บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยงานทดลองจำนวน 2 งานทดลอง คือ งานทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาการกระจายตัวของอัลลีลและรูปแบบจีโนไทป์ ตลอดจนความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ งานทดลองที่ 2 เป็นการทดสอบอิทธิพลของจีโนไทป์ยีน *PRL* ต่อความสามารถการให้ผลผลิตไข่ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ และประกอบด้วยงาน 2 ระยะการทดลอง ประกอบด้วยการทดลองระยะที่ 1 เพื่อทำการตรวจหาความหลากหลายของยีน *PRL* ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์และหาความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL* ต่อการให้ผลผลิตไข่ ระยะที่ 2 เพื่อยืนยันผลจากการศึกษาในระยะที่ 1 ด้วยการทดลองเลี้ยงเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ที่ทราบจีโนไทป์และทำการตรวจสอบผลความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL* กับการให้ผลผลิตไข่แบบรายตัวในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ในสัตว์กลุ่มยืนยันผล

4.1 งานทดลองที่ 1: การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมยีน *PRL* ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

4.1.1 ทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำ PCR ของยีน prolactin

ผลการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *PRL* ทั้งหมด 5 โลกัส พบว่าจากการทดสอบเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยการทดสอบอุณหภูมิขั้นตอน annealing เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับไพรเมอร์เกาะติดกับดีเอ็นเอของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เพื่อสร้างสายดีเอ็นเอบริเวณที่มีความจำเพาะและมีประสิทธิภาพ ผลการทดสอบ พบว่า สามารถทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *PRL* ได้เพียง 4 ตำแหน่งเท่านั้น คือ โลกัส *PRL1, PRL3, PRL4* และ *PRL5* ส่วนยีน *PRL* โลกัส *PRL2* ไม่สามารถทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมกับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในครั้งนี้ได้เนื่องจากไพรเมอร์ที่นำมาใช้ในครั้งนี้ไม่มีความจำเพาะกับ DNA ตัวอย่าง จึงไม่ได้ผลผลิต *PRL* โลกัส *PRL2* ภายหลังจากกระบวนการ PCR เสร็จสิ้นสมบูรณ์ ผลของการปรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *PRL* ทั้ง 4 ตำแหน่ง แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มสิ้นส่วนดีเอ็นเอของทั้ง 4 ไพรเมอร์อยู่ในช่วง 56-60 ^{o}C โดยไพรเมอร์ *PRL1*และ *PRL5* อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 60 ^{o}C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงที่สุด *PRL3* อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 58 ^{o}C และ *PRL4* อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 56 ^{o}C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำที่สุด

ตารางที่ 4.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในสภาวะการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *PRL*

Primer name	Primer sequences (5'-3')	Tm (°C)
PRL-F1	AAATTCCCTCTCACAGTTACA	60
PRL-R1	GATGCAGAGACAAGTTTCACC	
PRL-F2	AATCGAATGACTATGCTTGCC	ไม่สามารถ
PRL-R2	TACTGAAGGGATTTTTATATG	ตรวจพบ
PRL-F3	CTTTTAGTGCTGACCATTGTT	58
PRL-R3	CCCTCCGCTCTATCTCACACT	
PRL-F4	AAATAAATTCCTAGATCTCTG	56
PRL-R4	TAACTGAATCTGAGAACTTTG	
PRL-F5	TGCAAACCATAAAAGAAAAGA	60
PRL-R5	CAATGAAAAGTGGCAAAGCAA	

หมายเหตุ Tm คือ อุณหภูมิช่วง annealing ของไพรเมอร์

4.1.2 ขนาดของชิ้นยีน *PRL* ในแต่ละโลกัส

หลังจากการเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *PRL* ตามไพรเมอร์ที่สามารถทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 หลังจากทำการตรวจสอบชิ้นส่วนยีน *PRL* ทั้ง 4 โลกัส ที่มีความจำเพาะและถูกต้องเมื่อทำการเปรียบเทียบกับ DNA ladder ขนาด 100 bp ได้ขนาดชิ้นยีนที่แตกต่างกันทั้ง 4 โลกัส ขนาดชิ้นยีน *PRL* ในโลกัส *PRL1, PRL3, PRL4* และ *PRL5* แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าขนาดของชิ้นยีนทั้ง 4 โลกัส มีขนาดใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 400-428 bp

