friesian) แอฟริกา (Butana, Kenana, N'Dama, White Fulani) อินเดีย

(Tharparkar, Sahiwal, Hariana) จีน (Yanbian, Kazak, Mongolian,) ญี่ปุ่น (Japanese Black, Japanese Holstein) และเกาหลี (Korea Yellow) เป็นต้น โดย Pfeiffer et al. (2005) ได้วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA ที่ช่วงความยาว 323 bp จากโค Dahomey miniature cattle พบว่าความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ (single nucleotide polymorphisms, SNPs) ที่ตำแหน่ง 15,961-16,284 bp เมื่อเทียบกับโคพันธุ์ Limousin, Ayrshire, Angus, Charolais, Hereford, Simmental, Jersey, Butana, Kenana และ N'Dama ในขณะที่ Loftus et al. (1994) วิเคราะห์ความหลากหลายของไมโทคอนเดรียของโคจาก 3 ทวีป ประกอบด้วยโคจากทวีปยุโรป (Aberdeen Angus, Hereford, Charolais, Simmental, Friesian) แอฟริกา (Butana, Kenana, N'Dama, White Funi) และ เอเชีย (Tharparkar, Sahiwal, Hariana) เพื่อศึกษาบรรพบุรุษของโค และจากข้อมูลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมบ่งชี้ว่า โคจากทวีปแอฟริกามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับโคจากทวีปยุโรป มากกว่าโคจากทวีปเอเชีย (India breeds) เช่นเดียวกันกับรายงานของ Mannen et al. (1998) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ mtDNA ของโค Japanese Black (*Bos taurus*) เปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA ของโคที่มีแหล่งกำเนิดจาก แอฟริกา ยุโรป และ อินเดีย พบว่าโคพันธุ์ Japanese Black มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับโคจากยุโรป มากกว่าโคจากแอฟริกา และโคจากอินเดีย ตามลำดับ อย่างไรก็ตามข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในประเทศไทยมีข้อมูลค่อนข้างจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทย ยังไม่ปรากฏว่ามีรายงานทางวิชาการแต่อย่างใด จากข้อมูลที่ได้จะเห็นได้ว่าการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรต่างๆ โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ และข้อมูลลำดับ นิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ สามารถที่จัดจำแนกกลุ่มประชากรได้ นับได้ว่าวิธีการทั้งสอง มีศักยภาพสูงต่อ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของโค

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 สัตว์ทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ โคขาวลำพูนและโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ภายใต้ชุดโครงการ “การศึกษาผลผลิตและระบบการผลิตโคพื้นเมืองของเกษตรกร” โดยการสนับสนุนการวิจัย (สกว.) จำนวน 38 ตัว ซึ่งแบ่งออกตามเขตจังหวัดดังนี้ เชียงใหม่ (Chiang Mai, CM) แพร์ (Phare, PR) ลำพูน (Lamphun, PLN) ลำปาง (Lampang, LPG) และพิษณุโลก (Phitsanulok, PL) จำนวน 15, 18 และ 5 ตัวอย่าง ตามลำดับ โคเหล่านี้ถูกเก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 10 ml ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัว (สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 M) หรือ เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอก ขนาด $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$ แช่ใน Absolute alcohol และเก็บรักษาไว้ที่ -80°C เพื่อรอสกัดดีเอ็นเอ นอกจากนี้ตัวอย่างดีเอ็นเอของโคขาวลำพูน (White Lamphun cattle, WL) จากฝูงประชากรของภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโคนมพันธุ์แท้ Canadian Holstein Friesian (HF) จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ จำนวน 7 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ ถูกใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ และไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ

3.1.2 สารเคมี

10X PCR buffer, *Taq* polymerase (Fermentas, USA)
Acrylamide (Amersham Bioscience, Sweden)
Agar-Agar (O.V. chemical, Thailand)
Ampicillin (Bio Basic Inc, Canada)
Bisacrylamide (Amersham Bioscience, Sweden)
DH5 α - *Escherichia coli* competent cell (Invitrogen, USA)
dNTPs (Fermentas, USA)
EDTA (Fisher Scientific, USA)
Ethidium bromide (Bio Basic Inc, Canada)
Formaldehyde 37% (Merck, Germany)
Glycerol (Merck, Germany)
Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) (US Biological, USA)
Lambda DNA/Avall (Fermentas, USA)
LB-Broth (US Biological, USA)
Magnesium chloride (Merck, Germany)
N,N'-dimethylformamide (Bio Basic Inc, Canada)

Peptone (Scharlau, Spain)
 Phenol (Merck, Germany)
 Primers (Bio Basic Inc, Canada)
 Proteinase K (Invitrogen, USA)
 Silver nitrate (Merck, Germany)
 TEMED (USB corporation, USA)
 Tris (USB corporation, USA)
 X-Gal (USB corporation, USA)
 Yeast extract (Scharlau, Spain)

3.1.3 เอนไซม์

T4 DNA ligase, 10X ligase buffer (Promega, USA)

3.1.4 ชุดสารเคมีสำเร็จรูป

- 1) GenElute ☐ Plasmid Miniprep Kit (Qiagen, Germany)
- 2) GenomeLab ☐ DTCS Quick Start Kit for Dye Terminator Cycle Sequencing (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)
- 3) pGEM®-T easy vector System Kit (Promega, USA)

3.1.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) Balances, Model AB204 (Mettler-Toledo, Switzerland)
- 2) CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)
- 3) Electrophoresis (for agarose gel) Gel-Mate 2000, Toyobo, Japan
- 4) Electrophoresis (vertical apparatus), Hoefer SQ3, Amersham pharmacia biotech, USA
- 5) Gel documentation, Model Gene Genius & Gene Tools, USA
- 6) Gel dryer, Model GD 2000, Amersham Bioscience, USA
- 7) Hot Air Oven, Model ULE 400, Memmert, Germany
- 8) PCR thermocycler, PTC-100™, MJ Research, USA
- 9) Spectrophotometer, UV-VIS Biowave S2100, Germany
- 10) Thermo Shaker, Model DKSI001a, Daiki, Korea
- 11) pH meter, Model CG 842, Inc., USA
- 12) Refrigerated Bench Top Centrifuge, Model Universal 32 R, Hettich, Germany
- 13) Pipette, 20, 200, 1000 µl, Gilson, France
- 14) PCR tube, Sorenson, Bioscience. Inc., USA

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด และกล้ามเนื้อ

ตัวอย่างเลือดถูกนำไปปั่น เพื่อแยกเอาส่วนของเม็ดเลือดขาว (white blood cells) ส่วนตัวอย่างกล้ามเนื้อ ถูกบดในไนโตรเจนเหลว ทั้งตัวอย่างเม็ดเลือดขาว และตัวอย่างกล้ามเนื้อ ถูกนำไปสกัดดีเอ็นเอ โดยย่อยโปรตีนด้วย proteinase K ขจัดโปรตีนออกด้วย phenol-chloroform และตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย absolute alcohol ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้ ถูกนำไปตรวจสอบคุณภาพโดย agarose gel electrophoresis วัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง spectrophotometer (260 nm) และปรับความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอได้ 100 ng/ μ l เพื่อใช้สำหรับ genotyping ไมโครแซเทลไลท์ และวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมในบริเวณ D-loop ของไมโทคอนเดรียต่อไป

3.2.2 การวิเคราะห์ genotype ของเครื่องหมายไมโครแซเทลไลท์ในโคพื้นเมือง

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซเทลไลท์ ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ชุดไพรเมอร์ตามข้อเสนอแนะของ International Society of Animal Genetics / Food and Agriculture Organization (ISAG/FAO, 1998) จำนวน 20 คู่ (ดังตารางที่ 3-1)

เครื่องหมายไมโครแซเทลไลท์ microsatellite ถูกเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR (Polymerase chain reaction) จำนวน 10 μ l ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ สารละลายตัวอย่างดีเอ็นเอ จำนวน 1 μ l สารละลาย 10X PCR buffer จำนวน 1 μ l สารละลาย $MgCl_2$ (1.5 mM) จำนวน 1.2 μ l, dNTPs จำนวน 1 μ l ไพรเมอร์ forward และ reverse จำนวนอย่างละ 1 μ l และ Taq DNA Polymerase จำนวน 0.1 μ l เติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 μ l สำหรับโปรแกรมควบคุมปฏิกิริยา PCR เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 94 °C นาน 5 นาที และตามด้วยอุณหภูมิ 94 °C นาน 30 วินาที / 48-56 °C นาน 45 วินาที (ขึ้นอยู่กับไพรเมอร์ ดังตารางที่ 3-1) / 72 °C นาน 45 วินาที จำนวน 35 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 72 °C นาน 5 นาที ผลผลิต PCR ที่ได้ถูกนำไปแยกขนาดด้วย polyacrylamide gel electrophoresis ที่ความเข้มข้น 12% ในสารละลาย 1X TBE buffer เปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (GeneRuler™ 100 bp DNA ladder, Fermentus) และย้อมแผ่นเจลด้วย silver staining ก่อนนำไปบันทึกผลแถบ DNA ด้วยเครื่อง Gel documentation (SynGene, USA)

3.2.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียในบริเวณ D-loop ของโค

แถบ DNA ของไมโทคอนเดรียในบริเวณ D-loop ของโคพื้นเมือง ถูกเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR ตามวิธีการของ Tsuji et al. (2004) โดยใช้ไพรเมอร์ forward primer: 5'-ACATTAAATTATATGCCCCATGC-3' และ reverse primer: 5'-AGCTCGTGATCTAATGGTAAGGA ซึ่งองค์ประกอบของปฏิกิริยา PCR ที่ใช้ มีรายละเอียดดังนี้คือ สารละลายตัวอย่างดีเอ็นเอ จำนวน 4 μ l สารละลาย 10X PCR buffer จำนวน 2.5 μ l สารละลาย $MgCl_2$ (25 mM) จำนวน 1.5 μ l, dNTPs จำนวน 0.5 μ l ไพรเมอร์ forward และ reverse จำนวนอย่างละ 0.4 μ l และ Taq DNA Polymerase (5 unit / μ l) จำนวน 0.2 μ l เติมน้ำกลั่นให้ครบ 25 μ l สำหรับโปรแกรมควบคุมปฏิกิริยา PCR เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 94 °C นาน 3 นาที และตามด้วยอุณหภูมิ 94 °C นาน 30

วินาที / 48 °C นาน 30 วินาที / 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 38 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 72 °C นาน 5 นาที ผลผลิต PCR ที่ได้ ไปตรวจสอบคุณภาพบน agarose gel electrophoresis ที่ความเข้มข้น 2% ใน สารละลาย 1X TAE buffer

ตารางที่ 3-1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ของไมโครแซทเทลไลต์สำหรับใช้ศึกษาความหลากหลายในโคพื้นเมือง

No	Locus	Primer	Tm	Size	Chromosome
1	ETH152	TACTCGTAGGGCAGGCTGCCTG GAGACCTCAGGGTTGGTGATCAG	59	191-211	5
2	ETH225	GATCACCTTGCCACTATTTCTT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	57	140-160	9
3	HEL1	AGTCCATGGGATTGAAAGAGTTGG CTTTTATTCAACAGCTATTTAACAAGG	55	101-117	15
4	HRH1	GGCTTCAACTCACTGTAACACATT TTCTTCAAGTATCACCTCTGTGGCC	55	180-190	22
5	ILSTS001	GGTGCTGTTATCTAGAATTTGG GGAGTCATACACAACCTGAGC	58	77-97	7
6	ILSTS005	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC TGTTCTGTGAGTTTGTAAAGC	55	181-193	10
7	ILSTS014	CTGACTATGGTGATAATCCC TCTTTTCCCTTTCCCTTCCCC	58	128-134	19
8	OCAM	CCTGACTATAATGTACAGATCCCTC GCAGAATGACTAGGAAGGATGGCA	57	178-190	25
9	BM2113	GCTFCCTTCTACCAAATACCC CTTCCTGAGAGAAGCAACACC	55	123-147	2
10	BOLADRB2	AGGCAGCGCCGAGGTGAGCGA TCCAACACTCACCTGGACGTAGC	60	144-152	23
11	ETH131	GTGGACTATAGACCATAAGGTC GCTGTGATGGTCTACGAATGA	55	138-168	21
12	HEL5	GGTAATGGTTTTTCAGACGTTAGTG GTAGCAGGATCACTTGTTAGGG	54	161-181	21
13	RBP3	TGTATGATCACCTTCTATGCTTC GCTTTAGGTAATCATCAGATAGC	55	141-153	28
14	TGLA116	GCACAGTAAGAGTGATGGCAGA TGGAGAAGATTTGGCTGTGTACCCA	57	79-85	4
15	BM203	GGGTGTGACATTTTGTTCCTC CTGCTCGCCACTAGTCCTTC	58	100-120	3
16	HUJII77	TCCATCAAGTATTTGAGTGCAA ATAGCCCTACCCACTGTTTCTG	58	120-140	3
17	TGLA153	GGAGTGGGAGAAAGGVTCAAA TGCTTTACAGTGTTGTGTTAGTTT	60	119-153	20
18	IGF1	GCTTGGATGGACCATGTTG CACTTGAGGGGCAAATGATT	48	225-231	5
19	CSSM065	TTCTGCTTGGTGAACTTTGAAC CAACTCAAGTTCAACAGCAGCC	58	154-174	6
20	UWCA9	CCTTCTCTGAATTTTGTGAAAGC GGACAGAAGTGAGTGACTGAGA	58	83-107	9

ผลผลิต PCR ของแถบ DNA ไมโตคอนเดรียในบริเวณ D-loop ที่ได้ถูกเชื่อม (ligated) เข้ากับเวกเตอร์ pGEM-T easy (Promega) โดยมีองค์ประกอบดังนี้ สารละลาย 2X Rapid Ligation buffer จำนวน 2.5 μ l pGEM-T easy vector จำนวน 0.5 μ l ผลผลิต PCR ของ D-loop จำนวน 1.5 μ l และเอนไซม์ T4 DNA ligase (3 unit/ μ l) จำนวน 0.5 μ l ส่วนผสมถูกบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ซ้ำมคืน หลังจากนั้นนำเอาส่วนผสมของปฏิกิริยา Ligation ที่ได้ ไปทำ transformation ด้วยวิธี heat shock โดยใช้ 5 α -DH *Escherichia coli* competent cells เป็น host ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้ ส่วนผสมจากปฏิกิริยา Ligation จำนวน 5 μ l ถูกผสมเข้ากับเซลล์ DH5 α -*Escherichia coli* competent cells จำนวน 50 μ l และนำไปแช่บนน้ำแข็ง นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำส่วนผสมดังกล่าวไปแช่ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 42 °C นาน 90 วินาที และนำกลับไปแช่บนน้ำแข็งต่ออีก 2 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย LB-broth จำนวน 600 μ l และนำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 rpm อุณหภูมิ 37 °C นาน 90 นาที นำส่วนแบคทีเรียดังกล่าวจำนวน 300 μ l ไปเทลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ LB-agar ที่มี ampicillin, X-gal และ IPTG หลังจากนั้นนำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37°C ซ้ำมคืน คัดเลือกโคโลนีที่มีสีขาวจำนวน 3 โคโลนี จากแต่ละตัวอย่างดีเอ็นเอของโคพื้นเมือง เพื่อนำไปตรวจสอบหาชิ้นส่วนของแถบดีเอ็นเอ D-loop ที่ถูกเชื่อมเข้ากับ vector โดยใช้ปฏิกิริยา PCR ซึ่งมีองค์ประกอบดังนี้ สารละลายแบคทีเรีย จำนวน 10 μ l, สารละลาย 10X PCR buffer จำนวน 2 μ l, สารละลาย MgCl₂ (25 mM) จำนวน 1.2 μ l, dNTPs จำนวน 0.5 μ l, ไพรมเมอร์ forward และ reverse จำนวนอย่างละ 0.4 μ l และ Taq DNA Polymerase จำนวน 0.1 μ l เติมน้ำกลั่นให้ครบ 20 μ l สำหรับโปรแกรมควบคุมปฏิกิริยา PCR เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 94 °C นาน 5 นาที และตามด้วยอุณหภูมิ 94 °C นาน 30 วินาที / 58 °C นาน 30 วินาที / 72 °C นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 72 °C นาน 5 นาที ผลผลิต PCR ที่ได้ถูกนำไปตรวจสอบขนาดบน agarose gel electrophoresis ที่ความเข้มข้น 1% ในสารละลาย 1 x TAE โดยเปรียบเทียบกับโคโลนีที่ไม่มีชิ้นส่วนของ D-loop เชื่อมอยู่ สำหรับโคโลนีของแบคทีเรียที่มีชิ้นส่วน D-loop อยู่ ถูกนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยง LB-broth ที่มี ampicillin นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ ต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิ 37 °C ซ้ำมคืน เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรียให้มากขึ้น แบคทีเรียดังกล่าวถูกนำไปสกัด plasmid ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป GenElute™ Plasmid Miniprep Kit (Qiagen, Germany) สารละลาย plasmid DNA ถูกนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโตคอนเดรียในบริเวณ D-loop โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป GenomeLab™ DTCS Quick Start Kit (Beckman-Coulter, Fullerton, CA, USA) และไปอ่านผลลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Automated DNA sequencer (CEQ 8000 Genetic analysis system, Beckman-Coulter) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ถูกนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, Altschul et al., 1997)

3.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลแถบดีเอ็นเอของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลต์ จากโคพื้นเมืองที่ได้ ถูกวิเคราะห์ขนาดแถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA ladder) โดยใช้โปรแกรม GeneTool (SynGene, USA) พร้อมทั้งแปลง ข้อมูลแถบ DNA ให้อยู่รูป binary format (0 และ 1) โดย 0 หมายถึง ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ และ 1 หมายถึง ปรากฏแถบดีเอ็นเอของอัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ ณ ตำแหน่งความยาวของแถบดีเอ็นเอเดียวกัน ข้อมูลดังกล่าวถูกนำไปคำนวณค่าความถี่อัลลีล (allele frequency),

heterozygosity และ power of discrimination เพื่อวัดประสิทธิภาพของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลต์ ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของโคพื้นเมือง โดยสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{ความถี่อัลลีล } A_i = P_{ii} + \frac{1}{2} \sum_{j \neq i} P_{ij} \quad (\text{Halliburton, 2004})$$

เมื่อ A_i คือ ความถี่ของอัลลีล A ของเครื่องหมายโมเลกุลที่ตำแหน่ง i

โดยที่ P_{ii} คือความถี่ของ homozygous $A_i A_i$

และ P_{ij} คือความถี่ของ heterozygous $A_i A_j$

$$\text{Heterozygosity } (H_o) = \sum_{j \neq i} P_{ij} \quad (\text{Halliburton, 2004})$$

เมื่อ P_{ij} คือ ค่าสังเกตความถี่ heterozygous $A_i A_j$

$$\text{และค่า Expected heterozygosity } (H_e) = 1 - \sum_{i=1}^N P_i^2 \quad (\text{Frankham et al., 2003})$$

