บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ประวัติไก่พื้นเมือง

ไก่พื้นเมืองถือกำเนิดมาจากไก่ป่าในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยมนุษย์ได้นำมาเป็นสัตว์เลี้ยง เพื่อใช้เป็นอาหาร เมื่อประมาณ 3,000 ปีมาแล้ว โดยทั่วไปไก่พื้นเมืองถูกคัดเลือกสภาพธรรมชาติเป็นหลัก จึงทำให้มีคุณสมบัติเฉพาะตัว (สุพจน์, 2542) สามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้เป็นอย่างดี เลี้ยงรอดสูง มีสัญชาติญาณในการป้องกันตัวเองได้ดี ความทนต่อสภาพดินฟ้าอากาศ มีความต้านทานโรค และมีความสามารถในการฟักไข่ได้ดี (จรัญ, 2526)

เกษตรกรไทยเลี้ยงไก่พื้นเมืองมาเป็นเวลาช้านาน (อภิชัย, 2534) ส่วนใหญ่มักเลี้ยงแบบปล่อยให้ไก่หากินตามธรรมชาติ โดยข้อมูลลักษณะทางการผลิตของไก่พื้นเมืองพบว่า แม่ไก่สาวพื้นเมืองออกไข่ฟองแรกเมื่อมีอายุเฉลี่ย 219.45 ± 32.66 วัน และมีจำนวนไข่เฉลี่ยเท่ากับ 16.24 ± 4.49 ฟองต่อชุด (อาวุธ, 2522) ไก่พื้นเมืองสามารถออกไข่ปีละ 4 ครั้ง เฉลี่ยปีละ 60 ฟอง (ชวนิศนดากร และคณะ, 2512) และใช้เวลาการฟักไข่ประมาณ 21 วัน (จรัญ, 2526; อาวุธ, 2522) ลูกไก่จะอยู่กับแม่ไก่ประมาณ 2-3 เดือน (อภิชัย, 2541) หลังจากนั้นแม่ไก่จึงกลับไปผสมพันธุ์และวางไข่ใหม่ในครั้งต่อไป โดยการผสมพันธุ์ของไก่พื้นเมืองมักจะเป็นการผสมพันธุ์แบบสุ่มและคละพันธุ์กัน ประกอบกับการเลี้ยงเป็นแบบปล่อยฝูง จึงทำให้เป็นเรื่องยากที่จะระบุได้ว่าไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงอยู่ตามชนบทเป็นไก่สายพันธุ์ใด

ในปี พ.ศ. 2545-2553 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้ร่วมมือกับกรมปศุสัตว์ เพื่อพัฒนาฝูงไก่สายพันธุ์แท้ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ไก่ประดู่หางดำ ไก่เหลืองหางขาว ไก่แดง และไก่ชี โดยมีรายละเอียดของแต่ละพันธุ์ ดังนี้

1. ไก่ประดู่หางดำ พบว่าไก่ตระกูลนี้สร้อยจะมีสีแดงหางจะดำ ปากสีดำ ปากอูมใหญ่ ตาสีประดู่ เป็นหงอนหิน มีสร้อยคอสีประดู่ยาวประบ่า มีปีกยาวใหญ่ สร้อยปีกสีประดู่ สร้อยหลังสีประดู่ ระย้าประก้น ส่วนขนลำตัว ปีก หางพัด แข้ง เล็บ และเดือยมีสีดำ โดยทั้งเพศผู้และเพศเมียจะมีลักษณะเหมือนกัน แต่ต่างกันตรงที่เพศเมียไม่มีสร้อย (อภิชัย, 2544) นอกจากนี้ไก่ประดู่หางดำยังมีการบันทึกประวัติศาสตร์ไทยในพงศาวดาร โดยมีการกล่าวถึงความสำคัญของไก่ประดู่หางดำว่าเป็นไก่ของพระเอกาทศรถ (ยืนยง, 2546) (ภาพ 1a)

