บทที่ 5

วิจารณ์ผล

5.1 การเพิ่มจำนวนไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพบว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ 5 ตำแหน่ง สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มชิ้นส่วนไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ได้และให้รูปแบบความหลากหลายสูง

ในกระบวนการพีซีอาร์อุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอน primer annealing ของไมโครแซทเทลไลท์ไพรเมอร์แต่ละตัวมีความแตกต่างกัน โดยระหว่างการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการจะทำการปรับอุณหภูมิในขั้นตอนนี้ให้เหมาะสมเพื่อให้สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอได้ดี และอ่านผลในขั้นตอน gel electrophoresis ได้ชัดเจน

เมื่อผ่านกระบวนการพีซีอาร์แล้วจำนวนตัวสัตว์จะลดลงจากจำนวนตัวสัตว์เริ่มต้นไก่แดง 99 ตัว และไก่ซี 100 ตัว (ตารางที่ 4.22) เนื่องมาจากในการทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเมื่อผ่านการทำ gel eletrophoresis แล้วตัวอย่างบางตัวอย่างไม่แสดงแถบดีเอ็นเอ หรือแสดงแถบดีเอ็นเอที่ไม่ต้องการเกิดขึ้นคืออาจมีขนาดที่ใหญ่เกินไป ซึ่งตัวอย่างเหล่านั้นได้มีการทำพีซีอาร์ซ้ำเพื่อดูผลอีกครั้ง และบางตัวอย่างมีการทำซ้ำแล้วแต่ผลออกมาคือไม่มีแถบดีเอ็นเอหรืออ่านผลไม่ได้เหมือนเดิมจึงทำการไม่นับตัวอย่างนั้นและส่งผลให้จำนวนตัวสัตว์ลดลง

5.2 รูปแบบความหลากหลายของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

การตรวจสอบรูปแบบความหลากหลายของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง LEI0192 พบจำนวนอัลลีล a ขนาดประมาณ 250 คู่เบสจำนวนมากในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ โดยมีความถี่อัลลีลอยู่ระหว่าง 0.3300-0.3804 จากอัลลีลที่ได้ทั้งหมด 9 อัลลีล สามารถพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ทั้งหมด 45 รูปแบบ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบรูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายตำแหน่งนี้ทั้งหมด 32 รูปแบบ พบรูปแบบจีโนไทป์กระจายอยู่ในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์

รูปแบบความหลากหลายของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง LEI0228 พบอัลลีล d ขนาดประมาณ 211 คู่เบสจำนวนมากในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ โดยมีความถี่อัลลีลอยู่ระหว่าง 0.3062-0.4884 และพบอัลลีล f ขนาดประมาณ 227 คู่เบสจำนวนมากในไก่ชีเพศผู้โดยมีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.2245 จากอัลลีลทั้งหมด 11 อัลลีล สามารถพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ทั้งหมด 66 รูปแบบ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบรูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายตำแหน่งนี้ทั้งหมด 43 รูปแบบ รูปแบบจีโนไทป์ที่พบมากในไก่ทั้งสองสายพันธุ์คือ dd และพบรูปแบบจีโนไทป์อื่นๆ กระจายอยู่ในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์

รูปแบบความหลากหลายของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง LEI0229 พบอัลลีล i ขนาดประมาณ 319 คู่เบสจำนวนมากในไก่ชีเพศเมีย โดยมีความถี่อัลลีล 0.4545 และพบอัลลีล kขนาดประมาณ 399 คู่เบสที่พบแต่ในไก่ชีเพศผู้โดยมีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.0345 จากอัลลีลทั้งหมด 11 อัลลีล สามารถพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ทั้งหมด 66 รูปแบบ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบรูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายตำแหน่งนี้ทั้งหมด 33 รูปแบบ พบรูปแบบจีโนไทป์ ii มากในไก่ชีเพศเมีย และพบรูปแบบจีโนไทป์อื่นๆกระจายอยู่ในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์

เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง LEI0248 พบอัลลีล g ขนาดประมาณ 292 คู่เบสจำนวนมากในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ โดยมีความถี่อัลลีลอยู่ระหว่าง 0.2500-0.4143 รองลงมาคืออัลลีล f ขนาดประมาณ 284 คู่เบส โดยมีความถี่อยู่ระหว่าง 0.1786-0.3750 นอกจากนี้พบอัลลีล a ขนาดประมาณ 200 คู่เบสที่พบแต่ในไก่แดงเพศผู้และเพศเมียผู้โดยมีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.0156 และ 0.0341 ตามลำดับ และพบอัลลีล b ขนาดประมาณ 212 คู่เบสที่พบแต่ในไก่ชีเพศผู้และเพศเมียผู้โดยมีความถี่อัลลีลเท่ากับ 0.0143 และ 0.0357 ตามลำดับ จากอัลลีลทั้งหมด 9 อัลลีล ในไก่แดงพบอัลลีล 8 อัลลีลสามารถพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ทั้งหมด 36 รูปแบบเช่นเดียวกับในไก่ชี ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ไก่แดงพบรูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายตำแหน่งนี้ทั้งหมด 21 รูปแบบ พบรูปแบบจีโนไทป์ gg มากในเพศเมียและจีโนไทป์ ff มากในเพศผู้ ในไก่ชีพบอัลลีล 8 อัลลีล พบรูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายตำแหน่งนี้ทั้งหมด 17 รูปแบบ พบรูปแบบจีโนไทป์ gg มากทั้งในเพศผู้และเพศเมีย

เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง LEI0234 พบอัลลีล f ขนาดประมาณ 319 คู่เบสจำนวนมากในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ โดยมีความถี่อัลลีลอยู่ระหว่าง 0.2907-0.3488 ไม่พบอัลลีล c ขนาดประมาณ 279 คู่เบสในไก่ชีเพศเมีย จากอัลลีลทั้งหมด 8 อัลลีล สามารถพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ทั้งหมด 36 รูปแบบ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบรูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมาย

ตำแหน่งนี้ทั้งหมด 29 รูปแบบ พบรูปแบบจีโนไทป์ ef มากในไก่ชีเพศผู้ เพศเมีย และไก่แดงเพศผู้ และพบรูปแบบจีโนไทป์อื่นๆกระจายอยู่ในไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์

จากการตรวจแถบดีเอ็นเอพบว่าจำนวนอัลลีลในแต่ละตำแหน่งของ microsatellite primer สำหรับทุกประชากรที่ศึกษามีความแปรผันอยู่ระหว่าง 8 – 11 อัลลีล ซึ่งการรายงานของปิยมาศ (2542) ที่นำไก่ประดู่หางดำ ไก่เหลืองหางขาว ไก่เบตง ไก่แจ้ และไก่ป่าตุ้มหูขาว (*Gallus gallus gallus*) มาวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมด้วย microsatellite primer จำนวน 4 ตำแหน่ง ที่มีรูปแบบความหลากหลายสูง จำนวนอัลลีลที่ได้จากไพรเมอร์มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 6 – 13 อัลลีล เช่นเดียวกับรายงานของ เฉลิมชัย (2546) ที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองสองสายพันธุ์คือ ไก่ประดู่หางดำ และไก่เหลืองหางขาว โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 18 ตำแหน่ง พบว่าเกิดจำนวนอัลลีลสำหรับทุกตำแหน่งอยู่ในช่วง 4 – 19 อัลลีล และรายงานของทัศนีย์ (2547) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง 7 สายพันธุ์ ได้แก่ ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่ชี ไก่แจ้ ไก่เบตง ไก่คอเปลือย และไก่ขนหยอง โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 20 ตำแหน่ง พบจำนวนอัลลีลสำหรับทุกตำแหน่งอยู่ในช่วง 3 – 15 อัลลีล แต่จะแตกต่างจากรายงานของสจี (2543) ที่ศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับการฟักไข่ในไก่ลูกผสมระหว่างไก่พื้นเมืองและไก่ไข่ ด้วย microsatellite primer จำนวน 28 ตำแหน่ง พบจำนวนอัลลีลสำหรับทุกตำแหน่งอยู่ในช่วง 2 – 5 อัลลีล และรายงานของเยาวลักษณ์ (2544) ที่ศึกษาความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 20 ตำแหน่ง พบจำนวนอัลลีลสำหรับทุกตำแหน่งอยู่ในช่วง 2 – 9 อัลลีล ซึ่งความแตกต่างของจำนวนอัลลีลที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากการใช้ชนิดและจำนวนของไพรเมอร์ที่ต่างกัน ตัวอย่างของประชากรที่นำมาใช้ในการศึกษามาจากแหล่งที่แตกต่างกันและมีจำนวนที่แตกต่างกัน