เมื่อ P_i คือ ความถี่ ของ อัลลีลที่ i ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลต์

$$\text{สำหรับ ค่า Power of discrimination } (P_D) = 1 - \sum g_i^2 \quad (\text{Tessier et al., 1999})$$

เมื่อ g_i ความถี่ของ genotype g_i ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลต์ ซึ่งค่า P_D ของเครื่องหมายโมเลกุลนั้น บ่งบอกถึง โอกาสที่สุ่มสัตว์สองตัวใดๆ ที่มี genotype ต่างกัน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่า โอกาสที่เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลต์ สามารถแยกสัตว์สองตัวใดๆ ออกจากกันได้

นอกจากนี้ค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ถูกวัดในรูปของค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) และถูกนำไปสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูป Phylogenetic tree ตามวิธี Unweight pair group mean arithmetic method analysis (UPGMA) โดยใช้โปรแกรม NTSYS 2.01d (Rolf, 1997) และความผันแปรทางพันธุกรรมของไมโครแซเทลไลต์ ถูกนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ในรูปของ Principal component analysis (PCA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows version 10.0

สำหรับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ, ถูกนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยเปรียบเทียบกับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของโคพันธุ์ต่างๆ (*Bos taurus* และ *Bos indicus*) ในฐานข้อมูลของ GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ซึ่งประกอบด้วย Red Chittagong (GenBank accession no. DQ985443), Bhutanese native cattle (AB268581), American Brahman (AB079327), Charolais (U51817), Japanese Black cattle (U87633), Holstein Fresian (U51818) ตามลำดับ ข้อมูลดังกล่าวถูกนำไปสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูป Phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม MULTALIN multiple alignment (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/align_multalin.pl)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ข้อมูลสัตว์ทดลอง

ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ และไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากชุดโครงการ “การศึกษาผลผลิตและระบบการผลิตโคพื้นเมืองของเกษตรกร” โดยการสนับสนุนของทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ซึ่งถูกเก็บจากพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง และ พิชณุโลก นอกจากนี้ตัวอย่างดีเอ็นเอของโคชาวลำพูน และโคนมพันธุ์ถูกใช้เป็นตัวเปรียบเทียบในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโค ซึ่งโคพื้นเมืองแต่ละแหล่ง ถูกแบ่งกลุ่มดังนี้

4.1.1 โคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่-แพร่ ถูกเก็บตัวอย่างจากเขตอำเภอเชียงดาว และอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และโคในพื้นที่จังหวัดแพร่ จำนวน 10 และ 5 ตัว ตามลำดับ (ภาพที่ 4-1)

4.1.2 โคพื้นเมืองในเขตจังหวัดลำพูน-ลำปาง ถูกเก็บตัวอย่างจากเขตอำเภอบ้านธิ จังหวัดลำพูน และ อำเภอเกาะคา อำเภอวังเหนือ และอำเภอแจ้ห่ม จากจังหวัดลำปาง (ภาพที่ 4-2) โดยโคพื้นเมืองจากจังหวัดลำพูน และลำปาง มีจำนวน 7 และ 11 ตัว ตามลำดับ

4.1.3 โคพื้นเมืองในเขตจังหวัดพิษณุโลก ถูกเก็บตัวอย่างจากเขตอำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 5 ตัว (ภาพที่ 4-3)

4.1.4 โคชาวลำพูน ตัวอย่างดีเอ็นเอของโคชาวลำพูน จำนวน 7 ตัว จากฝูงประชากร ของภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ภาพที่ 4-4)

4.1.5 โคนมพันธุ์แท้ ตัวอย่างดีเอ็นเอ ของโคนมพันธุ์ Holstein Freisain ของสถานีวิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งถูกนำเข้ามาจากประเทศแคนาดา เมื่อประมาณ 15 ปีก่อน จำนวน 2 ตัวอย่าง ถูกใช้เป็นตัวเปรียบเทียบในการศึกษาความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop)



ภาพที่ 4-1 ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ และแพร่



ภาพที่ 4-2 ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดลำพูน และลำปาง



ภาพที่ 4-3 ตัวอย่างโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดพิษณุโลก



ภาพที่ 4-4 ตัวอย่างโคขาวลำพูน จากภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.2 ผลการวิเคราะห์ genotype ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์

การวิเคราะห์ genotype เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ถูกศึกษาเฉพาะในโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัด เชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง และพิษณุโลก รวมจำนวน 38 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับโคชาวลำพูน (มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) จำนวน 5 ตัว โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 20 คู่ ผลการวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ประกอบด้วย ขนาดของอัลลีล (allele size) จำนวนอัลลีล (number of allele) ค่า heterozygosity และค่า power of discrimination (PD) แสดงดังตารางที่ 4-1 โดยเครื่องหมายไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ มีขนาดอัลลีล ตั้งแต่ 85 – 272 คู่เบส (base pair) ทั้งนี้จำนวนอัลลีลที่ปรากฏทั้งหมด 119 อัลลีล โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 2-11 อัลลีล/ไพรเมอร์ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.95 อัลลีล/ไพรเมอร์ คู่ไพรเมอร์ให้จำนวนอัลลีลสูงสุด คือ HEL1 , ETH152 และ BM2113 ซึ่งมีจำนวนอัลลีลที่ปรากฏเท่ากับ 11, 9 และ 9 อัลลีล ตามลำดับ สำหรับคู่ไพรเมอร์ที่มีจำนวนอัลลีลอยู่ระหว่าง 6-8 อัลลีลต่อไพรเมอร์ มีจำนวน 8 ได้แก่ ETH225, HRH1, ILSTS001, ILSTS005, ETH131, HEL5, BM203 และ HUJII77 ซึ่งมีจำนวนอัลลีล 6, 7, 6, 8, 8, 6, 8, 8 และ 6 ตามลำดับ ส่วนคู่ไพรเมอร์ที่มีจำนวนอัลลีลต่ำกว่า 5 อัลลีลต่อไพรเมอร์ มีจำนวน 8 ไพรเมอร์ ได้แก่ ILSTS014, OCAM, BOLADRB2, RBP3, TGLA116, TGLA153, IGF1 และ CSSM065 ซึ่งมีจำนวนเท่ากับ 5, 4, 2, 5, 2, 3, 2 และ 4 อัลลีล ตามลำดับ

โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ มีค่า heterozygosity อยู่ระหว่าง 0.00-0.87 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.426 ซึ่งสามารถแบ่งได้ 4 กลุ่ม ดังนี้ คู่ไพรเมอร์ที่มีค่าสูงกว่า 0.75 ประกอบด้วย HRH1, ILSTS014, BM2113 และ BM203 ซึ่งมีค่า heterozygosity เท่ากับ 0.79, 0.87, 0.76 และ 0.87 ตามลำดับ ส่วนคู่ไพรเมอร์ที่มีค่า heterozygosity อยู่ระหว่าง 0.50-0.75 ประกอบด้วย ETH152, ILSTS005, ETH131, RBP3, HUJII77 และ UWCA9 มีค่าเท่ากับ 0.66, 0.55, 0.60, 0.57, 0.74 และ 0.50 ตามลำดับ สำหรับคู่ไพรเมอร์ที่มีค่า heterozygosity มีค่าน้อยกว่า 0.50 ได้แก่ ETH225, HEL1, ILSTS001, OCAM, HEL5, TGLA153 และ CSSM065 มีค่าเท่ากับ 0.24, 0.32, 0.45, 0.08, 0.22, 0.11 และ 0.18 ตามลำดับ นอกจากนี้คู่ไพรเมอร์ที่มีค่า heterozygosity เท่ากับ 0.00 มีจำนวน 3 คู่ไพรเมอร์ ประกอบด้วย BOLADRB2, TGLA116 และ IGF1

ชุดไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีค่า power of discrimination (PD) อยู่ระหว่าง 0.50–0.94 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.81 (ดังตารางที่ 4-1) โดยคู่ไพรเมอร์ที่มีค่า power discrimination สูงมากกว่า 0.90 มีจำนวน 5 คู่ไพรเมอร์ ประกอบด้วย ETH152, BM2113, ETH131, BM203 และ HUJII77 มีค่า PD เท่ากับ 0.93, 0.92, 0.91, 0.93, และ 0.94 ตามลำดับ สำหรับคู่ไพรเมอร์ที่มีค่า PD อยู่ระหว่าง 0.70-0.90 มีจำนวน 12 คู่ไพรเมอร์ ประกอบด้วย ETH225, HEL1, HRH1, ILSTS001, ILSTS005, ILSTS014, OCAM, HEL5, RBP3, TGLA153, CSSM065 และ UWCA9 ซึ่งมีค่า PD เท่ากับ 0.79, 0.86, 0.85, 0.86, 0.89, 0.77, 0.76, 0.85, 0.89, 0.77, 0.73 และ 0.88 ตามลำดับ ส่วนคู่ไพรเมอร์ที่มีค่า PD น้อยกว่า 0.70 มีจำนวน คู่ไพรเมอร์เท่านั้น คือ BOLADRB2, TGLA116 และ IGF1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.63, 0.50 และ 0.59 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มโคพื้นเมืองจากแหล่งต่างๆ ของเขตภาคเหนือ พบว่าโคพื้นเมืองในแต่ละแหล่ง มีจำนวนอัลลีลที่ปรากฏอยู่ระหว่าง 3.95 – 6.55 อัลลีลต่อไพรเมอร์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.23 อัลลีลต่อไพรเมอร์ (ตารางที่ 4-2) ซึ่งโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดลำปางมีจำนวนอัลลีลเฉลี่ยสูงสุด

ตารางที่ 4-1 ขนาดอัลลีล จำนวนอัลลีล ความถี่อัลลีล ค่า observe Heterozygosity (H_o) และ ค่า Power of discrimination ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ

ไพรเมอร์	ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล	H_o	Power of Discrimination
ETH152	161-245	9	0.66	0.93
ETH225	144-170	6	0.24	0.79
HEL1	114-164	11	0.32	0.86
HRH1	174-211	7	0.79	0.85
ILSTS001	85-130	6	0.45	0.86
ILSTS005	200-272	8	0.55	0.89
ILSTS014	133-167	5	0.87	0.77
OCAM	176-192	4	0.08	0.76
BM2113	98-219	9	0.76	0.92
BOLADRB2	152-166	2	0.00	0.63
ETH131	149-235	8	0.60	0.91
HEL5	180-255	6	0.22	0.85
RBP3	140-175	5	0.57	0.89
TGLA116	86-93	2	0.00	0.50
BM203	123-248	8	0.87	0.93
HUJII77	109-221	8	0.74	0.94
TGLA153	130-178	3	0.11	0.77
IGF1	223-227	2	0.00	0.59
CSSM065	163-211	4	0.18	0.73
UWCA9	93-155	6	0.50	0.88

ตารางที่ 4-2 ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อไพรเมอร์ ค่า observed Heterozygosity และ ค่า expected Heterozygosity ของไมโครแซทเทลไลต์ ภายในกลุ่มโคพื้นเมืองจากเขตภาคเหนือ

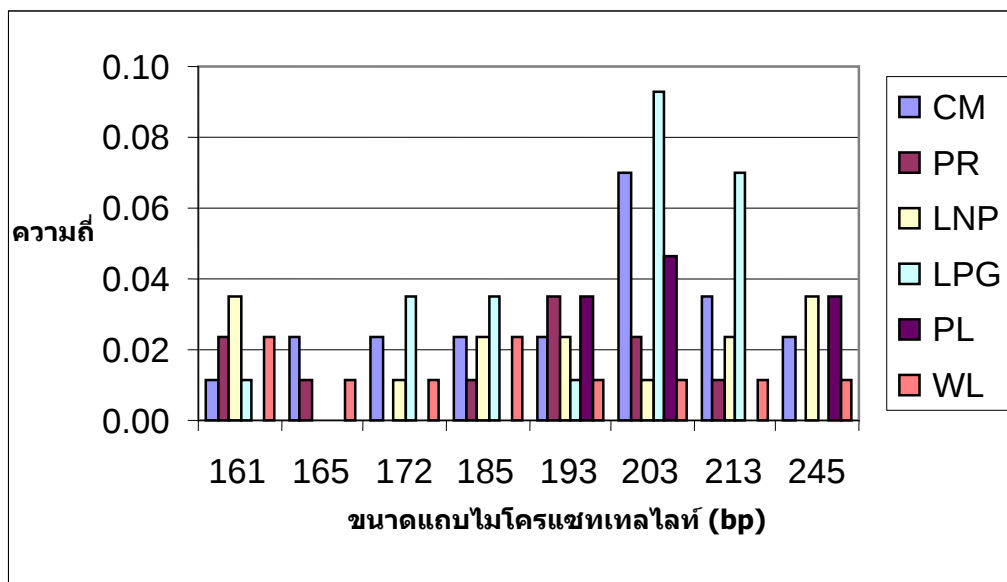
กลุ่มโคพื้นเมือง	จำนวนสัตว์	ไพรเมอร์	ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อ	
			Heterozygosity	
			Observe	Expected
เชียงใหม่	10	6.15	0.39	0.78
แพร่	5	3.95	0.45	0.74
ลำพูน	7	6.10	0.48	0.80
ลำปาง	11	6.55	0.39	0.75
พิษณุโลก	5	4.40	0.51	0.77
โคขาวลำพูน	5	4.25	0.54	0.73

เท่ากับ 6.55 อัลลีลต่อไพรเมอร์ ส่วนโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน พิชณุโลก และโคขาวลำพูน มีค่าเฉลี่ย 6.15, 6.10, 4.40 และ 4.25 อัลลีลต่อไพรเมอร์ ตามลำดับ สำหรับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่มีค่าเฉลี่ยต่ำสุด เท่ากับ 3.95 อัลลีลต่อไพรเมอร์ (ตารางที่ 4-2) ส่วนค่า observed heterozygosity ของเครื่องหมายไมโครแซเทลไลท์จำนวน 20 ตำแหน่ง ภายในกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือแต่ละแหล่ง มีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 0.386–0.540 ในขณะที่ค่า expected heterozygosity ของโคพื้นเมืองมีค่าอยู่ระหว่าง 0.73–0.80

4.3 การกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ

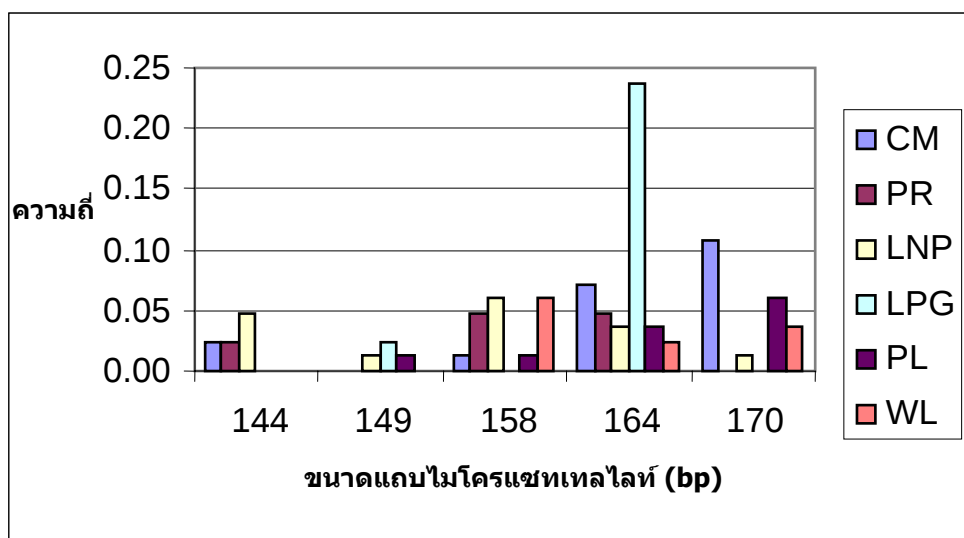
เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง และโคขาวลำพูน มีการกระจายตัวของขนาดอัลลีล โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.3.1 เครื่องหมายโมเลกุล ETH152 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 161-245 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 8 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 161-245 bp มีรูปแบบอัลลีล 8 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.07 โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 161-213 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีล ตั้งแต่ 0.01-0.03 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 161-245 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.03 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 161-213 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 193-245 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.03-0.05 ส่วนโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 161-245 bp มีรูปแบบอัลลีล 8 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.02 (ดังภาพ 4-5)



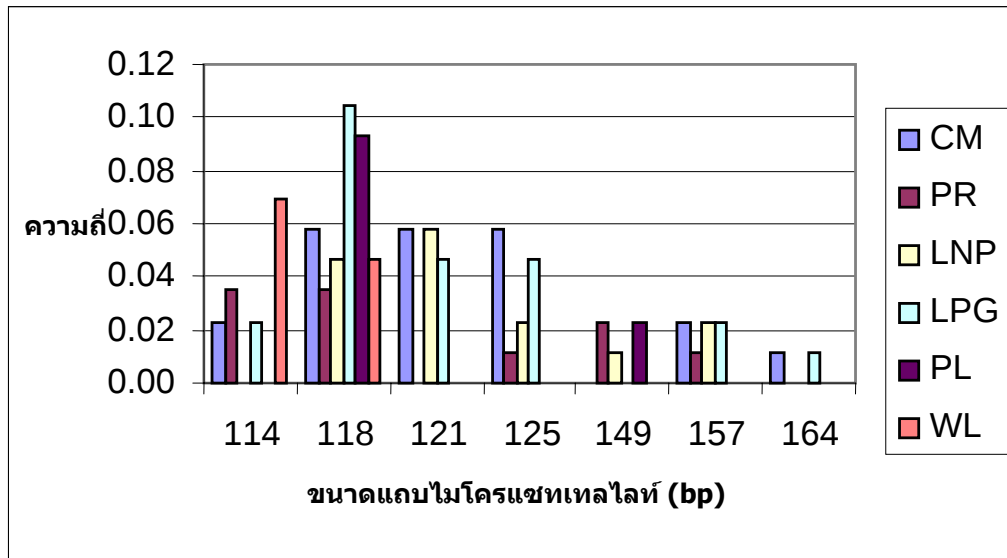
ภาพที่ 4-5 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซเทลไลท์ ETH152 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน(LPN) ลำปาง(LPG) พิชณุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

4.3.2 เครื่องหมายโมเลกุล ETH225 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือมีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 141-170 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 5 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.24 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 144-170 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.11 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 144-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 144-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 149-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 2 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.24 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีล ตั้งแต่ 149-170 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 และโคชาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 158-170 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.06 (ดังภาพ 4-6)



ภาพที่ 4-6 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ ETH225 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน(LPN) ลำปาง(LPG) พิษณุโลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL)

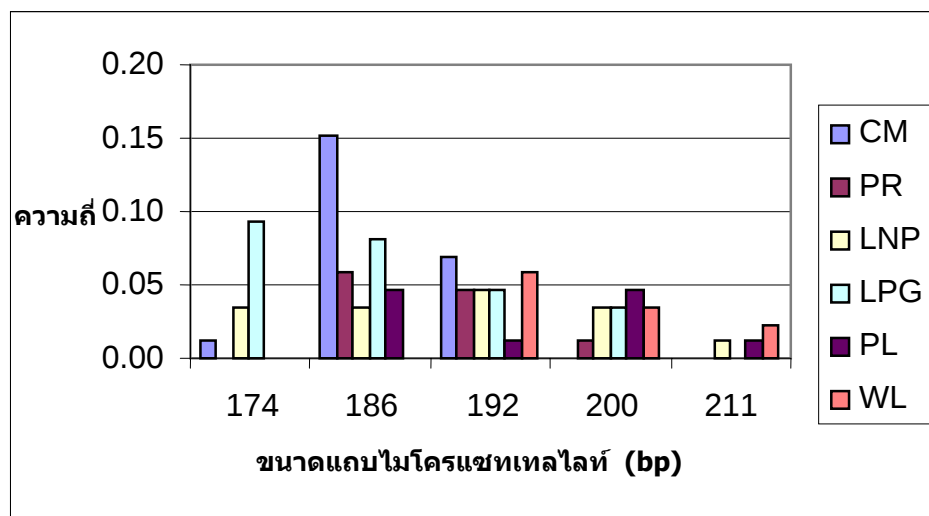
4.3.3 เครื่องหมายโมเลกุล HEL1 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือมีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 114-164 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.05-0.38 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 114-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 114-157 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.03 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 118-157 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 114-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.10 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีล 118 และ 149 bp มีความถี่อัลลีล 0.02 และ 0.09 ตามลำดับ และโคชาวลำพูนมีขนาดอัลลีล 114 และ 118 มีความถี่อัลลีล 0.07 และ 0.05 ตามลำดับ (ดังภาพ 4-7)



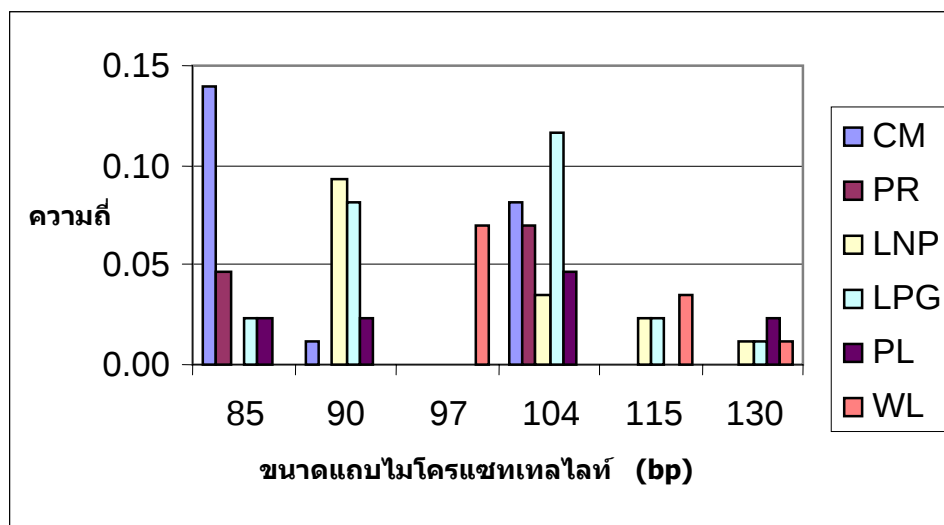
ภาพที่ 4-7 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ HEL1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

4.3.4 เครื่องหมายโมเลกุล HRH1 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือมีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 174-211 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.05-0.37 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 174-192 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.15 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 186-200 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 174-211 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 174-211 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 186-211 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 และโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 192-211 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.06 (ดังภาพ 4-8)

4.3.5 เครื่องหมายโมเลกุล ILSTS001 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 85-130 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.06-0.35 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 85-104 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.14 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีล 84 และ 104 bp มีความถี่อัลลีล 0.05 และ 0.07 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 90-130 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 85-130 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.12 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 85-130 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.05 และโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 97-130 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.07 (ดังภาพ 4-9)



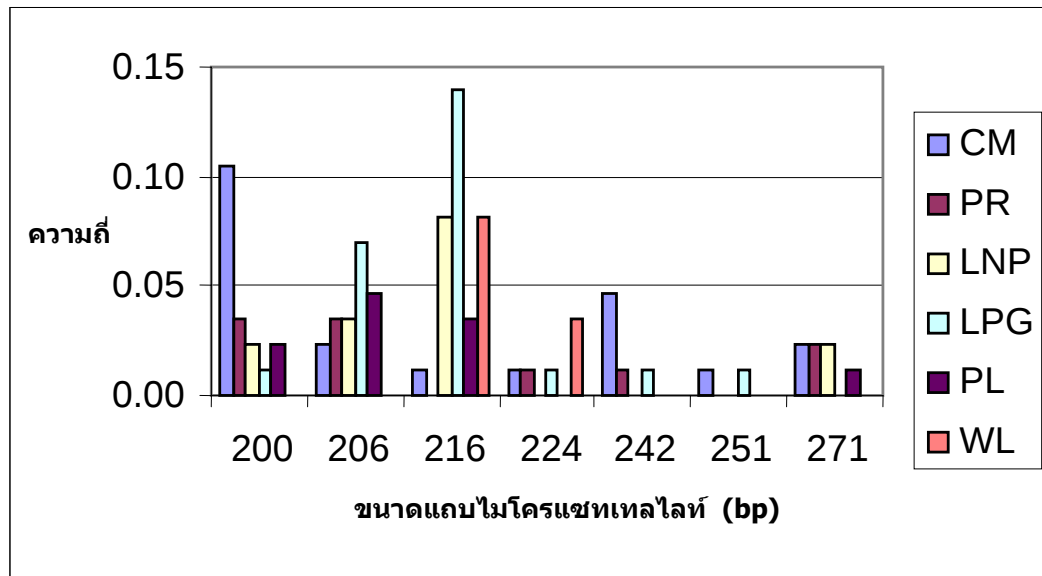
ภาพที่ 4-8 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HRH1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)



ภาพที่ 4-9 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS001 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

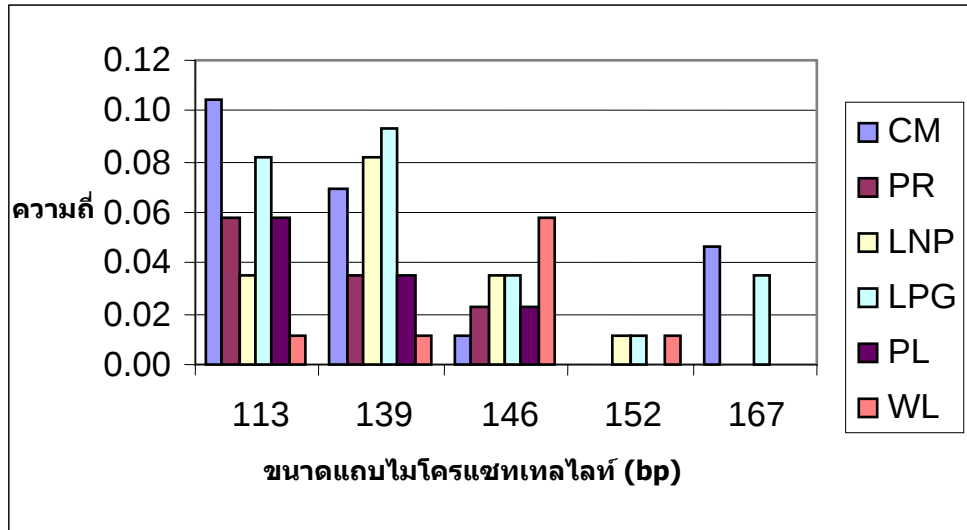
4.3.6 เครื่องหมายโมเลกุล ILSTS005 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 200-271 มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.35 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่ มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 200-270 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.10 โค

พื้นเมืองที่มาจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 200-271 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.03 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 200-271 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.08 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 200-251 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.14 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 200-271 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 และโคชาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 216-224 bp โดยพบรูปแบบอัลลีลจำนวน 2 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.03-0.08 (ดังภาพ 4-10)



ภาพที่ 4-10 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS005 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากเขต จังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL)

4.3.7 เครื่องหมายโมเลกุล ILSTS014 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 133-167 มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.032-0.35 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 133-167 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.10 โค พื้นเมืองที่มาจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 133-146 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 133-152 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.08 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 133-167 bp มีรูปแบบ อัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 133-146 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.06 และโคชาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 133-152 bp โดยพบรูปแบบอัลลีลจำนวน 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 (ดังภาพ 4-10)

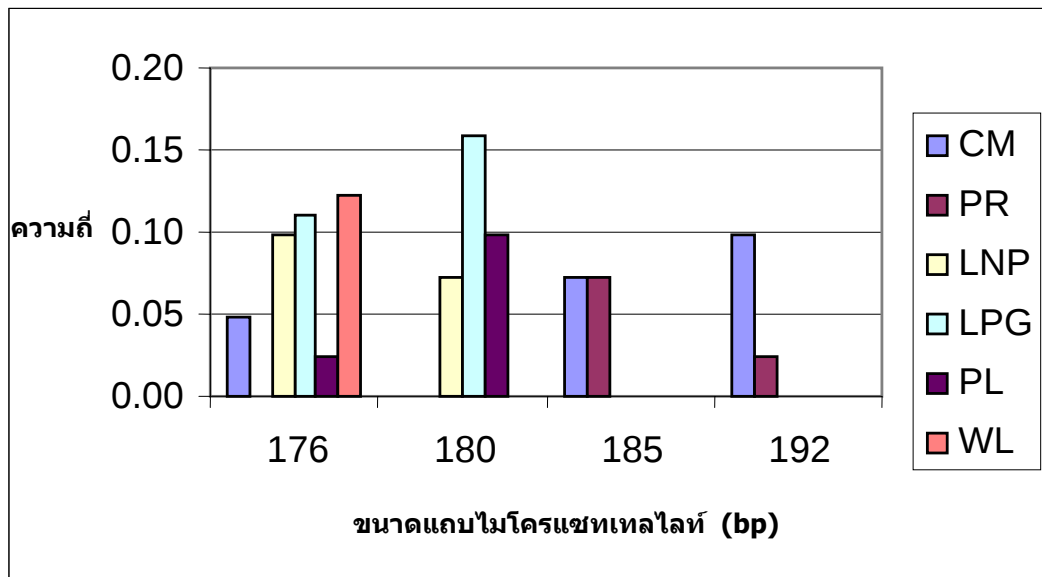


ภาพที่ 4-11 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ ILSTS014 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากเขต
จังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) และโคขาวลำพูน
(WL)

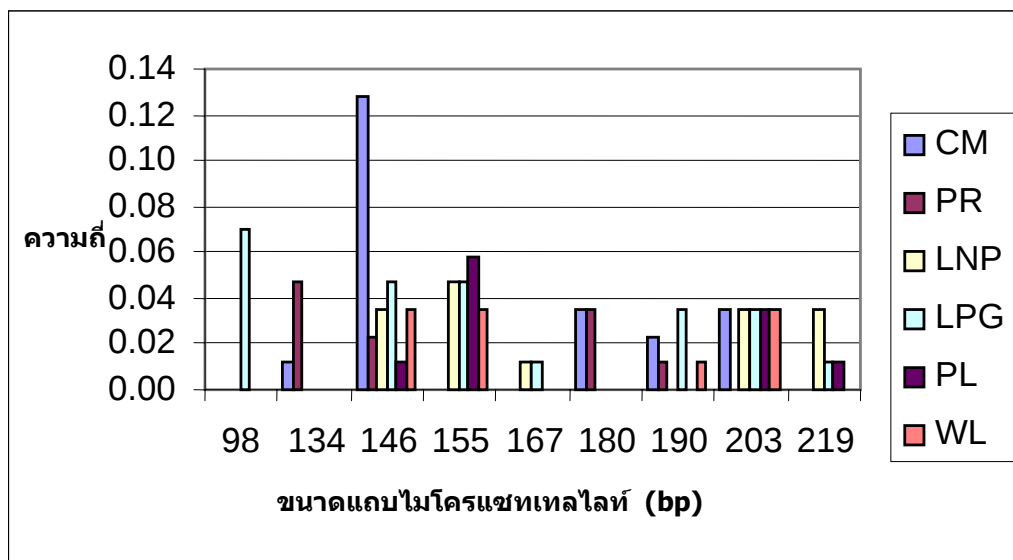
4.3.8 เครื่องหมายโมเลกุล OCAM ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 176-192 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 4 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.12-0.40 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 176-192 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.05-0.10 โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีล 185 และ 192 bp มีความถี่อัลลีล 0.07 และ 0.02 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีล 176 และ 180 bp มีความถี่อัลลีล 0.01 และ 0.07 ตามลำดับ ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางและพิษณุโลกมีขนาดอัลลีล 176 และ 180 bp โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีความถี่อัลลีล 0.11 และ 0.16 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีความถี่อัลลีล 0.02 และ 0.10 ตามลำดับ ส่วนโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีล 177 bp และมีความถี่อัลลีล 0.12 (ดังภาพ 4-12)

4.3.9 เครื่องหมายโมเลกุล BM2113 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 98-219 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 9 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.28 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 134-203 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.13 โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 134-190 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 146-219 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 98-219 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.07 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีล

ลิลตั้งแต่ 146-219 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 ส่วนโคชาวลำพูน มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 146-203 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.03 (ดังภาพ 4-13)

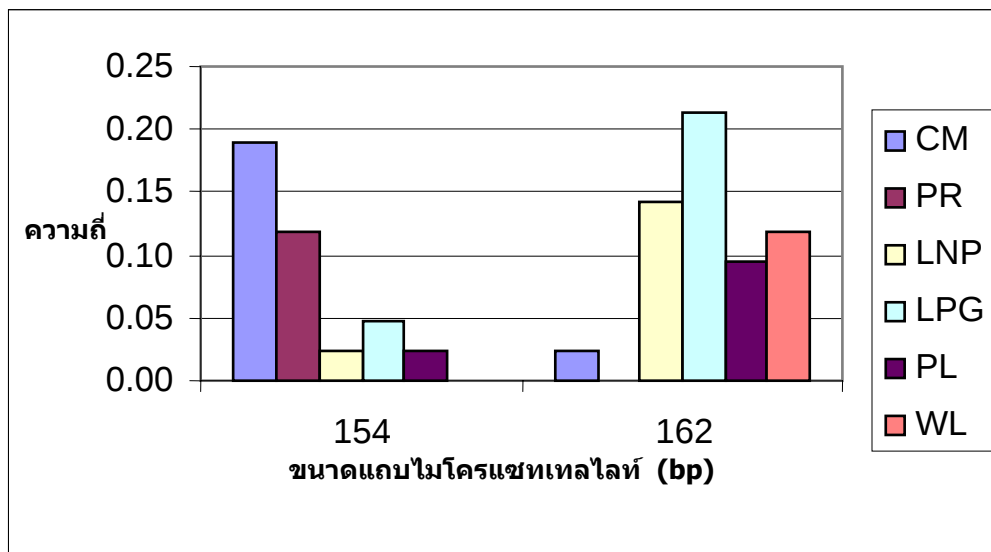


ภาพที่ 4-12 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ OCAM ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร์ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL)



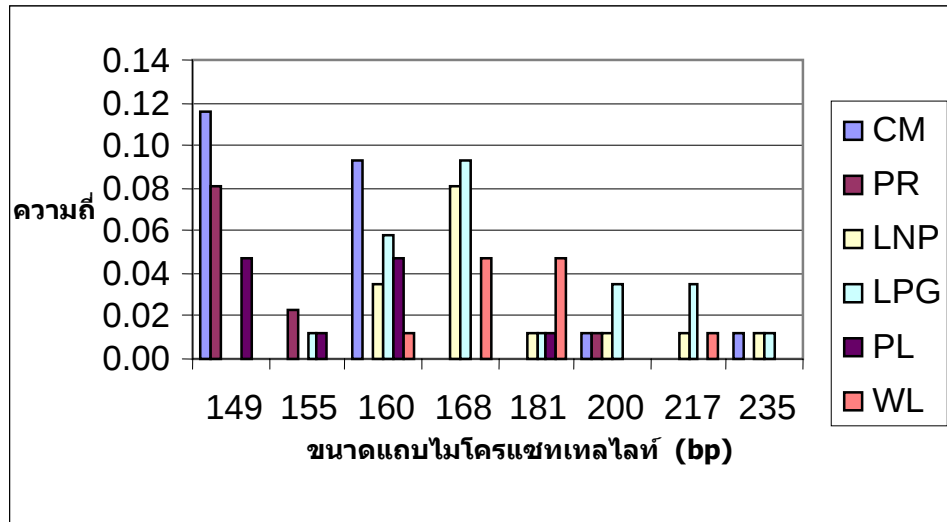
ภาพที่ 4-13 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ BM2113 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร์ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL)

4.3.10 เครื่องหมายโมเลกุล BOLADRB2 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 2 รูปแบบ มีอัลลีลขนาด 154 และ 162 bp มีความถี่อัลลีล 0.40 และ 0.60 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง และพิษณุโลกมี 2 รูปแบบ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีความถี่อัลลีล 0.19 และ 0.02 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีความถี่อัลลีล 0.02 และ 0.14 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีความถี่อัลลีล 0.05 และ 0.21 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีความถี่อัลลีล 0.02 และ 0.10 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปาง และโคชาวลำพูนมีรูปแบบอัลลีลเดียว คือ 154 bp และ 162 bp ตามลำดับ มีความถี่อัลลีล 0.12 และ 0.12 ตามลำดับ (ดังภาพ 4-14)



ภาพที่ 4-14 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ BOLADRB2 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL)

