

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลจากการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล AFLP

ผลการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล AFLP สำหรับบ่งชี้ลักษณะไก่ประดู่หางดำ แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

4.1.1 ผลการคัดกรองเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จากตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากการรวมตัวอย่างดีเอ็นเอไก่เข้าด้วยกัน (pooled)

ผลการคัดกรองเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จากตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากการรวมตัวอย่างดีเอ็นเอไก่เข้าด้วยกัน (pooled) พบจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 606 แถบ โดยเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความผันแปรทางพันธุกรรมจำนวน 139 แถบ (polymorphic bands) ซึ่งในจำนวนนี้คู่ไพรมอร์ที่มีศักยภาพต่อการบ่งชี้ลักษณะไก่ประดู่หางดำมีจำนวน 14 คู่ แบ่งออกเป็นกลุ่ม original (*EcoRI/TaqI*) จำนวน 2 คู่ไพรมอร์ กลุ่ม *MspI* (*EcoRI/TaqI/MspI*) จำนวน 2 คู่ไพรมอร์ และกลุ่ม *BsuRI* (*EcoRI/TaqI/BsuRI*) จำนวน 9 คู่ไพรมอร์ นอกจากนี้แล้วยังพบว่าไพรมอร์ที่มีศักยภาพต่อการบ่งชี้ลักษณะไก่เหลืองหางขาวจำนวน 17 คู่ แบ่งออกเป็นกลุ่ม original (*EcoRI/TaqI*) และ *MspI* (*EcoRI/TaqI/MspI*) จำนวนละ 4 คู่ไพรมอร์ จำนวน 9 คู่ไพรมอร์ ในขณะที่มีคู่ไพรมอร์ที่จำเพาะต่อลักษณะไก่แดง มีจำนวน 19 คู่ไพรมอร์โดยพบในกลุ่ม original (*EcoRI/TaqI*), *MspI* (*EcoRI/TaqI/MspI*) และ *BsuRI* (*EcoRI/TaqI/BsuRI*) จำนวนละ 4, 6 และ 9 คู่ไพรมอร์ ส่วนคู่ไพรมอร์ที่มีความจำเพาะต่อลักษณะไก่ซี มีจำนวน 16 คู่ไพรมอร์ แบ่งออกเป็นกลุ่ม original (*EcoRI/TaqI*), *MspI* (*EcoRI/TaqI/MspI*) และ *BsuRI* (*EcoRI/TaqI/BsuRI*) จำนวน 4, 6 และ 6 คู่ไพรมอร์ (ตาราง 3) สำหรับชุดไพรมอร์ที่มีศักยภาพต่อการบ่งชี้ลักษณะไก่ประดู่หางดำ (ภาพ 5) ถูกนำไปศึกษาลายพิมพ์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ของไก่แยกเป็นรายตัว ในขั้นตอนต่อไป

4.1.2 การคัดกรองลายพิมพ์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จากตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่เป็นรายตัว

การคัดกรองลายพิมพ์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จากตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่เป็นรายตัว จำนวน 40 ตัว ของไก่ 4 สายพันธุ์ ด้วยชุดไพรมอร์ ดังตาราง 4 จำนวน 65 คู่ไพรมอร์ พบว่าเป็นเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ที่มีศักยภาพต่อการบ่งชี้ลักษณะไก่ประดู่หางดำ ไก่เหลืองหางขาว ไก่

แดง และไก่อีชี มีจำนวน เท่ากับ 15, 18, 19 และ 16 เครื่องหมาย ตามลำดับ รวมจำนวน 65 เครื่องหมาย (ภาพ 6) แสดงตัวอย่างลายพิมพ์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ของไก่อีชีหางดำ เหลืองหางขาว แดง และอีชี เป็นรายตัวที่จากคู่ไพรเมอร์ AFLP05 (E-15/T-23) พบว่าปรากฏแถบ ดีเอ็นเอในไก่อีชีหางขาว แดง และอีชี ในขณะที่ไก่อีชีหางดำไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ

ตาราง 3 ชุดไพรเมอร์ที่มีศักยภาพต่อการบ่งชี้ลักษณะไก่อีชีหางดำ เหลืองหางขาว แดง และอีชี

พันธุ์	Original (<i>EcoRI/TaqI</i>)	<i>MspI</i> (<i>EcoRI/TaqI/MspI</i>)	<i>BsuRI</i> (<i>EcoRI/TaqI/BsuRI</i>)
ไก่อีชีหางดำ	E-12/T-20, E-07/T-03	E-06/T-23, E-15/T-23	E-02/T-22, E-03/T-20, E-03/T-22, E-06/T-03, E-06/T-06, E-06/T-23, E-13/T-04, E-15/T-03, E-15/T-22
ไก่อีชีหาง ขาว	E-06/T-05, E-07/T- 03, E-07/T04, E-07/T-20	E-02/T-04, E-03/T-04, E-07/T-06, E-13/T-22	E-03/T-22, E-06/T-03, E-07/T-04, E-12/T-06, E-12/T-22, E-15/T-03, E-15/T-05, E-15/T-22, E-16/T-22
ไก่อีชีแดง	E-06/T-05, E-07/T- 03, E-07/T-20, E-13/T-05	E-02/T-04, E-03/T-20, E-07/T-22, E-12/T-03, E-13/T-22, E-15/T-05	E-03/T-22, E-06/T-23, E-07/T-4, E-07/T-06, E-07/T-23, E-12/T-22, E-13/T-04, E-16/T-04, E-16/T-22
ไก่อีชี	E-3/T-22, E-06/T-04, E-07/T-04, E-13/T-22	E-02/T-04, E-07/T-06, E-12/T-03, E-13/T-20, E-13/T-22, E-15/T-23	E-02/T-22, E-03/T-22, E-06/T-05, E-07/T-04, E-07/T-23, E-15/T-03