ตารางที่ 4.2 ขนาดของยีน *PRL* ทั้ง 4 โลกัส

Locus	Amplicon size (bp)
PRL1	416
PRL3	402
PRL4	428
PRL5	400

4.1.3 เอ็นไซม์ตัดจำเพาะที่สามารถย่อยชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *PRL*

เมื่อได้ยีน *PRL* ทั้ง 4 โลกัส จึงทำการทดสอบหาเอ็นไซม์ตัดจำเพาะชิ้นส่วนยีน *PRL* เพื่อย่อยชิ้นยีน *PRL1, PRL3, PRL4* และ *PRL5* ด้วยการออกแบบเอ็นไซม์ตัดจำเพาะจากโปรแกรมสำเร็จรูป cutter 2.0 จากการนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล Genebank (AB158611) เข้าทดสอบหาเอ็นไซม์ตัดจำเพาะจากโปรแกรมสำเร็จรูป cutter 2.0 หลังจากการออกแบบเอ็นไซม์

ตัดจำเพาะเสร็จสมบูรณ์ พบเอ็นไซม์ที่มีความจำเพาะกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล Genebank (AB158611) จำนวน 2 โลกัส คือ ยีน *PRL* ในตำแหน่งโลกัส *PRL1* และ *PRL5* ดังนี้ คือ ยีน PRL โลกัส *PRL1* มีความจำเพาะต่อเอ็นไซม์ *XbaI* และยีนโลกัส *PRL5* มีความจำเพาะต่อเอ็นไซม์ *PstI* ดังนั้นนักวิจัยจึงได้ดำเนินการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* ในโลกัสที่สามารถตรวจพบเอ็นไซม์ที่มีความจำเพาะต่อดีเอ็นเอเท่านั้น (โลกัส *PRL1* และ *PRL5*) ในการย่อยชิ้นยีนทั้ง 2 โลกัส มีส่วนประกอบในปฏิกิริยาเอนไซม์ตัดจำเพาะของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* และ *PRL 5* ประกอบด้วย sterile H_2O, 10X Buffer, 100 BSA, restriction enzyme (*Xba I* และ *Pst I*) และ PCR product (ชิ้นยีนโลกัส *PRL1* และ *PRL5*) ซึ่งปริมาตรส่วนประกอบทั้งหมดที่เหมาะสมในแต่ละปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 4.3 ปริมาตรรวมในแต่ละปฏิกิริยา เท่ากับ 10 ไมโครลิตร

ตารางที่ 4.3 ส่วนประกอบในปฏิกิริยาเอนไซม์ตัดจำเพาะของชิ้นส่วน DNA ของยีน *PRL*

Reaction mixed	enzyme	
	Xba I (μl)	*Pst I* (μl)
Sterile H_2O	6.4	6.5
10X Buffer	1.0	1.0
100X BSA	0.1	-
Enzyme (10 unit/μl)	0.5	0.5
PCR product	2.0	2.0
Total mixed	10.0	10.0

หมายเหตุ *Xba I* (5' T$\bigtriangledown$CTAGA 3') จำแนกความแตกต่างของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C
PstI (5' CTGCA$\bigtriangledown$G 3') จำแนกความแตกต่างของยีน *PRL* โลกัส *PRL5* ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C

4.1.4 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL*

จากการทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP พบว่า สามารถค้นหาเอ็นไซม์ตัดจำเพาะต่อยีน *PRL* จำนวน 2 โลกัสเท่านั้น (เอ็นไซม์ *Xba I* มีความจำเพาะต่อยีนโลกัส *PRL1* และเอ็นไซม์ *Pst I* มีความจำเพาะต่อยีนโลกัส *PRL5*) ภายหลังจากการใช้เทคนิค PCR-RFLP ในการทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* พบว่ายีน *PRL* ในโลกัส *PRL1* เท่านั้นที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ดังนี้คือ ภายหลังจากการย่อยด้วยเอ็นไซม์ *Xba I* ตำแหน่งโลกัส *PRL1* พบจำนวนชิ้นยีนหลังการย่อยชิ้นดีเอ็นเอด้วยเอ็นไซม์ *Xba I* จำนวน 3 ชิ้นที่มีขนาดแตกต่างกัน ดังนี้คือ ขนาด 416, 354 และ 62 bp ตามลำดับ ส่วนการย่อยด้วยเอ็นไซม์ *Pst I* ตำแหน่งโลกัส *PRL5* ของตัวอย่างทั้งหมดพบจำนวนชิ้นยีนเพียง 1 ขนาด เท่านั้น มีขนาดชิ้นดีเอ็นเอ ขนาด 400 bp แสดงดังภาพที่ 4.1 จากผลการย่อยชิ้นยีนทั้ง 2 โลกัส ซึ่งไม่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* โลกัส *PRL5* จากนั้นคณะวิจัยทำการกำหนดจีโนไทป์ของยีน