ผลจากการทดลองใช้ดีเอ็นเอจากเลือดไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์มาเข้าสู่กระบวนการพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วย microsatellite primer จำนวน 5 ตำแหน่ง และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วย 6% acrylamide gel พบว่าสามารถตรวจนับแถบดีเอ็นเอที่เกิดจาก microsatellite primer ทั้ง 5 ตำแหน่ง

5.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุศาสตร์

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุศาสตร์พบว่า ค่าความถี่อัลลีลของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ในไก่ทั้งสองสายพันธุ์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0051-0.3701 และจากผลวิเคราะห์ค่าเฮทเทอโรไซ

โกชิตี้จากทฤษฎีเฉลี่ยของไก่ชีมีค่า 0.8012 และไก่แดงมีค่า 0.8095 จากการรายงานของปาริชาติ (2547) ที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองไทย 4 สายพันธุ์คือ ไก่ประดู่หางดำ ไก่เหลืองหางขาว ไก่ชี และไก่นกแดงหางแดง พบว่ามีค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้จากทฤษฎีเฉลี่ยของไก่ชีเท่ากับ 0.962 และไก่นกแดงหางแดงหรือไก่แดงเท่ากับ 0.6523 และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้จากทฤษฎีเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้กับไก่พื้นเมืองในประเทศอื่นๆ เช่น ไก่พื้นเมืองแอฟริกาใต้ มีค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้จากทฤษฎีเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.314-0.612 (Marle-Koster and Nei., 2000) ไก่พื้นเมืองจากทวีปแอฟริกา เอเชีย และอเมริกาใต้ มีค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้จากทฤษฎีเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.45-0.71 (Wimmers et al., 2000) และไก่พื้นเมืองที่มาจากประเทศจีนมีค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้จากทฤษฎีเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.707-0.849 (Zang et al., 2002a) แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองไทยมีความแปรผันทางพันธุกรรมสอดคล้องกับไก่พื้นเมืองประเทศจีน แต่มีความแปรผันทางพันธุกรรมมากกว่าไก่พื้นเมืองจากทวีปแอฟริกา เอเชีย อเมริกาใต้ และแอฟริกาใต้ ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจมาจากหลายสาเหตุ เช่น จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา ชนิดของไพรเมอร์ จำนวนของไพรเมอร์ เทคนิคที่ใช้ และรวมถึงการวิเคราะห์ข้อมูล

จากค่าฉลี่ยของค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้จากการสังเกตและจากทฤษฎีที่สูงของไก่พื้นเมืองทั้งสองสายพันธุ์ที่เหมือนกัน แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองไทยที่นำมาศึกษาในครั้งนี้มีความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) สูง และจากค่าเฮทเทอโรไซโกชิตี้ที่ได้ทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองไทยทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะเฮทเทอโรไซโกตมากกว่าโฮโมไซโกต

ค่า PIC ของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ทุกตำแหน่งที่ได้มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.7353-0.8564 มีค่ามากกว่า 0.5 แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 5 ตำแหน่ง มีรูปแบบความหลากหลายสูง ให้จำนวนอัลลีลมาก และมีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ในงานอื่นๆได้ดี และให้ความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง