บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากจำนวน EST ที่ปรากฏอยู่บนฐานข้อมูลสาธารณะ PalmGenes และ EST ที่ได้จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติสามารถพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด EST-SSR ได้โดยตรง ซึ่งการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ EST-SSR จากวิธีการนี้สามารถพัฒนาได้ง่ายและรวดเร็ว ค่าใช้จ่ายน้อยเมื่อเทียบกับการพัฒนาด้วยวิธีการมาตรฐาน และที่สำคัญเครื่องหมาย EST-SSR เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนามาจากยีนซึ่งมีความสำคัญมากกว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดอื่นๆ ในแง่ของการปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์ เนื่องจากเครื่องหมาย EST-SSR เป็นเครื่องหมายที่ตรวจสอบที่ตำแหน่งยีนโดยตรง เครื่องหมาย EST-SSR ให้ผลการทดลองคงที่เมื่อทำการทดลองซ้ำและไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องในการวิเคราะห์จีโนมด้วยเครื่องหมายชนิดนี้

การพัฒนาเครื่องหมาย EST-SSR อาจให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันในงานวิจัยแต่ละงานขึ้นกับฐานข้อมูล EST ที่ใช้ในการค้นหา โปรแกรมที่ช่วยในการค้นหา เนื่องจากโปรแกรมแต่ละโปรแกรมจะออกแบบให้มีความจำเพาะซึ่งมีวิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยในงานวิจัยของ Ting *et al.* (2009) และ Singh *et al.* (2008) ได้ใช้โปรแกรม PHRED ในขณะที่งานวิจัยนี้ ใช้โปรแกรม CAP3 ในการจัดกลุ่ม ดังนั้นผลการวิเคราะห์จึงมีความแตกต่างกัน และการกำหนดจำนวนลำดับเบสซ้ำของ SSR ภายในข้อมูล EST ก็มีความสำคัญเช่นกัน คือในงานวิจัยของ Ting *et al.,* (2009) และ Singh *et al.,*(2008) ได้กำหนดลำดับเบสซ้ำแบบ mono-, di-, tri- และ tetra-nucleotide ให้มีชุดซ้ำเท่ากับ 10, 7, 5 และ 4 ตามลำดับ ในขณะที่งานวิจัยนี้ ได้กำหนดลำดับเบสซ้ำแบบ mono-, di-, tri-, tetra-, penta และ hexa- nucleotide เท่ากับ 10, 5, 5, 3, 3 และ 3 ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบจำนวนลำดับเบสซ้ำในการจัดกลุ่ม (clustering) ระหว่างงานวิจัย ของ Ting *et al.* (2009), Singh *et al.*(2008) และในงานวิจัยนี้ พบว่า EST ที่ทำการจัดกลุ่ม(clustering) มีจำนวนที่แตกต่างกัน คือ 10,400, 5,521 และ 47,256 ลำดับเบสตามลำดับ การที่มีจำนวนกลุ่มที่แตกต่างกัน เนื่องจากจำนวนข้อมูล EST ในฐานข้อมูลมีจำนวนที่ไม่เท่ากัน คือ ในงานวิจัยของ Ting *et al.* (2009) และ Singh *et al.* (2008) และในงานวิจัยนี้ มีจำนวนข้อมูลจำนวน 19,243, 6,787 และ 75,948 ลำดับเบสตามลำดับ ในการกำหนดชุดซ้ำเพื่อค้นหา

EST-SSR ในแต่ละงานวิจัยก็มีความแตกต่างกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาชนิดลำดับเบสซ้ำของ SSR บนฐานข้อมูล EST พบว่าในงานวิจัยของ Ting *et al.* (2009) และ Singh *et al.* (2008) มีชนิดลำดับเบสซ้ำของ Dinucleotide มากที่สุดคือ 45.6 และ 35.2% โดยการใช้โปรแกรม MISA ในขณะที่งานวิจัยนี้และงานวิจัยของ Riju และ Arunachalam (2009) พบลำดับเบสซ้ำชนิด mononucleotide มากที่สุด ซึ่งในงานวิจัยของ ของ Riju และ Arunachalam (2009) เป็นการหา SSR บนฐานข้อมูล EST ในฐานข้อมูล PalmGenes โดยการใช้ 5 โปรแกรม คือ MISA, TRA, TROLL, SSRIT, SSR primer พบว่าโปรแกรม MISA, TRA และ TROLL แบบ A/T มากที่สุด คือ 49.7, 63.63 และ 71.96% ในขณะที่โปรแกรม SSRIT และ SSR primer จะพบลำดับเบสชนิด Di- และ Tri- nucleotide มากที่สุดเนื่องจาก สองโปรแกรมนี้กำหนดลำดับเบสซ้ำชนิด Dinucleotide เป็นลำดับเบสซ้ำอย่างต่ำ ดังนั้นจะพบว่า โปรแกรม MISA, TRA และ TROLL ให้ผลที่สอดคล้องกับในงานวิจัยนี้ คือมีลำดับเบสซ้ำชนิด mononucleotide แบบ A/T มากที่สุดคือ 68.78% โดยการใช้โปรแกรม WebTroll เช่นเดียวกัน ในขณะที่ในงานวิจัยของ Ting *et al.* (2009) และ Singh *et al.* (2008) มีชนิดลำดับเบสซ้ำของ Dinucleotide มากที่สุด อาจเนื่องมาจากในความยาวของนิวคลีโอไทด์ที่หาได้จากวิธี pyrosequence มีความยาวไม่มากดังนั้นลำดับเบสซ้ำอาจเปลี่ยนแปลงไปส่งผลทำให้สัดส่วนของชนิดลำดับเบสซ้ำ SSR มีความเปลี่ยนแปลงไป

จากผลการวิเคราะห์หน้าที่ยีนจากฐานข้อมูล PalmGenes พบว่า ยีนที่ทราบหน้าที่การทำงาน คิดเป็น 91% โปรตีนสมมุติฐาน คิดเป็น 2.3% และ EST-SSRs ที่ไม่พบความคล้ายคลึงกับข้อมูลในฐานข้อมูล คิดเป็น 2.3% ในขณะที่ผลการวิเคราะห์หน้าที่ยีนจากฐานข้อมูลศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พบว่า มียีนที่ทราบหน้าที่การทำงานเพียง 7.6% โปรตีนสมมุติฐาน คิดเป็น 0.38% ในขณะที่ EST-SSRs ที่ไม่พบความคล้ายคลึงกับข้อมูลในฐานข้อมูล มีถึง 92.04% สาเหตุที่ข้อมูล EST ของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติมีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลโปรตีนน้อยกว่ามากอาจเนื่องจากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เป็นการหาลำดับเบสด้วยวิธี pyrosequencing แม้จะมีข้อดีคือ การหาลำดับเบสด้วยวิธีนี้สามารถทำในข้อมูลปริมาณมาก และใช้ระยะเวลาน้อย แต่อย่างไรก็ตามด้วยเทคโนโลยีขณะนี้ พบว่าลำดับเบสที่ได้จากการวิเคราะห์จะมีความยาวที่สั้นเมื่อเทียบกับวิธีการโคลนยีนด้วยวิธีมาตรฐานแล้วทำการหาลำดับเบส EST ดังนั้นเมื่อความยาวของนิวคลีโอไทด์สั้นจึงทำให้การเปรียบเทียบหาหน้าที่ของยีนในฐานข้อมูล NCBI ให้ผลลดลง

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่า PIC และค่า D จากการทำเหมืองข้อมูลโดยการใช้ฐานข้อมูลที่แตกต่างกัน พบว่า เมื่อวิเคราะห์ค่า PIC และ D ในฐานข้อมูล PalmGenes มีค่าเท่ากับ 0.33 และ 0.44 ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อวิเคราะห์ค่า PIC และ D ในฐานข้อมูลจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มีค่าเท่ากับ 0.34 และ 0.48 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าค่า PIC และ D ที่ได้จากแหล่งข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกันมีค่าที่ไม่แตกต่างกันมาก แสดงให้เห็นว่าการสร้างฐานข้อมูล EST โดยวิธีการโคลนยีนด้วยวิธีมาตรฐานแล้วทำการหาลำดับเบส EST ในฐานข้อมูล PalmGenes ให้ผลของการค้นหา EST-SSR ที่ไม่แตกต่างจากการสร้างฐานข้อมูล EST โดยการหาลำดับเบสด้วยวิธี pyrosequencing ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็วให้ข้อมูลมากและมีราคาต่อหน่วยข้อมูลถูกกว่า แม้ว่าเทคโนโลยีขณะนี้จะยังคงให้ข้อมูลลำดับเบสสั้นต่อการวิเคราะห์ดีเอ็นเอหนึ่งชิ้น แต่อย่างไรก็ตามด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีที่รวดเร็วคาดว่าในอนาคตการหาลำดับเบสด้วยวิธี pyrosequencing จะสามารถให้ข้อมูลลำดับเบสยาวขึ้นต่อการวิเคราะห์ดีเอ็นเอหนึ่งชิ้น ไม่แตกต่างหรืออาจยาวกว่าการวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธี diedoxy

ในงานวิจัยของ Singh *et al.* (2008) ได้มีการพัฒนาเครื่องหมาย EST-SSR ของปาล์มน้ำมัน จากนั้นเครื่องหมายที่พัฒนาได้ถูกวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเครื่องหมาย โดยการวิเคราะห์ค่า PIC พบว่าค่า PIC ที่ได้จากงานวิจัยนี้มีค่าเท่ากับ 0.53 ทั้งนี้อาจเนื่องจากตัวอย่างของปาล์มในงานวิจัยของ Singh *et al.* (2008) มีความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมมากกว่าในงานวิจัยนี้ คือในงานวิจัยของ Singh *et al.* (2008) ได้รับตัวอย่างปาล์มน้ำมันมาจากหลากหลายประเทศมากกว่า จึงทำให้ปาล์มตัวอย่างระหว่างแหล่งมีความแตกต่างกันสูง เมื่อเชื้อพันธุกรรมปาล์มน้ำมัน มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าโอกาสในการเกิดโพลิมอร์ฟิซึมในงานวิจัยของ Singh *et al.* (2008) จึงมีมากกว่าในงานวิจัยนี้ ซึ่งจะส่งผลถึงการวิเคราะห์ของค่า PIC

การวิเคราะห์การเปรียบเทียบโพลิมอร์ฟิซึมของเครื่องหมาย EST-SSR ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่พัฒนามาจากยีนและเครื่องหมาย gSSR ซึ่งอาจพัฒนามาจากทั้งส่วนที่เป็นยีนและไม่ใช่ยีน พบว่าเครื่องหมาย EST-SSR มีโพลิมอร์ฟิซึมที่น้อยกว่า (PIC และ D เท่ากับ 0.34 และ 0.48 ตามลำดับ) ในเครื่องหมาย gSSR (PIC และ D เท่ากับ 0.52 และ 0.92 ตามลำดับ) ซึ่งมีผลคล้ายกับในงานวิจัยอื่น (Pinto *et al.,* 2004; Chakravarthi,2006; Kandemir *et al.*, 2010) เนื่องจากเครื่องหมาย EST-SSR พัฒนามาจากลำดับเบสภายในยีนซึ่งต้องมีการอนุรักษ์ลำดับเบสของยีนไว้เพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของการทำงานของยีนจึงมีความแปรปรวนของจำนวนน้อย ขณะที่เครื่องหมาย gSSR เป็นเครื่องหมายที่พัฒนามาจากจีโนมซึ่งอาจ

เป็นส่วนของยีนหรือไม่ใช่ยีนก็ได้ ซึ่งลำดับเบสซ้ำในส่วนที่ไม่ใช่ยีนยีนมีความแปรปรวนสูงส่งผลทำให้มีโอกาศแสดงโพลิมอร์ฟิซึมที่สูงกว่า

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันในงานวิจัยนี้ โดยการจัดกลุ่มด้วยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) และการศึกษาโครงสร้างพันธุกรรมประชากรด้วยโปรแกรม STRUTURE พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกัน คือ ตัวอย่างประชากรปาล์มน้ำมัน *(Elaeis guineensis)* สามารถจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่มตามแหล่งพืชตัวอย่าง คือ บริษัทโกลเด้นเทอเนร่าและศูนย์วิจัยปาล์มสุราษฎ์ธานี เนื่องจากปาล์มน้ำมันที่ได้มาจากทั้งสองแหล่งมีเชื้อพันธุกรรมที่ต่างกัน คือ ปาล์มในบริษัทโกลเด้นเทอเนร่า จะมีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมภายในมากกว่า (similality coeffient = 0.84) เนื่องจากปาล์มของบริษัทโกลเด้นเทอเนร่าเป็นปาล์มที่ได้รับการพัฒนา ปรับปรุง คัดเลือก ปาล์มพันธุ์ดีโดยเป็นการผสมกันเองภายในแหล่งพันธุ์นั้น โดยไม่มีเป้าหมายเพื่อการเก็บรวบรวมพันธุ์ และไม่มีการนำพันธุ์มาจากศูนย์วิจัยปาล์มสุราษฎ์ธานี ในขณะที่ปาล์มที่มาจากศูนย์วิจัยปาล์มสุราษฎ์ธานี มีค่า similality coeffient ที่น้อยกว่า(similality coeffient = 0.81) เนื่องจากปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยปาล์มสุราษฎ์ธานีเป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์ปาล์มของประเทศต่างๆ จึงมีความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในที่มากกว่า ดังนั้นโครงสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมปาล์มน้ำมันจึงแตกต่างกัน และแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามแหล่งที่มาของปาล์มดังกล่าว

เมื่อศึกษาโครงสร้างพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยปาล์มสุราษฎ์ธานี จำนวน 48 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์ปาล์มของประเทศที่มีความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมปาล์มจากแหล่งต่างๆ ของโลก พบว่า พันธุ์ปาล์มส่วนใหญ่สามารถแยกแหล่งพันธุ์ได้สอดคล้องกับการวิเคราะห์โครงสร้างพันธุกรรม แต่มีบางพันธุ์ที่แหล่งพันธุ์ไม่สอดคล้องกับการวิเคราะห์โครงสร้างพันธุกรรม หรือในบางพันธุ์มีแหล่งพันธุ์ที่ไม่ชัดเจนและไม่ใช่ปาล์มลูกผสมแต่เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างพันธุกรรม พบว่ามีพันธุกรรมมาจากหลายแหล่ง อาจเป็นไปได้ว่าปาล์มน้ำมันเป็นพืชผสมข้าม และพันธุ์ปาล์มที่มีการนำเข้ามาจากแหล่งอื่นอาจผ่านกระบวนการผสมข้ามพันธุ์จากแหล่งพันธุ์นั้นมาก่อนหน้าแล้ว จึงทำให้มีเชื้อพันธุกรรมจากแหล่งอื่นมาปะปนด้วย ดังนั้นถ้าต้องการแบ่งกลุ่มปาล์มน้ำมันให้มีความแม่นยำมากขึ้น ควรมีการเพิ่มแหล่งของ germplasm ให้มีความหลากหลายมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพันธุ์ปาล์มยังมีโครงสร้างทางพันธุกรรมพื้นฐานตามแหล่งที่ได้รับมาเป็นอัตราส่วนมากกว่า 70% และเมื่อทำการแบ่งกลุ่มประชากรของปาล์มน้ำมัน 48 ตัวอย่างที่ได้จากศูนย์วิจัยปาล์มสุราษฎ์ธานีตามโครงสร้างประชากรแล้วทำการวิเคราะห์ค่า F_{ST} เพื่อสร้าง dendrogram พบว่าปาล์มน้ำมันสามารถจัดออกได้เป็น 4

กลุ่มหลัก คือปาล์มน้ำมันที่มาจากอัฟริกา, Hybrid line, Unmatch (ปาล์มน้ำมันที่ระบุแหล่งพันธุกรรมไม่สอดคล้องกับโครงสร้างประชากร) และ Ghana เมื่อวิเคราะห์ปาล์มน้ำมันในกลุ่มของอัฟริกา พบว่าสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มแรกประกอบด้วย Nigeria, Deli dura และ Calabar เป็นปาล์มน้ำมันที่มาจากอัฟริกาตะวันตก ในขณะที่ปาล์มน้ำมันจาก Deli dura เป็นปาล์มน้ำมันที่พบในประเทศมาเลเซียและอินโดนีเซียแต่แท้จริงแล้ว Deli dura ได้รับต้นพันธุ์มาจากอัฟริกาตะวันตกจึงมีความคล้ายคลึงในกลุ่มนี้ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย AVORS และ DAMI เป็นปาล์มน้ำมันที่มาจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จึงมีความใกล้ชิดกันมากกว่ากลุ่มอื่นๆ Hybrid line และ Unmatch เป็นกลุ่มที่อยู่ระหว่างกลุ่มอัฟริกาและ Ghana เนื่องจากพันธุ์ปาล์มที่มีการนำเข้ามาจากแหล่งอื่นอาจผ่านกระบวนการผสมข้ามพันธุ์จากแหล่งพันธุ์นั้นมาก่อนหน้าแล้ว จึงทำให้มีเชื้อพันธุกรรมจากแหล่งอื่นมาปะปนด้วย จึงอาจทำให้กลุ่ม hybrid line และ Unmatch มีความใกล้เคียงกับกลุ่มอื่นๆ ในขณะที่ Ghana ก็เป็นปาล์มจากอัฟริกาตะวันตก แต่ไม่เข้ากลุ่มใดๆ เมื่อเปรียบเทียบค่า F_{ST} พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.05 ซึ่งมีค่าที่น้อยมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปาล์มน้ำมันที่ใช้ในงานวิจัยนี้ยังมีจำนวนที่น้อยจึงไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้ชัดเจน ดังนั้นจึงต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างทั้งในแหล่งเดียวกันและต่างแหล่งกันให้มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ทั้งนี้เนื่องจากปาล์มน้ำมันในแต่ละแหล่งพันธุกรรม อาจมี germplasm ที่แตกต่างกันในแต่ละท้องที่ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปาล์มน้ำมันที่มาจากอัฟริกาตะวันตก พบว่า Nigeria และ Deli dura มีเชื้อพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกว่า AVORS เนื่องจาก Nigeria เป็นปาล์มน้ำมันที่มาจากทางอัฟริกาตะวันตก ในขณะ Deli dura ที่พบในประเทศมาเลเซียและอินโดนีเซียได้รับต้นพันธุ์มาจากอัฟริกาตะวันตก ในขณะที่ Deli dura มีความใกล้ชิดกับ AVORS ทั้งนี้เนื่องจากแหล่งพันธุ์ AVORS ถึงแม้เป็นแหล่งพันธุ์จากประเทศอินโดนีเซีย แต่ปาล์มน้ำมันของ AVORS ได้รับการปรับปรุงจากปาล์มน้ำมันพันธุ์ Deli dura ดังนั้น Deli dura จึงมีความใกล้ชิดกับ AVORS และจาก dendrogram พบว่าแหล่งปาล์มน้ำมันของ Deli dura มีความใกล้เคียงกับ Unmatch มากกว่าแหล่งอื่นๆ อาจเป็นไปได้ว่าปาล์มน้ำมันพันธุ์ Deli dura เป็นปาล์มน้ำมันที่นิยมใช้ผสมกับแหล่งพันธุกรรมอื่น ดังนั้นปาล์มน้ำมันในกลุ่ม Unmatch จึงมีเชื้อพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกับพันธุ์ Deli dura ในขณะที่ปาล์มน้ำมันในกลุ่มอัฟริกาตะวันออก พบว่า Calabar มีความใกล้ชิดกับ hybrid line มากกว่า Ghana ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพันธุ์ปาล์มที่มีการนำเข้ามาจากแหล่งอื่นอาจผ่านกระบวนการผสมข้ามพันธุ์จากแหล่งพันธุ์นั้นมาก่อนหน้าแล้ว จึงทำให้มีเชื้อพันธุกรรมจากแหล่งอื่นมาปะปนด้วย จึงอาจทำให้กลุ่ม hybrid line มีความใกล้เคียงกับกลุ่ม Ghana ในขณะที่ Calabar มีความใกล้ชิดกับ Ghana มากกว่า DAMI ทั้งนี้เนื่องจาก

Calabar และ Ghana เป็นปาล์มน้ำมันที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในประเทศคอสตาริก้า ซึ่งอยู่ในอัฟริกาตะวันออก ดังนั้น Calabar จึงมีความใกล้ชิดกับ Ghana มากกว่าในแหล่งของ DAMI ซึ่ง DAMI เป็นปาล์มน้ำมันที่ได้รับการปรับปรุงจากประเทศปาปัวนิวกินี ดังนั้นปาล์มน้ำมันจากแหล่ง DAMI จึงมีความแตกต่างกับแหล่งของ Calabar และ Ghana

ในการวิเคราะห์แนวโน้มการกระจายตัวของเครื่องหมาย EST-SSR เพื่อประเมินศักยภาพของเครื่องหมายที่สามารถใช้ได้ในการสร้างแผนที่พันธุกรรม พบว่าจีโนไทป์ส่วนใหญ่ของ clone B และ clone D (ทั้งคู่เป็น Tenera) มีแอลลีลที่เหมือนกัน คือ ab x aa, aa x ab ,ao x ao, ab x ab และ ab x ac (รวมคิดเป็น 98.48%) ดังนั้นจึงเห็นว่า clone B และ clone D มีพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันมาก เมื่อเปรียบเทียบพ่อ (Dura) และแม่พันธุ์ (Tenera) จากงานวิจัยของ Billotte *et al.* (2005, pp.754-765) ซึ่งส่วนใหญ่พ่อและแม่มีจีโนไทป์เป็นแบบที่มีแอลลีลต่างกันคือ ao x oo จำนวน 11.56% ab x cd จำนวน 38.19% ab x ab จำนวน 1.5% และ ab x ac จำนวน 19.1% แต่ในงานวิจัยนี้ไม่พบจีโนไทป์แบบ ao x oo และ ab x cd เลย ด้วยความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของพ่อแม่ที่ใช้ในการทดลองนี้จึงทำให้เครื่องหมาย EST-SSR ที่พัฒนาได้มีอัตราส่วนจำนวนน้อยที่เครื่องหมายเกิดโพลิมอร์ฟิซึมระหว่าง clone B, clone D และประชากรลูกผสม F_1 10 ตัวอย่าง คือมีเครื่องหมายเพียง 66 คู่ไพรเมอร์จากเครื่องหมาย EST-SSR ทั้งหมด 302 คู่ไพรเมอร์ที่เกิดโพลิมอฟิซึม แต่อย่างไรก็ตาม EST-SSR 66 คู่ไพรเมอร์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากในการทำแผนที่ของปาล์มน้ำมัน ซึ่งแผนที่นี้จะมีประโยชน์อย่างมากในการวิเคราะห์หาเครื่องหมายยีนที่สัมพันธ์กับลักษณะปริมาณ (QTLs) ที่สำคัญทางเกษตรของปาล์มน้ำมัน เช่น การให้น้ำมัน จำนวนผลต่อทะลาย การต้านทานโรค เป็นต้น เครื่องหมาย EST-SSR ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางการเกษตรดังกล่าว จะช่วยให้โครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

แนวทางหนึ่งในการพัฒนาเครื่องหมายที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะสำคัญทางการเกษตร คือการทำ association mapping ซึ่งข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญของการทำ association mapping คือการประเมินค่า linkage disequilibrium (LD) ในการหาค่า LD ในงานวิจัยนี้ ได้นำเครื่องหมาย EST-SSRs และ gSSR ที่สามารถสร้างแผนที่พันธุกรรมของปาล์มน้ำมันในประชากรลูกผสมระหว่าง clone B และ clone D ได้จากงานวิจัยของกิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ (ยังไม่ตีพิมพ์) จำนวน 29 คู่ไพรเมอร์พบว่า ไม่มีคู่ไพรเมอร์ใดที่มีค่า LD (หลังจากปรับค่าด้วย Bonferroni correction) แม้ใน linkage group ที่ 1 ที่มีระยะทางภายในที่ใกล้ที่สุด (PESTM470 และ PESTM629) คือ 0.412 cM ก็ไม่พบค่า LD ทั้งนี้อาจเนื่องจากระยะทางที่สามารถวิเคราะห์ค่า LD

ได้ในปาล์มน้ำมันอาจมีระยะทางที่ใกล้กันมาก (คือมีหน่วยเป็น base pair) ทั้งนี้เนื่องจากค่า LD เป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับลักษณะการผสมพันธุ์ของพืช ปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่ผสมข้ามต้น มีอัตราส่วนจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสสูงส่งผลให้มีโอกาศเกิด recombination สูง ดังนั้นช่วงของ LD จึงมีค่าที่แคบอาจมีช่วงไม่เกิน 500 bp ในขณะที่พืชผสมตัวเองมีความเป็นโฮโมไซกัสสูงมีโอกาศเกิด recombination ต่ำมีค่า LD ในช่วงกว้างอาจมีช่วงมากว่า 10 kb การหาค่า LD แบบการวิเคราะห์ทั้งจีโนม (genome scan) จึงอาจไม่เหมาะสมเนื่องจากต้องใช้เครื่องหมายโมเลกุลเป็นจำนวนมาก (อาจมากกว่า 5,000 เครื่องหมาย)ในการวิเคราะห์ LD ทั้งจีโนม ดังนั้นแนวทางในการวิเคราะห์ LD ในปาล์มน้ำมันเพื่อการทำ association mapping จึงอาจต้องใช้ การวิเคราะห์ค่า LD ภายในยีน (candidate gene approach) จากเครื่องหมาย SNPs