PRL โลกัส *PRL1* จากขนาดของชิ้นยีนหลังจากการย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ Wang *et al.* (2011) กำหนดจีโนไทป์ ดังนี้ขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 416 bp และ 354 bp ถูกกำหนดให้เป็นอัลลีล G และ T ตามลำดับ ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* พบจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ ได้แก่ GG (416 bp), GT (416, 354 และ 62 bp) และ TT (354 และ 62 bp) แสดงดังภาพที่ 4.2

ภาพที่ 4.1 รูปแบบจีโนไทป์ CC ของยีน *PRL* โลกัส *PRL5* หลังย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *PstI*

ภาพที่ 4.2 รูปแบบจีโนไทป์ GG, GT และ TT ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* หลังจากย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Xba I*

หมายเหตุ M คือ Marker ladder ขนาด 100 bp

หลังจากการจำแนกจีโนไทป์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* จากการย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะแล้วจึงทำการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* ด้วยวิธี DNA sequencing อีกครั้ง เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมระดับนิวคลีโอไทด์

การตรวจสอบความหลากหลายระดับนิวคลีโอไทด์ด้วยการนำตัวอย่าง DNA ของสัตว์ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ที่แตกต่างกันทั้งหมด 3 จีโนไทป์ (GG, GT และTT) จีโนไทป์ละ 2 ตัวอย่าง

เพื่อนำมาตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* ของแต่ละรูปแบบจีโนไทป์ จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 3 รูปแบบจีโนไทป์มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล Genebank (AB158611) เพื่อตรวจสอบจุดกลายพันธุ์ของยีน *PRL* ในโลกัส *PRL1* พบตำแหน่งของจุดกลายพันธุ์ของยีน *PRL* ที่ใช้บ่งบอกความหลากหลายทางพันธุกรรมของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ที่ใช้ในการศึกษา การกลายพันธุ์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* แสดงไว้ทั้งหมด 5 ตำแหน่ง ดังตารางที่ 4.4 ผลดังกล่าวแสดงได้ว่ายีน *PRL* ของเป็ดไข่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก เนื่องจากพบจุดการกลายพันธุ์ทั้ง 5 ตำแหน่ง จากจุดการกลายพันธุ์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* พบว่าตำแหน่งที่ 359 bp คือ ตำแหน่งที่มีความจำเพาะต่อเอ็นไซม์ *Xba I* (5' T CTAGA 3')

ตารางที่ 4.4 จุดกลายพันธุ์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1*

Location	Mutation	Region	Restriction enzyme
55 bp	G → A	5' flanking region	no
191 bp	C → T	Intron 1	no
245 bp	G → A	Intron 1	no
287 bp	T → G	Intron 1	no
359 bp	C → A	Intron 1	*Xbal*

4.1.4 ความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของยีน *PRL* ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

จากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน *PRL1* พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอโลกัส *PRL1* ได้เพียง 48 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากดีเอ็นเอตัวอย่างอีกจำนวน 12 ตัวอย่าง ไม่จำเพาะต่อไพรเมอร์ที่นำมาใช้ทดสอบ ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน *PRL* ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ แสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ความถี่อัลลีล ความถี่จีโนไทป์ และค่า chi-square ของยีน *PRL* เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

Locus	Allele Frequency		Genotype Frequency			χ^2
	G	T	GG	GT	TT	
PRL1	0.74 (71)	0.26 (25)	0.56 (26)	0.37 (19)	0.07 (3)	2.05

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวสัตว์ที่พบอัลลีล และจีโนไทป์นั้นๆ

ผลการศึกษาพบว่าโลกัส *PRL1* มีการกระจายตัวของจีโนไทป์ทั้ง 3 รูปแบบ คือ รูปแบบจีโนไทป์ GG, GT และ TT โดยที่จำนวนของจีโนไทป์ TT ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ พบจำนวนน้อยมาก จากการคำนวณความถี่จีโนไทป์ GG, GT และ TT เท่ากับ 0.56, 0.37 และ 0.07 ตามลำดับ และคำนวณความถี่อัลลีล G และ T มีค่าเท่ากับ 0.74 และ 0.26 ตามลำดับ แสดงว่าอัลลีล G เป็นอัลลีลเด่นในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ในประชากรกลุ่มที่ใช้ศึกษา ผลจากการศึกษาดังกล่าวแตกต่างจากการศึกษาของ Wang *et. al* (2011) ซึ่งศึกษาความหลากหลายของยีน *PRL* ในเป็ดไข่พื้นเมืองของ

ประเทศจีนด้วยไพรเมอร์โลกัส *PRL 1* พบจำนวนจีโนไทป์ GG ต่ำมากแต่กลับพบจำนวนจีโนไทป์ TT สูง ความถี่ของจีโนไทป์ในยีนของแต่ละประชากรอาจมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอัลลีลพื้นฐานของแต่ละประชากรหรือการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการของแต่ละประชากรที่อาจส่งผลกระทบต่อความถี่อัลลีลได้ และอาจนำไปสู่การเกิด gene random drift ในประชากรนั้นๆ รวมถึงจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษามีจำนวนไม่มากพอที่จะตรวจพบอัลลีลที่มีความถี่ต่ำได้ การทดสอบสมดุลความถี่ยีนตามกฎของ Hardy-Weinberg ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่ายีน *PRL* ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg กล่าวคือ ไม่มีปัจจัยใดๆ มากระทบต่อความถี่ยีนของประชากรเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

4.2 งานทดลองที่ 2 การทดสอบอิทธิพลของจีโนไทป์ ยีน *PRL* ต่อความสามารถในการให้ผลผลิต

4.2.1 ผลผลิตไข่ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์อายุ 300 วัน

ผลการเก็บข้อมูลปริมาณไข่ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์แบบรายตัว ปรากฏผลการวิเคราะห์ข้อมูลเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์กลุ่มเป้าหมาย ทั้งหมด 48 ตัว ข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์เป็นข้อมูลจำนวนผลผลิตไข่รายตัวของเป็ดไข่ที่มีข้อมูลจีโนไทป์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* ที่อายุ 300 วัน ลักษณะนี้ถูกกำหนดด้วยอายุของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ คืออายุ 300 วัน เนื่องจากเป็ดไข่ให้ผลผลิตไข่ไม่พร้อมกัน ซึ่งที่อายุเดียวกันเป็ดไข่ที่ให้ไข่เร็วมีแนวโน้มให้จำนวนไข่สูงกว่าเป็ดไข่ที่ให้ไข่ช้า ดังนั้นจึงเป็นการคัดเลือกเป็ดไข่ที่ให้ไข่เร็วไปอีกทางหนึ่งด้วย ผลการเก็บข้อมูลปริมาณไข่เป็ดกากีแคมป์เบลล์ของเป็ดกลุ่มเป้าหมายแสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ช่วงจำนวนไข่เป็ดกากีแคมป์เบลล์ที่อายุ 300 วัน

ช่วงจำนวนไข่ (ฟอง)	จำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ (ตัว)	จำนวนสัตว์ในจีโนไทป์ (ร้อยละ)		
		GG	GT	TT
86-99	1	0.00 (0)	100 (1)	0.00 (0)
72-85	4	25.00 (1)	75.00 (3)	0.00 (0)
58-71	6	50.00 (3)	33.33 (2)	16.67 (1)
44-57	12	50.00 (6)	50.00 (6)	0.00 (0)
30-43	13	46.15 (6)	53.85 (7)	0.00 (0)
16-29	9	77.78 (7)	0.00 (0)	22.22 (2)
2-15	3	100.00 (3)	0.00 (0)	0.00 (0)

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวสัตว์ที่พบในจีโนไทป์นั้นๆ

จากข้อมูลผลผลิตไข่แบบรายตัวสามารถจัดกลุ่มของผลผลิตไข่เป็นกลุ่มได้จำนวน 7 ช่วงผลผลิต จากการคำนวณจำนวนกลุ่มของผลผลิต (พงษ์พิช, 2547) พบว่า ช่วงผลผลิตไข่ที่มากที่สุด คือ ช่วงจำนวน 86-99 ฟอง พบจำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ที่ให้ผลผลิตในช่วงนี้เพียง 1 ตัวเท่านั้น สัตว์มีจีโนไทป์ GT ช่วงผลผลิตไข่ที่น้อยที่สุด คือ จำนวน 2-15 ฟอง พบจำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ที่ให้ผลผลิตไข่ในช่วงนี้มีจำนวน 3 ตัว ซึ่งสัตว์มีจีโนไทป์ GG ร้อยละ 100 ช่วงการให้ผลผลิต 30-43

ฟอง เป็นช่วงที่มีจำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์มากที่สุดจำนวน 13 ตัว สัตว์มีจีโนไทป์ GG ร้อยละ 46.15 และจีโนไทป์ GT ร้อยละ 53.85 รองลงมาคือจำนวนผลผลิตไข่ช่วง 44-57 ฟอง พบจำนวนเป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตไข่ช่วงนี้จำนวน 12 ตัว สัตว์มีจีโนไทป์ GG ร้อยละ 50.00 และจีโนไทป์ GT ร้อยละ 50.00 โดยช่วงที่เป็ดไข่ให้ผลผลิตสูงสุดและต่ำที่สุดนั้นมีจำนวนเป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ จากข้อมูลการให้ผลผลิตไข่ที่แสดงดังตารางเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ถูกเลี้ยงในสภาพการเลี้ยงแบบเดียวกัน อาหารที่ให้รูปแบบและปริมาณเดียวกัน ผู้วิจัยพบว่าเป็ดไข่แต่ละตัวมีความสามารถในการให้ผลผลิตแตกต่างกันนั่นหมายถึงความแปรปรวนของการให้ผลผลิตสามารถตรวจพบจากจำนวนผลผลิตไข่ที่ได้จากตัวเป็ดไข่

4.2.2 ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติพื้นฐานของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กลุ่มเป้าหมาย

วิเคราะห์ค่าทางสถิติพื้นฐานของผลผลิตไข่เป็ดกากีแคมป์เบลล์ ประกอบด้วยลักษณะจำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน NE (300d) มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ไข่ฟองแรก

ตารางที่ 4.7 ค่าสถิติพื้นฐานของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่อายุ 300 วัน ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

ลักษณะ	จำนวนเป็ดไข่ (ตัว)	ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่ (Mean±SD)	ค่าสูงสุด-ต่ำสุด ของจำนวนไข่
NE (300d)	48	43.50±20.16	2-90

หมายเหตุ NE (300d) คือ จำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน

ผลแสดงค่าทางสถิติของข้อมูลผลผลิตไข่ พบว่าเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์กลุ่มเป้าหมายให้ผลผลิตจนถึงอายุ 300 วัน ทำการเก็บข้อมูลในช่วงเดือนธันวาคม 2555 ถึงเดือนพฤษภาคม 2556 เป็ดไข่จำนวน 48 ตัว เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ที่ศึกษาให้ผลผลิตไข่อยู่ในช่วง 2-90 ฟอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 43.50 ฟอง แสดงผลดังตารางที่ 4.7 เมื่อพิจารณาจากค่า standard division พบว่าข้อมูลผลผลิตไข่มีการกระจายค่อนข้างสูงแสดงถึงความผันแปรของการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์แต่ละตัวมีอยู่ค่อนข้างสูง

4.2.3 ผลการวิเคราะห์อิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ด้วยวิธี General linear model (GLM)

วิเคราะห์โดยใช้ GLM เป็นการวิเคราะห์เพื่อทดสอบอิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะจำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน (phenotype)

ตารางที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่สะสมจนอายุ 300 วันในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

Locus	ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่สะสมจนอายุ 300 วัน (ฟอง)			SEM	P-value
	GG	GT	TT		
PRL1	37.50^{a}	53.32^{b}	36.67^{a}	2.98	0.030