(a) *EcoRI/TaqI*(b) *EcoRI/TaqI/*(c) *EcoRI/TaqI/Msp*

ภาพ 5 ตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ของไก่อ่ประคู๋หางดำ(P), ไก่อ่เหลืองหางขาว(L), ไก่อ่แดง(D) และไก่อ่ซี(C) ที่ได้จากการรวมตัวอย่างดีเอ็นเอเข้าด้วยกันในแต่ละสายพันธุ์ และตัดสายดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (a) *EcoRI/TaqI* (b) *EcoRI/TaqI/MspI* และ (c) *EcoRI/TaqI/BsuRI* โดยตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยชุดไพรเมอร์ 23 (Pooled 23 *BsuRI*) ทั้งนี้เครื่องหมาย ◀ แสดงตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ที่ปรากฏเฉพาะในไก่อ่ประคู๋หางดำ และ M คือ DNA ladder

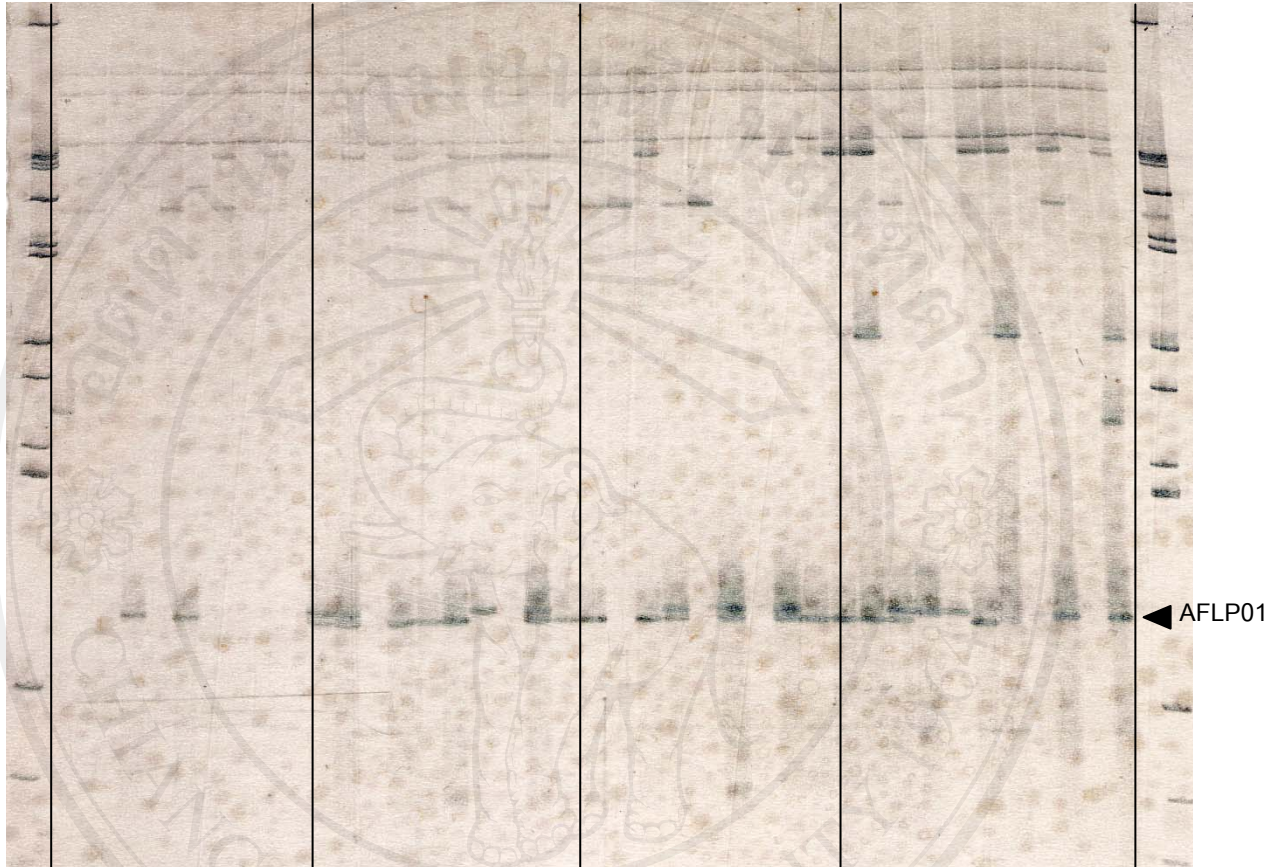
ไก่อู่ประคู้หำงค้ำ

ไก่อู่เหลืงหำงขำว

ไก่อู่แฉง

ไก่อู่ชื

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 M



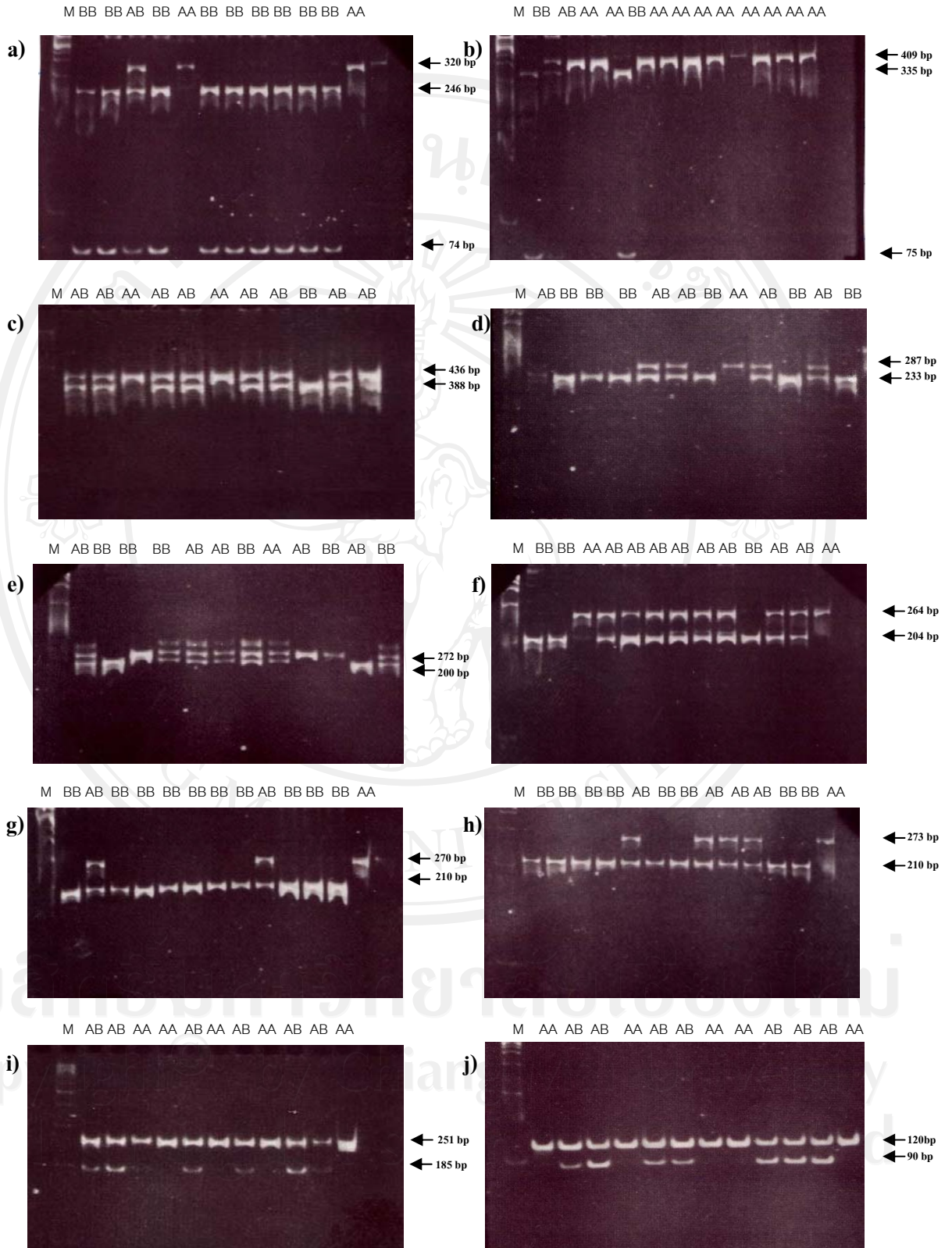
ภาพ 6 ตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ของไก่อู่ประคู้หำงค้ำ (1-10) ไก่อู่เหลืงหำงขำว (11-20) ไก่อู่แฉง (21-30) และไก่อู่ชื (31-40) ที่ได้จากตัวอย่างดีเอ็นเอเป็นรายตัว (individual) ในแต่ละสายพันธุ์ และตัดสายดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EcoRI/TaqI/MspI* โดยตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยชุดไพรเมอร์ E-15/T-23 ทั้งนี้เครื่องหมาย ◀ แสดงตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ที่ปรากฏในไก่อู่เหลืงหำงขำว แฉง และชื แต่ไม่ปรากฏเฉพาะไก่อู่ประคู้หำงค้ำ และ M คือ DNA ladder 100 bp

โดยเครื่องหมายโมเลกุล AFLP จำนวน 65 เครื่องหมายดังกล่าว (จากไก่อู่เป็นรายตัว) ถูกตัดแถบดีเอ็นเอ เพื่อนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและถอดรหัสพันธุกรรม โดยในการศึกษาครั้งนี้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากแถบดีเอ็นเอข้างต้นและถอดรหัสพันธุกรรมได้สำเร็จ มีจำนวน 44 เครื่องหมาย ซึ่งประกอบด้วยเครื่องหมาย AFLP จากไก่อู่ประคู้หำงค้ำ ไก่อู่เหลืงหำงขำว ไก่อู่แฉง และไก่อู่ชื จำนวน 15, 9, 10 และ 10 เครื่องหมาย ตามลำดับ และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ ถูกนำไปพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลอย่างง่าย (co-dominant marker) ได้ จำนวน 27 เครื่องหมาย ซึ่ง

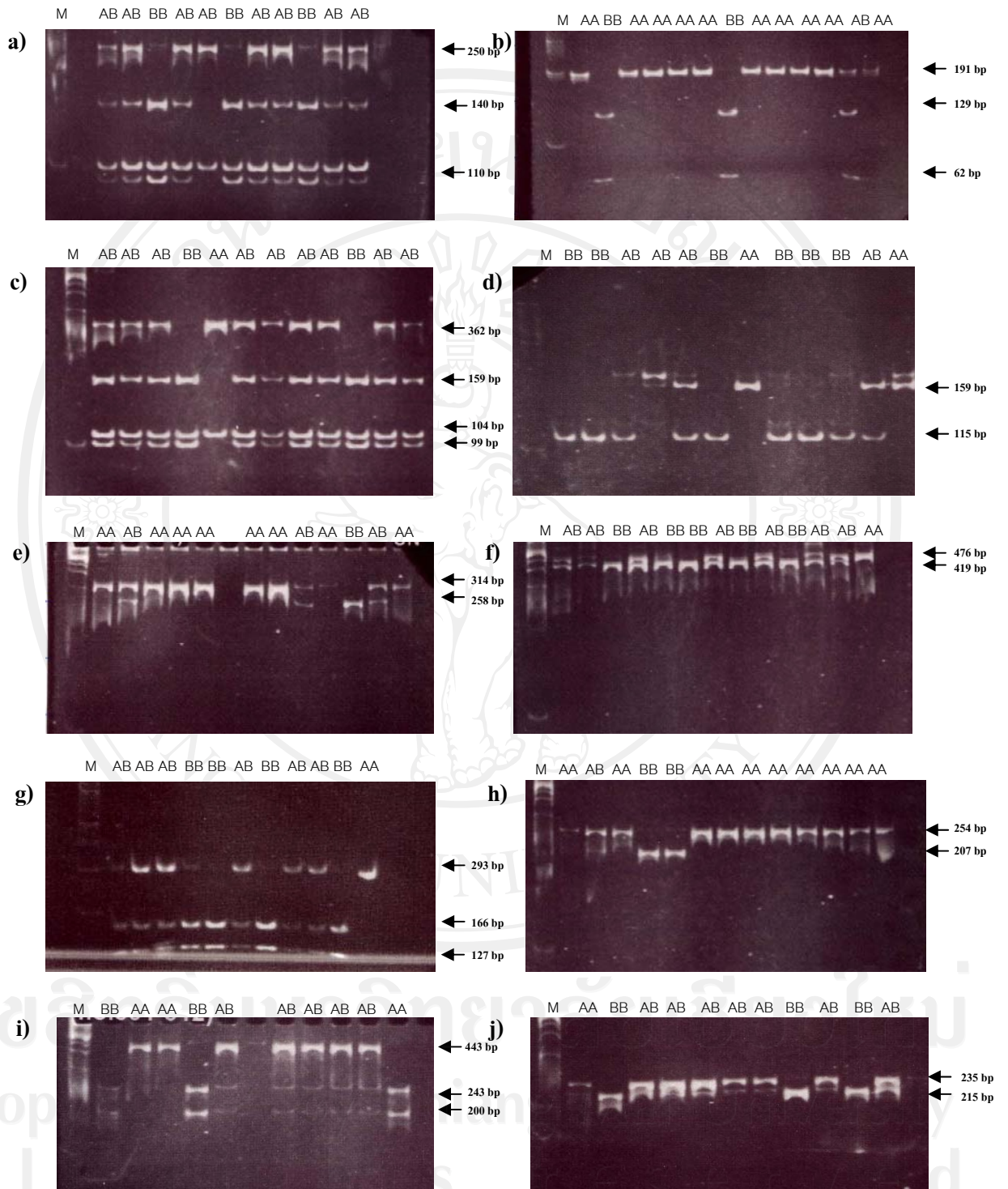
แสดงผลดังตาราง 4 และการตรวจสอบความผันแปรเบื้องต้นของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ในไก่พื้นเมือง แสดงดังภาพ 7, 8 และ 9

ตาราง 4 เครื่องหมายโมเลกุล AFLP พัฒนาให้อยู่ในรูปแบบ co-dominant (PCR-RFLP)

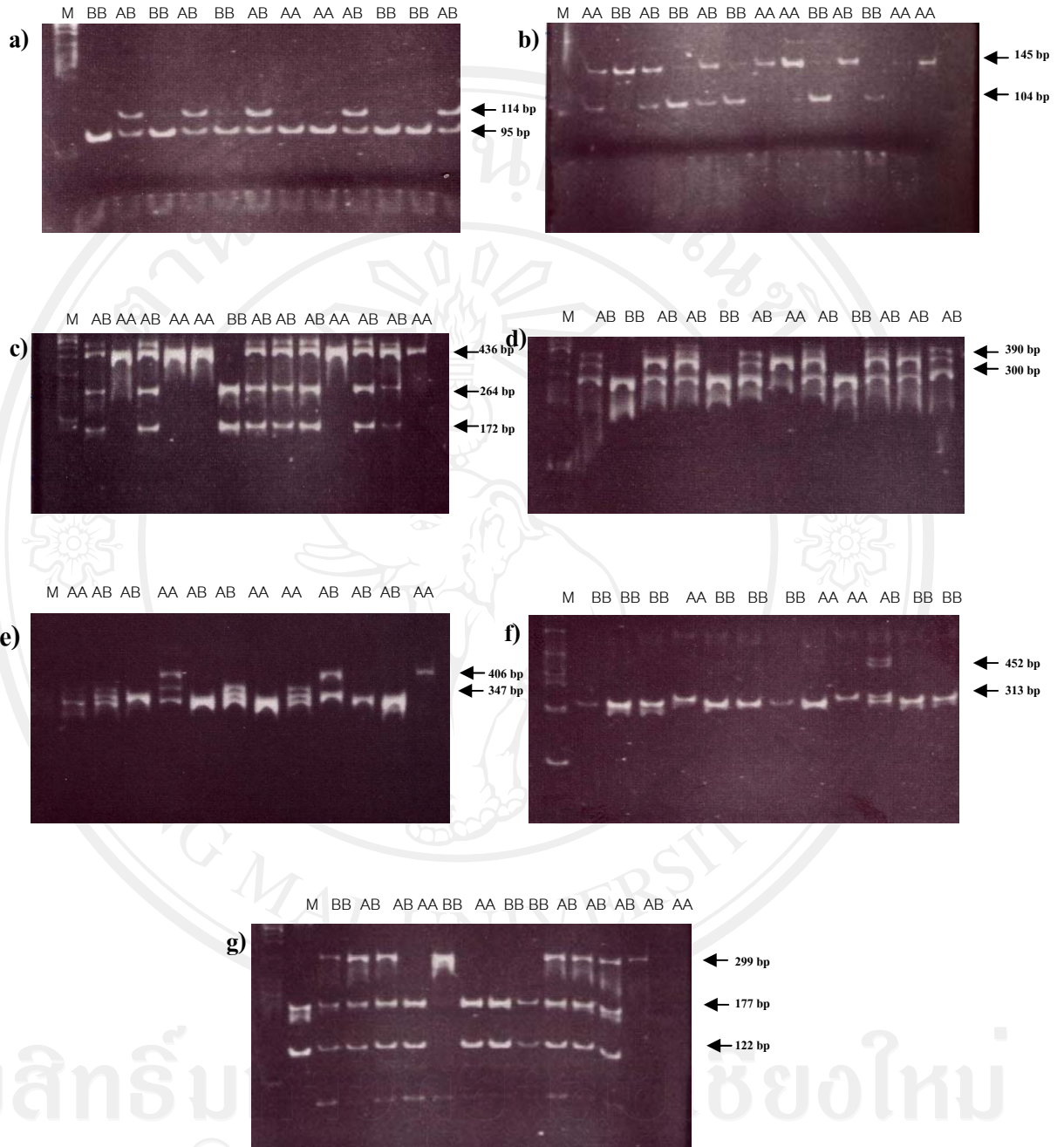
เครื่องหมาย	เอนไซม์ตัดจำเพาะ	ความยาวผลผลิต PCR	อัลลีล A	อัลลีล B
AFLP01	<i>TaqI</i>	320	320	246: 74
AFLP02	<i>EcoRI</i>	409	409	335:75
AFLP03	<i>TaqI</i>	436	436	388:48
AFLP04	<i>TaqI</i>	287	287	233:38:16
AFLP05	<i>TaqI</i>	272	272	200:72
AFLP06	<i>TaqI</i>	264	264	204:60
AFLP07	<i>TaqI</i>	270	270	210:60
AFLP08	<i>TaqI</i>	273	273	210:63
AFLP09	<i>EcoRI</i>	251	251	185:66
AFLP10	<i>AluI</i>	230	120	90:30
AFLP11	<i>BsuRI</i>	350	250	110:140
AFLP12	<i>TaqI</i>	191	191	129:62
AFLP13	<i>TaqI</i>	362	362	159:104:99
AFLP14	<i>BsuRI</i>	159	159	115:44
AFLP15	<i>EcoRI</i>	314	314	258:56
AFLP16	<i>EcoRI</i>	476	476	419:57
AFLP17	<i>MspI</i>	293	293	166:127
AFLP18	<i>EcoRI</i>	254	254	207:17
AFLP19	<i>Hin6I</i>	443	443	243:200
AFLP20	<i>MboI</i>	235	235	235:215:20
AFLP21	<i>MspI</i>	114	114	95:19
AFLP22	<i>Hsp92II</i>	145	145	104:41
AFLP23	<i>TaqI</i>	436	436	264:172
AFLP24	<i>TaqI</i>	400	390	300:90
AFLP25	<i>TaqI</i>	406	406	347:59
AFLP26	<i>EcoRI</i>	452	452	313:126:13
AFLP27	<i>TaqI</i>	299	299	177:122



ภาพ 7 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP01(a) - AFLP10 (j) ด้วยเทคนิค PCR-RFLP



ภาพ 8 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP11 (a) - AFLP20 (j) ด้วยเทคนิค PCR-RFLP



ภาพ 9 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP21 (a) - AFLP27 (g) ด้วย

เทคนิค PCR-RFLP

4.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ SNP จำนวน 27 เครื่องหมาย ซึ่งถูกคัดเลือกจากเทคนิค AFLP จากนั้นวิเคราะห์ผลการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุลจากการหาความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีลในไก่ประดู่หางดำจำนวน 100 ตัว พบว่าความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีลของแต่ละเครื่องหมายแสดงดังตาราง 5 โดยเครื่องหมายโมเลกุล AFLP01-AFLP27 ซึ่งแสดงความผันแปรทางพันธุกรรม (polymorphism) โดยสามารถตรวจสอบได้ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *TaqI*, *EcoRI*, *TaqI*, *TaqI*, *TaqI*, *TaqI*, *TaqI*, *TaqI*, *EcoRI*, *AluI*, *BsuRI*, *TaqI*, *TaqI*, *BsuRI*, *EcoRI*, *EcoRI*, *MspI*, *EcoRI*, *Hin6I*, *MboI*, *MspI*, *Hsp92II*, *TaqI*, *TaqI*, *TaqI*, *EcoRI* และ *TaqI* ตามลำดับ โดยมีความยาวของผลผลิต PCR เท่ากับ 320, 409, 436, 287, 272, 264, 270, 273, 251, 230, 350, 191, 362, 159, 314, 476, 293, 254, 443, 235, 114, 145, 436, 400, 406, 452 และ 299 ตามลำดับ และเมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะจะได้แถบดีเอ็นเอดังนี้ อัลลีล A มีความยาวเท่ากับ 320, 409, 436, 287, 272, 264, 270, 273, 251, 120, 250, 191, 362, 159, 314, 476, 293, 254, 443, 235, 114, 145, 436, 390, 406, 452, 299 และอัลลีล B มีความยาวเท่ากับ 246: 74, 335:75, 388:48, 233:38:16, 200:72, 204:60, 210:60, 210:63, 185:66, 90:30, 110:140, 129:62, 159:104:99, 115:44, 258:56, 419:57, 166:127, 207:17, 243:200, 235:215:20, 95:19, 104:41, 264:172, 300:90, 347:59, 313:126:13, 177:122 ตามลำดับ จากนั้นนำเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวมาวิเคราะห์ผลโดยการตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุลจากการหาความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลในไก่ประดู่หางดำจำนวน 100 ตัว พบว่า เครื่องหมายโมเลกุล AFLP01 ถึง AFLP 27 ของไก่ประดู่หางดำมีค่าความถี่จีโนไทป์ 3 แบบ โดยค่าความถี่จีโนไทป์แบบ AA อยู่ระหว่าง 0.00-0.92 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP14, AFLP25 มีค่าความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล AFLP02 มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงสุด ในขณะที่ค่าความถี่ จีโนไทป์แบบ AB อยู่ระหว่าง 0.02-0.58 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP02 มีค่าความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล AFLP08 มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงสุด และค่าความถี่จีโนไทป์แบบ BB อยู่ระหว่าง 0.00-94 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล AFLP09 และ AFLP10 มีค่าความถี่จีโนไทป์ต่ำสุด ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล AFLP25 มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงสุด นอกจากนี้ค่าความถี่อัลลีล A อยู่ระหว่าง 0.03-0.953 โดยเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล A น้อยที่สุด คือ เครื่องหมาย AFLP25 ส่วนเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล A มากที่สุด คือ เครื่องหมาย AFLP09 และ AFLP10 ส่วนค่าความถี่อัลลีล B อยู่ระหว่าง 0.05-0.969 โดยเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล B น้อยที่สุด คือ

เครื่องหมาย AFLP09 และ AFLP10 ส่วนเครื่องหมายที่มีค่าความถี่อัลลีล B มากที่สุด คือ
เครื่องหมาย AFLP25 (ตาราง 5)

ตาราง 5 ความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีลของเครื่องหมายโมเลกุล AFLP ของไก่พันธุ์ประดู่หางดำ

เครื่องหมายโมเลกุล	ไก่ประดู่หางดำ				
	ความถี่จีโนไทป์			ความถี่อัลลีล	
	AA	AB	BB	A	B
AFLP01	0.02	0.06	0.92	0.05	0.95
AFLP02	0.92	0.02	0.06	0.93	0.07
AFLP03	0.07	0.49	0.43	0.32	0.68
AFLP04	0.68	0.29	0.02	0.83	0.17
AFLP05	0.26	0.46	0.28	0.49	0.51
AFLP06	0.21	0.53	0.26	0.48	0.53
AFLP07	0.06	0.57	0.37	0.35	0.65
AFLP08	0.08	0.58	0.34	0.37	0.63
AFLP09	0.90	0.10	0.00	0.95	0.05
AFLP10	0.91	0.09	0.00	0.95	0.05
AFLP11	0.48	0.36	0.16	0.66	0.34
AFLP12	0.84	0.13	0.03	0.90	0.10
AFLP13	0.11	0.38	0.51	0.30	0.70
AFLP14	0.00	0.20	0.80	0.10	0.90
AFLP15	0.68	0.29	0.02	0.83	0.17
AFLP16	0.11	0.46	0.43	0.34	0.66
AFLP17	0.06	0.23	0.71	0.18	0.83
AFLP18	0.77	0.21	0.02	0.88	0.13
AFLP19	0.39	0.11	0.50	0.44	0.56
AFLP20	0.48	0.23	0.29	0.60	0.40
AFLP21	0.03	0.23	0.73	0.15	0.85
AFLP22	0.53	0.44	0.03	0.75	0.25
AFLP23	0.43	0.44	0.13	0.65	0.35
AFLP24	0.03	0.12	0.85	0.09	0.91
AFLP25	0.00	0.06	0.94	0.03	0.97
AFLP26	0.01	0.43	0.56	0.23	0.77
AFLP27	0.17	0.24	0.59	0.29	0.71

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 6 ค่า probability of identity (PI), ค่า (Polymorphism information content (PIC) และค่า Hardy-Weinberg (HWE)

เครื่องหมายโมเดลกุล	HWE	PIC	PI
AFLP01	-	0.09	0.849
AFLP02	-	0.12	0.846
AFLP03	*	0.34	0.436
AFLP04	*	0.37	0.358
AFLP05	*	0.37	0.357
AFLP06	*	0.37	0.393
AFLP07	-	0.35	0.463
AFLP08	-	0.36	0.456
AFLP09	*	0.09	0.820
AFLP10	*	0.08	0.831
AFLP11	*	0.35	0.387
AFLP12	-	0.16	0.719
AFLP13	*	0.33	0.415
AFLP14	*	0.16	0.680
AFLP15	*	0.24	0.555
AFLP16	*	0.35	0.409
AFLP17	-	0.25	0.561
AFLP18	*	0.19	0.637
AFLP19	-	0.37	0.414
AFLP20	-	0.37	0.367
AFLP21	*	0.22	0.596
AFLP22	*	0.30	0.474
AFLP24	-	0.15	0.731
AFLP25	*	0.06	0.883
AFLP26	-	0.29	0.498
AFLP27	-	0.33	0.431

*($p > 0.05$) อยู่ในสมมติฐานฮาร์ดี-ไวน์เบอร์ก (HWE)

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ โดยการใส่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ SNP จำนวน 27 เครื่องหมาย ซึ่งถูกคัดเลือกจากเทคนิค AFLP จากนั้นนำเครื่องหมายโมเลกุลทั้งหมดไปคำนวณค่า HWE พบว่าจากเครื่องหมายโมเลกุล 27 ตำแหน่ง อยู่ใน HWE มีจำนวน 16 เครื่องหมาย และไม่อยู่ใน HWE มีจำนวน 11 เครื่องหมาย ส่วนผลจากการคำนวณค่า PIC ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความหลากหลายของข้อมูลในของตำแหน่งที่ศึกษา พบว่าค่า PIC มีค่าอยู่ระหว่าง 0.06-0.37 ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างต่ำ โดยค่า PIC ที่มีความหลากหลายน้อยที่สุด คือ เครื่องหมายโมเลกุล AFLP25 ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล PIC ที่มีความหลากหลายมากที่สุด คือ เครื่องหมายโมเลกุล AFLP04, AFLP05, AFLP06, AFLP19 และ AFLP20 ดังนั้น เครื่องหมายโมเลกุล AFLP04, AFLP05, AFLP06, AFLP19 และ AFLP20 จึงมีความเหมาะสมที่สุดในการนำมาใช้ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ ในขณะที่ตำแหน่ง AFLP25 มีความเหมาะสมน้อยที่สุดในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ ส่วนการคำนวณค่า PI ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงโอกาสที่สัตว์แต่ละตัวจะมีลักษณะดีเอ็นเอเหมือนกัน พบว่า PI มีค่าอยู่ระหว่าง 0.357-0.883 โดยเครื่องหมายโมเลกุล PI ที่มีค่าน้อย หมายถึง มีโอกาสน้อยที่แต่ละสัตว์แต่ละตัวที่ไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมจะมีดีเอ็นเอเหมือนกัน ซึ่งสามารถใช้ในการแยกแยะสัตว์แต่ละตัวออกจากกันได้มาก คือ เครื่องหมายโมเลกุล AFLP05 และเครื่องหมายโมเลกุล PI ที่มีค่ามาก หมายถึง โอกาสที่สัตว์แต่ละตัวที่ไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมจะมีดีเอ็นเอเหมือนกันได้สูง ทำให้มีประสิทธิภาพในการแยกแยะสัตว์แต่ละตัวออกจากกันได้น้อย คือ เครื่องหมายโมเลกุล AFLP25

หากคำนวณเครื่องหมายโมเลกุลทั้ง 27 เครื่องหมาย เพื่อใช้ในการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในไก่ประดู่หางดำ พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอทั้ง 27 ตำแหน่งนั้น สามารถจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 3.37×10^{-8} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไก่ประดู่หางดำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 29 ล้านตัว

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

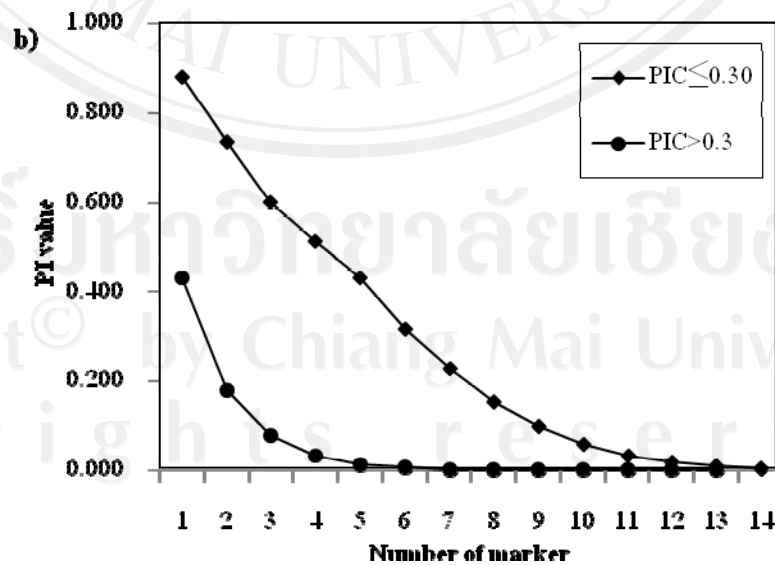
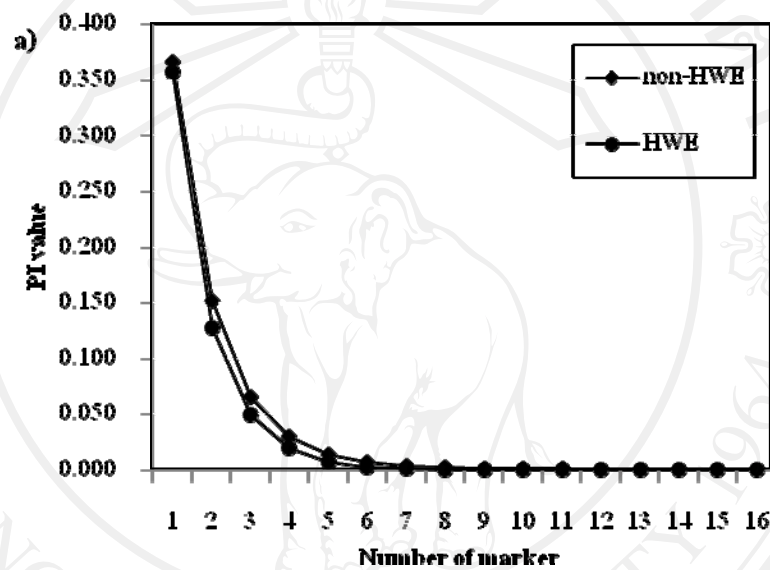
การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่คำนวณค่า HWE จากเครื่องหมายโมเลกุลทั้ง 27 เครื่องหมาย โดยแบ่งเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่อยู่ใน HWE และส่วนของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ไม่อยู่ใน HWE พบว่าอยู่ใน HWE มีจำนวน 16 เครื่องหมาย

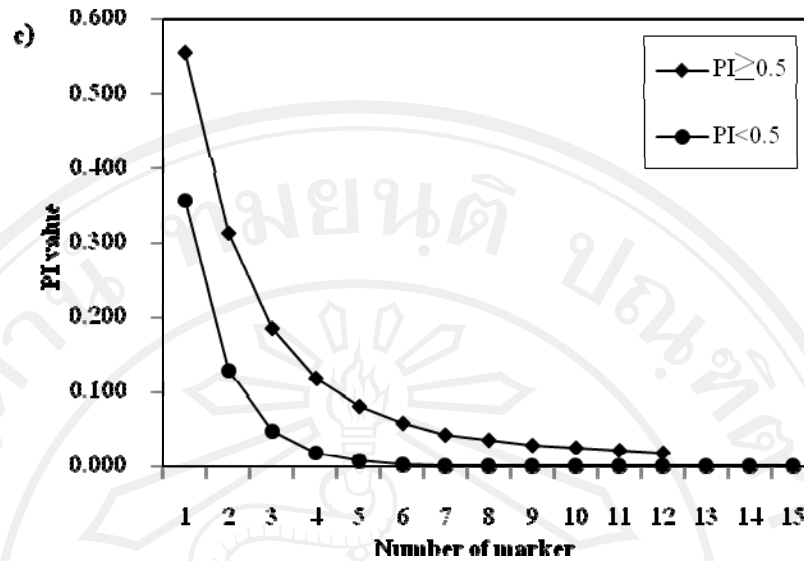
สามารถจำแนกไ้ประคูหางคำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 2.32×10^{-5} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไ้ประคูหางคำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 43,111 ตัว ส่วนในกลุ่มของเครื่องหมายโมเลกุลที่ไม่อยู่ใน HWE พบว่ามีจำนวน 11 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไ้ประคูหางคำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI เท่ากับ 1.00×10^{-3} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไ้ประคูหางคำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 688 ตัว การศึกษาครั้งนี้พบว่าการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่อยู่ใน HWE มีประสิทธิภาพในการจำแนกไ้ประคูหางคำออกจากกันไ้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่ไม่อยู่ใน HWE (ภาพ 10a)

กลุ่มการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากการคำนวณค่า PIC โดยแบ่งเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอออกเป็น 2 ส่วน คือ สำหรับการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอด้วยค่า PIC ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไ้ประคูหางคำ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่มากกว่า 0.3 และ 2) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่มากกว่า 0.3 มีจำนวน 13 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไ้ประคูหางคำแต่ละตัวออกจากกันไ้ได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 7.83×10^{-6} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไ้ประคูหางคำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 127,734 ตัว ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 พบว่ามีจำนวน 14 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไ้ประคูหางคำแต่ละตัวออกจากกันไ้ได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 4.30×10^{-3} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไ้ประคูหางคำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 232 ตัว และเมื่อพิจารณาการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากการคำนวณค่า PIC พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PIC ที่มากกว่า 0.3 มีประสิทธิภาพในการจำแนกไ้ประคูหางคำออกจากกันไ้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 (ภาพ 10b)

ในการจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไ้ประคูหางคำ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่น้อยกว่า 0.5 และ 2) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่น้อยกว่า 0.5 มีจำนวน 15 เครื่องหมาย สามารถจำแนกไ้ประคูหางคำแต่ละตัวออกจากกันไ้ได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.85×10^{-6} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไ้ประคูหางคำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 541,181 ตัว ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 พบว่ามีจำนวน 12 เครื่องหมาย

สามารถจำแนกไถ่ประดู๋หางคำแต่ละตัวออกจากกันได้ด้วยค่า PI มีค่าเท่ากับ 1.80×10^{-1} หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวมีโอกาสตรวจสอบพบไถ่ประดู๋หางคำที่มีจีโนไทป์เหมือนกัน ประมาณ 1 ใน 55 ตัว และเมื่อพิจารณาการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจากการคำนวณค่า PI พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่มีค่า PI ที่น้อยกว่า 0.5 มีประสิทธิภาพในการจำแนกไถ่ประดู๋หางคำออกกัน ได้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 (ภาพ 10c)





ภาพ 10 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับจำแนกไก่ประดู่หางดำ โดยพิจารณาจาก a) ค่าสมมูลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (HWE) b) ค่า polymorphic information content (PIC) และ c) ค่า probability of identity (PI)

สำหรับผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอจำนวนน้อยที่สุด ที่สามารถจำแนกเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของไก่ประดู่หางดำจากการพิจารณาทั้ง 3 วิธีการ คือ 1) การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ค่า HWE, 2) การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ค่า PIC และ 3) การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอโดยใช้ค่า PI พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่คัดเลือกจากค่า PI (1.85×10^{-6}) มีประสิทธิภาพในการจำแนกไก่ประดู่หางดำแต่ละตัวออกได้สูงกว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่คัดเลือกจากค่า PIC (7.83×10^{-6}) และ HWE (2.32×10^{-5}) ตามลำดับ