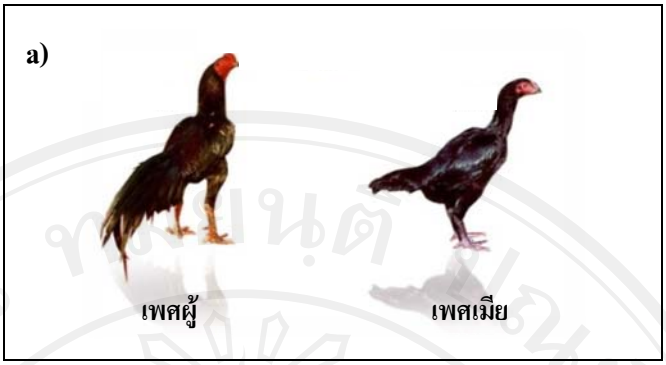
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ไก่เหลืองหางขาว มีลักษณะ ของสร้อยคอสีเหลือง หรือเหลืองแกมส้ม แข้งมีสีขาวอมเหลือง ขนาดเล็ก นิ้วเรียวยาว เดือยงอน ปากขาวอมเหลือง หางขาวยาวเหมือนฟ่อนข้าว มีสร้อยคอ สร้อยหลัง และสร้อยปีก เป็นสีเหลือง หรือเหลืองแกมส้ม หน้ามีลักษณะแหลมยาวเหมือนหน้านกยูง ปีกมีขนาดใหญ่ยาวมีขนขาวแซมทั้งสองข้าง อกมีขนาดใหญ่ ลำตัวยาว หางรัดชิดและมีเสียงขันใหญ่ยาว โดยทั้งเพศผู้และเพศเมียจะมีลักษณะเหมือนกัน แต่ต่างกันตรงที่เพศเมียไม่มีสร้อยหลัง และปีก(อภิชัย, 2544) นอกจากนี้ไก่เหลืองหางขาวยังมีการบันทึกประวัติศาสตร์ไทยในพงศาวดาร โดยมีการกล่าวถึงความสำคัญของไก่เหลืองหางขาวว่าเป็นไก่ของพระนเรศวร (ยืนยง, 2546) (ภาพ 1b)

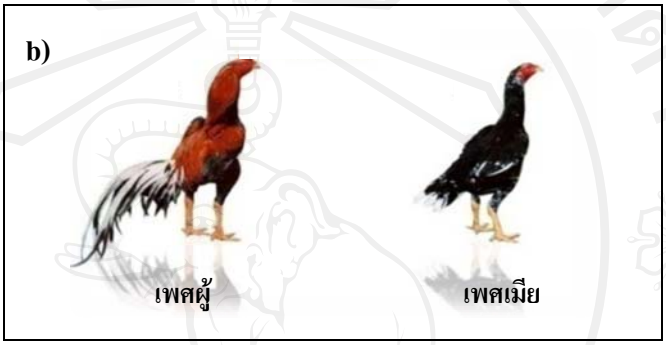
3. ไก่แดง เพศผู้มีลักษณะรูปร่างทะมัดทะแมง ใบหน้าแหลมกลมอูมแบบหน้านกยูง ปากใหญ่สีเหลืองอมแดง หงอนสีแดง ปีกใหญ่ยาว ขนปีกในมีสีแดงเหมือนขนพื้นลำตัว หางปลายมลกลมสีดำ ขนพื้นบริเวณหน้าคอ หน้าอก ใต้ปีก ใต้ท้อง มีสีแดง ขนสร้อยคอ สร้อยปีก สร้อยหลัง ขนปีกหูมีสีแดงเป็นมัน ขนไชปีกขนหางพัด มีสีดำ ส่วนเพศเมีย มีไหล่หน้าใหญ่ ท้ายกลมมลกระรวยหางจะรัด และยาวแบบเพศผู้ นอกจากนี้ยังพบว่าจากนิยายประวัติศาสตร์ยุพราชดำโดยจอมราชันย์ ได้กล่าวถึงความสำคัญของไก่แดงว่าเป็นไก่พันธุ์แท้โบราณ สมัยอยุธยา ตอนฉลองกรุงหงสาวดี จากการจัดให้มีการชนไก่หน้าพระที่นั่งพระเจ้าบุเรงนอง โดยพระเอกาทศรถได้นำไก่แดงมาชนกับไก่พม่า และเอาชนะ ไก่พม่าได้ (กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์) (ภาพ 1c)

4. ไก่ชี เป็นไก่ชนสีขาวทั้งตัว มีลักษณะสูงใหญ่ ไหล่กว้าง ใบหน้าแหลม หงอนหินสีแดง ปีกใหญ่ยาว ขนลำตัว และใต้ปีกสั้นแน่น ส่วนสร้อยคอ สร้อยปีก และสร้อยหลัง ละเอียดปลายแหลมเล็ก โดยพบทั่วไปบริเวณภาคเหนือตอนล่างแถบจังหวัดพิษณุโลก กำแพงเพชร สุโขทัย ภาคกลางแถบจังหวัดพระนครศรีอยุธยา อ่างทอง สิงห์บุรี เพชรบุรี และภาคตะวันออกแถบจังหวัดสมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ระยอง และจันทบุรี นอกจากนี้ยังพบว่าไก่ชียังไม่ปรากฏว่าเป็นไก่ที่มีความสำคัญของบุคคลใดในประวัติศาสตร์ (กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์) (ภาพ 1d)

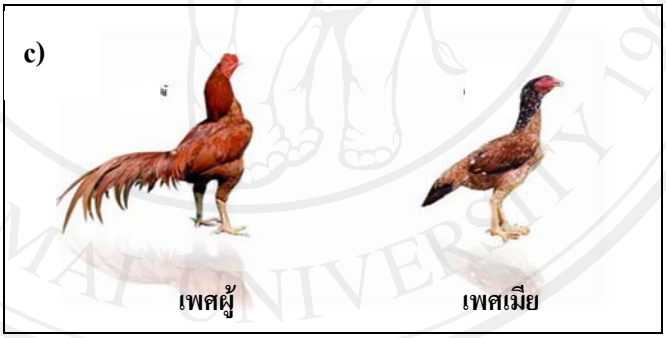
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ไก่ประดู่หางดำ



ไก่เหลืองหางขาว



ไก่แดง

ไก่ชี

ภาพ 1 พันธุ์ของไก่พื้นเมือง a)ไก่ประดู่หางดำ b)ไก่เหลืองหางขาว c)ไก่แดง และ d)ไก่ชี

(ที่มา: http://www.rakbankerd.com/agriculture/open.php?id=155&s=tblanimal)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่

ไก่ (*Gallus gallus*) มีโครโมโซมจำนวน 39 คู่ (2n=78) (Card and Nesheim, 1972) ซึ่งประกอบด้วย โครโมโซมร่างกาย (autosome) จำนวน 38 คู่ และโครโมโซมเพศจำนวน 1 คู่ โดยไก่เพศผู้มีโครโมโซมเพศแบบ homogametic (ZZ) ส่วนในเพศเมียเป็นแบบ heterogametic (ZW) (Cheng *et al*., 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าโครโมโซมของไก่มีการจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ macrochromosomes มีจำนวน 9 คู่ ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 30 Mb ถึง 250 Mb ประกอบด้วย โครโมโซมคู่ที่ 1-8 และโครโมโซมเพศกลุ่ม microchromosome มีจำนวน 30 คู่ (Habermann *et al*., 2001) โดยข้อมูล genome ของไก่ที่สมบูรณ์ถูกตีพิมพ์เป็นครั้งแรกในเดือนมีนาคม ปี ค.ศ. 2004 (Wicker *et al*., 2005) ส่วนในปัจจุบันมีข้อมูลเกี่ยวกับ genome ของไก่มากกว่า 1.05 Gb และลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนมีประมาณ 95% ซึ่งถูกระบุตำแหน่งที่ตั้งบนโครโมโซมแล้ว โดยครอบคลุมโครโมโซมคู่ที่ 1-28, 32 และโครโมโซมเพศ (Burt, 2005)

แผนที่ยีน (genetic map) ของไก่มีประมาณ 2,000 loci ในจำนวนนี้เป็น linkage groups 50 กลุ่ม ซึ่งครอบคลุมความยาว 4,000 cM (Emara and Kim, 2003) โดยยีนเหล่านี้มีความเหมือน (homology) กับยีนของมนุษย์ หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีจำนวนมากกว่า 235 loci (Masabanda *et al*., 2004) ส่วนข้อมูล protein sequence ของไก่มีมากกว่า 2,000 sequence ถูกเก็บไว้ที่ฐานข้อมูล SwissProt และ TrEMBL รวมทั้ง expressed sequence tags (ESTs) มีจำนวนมากกว่า 600,000 ESTs ถูกเก็บไว้ในฐานข้อมูล dbEST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/) นอกจากนี้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ full-length cDNAs ทำให้ทราบว่าไก่มียีนอยู่ประมาณ 35,000 ยีน (Masabanda *et al*., 2004; Wang *et al*., 2007)

2.3 การศึกษาพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำ

ปิยมาศ (2542) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 4 ตำแหน่ง คือ MCW240, ADL23, LEI73 และ MCW87 พบว่าค่าเฉลี่ย observed heterozygosity มีค่าเท่ากับ 0.72 โดยไก่ประดู่หางดำมีความแตกต่างทางพันธุกรรมภายใน subspecies มาก แต่มีความแตกต่างระหว่าง subspecies น้อย นอกจากนี้การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของน้ำหนักตัวที่โตเต็มที่ และอัตราการเจริญเติบโตเต็มที่ ของไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ ตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 1 ปี จำนวน 109,153 บันทึก พบว่าค่าน้ำหนักตัวโตเต็มวัยมีค่าเท่ากับ 1,333.88 กรัม, 1,943.50 กรัม และ 2,371.07 กรัม ตามลำดับ ค่าอัตราพันธุกรรมน้ำหนักตัวโตเต็มที่ มีค่าเท่ากับ 0.601, 0.208 และ 0.488 ตามลำดับ ค่าอัตราพันธุกรรมของน้ำหนักโตเต็มวัยมีค่าเท่ากับ 0.466, 0.104 และ 0.384 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าอัตราพันธุกรรมของน้ำหนักตัวตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 1 ปี อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารตั้งแต่แรกเกิด ถึง 24 สัปดาห์ มีค่าอยู่ในช่วงเท่ากับ 0.22-0.69, 0.35-0.53 และ 0.42-0.43 ตามลำดับ (สุพรรษา, 2548) ในขณะที่บัญญัติ และคณะ (2553) รายงานว่าลักษณะการเจริญเติบโตและความนุ่มเนื้อในไก่ลูกผสมที่ได้จากไก่พ่อพันธุ์พื้นเมืองไทย (ไก่ประดู่หางดำ, ไก่เหลืองหางขาว, ไก่ชี และไก่แดง) กับไก่แม่สายพันธุ์ทางการค้า พบว่าไก่ประดู่หางดำมีลักษณะการเจริญเติบโตสูงกว่าไก่เหลืองหางขาว, ไก่ชี และไก่แดง ตามลำดับ และลักษณะความนุ่มเนื้อในส่วนอกและสะโพกของไก่ประดู่หางดำมีค่าสูงสุด ส่วนไก่พ่อพันธุ์เหลืองหางขาวมีพันธุกรรมของลักษณะดังกล่าวต่ำสุด ($P<0.05$) ในขณะที่สุรฤทธิ์ (2548) รายงานว่าความผันแปรของยีนสีขน melanocortin 1 receptor (*MC1R*) เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ไก่พันธุ์พื้นเมืองไทย (ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่นกแดงหางแดง และไก่ชี) โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP และตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (*Msc*I) พบว่า ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ และไก่นกแดงหางแดง ให้แถบดีเอ็นเอ 3 แถบ ไก่ชี 2-5 แถบ เมื่อนำไก่ 3 สายพันธุ์ (ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ และไก่นกแดงหางแดง) มาวิเคราะห์ลำดับเบส และกรดอะมิโน พบว่าไก่นกแดงหางแดงมีลำดับนิวคลีโอไทด์เปลี่ยนแปลงตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 274 และ 516 เปลี่ยนจาก A/G และ C/A ตามลำดับ แตกต่างจากไก่ประดู่หางดำ และไก่เหลืองหางขาว โดยที่ตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ 274 มีผลทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 92 เปลี่ยนจาก lysine ไปเป็น glutamic acid ส่วนนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 516 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน ส่วนไก่เหลืองหางขาว และไก่ประดู่หางดำมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสรุปว่ายีนสีขน *MC1R* ที่ลำดับ นิวคลีโอไทด์ 274 สามารถใช้จำแนกไก่นกแดงหางแดงออกจากไก่สายพันธุ์อื่นได้ แต่ไม่สามารถแยกไก่ประดู่หางดำออกจากไก่เหลืองหางขาวได้ นอกจากนี้สายสุณีย์ (2554) รายงานว่าไก่ประดู่หางดำมีค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการอยู่รอดที่อายุ 0-6 สัปดาห์ ลักษณะการอยู่รอดที่อายุ 6-24 สัปดาห์ ลักษณะการอยู่รอดที่อายุ 24-77 สัปดาห์ ลักษณะการอยู่รอดจนถึงวัยเจริญพันธุ์ และลักษณะการอยู่รอดจนถึงปลด มีค่าเท่ากับ 0.11, 0.18, 0.25, 0.03 และ 0.08 ตามลำดับ

2.4 การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลในมนุษย์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ 1)วิธีที่ไม่เป็นวิทยาศาสตร์ (non-scientific method) และ 2)วิธีที่เป็นวิทยาศาสตร์ (scientific method) โดยวิธีที่ไม่เป็นวิทยาศาสตร์เป็นการยืนยันตัวบุคคลโดยอาศัยหลักฐานภายนอกประกอบในการพิสูจน์ เช่น การพิสูจน์บุคคลโดยผู้รู้จัก เอกสารประจำตัว เช่น บัตรประจำตัวประชาชน พาสปอร์ต หรืออื่นๆ ที่ระบุชื่อของบุคคลนั้น สิ่งของเครื่องใช้ที่ติดตัว เช่น เสื้อผ้า หรือเครื่องประดับที่ใส่ จำพวก แหวน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สร้อยคอ ต่างหู เป็นต้น รวมถึงลักษณะหรือตำแหน่งของไฝ ปาน รอยสัก หรือ แผลเป็นต่างๆตามร่างกาย และความผิดปกติ ความพิการของอวัยวะบางส่วนหรือการผ่าตัดบางอย่างในร่างกาย ซึ่งข้อมูลข้างต้นเป็นเพียงการพิจารณาจากลักษณะภายนอกเท่านั้น อย่างไรก็ตามการจำแนกลักษณะจำเพาะตัวของบุคคลโดยการตรวจสอบจากลักษณะปรากฏภายนอก (phenotype) เป็นสิ่งที่ทำได้ยากมาก ดังนั้น การใช้ความรู้ทางนิติวิทยาศาสตร์ มาช่วยตรวจพิสูจน์ยืนยันเอกลักษณ์ของบุคคล ซึ่งเป็นวิธีทางวิทยาศาสตร์ ที่สามารถใช้ยืนยันตัวบุคคลได้ เช่น การตรวจลายพิมพ์นิ้วมือ(fingerprint), การตรวจสภาพฟัน (dental status) และการเปรียบเทียบสารพันธุกรรม (DNA identification) (เลี้ยง, 2549) โดยการดูผลจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีความเหมือน หรือแตกต่างกัน เพื่อใช้พิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลทำ ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากในกระบวนการสืบสวนสอบสวนเพื่อยืนยันตัวบุคคลผู้กระทำผิดกฎหมาย หรือใช้ในการพิสูจน์สายสัมพันธ์ทางเครือญาติ ยกตัวอย่าง เช่น การพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ลูกโดยการเปรียบเทียบลักษณะเอ็นเอของลูกจากการถ่ายทอดดีเอ็นเอมาจากพ่อและแม่คนละครึ่ง ทำให้ได้ดีเอ็นเอชุดใหม่ของลูกที่มีส่วนของดีเอ็นเอที่มีเอกลักษณ์เฉพาะส่วนบุคคลหรือในทางกลับกัน การที่ได้ดีเอ็นเอ จากศพสามารถนำไปเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอของพ่อแม่ หรือบุตรภรรยาของผู้สูญหายได้ (เลี้ยง, 2549)

สำหรับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล โดยใช้ข้อมูลในระดับโมเลกุลดีเอ็นเอ ดังตัวอย่าง เช่น จากการศึกษาของ ธานินทร์ (2542) ได้ตรวจพิสูจน์ยืนยันบุคคลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 2 ตำแหน่ง คือ 1) HUMVWA31 (vWA) ซึ่งมีค่ากำลังการแยกแยะในการพิสูจน์บุคคลเท่ากับ 0.933 และ 2) ตำแหน่ง HUMTH01 มีค่ากำลังการแยกแยะในการพิสูจน์บุคคล เท่ากับ 0.872 และพบว่าการใช้รากผมเดี่ยว (1 ราก) สามารถให้ผลตรงตามตัวอย่างผลของเลือด ในขณะที่ Han *et al*. (2000) ได้ใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 9 ตำแหน่ง (FGA, VWA, D3S1358, D18S51, D21S11, D8S1179, D7S820, D13S317 และ D5S818) เพื่อจำแนกเอกลักษณ์บุคคลของคนเกาหลี ซึ่งพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 9 ตำแหน่งมีค่ากำลังการแยกแยะในการพิสูจน์บุคคลได้ด้วยค่า PI เท่ากับ 2.31×10^{-12}

สำหรับการศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสัตว์ มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยมีรายละเอียดดังนี้ Fumiere *et al*. (2003) ได้ค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรม ที่เป็นเอกลักษณ์ประจำพันธุ์ของไก่สายพันธุ์ที่มีเจริญเติบโตรวดเร็ว เปรียบเทียบกับไก่สายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตช้า ซึ่งพบว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 2 เครื่องหมาย สามารถใช้จำแนกไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์ออกจากกันได้อย่างถูกต้อง 100 % ในขณะที่ De Marchi *et al*. (2003) ได้ศึกษาการตรวจสอบย้อนกลับ (tranceability) เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองอิตาลีจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ Robusta (PRR) จำนวน 54 ตัว พันธุ์ Pepoi (PPP) จำนวน 33 ตัว และ Padovana (PDD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จำนวน 20 ตัว ด้วยวิธีการ AFLP โดยพบว่าค่า Expected heterozygosity เฉลี่ยของไก่พันธุ์ PRR และ PPD มีค่าเท่ากับ 29.5% ส่วนในไก่พันธุ์ PPP มีค่าเท่ากับ 21.3%. และสามารถจำแนกไก่แต่ละสายพันธุ์ออกจากกันได้ถูกต้อง 90-100%

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางพันธุกรรม ซึ่งถูกนำมาประยุกต์ใช้กับปศุสัตว์ในด้านต่างๆ เช่น การตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Meyer *et al.*, 1994) การจำแนกชนิด และสายพันธุ์ของสัตว์ (Rohrer *et al.*, 2007) นอกจากนี้ Heaton *et al.* (2002) ได้ศึกษาการกระจายตัวของ SNP ที่อยู่บนออโตโซม และโครโมโซมเพศ จำนวน 32 ตำแหน่ง ในโคจำนวน 250 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ โคเนื้อสายพันธุ์แท้จาก 17 สายพันธุ์ จำนวน 96 ตัว และโคเนื้อสายพันธุ์ Angus จำนวน 154 ตัว ที่ไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมกัน พบว่าในกลุ่มของโคเนื้อสายพันธุ์แท้จาก 17 สายพันธุ์สามารถจำแนกโคเนื้อแต่ละตัวออกจากกัน ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 2.9×10^{-13} และสามารถตรวจสอบความเป็นพ่อ (Power of Exclusion, PE) ถูกต้องเท่ากับ 99.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มของโคเนื้อ สายพันธุ์ Angus สามารถจำแนกโคเนื้อแต่ละตัวออกจากกัน โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถจำแนกโคเนื้อออกจากกันด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.9×10^{-10} และสามารถตรวจสอบความเป็นพ่อ PE ถูกต้องเท่ากับ 99.4 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Hara *et al.* (2010) ได้ค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล SNP สำหรับใช้จำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของโคพันธุ์ Japanese Black พบว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 44 เครื่องหมาย จากไพรเมอร์จำนวน 220 คู่ สามารถใช้จำแนกโคพันธุ์ Japanese Black แต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ $2.73\text{x}10^{-12}$ และยังพบว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 13-17 เครื่องหมาย มีความเพียงพอต่อการใช้จำแนกโคแต่ละตัวออกจากกันแล้ว ได้ด้วยค่า PI เท่ากับ $1\text{x}10^{-7}$ - $3\text{x}10^{-6}$ เช่นเดียวกับรายงานของ Herráeza *et al.* (2005) ได้มีการศึกษาโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 10, 14, 17 ตำแหน่ง และเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 43 ตำแหน่ง เพื่อใช้จำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของโคสายพันธุ์ Galloway แต่ละตัวออกจากกัน โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถจำแนกโคแต่ละตัวออกจากการกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 2.4×10^{-8}, 2.3×10^{-11}, 1.4×10^{-13} และ 5.3×10^{-11} ตามลำดับ นอกจากนี้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 17 ตำแหน่ง และเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 43 ตำแหน่ง สามารถตรวจสอบความเป็นพ่อได้ถูกต้องเท่ากับ 99 และ 98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ Rohrer *et al.* (2007) ได้ใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจำนวน 80 ตำแหน่ง เพื่อใช้จำแนกสุกรพันธุ์ Duroc (n=40), Hampshire (n=21) และ Landrace×Yorkshire (n=35) โดยพบว่าเครื่องหมายจำนวนดังกล่าวที่มีความถี่ของ minor allele มากกว่า 0.15 มีเพียงจำนวน 60 ตำแหน่ง เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวถูกนำไปใช้ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของสุกร โดยพบว่าสุกร Duroc, Hampshire และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Landrace×Yorkshire มีค่า PI เท่ากับ 4.42×10^{-21}, 1.29×10^{-17}, 2.60×10^{-22} และ 4.3×10^{-14} ตามลำดับ และจากการศึกษาของ Werner *et al* (2003) ในโคพันธุ์ Holstein, Fleckvieh และ Braunvieh เพื่อจำแนกโคแต่ละตัวออกจากกัน จากเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 32 ตำแหน่ง ที่มีค่าความถี่ minor allele เท่ากับ 0.1 โดยพบ 2ใน 3 ของสัตว์ทดลอง สามารถจำแนกโคแต่ละตัวออกจากการกันด้วยค่า PI ประมาณ 10^{-13} และสามารถตรวจสอบความเป็นพ่อถูกต้องเท่ากับ 99.99 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Denise *et al*. (2003) ได้ศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 17 ตำแหน่ง ในสุนัข จำนวน 9,561 ตัวโดยที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีค่า PIC เฉลี่ยเท่ากับ 0.61 สามารถจำแนกสุนัขแต่ละตัวออกจากด้วยค่า PI เท่ากับ 3.2×10^{-8}

อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ มีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตสูงกว่าการใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP เช่น Herráeza *et al*. (2005) ได้ศึกษาการใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 17 ตำแหน่ง และเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 43 ตำแหน่ง พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ ที่มีจำนวน 17 เครื่องหมาย ($PI=1.4\times10^{-13}$) มีประสิทธิภาพในการจำแนกโคแต่ละตัวออกจากการกันได้ด้วยค่า PI มากกว่า เครื่องหมาย SNP จำนวน 43 ตำแหน่ง ($PI=5.3\times10^{-11}$) เนื่องจากเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ มีค่าความหลากหลายสูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNP แต่ข้อจำกัดของเครื่องหมายโมเลกุล SNP นี้สามารถแก้ไขได้โดยการเพิ่มจำนวนของเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตได้สูงขึ้น (Heaton *et al*., 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าเครื่องหมายโมเลกุล SNP มีลักษณะเด่นกว่าเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ คือ เครื่องหมายโมเลกุล SNP มีอัตราการกลายพันธุ์ที่ต่ำ ทำให้มีประสิทธิภาพในการจัดการในห้องปฏิบัติการ และวิเคราะห์ข้อมูลมากขึ้น (Krawczak, 1999) จีโนไทป์มีความหลากหลายที่เหมาะสมในการใช้งานแบบดิจิทัล (Fries and Durstewitz, 2001; Kruglyak, 1997) และสามารถพัฒนาการวิเคราะห์จีโนไทป์ได้หลายตำแหน่งไปพร้อมกัน มีความไวในการตรวจสอบสูง มีจำนวนตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลสูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ และประการสำคัญ คือ ค่าใช้จ่ายในการจีโนไทป์ SNP มีราคาถูกกว่าการใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลท์ (Heaton *et al*., 2002; Rohrer *et al*., 2007)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ คือ ลำดับเบสที่เป็นเอกลักษณ์ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด โดยวิธีตรวจหาลายพิมพ์ DNA มีหลายเทคนิค เช่น Amplified fragment length polymorphism (AFLP), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Rapid Amplified Polymorphic DNA (RAPD),

minisatellite และ microsatellite เป็นต้น สำหรับเทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP) เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมอย่างสูง ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต เทคนิคเอเอฟแอลพีจึงถูกพัฒนาขึ้นโดย Zebeau และ Vos นักวิจัยของบริษัท Keygene N.V. ประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งเป็นการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลแบบหลายตำแหน่ง (multi-locus marker) ในคราวเดียวกัน (ถนอมศักดิ์, 2550) โดยอาศัยหลักการตัด genomic DNA ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด และเชื่อมต่อกับ adapter ที่เหมาะสม จากนั้นเลือกเพิ่มปริมาณบางชิ้นด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Vos *et al*., 1995) โดยใช้ไพรเมอร์ที่สามารถจับกับ adapter ที่ต่อเข้าไป คลอบคลุมถึงชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าว ต่อด้วยลำดับเบสที่ตำแหน่งตัดของเอ็นไซม์ และเพิ่มเบสอื่นๆอีก 1-4 เบส ทางปลาย 3′ โดยในส่วนของเบสที่เพิ่มเข้าไป เรียกว่า เบสคัดเลือก (selective base) ซึ่งมีผลให้มีความจำเพาะในการคัดเลือกมากขึ้น หลังจากนั้นนำมาแยกขนาดดีเอ็นเอด้วย polyacrylamide gel electrophoresis จะเห็นแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏหรือไม่ปรากฏในแต่ละตัวอย่างที่ทดลอง ซึ่งเกิดจากการมีหรือไม่มีจุดตัดของเอนไซม์ (สุรินทร์, 2552; ถนอมศักดิ์, 2550) โดยเทคนิคเอเอฟแอลพีถูกนำไปใช้ในการศึกษาในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ทั้งในมนุษย์ (David *et al.,* 1994; Michal *et al.*, 2001) และสัตว์ เช่น ในไก่ (Knorr *et al.,* 1999), โค (Ajmone-Marsan *et al.*, 1997) และ สุกร (Ovilo *et al*., 2000) เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิค AFLP มาใช้ในการหาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต โดยการหา SNP ที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในโคสายพันธุ์ต่างๆ เช่น โคพันธุ์ Japanese black และ โคเนื้อพันธุ์ Angus (Heaton *et al*., 2002, Hara *et al*., 2010)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved