

54210

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกร โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี-พีซีอาร์ DNA Fingerprint Study of Pigs Using RAPD-PCR Technique

ดร.กิริวิชญ์ เพชรจุล¹

Received: February 1, 2008 ; Accepted: September 1, 2008

บทคัดย่อ

ผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกร จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ พันธุ์แลนด์เรซ พันธุ์ดอร์ค-เจอร์ซี่ และพันธุ์หมยซาน ใช้ตัวอย่างสุกรจากศูนย์วิจัยและฝึกอบรมสุกร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์ ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดของสุกร วัดค่าการดูดกลืนแสง OD_{260/280} มีค่า 1.67, 1.76, 1.50 และ 1.53 ตามลำดับ ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี-พีซีอาร์ โดยเลือกใช้ primer oligo 101 (5' to 3' sequence GCG CCT GGA G) และแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้อะกาโรสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (W/V) เจลขนาด 12x12x15 เซนติเมตร ใช้ความต่างศักย์คงที่ 100 โวลต์ นาน 30 นาที ย้อมดีเอ็นเอด้วยเอทิดีเอมโบรมาйд นาน 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำนาน 10 นาที แล้วทำการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV-Transilluminator เพื่อทำการวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบกับ lamda hind marker และ 100 base pair marker พบว่าสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอขนาด 90 bp สุกรพันธุ์แลนด์เรซมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอขนาด 2,000 bp สุกรพันธุ์ดอร์ค-เจอร์ซี่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ขนาด 70 bp และสุกรพันธุ์หมยซานมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอขนาด 450 bp ตามลำดับ จากผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกรสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งใช้เป็นประโยชน์ในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์สุกรต่อไป

คำสำคัญ: สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ สุกรพันธุ์แลนด์เรซ สุกรพันธุ์ดอร์ค-เจอร์ซี่ สุกรพันธุ์หมยซาน
ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เทคนิคอาร์เอพีดี-พีซีอาร์

¹ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์

Abstract

DNA fingerprint studies of 4 species of pigs from the Research and Training Phusing Center, Rajamangala University of Technology Isan, Kalasin Campus: 1) Large white; 2) Landrace; 3) Duroc-Jersey; and 4) Meishan were used. DNA were extracted from blood and absorbed 1.67, 1.76, 1.50 and 1.53, respectively. DNA samples obtained from RAPD-PCR technique with primer oligo 101 (5' to 3' sequence GCG CCT GGA G) were isolated 1.5 percent (W/V) agarose gel electrophoresis, 100 volt for 30 mins. Gels were stained with ethidium bromide for 5 mins, rinsed for 10 mins. DNA fragments were determined by UV-Transilluminator, photographed and compared with lamda hind marker and 100 base pair marker. In this research, DNA patterns were 90 bp of Large white, 2,000 bp of Landrace, 70 bp of Duroc-Jersey and 450 bp of Meishan, respectively. For our results, DNA patterns were used to study preliminary genetic diversity for improving and developing each pig species.

Keywords: Large white, Landrace, Duroc-Jersey, Pigs, Meishan, DNA fingerprint, RAPD-PCR

บทนำ

สุกรเป็นสัตว์ที่มีลักษณะโดดเด่นเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ชนิดอื่นๆ มนุษย์ได้นำมาเลี้ยงเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารหลักโปรตีนและใช้เป็นสัตว์ต้นแบบในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ เนื่องจากสุกรเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีลักษณะทางชีววิทยาใกล้เคียงกับมนุษย์มาก

การจำแนกสุกรตามอนุกรมวิธาน (Classification) สามารถจัดจำแนกได้ดังนี้ (วรวิธ, 2544)

Kingdom Animalia

Phylum Chordata

Class Mammalia

Order Artiodactyla

Family Suidae (pigs)

Genus Sus

สุกรจัดเป็นกลุ่มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีกีบเท้า กลุ่มของสัตว์กระเพาะรวมหรือสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminant) ได้แก่ โค กวาง แพะ และแกะ ส่วนสุกรเป็นสัตว์กระเพาะเดี่ยว (nonruminant) แยกเป็นสับออคเคอร์ซูเฟอร์ม (Suiformes) ซึ่งรวมถึงฮิปโปโปเตมัส (hippopotamus) เพคคารีส์ (Peccearies; สัตว์ที่มีลักษณะคล้ายสุกร พบในทวีปอเมริกา) โดยที่ จินัสซัส (Sus) ประกอบด้วย 3 สปีชีส์ (Species) ได้แก่ สโครฟา (S. scrofa) เป็นสุกรป่าแถบยุโรปและเอเชีย คริสตาตัส (S. cristatus) เป็นสุกรป่าแถบเอเชีย ซึ่งเชื่อกันว่า

สุกรบ้านสืบเชื้อสายมาจากสปีชีส์นี้ ส่วนสปีชีส์วิทาทัส (S. vittatus) เป็นบรรพบุรุษของ S. cristatus พบจำนวนมากในประเทศมาเลเซีย (Pond and Mersmann., 2001) สุกรมีระยะการตั้งท้องประมาณ 114 วัน ระยะการให้นม 8-10 สัปดาห์ แต่ในการผลิตเพื่อการค้าปัจจุบันมักจะหย่านมเมื่ออายุ 3-5 สัปดาห์หรือเร็วกว่านี้ อายุถึงวัยเจริญพันธุ์ประมาณ 5-6 เดือน อย่างไรก็ตาม สุกรบางพันธุ์ในเอเชีย หรือสุกรขนาดเล็กอาจสามารถผสมพันธุ์เมื่อมีอายุเพียง 3-4 เดือน การผสมพันธุ์จะเริ่มหลังจากเมื่อผ่านวัยเจริญพันธุ์ไปแล้ว 1-2 เดือน โดยทั่วไปสุกรเพศเมียจะให้ผลผลิตลูกได้ 2 ครอกต่อปี เป็นเวลา 4-5 ปีหรือนานกว่านี้ ตามปกติสุกรอาจมีอายุยืนยาวถึง 15 ปี (Serres, 1992)

ดีเอ็นเอ เป็นสารพันธุกรรมที่เก็บข้อมูลทางพันธุกรรม (genetic information) มีโมเลกุลที่ยาวประกอบด้วยดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์หลายพันหน่วยมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเตอร์ ดีเอ็นเอแต่ละหน่วยย่อยประกอบด้วยน้ำตาล เบส และหมู่ฟอสเฟตในสัดส่วนเท่าๆ กัน (1:1:1) เบสที่พบทั่วไปในดีเอ็นเอมี 4 ชนิด ได้แก่ ไซโทซีน (cytosine หรือ C) ไธมีน (thymine หรือ T) อะดีนีน (adenine หรือ A) และกวานีน (guanine หรือ G) (Vassart, et al. 1987) ดีเอ็นเอมีหน้าที่สำคัญ 2 ประการ ได้แก่ การจำลองตัวเอง (DNA replication) เมื่อมีการแบ่งเซลล์เพื่อความคงที่ของ

จำนวนโครโมโซมในเซลล์ใหม่ และทำให้โครโมโซมมีลักษณะเหมือนเดิมทุกประการ การถ่ายทอดข้อมูลผ่านอาร์เอ็นเอเพื่อกำหนดการเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีน หรือกระบวนการถอดรหัสดีเอ็นเอเพื่อสร้างอาร์เอ็นเอ (transcription) และการแปลรหัส (translation) ดีเอ็นเอมีโครงสร้างเป็นเกลียวคู่คล้ายขดลวดเรียกว่า ฮีลิคซ์ (helix) มีลักษณะเป็นเกลียวคู่ เวียนขวา มีทิศทางสวนกัน เมื่อเบสบนสายดีเอ็นเอเป็นเบสคู่สมกัน (complementary base) ความยาวของสายดีเอ็นเอเกิดจากการเรียงตัวกันของเบส 4 ชนิดนี้ในรูปแบบต่างกันมีผลทำให้ดีเอ็นเอเป็นแหล่งเก็บข้อมูลที่แตกต่างกันได้เป็นจำนวนมาก การเรียงตัวที่ต่างกันของเบสทำให้เกิดความแตกต่างของดีเอ็นเอและเกิดเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอขึ้น ลายพิมพ์ดีเอ็นเอนี้มีประโยชน์ในการแยกแยะบุคคลหนึ่งออกจากอีกคนหนึ่ง ซึ่งมีความสำคัญต่อการศึกษาพันธุศาสตร์ของสัตว์ เช่น บอกชนิดหรือสปีชีส์ (species) เป็นต้น (วิชัย และคณะ, 2541)

ในทางพันธุศาสตร์ได้มีการใช้เทคนิค Random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR) เป็นเครื่องมือในการตรวจเครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งจะใช้ Primer ที่มีขนาดสั้นๆ นิยมใช้ความยาวของ Primer ประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ ที่มีลำดับเบส GC ค่อนข้างมาก Primer เหล่านี้จะเป็น Primer ที่มีการจับกับ DNA template แบบสุ่มมีการสุ่มหาลำดับเบสเป้าหมายที่กระจายอยู่ใน spelling DNA ของ DNA template ดีเอ็นเอที่ได้จะมีความแปรปรวนเรื่องความยาวและขนาดและมีจำนวนน้อย การทดลองด้วยเทคนิคนี้มีข้อดีที่ทำให้ได้ง่าย สะดวก รวดเร็วโดยไม่จำเป็นต้องรู้จักข้อมูลเรื่องดีเอ็นเอจีโนมนั้นมาก่อน โดยในการศึกษาครั้งนี้ จะทำการศึกษากับสุกร 4 สายพันธุ์ คือ สุกรพันธุ์ ลาร์จไวท์ พันธุ์แลนด์เรซ พันธุ์ดริค-เจอร์ซี่ และพันธุ์ เหมยซาน ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงเป็นการค้า

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์ ลาร์จไวท์ พันธุ์แลนด์เรซ พันธุ์ดริค-เจอร์ซี่ และพันธุ์ เหมยซาน โดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี-พีซีอาร์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์ ลาร์จไวท์ แลนด์เรซ ดริค-เจอร์ซี่ และเหมยซาน โดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี-พีซีอาร์ เริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด โดยใช้ตัวอย่างเลือดสุกรสายพันธุ์ละ 1,000 ไมโครลิตร คัดแปลงจาก Herrmann and Frischau (1987) อ้างโดยสุรินทร์ (2545) แล้วนำมาคำนวณปริมาณดีเอ็นเอและวิเคราะห์คุณภาพดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Biophotometer^{1/} นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density) ที่ 260 นาโนเมตร (OD₂₆₀) และที่ 280 นาโนเมตร ถ้าอัตราส่วน OD_{260/280} มีค่าอยู่ระหว่าง 1.5-1.9 แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีคุณภาพดี และตรวจคุณภาพของดีเอ็นเอที่ได้โดยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้ช่องกาโรสเจลเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (W/V) นำดีเอ็นเอที่ตรวจคุณภาพแล้วมาเพิ่มปริมาณโดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่ม คือ primer oligo 101 (5' to 3' sequence GCG CCT GGA G) ทำปฏิกิริยาทั้งหมด 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย Tris - HCl (10 μ M) pH 8.3 จำนวน 1 ไมโครลิตร, dH₂O จำนวน 12 ไมโครลิตร, MgCl₂ (2 μ M) จำนวน 2 ไมโครลิตร, dNTP (100 μ M) จำนวน 1 ไมโครลิตร, primer (0.4 μ M) จำนวน 3 ไมโครลิตร, Tag DNA polymerase (10 Unit/ μ l) จำนวน 1 ไมโครลิตร, KCl (50 mM) จำนวน 5 ไมโครลิตร เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Thermal cycler^{2/} ใช้เวลาทั้งหมด 2 ชั่วโมง 28 นาที 55 วินาที ได้แก่ initiation denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที จำนวน 39 รอบ final extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที รวมจำนวน 2 ครั้ง จำนวน 39 รอบ เมื่อเกิด primer extension สมบูรณ์แล้วเก็บ PCR product ที่ได้อีกที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจโดยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้ช่องกาโรสเจลเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (W/V) เจลขนาด 12x12x15 เซนติเมตร ใช้ความต่างศักย์คงที่ 100 โวลต์ และ 0.5 X TAE buffer (นฤมล, 2547) ทำการตรวจสอบลายพิมพ์

ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV-Transilluminator เปรียบเทียบกับ
lamda hind marker และ 100 base pair marker

^{1/} Biometra® รุ่น Gene Ray (England)

^{2/} Biometra® รุ่น T GRADIENT (England)

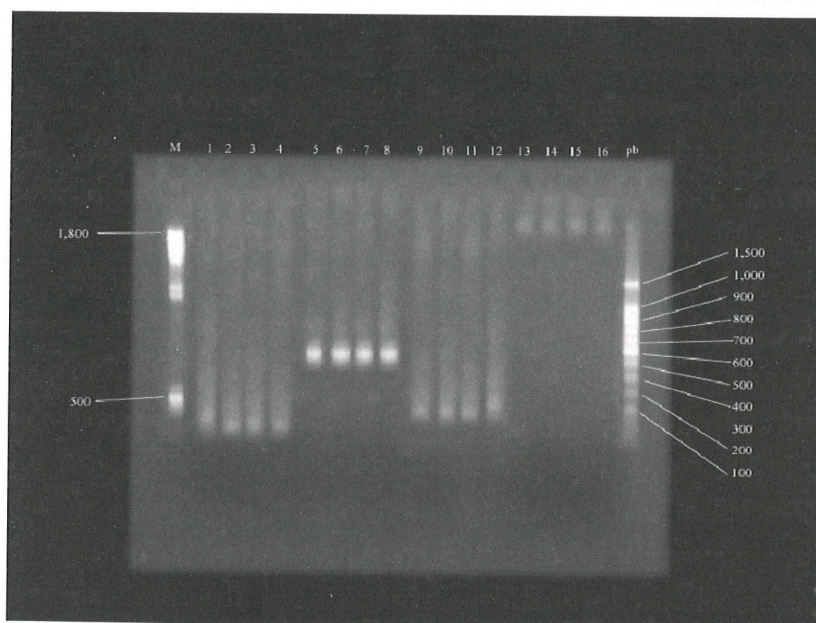
ผลการวิจัย

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) และการวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density)

การสกัดดีเอ็นเอจากเลือดสุกรทั้ง 4 สายพันธุ์เมื่อนำไปวัดค่า OD 260 และ 280 nm พบว่า สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์มีค่า OD_{260/280} เท่ากับ 1.67 พันธุ์แลนด์เรซมีค่า 1.76 พันธุ์ดอร์ค-เจอร์ซีย์มีค่า 1.50 และสุกรพันธุ์หมยซานมีค่า 1.53 แสดงว่าดีเอ็นเอของสุกรทดลองที่สกัดได้มีคุณภาพดี

การตรวจสอบผลโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis)

การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอสุกรทั้ง 4 สายพันธุ์โดย agarose gel electrophoresis พบว่า ปฏิกริยาของพีซีอาร์จาก genomic DNA ที่สกัดจากเลือดสุกร แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี-พีซีอาร์และนำไปทำการตรวจสอบผลโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสตรวจดูลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel document พบว่า ใน Lane ที่ 1-4, 5-8, 9-12 และ 13-16 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับ lamda hind marker และ 100 base pair marker พบว่าสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์มีดีเอ็นเอขนาด 90 bp พันธุ์หมยซานมีขนาด 450 bp พันธุ์ดอร์ค-เจอร์ซีย์มีขนาด 70 bp และพันธุ์แลนด์เรซมีขนาด 2,000 bp ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกรทั้ง 4 สายพันธุ์โดยเทคนิค RAPD-PCR

Lane M	=	Lamda Hind Marker
Lane bp	=	100 base pairs
Lane 1-4	=	PCR product ของตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์
Lane 5-8	=	PCR product ของตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์หมยซาน
Lane 9-12	=	PCR product ของตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์ดอร์ค-เจอร์ซีย์
Lane 13-16	=	PCR product ของตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์แลนด์เรซ

สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกร ด้วยเทคนิค RAPD-PCR ภายในศูนย์วิจัยและฝึกอบรมสุกร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์ พบว่าตำแหน่งลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสุกรพันธุ์ลาร์จไวท สุกรพันธุ์แลนด์เรซ สุกรพันธุ์ดุริชเคเจอร์ซี และสุกรพันธุ์หมุยซาน แต่ละสายพันธุ์มีตำแหน่งลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับ lamda hind marker และ 100 base pair marker คือ มีตำแหน่งลายพิมพ์ดีเอ็นเออยู่ที่ 90 bp, 2,000 bp, 70 bp, และ 450 bp ตามลำดับ บอกถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของสุกรแต่ละสายพันธุ์ได้อย่างชัดเจนเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของจันทร์เพ็ญ และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาวีธีการตรวจเพศกระบือปลักจากเลือดโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์พบว่าเพศเมียและเพศผู้ที่มีตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอต่างกัน ด้วยเทคนิคพีซีอาร์นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบเพศของกระบือปลักจากตัวอย่างได้ และเปรียบเทียบกับดวงสมร และคณะ (2548) ทำการตรวจหาจีโนไทป์ของยีนแคปปาเคซีนด้วยวิธีพีซีอาร์-อาร์เอฟ แอลพี โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างรากขนในฝูงโคนมแทนการใช้ตัวอย่างเลือดก็สามารถให้ผลลักษณะทางจีโนไทป์ของยีนแคปปาเคซีนชัดเจน แสดงถึงโคฝูงนี้มีศักยภาพในการที่จะปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุกรรมที่ให้ผลผลิตที่มีลักษณะเฉพาะตามที่ต้องการได้

จากการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิคอาร์เอฟดี-พีซีอาร์ สามารถนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรได้ และควรมีการศึกษาต่อไปเพื่อให้ทราบแน่ชัดต่อไปว่า PCR product ของสุกรแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะเป็นอย่างไร ดังนั้นผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาหาเครื่องหมายทางพันธุกรรมของสุกรในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์สุกรต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์ ที่สนับสนุนทุนวิจัย

และขอขอบคุณ ดร. บังอร แถวโนนังว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อวิจัยครั้งนี้

บรรณานุกรม

- จันทร์เพ็ญ พันธุ์สิน และคณะ (2548). การตรวจสอบของกระบือปลักโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์. ใน : การประชุมวิชาการ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 4. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- ดวงสมร สุวัฑฒน และคณะ (2548). การตรวจหาจีโนไทป์ของแคปปาเคซีนในโคนมโดยการใช้รากขนสัตว์แทนตัวอย่างเลือด. ใน : การประชุมวิชาการคณะสัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 4, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.
- นฤมล ประครองรักษ์. (2547). การจำแนกประเภทของปลาสกุล Barbodes โดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี. ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม. 75 หน้า.
- วรวิธ ชัยเนตร. (2544). การผลิตสุกร (Swine production). คณะวิชาสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์. กาฬสินธุ์.
- วิชัย บุญแสง และคณะ (2541). ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ: จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 103 หน้า.
- สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล. (2545). จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ ปฏิบัติการอาร์เอฟดีและเอเอฟแอลพี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ : 48-69
- Pond, W.G. and H.J. Mersmann. (2001). General Characteristics. Pond, WG. and H.J. Mersmann. (Eds). Biology of the Domestic Pig . pp. 1-40. Cornell University Press, USA.
- Serres, R. (1992). Manual of Pig Production in the Tropics. Redwood Press, Melksham, London.
- Vassart, G, Georges M, Monsicur R, Brocas H, Lequarre AS, and Charistophe DA. 1987. A Sequence in M13 Phage Detects Hypervariable Mini -satellite in Human DNA and Animal DNA. Science. 235: 683-684.