หมายเหตุ *PRL 1* คือยีน *PRL* ในโลกัส *PRL1*

จากตารางที่ 4.8 พบว่าความผันแปรของยีน *PRL* มีผลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กล่าวคือ สามารถตรวจพบรูปแบบจีโนไทป์ของยีนในโลกัส *PRL1* ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ สามารถสันนิษฐานได้ว่ายีน *PRL* โลกัส *PRL1* มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตไข่และการทำงานของระบบสืบพันธุ์ถึงแม้ว่าตำแหน่งอินทรอนไม่มีบทบาทในการสังเคราะห์กรดอะมิโน ดังนั้นตำแหน่งนี้จึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน แต่ความผันแปรใน intron1 ของยีน *PRL* อาจจะมีส่วนในการส่งสัญญาณในกระบวนการแปลรหัสเนื่องมาจากบริเวณ intron นั้นไม่เกิดกระบวนการ splicing เกิดขึ้น มีผลให้ยีนดังกล่าวสังเคราะห์โปรตีนที่มีความหลากหลายมากขึ้นทำให้การจับตัวกันของโปรตีนและตัวรับสัญญาณมีความจำเพาะน้อยอาจมีผลต่อการทำงานของฮอร์โมนโพรแลคตินและส่งผลให้เกิด LH surge และกระตุ้นให้เกิดการตกไข่เพิ่มขึ้น Li *et al.* (2009) รายงานว่ายีน *PRL* บริเวณ intron 1 ตำแหน่งกลายพันธุ์ T-1326C มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักไข่ที่เป็ด Gaoyou อายุ 30 สัปดาห์และมีความสัมพันธ์กับสัดส่วนการเกิดไข่แฝด Hui-Fang (2009) ศึกษาความแปรปรวนของยีน *PRL* ในบริเวณ inton 1 มีผลในกระบวนการแปลรหัสโปรตีนด้วยปัจจัยอื่นๆ ในกระบวนการ absence splicing มีผลให้เกิดโมเลกุลเปปไทด์ที่มีรูปร่างแตกต่างกันซึ่งรวมตัวกับโมเลกุลเปปไทด์ทางปลายด้าน N-terminal ซึ่งการกลายยีน T/C ตำแหน่ง 1326 bp อาจจะมีผลต่อยีน *PRL* ซึ่งจะสนับสนุนการควบคุมกลไกการแสดงออกของยีน *PRL* ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

4.3 การทดลองในระยะที่ 2 ผลการทดลองเพื่อยืนยันผลความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบอัลลีลของยีนโพรแลคตินที่ศึกษาในการทดลองระยะแรกกับความสัมพันธ์ของการให้ผลผลิตไข่

4.3.1 ผลการจำแนกกลุ่มเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ตามลักษณะจีโนไทป์ในโลกัส *PRL1*

การทดลองระยะที่ 2 จัดกลุ่มเลี้ยงเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์จากรูปแบบจีโนไทป์ที่ทราบแล้วออกเป็น 3 กลุ่ม คือ เป็ดไข่กลุ่มที่มีจีโนไทป์ GG, GT และ TT ตามลำดับ เพื่อทำการเก็บข้อมูลผลผิตไข่รายตัว แสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 จำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ตามรูปแบบจีโนไทป์โลกัส *PRL1*

PRL1	**รูปแบบจีโนไทป์โลกัส *PRL1***		
	GG	GT	TT
จำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ (ตัว)	28	27	5

การทดลองในระยะที่ 2 เป็นการทดลองต่อเนื่องจากการทดลองในระยะที่ 1 เริ่มต้นจากการเลี้ยงเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์จำนวน 100 ตัว ที่มีแหล่งพันธุกรรมจากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี และรูปแบบการเลี้ยงตั้งแต่อายุ 1 วัน มีรูปแบบการเลี้ยงเดียวกัน เลี้ยงจนมีอายุ 12 สัปดาห์ จากนั้นทำการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* จากข้อมูล DNA โดยการย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *XbaI* เพื่อจำแนกกลุ่มเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์กลุ่มทดลองจำนวน 60 ตัว จากเป็ดไข่จำนวน 100 ตัว สำหรับการจัดกลุ่มเลี้ยงเป็ดไข่แยกจากรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* เท่านั้น เป็ดไข่ที่นำมาทดลองมีจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ เป็ดไข่ที่นำมาใช้ในการทดสอบครั้งนี้ถูก

เลือกแบบเจาะจงจากรูปแบบจีโนไทป์ น้ำหนักเป็ดที่ใกล้เคียงกัน และเป็ดไข่ถูกเลี้ยงในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ชนิด และปริมาณอาหารเท่ากับงานทดลองในระยะที่ 1 จำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์จากการจำแนกตามลักษณะจีโนไทป์ในโลกัส *PRL 1* สามารถจำแนกจำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ด้วยรูปแบบจีโนไทป์ GG, GT และ TT ได้จำนวน 28, 27 และ 5 ตัว ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.7

4.3.2 ผลผลิตไข่ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์จำนวน 100 วัน

ทำการเก็บข้อมูลปริมาณไข่ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์แบบรายตัวในเป็ดไข่ทั้ง 3 รูปแบบจีโนไทป์ ทั้งหมด 60 ตัว เก็บไข่เป็นระยะเวลา 100 วัน นับจากวันให้ผลผลิตฟองแรก ผลผลิตไข่แบบรายตัวแสดงดังตารางที่ 4.10 พบว่าสามารถแบ่งผลผลิตไข่ได้เป็น 7 ช่วงผลผลิต ช่วงผลผลิต 78-87 ฟอง เป็นช่วงที่เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ให้ผลผลิตมากที่สุด มีเป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตอยู่ในช่วงนี้จำนวน 4 ตัว ซึ่งมีจีโนไทป์ GG ร้อยละ 25 จีโนไทป์ GT ร้อยละ 75 ช่วงผลผลิตไข่ที่น้อยที่สุด คือ ช่วงจำนวน 17-27ฟอง จำนวนเป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตในช่วงนี้พบเพียงแค่ 2 ตัวเท่านั้น มีจีโนไทป์ GG ร้อยละ 50 และจีโนไทป์ TT ร้อยละ 50 จำนวนเป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตมากที่สุดอยู่ในช่วง 38-47 ฟอง มีจำนวนเป็ดไข่ 18 ตัว จีโนไทป์ GG ร้อยละ 55.56 จีโนไทป์ GT ร้อยละ 33.33 และจีโนไทป์ TT ร้อยละ 11.11 รองลงมาคือจำนวนผลผลิตไข่จำนวน 48-57 ฟอง พบจำนวนเป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตไข่ช่วงนี้จำนวน 17 ตัว จีโนไทป์ GG ร้อยละ 29.41 จีโนไทป์ GT ร้อยละ 64.71 และจีโนไทป์ TT ร้อยละ 5.88 จากตารางสามารถสรุปได้ว่าสัตว์ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ GT มีแนวโน้มให้ผลผลิตในช่วง 38-87 ฟอง ซึ่งช่วงผลผลิตดังกล่าวสูงกว่าการให้ผลผลิตของเป็ดไข่ในจีโนไทป์ GG

ตารางที่ 4.10 ช่วงจำนวนไข่กากีแคมป์เบลล์จำนวน 100 วัน

ช่วงจำนวนไข่ (ฟอง)	จำนวนเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ (ตัว)	จำนวนสัตว์ในจีโนไทป์ (ร้อยละ)		
		GG	GT	TT
78-87	4	25.00 (1)	75.00 (3)	0.00 (0)
68-77	5	40.00 (2)	40.00 (2)	20.00 (1)
58-67	6	33.33 (2)	66.67 (4)	0.00 (0)
48-57	17	29.41 (5)	64.71 (11)	5.88 (1)
38-47	18	55.56 (10)	33.33 (6)	11.11 (2)
28-37	8	87.50 (7)	12.50 (1)	0.00 (0)
17-27	2	50.00 (1)	0.00 (0)	50.00 (1)

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวสัตว์ที่พบในจีโนไทป์นั้นๆ

4.3.3 ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติพื้นฐานของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติพื้นฐานของผลผลิตไข่เป็ดกากีแคมป์เบลล์ ประกอบด้วยลักษณะจำนวนไข่สะสม 100 วัน (NE (100d)) แสดงผลดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ค่าสถิติพื้นฐานของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

ลักษณะ	จำนวนเป็ดไข่ (ตัว)	ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่ (Mean±SD)	ค่าสูงสุด-ต่ำสุดของจำนวนไข่
NE (100d)	60	51±15.41	17-85

หมายเหตุ NE (100d) คือจำนวนไข่สะสม 100 วัน

จากผลการแสดงค่าทางสถิติของข้อมูลผลผลิตไข่ พบว่าเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ให้ผลผลิตจำนวน 100 วัน นับจากวันให้ผลผลิตฟองแรก ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2556 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2557 เป็ดไข่ให้ผลผลิตในช่วง 17-85 ฟอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 51 ฟอง เป็ดไข่ที่ให้ผลผลิตต่ำที่สุด คือ 17 ฟอง เป็ดไข่มีรูปแบบจีโนไทป์แบบ TT ผลผลิตสูงที่สุด คือ 85 ฟอง ซึ่งมีรูปแบบของยีนโลกัส *PRL1* เป็นรูปแบบจีโนไทป์ GT จากการศึกษาผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ในจังหวัดสุราษฎร์ธานีกล่าวได้ว่าความแปรปรวนของจำนวนไข่เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ทั้งสองชุดมีความแปรปรวนของการให้ผลผลิตสูงนั่นก็หมายความว่าโอกาสในการคัดเลือกเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์จากลักษณะการให้ผลผลิตไข่นั้นมีผลตอบสนองทางการคัดเลือกของลักษณะดังกล่าวสูงกว่าการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์ในกลุ่มตัวอย่างที่มีความแปรปรวนของการให้ผลผลิตไข่น้อย

4.3.4 ผลการวิเคราะห์อิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ด้วยวิธี General linear model (GLM)

ผลการยืนยันการศึกษาอิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL* โลกัส *PRL1* ที่มีต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่กากีแคมป์เบลล์จำนวน 100 วัน แสดงดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL1* กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่สะสม 100 วัน ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

Locus	จำนวนไข่สะสม 100 วัน			SEM	P-value
	GG	GT	TT		
PRL1	46.32[a]	56.55[b]	47.20[a]	1.99	0.038

หมายเหตุ *PRL 1* คือยีน *PRL* ในโลกัส *PRL1*

จากการรวบรวมปริมาณผลผลิตไข่กากีแคมป์เบลล์จำแนกตามรูปแบบจีโนไทป์ รูปแบบจีโนไทป์ GG, GT และ TT ให้ผลผลิตไข่เฉลี่ยจำนวน 46.32, 56.55 และ 47.20 ฟอง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของผลผลิตต่ำกว่าปริมาณผลผลิตไข่ของเป็ด Gaoyou ที่มีการศึกษาในประเทศจีน มีค่าเฉลี่ยของผลผลิตไข่ เท่ากับ 80.7-83.4 ฟอง ทำการรวบรวมผลผลิตไข่จำนวน 100 วันเช่นกัน (Hui-Fang, 2009) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *PRL* กับปริมาณผลผลิตไข่ด้วยโปรแกรมทางสถิติพบว่ารูปแบบของจีโนไทป์มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เช่นเดียวกับผลในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์กลุ่มเป้าหมาย แต่อย่างไรก็ตาม

จำเป็นต้องมีการศึกษาผลของการควบคุมการทำงานของยีนและการทำงานของยีนบริเวณ splice site ก่อน (Alberobello *et al.* 2011) พร้อมทั้งทดสอบอิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ (EBV) เนื่องจากเป็นค่าที่มีการขจัดอิทธิพลต่างๆ ซึ่งเป็นค่าที่ใช้เป็นตัวแทนของพันธุกรรมที่แท้จริงของสัตว์ (มนต์ชัย, 2548) และต้องศึกษาบทบาทของยีน *PRL* ต่อกลไกการสร้างไข่และขบวนการเจริญเติบโตของไข่ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้เพียงว่ายีน *PRL* โลกัส *PRL1* มีความสัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่ซึ่งผลดังกล่าวไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมาที่รายงานไว้ว่าการเกิดจุดกลายพันธุ์ของยีน *PRL* มีผลต่อผลผลิตในไก่ คุณภาพไข่รวมถึงลักษณะการเจริญเติบโตอีกด้วย (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006; Liang *et al.*, 2006; Bhattacharya *et al.* 2011) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของผลผลิตไข่กากีแคมป์เบลล์ พบว่ารูปแบบจีโนไทป์ GT ให้ผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบจีโนไทป์ GG ประมาณ 10.23 ฟอง และ รูปแบบจีโนไทป์ GT ให้ผลผลิตไข่มากกว่ารูปแบบจีโนไทป์ TT ประมาณ 9.35 ฟอง

4.3.5 ผลการศึกษาปริมาณฮอร์โมนโพรแลคตินในพลาสมาของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

จากการส่งพลาสมาของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของฮอร์โมนโพรแลคตินจากพลาสมา จำแนกตัวอย่างตามรูปแบบของจีโนไทป์ด้วยเทคนิคที่ใช้ตรวจวัดในมนุษย์ พบว่าวิธีการดังกล่าวไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดในสัตว์ปีกได้ ดังนั้นต้องมีการพัฒนาวิธีการตรวจวัดเพิ่มเติมเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการวัดปริมาณฮอร์โมนในสัตว์ปีก วิธีการที่มีการศึกษา Li *et al.* (2011) ได้ทำการวัดปริมาณฮอร์โมนโพรแลคตินในไก่ไข่ด้วยเทคนิค ELISA โดยวัด anti PRL หรือ anti-PRLR antigen หรืออาจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน estrogen และ progesterone ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดการหลั่งและการคงอยู่ของระดับฮอร์โมน PRL เพื่อใช้เป็นดัชนีตัวหนึ่งในการยืนยันผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์กับปริมาณการให้ผลผลิตไข่ในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์