

## บทที่ 2

### การทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 กุ้งกุลาดำ

##### 2.1.1 อนุกรมวิธานของกุ้งกุลาดำ

กุ้งสกุล *Penaeus* ได้ถูกบันทึกไว้ใน Official list of genetic Name in Zoology หมายเลข 498 โดย John Christ Fabricius เป็นผู้บรรยายลักษณะต่างๆ ไว้เป็นคนแรกในปี ค .ศ. 1798 (ดวงใจ, 2545)

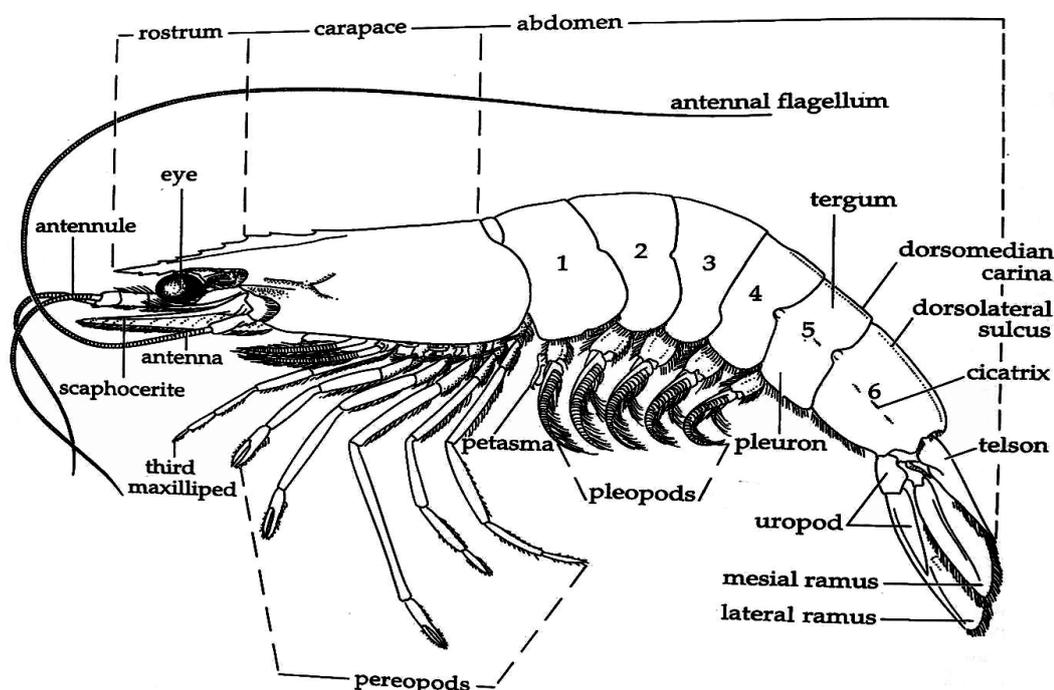
Phylum	Arthropoda
Class	Crustacea
Subclass	Malacostraca
Order	Decapoda
Suborder	Natantia
Infraorder	Penaeidea
Superfamily	Penaeoidea
Family	Penaeidae Rafinesque, 1815
Genus	<i>Penaeus</i> Fabricius, 1798
Subgenus	<i>Penaeus</i>
Species	<i>monodon</i>

**ชื่อวิทยาศาสตร์:** *Penaeus monodon* Fabricius

**ชื่อสามัญ:** Black tiger shrimp Giant tiger shrimp และ Blue tiger shrimp

### 2.1.2 ลักษณะโดยทั่วไป

กุ้งกุลาดำ หรือ กุ้งม้าลาย มีลักษณะลำตัวเป็นสีม่วงแดงมีแถบสีน้ำตาล หรือ ดำ พาดขวางลำตัวเป็นปล้องๆ โคนขาว่ายน้ำมีสีแถบสีเท ลีอง เปลือกหุ้มมีลักษณะเกลี้ยง ไม่มีขน หนวดมีสีดำไม่มีลาย กรีด้านบนมี 7-8 ซี่ กรีด้านล่างมี 3 ซี่ ร่องข้างกรีทั้งสองด้านมีลักษณะแคบ และยาวไม่ถึงพินกรีอันสุดท้าย ขาเดินคู่ที่ 5 ไม่มีระยางค์ด้านนอก (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*, Fabricius)

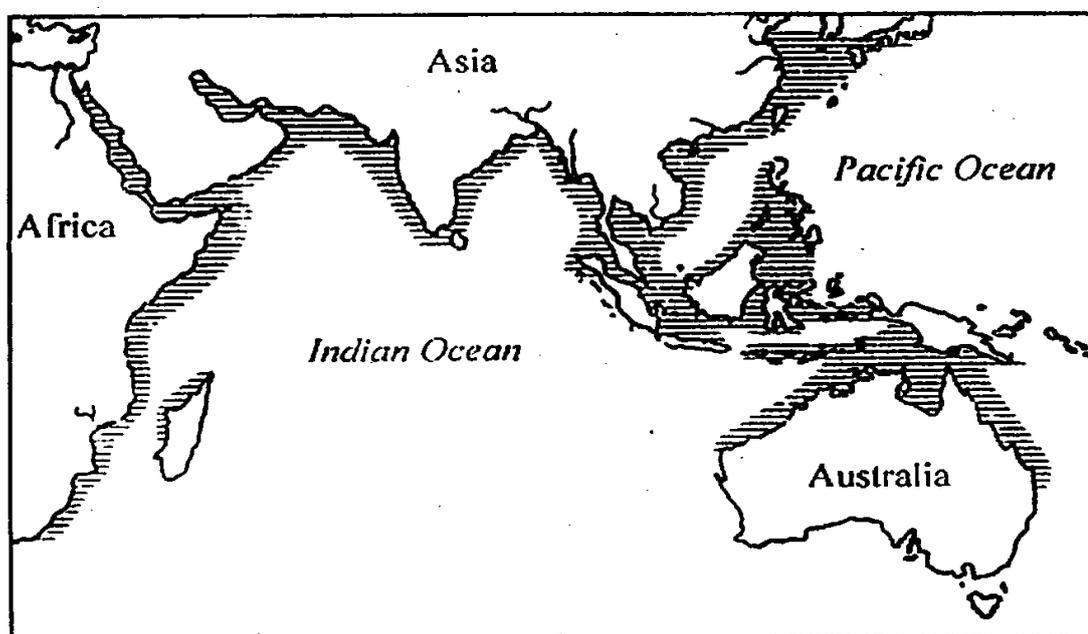
ที่มา: Bailey-Brook and Mass (1992)

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์กินเนื้อ ชอบอาหารที่มีกลิ่นคาวโดยเฉพาะอาหารสด เช่น สัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียนที่มีขนาดเล็กกว่า หอย และหมึก ซึ่งคิดเป็น 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอีก 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นพวกแพลงตอนพืชและโพลีซิด (Solis, 1998 as cited in Gulf States Marine Fisheries Commission, 2003)

### 2.1.3 การแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์

กุ้งกุลาดำมีการแพร่กระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางในเขตอบอุ่นแปซิฟิกตะวันตก (ภาพที่ 2.2) แถบตะวันออกของแอฟริกาถึงทะเลแดง มหาสมุทรอินเดีย จากประเทศญี่ปุ่น ใต้หวัน และออสเตรเลีย เป็นต้น (Grey et al., 1983) ในประเทศไทยจะพบบริเวณอ่าวไทยตอนบนและเกือบทุกจังหวัดที่ติดชายทะเลของไทย กุ้งกุลาดำแพร่กระจายทั่วไปตั้งแต่ 30 องศา ถึง 155 องศา ตะวันออก และจาก 35 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ ซึ่งเป็นแหล่งทำการประมงของประเทศไทย ในเขตร้อน ได้แก่ อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย (ประจวบ, 2527)

กุ้งกุลาดำโตเต็มวัยชอบอาศัยในดินโคลน หรือโคลนปนทรายในทะเลลึกพบกุ้งกุลาดำขนาดโตที่สุด ยาวถึง 36.3 เซนติเมตร ตามปกติกุ้งกุลาดำเพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ (Gulf States Marine Fisheries Commission, 2003)

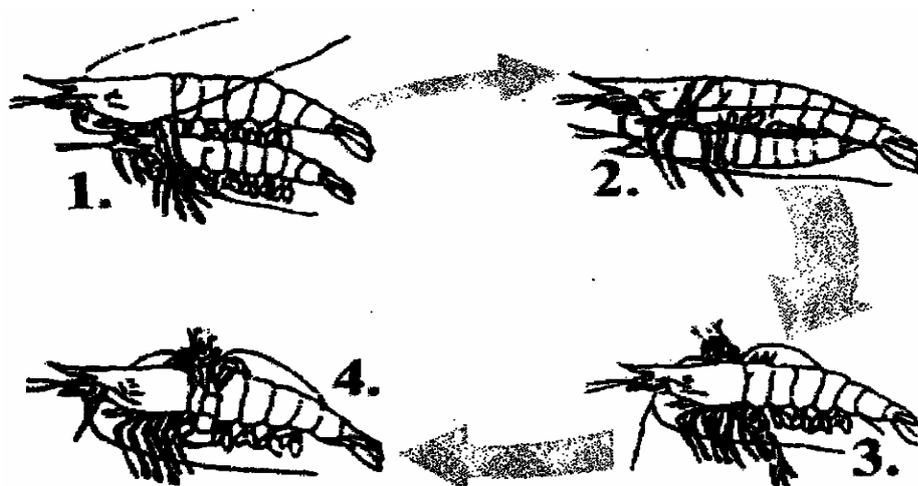


ภาพที่ 2.2 การแพร่กระจายของกุ้งกุลาดำ *P. monodon* ในแถบอินโดแปซิฟิกตะวันตก  
ที่มา: Grey et al. (1983)

### 2.1.4 การสืบพันธุ์

กุ้งกุลาดำมีอวัยวะเพศภายนอกที่มองเห็นได้ชัดเจนและสามารถใช้ลักษณะความแตกต่างของอวัยวะเพศในการจำแนกชนิดได้ อวัยวะเพศผู้ เรียกว่า พีเทสมา (petasma) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงแขนงอันในของขาว่ายน้ำคู่แรก ทั้ง 2 ข้าง เชื่อมติดกัน เพื่อทำหน้าที่เป็นอวัยวะเพศผู้ ส่วนอวัยวะเพศเมีย เรียกว่า ทีไลคัม (thelycum) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงผนังด้านท้อง (sternal plate) ของรยางค์ส่วนอก ปล้องที่ 7 และ 8 หรือ ตรงกับขาเดิน คู่ที่ 4-5 พัฒนามาเป็นถุงสำหรับรับน้ำเชื้อ เมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ อวัยวะเพศทั้ง 2 เพศ จะมีการพัฒนาอย่างเต็มที่เพื่อพร้อมในการผสมพันธุ์

การผสมพันธุ์จะเกิดขึ้นในตอนกลางคืน ภายหลังจากที่ตัวเมียลอกคราบใหม่ และอวัยวะเพศเมียยังอ่อนตัวอยู่ การผสมโดยธรรมชาติจะเกิดขึ้นเมื่อตัวผู้ว่ายน้ำเข้าประกบตัวเมียและแรงเหวี่ยงให้ตัวเมียว่ายน้ำไปด้วยกัน ทั้งคู่จะว่ายน้ำขนานกันไป โดยตัวผู้จะอยู่ด้านล่างของตัวเมีย เมื่อได้จังหวะตัวผู้จะหงายท้องรัดตัวเมีย โดยตัวผู้จะสอดอวัยวะเพศเข้าไปในอวัยวะเพศเมียพร้อมกับปล่อยถุงน้ำเชื้อเข้าไปเก็บในตัวเมียต่อไป (ภาพที่ 2.3) ตัวเมียที่ได้รับการผสมจะมีการพัฒนาของรังไข่ กุ้งกุลาดำที่มีอายุประมาณ 12-18 เดือน จะวางไข่ในทะเลลึกที่ระดับน้ำประมาณ 15-30 เมตร ใกล้กับพื้นท้องทะเล โดยกุ้งขนาด 70-150 กรัม จะวางประมาณครั้งละ 1,000,000-1,200,000 ฟอง (วัลลภ, 2532 และ Primavera, 1979)

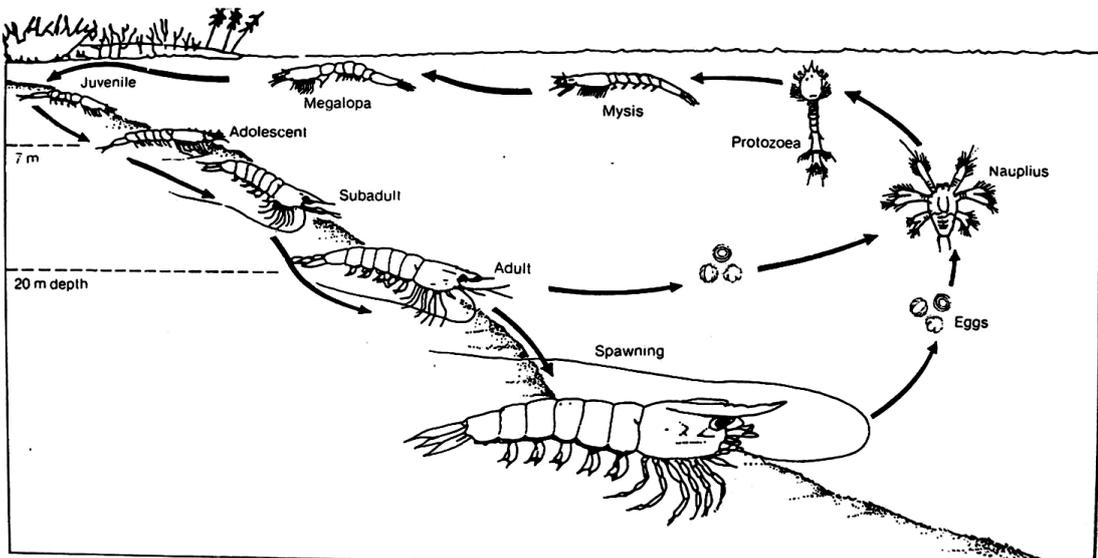


ภาพที่ 2.3 การผสมพันธุ์ตามธรรมชาติของกุ้งกุลาดำ

ที่มา: Primavera (1979)

### 2.1.5 วงจรชีวิต

ไข่ที่ได้รับการผสม จะฟักเป็นตัวอ่อนระยะนอเพียส (nauplius) ภายใน 12 ชั่วโมง หลังได้รับการปฏิสนธิ ระยะนอเพียสมีขนาด 0.3-0.33 มิลลิเมตร ยังไม่กินอาหาร ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอน ประมาณ 2 วัน ระยะนี้จะมีการลอกคราบ 6 ครั้ง สิ้นสุดระยะนอเพียสจะมีขนาดประมาณ 0.6 มิลลิเมตร จะเจริญเข้าสู่ระยะโปรโตซัวเคีย (protozoa) มีขนาด 1-3.3 มิลลิเมตร กินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร ลอกคราบ 3 ครั้ง ใช้เวลา 3-4 วัน จะเจริญเข้าสู่ระยะไมซิส (mysis) ขนาดประมาณ 3.3-5 เซนติเมตร กินแพลงก์ตอนสัตว์เป็นอาหาร ใช้เวลา 3-4 วัน จะเข้าสู่ระยะโพสลาวา (postlarva) หรือ ที่นิยมเรียกว่า P1 (พี1) ระยะนี้จะเรียกตามจำนวนวันที่กุ้งเติบโต เช่น P10 คือ กุ้งในระยะนี้อายุ 10 วัน จนวันที่ 20 กุ้งจะมีขนาด 2-3 เซนติเมตร จะเข้าสู่ระยะจูเวไนล์ (juvenile) มีลักษณะต่างๆ สมบูรณ์เหมือนตัวเต็มวัย แต่ไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ จนเข้าสู่ระยะเจริญพันธุ์ และใช้เวลา 10 เดือน จะเป็นตัวเต็มวัย (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ *P. monodon*

ที่มา: Motoh (1985)

## 2.2 ความสำคัญของอุตสาหกรรมกุ้งไทย

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง มีความสำคัญต่อประเทศไทยทั้งในด้านสังคมและเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นอุตสาหกรรมที่มีผู้เกี่ยวข้องตั้งแต่ การจับพ่อแม่พันธุ์จากทะเลลึก การเพาะฟัก การเพาะเลี้ยง และการแปรรูป มากกว่า 1 ล้านคน และนำรายได้เข้าประเทศปีละ 60,000-80,000 ล้านบาท ด้วยพัฒนาการของอุตสาหกรรมกุ้งไทยที่มีอย่างต่อเนื่องทำให้ประเทศไทยก้าวขึ้นสู่การเป็นผู้นำในด้านการเพาะเลี้ยงและการส่งออกกุ้งของโลก ผลผลิตกุ้งรวมของโลกจากการเพาะเลี้ยงในปี 2549 มีปริมาณ 1.8 ล้านตัน ผลผลิตกุ้งผลผลิตกุ้งมากกว่า ร้อยละ 80 เพาะเลี้ยงในประเทศแถบเอเชีย ไทยเป็นผู้นำในการผลิตกุ้งจากการเพาะเลี้ยงแซงหน้าประเทศจีนซึ่งเป็นผู้นำในการผลิตกุ้งในช่วงปี 2547-2550 (ตารางที่ 2.1) ทั้งนี้เนื่องจากประเทศจีนประสบปัญหาด้านโรคระบาด (กรมประมง, 2550)

ตารางที่ 2.1 ผลผลิตกุ้งของโลกตั้งแต่ปี 2546-2550

ประเทศ	2546	2547	2548	2549	2550
ไทย	350,000	360,000	416,000	460,000	500,000
จีน	400,000	352,000	380,000	371,000	402,000
อินโดนีเซีย	168,000	205,000	230,000	260,000	290,000
เอกวาดอร์	70,000	50,000	120,000	140,000	150,000
อินเดีย	100,250	100,250	100,000	103,000	112,000
เวียดนาม	110,000	106,000	115,000	133,000	155,000
อื่น ๆ	308,000	413,000	340,800	368,000	380,000
<b>รวม</b>	<b>1,526,250</b>	<b>1,586,250</b>	<b>1,701,000</b>	<b>1,835,000</b>	<b>1,989,000</b>

หมายเหตุ: ข้อมูลประมาณการ (หน่วย: เมตริกตัน)

ที่มา: กรมประมง (อ้างอิงจากข้อมูลจาก เอกสารการเสวนา เรื่อง “แนวโน้มการผลิตและการส่งออกสินค้าประมงของไทยที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ปี 2550”)

สถานการณ์ที่มีผู้เลี้ยงกุ้งเพิ่มขึ้น และประเทศเหล่านั้นต่างมีเป้าหมายเพิ่มผลผลิตกุ้ง ทำให้ประเทศไทยต้องมีการปรับเปลี่ยนรูปแบบของการผลิตให้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทั้งในด้านการผลิตและการตลาดของโลก อย่างไรก็ตามประเทศไทยไม่อาจหยุดการพัฒนาได้เนื่องจากจำนวนของประเทศที่มีการผลิตกุ้งมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นพร้อมกับการเพิ่มปริมาณการผลิต รวมทั้งความพยายามจะเพิ่มส่วนแบ่งในตลาดโลก ในสถานการณ์ที่การแข่งขันมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นนี้ทำให้ประเทศไทยต้องพัฒนาศักยภาพของอุตสาหกรรมทั้งระบบเพื่อให้แข่งขันได้อย่างยั่งยืน

ปัจจัยที่มีส่วนสำคัญต่อการกำหนดความยั่งยืนของอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้ง คือการมีพ่อแม่พันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์จนสามารถเลี้ยงเป็นสัตว์เลี้ยงที่มีคุณภาพดีขึ้นเรื่อยๆ แม้ว่าการเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีมาช้านานแล้ว แต่พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำยังต้องใช้การจับมาจากธรรมชาติเป็นส่วนใหญ่ ปัญหาที่ตามมา คือคุณภาพที่ด้อยลงของพ่อแม่พันธุ์กุ้งอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของเชื้อ อโรคยโรคต่างๆ จึงส่งผลให้คุณภาพของลูกกุ้งที่ผลิตได้ด้อยลง (มีอัตราการรอดตายต่ำและโตช้า) เป็นต้นเหตุให้ผู้เลี้ยงกุ้งเปลี่ยนไปเลี้ยงกุ้งขาว เพื่อให้มีผลผลิตป้อนเข้าสู่โรงงานแปรรูปในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงาน ฟาร์มเพาะฟักเกือบทั้งหมดจึงเปลี่ยนไปสู่การเพาะฟักกุ้งขาว ทำให้มีเพียงบางฟาร์มเพาะฟักเท่านั้นที่ยังคงเพาะฟักลูกพันธุ์กุ้งกุลาดำ

ผู้เลี้ยงและผู้ส่งออกไทยมีความเห็นที่สอดคล้องกันว่า “กุ้งกุลาดำยังน่าสนใจสำหรับประเทศไทย” เนื่องจากเป็นกุ้งที่มีคุณภาพ รสดี สีสวยและเลี้ยงจนได้ขนาดใหญ่ เพื่อเข้าสู่ตลาดจำเพาะที่เน้นกุ้งระดับพรีเมียม (คณะกรรมการบริหารคลังสต็อกกุ้งประเทศไทย, 2550) อย่างไรก็ตามการพัฒนาการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ที่สำคัญคือ “พ่อแม่พันธุ์” ประเทศไทยยังไม่มีสายพันธุ์ที่ดีที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงต้องมีการปรับปรุง ระบบการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยพยายามไม่นำพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติ หรือ การพัฒนาพ่อแม่พันธุ์จากการเลี้ยง จากนั้นจึงทำการปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ เพื่อให้ได้พ่อแม่พันธุ์ที่ดีต่อไป

## 2.3 ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ

ลักษณะทางเศรษฐกิจ หมายถึง ลักษณะของที่เกี่ยวข้องกับเศรษฐกิจ ส่วนใหญ่หมายถึง ลักษณะปริมาณ เช่น อัตราการเจริญเติบโต การให้ผลผลิต ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ส่วน ลักษณะคุณภาพ ได้แก่ สีในปลาสวยงามต่างๆ ลักษณะทางเศรษฐกิจในสัตว์เลี้ยงสามารถแบ่ง ออกเป็น 2 ลักษณะ ได้แก่

### 2.3.1 ลักษณะคุณภาพ

ลักษณะคุณภาพ (qualitative traits) เป็นลักษณะจำแนกออกเป็นพวกๆ ได้ ชัดเจน ลักษณะประเภทนี้จะควบคุมโดยยีนน้อยคู่หรือเพียงคู่เดียว และสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลเข้ามาเกี่ยวข้องน้อยมาก เช่น สีของปลาแฟนซี ปลาคาร์พ ปลาทอง และ รูปแบบของครีบหางในปลากัด เป็นต้น การถ่ายทอดลักษณะคุณภาพ จะเป็นการถ่ายทอดขั้นมูลฐาน ซึ่งนิยม เรียกตามชื่อผู้ค้นพบ เช่น การถ่ายทอดลักษณะแบบเมนเดล (อุทัยรัตน์, 2538)

### 2.3.2 ลักษณะปริมาณ

ลักษณะปริมาณ (quantitative traits) เป็นลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (polygenes) และสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลสูงต่อการแสดงออกของลักษณะ การแสดงออกมีความแปรปรวนอย่างต่อเนื่อง ไม่สามารถจำแนกออกเป็นพวกๆ ได้ ต้องอาศัยวิธีการ ชั่ง ตวง วัด โดยมีหน่วยเป็นปริมาณ (สมชัย, 2530; จันทร์จรัส, 2534 และ สมเกียรติ, 2537)

ลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจและมักจะถูกนำมาพิจารณา เพื่อการคัดเลือกในแผนการปรับปรุงพันธุ์ในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ได้แก่ น้ำหนักตัวและความยาวรวมที่อายุต่างๆ ความดกไข่ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน เป็นต้น ซึ่งโดยทั่วไปจะเน้นปรับปรุงลักษณะการเจริญเติบโต เนื่องจากเป็นลักษณะที่มีความต้องการของตลาดสูง

## 2.4 พันธุศาสตร์ปริมาณ

การศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ปริมาณ จะทำการศึกษาจากลักษณะที่สัตว์แสดงออกมาให้เห็นที่เรียกว่า ลักษณะปรากฏ โดยปกติแล้วลักษณะดังกล่าวในตัวสัตว์แต่ละตัวจะแสดงออกแตกต่างกันไป ทั้งนี้อาจ เป็นผลเนื่องมาจากอิทธิพลทางพันธุกรรม ที่ สัตว์ได้รับการถ่ายทอดมาจากพ่อและแม่ นอกจากนี้ยังมีผลจากสภาพแวดล้อม ที่สัตว์ได้รับในช่วงนั้นๆ ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้น สามารถเขียนแสดงในรูปสมการได้ดังนี้

$$P = G + E$$

เมื่อ

- P** = ลักษณะปรากฏที่วัดได้จากตัวสัตว์  
**G** = ปัจจัยเนื่องจากพันธุกรรมของตัวสัตว์  
**E** = ปัจจัยเนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่สัตว์ได้รับ

การศึกษาลักษณะที่สัตว์แสดงออก จะวัดจากลักษณะความแปรปรวน (variance) โดยความแปรปรวนทั้งหมด คือ ความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ (phenotypic variance) ซึ่งเป็นผลมาจากความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variance) ร่วมกับความแปรปรวนของสิ่งแวดล้อม (environment variance) ในส่วนของความแปรปรวนจากพันธุกรรมยังสามารถแยกออกเป็นความแปรปรวนของอิทธิพลเนื่องจากยีนแบบบวกสะสม (additive gene) ความแปรปรวนเนื่องจากอิทธิพลของการข่มของยีน (dominance gene) ความแปรปรวนเนื่องจากอิทธิพลร่วมของยีนต่างตำแหน่ง (epitasis) ส่วนความแปรปรวนอื่นที่ไม่ใช่พันธุกรรม (สภาพแวดล้อม ) ยังสามารถแบ่งออกได้เป็นความแปรปรวนจากสภาพแวดล้อมถาวร (permanent environment) และความแปรปรวนจากสภาพแวดล้อมชั่วคราว (temporary environment) (Falconer and Mackay, 1996) สามารถเขียนแสดงในรูปสมการได้ดังนี้

$$\sigma_P^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_I^2 + \sigma_{ET}^2 + \sigma_{EP}^2$$

เมื่อ

$\sigma_P^2$	=	ความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ
$\sigma_A^2$	=	ความแปรปรวนของยีนแบบบวกสะสม
$\sigma_D^2$	=	ความแปรปรวนยีนแบบข่ม
$\sigma_I^2$	=	ความแปรปรวนของยีนข่มต่างตำแหน่งกัน
$\sigma_{ET}^2$	=	ความแปรปรวนจากสภาพแวดล้อมชั่วคราว
$\sigma_{EP}^2$	=	ความแปรปรวนจากสภาพแวดล้อมถาวร

## 2.5 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม

ลักษณะการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจของกึ่งกุลาดำ สามารถวัดได้จากการประมาณค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการแสดงลักษณะการเจริญเติบโตของประชากรได้ ซึ่ง ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมที่สำคัญมีดังต่อไปนี้ คือ ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) ค่าความแปรปรวนร่วม (covariance) และค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ค่าความแปรปรวนที่เกิดเนื่องจากอำนาจของยีนแบบรวมสะสม หรือคุณค่าการผสมพันธุ์ (breeding value)

ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมเหล่านี้ได้รับความสนใจในฐานะที่เป็นข้อสรุปด้านปริมาณของการถ่ายทอดลักษณะที่สนใจ และยังสามารถบอกได้ว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะที่สนใจมีค่าพื้นฐานทางพันธุกรรมเพียงพอหรือไม่ที่จะคัดเลือกอย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ อาจจะสามารถได้ว่าควรเปลี่ยนวิธีการคัดเลือกเป็นแบบอื่นหรือไม่ (นลินี, 2539) ในการคัดเลือกลักษณะต่างๆ ที่จะทำให้การปรับปรุงและการสร้างดัชนีการคัดเลือกจะต้องอาศัยค่า พารามิเตอร์ทางพันธุกรรม เหล่านี้ เป็นพื้นฐานในการตัดสินใจว่าจะทำการคัดเลือกในทิศทางใด จึงต้องมีการประมาณค่าเหล่านี้ควบคู่ไปด้วย เนื่องจากความแปรปรวนของลักษณะในแต่ละแห่งมีความแตกต่างกัน ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมจึงมีความแตกต่างกันในแต่ละครั้งของการศึกษา

### 2.5.1 องค์ประกอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะที่ศึกษา เป็นปัจจัยสำคัญต่อการศึกษพันธุศาสตร์เชิงปริมาณ เนื่องจากองค์ประกอบความแปรปรวนมีความสัมพันธ์กับค่าอัตราพันธุกรรม ดังนั้นถ้าค่าประมาณความแปรปรวนเบี่ยงเบนไปจากค่าที่เป็นจริงจะมีผลทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการประเมินค่าอัตราพันธุกรรม วิธีที่ใช้ในการประมาณองค์ประกอบความแปรปรวนได้มีการพัฒนามาโดยตลอด Lee (2000) ได้สรุปว่า การประมาณองค์ประกอบความแปรปรวนมีอยู่หลายวิธี ซึ่งการวิเคราะห์จะอยู่บนพื้นฐานของการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA; analysis of variance) เช่น biased method, minimum variance (or norm) quadratic unbiased estimation (MIVQUE/MINQUE), likelihood-based methods, Gibbs sampling และ method R และวิธีที่ใช้สำหรับแบบหุ่ที่ไม่เป็นเส้นตรง (methods with nonlinear models) ซึ่งการวิเคราะห์จากวิธีการที่กล่าวมามีข้อเสีย คือ ค่าความแปรปรวนที่ได้ไม่มีการปรับด้วยอิทธิพล จากปัจจัยคงที่ ได้แก่ เพศ แหล่งที่มา ครอบครัว และไม่มีปรับการมีความสัมพันธ์ทางสายเลือดของสัตว์ (Meyer, 1995) ปัจจุบันวิธีที่ได้รับความนิยม คือ Likelihood based methods ซึ่งสามารถจำแนกได้ดังนี้

#### ก. Maximum likelihood

Maximum likelihood หรือ ML เป็นวิธีที่พัฒนาโดย Hartley และ Rao (อ้างโดย Lee, 2000) วิธีนี้จะสามารถใช้ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในข้อมูลได้ทุกระดับ ข้อมูลไม่จำเป็นต้องเป็นข้อมูลที่สมดุล และไม่จำเป็นต้องมาจากประชากรสุ่ม สามารถใช้วิเคราะห์ข้อมูลที่คัดเลือกในรุ่นพ่อแม่ได้ ซึ่งจำเป็นต้องทราบความสัมพันธ์ระหว่างตัวสัตว์และค่าพื้นฐานทางพันธุกรรม เพื่อเป็นค่าเบื้องต้นในการคำนวณและมีข้อสมมติฐานว่าค่าสังเกตมีการกระจายแบบปกติ วิธีนี้จะเกิดอคติเนื่องจากต้องทราบอิทธิพลของปัจจัยคงที่ และไม่คำนึงถึงชั้นของความอิสระที่ต้องเสียไปเนื่องจากประมาณอิทธิพลของปัจจัยคงที่ในกรณีที่มีปัจจัยคงที่หลายระดับจะทำให้ค่าความแปรปรวนที่ประมาณได้น้อยกว่าความจริง และมีข้อดี คือ การประมาณถูกจำกัดให้อยู่ในพิสัยของค่าพื้นฐานทางพันธุกรรมที่เป็นค่าเบื้องต้น และค่าความแปรปรวนไม่สามารถมีค่าน้อยกว่าศูนย์ได้

#### ข. Restricted maximum likelihood

Restricted maximum likelihood หรือ REML เป็นวิธีที่พัฒนาโดย Patterson and Thompson (1971) ซึ่งได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากมีการปรับส่วนของ

ปัจจัยคงที่ออกไป และสามารถหลีกเลี่ยงอคติ (unbias) ที่จะเกิดขึ้นเนื่องจากอิทธิพลของปัจจัยคงที่ ใช้หลักการประมาณโดยมีข้อ กำหนดให้การแจกแจง (distribution) ของข้อมูลเป็นแบบ multivariate normal (Meyer et al., 1989) ด้วยฟังก์ชันความควรจะเป็นสูงสุด (maximum likelihood function) ซึ่งเป็นอิสระกับอิทธิพลคงที่ (Patterson and Thomson, 1971) ซึ่งวิธี REML ได้รับการพัฒนาให้เหมาะสำหรับ mixed model equation (MME) โดยเฉพาะในโมเดลตัว สัตว์ (animal model) ซึ่งมีความสัมพันธ์ของตัวสัตว์ (genetic relationship) ร่วมในการคำนวณ ด้วย (Meyer et al., 1989)

### 2.5.2 อัตราพันธุกรรม

ค่าอัตราพันธุกรรม ของลักษณะปริมาณ เป็น สัดส่วนของความแปรปรวน เนื่องจากอิทธิ พลของยีนแบบบวกสะสม ต่อความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ ซึ่งเรียกว่า ค่า อัตราพันธุกรรมอย่างแคบ (narrow sense heritability) เป็นค่าที่แสดงให้ทราบถึงความสำคัญ ของยีนต่อการแสดงออกของลักษณะนั้นๆ และความสามารถของยีนในการถ่ายทอดลักษณะจาก ชั่วหนึ่งไปสู่อีกชั่วหนึ่ง ซึ่งในโมเดลตัวสัตว์ สามารถคำนวณได้จากการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบ ของความแปรปรวน (Falconer and Mackay, 1996) สามารถเขียนแสดงในรูปสมการได้ดังนี้

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_e^2}$$

เมื่อ

$h^2$  = อัตราพันธุกรรมอย่างแคบ

$\sigma_a^2$  = ความแปรปรวนเนื่องจากยีนแบบบวกสะสม

$\sigma_e^2$  = ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะปริมาณ เป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของ พันธุกรรมที่มีต่อลักษณะการแสดงออกของสัตว์ในประชากรหนึ่ง เปรียบเทียบกับอิทธิพลของ สภาพแวดล้อม ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมจะเป็นค่าเฉพาะสำหรับประชากรหนึ่งๆ เท่านั้น ในทาง ทฤษฎีแล้วค่าอัตราพันธุกรรมจะมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 หรือ ค่าเป็นเปอร์เซ็นต์จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0-100 เปอร์เซ็นต์ โดยค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะใดๆ ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0-20 เปอร์เซ็นต์ จัด อยู่ในระดับต่ำ ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่มีค่าอยู่ระหว่าง 20-40 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับ ปานกลาง และค่าอัตราพันธุกรรมที่มากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับสูง (สมชัย, 2530; สม ชัยและพีระศักดิ์, 2527; Acker and Cunningham, 1991 และ Falconer and Mackay, 1996)

การประมาณประสิทธิภาพคุณค่าทางพันธุกรรมของโปรแกรมการคัดเลือก กพันธุ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทราบถึงค่าประมาณของอัตราพันธุกรรม ซึ่งเป็นค่าของความแปรปรวนที่ เกิดขึ้นจากพันธุกรรมที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกหลานได้เมื่อเปรียบเทียบกับความแปรปรวน รวมทั้งหมดของลักษณะภายนอก โดยใช้ประกอบการพิจารณาการตัดสินใจเลือกวิธีที่เหมาะสม ส ม สำหรับจัดทำแผนการผสมพันธุ์กุ้งกุลาดำว่าควรเป็นไปในแนวทางใด

จากการศึกษาพบรายงานการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมที่เกี่ยวกับลักษณะการ เจริญเติบโตของกุ้งกลุ่ม penaeid (ตารางที่ 2.1) ซึ่งค่าที่ได้อยู่ระหว่าง 0.10-0.77 และ 0.07-0.58 ตามลำดับ

ตารางที่ 2.2 ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการเจริญเติบโตของกุ้งในกลุ่ม penaeid

ชนิด	ลักษณะ	$h^2$	ระบบการผสมพันธุ์	อ้างอิง	หมายเหตุ
<i>Penaeus monodon</i>	TL	0.153±0.060	FS	เผติมศักดิ์ และคณะ (2543)	25 วัน
	TL	0.073±0.037	FS	เผติมศักดิ์ และคณะ (2543)	65 วัน
	WT	0.053±0.029	FS	เผติมศักดิ์ และคณะ (2543)	65 วัน
	TL	0.154±0.057	SP	ภาวิณี (2541)	25 วัน
	TL	0.010±0.014	SP	ภาวิณี (2541)	60 วัน
	TL	0.016±0.004	SP	ภาวิณี (2541)	65 วัน
	TL	0.584±0.099	SP	ภาวิณี (2541)	25-90 วัน
	TL	0.252±0.057	SP	ภาวิณี (2541)	25-90 วัน
	WT	0.414±0.081	SP	ภาวิณี (2541)	60 วัน
	WT	0.309±0.067	SP	ภาวิณี (2541)	90 วัน
	WT	0.1	HS	Benzie et al. (1997)	6 สัปดาห์
	WT	0.5-0.6	HS	Benzie et al. (1997)	6 สัปดาห์
	WT	0.10-0.39	-	Benzie et al. (1997)	HV
<i>Litopenaeus vannamei</i>	WT	0.77-0.80	-	Argue et al. (2002)	8-27 สัปดาห์
	WT	0.42±0.15	-	Carr et al. (1996)	HV
	-	0.50±0.13	HS	Fjalestad et al. (1997)	HV

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

ชนิด	ลักษณะ	$h^2$	ระบบการผสมพันธุ์	อ้างอิง	หมายเหตุ
<i>Litopenaeus vannamei</i>	-	0.45±0.10	FS	Fjalestad et al. (1997)	HV
	-	0-1	FS	Lester and Lawson (1990)	PL
	WT	0.17±0.06	-	Perez-Rostro and Ibarra (2003a)	HV
	WT	0.63±0.20	-	Perez-Rostro and Ibarra (2003b)	17-23 สัปดาห์
	WT	0.54±0.20	-	Perez-Rostro and Ibarra (2003b)	23-29 สัปดาห์
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	WT	0.277±0.083	REG	Hetzel et al. (1997)	PL185
	WT	0.298	REP	Hetzel et al. (1997)	PL185
	WT	0.16-0.31	-	Hetzel et al. (2000)	HV
<i>Litopenaeus stylirostris</i>	WT	0.47	-	Goyard et al. (2002)	HV
	-	0-1	FS	Lester (1988)	PL

หมายเหตุ :

FS = Full-sib; HS = Half-sib; REP = Repeatability; REG=Regression; SP = Single pair

WT = น้ำหนักโดยรวม; TL = ความยาวโดยรวม; PL = โพลลวาว; HV = ขนาดที่ตลาดต้องการ

### 2.5.3 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ

ค่าสหสัมพันธ์ เป็นค่าที่บอกถึงความสัมพันธ์ร่วมระหว่างลักษณะสองลักษณะ ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม คือ ความสัมพันธ์ร่วมทางพันธุกรรมซึ่งมีสาเหตุจากการที่ยีนตำแหน่งหนึ่งมีผลในการควบคุมลักษณะมากกว่าหนึ่งลักษณะ (pleiotropy) และจากการที่ยีนหรือกลุ่มของยีนที่ควบคุมลักษณะทั้งสองมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมเดียวกัน (linkage) เกิดแยกจากกันเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซม (crossing over) ความสัมพันธ์ร่วมระหว่างลักษณะ 2 ลักษณะ อาจเป็นแบบสนับสนุนซึ่งกันและกัน (synergistic effect) หรืออาจเป็นแบบตรงข้ามกัน (antagonistic effect) นอกเหนือจากสาเหตุทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะ 2 ลักษณะอาจเกิดเนื่องจากการที่สัตว์ได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมือนกัน ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทั้งสอง จึงวัดด้วยค่าสหสัมพันธ์ปรากฏ (phenotypic correlation) ซึ่งประกอบด้วย ความสัมพันธ์ร่วมที่มีสาเหตุมาจากพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม (สมชัย, 2530)

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเป็นความสัมพันธ์ ระหว่างลักษณะใดๆ สองลักษณะ อันสืบเนื่องมาจากพันธุกรรม คิดได้จากสัดส่วนระหว่างค่าความแปรปรวนร่วมระหว่างพันธุกรรม และผลคูณของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานทางพันธุกรรม ของลักษณะทั้งสองนั้น ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะใดๆ จะมีค่าอยู่ในช่วง -1 ถึง +1 ค่าสหสัมพันธ์แบบสนับสนุนซึ่งกันและกัน หรือค่าสหสัมพันธ์เชิงบวก หมายถึง การคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะหนึ่งจะมีผลทำให้อีกลักษณะหนึ่งเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน ส่วนค่าสหสัมพันธ์แบบตรงข้ามกันหรือค่าสหสัมพันธ์เชิงลบ หมายถึง การคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะหนึ่งจะมีผลทำให้ อีกลักษณะหนึ่งเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางตรงข้ามกัน และสุดท้ายถ้าค่าสหสัมพันธ์ มีค่าเท่ากับ 0 หรือเข้าใกล้ 0 แสดงว่าลักษณะทั้งสองไม่มีความสัมพันธ์ต่อกัน (สมชัย, 2530)

การวัดค่าสหสัมพันธ์ทั้งสองแบบนี้จำเป็นต้องวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วม (Analysis of Variance and Covariance) ของสองลักษณะพร้อมกัน ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม สหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏและสหสัมพันธ์ของสิ่งแวดล้อม สามารถเขียนแสดงในรูปสมการได้ดังนี้ (Becker, 1985)

ก. ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic correlation)

$$r_{GG} = \frac{COV_{G(XY)}}{\sqrt{\sigma_{G(X)}^2 \cdot \sigma_{G(Y)}^2}}$$

ข. ค่าสหสัมพันธ์ปรากฏ (phenotypic correlation)

$$r_{PP} = \frac{COV_{P(XY)}}{\sqrt{\sigma_{P(X)}^2 \cdot \sigma_{P(Y)}^2}}$$

เมื่อ

$r_{GG}$	=	ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม
$COV_{G(XY)}$	=	ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะ X และ Y
$\sigma_{G(X)}^2$	=	ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะ X
$\sigma_{G(Y)}^2$	=	ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะ Y
$r_{PP}$	=	ค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ
$COV_{P(XY)}$	=	ความแปรปรวนร่วมของลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะ X และ Y
$\sigma_{P(X)}^2$	=	ความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ
$\sigma_{P(Y)}^2$	=	ความแปรปรวนของลักษณะปรากฏ

การคัดเลือกเพื่อปรับปรุงพันธุ์สัตว์โดยทั่วไปมักเป็นการปรับปรุงมากว่าหนึ่งลักษณะ ฉะนั้นการหาค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะต่างๆ จึงเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ เพราะจะได้ทราบว่าหากเน้นปรับปรุงลักษณะหนึ่งจะมีผลทางอ้อมต่อลักษณะอื่นอย่างไร

## 2.6 การประเมินพันธุกรรม

### 2.6.1 ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมระหว่างเครือญาติ

สิ่งสำคัญพื้นฐานในการประมาณค่าการผสมพันธุ์ คือ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสัตว์ (genetic covariance between relatives) ต้องทราบความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมระหว่างสัตว์ เพื่อนำไปสร้างเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรม การประเมินพันธุกรรมโดยใช้วิธีการ Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) เกี่ยวข้องอย่างมากกับความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรม เพื่อให้การประมาณมีความแม่นยำสูง รวมทั้งผลลัพธ์ที่ได้ไม่มีความลำเอียง ซึ่งความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมระหว่างสัตว์ประกอบด้วยองค์ประกอบ 3 ส่วน ได้แก่ ความแปรปรวนทางพันธุกรรมแบบบวกสะสม ความแปรปรวนจากการข้ามของยีนตำแหน่งเดียวกัน และความแปรปรวนเนื่องจากการข้ามของยีนต่างตำแหน่ง

#### ก. เมทริกซ์ความสัมพันธ์ทางเครือญาติ

การมีบรรพบุรุษร่วม (coancestry) หรือ สัมประสิทธิ์ของ Kinship (Falconer, 1989) หมายถึง ความน่าจะเป็นที่สัตว์ 2 ตัว จะมียีนเหมือนกันโดยการถ่ายทอด ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแบบบวกสะสมระหว่างสัตว์สองตัวจะเป็น 2 เท่า ของบรรพบุรุษ

เมทริกซ์ที่ระบุถึงความสัมพันธ์ระหว่างสัตว์ เรียกว่า Numerator relation matrix ( $\mathbf{A}$ ) มีลักษณะสมมาตรและสมาชิกที่อยู่ตามเส้นทแยงมุมของสัตว์ตัวที่  $i$  ( $a_{ii}$ ) เท่ากับ  $1+F_i$  เมื่อ  $F_i$  คือ สัมประสิทธิ์เลือดชิดของสัตว์ตัวที่  $i$  (Wright, 1922) สมาชิกตามเส้นทแยงมุมแสดงเป็นสองเท่าของความน่าจะเป็นที่สองเซลล์พันธุเกิดขึ้นแบบสุ่มจากสัตว์ตัวที่  $i$  จะมีอัลลีลเหมือนกันโดยการถ่ายทอด สมาชิกที่อยู่นอกเส้นทแยงมุม ( $a_{ij}$ ) เท่ากับ ตัวเลข (numerator) สัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ระหว่างสัตว์ตัวที่  $i$  และ  $j$  (Wright, 1922) เมื่อคูณด้วยความแปรปรวนจากพันธุกรรมแบบบวกสะสม ( $\sigma_a^2$ ) จะได้  $\mathbf{A}\sigma_a^2$  เป็นความแปรปรวนร่วมระหว่างค่าการผสมพันธุ์

#### ข. การแยกส่วนประกอบเมทริกซ์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การสร้างกฎการคำนวณเมทริกซ์ส่วนกลับ ( $\mathbf{A}^{-1}$ ) ของเมทริกซ์  $\mathbf{A}$  สมาชิกที่ไม่เป็นศูนย์ของเมทริกซ์  $\mathbf{T}$  เท่ากับ  $t_{ij}$  หมายถึง สัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่างสัตว์ตัวที่  $i$  และ  $j$  ถ้า  $i$  และ  $j$  มีความสัมพันธ์โดยตรง ( $i=j$ ) และสัตว์ดังกล่าวต้องไม่มีเลือดชิด ดังนั้นเมทริกซ์  $\mathbf{T}$  จึงเป็นการแสดงถึงผลของการถ่ายทอดพันธุกรรมจากชั่วรุ่นหนึ่งไปยังอีกชั่วรุ่นหนึ่ง หรือ ในอีก

ความหมายหนึ่งเป็นความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างพ่อแม่และลูก เมทริกซ์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Thompson, 1977) สามารถเขียนแสดงในรูปสมการได้ดังนี้

$$\mathbf{A} = \mathbf{TDT}'$$

เมื่อ

$\mathbf{T}$  = เมทริกซ์ได้เส้นทแยงมุม

$\mathbf{D}$  = เมทริกซ์แนวเส้นทแยงมุม

### ค. การคำนวณเมทริกซ์ส่วนกลับของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การประมาณค่าการผสมพันธุ์ของสัตว์ ต้องใช้เมทริกซ์ส่วนกลับของความสัมพัน์ทางพันธุกรรม ( $\mathbf{A}^{-1}$ ) ซึ่งคำนวณได้จากการสร้างเมทริกซ์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ( $\mathbf{A}$ ) โดยวิธี recursive และทำการหาส่วนกลับของเมทริกซ์นั้น

Henderson (1976) ได้นำวิธีที่ง่ายและสะดวกมาใช้ในการคำนวณหาเมทริกซ์  $\mathbf{A}^{-1}$  โดยไม่ต้องสร้างเมทริกซ์  $\mathbf{A}$  สามารถเขียนแสดงในรูปสมการได้ดังนี้

$$\mathbf{A}^{-1} = (\mathbf{T}^{-1})\mathbf{D}^{-1}\mathbf{T}^{-1}$$

เมื่อ

$\mathbf{D}^{-1}$  = เมทริกซ์ตามแนวเส้นทแยงมุม

$\mathbf{T}^{-1}$  = เมทริกซ์ได้เส้นทแยงมุม (lower triangular matrix)

## 2.6.2 การประมาณคุณค่าของการผสมพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์สิ่งที่ต้องคำนึงถึง คือ การคัดเลือกสัตว์ที่มีความสามารถทางพันธุกรรมสูงเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ใน การผลิตลูกตัวต่อไป แต่การคัดเลือกสัตว์เพื่อนำไปเป็นตัวแทนของประชากรทั้งหมดนั้นจะใช้วิธีคัดเลือกจากลักษณะที่ปรากฏ ให้เห็นภายนอกเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ดังนั้นสัตว์ที่ได้รับการคัดเลือกจึงอาจจะมีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมเข้ามามีส่วนร่วมด้วย เนื่องจากดูจากลักษณะภายนอกไม่สามารถชี้วัดได้ว่า สัตว์ตัวนั้นมีความสามารถทางพันธุกรรมที่ดี เพราะลักษณะที่ปรากฏให้เห็นภายนอกเป็นผลของความสามารถทางพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม ซึ่งความสามารถทางพันธุกรรมเป็นปัจจัยที่จะถ่ายทอดจากตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ แต่สำหรับสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยที่ไม่สามารถจะถ่ายทอดได้ และเป็นปัจจัยที่อาจบดบังความสามารถที่แท้จริงทางพันธุกรรมของสัตว์ (สมชัย, 2530) ดังนั้นจำเป็นต้องใช้ข้อมูลจากลักษณะปรากฏที่สังเกตได้ ในการทำนายค่าการผสมพันธุ์ของสัตว์ในประชากรนั้น

การประมาณคุณค่าการผสมพันธุ์ (Estimated Breeding Value; EBV) สามารถคำนวณได้จากสมรรถภาพการผลิตของลักษณะต่างๆ หรือ การคำนวณจากบันทึกต่างๆ เช่น จากบันทึกของตัวสัตว์ บันทึกของ บันทึกพันธุ์ประวัติ และบันทึกของญาติพี่น้อง การคำนวณค่าความสามารถทางพันธุกรรมส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นการหาอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม หรือ ค่าการผสมพันธุ์ ซึ่งวิธีการทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์ที่ให้ผลถูกต้องแม่นยำและเป็นที่ยอมรับใช้กัน คือ Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) (Henderson, 1984) เนื่องจากให้ค่าที่ไร้อคติและมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงกับค่าทำนายสูงสุด ทำให้สามารถจัดลำดับสัตว์ ได้ตามความดีเด่นของลักษณะทางพันธุกรรม

Harrington (1995) ได้ให้คำจำกัดความของ BLUP ว่า เป็นเทคนิคทางคณิตศาสตร์และสถิติที่ใช้ในการทำนายความสามารถทางพันธุกรรมของสัตว์ในลักษณะที่สำคัญ โดยผ่านตัวแบบผสม (mixed model) ที่เรียกว่า animal model ซึ่งเทคนิคนี้จะใช้ค่าสังเกตจากลักษณะปรากฏหรือข้อมูลสมรรถภาพการผลิตที่บันทึกไว้ร่วมกับบันทึกของญาติพี่น้องที่มีทั้งหมด (รวมถึงญาติพี่น้องที่นอกเหนือไปจากแบบ full-sib และ half-sib) มาร่วมในการทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์ด้วย

Jeyaruban et al. (1995) รายงานว่า เมื่อใช้ BLUP ในการทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์จะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ดัชนีการคัดเลือก (selection index) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำมากๆ นอกจากนี้ BLUP ยังสามารถให้ค่าทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์ของสัตว์ที่ไม่มีบันทึกแต่มีความสัมพันธ์ทางญาติกับสัตว์ที่มีบันทึกได้ (Kennedy, 1980; Wood et al., 1991 และ Mrode, 1996) ซึ่งวิธีการทางสถิติของ BLUP ที่ใช้ในการทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์โดยมีคุณสมบัติเป็นตัวทำนายที่ดีที่สุดแบบเชิงเส้นที่ไร้อคติมีลักษณะดังต่อไปนี้

Best	คือ	เป็นตัวประมาณค่าที่ดีที่สุด เนื่องจากค่าสหสัมพันธ์ระหว่างคุณค่าการผสมพันธุ์ที่แท้จริง (true breeding value) กับ คุณค่าการผสมพันธุ์ที่ได้จากการทำนาย (predicted breeding value) มีค่าสูงสุดและทำให้ค่าความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนของการทำนาย (prediction error variance) มีค่าต่ำที่สุด
Linear	คือ	ตัวทำนายค่ากับค่าสังเกตมีความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรง
Unbiased	คือ	ค่าทำนายคุณค่าผสมพันธุ์เท่ากับคุณค่าผสมพันธุ์จริง ซึ่งเป็นตัวทำนายค่าที่ไร้อคติ
Prediction	คือ	การสร้างตัวทำนายค่าของอิทธิพลสุ่ม

การทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์ของสัตว์ในประชากร มีประโยชน์ในกระบวนการคัดเลือกเพื่อหาและคัดเลือกสัตว์ที่มีค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะที่ต้องการสูงไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์ เพื่อกระจายยีนที่ดีออกไปสู่ลูกหลานต่อไป เพื่อให้เกิดความก้าวหน้าทางพันธุกรรมมากที่สุด ดังนั้นการทำนายคุณค่าการผสมพันธุ์ด้วยวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง จะทำให้ได้ผลการทำนายที่ถูกต้องและแม่นยำ ซึ่งจะช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์บรรลุมิติวัตถุประสงค์อย่างรวดเร็ว

## 2.7 เครื่องหมายพันธุกรรม

เครื่องหมายพันธุกรรม (genetic marker) หมายถึง เครื่องหมายที่ใช้ในการตรวจจำแนกขนาด และความแตกต่างระหว่างจีโนม บอกระบบตำแหน่งของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต่างๆ บนจีโนม (Croijmans et al., 1996b) และยังเป็นเครื่องหมายที่ใช้ในการทำแผนผังของยีนบนโครโมโซม ด้วย รวมทั้งช่วยให้ติดตามข้อมูลการถ่ายทอดพันธุกรรม ซึ่งการทำแผนผังยีนจำเป็นอย่างมากที่จะต้องหาตัวเครื่องหมายให้มากเพียงพอ ที่จะครอบคลุมพื้นที่บนโครโมโซมทุกเส้นในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (สมวงษ์, 2536) การติดตามการถ่ายทอดพันธุกรรมสามารถแบ่งวิธีการกว้างๆ ได้ 3 ชนิด (Liu, 1998) คือ

### 2.7.1 เครื่องหมายทางลักษณะแสดงออก (phenotypic marker)

เครื่องหมายทางลักษณะแสดงออก คือ การดูลักษณะต่างๆ ภายนอกที่สัตว์มีการแสดงออก วิธีนี้ถือว่าเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด ลักษณะที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจมักได้รับอิทธิพลจากยีนหลายคู่ ที่เรียกว่า ลักษณะปริมาณ ซึ่งสิ่งแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างสูงต่อลักษณะปรากฏในการประเมินค่าการผสมพันธุ์ (EBV) เป็นการประเมินอิทธิพลของยีนแบบบวกลบผสม ซึ่งเป็นอิทธิพลของยีนที่สามารถตอบสนองต่อการคัดเลือก และสามารถถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานได้ ดังนั้นการประเมินค่าการผสมพันธุ์ จึงเป็นปัจจัยสำคัญยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจคัดเลือกสัตว์ที่มีพันธุกรรมดีเยี่ยมเพื่อผลิตลูกที่มีคุณภาพ และคัดเลือกในสัตว์ที่มีคุณภาพต่ำให้ผลตอบแทนไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

### 2.7.2 เครื่องหมายทางชีวเคมี (biochemical markers)

เครื่องหมายทางชีวเคมี คือ การดูลักษณะต่างๆ ที่เกิดขึ้นเกี่ยวกับปฏิกิริยาทางชีวเคมี เช่น การวิเคราะห์ฮีโอไซไซม์ และอัลโลไซม์ ปัจจุบันวิธีการนี้ได้รับความนิยมน้อยมาก เนื่องจากวิธีการมีข้อจำกัด คือ มีความหลากหลายน้อยมาก

### 2.7.3 เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ เป็นวิธีการใหม่ที่ให้ผลที่แม่นยำกว่าวิธีอื่นๆ ในเชิงประยุกต์แล้ว ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์เครื่องหมายดีเอ็นเอ มีข้อดีกว่าการตรวจสอบโปรตีน เนื่องจากโมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียรกว่า จึงเก็บไว้ได้นาน สามารถวิเคราะห์จากตัวอย่างที่ถูกเก็บไว้เป็นเวลายาวนานได้และเนื่องจากดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในเซลล์เกือบทุกเซลล์ในปริมาณ

เท่ากัน จึงสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อใดๆ ระยะการเจริญเติบโต หรือ สภาพทาง สรีรวิทยาได้ก็ได้โดยไม่ขึ้นกับสิ่งแวดล้อม และตรวจสอบดีเอ็นเอจากส่วนที่เป็นยีนหรือไม่ใช่ยีนก็ได้ จะมีการแสดงออกหรือไม่ก็ได้ จึงตรวจสอบได้โดยไม่จำกัดครอบคลุมทั้งยีนอม ประกอบกับมีวิธี ตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่างๆ ให้เลือกมากมาย ทำให้การใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายทำได้อย่างกว้างขวาง

การนำเครื่องหมายดีเอ็นเอต่างๆ มาประยุกต์ใช้นั้น จำเป็นต้องพิจารณาตาม คุณสมบัติของเครื่องหมายแต่ละชนิด และศึกษาถึงประโยชน์และข้อจำกัดของเครื่องหมาย เหล่านั้น เพื่อให้การคัดเลือกเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ จากรายงานการวิจัยทางสัตว์น้ำสามารถ สรุปคุณสมบัติของเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดต่างๆ ได้ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 การเปรียบเทียบคุณสมบัติของเครื่องหมายดีเอ็นเอกับการประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์และการประมง

ประสิทธิภาพ	RFLP	Microsatellite	RAPD	AFLP
การวิเคราะห์พันธุประวัติ	+	+++	+	+
ความแตกต่างของประชากร	+++	+++	++	++
ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	++	+	++	++
ยืนควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ	-	++	+++	+++
ค่าใช้จ่าย	M	H	M	H
ตัวอย่าง	M	L	L	L
ข่มร่วม หรือ ข่มสมบูรณ	V	C	D	D
เป็นกลาง	V	Y	V	V

**หมายเหตุ:**

H = สูง; M = ปานกลาง; L = ต่ำ; V = แปรผันได้; D = ข่มสมบูรณ; C = ข่มร่วม; Y = ใช่; N = ไม่ใช่

+++ = เหมาะสมมาก; ++ = เหมาะสม; + = มีข้อจำกัด; - = ไม่เหมาะสม

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Beaumont and Hoare (2003)

## 2.8 เครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์กับการศึกษาพันธุกรรมของ กุ้งกุลาดำ

ปัจจุบันความรู้ทางด้านจีโนมเริ่มเข้ามามีบทบาทเป็นอย่างมากในการศึกษาสิ่งมีชีวิตเพื่อแก้ปัญหาต่างๆ ทางด้านพันธุกรรม แต่การศึกษาจีโนมของกุ้งทำได้ไม่ถนัดนักเพราะกุ้งมีจีโนมที่ใหญ่มากถึง 70 เพอร์เซ็นต์ ของจีโนมมนุษย์ หรือ ประมาณ 2,000 ล้านคู่เบส (bp) เครื่องหมายดีเอ็นเอ ที่ได้มีการพัฒนาและใช้ในการศึกษาพันธุกรรมกุ้งในกลุ่ม Penaeids ได้แก่ อัลโลไซม์ และ RFLP ของ expressed genes (ESTs) RAPD AFLP มินิแซทเทลไลท์ และไมโครแซทเทลไลท์ (Garcia et al., 1994, 1996; Garcia and Alcivar-Warren, 1996; Bagshaw and Buckholt, 1997; Dhare and Alcivar-Warren, 1997; Pongsomboon et al., 1997; Tassanakajorn et al., 1997, 1998a, 1998b; Wolfus et al., 1997; Moore et al., 1999; Supungul et al., 2000 และ Wuthisuthimethavee et al., 2003)

ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ หมายถึง ส่วนของดีเอ็นเอที่มี การเรียงตัวของลำดับเบสซ้ำ จำนวน 1-6 นิวคลีโอไทด์ มีจำนวนซ้ำตั้งแต่ 2 ซ้ำขึ้นไป ไม่เกิน 100 ซ้ำ และแต่ละชุดซ้ำเรียงต่อกัน อยู่ในทิศทางเดียวกันตลอด (tandem repeat) พบกระจายทั่วไปในจีโนม และมีความแปรปรวนในระดับสูง สามารถแบ่งได้ตามจำนวนซ้ำ (repeat) มี 3 แบบคือ Perfect repeat เป็น ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ที่มีชุดซ้ำเพียงแบบเดียวติดต่อกัน เช่น (CT)<sub>20</sub>, (GAT)<sub>20</sub> ถ้ามีเบสอื่นแทรกอยู่ภายในทำให้ไม่มีลักษณะเป็นชุดซ้ำ เรียกว่า Imperfect repeat เช่น (CT)<sub>20</sub>AG(CT)<sub>25</sub> และชุดซ้ำเป็นไมโครแซทเทลไลท์ที่ประกอบด้วยชุดซ้ำที่มากกว่า 1 ชุดติดต่อกัน (compound repeat) เช่น (CT)<sub>20</sub>(GA)<sub>20</sub>(CAG)<sub>20</sub>(AG)<sub>20</sub> เป็นต้น (Goldstein, 2001)

ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีลำดับเบสซ้ำนี้แตกต่างกัน คาดว่าเกิดจากการเพิ่มขึ้นของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และเนื่องจาก ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ มีลักษณะเป็นลำดับเบสซ้ำนี้เอง จึงมีชื่อเรียกว่า Simple Sequence Repeat (SSR) Short Tandem Repeat (STR) Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) และ Sequence Tagged Microsatellite Site (STMS) โดยสามารถจำแนกความสามารถของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ได้ดังนี้

### 2.8.1 ข้อดีของเครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์

ก. เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่แสดงระดับความหลากหลายค่อนข้างสูง เนื่องจากพบความแปรปรวนของ อัลลีล สูง และแสดงให้เห็นสภาพข่มร่วมกันของยีน จึงสามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างของสัตว์ที่เป็นโฮโมไซโกต หรือ เฮเทอโรไซโกตได้ เพราะปกติสัตว์จะมีโครโมโซม 2 ชุด ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันจึงมี 2 ชุด ซึ่งอาจเหมือนกัน หรือ แตกต่างกัน

ข. สามารถทำได้ง่าย โดยใช้เทคนิค พีซีอาร์ ซึ่งต้องการปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นเพียงเล็กน้อย

ค. พบกระจายทั่วจีโนม ทั้งระหว่างยีนและภายในยีน (Ron et al., 1996) ซึ่งทำให้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ทางพันธุกรรม

ง. เป็นไพรเมอร์ ที่จำเพาะในแต่ ละตำแหน่งของ ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ จึงสามารถใช้ได้โดยทั่วไปเพียงแค่มียาลำดับเบสของไพรเมอร์

จ. เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง ในการประยุกต์ใช้ เพื่อตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรม ได้แก่ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ โครงสร้างประชากร การทำแผนที่ ยีน ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ การทำโคลนนิ่ง รวมถึงการตรวจสอบความสัมพันธ์ ของการเป็นพ่อแม่และลูก เป็นต้น (ประจวบ และคณะ, 2543; สุวิทย์, 2546 และ Glowatzki-Mullis et al., 1995)

### 2.8.2 ข้อด้อยของเครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์

ก. ค่าใช้จ่ายสูงในการพัฒนาโดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่ยังไม่เคยมีข้อมูลลำดับเบสใน GENBANK

ข. วิเคราะห์ผลยาก ถ้าต้องการรู้ขนาดอัลลีลที่แน่นอน เนื่องจากการเกิด "stutter band" และถ้าตำแหน่งใดมีเบสซ้ำ 4 เบส จะไม่พบกระจายทั่วจีโนม แต่จะกระจุกอยู่บริเวณเซนโทรเมียร์ หรือ เทโลเมียร์

จากการศึกษา พบว่ามีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาพันธุกรรมของกิ้งกูดดำ ซึ่ง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ครอบคลุมทั้งจุดดีของเทคนิคพีซีอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 เครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์กับงานทางพันธุกรรมของกิ้งกูดำ

การศึกษา	อ้างอิง
ติดฉลากตัวกิ้งและคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์	- ชวนชม (2541) - สุวิทย์ (2546)
ศึกษาจีโนมของกิ้งกูดำ	- อมรรัตน์ (2539) - เชิดศักดิ์ (2547) - Wuthisuthimethavee et al. (2003)
การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม	- อัญชลี (2540) - Soot-Anan (1999) - Supungul (2000) - Tassanakajon et al. (1998a)
การตรวจสอบความเป็นพ่อแม่ลูก	- ประจวบ และคณะ (2543) - Glowatzki-Mullis et al., (1995)

การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ มาใช้เป็นเครื่องมือในการการปรับปรุงพันธุ์กิ้งกูดำ โดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก เนื่องจากได้พิจารณาแล้วว่าวิธีการของเครื่องหมายดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ เหมาะสมกับการศึกษาจีโนมของกิ้งกูดำ ซึ่งมีประโยชน์โดยตรงต่อการเลี้ยงกิ้งกูดำของประเทศไทย เพื่อให้ได้พ่อแม่พันธุ์ดี ผลิตลูกเลี้ยงง่าย โตเร็ว ต้านทานโรค ปรับปรุงพันธุ์ป่าให้เป็นพันธุ์เลี้ยง และการนำองค์ความรู้ใหม่ด้าน การพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายมาใช้เชิงธุรกิจ

## 2.9 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์

เครื่องหมายดีเอ็นเอ หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือ ในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ในตำแหน่งหนึ่งๆ บนโครโมโซม หรือ ดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ เช่น ไมโทคอนเดรีย หรือ คลอโรพลาสต์ การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้ เนื่องจากเกิดความแปรปรวน (variation) ของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือ เกิดความหลากหลายของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนั่นเอง วิธีตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเออาจทำได้โดยใช้วิธี ไฮบริไดเซชัน (hybridization) หรือ วิธีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์เป็นหลัก (สุรินทร์, 2545)

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่นำมาใช้ประโยชน์ในทางปรับปรุงพันธุ์จะต้องมีความหลากหลายสูง (Cheng, 1997) นอกจากนี้ยังสามารถติดตามการถ่ายทอด ตำแหน่งที่มีถิ่นสำคัญในเชิงเศรษฐกิจของสัตว์ในระหว่างการคัดและผสมปรับปรุงพันธุ์ได้ดีกว่า (มนต์ชัย, 2552) เทคนิคที่ว่านี้ ได้แก่การสร้างแผนที่ยีน

ปัจจุบันนักปรับปรุงพันธุ์ได้ให้ความสนใจในการคัดเลือกสัตว์โดยวิธี Marker-Assisted Selection; MAS (IGAG/FAO, 2003) หรือ Marker-Assisted introgression (Hillel et al., 1990) โดย MAS จะถูกนำมาใช้สำหรับหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ กับลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (QTL; Crooijmans et al., 1996a) ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการที่มีความแม่นยำในการคัดเลือกสูง เนื่องจากการคัดเลือกสัตว์จากข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์ที่แท้จริงของสัตว์

การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธี Marker-Assisted Selection (MAS) มีเป้าหมายหลัก เพื่อ (1) ใช้ปรับปรุงลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมต่ำ (2) ตรวจสอบลักษณะที่ทางพันธุกรรมได้ตั้งแต่สัตว์อายุน้อย ไม่ต้องรอจนสัตว์แสดงลักษณะที่ทำการศึกษ ออกมาทำให้สามารถทำการคัดเลือกสัตว์ได้เร็วขึ้น (3) ใช้คัดเลือกสัตว์ได้เร็ว โดยเฉพาะสัตว์ที่มี ช่วงอายุยาว (4.) สามารถใช้ปรับปรุงลักษณะที่ถูกจำกัดด้วยเพศ และ (5) ใช้ปรับปรุงลักษณะที่ตรวจวัดได้ยากและมีค่าใช้จ่ายสูง

เครื่องหมายที่ใช้ในการคัดเลือกสัตว์ด้วย ด้วยวิธี Marker-Assisted Selection แบ่งออกเป็น 2 ชนิด (ศรีนวล, 2553) คือ

### 2.9.1 เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำแนกส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีน

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำแนกส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีน หรือ direct MAS; dMAS หรือ functional MAS; fMAS คือ เครื่องหมายหรือชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เป็นยีน หรือเป็นส่วนหนึ่งของยีนที่มีอิทธิพลต่อการแสดงลักษณะนั้นๆ

### 2.9.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้กับยีน

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้กับยีนที่ต้องการช่วยในการคัดเลือก หรือ linked marker หรือ indirect MAS; iMAS หรือ flanking marker คือ เครื่องหมายที่มีตำแหน่งใกล้เคียงกับยีนที่ควบคุมลักษณะ โดยสามารถแบ่งย่อยได้อีก 2 ชนิด คือ

- Linkage disequilibrium marker เป็นเครื่องหมายที่มีตำแหน่งที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนที่เกิด functional mutation ประมาณ 1-5 เซนติมอร์แกน
- Linkage equilibrium marker เป็นเครื่องหมายที่มีตำแหน่งที่อยู่ห่างจากยีนที่เกิด functional mutation ประมาณ 15-50 เซนติมอร์แกน

งานวิจัยเกี่ยวกับการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล และรูปแบบที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกสัตว์ที่มีลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจทางสัตว์น้ำมีน้อยมาก โดยเฉพาะในกุ่มกลุ่ม Penaeids ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่มักจะมีรายงานในสัตว์บก ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 การใช้ประโยชน์ของเครื่องหมายดีเอ็นเอในการคัดเลือกสัตว์ (MAS) ที่มีลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ

ลักษณะ	ยีน	เครื่องหมายดีเอ็นเอ	ชนิดสัตว์	อ้างอิง
การเจริญเติบโต (growth)	MYF5, IGFI	RFLP	โคเนื้อ	Li et al. (2002b)
	QTL	ไมโครแซทเทลไลท์	โคเนื้อ	Li et al. (2004)
ความสมบูรณ์พันธุ์ (fertility)	Leptin	RFLP	โคเนื้อ	กัลยา และคณะ (2548)
	MTNRIA	RFLP	แกะ	Notter et al.(2003)
	QTL	ไมโครแซทเทลไลท์	โคนม	Ashwell et al. (2004)
	PGR	SNP	โคนม	Driver et al (2009)
ขนาดครอก (fecundity)	BMPR-IB	RFLP	แกะ	Chu et al. (2007)
	ESR, PRLR, RBP4	RFLP	สุกร	Drogemuller et al. (2001)

**หมายเหตุ:**

MYF5 = bovine myogenic factor5; IGFI = insulin-like growth factor-1; MTNRIA = melatonin receptor 1A; PGR = progesterone receptor; BMPR-IB = the bone morphogenetic receptor IB; ESR = estrogen receptor; PRLR = the receptor; RBP4 = retinol-binding protein 4  
ที่มา: ดัดแปลงมาจาก ศรีนวล (2553)

## 2.9 การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก

จากองค์ความรู้ทางชีวโมเลกุล ทำให้ทราบว่าสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันจะมี จีโนมที่แตกต่างกัน และภายในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันก็จะมีการจัดเรียงลำดับเบสแตกต่างกันออกไป ด้วยเหตุนี้ ปัจจุบันจึงมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดต่างๆ มาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มากขึ้น

Cheng (1997) กล่าวว่า ลักษณะต่างๆ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจนั้น ล้วนแล้วแต่ถูกควบคุมด้วยยีนแทบทั้งสิ้น ดังนั้นหลักการของ MAS คือ การศึกษารูปแบบจีโนไทป์ หรือ รูปแบบอัลลีล ของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นำมาศึกษา จากนั้นทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ได้กับลักษณะที่สนใจ ซึ่งหากผลการวิเคราะห์พบว่า รูปแบบของเครื่องหมายโมเลกุลนั้นมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อลักษณะที่ทำการศึกษา ก็สามารถยืนยันได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลนั้นสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกได้

ปัจจุบันวิธีการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับลักษณะที่ทำการศึกษา มักใช้วิธีการ วิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก (ปรัชญาพร, 2550; มนต์ชัย และคณะ, 2552 และ ศรีนวล, 2553) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีจุดประสงค์และแนวคิดคล้ายคลึงกับการวิเคราะห์การถดถอยปกติ และการวิเคราะห์จำ แนกประเภท ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระกับตัวแปรตามและ สร้างสมการการถดถอยไปประมาณหรือทำนายค่าตัวแปรตาม (กัลยา, 2551ก; 2551ข) แต่ก็มี ความแตกต่างกันในบางประเด็น เช่น การวิเคราะห์การถดถอยปกติมีตัวแปรอิสระและตัวแปรตามเป็นตัวแปรชนิดต่อเนื่อง แต่ตัวแปรอิสระและตัวแปรตามของการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกและการวิเคราะห์จำ แนกประเภทมีลักษณะแตกต่างออกไป คือ ตัวแปรอิสระเป็นตัวแปรชนิดต่อเนื่อง ส่วนตัวแปรตามเป็นตัวแปรแบ่งกลุ่ม แต่อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกไม่มีเงื่อนไขเกี่ยวกับการแจกแจงปกติหลายตัวแปรของตัวแปรอิสระ และเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมความแปรปรวนร่วมของแต่ละกลุ่มต้องเท่า ากัน (กัลยา, 2551ก; 2551 ข) ซึ่งเป็นเงื่อนไขที่สำคัญในการวิเคราะห์จำแนกประเภท (Hair et. al., 2006)

วัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม โดยสร้างสมการพยากรณ์โอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ที่สนใจจากตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม ซึ่งมีเงื่อนไขดังนี้ (1) ตัวแปรอิสระ เป็นตัวแปรต่อเนื่อง (2) ตัวแปรตาม เป็นตัวแปรเชิงกลุ่ม (3) ตัวแปรอิสระไม่มีความสัมพันธ์กันมากเกินไป (กัลยา, 2551ข)

หลักการของการวิเคราะห์ความถดถอยแบบพหุคูณตัวแปรตาม จะเป็นตัวแปรเชิงปริมาณ ในขณะที่ตัวแปรอิสระ จะเป็นตัวแปรเชิงปริมาณเพียงอย่างเดียว หรือ อาจมีตัวแปรบางตัวที่เป็นตัวแปรเชิงปริมาณและตัวแปรบางตัวเป็นตัวแปรเชิงกลุ่ม หรือ เชิงคุณภาพ แต่ถ้าตัวแปรตามเป็นตัวแปรเชิงกลุ่มจะต้องใช้เทคนิคการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก ซึ่งยังคงมีวัตถุประสงค์และแนวคิดเหมือนกับการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น คือ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามและตัวแปรอิสระและนำเสนอการที่ได้ไปประมาณหรือพยากรณ์ตัวแปรตามเมื่อกำหนดค่าตัวแปรอิสระ

ประเภทของการวิเคราะห์ขึ้นอยู่กับเกณฑ์ในการแบ่ง เช่น ถ้าใช้จำนวนตัวแปรอิสระเป็นเกณฑ์ในการแบ่งจะแบ่งได้ 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกอย่างง่าย (simple logistic regression analysis) และการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกเชิงพหุ (multiple logistic regression analysis) แต่ถ้าใช้จำนวนกลุ่มของตัวแปรตามเป็นเกณฑ์ในการแบ่งจะแบ่งได้ 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกแบบ 2 กลุ่ม (binary logistic regression analysis) และการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกแบบหลายกลุ่ม (multinomial logistic regression analysis)

การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกแบบสองค่า มีขั้นตอนดังนี้ (1) เลือกตัวแปรอิสระที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม (2) ตรวจสอบคุณสมบัติของตัวแปรอิสระแต่ละตัว (กัลยา, 2551ข) (3) สร้างสมการ logistic response function (4) ตรวจสอบความเหมาะสมของสมการโดยพิจารณาค่า Pseudo  $R^2$  (Nagelkerke  $R^2$ ) และค่า Wald statistics (Chatterjee and Hadi, 2006)