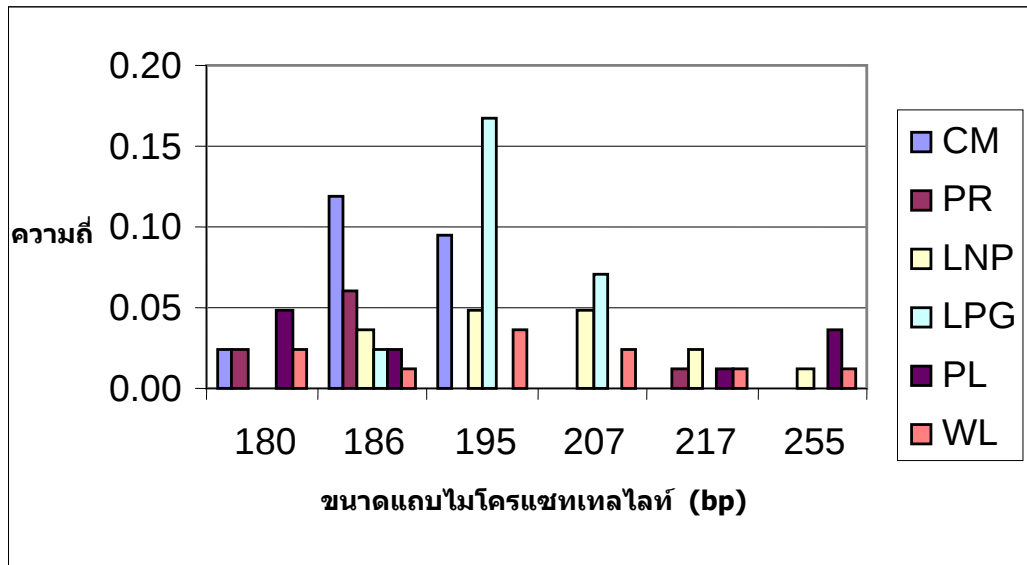
4.3.11 เครื่องหมายโมเลกุล ETH131 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 149-235 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 8 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.03-0.24 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 149-235 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 149-200 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีล ตั้งแต่ 0.01-0.08 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 160-217 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.08 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 155-235 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลก มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 149-181 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 ส่วนโคชาวลำพูน มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 160-217 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 (ดังภาพ 4-15)



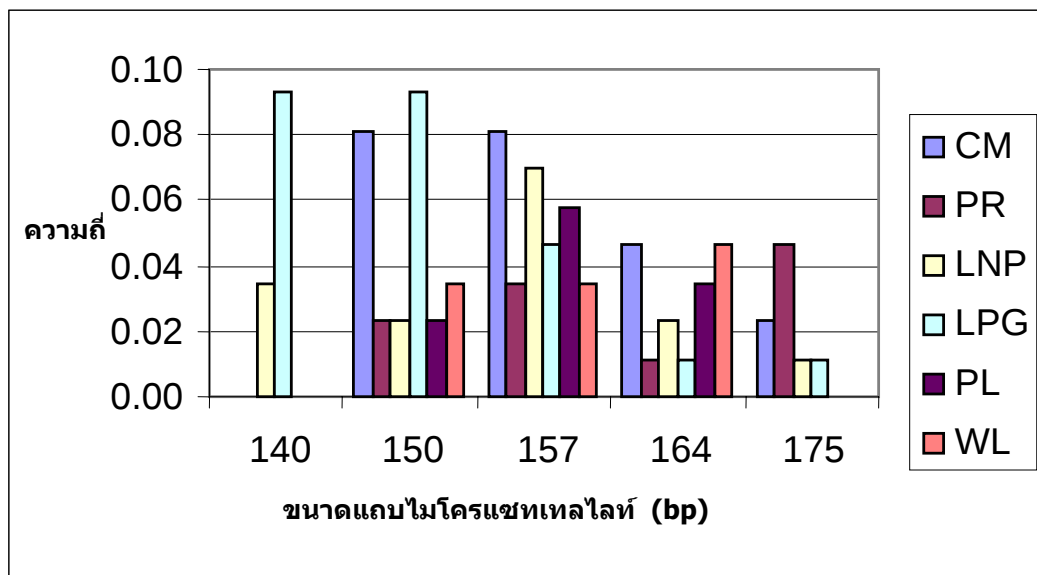
ภาพที่ 4-15 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ ETH131 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชญโลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL)

4.3.12 เครื่องหมายโมเลกุล HEL5 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 180-255 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 6 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.06-0.35 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 180-195 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.12 โค พื้นเมืองจากจังหวัดแพร่ มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 180-217 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีล ตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 186-255 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มี ความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 186-207 bp มี รูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.17 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิชญโลก มีขนาด อัลลีลตั้งแต่ 180-255 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 ส่วนโคชาวลำพูนมี ขนาดอัลลีลตั้งแต่ 180-255 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.04 (ดังภาพ 4-16)

4.3.13 เครื่องหมายโมเลกุล RBP3 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 140-175 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 5 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.09-0.33 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 150-175 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.08 โค พื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 150-175 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีล ตั้งแต่ 0.01-0.05 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 140-175 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มี ความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.07 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 140-175 bp มี รูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.09 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิชญโลก มี ขนาดอัลลีลตั้งแต่ 150-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.06 ส่วนโคชาวลำ พูน มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 150-164 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.03-0.05 (ดัง ภาพ 4-17)



ภาพที่ 4-16 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HEL5 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

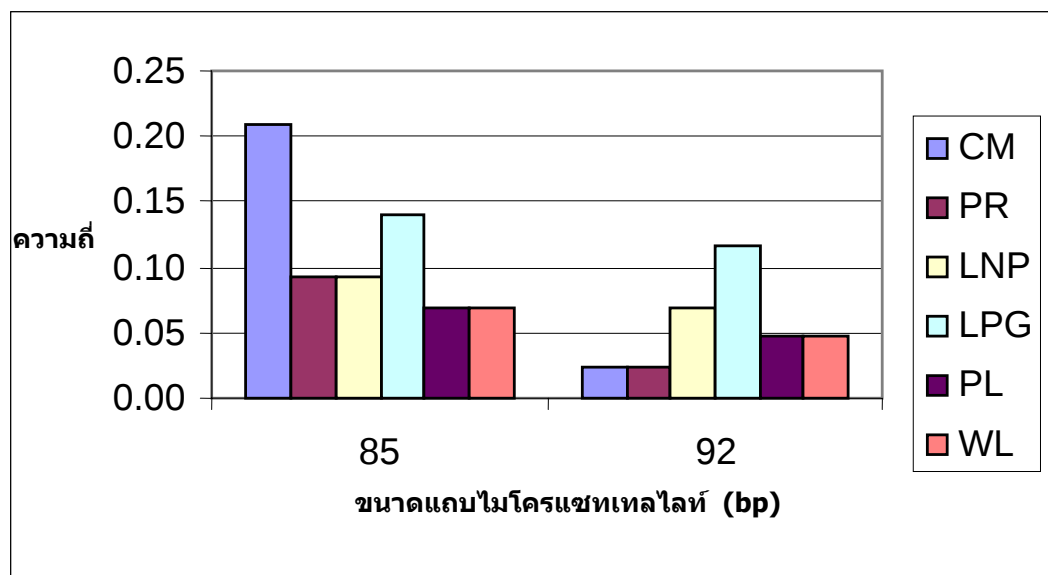


ภาพที่ 4-17 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ RBP3 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

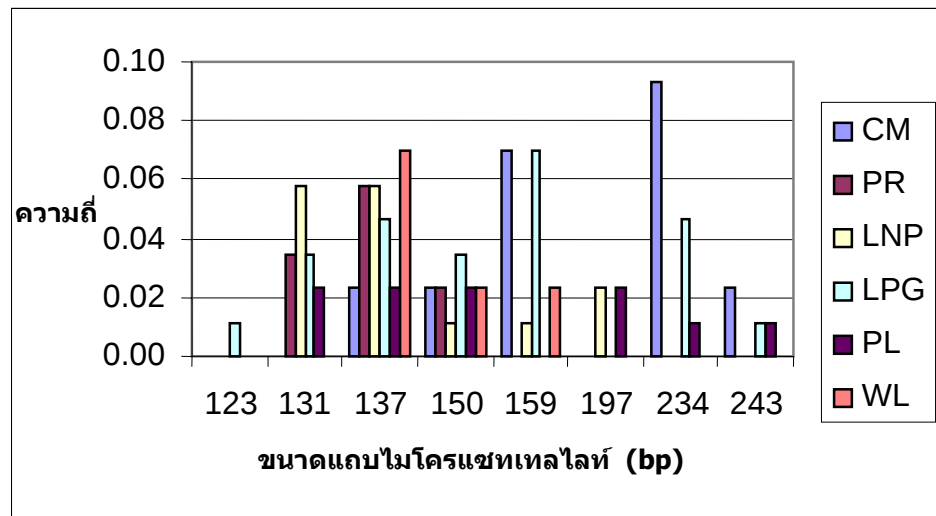
4.3.14 เครื่องหมายโมเลกุล *TGLA116* ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีรูปแบบอัลลีล ทั้งหมด 2 รูปแบบ ได้แก่ ขนาด 85 และ 92 bp โดยมีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.67 และ 0.33 ตามลำดับ โดยโคพื้นเมืองทุกแหล่งมีจำนวนรูปแบบอัลลีลเหมือนกันหมด โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีความถี่อัลลีล 0.21 และ 0.02 ตามลำดับ โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีความถี่อัลลีล 0.09 และ 0.02 ตามลำดับ โคพื้นเมือง

ที่มาจากจังหวัดลำพูนมีความถี่อัลลีล 0.09 และ 0.07 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีความถี่อัลลีล 0.14 และ 0.12 ตามลำดับ สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกและโคขาวลำพูนมีความถี่อัลลีลเท่ากันคือ 0.07 และ 0.05 ตามลำดับ (ดังภาพ 4-18)

4.3.15 เครื่องหมายโมเลกุล BM203 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 123-243 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 8 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.28 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 137-243 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.09 โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 131-150 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 131-197 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 123-243 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.07 สำหรับโคพื้นเมือง ที่มาจากจังหวัดพิษณุโลก มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 131-243 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.02 ส่วนโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 137-159 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.07 (ดังภาพ 4-19)



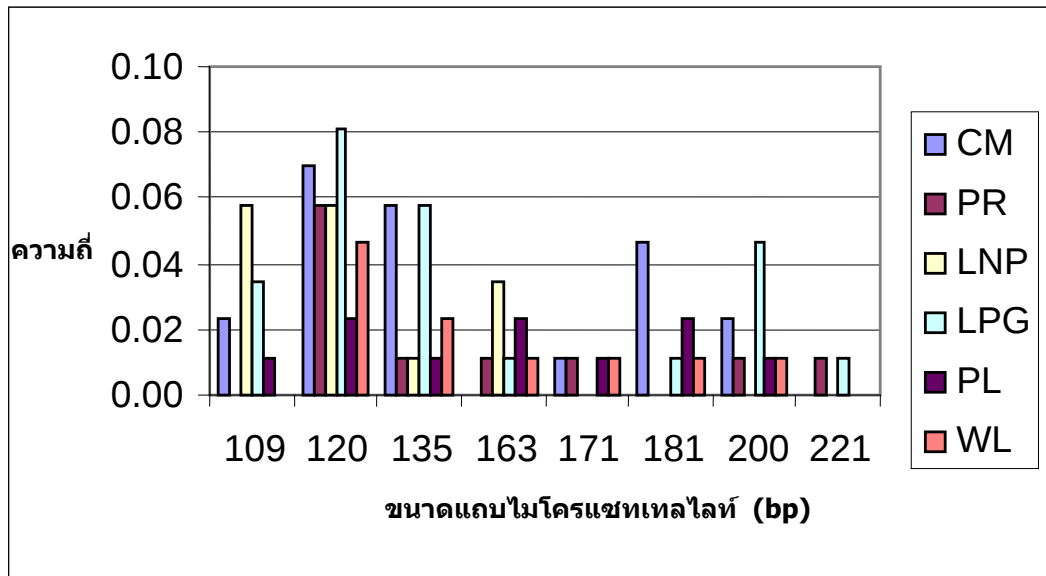
ภาพที่ 4-18 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ TGLA116 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจาก จังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)



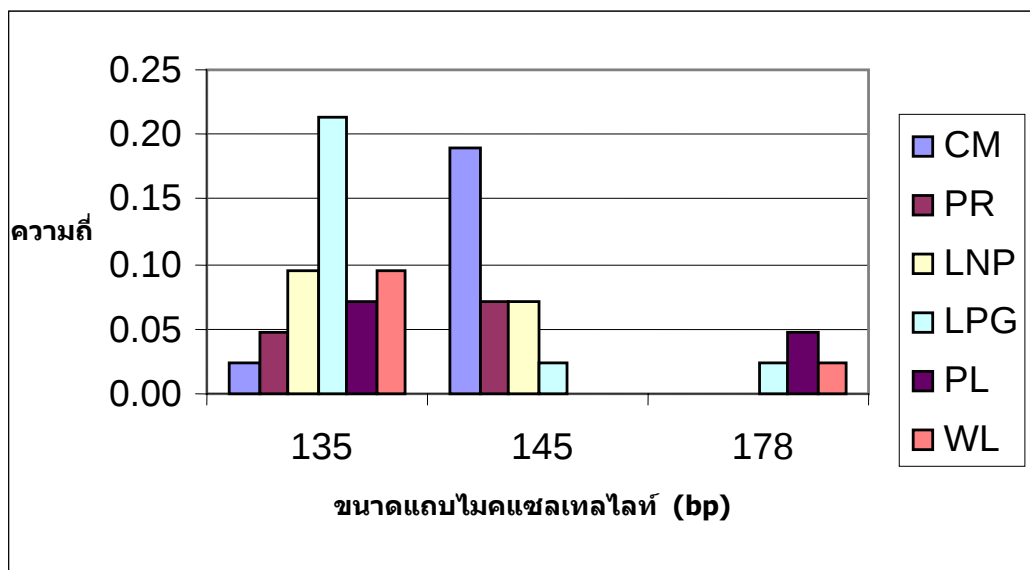
ภาพที่ 4-19 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ BM203 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

4.3.16 เครื่องหมายโมเลกุล *HUJII77* ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 109-221 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 8 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.34 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 109-200 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.07 โค พื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 120-221 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ มีความถี่อัลลีล ตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 109-163 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มี ความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 109-221 bp มี รูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.08 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลก มี ขนาดอัลลีลตั้งแต่ 109-200 bp มีรูปแบบอัลลีล 7 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีล 0.01-0.02 ตามลำดับ ส่วนโคขาว ลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 120-200 bp มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 (ดังภาพ 4-20)

4.3.17 เครื่องหมายโมเลกุล *TGLA153* ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 135-178 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 3 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.10-0.55 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่ มีขนาดอัลลีล 135 และ 145 bp มีความถี่อัลลีล 0.02 และ 0.19 ตามลำดับ โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่ มีขนาดอัลลีล 135 และ 145 bp มีความถี่อัลลีล 0.05 และ 0.07 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูน มี ขนาดอัลลีล 135 และ 145 bp มีความถี่อัลลีล 0.10 และ 0.07 ตามลำดับ ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด ลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 135-178 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.21 สำหรับโค พื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิษณุโลกมีขนาดอัลลีล 135 และ 178 bp มีความถี่อัลลีล 0.07 และ 0.05 ตามลำดับ ส่วนโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีล 135 และ 178 bp มีความถี่อัลลีล 0.10 และ 0.02 ตามลำดับ (ดังภาพ 4-21)



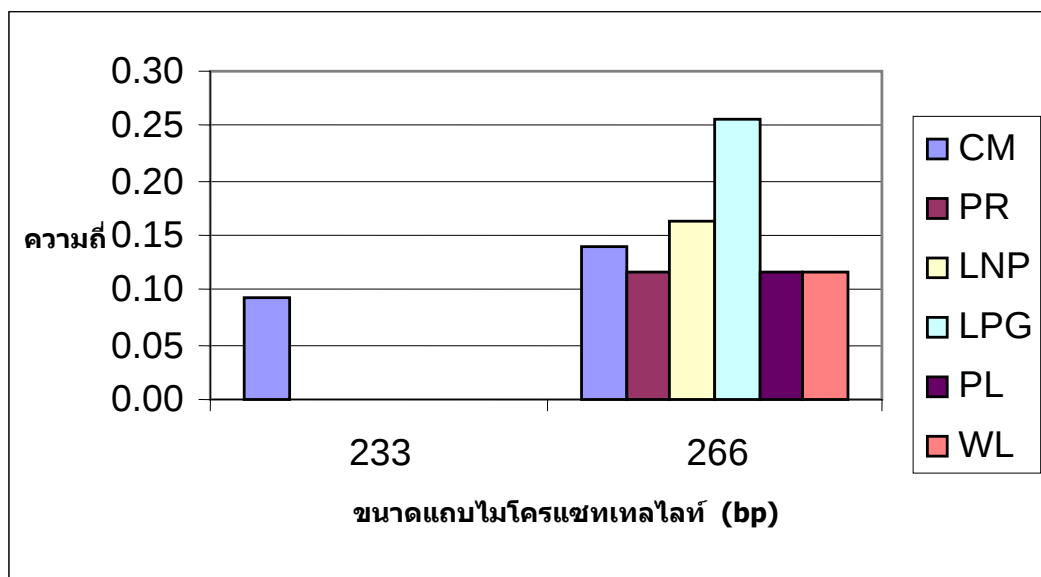
ภาพที่ 4-20 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ HUII77 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พะนุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)



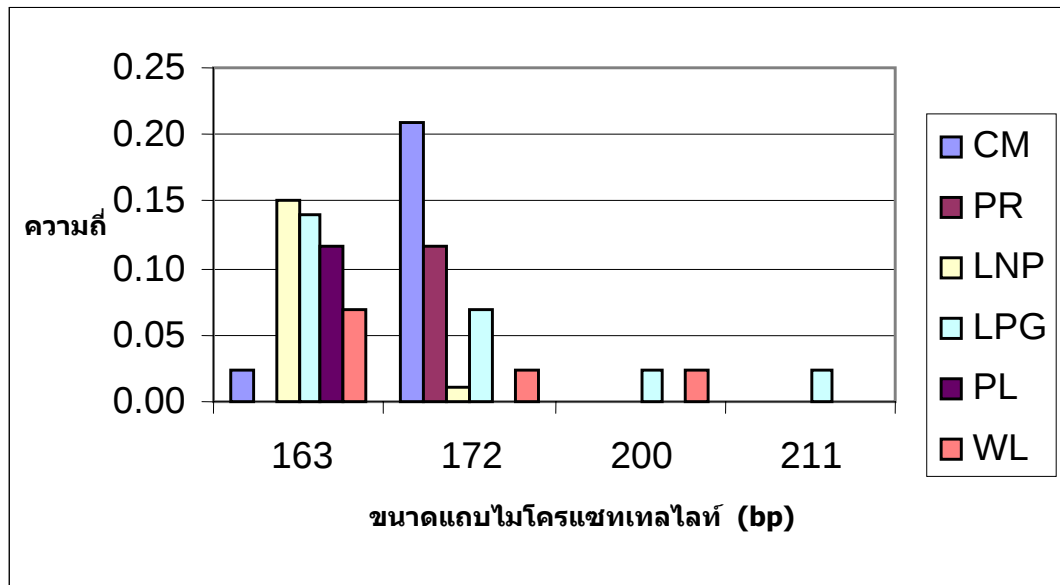
ภาพที่ 4-21 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลต์ TGLA153 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจาก จังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พะนุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

4.3.18 เครื่องหมายโมเลกุล IGF1 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ พบเพียง 2 อัลลีล โดยมีขนาดอัลลีลเท่ากับ 23 และ 266 bp มีความถี่อัลลีล 0.09 และ 0.91 ตามลำดับ โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่มีขนาดอัลลีล 223 และ 266 bp มีความถี่อัลลีล 0.09 และ 0.14 ตามลำดับ โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่ ลำพูน ลำปาง พะนุโลก และโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีล 226 bp เท่ากัน และมีความถี่อัลลีล 0.12, 0.16, 0.26, 0.12 และ 0.12 ตามลำดับ (ดังภาพ 4-22)

4.3.19 เครื่องหมายโมเลกุล CSSM065 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 163-211 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 4 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.50 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่ มีขนาดอัลลีล 163 และ 172 bp มีความถี่อัลลีล 0.02 และ 0.21 โคพื้นเมืองจากจังหวัดแพร่มีขนาดอัลลีล 172 bp มีความถี่อัลลีล 0.12 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูนมีขนาดอัลลีล 163 และ 172 bp มีความถี่อัลลีล 0.15 และ 0.01 ตามลำดับ ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปางมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 163-211 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.14 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพะนุโลก มีขนาดอัลลีล 163 bp มีความถี่อัลลีล 0.12 ส่วนโคขาวลำพูนมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 163-200 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.07 (ดังภาพ 4-23)



ภาพที่ 4-22 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ IGF1 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พะนุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

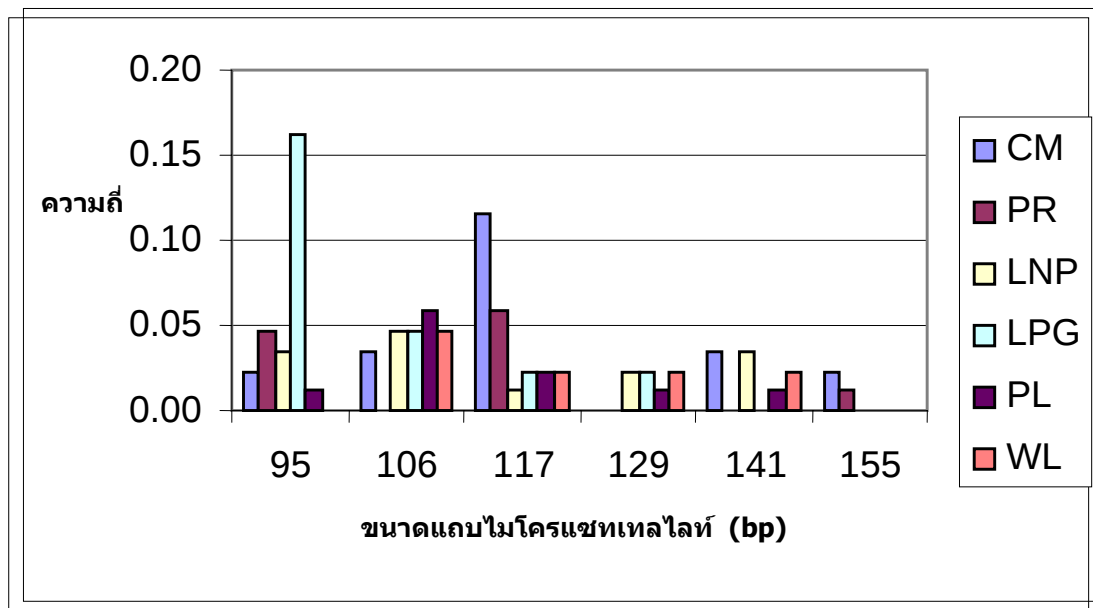


ภาพที่ 4-23 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ CSSMO65 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจาก จังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

4.3.20 เครื่องหมายโมเลกุล UWCA9 ของโคพื้นเมืองทั้งหมดในเขตภาคเหนือ มีอัลลีลขนาดตั้งแต่ 95-155 bp มีรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 6 รูปแบบ โดยมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.03-0.28 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 95-155 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.12 โค พื้นเมืองจากจังหวัดแพร่ มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 95-155 bp มีรูปแบบอัลลีล 3 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 โคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำพูน มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 95-141 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ มีความถี่ อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.05 ส่วนโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดลำปาง มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 95-129 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ มีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.16 สำหรับโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดพิชญ์โลก มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 95-141 bp มีรูปแบบอัลลีล 5 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.01-0.06 ส่วนโคขาวลำพูน มีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 106-141 bp มีรูปแบบอัลลีล 4 รูปแบบ และมีความถี่อัลลีลตั้งแต่ 0.02-0.05 (ดังภาพ 4-24)

4.4 ผลการวิเคราะห์ Phyogenic tree จากข้อมูลไมโครแซทเทลไลท์

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม จากข้อมูลไมโครแซทเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในเขต ภาคเหนือ ถูกแสดงอยู่ในรูปค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) แสดงดังตารางที่ 4-3 โดยค่า ระยะห่างทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือแต่ละแหล่ง มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0543-0.2233 โดยมี ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1323 โคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ และแพร่ มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.0543 ซึ่งแตกต่างจากโคพื้นเมืองกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดลำพูน มี ระยะห่างทางพันธุกรรมกับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดลำปาง เฉลี่ยเท่ากับ 0.0643 และมีค่าระยะห่างทาง พันธุกรรมกับโคขาวลำพูน และโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิชญ์โลก เท่ากับ 0.0715 และ 0.1102 ตามลำดับ



ภาพที่ 4-24 การกระจายตัวของอัลลีลไมโครแซทเทลไลท์ UWCA9 ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือจากจังหวัด เชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

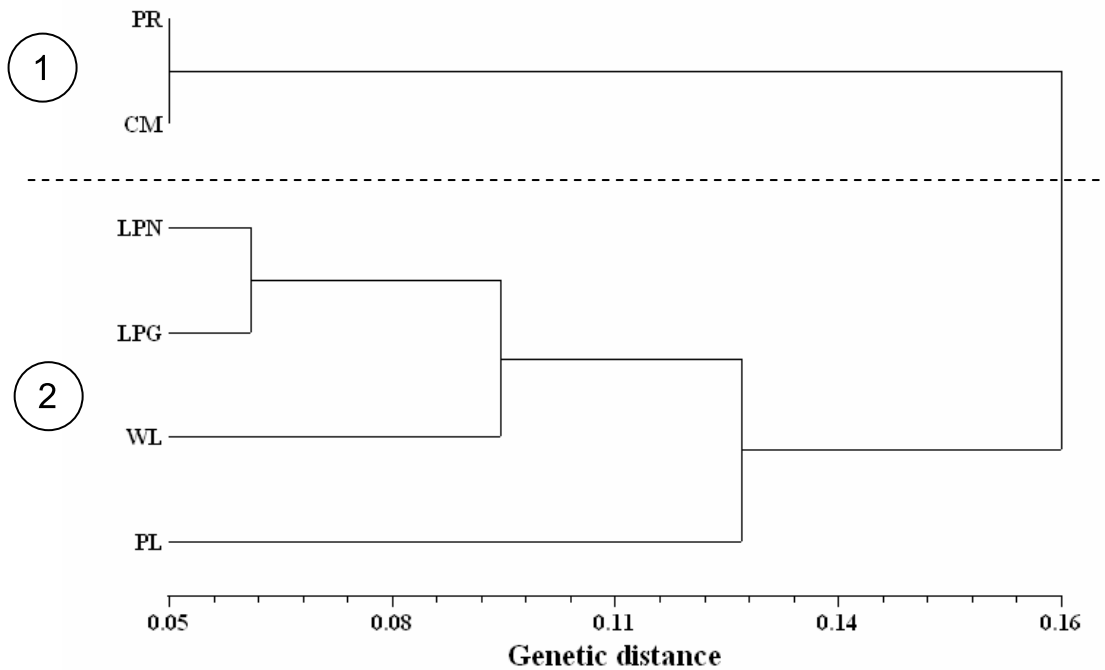
ตารางที่ 4-3 ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ระหว่างกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ

กลุ่มโคพื้นเมือง ¹	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
CM	0.0000					
PR	0.0543	0.0000				
LPN	0.1358*	0.1575*	0.0000			
LPG	0.1387*	0.1679*	0.0643*	0.0000		
PL	0.1448*	0.1499*	0.1102*	0.1008*	0.0000	
WL	0.1869*	0.2233*	0.0715*	0.1181*	0.1616*	0.0000

¹ โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชญ์โลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL)

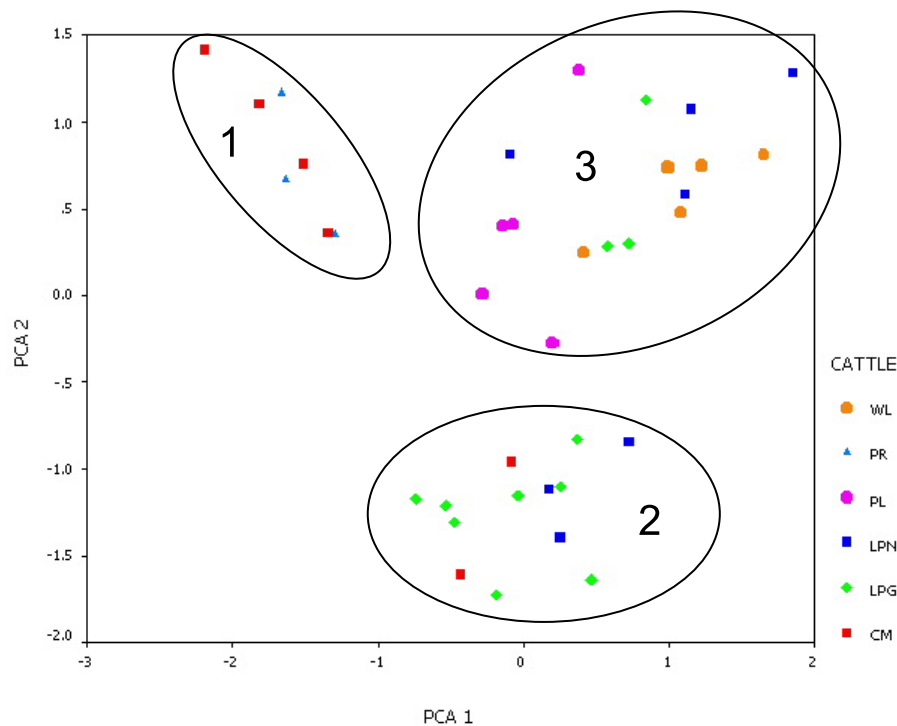
* $P < 0.001$

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูป phylogenetic tree โดยวิธี UPGMA สำหรับจัดกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ จากข้อมูลระยะห่างทางพันธุกรรม แสดงดังภาพที่ 4-25 ซึ่งสามารถจัดกลุ่มโคออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่และแพร่ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยโคพื้นเมืองจากลำพูน ลำปาง พิชญ์โลก และโคขาวลำพูน โดยโคพื้นเมืองจากลำพูนมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับโคพื้นเมืองจากลำปาง มากกว่าโคขาวลำพูน (มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) และโคพื้นเมืองจากพิชญ์โลก ตามลำดับ



ภาพที่ 4-25 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร์ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชณุโลก (PL) และโคขาวลำพูน (WL) ตามระยะห่างทางพันธุกรรม โดยแสดงในรูป phylogenetic tree โดยวิธี Unweight-pair-group mean arithmetic method analysis (UPGMA)

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ในรูป principal component analysis (PCA) นั้น ไม่สามารถแบ่งกลุ่มโคออกจากกันได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามจากข้อมูลดังกล่าวสามารถจัดกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ประกอบด้วย โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ และแพร์ กลุ่ม 2 ประกอบด้วย โคพื้นเมืองจากเขตเชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง และกลุ่ม 3 ประกอบด้วยโคพื้นเมืองจากจังหวัดลำพูน ลำปาง พิชณุโลก และโคขาวลำพูน (ดังภาพ 4-26) โดยผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ เช่นเดียวกับผลจาก phylogenetic tree ตามระยะห่างทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ



ภาพที่ 4-26 ความผันแปรทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิชญโลก (PL) และโคชาวลำพูน (WL) ในรูปแบบของการวิเคราะห์แบบ principal component analysis (PCA)

4.5 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียในบริเวณ D-loop

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) ถูกศึกษาเปรียบเทียบกับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) และพิชญโลก (PL) จำนวน 38 ตัว โคชาวลำพูน (WL) จำนวน 7 ตัว และโคนมพันธุ์แท้ (HF) จำนวน 2 ตัว จำนวนทั้งสิ้น 47 ตัว ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ด้วยชุดไพรเมอร์ D-loop ตามรายงานของ Tsuji et al. (2004) นั้นสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ประสบความสำเร็จ มีจำนวน 36 ตัวอย่างประกอบด้วย CMP, LPN, LPG, PL, WL และ FS จำนวน 14, 14, 2, 4 และ 2 ตัว ตามลำดับ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ mtDNA (D-loop) ดังกล่าวของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือมีความยาวอยู่ระหว่าง 147–153 bp โดยโคที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop ยาว 147 bp มีจำนวน 86.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโคที่มีนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop ยาว 148, 150 และ 153 bp มีจำนวน 5.4, 2.7 และ 5.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการเปรียบเทียบข้อมูลนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือกับข้อมูลรหัสพันธุกรรมจากฐานข้อมูลของ GenBank พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ส่วนใหญ่มีคล้ายคลึงกับนิวคลีโอไทด์ของ *Bos taurus* Mitochondrial DNA ประมาณ 91-97% (GenBank accession number AF309773) อย่างไรก็ตาม ลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของ *Bos taurus* (AF309773) ดังกล่าวยังมีความแตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA D-

loop ของ *Bos taurus* โดยทั่วไปที่ปรากฏในฐานข้อมูลของ GenBank โดยมีความคล้ายคลึงกับ mtDNA D-loop ของ *Bos taurus* ส่วนใหญ่ อยู่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า โคพื้นเมืองบางตัว LPN16 มีลำดับ นิวคลีโอไทด์ของ D-loop คล้ายคลึงกับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) โคลูกผสม *Bos indicus-taurus* ประมาณ 98% (GenBank accession number AF309097, DQ344947) สำหรับลำดับนิวคลีโอไทด์ ในบริเวณ D-loop จากตัวอย่างดีเอ็นเอของโคนมพันธุ์แท้นั้น มีความคล้ายคลึงกับนิวคลีโอไทด์ของ *Bos taurus* Mitochondial DNA ประมาณ 99-100% (GenBank accession number DQ887762, AY676865, AB268583, EF417967)

ข้อมูลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทย พบ Single nucleotide polymorphisms, (SNPs) จำนวน 13 ตำแหน่ง และ insertion /deletion มีจำนวน 4 ตำแหน่ง (ภาพที่ 4-27) และค่า Identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop ระหว่างโคพื้นเมือง ในเขตภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่, ลำพูน, ลำปาง, แพร่ และพิษณุโลก) โคขาวลำพูน เปรียบเทียบกับโคนมพันธุ์แท้จากประเทศแคนาดา (HF37 และ HF38) พบว่าภายในกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ส่วนใหญ่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop คล้ายคลึงกันสูงมาก ซึ่งมีค่า Identity อยู่ระหว่าง 94-100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เดียวกัน ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณดังกล่าวของโคพื้นเมือง มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของโคนมพันธุ์แท้ประมาณ 73 - 76 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพบว่าโคเนื้อพื้นเมืองในเขตจังหวัดลำพูนบางตัว (LPN16) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ D-loop คล้ายคลึงกับโคนมพันธุ์แท้สูงถึงประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความคล้ายคลึงกับโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือตัวอื่นๆ เพียง 86 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4-4)

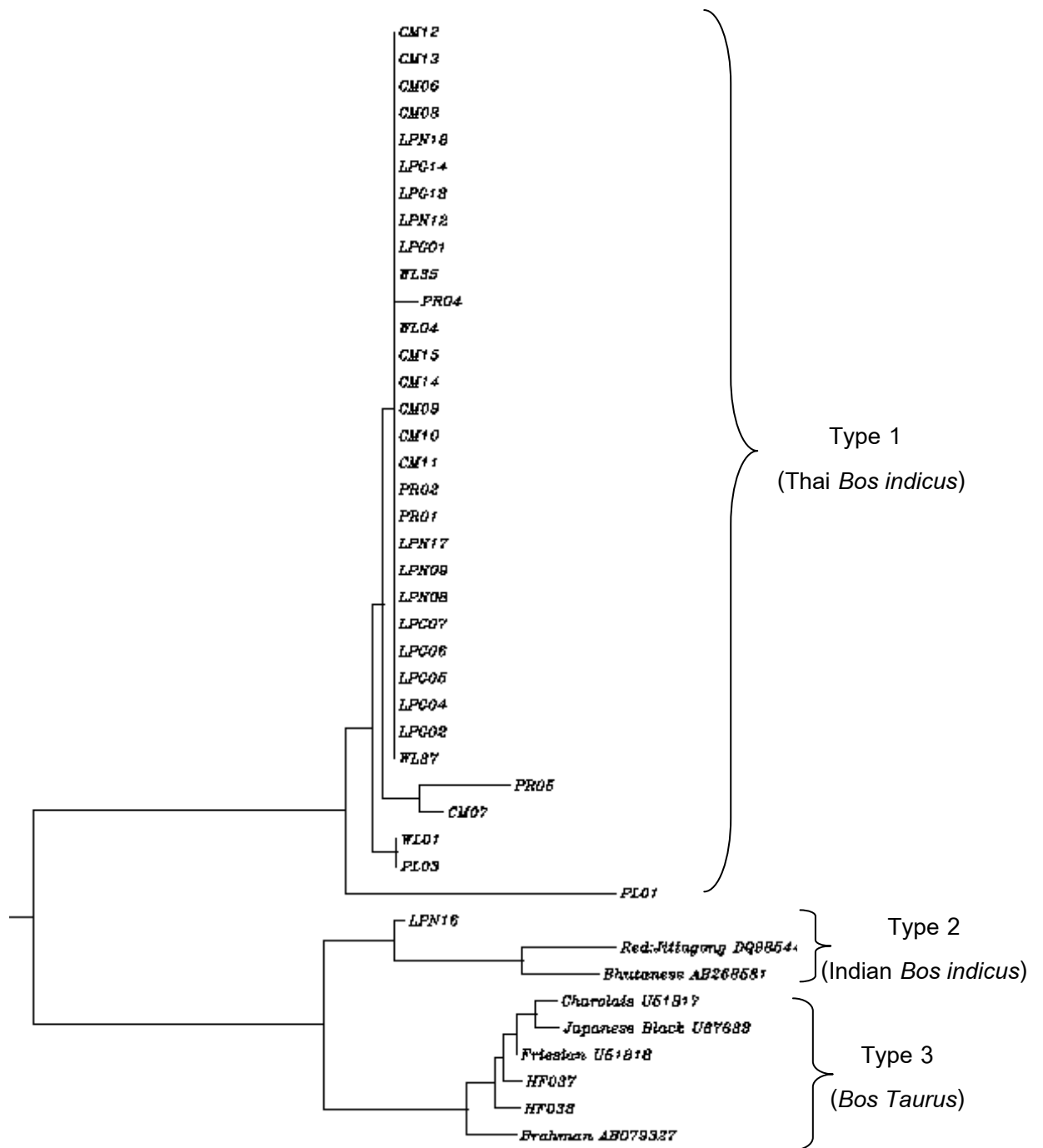
ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูปแบบ phylogenetic tree ของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) จากโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โคขาวลำพูน และโคนมพันธุ์แท้ถูกเปรียบเทียบกับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของโค (*Bos taurus* และ *Bos indicus*) ในฐานข้อมูล GenBank (accession no. DQ985443, AB268581, U51817, U87633, U51818 และ AB079327) พบว่า phylogenetic tree สามารถแบ่งโคออกเป็น 3 กลุ่ม คือ type 1, type 2 และ type 3 (ภาพที่ 4-28) โดยโคที่มี mtDNA (D-loop) แบบ type 1 ส่วนใหญ่เป็นโคพื้นเมืองที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พิษณุโลก และโคขาวลำพูน ส่วนโคที่มี mtDNA (D-loop) แบบ type 2 ประกอบ LPN16, Red Jittagong และ Bhutanes native cattle และโคที่มี mtDNA (D-loop) แบบ type 3 ประกอบด้วย HF37, HF38, Charolais, Japanese Black, Holstein Friesian และ American Brahman โดยโคในกลุ่ม type 2 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับโคกลุ่ม type 3 มากกว่าโคในกลุ่ม type 1 จากข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ได้ว่า โคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทย (Thai *Bos indicus*) มีรูปแบบ mtDNA (D-loop) เฉพาะตัว ซึ่งสามารถแยกออกจากโคในกลุ่ม *Bos indicus* ที่มีแหล่งกำเนิดจากเอเชียใต้ (type 2) และ *Bos taurus* (type 3) ได้อย่างชัดเจน

37

ภาพที่ 4-27 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ mitochondrial DNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร์ (PR) ลำพูน (LNP) ลำปาง (LPG) พิชญโลก (PL) โคขาวลำพูน (WL) และโคนม (HF) ด้วยโปรแกรม MULTALIN multiple alignment (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/align_multalin.pl)

ตารางที่ 4-4 ค่า Identity ของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ระหว่างโคพื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่ (CM) แพร่ (PR) ลำพูน (LPN) ลำปาง (LPG) พิษณุโลก (PL) โคชาวลำพูน (WL) และโคนม (HF)

In	LPG01	LPG02	LPG04	LPG05	LPG06	LPG07	LPN08	LPN09	LPN12	LPG13	LPG14	LPN16	LPN17	LPN18	PR01	PR02	PR04	PR05	CM06	CM07	CM08	CM09	CM10	CM11	CM12	CM13	CM14	CM15	WL01	WL04	WL15	WL17	PL01	PL03	HF37	HF38
LPG01	100																																			
LPG02	100	100																																		
LPG04	100	100	100																																	
LPG05	100	100	100	100																																
LPG06	100	100	100	100	100																															
LPG07	100	100	100	100	100	100																														
LPN08	100	100	100	100	100	100	100																													
LPN09	100	100	100	100	100	100	100	100																												
LPN12	100	100	100	100	100	100	100	100	100																											
LPG13	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100																										
LPG14	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100																									
LPN16	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	100																								
LPN17	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100																							
LPN18	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100																						
PR01	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100																					
PR02	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100																			
PR04	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	100																		
PR05	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	95	82	95	95	95	95	95	100																		
CM06	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100																	
CM07	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	84	97	97	97	97	97	95	100	100																
CM08	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100															
CM09	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100														
CM10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100													
CM11	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100												
CM12	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100											
CM13	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100	100										
CM14	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100									
CM15	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100								
WL01	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	84	98	98	98	98	98	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100						
WL04	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100					
WL15	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100				
WL17	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	86	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100				
PL01	94	94	94	94	94	94	94	94	94	94	94	81	94	94	94	94	94	93	94	94	94	94	94	94	94	94	94	94	94	94	94	100				
PL03	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	84	97	97	97	97	97	93	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	94	100			
HF37	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	91	76	76	76	76	76	73	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	72	76	100		
HF38	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	90	76	76	76	76	76	73	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	72	75	98	100	



ภาพที่ 4-28 Phylogenetic tree ของ mtDNA (D-loop) แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโคพื้นเมือง ไคนม และโคในฐานข้อมูล GenBank.

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ (CM, PR, LPN, LNG, PL และ WL) ถูกวิเคราะห์ชุดไพรเมอร์ของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ จำนวน 20 ไพรเมอร์ พบว่าโคพื้นเมืองมีขนาดอัลลีลตั้งแต่ 82–273 (bp) ซึ่งโคพื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำพูน ลำปาง พะเยา และโคชาวลำพูน มีจำนวนอัลลีลเฉลี่ยเท่ากับ 6.15, 3.95, 6.10, 6.55, 4.40 และ 4.25 อัลลีล/ไพรเมอร์ ตามลำดับ โดยมีค่า heterozygosity เฉลี่ยเท่ากับ 0.45 (0.386–0.479) และมีค่า power of discrimination เท่ากับ 0.92 ในขณะที่ Moazami-Goudarzi et al. (1997) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ จำนวน 17 ตำแหน่ง ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในโค ยุโรป พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ มีจำนวนอัลลีลตั้งแต่ 3–36 อัลลีล และมีค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อพันธุโคอยู่ระหว่าง 6.0 ± 0.6 – 7.7 ± 0.5 อัลลีล โดยมีค่า heterozygosity อยู่ระหว่าง 0.53–0.66 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้

ผลการวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ของการศึกษาครั้งนี้ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลไมโครแซเทลไลท์ของ ISAG/FAO (ตารางที่ 3-1) พบว่าพิสัยอัลลีล (allele range) ของไมโครแซเทลไลท์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ มีความแตกต่างจากข้อมูลของ ISAG/FAO ที่แนะนำไว้ (ตารางที่ 5-1) กล่าวคือ ไพรเมอร์ ETH152, HRH1, BM2113, RBP3 และ HUII77 มีพิสัยอัลลีลกว้างกว่าข้อมูลของ ISAG/FAO ส่วนไพรเมอร์ ETH225, HEL1, ILSTS001, ILSTS005, ILSTS014, BOLADRB2, ETH131, HEL5, TGLA116, BM203, TGLA153, CSSM065 และ UWCA9 มีขนาดแถบไมโครแซเทลไลท์ยาวมากกว่า ส่วนไพรเมอร์ OCAM และ IGF1 มีขนาดแถบไมโครแซเทลไลท์ใกล้เคียงกับข้อมูล ISAG/FAO

จากข้อมูลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ จำนวน 20 ตำแหน่ง พบว่าโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ มีความระยะห่างทางพันธุกรรมเฉลี่ยเท่ากับ 0.1323 โดยโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดเชียงใหม่ มีระยะห่างทางพันธุกรรมกับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่ ลำพูน ลำปาง พะเยา และโคชาวลำพูน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0543, 0.1358, 0.1387, 0.1448, และ 0.1869 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ และแพร่ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมากที่สุด ในขณะที่โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดลำพูน มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดลำปาง โคชาวลำพูน และโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพะเยาตามลำดับ (ดังภาพที่ 4-25) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ข้อมูลของไมโครแซเทลไลท์ ในรูปแบบ principal component analysis (PCA) ที่พบว่าโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่ อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ ส่วนโคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดลำพูนและลำปางถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่ม 2 และ กลุ่ม 3) ในขณะที่โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพะเยา และโคชาวลำพูน พบเฉพาะในกลุ่มที่ 3 เท่านั้น อย่างไรก็ตาม ข้อมูลไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในกลุ่มที่ 3 มีการกระจายตัวมากกว่า โคพื้นเมืองในกลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 1 ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4-26)

จากรายงานการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของโค โดยใช้ไมโครแซเทลไลท์ ที่ผ่านมามักใช้จำนวนเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ประมาณ 9–17 ตำแหน่ง เพื่อจัดจำแนกโคพันธุ์ต่างๆ

ดังรายงานของ MacHugh et al. (1994) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ จำนวน 12 ตำแหน่ง สามารถแยกความแตกต่างของโคที่มีแหล่งกำเนิดจากแอฟริกัน และยุโรปออกจากกันได้ แต่ไม่สามารถแยกโคยุโรปบางสายพันธุ์ออกจากกันได้อย่างชัดเจน (Herefore, Freisian และ Simmental) ในขณะที่ Hansen et al. (2002) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ จำนวน 15 ตำแหน่ง ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโคในประเทศแคนาดา จำนวน 4 สายพันธุ์ (Canadienne, Brown Swiss, Holstein และ Jersey) พบว่าโคพันธุ์ Brown Swiss มีความใกล้ชิดกับโคพันธุ์ Holstein ส่วนโคพันธุ์ Canadienne และ Jersey มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ห่างกันมากที่สุด เช่นเดียวกับ Machado et al. (2003) ได้ใช้ไมโครแซเทลไลท์ จำนวน 9 ตำแหน่ง เพื่อการจำแนกโคจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ Gyr, Nellore, Guzerat และ Holstein เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถแยกโค Holstein (*Bos taurus*) ออกจาก โคพันธุ์ Gyr, Nellore, Guzerat (*Bos indicus*) ได้อย่างไรก็ตาม Moazami-Goudarzi et al. (1997) ได้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของจำนวนเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์นั้น มีผลต่อการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของโค โดยเฉพาะโคมีสายเลือดใกล้ชิดกัน ซึ่งบางครั้งไม่สามารถแยกกลุ่มได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงควรคำนึงจำนวนเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ที่เหมาะสมกับกับกลุ่มประชากรเป้าหมายด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 5-1 ขนาดอัลลีลไมโครแซเทลไลท์ของโคพื้นเมืองในภาคเหนือ เปรียบเทียบกับข้อมูลของ ISAG /FAO

No.	Loci	พิสัยของไมโครแซเทลไลท์ (bp)							
		ISAG/FAO ¹	รวม ²	CM ²	PR ²	LPN ²	LNG ²	PL ²	WL ²
1	ETH152	191-211	161-245	161-213	161-213	161-245	193-245	193-245	161-245
2	ETH225	140-160	144-170	144-170	144-164	144-170	149-164	149-170	158-170
3	HEL1	101-117	114-164	114-164	114-157	118-157	114-164	118-149	114-118
4	HRH1	180-190	174-211	174-192	186-200	174-211	174-200	186-211	192-211
5	ILSTS001	77-97	85-130	85-104	85-104	90-130	85-130	85-130	97-130
6	ILSTS005	181-193	200-271	200-271	200-271	200-271	200-251	200-271	216-224
7	ILSTS014	128-134	133-167	133-167	133-146	133-152	133-167	133-146	133-152
8	OCAM	178-190	176-192	176-192	185-192	176-180	176-180	176-180	176
9	BM2113	123-147	98-219	134-203	134-290	146-219	98-219	146-219	146-203
10	BOLADRB2	144-152	154-162	154-162	162	154-162	154-162	154-162	162
11	ETH131	138-168	149-235	149-235	149-200	160-235	155-235	149-181	160-217
12	HEL5	161-181	180-255	180-195	180-186	186-255	186-207	180-255	180-255
13	RBP3	141-153	140-175	150-175	150-175	140-175	140-175	150-164	150-164
14	TGLA116	79-85	85-92	85-92	85-92	85-92	85-92	85-92	85-92
15	BM203	100-120	123-243	137-243	131-150	131-197	123-243	131-243	137-159
16	HUJII77	120-140	109-221	109-200	120-221	109-163	109-221	109-200	120-200
17	TGLA153	119-153	135-178	135-145	135-145	135-145	135-178	135-178	135-178
18	IGF1	225-231	233-266	233-266	266	266	266	266	266
19	CSSM065	154-174	163-211	163-172	172	163-172	163-211	163	163-200
20	UWCA9	83-107	95-155	95-155	95-155	95-141	95-129	95-141	106-141

1-International Society of Animal Genetics / Food and Agriculture Organization (ISAG/FAO)

²ข้อมูลของการศึกษาครั้งนี้

5.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop)

ในปัจจุบันข้อมูล mtDNA ของโคทั้ง *Bos taurus* และ *Bos indicus* ถูกวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์อย่างสมบูรณ์เป็นที่เรียบร้อยแล้ว (GenBank accession no. V00654, DQ124406, AB074963, NC_005971, AY126697, AF492350) สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA ในบริเวณ D-loop ของโคจากแหล่งต่างๆ นั้นมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง (Loftus et al., 1994; Bradley et al., 1996; Mannen et al., 1998; Tsuji et al., 2004; Kim et al., 2003; Pfeiffer et al., 2005; Lei et al., 2006;) โคจากประเทศแถบยุโรป (Aberdeen Angus, Hereford, Jersey, Charolais, Simmental, Friesian) แอฟริกา (Butana, Kenana, N'Dama, White Fulani) อินเดีย (Tharparkar, Sahiwal, Hariana) จีน (Yanbian, Kazak, Mongolian,) ญี่ปุ่น (Japanese Black cattle, Japanese Holstein) และเกาหลี (Korea Yellow) เป็นต้น อย่างไรก็ตามข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในประเทศไทยมีข้อมูลค่อนข้างจำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทย ยังไม่ปรากฏว่ามีรายงานทางวิชาการแต่อย่างใด โดยโครงการวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ mtDNA (D-loop) ในโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน ซึ่งถือว่าการรายงานผลทางวิชาการเป็นครั้งแรก

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) จากโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ (CMP, LPN, LPG และ PL) โคชาวลำพูน (WL) และโคนม (HF) โดยชุดไพรเมอร์ D-loop ตามรายงานของ Tsuji et al. (2004) นั้นสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ mtDNA (D-loop) ประสบผลสำเร็จได้ประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ในบริเวณดังกล่าวของโคทั้งหมดมีความยาวระหว่าง 147–153 bp ซึ่งโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือส่วนใหญ่ มีช่วงความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) เท่ากับ 147 bp มีจำนวนประมาณ 86.5 เปอร์เซ็นต์ของประชากรทั้งหมด ในขณะที่โคพื้นเมืองที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ขนาด 148-153 bp คิดเป็นจำนวนประมาณ 13.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโคนมพันธุ์แท้นั้น ลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) เท่ากับ 153 bp จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ (CMP, LPN, LPG, PL และ WL) ส่วนใหญ่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ที่ช่วงความยาวเดียวกันนั้น สั้นกว่าโคนม เท่ากับ 6 bp และมีผลเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับโคพันธุ์อื่นๆ อาทิเช่น Aberdeen Angus, Hereford, Butana, White Fulani, N'Dama หรือ Japanese Black cattle, Chinese cattle (Loftus et al., 1994; Mannen et al., 1998; Tsuji et al., 2004; Lei et al., 2006) ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือทั้ง CMP, LPN, LPG, PL และ WL มีความคล้ายคลึงกันสูงมาก โดยมีค่า Identity ระหว่างกันประมาณ 94-100 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความคล้ายคลึงกับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพันธุ์อื่นๆ ในฐานข้อมูล GenBank เพียงประมาณ 80-85 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น (Mannen et al. 1998; Tsuji et al. 2004) อย่างไรก็ตามลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดลำพูนบางตัว (LPN16) มีความคล้ายกับโค *Bos indicus* (Red Chittagong, Bhutanese native cattle) หรือ *Bos taurus* (Japanese Black cattle, Holstein Friesian, Charolais) สูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้โคพื้นเมือง LPN16 อาจเป็นลูกผสมระหว่างโคพื้นเมืองของไทยกับโค *Bos indicus* หรือ *Bos taurus* ที่มีสายเลือดมาจากต่างประเทศ

ในการศึกษาครั้งนี้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทย มี SNPs จำนวน 13 ตำแหน่ง และ insertion /deletion มีจำนวน 4 ตำแหน่ง ซึ่งปรากฏแบบของ

haplotype ทั้งหมดจำนวน 7 รูปแบบ (ภาพที่ 4-7) จากรายงานของ Mannen et al. (1998) ได้วิเคราะห์รหัสพันธุกรรมของ mtDNA D-loop จากโคเนื้อพันธุ์ Japanese Black Cattle (*Bos taurus*) จำนวน 116 ตัว พบว่าในบริเวณดังกล่าว มีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ (single nucleotide polymorphisms) จำนวน 25 ตำแหน่ง และปรากฏรูปแบบของ haplotype ทั้งหมดจำนวน 26 รูปแบบ โดย haplotype เหล่านี้สามารถแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ในขณะที่ Tsuji et al. (2004) ใช้ความผันแปรทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) ในบริเวณนิวคลีโอไทด์ (nucleotide, nt) ที่ nt16008 – nt16160 มีความยาวจำนวน 153 bp โคนมของประเทศญี่ปุ่น (Japanese Holstein) และโคนมจากทวีปอเมริกาเหนือ (North American Holstein) พบว่ารูปแบบของลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ที่แตกต่างกัน จำนวน 4 รูปแบบ คือ type B (16042C-16093G), type I (16042T-16093A); Type BI (16042C-16093G / 16042T-16093A); Type S (16042T-16093G) จากข้อมูลดังกล่าว Tsuji et al. (2004) นำไปอธิบายปรากฏการณ์ร่องรอยยีนของโคพื้นเมืองญี่ปุ่น ซึ่งถูกแทนที่ของด้วยโคนมพันธุ์ Holstein โดยผ่านการ upgrading สายเลือดเป็นระยะมากกว่า 15 รุ่น อย่างไรก็ตามยังสามารถตรวจพบร่องรอยลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ของโคพื้นเมืองญี่ปุ่นผสมอยู่ในโคนมพันธุ์ Japanese Holstein

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ mtDNA (D-loop) จากโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ซึ่งแสดงในรูปแบบ Phylogenetic tree (ดังภาพที่ 4-8) ข้อมูลบ่งชี้ได้ว่าโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทย (Thai *Bos indicus*) มีรูปแบบ mtDNA (D-loop) เฉพาะตัว (type 1) ซึ่งสามารถแยกออกจากโคในกลุ่ม *Bos indicus* (type 2) ที่มีแหล่งกำเนิดจากเอเชียใต้ (Red Chittagong, Bhutanese native cattle และ *Bos taurus* (type 3) จากแหล่งต่างๆ (Charolais, Japanese Black cattle, Holstein Friesian) ได้อย่างชัดเจน แม้ว่าข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ภายในกลุ่มของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทยไม่สามารถจัดจำแนกกลุ่มตามแหล่งที่มาได้อย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA (D-loop) ในช่วงบริเวณที่เลือกมาศึกษาในครั้งนี้มีความหลากหลายค่อนข้างต่ำ จากข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Loftus et al. (1994) ซึ่งพบว่าโคจากทวีปยุโรปมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับโคจากทวีปแอฟริกามากกว่าโคจากทวีปเอเชีย (India breeds) เช่นเดียวกับรายงานของ Mannen et al. (1998) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ mtDNA ของโค Japanese Black cattle (*Bos taurus*) เปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ mtDNA ของโคที่มีแหล่งกำเนิดจาก แอฟริกา ยุโรป และ อินเดีย พบว่าโคพันธุ์ Japanese Black cattle มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับโคจากยุโรป มากกว่าโคจากแอฟริกา และโคจากอินเดีย ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) บ่งชี้ว่า โค *Bos taurus* จากเอเชียตะวันออกเฉียงเหนือ (Korea cattle, Japanese Black cattle) มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับโคจากยุโรป และแอฟริกา มากกว่าโคจากอินเดีย (Kim et al., 2003)

จากผลการวิเคราะห์ความหลากหลายพันธุกรรมของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) สรุปได้ว่า เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ สามารถแบ่งกลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มโคพื้นเมืองจากเชียงใหม่-แพร่ (2) กลุ่มโคพื้นเมืองจากลำพูน-ลำปาง และ (3) กลุ่มโคขาวลำพูน โดยโคพื้นเมืองจากลำพูน-ลำปาง มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับโคขาวลำพูนมากกว่า โคพื้นเมืองจากเชียงใหม่-แพร่ สำหรับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) บ่งชี้ว่าโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือทั้ง เชียงใหม่-แพร่ ลำพูน-

ลำปาง พืชญโลก และโคขาวลำพูน มีความคล้ายคลึงกันสูงมากประมาณ 94-100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถจัดออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ (Thai *Bos indicus*) และ (2) กลุ่มโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือที่มีคล้ายคลึงกับโคอินเดีย (India *Bos indicus*) โดยโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทยส่วนใหญ่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtDNA (D-loop) มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ซึ่งแตกต่างจากโคจากเอเชียใต้ และโคจากยุโรป

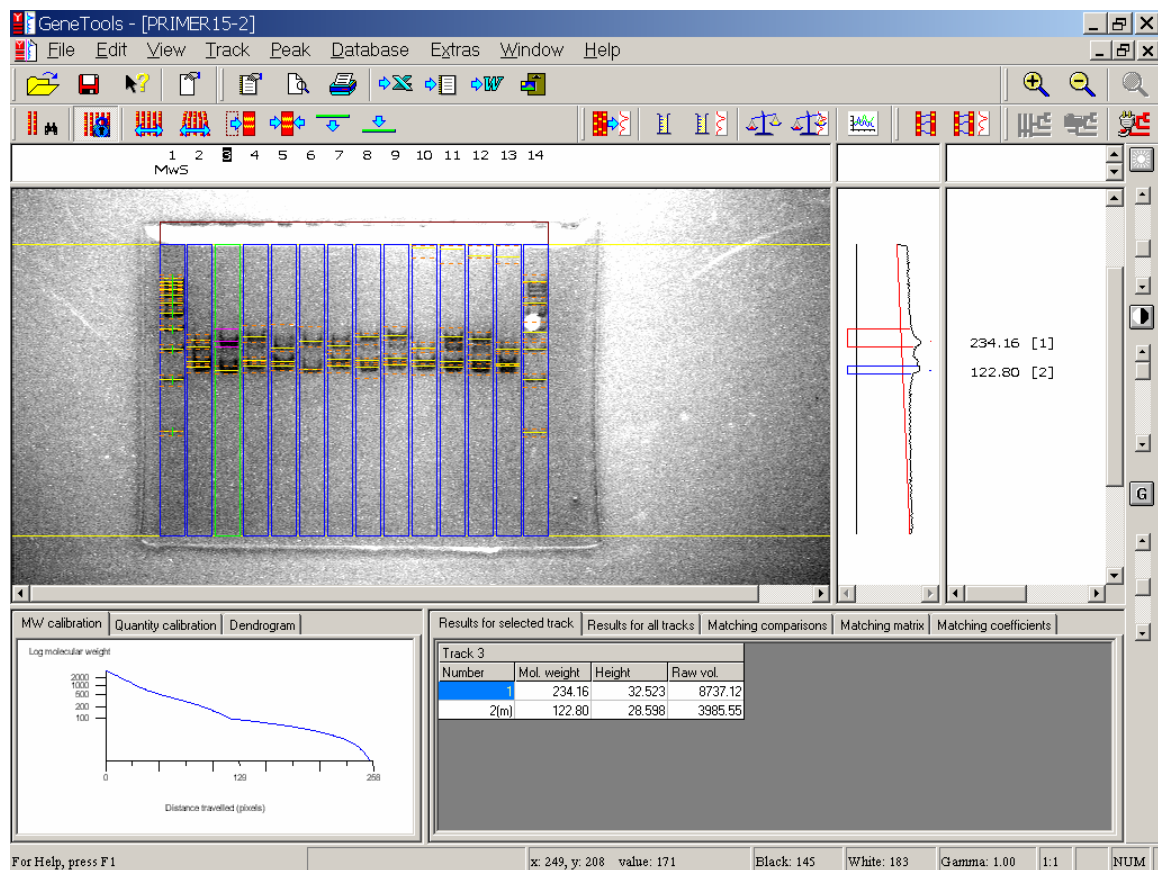
เอกสารอ้างอิง

- โชค มิเกล็ด, นิรันดร์ โพธิกานนท์, และถวิล การวิญญู. 2534. การศึกษาเปรียบเทียบการเลี้ยงขุนโคขาวลำพูนเพศผู้ไม่ตอนในคอกด้วยอาหารชั้น 2 ระดับ. วารสารเกษตร 7(3): 267-274.
- นิรันดร์ โพธิกานนท์, โชค มิเกล็ด, พินิจ ลำควนหอม, และโพธิ์วัช รัตนโชติ. 2538. โคขาวลำพูน: มรดกล้านนาที่อาจสูญพันธุ์. หน้า 36-37. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 9 วันที่ 22-24 มีนาคม 2540 ณ โรงแรมปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่.
- เพทาย พงษ์เพียจันทร์, พีระ อรรถพิณิต, และอุดม ช่างสุพรรณ. 2536. การยกระดับเลือดโคบาร์ห์ มั่นในโคพื้นเมืองของเกษตรกรรายย่อยบนที่ราบสูง โดยใช้ฮอโมโนคุมสัด และเทคนิคผสมเทียม. วารสารเกษตร 9(2): 184-185.
- ศิริลักษณ์ พรสุขศิริ. 2537. แนวทางการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์พื้นเมือง. วารสารเกษตร 10(2): 158-168.
- สัญญา จตุรลิตธา, นิรันดร์ โพธิกานนท์ และโชค มิเกล็ด. 2532. การศึกษาคุณภาพซากโคขาวลำพูน: การศึกษาการเปรียบเทียบการตัดแต่งซากแบบไทย และสากล. วารสารเกษตร: 5:171-178.
- สุวัฒน์ รัตนธนาชาติ. 2533. การอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์โคขาวลำพูน. เอกสารประกอบสัมมนาเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์ และพัฒนาแหล่งพันธุกรรมสัตว์ในประเทศไทย, วันที่ 21-23 พฤศจิกายน 2533 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 11 หน้า.
- สุวัฒน์ รัตนธนาชาติ. 2527. ความแตกต่างในความต้านทานเห็บของโคขาวลำพูน และความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต. จุลสารโคกระบือ. 7:9-15.
- Altscul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schäffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.
- Baig, M., A. Beja-Pereira, R. Mohammad, K. Kulkarni, S. Farah and G. Luikart. 2005. Phylogeography and origin of Indian domestic cattle. Current science. 89: 38-40.
- Bradley, D.G., D.E. MacHugh, P. Cunningham and R. T. Loftus. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93: 5131-5135.
- Brezinsky, L., S.J. Kemp and A.J. Teale. 1993. ILSTS005: A polymorphic bovine microsatellite. Animal Genetics 24: 73.
- Frankham, R., J.D. Ballou and D.A. Briscoe. 2003. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge. p.617.
- Halliburton, R. 2004. Introduction to Population Genetics. Pearson Prentice Hall, London. p. 650.
- Hansen, C., J.N.B. Shrestha, R.J. Parker, G.H. Crow, P.J. McAlpine and J.N. Derr. 2002. Genetic diversity among Canadienne, Brown Swiss, Holstein, and Jersey cattle of Canada based on 15 bovine microsatellite markers. Genome. 45: 897-940.

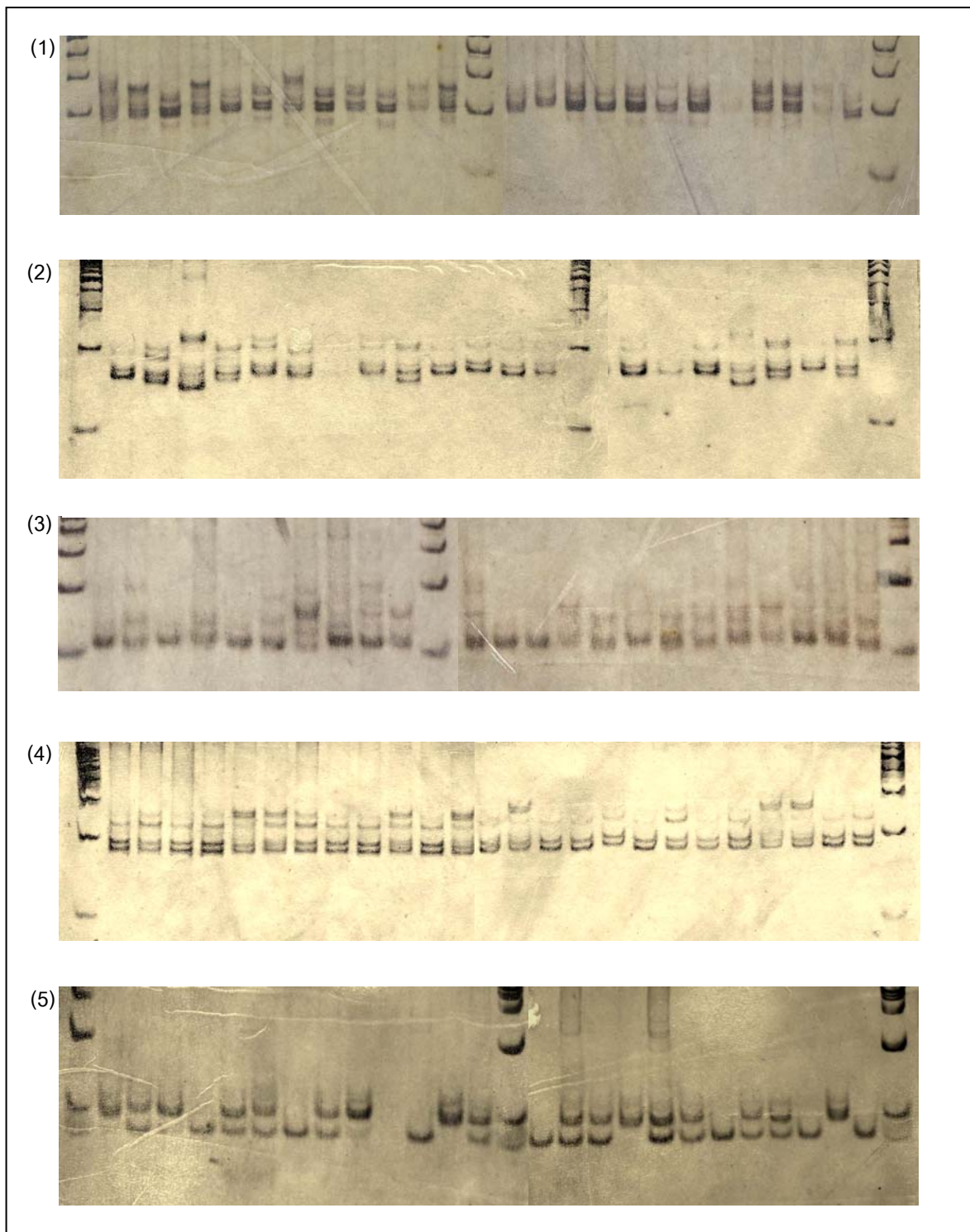
- Ibeagha-Awemu, E. and G. Erhardt. 2004. High genetic diversity indices of two west / central African cattle breeds–Hope for more future improvement option. Deutscher Tropentag. October 5-7, 2004, Humboldt-Universität zu Berlin.
- Kaukinen, J. and S.L. Varvio. 1993. Eighth polymorphic bovine microsatellites. *Animal Genetics*. 24: 148.
- Kim, K.I.I., J.H. Lee, S.S. Lee and Y.H. Yang. 2003. Phylogenetic relationships of northeast Asian cattle to other cattle populations determined using mitochondrial DNA D-Loop sequence polymorphism. *Biochemical Genetics*. 41: 91-98.
- Lei, C.Z., H. Chen, H.C. Zhang, X. Cai, R.Y. Liu, L.Y. Luo, C.F. Wang, W. Zhang, Q.L. Ge, R.F. 2006. Origin and phylogeographic structure of Chinese cattle. Zhang, X.Y. Lan and W.B. Sun. *Animal Genetics*. 37: 579-582.
- Loftus, R.T., D.E. MacHugh, D.G. Bradley, P.M. Sharp, P. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91: 2757-2761.
- Machado, M.A., I. Schuster, M.L. Martinez, A.L. Campos. 2003. Genetic diversity of four cattle breeds using microsatellite markers. *R. Bras. Zootec.* 32: 93-98.
- MacHugh, D.E., M. D. Shriver, R.T. Loftus, P. Cunningham and D.G. Bradley. 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of Taurine and Zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*. 146: 1071-1086.
- Mannen, H., S. Tsuji, R.T. Loftus and D. G. Bradley. 1998. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese Black cattle (*Bos taurus*). *Genetics*. 150: 1169-1175
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloe, J.P. Furet and F. Grosclaude. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*. 28: 338-345.
- Pfeiffer, I., I. Voelkel and B. Brenig. 2005. Phylogenetics of the European Dahomey miniature cattle based on mitochondrial D-loop region DNA sequence. *Animal Genetic*. 36: 160-190.
- Rohlf, F.J. 1997. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System version 2.01d, Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Exeter Publishers, Setahdet, New York, USA.
- Tessier, C., J. David, P. This, J.M. Boursiquot and A. Charrier. 1999. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.* 98:171-177.
- Thuy, N.T.D., E. Melchinger-Wild, A.W. Kuss, N.V. Cuong, H. Bartenschlager and H. Geldermann. 2006. Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites. *J. Anim. Sci.* 84: 2601-2608.

- Tsuji, S., H. Mannen, F. Mukai, M. Shojo, K. Oyama, T. Kojima, C. Kano, Y. Kinoshita and E. Yamaguchi. 2004. Trace of native cattle in Japanese Holstein assessed by mitochondrial DNA sequence polymorphism. *J. Dairy Sci.* 87: 3071-3075.
- Wu, J., R.K. Smith, A. E. Freeman, D.C. Beitz, B. T. McDaniel and G.L. Lindberg. 2000. Sequence heteroplasmy of D-Loop and rRNA coding regions in mitochondrial DNA from Holstein cows of independent maternal lineages. *Biochemical Genetics*. 38: 323-335.
- Xu, Y.C., L. Bo, L.S. Wan, B.Y. Su, J. Yu, L.P. Xiao, G.B. Ming, J.Y. Song and Z. Wei. 2005. Individualization of tiger by using microsatellites. *Forensic Science International*. 151: 45-51.

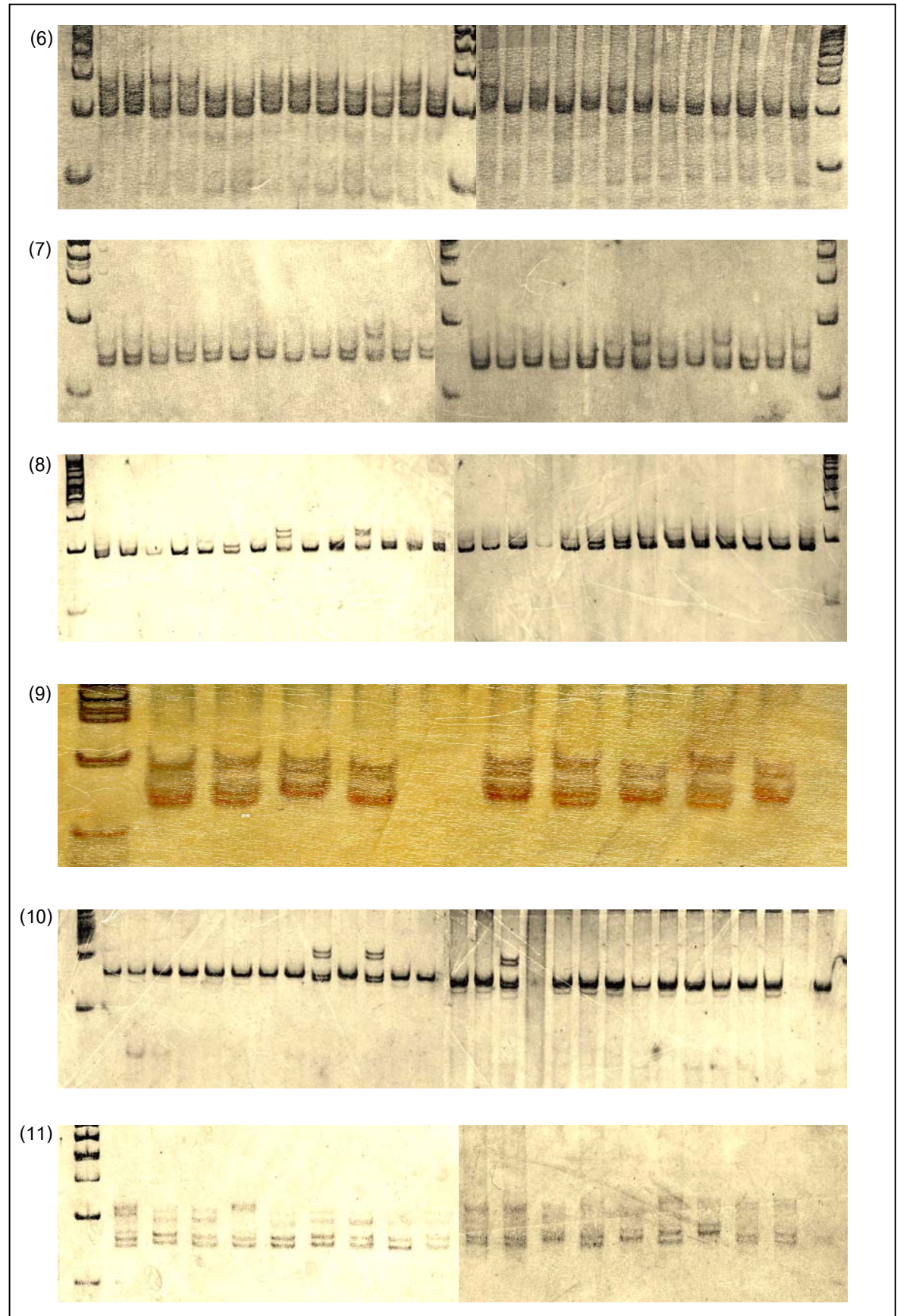
ภาพผนวก



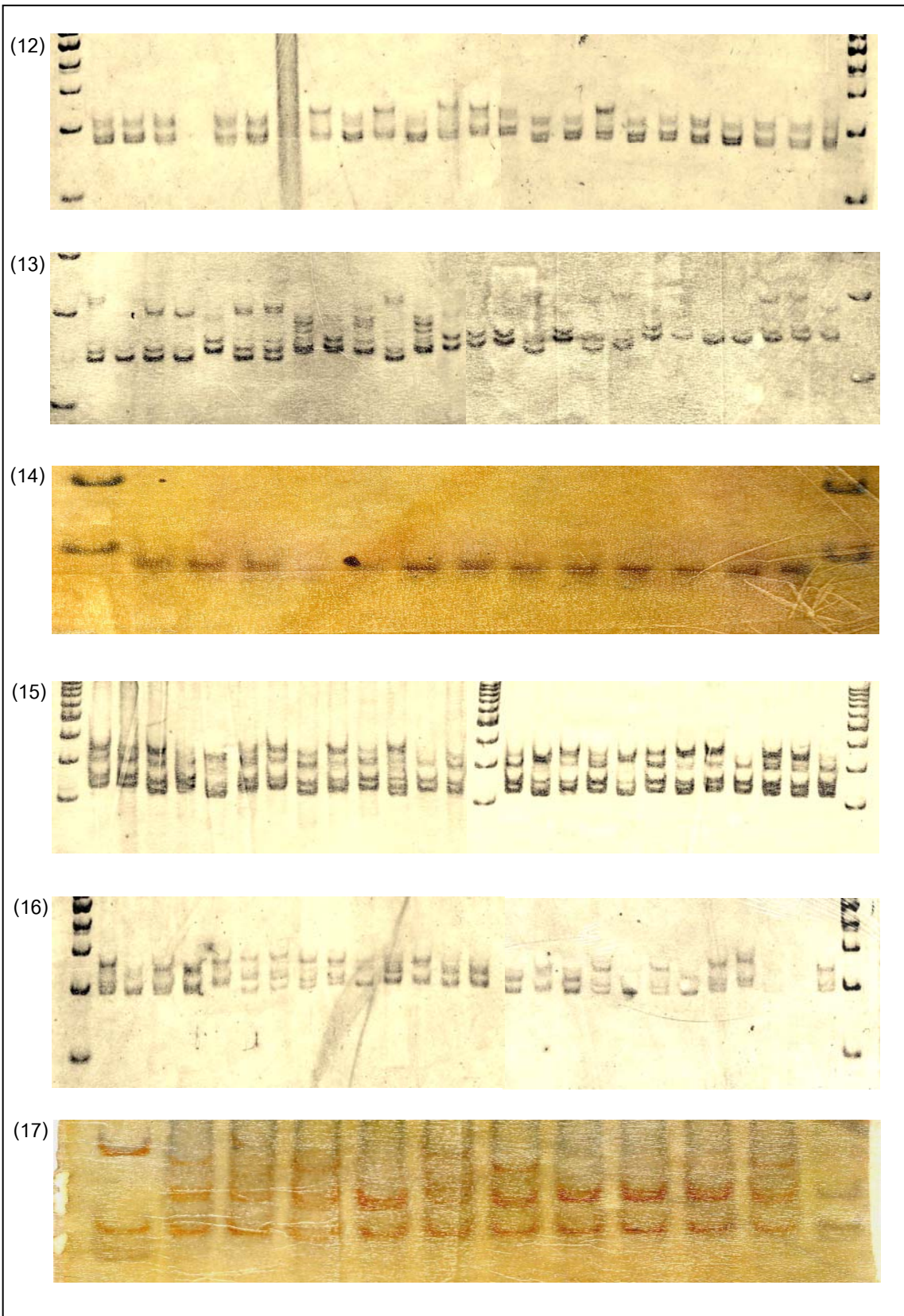
ภาพผนวกที่ 1 แสดงตัวอย่างการวิเคราะห์ขนาดแถบเครื่องหมายโมเลกุลไม่โครแซทเทลไลต์ของ BM203 เทียบกับขนาดแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ด้วยโปรแกรม GeneTool (SynGene, USA)



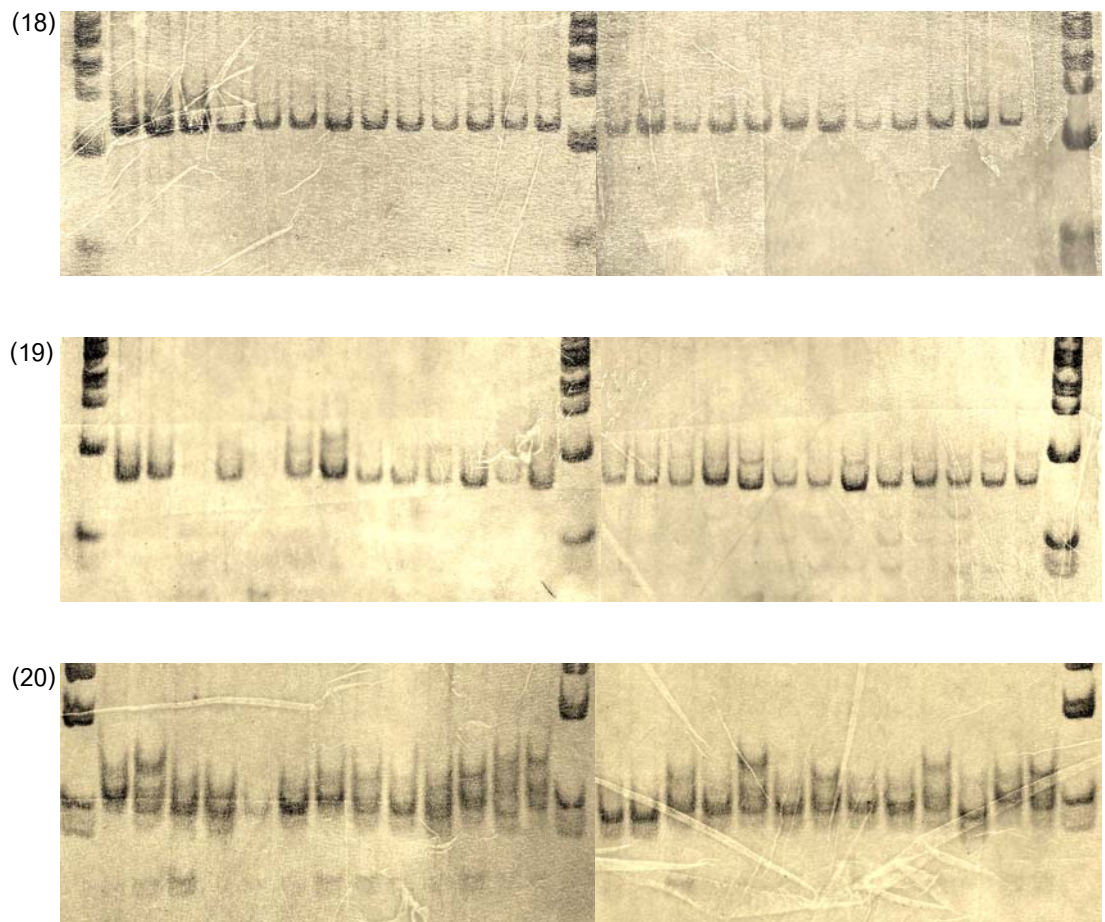
ภาพผนวกที่ 2 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของโคพื้นเมืองในเขตภาคเหนือ ที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซเทลไลท์ (1) ETH152, (2) ETH225, (3) HEL1, (4) HRH1, (5) ILSTS001, (6) ILSTS005, (7) ILSTS014, (8) OCAM, (9) BM2113, (10) BOLADRB2, (11) ETH131, (12) HEL5, (13) RBP3, (14) TGLA116, (15) BM203, (16) HUJII77, (17) TGLA153, (18) IGF1, (19) CSSM065 และ (20) UWCA9 ตามลำดับ



ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)



ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)



ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ 1 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ ETH152 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
161	9	1	2	3	1		2	0.10	0.01	0.02	0.03	0.01		0.02
165	4	2	1				1	0.05	0.02	0.01				0.01
172	7	2		1	3		1	0.08	0.02		0.01	0.03		0.01
185	10	2	1	2	3		2	0.12	0.02	0.01	0.02	0.03		0.02
193	12	2	3	2	1	3	1	0.14	0.02	0.03	0.02	0.01	0.03	0.01
203	22	6	2	1	8	4	1	0.26	0.07	0.02	0.01	0.09	0.05	0.01
213	13	3	1	2	6		1	0.15	0.03	0.01	0.02	0.07		0.01
245	9	2		3		3	1	0.10	0.02		0.03		0.03	0.01
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ WL⁶ = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 2 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ ETH225 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
144	8	2	2	4				0.10	0.02	0.02	0.05			
149	4			1	2	1		0.05			0.01	0.02	0.01	
158	16	1	4	5		1	5	0.19	0.01	0.05	0.06		0.01	0.06
164	38	6	4	3	20	3	2	0.45	0.07	0.05	0.04	0.24	0.04	0.02
170	18	9		1		5	3	0.21	0.11		0.01		0.06	0.04
รวม	84	18	10	14	22	10	10	1.00	0.21	0.12	0.17	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ WL⁶ = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 3 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ HEL1 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
114	13	2	3		2		6	0.15	0.02	0.03		0.02		0.07
118	33	5	3	4	9	8	4	0.38	0.06	0.03	0.05	0.10	0.09	0.05
121	14	5		5	4			0.16	0.06		0.06	0.05		
125	12	5	1	2	4			0.14	0.06	0.01	0.02	0.05		
149	5		2	1		2		0.06		0.02	0.01		0.02	
157	5	2	1	2	2			0.06	0.02	0.01	0.02	0.02		
164	4	1			1			0.05	0.01			0.01		
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 4 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ HRH1 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
174	12	1		3	8			0.14	0.01		0.03	0.09		
186	32	13	5	3	7	4		0.37	0.15	0.06	0.03	0.08	0.05	
192	19	6	4	4	4	1	5	0.22	0.07	0.05	0.05	0.05	0.01	0.06
200	19		1	3	3	4	3	0.22		0.01	0.03	0.03	0.05	0.03
211	4			1		1	2	0.05			0.01		0.01	0.02
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 5 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ ILSTS001 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
85	20	12	4		2	2		0.23	0.14	0.05		0.02	0.02	
90	18	1		8	7	2		0.21	0.01		0.09	0.08	0.02	
97	6						6	0.07						0.07
104	30	7	6	3	10	4		0.35	0.08	0.07	0.03	0.12	0.05	
115	7			2	2		3	0.08			0.02	0.02		0.03
130	5			1	1	2	1	0.06			0.01	0.01	0.02	0.01
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ WL⁶ = โคขาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 6 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ ILSTS005 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
200	17	9	3	2	1	2		0.20	0.10	0.03	0.02	0.01	0.02	
206	18	2	3	3	6	4		0.21	0.02	0.03	0.03	0.07	0.05	
216	30	1		7	12	3	7	0.35	0.01		0.08	0.14	0.03	0.08
224	6	1	1		1		3	0.07	0.01	0.01		0.01		0.03
242	6	4	1		1			0.07	0.05	0.01		0.01		
251	2	1			1			0.02	0.01			0.01		
271	7	2	2	2		1		0.08	0.02	0.02	0.02		0.01	
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ WL⁶ = โคขาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 7 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ ILSTS014 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
133	30	9	5	3	7	5	1	0.35	0.10	0.06	0.03	0.08	0.06	0.01
139	28	6	3	7	8	3	1	0.33	0.07	0.03	0.08	0.09	0.03	0.01
146	16	1	2	3	3	2	5	0.19	0.01	0.02	0.03	0.03	0.02	0.06
152	3			1	1		1	0.03			0.01	0.01		0.01
167	9	4			3			0.10	0.05			0.03		
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.11	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคขาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 8 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ OCAM ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
176	33	4		8	9	2	10	0.40	0.05		0.10	0.11	0.02	0.12
180	27			6	13	8		0.33			0.07	0.16	0.10	
185	12	6	6					0.15	0.07	0.07				
192	10	8	2					0.12	0.10	0.02				
รวม	82	18	8	14	22	10	10	1.00	0.22	0.09	0.16	0.27	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคขาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 9 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ BM2113 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
98	6				6			0.07				0.07		
134	5	1	4					0.06	0.01	0.05				
146	24	11	2	3	4	1	3	0.28	0.13	0.02	0.03	0.05	0.01	0.03
155	16			4	4	5	3	0.19			0.05	0.05	0.06	0.03
167	2			1	1			0.02			0.01	0.01		
180	6	3	3					0.07	0.03	0.03				
190	7	2	1		3		1	0.08	0.02	0.01		0.03		0.01
203	15	3		3	3	3	3	0.17	0.03		0.03	0.03	0.03	0.03
219	5			3	1	1		0.06			0.03	0.01	0.01	
รวม	86	20	22	14	10	10	10	1.00	0.23	0.11	0.16	0.26	0.11	0.11

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 10 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ BOLADRB2 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
154	34	16	10	2	4	2		0.40	0.19	0.12	0.02	0.05	0.02	
162	50	2		12	18	8	10	0.60	0.02		0.14	0.21	0.10	0.12
รวม	84	18	10	14	22	10	10	1.00	0.21	0.12	0.17	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 11 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ ETH131 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
149	21	10	7			4		0.24	0.12	0.08			0.05	
155	4		2		1	1		0.05		0.02		0.01	0.01	
160	21	8		3	5	4	1	0.24	0.09		0.03	0.06	0.05	0.01
168	19			7	8		4	0.22			0.08	0.09		0.05
181	7			1	1	1	4	0.08			0.01	0.01	0.01	0.05
200	6	1	1	1	3			0.07	0.01	0.01	0.01	0.03		
217	5			1	3		1	0.06			0.01	0.03		0.01
235	3	1		1	1			0.03	0.01		0.01	0.01		
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ WL⁶ = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 12 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลต์ HEL5 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
180	10	2	2			4	2	0.12	0.02	0.02			0.05	0.02
186	23	10	5	3	2	2	1	0.27	0.12	0.06	0.04	0.02	0.02	0.01
195	29	8		4	14		3	0.35	0.10		0.05	0.17		0.04
207	12			4	6		2	0.14			0.05	0.07		0.02
217	5		1	2		1	1	0.06		0.01	0.02		0.01	0.01
255	5			1		3	1	0.06			0.01		0.04	0.01
รวม	84	20	8	14	22	10	10	1.00	0.24	0.10	0.17	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ WL⁶ = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 13 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ RBP3 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
140	11			3	8			0.13			0.03	0.09		
150	24	7	2	2	8	2	3	0.28	0.08	0.02	0.02	0.09	0.02	0.03
157	28	7	3	6	4	5	3	0.33	0.08	0.03	0.07	0.05	0.06	0.03
164	15	4	1	2	1	3	4	0.17	0.05	0.01	0.02	0.01	0.03	0.05
175	8	2	4	1	1			0.09	0.02	0.05	0.01	0.01		
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 14 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ TGLA116 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
85	58	18	8	8	12	6	6	0.67	0.21	0.09	0.09	0.14	0.07	0.07
92	28	2	2	6	10	4	4	0.33	0.02	0.02	0.07	0.12	0.05	0.05
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 15 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ BM203 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
123	1				1			0.01				0.01		
131	13		3	5	3	2		0.15		0.03	0.06	0.03	0.02	
137	24	2	5	5	4	2	6	0.28	0.02	0.06	0.06	0.05	0.02	0.07
150	12	2	2	1	3	2	2	0.14	0.02	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02
159	15	6		1	6		2	0.17	0.07		0.01	0.07		0.02
197	4			2		2		0.05			0.02		0.02	
234	13	8			4	1		0.15	0.09			0.05	0.01	
243	4	2			1	1		0.05	0.02			0.01	0.01	
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 16 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ HUJII77 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
109	11	2		5	3	1		0.13	0.02		0.06	0.03	0.01	
120	29	6	5	5	7	2	4	0.34	0.07	0.06	0.06	0.08	0.02	0.05
135	15	5	1	1	5	1	2	0.17	0.06	0.01	0.01	0.06	0.01	0.02
163	9		1	3	1	2	1	0.10		0.01	0.03	0.01	0.02	0.01
171	4	1	1			1	1	0.05	0.01	0.01			0.01	0.01
181	8	4			1	2	1	0.09	0.05			0.01	0.02	0.01
200	8	2	1		4	1	1	0.09	0.02	0.01		0.05	0.01	0.01
221	2		1		1			0.02		0.01		0.01		
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 17 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ TGLA153 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
135	46	2	4	8	18	6	8	0.55	0.02	0.05	0.10	0.21	0.07	0.10
145	30	16	6	6	2			0.36	0.19	0.07	0.07	0.02		
178	8				2	4	2	0.10				0.02	0.05	0.02
รวม	84	18	10	14	22	10	10	1.00	0.21	0.12	0.17	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 18 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ IGF1 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
233	8	8						0.09	0.09					
266	78	12	10	14	22	10	10	0.91	0.14	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 19 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ CSSM065 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคชาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
163	43	2		13	12	10	6	0.50	0.02		0.15	0.14	0.12	0.07
172	37	18	10	1	6		2	0.43	0.21	0.12	0.01	0.07		0.02
200	4				2		2	0.05				0.02		0.02
211	2				2			0.02				0.02		
รวม	86	20	10	14	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคชาวลำพูน

ตารางภาคผนวกที่ 20 จำนวนอัลลีล และความถี่อัลลีลของไมโครแซเทลไลท์ UWCA9 ของโคพื้นเมือง
ในเขตภาคเหนือ และโคขาวลำพูน

ขนาดอัลลีล (bp)	จำนวนอัลลีล							ความถี่อัลลีล						
	รวม	CM ¹	PR ²	LPN ³	LPG ⁴	PL ⁵	WL ⁶	รวม	CM	PR	LPN	LPG	PL	WL
95	24	2	4	3	14	1		0.10	0.01	0.02	0.01	0.06		
106	20	3		4	4	5	4	0.08	0.01		0.02	0.02	0.02	0.02
117	22	10	5	1	2	2	2	0.09	0.04	0.02		0.01	0.01	0.01
129	8			2	2	1	2	0.03			0.01	0.01		0.01
141	9	3		3		1	2	0.04	0.01		0.01			0.01
155	3	2	1					0.01	0.01					
รวม	86	20	10	13	22	10	10	1.00	0.23	0.12	0.16	0.26	0.12	0.12

¹CM = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดเชียงใหม่, ²PR = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดแพร่, ³LPN = โคพื้นเมืองจากเขตลำพูน,

⁴LPG = โคพื้นเมืองจากเขตลำปาง, ⁵PL = โคพื้นเมืองจากเขตจังหวัดพิษณุโลก และ ⁶WL = โคขาวลำพูน