



## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาและวิเคราะห์ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ที่สกัดแยกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกระบือปลักและกระบือมูราห์ภายหลังการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ โดยใช้อะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส เพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างหรือเหมือนกันของรูปแบบการเรียงตัวของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอภายในสายพันธุ์เดียวกันของกระบือปลัก และเปรียบเทียบต่างสายพันธุ์กับกระบือมูราห์ จากผลการศึกษาสรุปได้ดังนี้

1. ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่แยกสกัดได้จากเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่ามีปริมาณโดยเฉลี่ย  $4.09 \pm 0.32$  ไมโครกรัม (3.79-4.49) และ  $3.80 \pm 0.36$  ไมโครกรัม (3.19-4.17) ต่อ 100 มล. ของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกระบือปลักและกระบือมูราห์ตามลำดับ

2. ในการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *BamH* I, *Bgl* I, *EcoR* I และ *Pst* I ตัดไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักและกระบือมูราห์ พบว่าเอนไซม์ตัดจำเพาะ *BamH* I, *EcoR* I และ *Bgl* I สามารถทำการตัดดีเอ็นเอของกระบือทั้งสองสายพันธุ์ได้ดี ยกเว้นเอนไซม์ *Pst* I ที่ไม่เหมาะในการตัดไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือทั้งสองสายพันธุ์

3. การเปรียบเทียบรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส พบว่าภาวะที่เหมาะสมใช้ปริมาณเอนไซม์ตัดจำเพาะ *BamH* I 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและความเข้มข้นเจล 1 เปอร์เซ็นต์ความต่างศักย์คงที่ที่ 5 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตรใช้เวลานาน 3 ชม. 30 นาที จะให้รูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ชัดเจน ซึ่งพบว่ารูปแบบการเรียงตัวของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักกลุ่มสายพันธุ์เดียวกันจะแตกต่างกันและสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม และแถบไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่

สามารถใช้บอกความแตกต่างระหว่างกระบือปลักทั้ง 3 กลุ่มคือแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอขนาด 3.8, 4.3, 4.5 และ 5.3 กิโลเบส

4. การเปรียบเทียบรูปแบบการเรียงตัวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะภายหลังการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส พบว่าภาวะที่เหมาะสมใช้ปริมาณเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EcoR I* 6 หน่วยต่อดีเอ็นเอ 0.5 ไมโครกรัมและความเข้มข้นเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ความต่างศักย์คงที่ที่ 5 โวลต์ต่อความยาวเจลหนึ่งเซนติเมตร ใช้เวลานาน 3 ชม. 30 นาที จะให้รูปแบบการเรียงตัวของแถบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ชัดเจน ทั้งของกระบือปลักและกระบือมูราห์ จะพบว่ามีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะแถบดีเอ็นเอขนาด 2.1 กิโลเบสที่พบเฉพาะในไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลักเท่านั้น

**ข้อดี ข้อเสีย ในการศึกษารูปแบบการเรียงตัวของแถบไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอของกระบือปลัก และกระบือมูราห์**

**ข้อดี**

1. วิธีการเตรียมตัวอย่าง (การเจาะเลือด) ทำได้ง่ายไม่ยุ่งยาก สามารถใช้ทดลองได้กับสัตว์ที่ยังมีชีวิตอยู่
2. วิธีการแยกไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอทำได้ง่าย ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือพิเศษราคาแพง เช่นเครื่องปั่น Ultracentrifuge

**ข้อเสีย**

1. ปริมาณความเข้มข้นของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่สกัดแยกได้จากเซลล์เม็ดเลือดขาวมีปริมาณน้อยมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้เลือด (whole blood) เป็นจำนวนมาก
2. ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ เนื่องจากมีการปนเปื้อนของดีเอ็นเอจากนิวเคลียส

จากการที่งานวิจัยนี้ ได้เริ่มต้นนำเอาเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาลักษณะพันธุกรรมของกระบือปลักและกระบือมูราห์ แต่ก็มีอุปสรรคและข้อควรแก้ไขอีกหลายประการเช่น

1. ปริมาณไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่สกัดแยกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวมีน้อยไม่เพียงพอต่อการทดลองน่าจะมีการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจากแหล่งอื่นเปรียบเทียบ เช่นจากเซลล์ตับ หรือดีเอ็นเอจากโครโมโซม

2. การนำดีเอ็นเอโพรบ (DNA probe) มาใช้ในการตรวจสอบเพื่อให้ผลการทดลองที่ได้มีความถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น

3. จากการศึกษพบว่ากระบือปลักกลุ่มสายพันธุ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติม โดยใช้กระบือปลักทดลองจากแหล่งต่างๆของประเทศเช่น จากภาคเหนือ หรือจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เป็นต้น

4. จากการที่กระบือปลักมีลักษณะเป็นกระบืองาน ในขณะที่กระบือมูราห์เป็นกระบือนมย่อมมีความแตกต่างทางด้านการผลิตนม และจากผลของงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถหาข้อสรุปความแตกต่างทางพันธุกรรมของกระบือมูราห์ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นน่าจะจะมีการศึกษาต่อไปในการที่จะหาตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic marker) โดยเฉพาะยีนทางด้านการผลิตนม เพื่อหาความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์กระบือปลักกับกระบือมูราห์

5. ควรจะมีการศึกษาลักษณะพันธุกรรมของลูกผสมระหว่างกระบือปลักและกระบือมูราห์เพื่อหาความแตกต่างทางพันธุกรรม และเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์กระบือในอนาคต

6. การทดลองใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดอื่นมาตัดดีเอ็นเอเช่นเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bgl* II (A/GATCT), *BstE* II (G/GTNACC) หรือ *Hae* III (GG/CC) เป็นต้น

ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ข้อมูลที่ได้จะเป็นพื้นฐานในการนำเอาเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาใช้ประโยชน์ในกิจการกระบือ โดยเฉพาะในด้านการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์กระบือต่อไปในอนาคต