บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ค่าความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีลของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP

การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล AFLP สำหรับบ่งชี้ลักษณะไก่ประดู่หางดำ ถูกพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลอย่างง่าย (co-dominant marker) เพื่อใช้ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางได้ จำนวน 27 เครื่องหมาย คือ AFLP01 ถึง AFLP27 ซึ่งแสดงความผันแปรทางพันธุกรรม (polymorphism) โดยสามารถตรวจสอบได้ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Taq*I, *Eco*RI, *Alu*I, *Bsu*RI, *Msp*I, *Hin*6I, *Mbo*I และ *Hsp*92II โดยเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวมาตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุล คำนวณค่าความถี่จีโนไทป์ และค่าความถี่อัลลีลในไก่ประดู่หางดำจำนวน 100 ตัว พบว่าเครื่องหมายโมเลกุล AFLP01 ถึง AFLP 27 ของไก่ประดู่หางดำมีค่าความถี่จีโนไทป์ 3 แบบ โดยค่าความถี่จีโนไทป์แบบ AA อยู่ระหว่าง 0.00-0.92 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP14, AFLP25 มีค่าความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล AFLP02 มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงสุด ในขณะที่ค่าความถี่จีโนไทป์แบบ AB อยู่ระหว่าง 0.02-0.58 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP02 มีค่าความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล AFLP08 มีค่าความถี่ จีโนไทป์สูงสุด และค่าความถี่จีโนไทป์แบบ BB อยู่ระหว่าง 0.00-0.94 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP09 และ AFLP10 มีค่าความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล AFLP25 มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงสุด นอกจากนี้ค่าความถี่อัลลีล A อยู่ระหว่าง 0.03-0.95 โดยเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล A น้อยที่สุด คือ เครื่องหมาย AFLP25 ส่วนเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล A มากที่สุด คือ เครื่องหมาย AFLP9 และ AFLP10 ส่วนค่าความถี่อัลลีล B อยู่ระหว่าง 0.05-0.97 โดยเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล B น้อยที่สุด คือ เครื่องหมาย AFLP9 และ AFLP10 และเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล B มากที่สุด คือ เครื่องหมาย AFLP25

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำ โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ SNP จำนวน 27 เครื่องหมาย พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่า

เท่ากับ 3.37×10^{-8} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 29 ล้านตัว ซึ่งสอดคล้องกันรายงานของ Heaton *et al*. (2005) โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 20 ตำแหน่ง สามารถจำแนกโคแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 4.3×10^{-8} หรือมีโอกาสตรวจสอบพบโคที่มีจีโนไทป์เหมือนกันประมาณ 1 ใน 23 ล้านตัว

สำหรับผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจำนวนน้อยที่สุด ที่สามารถจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำถูกพิจารณาจาก 3 วิธีการ คือ 1) การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ค่า HWE, 2) การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ค่า PIC และ 3) การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ค่า PI

5.2.1 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า HWE

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่พิจารณาจากค่าของ HWE ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่อยู่ใน HWE และ 2) ส่วนของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ไม่อยู่ใน HWE โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่อยู่ใน HWE มีจำนวน 16 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 2.32×10^{-5} (มีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 43,111 ตัว) ส่วนในเครื่องหมายโมเลกุลที่ไม่อยู่ใน HWE พบว่ามีจำนวน 11 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.00×10^{-3} (มีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 688 ตัว) การศึกษาครั้งนี้พบว่าการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่อยู่ใน HWE มีประสิทธิภาพในการจำแนกไก่ประดู่หางดำออกกันได้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่ไม่อยู่ใน HWE ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lee *et al*. (2005) ที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP ทุกตำแหน่งอยู่ใน HWE ที่ใช้ในการจำแนกประชาชนในประเทศเกาหลีแต่ละบุคคลออกจากการกัน จำนวน 22 เครื่องหมาย ได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.905×10^{-10} ในขณะที่ Denise *et al*. (2003) รายงานว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNP ส่วนใหญ่ที่อยู่ HWE จำนวน 44 เครื่องหมาย สามารถจำแนกสุนัขแต่ละตัวออกจากการกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 3.2×10^{-8}

5.2.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PIC

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากค่า PIC ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความหลากหลายของเครื่องหมายโมเลกุล ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าค่า PIC มีค่าอยู่ระหว่าง 0.06-0.37 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างต่ำ โดย PIC ที่มีค่าความหลากหลายต่ำที่สุด คือ เครื่องหมายโมเลกุล AFLP25

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล PIC ที่มีค่าความหลากหลายสูงที่สุด คือ AFLP04, AFLP05, AFLP06, AFLP19 และ AFLP20 สำหรับการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PIC ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่มากกว่า 0.3 และ 2) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 ทั้งนี้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่มากกว่า 0.3 มีจำนวน 13 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 7.83×10^{-6} (มีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 127,734 ตัว) ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 พบว่ามีจำนวน 14 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 4.30×10^{-3} (มีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 232 ตัว) เมื่อพิจารณาการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากการคำนวณค่า PIC พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่มากกว่า 0.3 มีประสิทธิภาพในการจำแนกไก่ประดู่หางดำออกกันได้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Denise *et al*. (2003) ที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่มีค่า PIC เฉลี่ยที่ 0.53 และ 0.61 พบค่าเฉลี่ย PIC ที่ 0.61 สามารถจำแนกสุนัขแต่ละออกจากกันด้วยค่า PI สูงกว่าค่าค่าเฉลี่ย PIC ที่ 0.53 มีค่าเท่ากับ 3.6×10^{-5} และ 3.2×10^{-8} ตามลำดับ

5.2.3 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PI

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากค่า PI โดยเป็นค่าที่บ่งบอกถึงโอกาสที่สัตว์แต่ละตัวจะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า PI มีค่าอยู่ระหว่าง 0.357-0.883 โดย PI ที่มีค่าต่ำสุด คือ เครื่องหมายโมเลกุล AFLP05 ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล PI ที่มีค่าสูงสุด คือ AFLP25 สำหรับการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PI ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่น้อยกว่า 0.5 และ 2) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่น้อยว่า 0.5 มีจำนวน 15 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.85×10^{-6} (มีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 541,181 ตัว) ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 พบว่ามีจำนวน 12 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.80×10^{-1} (มีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 55 ตัว) เมื่อพิจารณา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากการคำนวณค่า PI พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่น้อยกว่า 0.5 มีประสิทธิภาพในการจำแนกไก่ประดู่หางดำออกกันได้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5

จากการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยพิจารณาจากค่า HWE, PIC และ PI ดังกล่าวข้างต้น เพื่อจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำ พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่คัดเลือกจากค่า PI (1.85×10^{-6}) มีประสิทธิภาพในการจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกได้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่คัดเลือกจากค่า PIC (7.83×10^{-6}) และ HWE (2.32×10^{-5}) ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP ในสัตว์อื่นๆ เช่น รายงานของ Herráeza *et al.* (2005) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 43 ตำแหน่ง เพื่อจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของโคสายพันธุ์ Galloway ออกจากกัน ซึ่งพบว่าเครื่องหมายหมายเหล่านี้สามารถจำแนกโคออกจากการกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 5.3×10^{-11} ในขณะที่ Rohrer *et al.* (2007) คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 60 ตำแหน่ง โดยพิจารณาความถี่อัลลีลที่มากกว่า 0.15 ซึ่งสามารถจำแนกสุกรแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 4.3×10^{-14}

อย่างไรก็ตามคุณสมบัติที่ใช้ในการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ใช้ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตควรมีค่า PI ที่ต่ำ มีค่า PIC ที่สูง และควรอยู่ใน HWE (Denise *et al.,* 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ใช้ยังมีอิทธิพลต่อการตรวจสอบความแม่นยำในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุ์กรรมในสิ่งมีชีวิต โดยหากมีการเพิ่มจำนวนเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มากขึ้น ส่งผลทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิติได้สูงขึ้น (Heaton *et al*., 2002) ซึ่งการศึกษาการใช้เครื่องโมเลกุลดีเอ็นเอในการจำแนกสัตว์แต่ละตัวออกจากกันโดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP มีการศึกษาในสัตว์อื่น เช่น โค (Herráeza *et al*., 2005) และสุกร (Rohrer *et al*., 2007) และมนุษย์ (Lee *et al.,* 2005) เป็นต้น แต่ยังไม่พบว่ามีการศึกษาในไก่ประดู่หางดำ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลใหม่ที่เกิดขึ้น ทำให้มีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกไก่ประดู่หางดำออกจากกันเป็นรายตัว ซึ่งนับว่าเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าว จำนวนทั้ง 27 เครื่องหมาย มีความถูกต้องสูงโดยมีค่าความผิดพลาดประมาณ 3.37×10^{-8} ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้หากนำไปใช้ในทางปฏิบัติถือว่ามีความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ แต่หากมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพิ่มมากขึ้น ส่งทำให้โอกาสความผิดพลาดลดลง เพื่อใช้เป็นการยืนยันผลให้มีความแม่นยำยิ่งขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved