รหัสโครงการ

SUT3-303-53-12-37

รายงานการวิจัย

รูปแบบของยีน Luteinizing Hormone Receptor ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม

The Pattern of Luteinizing Hormone Receptor gene on Fertility Traitsin Crossbred Holstein

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ

SUT3-303-53-12-37

รายงานการวิจัย

รูปแบบของยีน Luteinizing Hormone Receptor ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม

(The Pattern of Luteinizing Hormone Receptor gene on Fertility Traitsin Crossbred Holstein)

หัวหน้าโครงการ

อาจารย์ อมรรัตน์ โมพี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

31 ตุลาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

นักวิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง ที่กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการวางแผนและดำเนินงานวิจัย ขอขอบพระคุณ คุณเพลิน เมินกระโทก และคุณสมพงษ์ ปาติตัง นักวิชาการฟาร์มมหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเลือด และให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลในการวิจัย เป็นอย่างดี ขอขอบพระคุณนักศึกษาบัณฑิตศึกษาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านการเก็บตัวอย่าง เก็บข้อมูล ด้วยความทุ่มเทและรับผิดชอบเป็นอย่างดี และท้ายที่สุด นักวิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัย ในการดำเนินโครงการวิจัยครั้งนี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ เพื่อศึกษาความถี่ของ allele และ genotype ของยีน Luteinizing Hormone Receptor ; LHR gene ในกลุ่มตัวอย่างโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และศึกษาอิทธิพลของยีนนี้ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ เพื่อใช้เป็น gene marker เพื่อช่วยในการคัดเลือก เก็บตัวอย่างเลือดจากแม่โคนมรีดนมลูกผสมโฮลสไตน์จำนวน 241 ตัว ศึกษารูปแบบของยีนด้วยเทคนิค PCR RFLP และศึกษาอิทธิพลของยีนด้วยวิธี ordinary least square เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละ genotype ด้วยวิธี Least significant difference ผลการศึกษาพบว่ายีนนี้มี 2 allele (C, T) และมี 3 genotype (CC, CT, TT) โดย allele และ genotype ที่มีความถี่สูงที่สุด คือ allele C (0.91) และ genotype CC (0.82) ส่วน allele และ genotype ที่มีความถี่ต่ำที่สุดคือ allele T (0.09) และ genotype TT (0.01) ไม่พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างรูปแบบยีน LHR และลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่ายีน LHR ยังไม่มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็น gene marker เพื่อช่วยคัดเลือกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำสำคัญ โคนมลูกผสมโฮลสไตน์, ความสมบูรณ์พันธุ์, ยีนเครื่องหมาย, ยีน Luteinizing Hormone Receptor ; LHR gene

ABSTRACT

The objectives of this study were to study the allele and genotype frequency of Luteinizing Hormone Receptor; LHR gene, in the sample of crossbred Holstein dairy cattle of Suranaree University of Technology farm, and to study the effect of this gene on fertility fitness traits for using as marker assisted selection. Two hundred and forty- one crossbred Holstein cows were collected for blood samples. PCR-RFLP was used to identify the allele and genotype of LHR gene. Ordinary least square and least significant difference were used to estimate the effect of gene on the traits, and to compare the mean of each trait between genotype. Two alleles (C, T) and 3 genotypes (CC, CT, TT) were detected, the highest allele and genotype frequencies were C (0.91) and CC (0.82) and the lowest allele and genotype frequencies were T (0.09) and TT (0.01). Non significant relationship ($p>0.05$) between genotype and the traits were found. The results suggested that LHR gene is not suitable to use as gene marker for assisting selection in fertility fitness traits.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Keywords crossbred Holstein, fertility fitness traits, gene marker, Luteinizing Hormone Receptor; LHR gene

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
การตรวจเอกสาร	2
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
สัตว์ทดลอง, การจัดการอาหาร, ข้อมูล	9
ตัวอย่างเลือดและการสกัด DNA	9
ศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน LHR	10
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	12
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล	13
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	17
เอกสารอ้างอิง	18
ประวัติผู้วิจัย	20

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลการศึกษาอิทธิพลของยีน Luteinizing Hormone Receptor (LHR) ที่มีต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนม	7
ตารางที่ 2	ค่าเฉลี่ย และ (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และค่ามาตรฐานของจำนวนครั้งการผสมติด (Number of service), จำนวนวันท้องว่าง (Day open), ระยะห่างของการให้ลูก (Calving interval), อัตราการผสมติด (Conception rate)	13
ตารางที่ 3	ความถี่ allele และ genotype (จำนวนตัว) และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน LHR	14
ตารางที่ 4	อิทธิพลของ genotype รูปแบบต่างๆของยีน LHR (Luteinizing Hormone Receptor) ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์	16

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	คลื่นฟอลลิเคิลและระดับฮอร์โมนในการเป็นสัด	4
ภาพที่ 2	กลไกการทำงานของฮอร์โมน FSH และ LH ต่อระบบสืบพันธุ์โคเพศเมีย	5
ภาพที่ 3	บริเวณของ recognition site ของเอนไซม์ *HhaI*	11
ภาพที่ 4	แถบ PCR product ขนาดต่างๆ ที่บ่งบอกถึง genotype CC, TT, และ CT	11

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโคนม เช่น อัตราการผสมติด หรือ ระยะห่างวันตกลูก เป็นลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมาก เนื่องจาก ถ้าโคนมมีอัตราการผสมติดต่ำ หรือมีช่วงห่างของวันตกลูกยาวกว่าปกติ จะทำโคนั้นจะมีช่วงการให้นมในช่วงท้ายที่ยาวนาน หรือมีช่วงหยุดรีดนมนานเกินไป ก่อให้ความไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ นอกจากนี้ ถ้าโคดังกล่าวมีปัญหานี้อย่างต่อเนื่องจำเป็นต้องคัดโคนั้นออกจากฝูง ซึ่งเป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมาก เช่นกัน

ในประเทศไทย ปัญหาดังกล่าวเป็นปัญหาหลักอีกปัญหาหนึ่งสำหรับการผลิตโคนม กล่าวคือ โคนมมีอัตราการผสมติดเฉลี่ยที่ต่ำมากคือ ประมาณ 52.2% และ 62% สำหรับแม่โค และในโคสาว ตามลำดับ (สุณีรัตน์ และ คณะ, 2549) ในขณะเดียวกันช่วงห่างในการตกลูกเฉลี่ยยาวถึง 452 วัน (สุณีรัตน์ และคณะ, 2549) จากข้อมูลดังกล่าว จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเร่งแก้ไขปัญหานี้ และแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหานี้สามารถทำได้ ด้วยการปรับปรุงพันธุกรรม แม้ว่าจะเป็นวิธีที่จะต้องใช้เวลานาน แต่เป็นการแก้ไขปัญหาที่ยั่งยืน เนื่องจากเป็นความสามารถที่สามารถถ่ายทอดจากรุ่นหนึ่งสู่รุ่นหนึ่งได้

ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่ายีน Luteinizing Hormone Receptor (LHR gene) เป็นยีนที่มีบทบาทสำคัญต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนม และเป็นยีนที่มีรูปแบบที่หลากหลาย (Hasting et al. , 2006) และ (Marson et al., 2008) จึงเป็นยีนหนึ่งที่มีมีศักยภาพในการที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic marker) ประกอบในการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมได้

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ที่สำคัญ คือ สามารถทราบได้ว่า 1. ยีน LHR จะมีศักยภาพในการใช้เป็นยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกในประชากรโคนมลูกผสมโฮลสไตน์หรือไม่ และ 2. จะทราบว่ารูปแบบต่างๆของยีน LHR จะมีอิทธิพลอย่างไรต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม ซึ่งเป็นกลุ่มประชากรหลักของโคนมในประเทศ องค์ความรู้ดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์โคนมในการพัฒนาพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และรวมถึงเป็นข้อมูลสำหรับการคัดเลือกโค อันมีส่วนทำให้เกษตรกรมีโคนมที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ดีขึ้น ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมของประเทศมีรายได้ที่สูงขึ้น เนื่องจากประสิทธิภาพการผลิตสูงขึ้น และส่งผลให้เกษตรกรไทยจะมีความสามารถในการแข่งขันที่สูงขึ้นด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อศึกษาความถี่ของแต่ละรูปแบบของยีน LHR ในประชากรโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม
2) เพื่อศึกษาอิทธิพลของยีน LHR รูปแบบต่างๆต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม

ขอบเขตของการวิจัย

ผลงานวิจัยที่ได้ในกรณีที่พบว่ายีน LHR มีอิทธิพลต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ สามารถนำไปใช้เป็นยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกโคนมของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีเพื่อใช้แม่พันธุ์ต่อไป

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

☑ เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

กลุ่มเป้าหมาย *นักวิชาการทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ โดยองค์ความรู้นี้นักวิชาการในสาขาดังกล่าวสามารถนำไปขยายผลการศึกษาในประชากรโคนมในวงกว้างขึ้น ซึ่งอาจเป็นในระดับประเทศ เพื่อศึกษาถึงความถี่ยีนของอัลลีลที่ต้องการในภาพรวมของประชากรโคนมทั้งประเทศเพื่อใช้ในการกำหนดทิศทางการปรับปรุงพันธุ์โคนมได้อย่างชัดเจน*

☑ นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

กลุ่มเป้าหมาย *องค์กรทั้งภาครัฐและเอกชนที่มีเป้าหมายผลิตพันธุ์โคนมเพื่อจำหน่ายโดยสามารถนำความรู้จากผลงานวิจัยนี้ในการตรวจสอบพันธุกรรมของโคนมให้มีความสามารถทางพันธุกรรม ที่จะแสดงลักษณะตามที่ต้องการ และสามารถใช้ในการเพิ่มมูลค่าพันธุ์โคที่ผ่านการตรวจสอบและพบว่ามียีนที่มีรูปแบบอัลลีลที่ต้องการ*

การตรวจเอกสาร

ปัญหาความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนม

ประสิทธิภาพการผลิตในโคนมนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับ ปริมาณน้ำนม และส่วนประกอบที่สำคัญในน้ำนมแล้ว ความสมบูรณ์พันธุ์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตอย่างยิ่ง ปัจจุบัน อุตสาหกรรมการผลิตนมในหลายประเทศรวมถึงประเทศไทยด้วยกำลังประสบปัญหาเรื่องความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมต่ำ โดยในประเทศไทยนั้น จากข้อมูลของกรมปศุสัตว์ (www.did.go.th) ได้รายงานค่าเฉลี่ยของอัตราการผสมติดในปี 2547 และ 2548 ว่าประมาณ 38.67 และ 38.55 % ตามลำดับ และ จำนวนวันท้องว่าง ในปี 2547 และ 2548 อยู่ที่ประมาณ 196 และ 193 วัน ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า โคนมในประเทศมีอัตราการผสมติดที่ต่ำมาก และมีจำนวนวันท้องว่างที่กว้างมากเช่นกัน ปัญหาดังกล่าวนี้มีสาเหตุหลายประการ ทั้งในด้านการจัดการผสมเทียม การจัดการฟาร์ม และการจัดการอาหาร รวมถึงสาเหตุจากพันธุกรรม จากรายงานของ Wall et al. (2003), Holmberg and Andersson - Eklund (2006) และ Rhoads et al.(2008) ระบุว่าการปรับปรุงพันธุ์ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำนม จะทำให้ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ นั้นตกต่ำลง และตลอดเวลาที่ผ่านมา แม้ว่าการปรับปรุงพันธุ์โคนมในประเทศจะไม่เข้มข้น มากนัก แต่การปรับปรุงพันธุ์ที่ผ่านมาก็เน้นที่จะปรับปรุงลักษณะปริมาณน้ำนมเช่นกัน จึงอาจกล่าวได้ว่า สาเหตุหนึ่งในการเกิดปัญหาความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำในโคนมในประเทศ คือ การปรับปรุงพันธุ์

การแก้ไขปัญหาความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำนั้น มีแนวทางในการแก้ไขได้หลายแนวทาง แต่แนวทางที่จะใช้การปรับปรุงพันธุ์นั้น เป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจาก เป็นแนวทางที่ยั่งยืนโดยโคสามารถส่งความสามารถดังกล่าวต่อไปยังลูกรุ่นต่อไปได้ อย่างไรก็ตาม ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์นั้นมีค่า อัตราพันธุกรรม

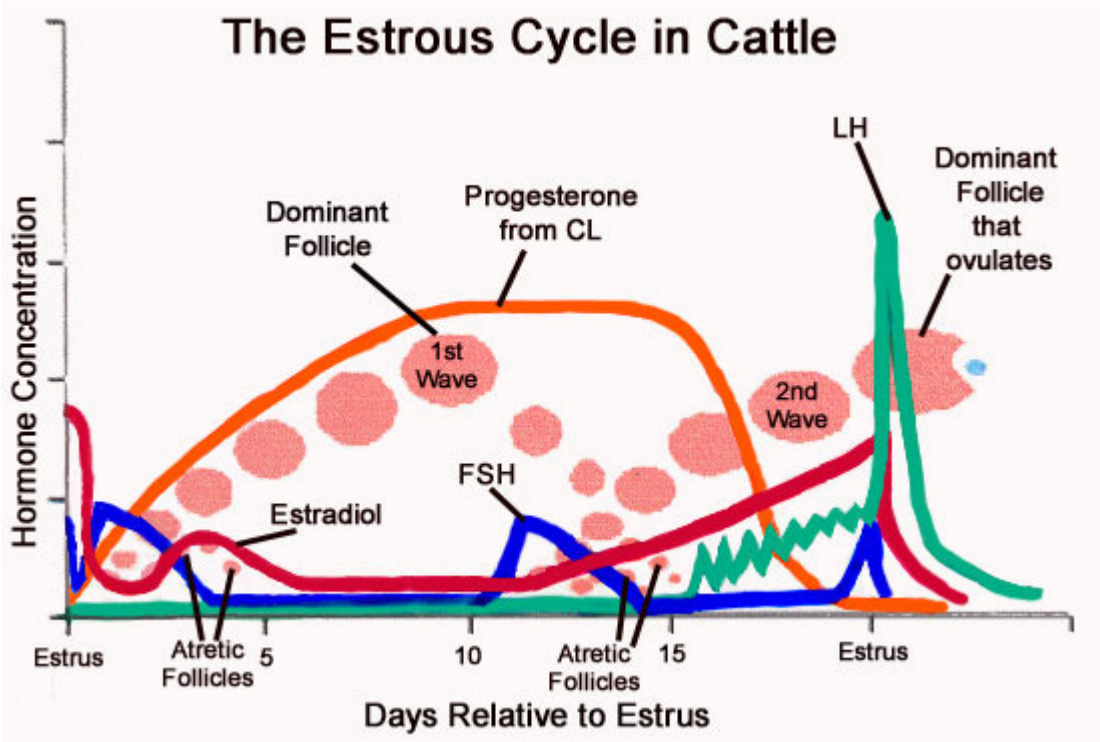
ที่ค่อนข้างต่ำ เช่น ลักษณะอายุที่คลอดลูกตัวแรก (Age at first calving; AFC) จำนวนครั้งผสมต่อการผสมติด (number of service per conception; NSC), ช่วงห่างการให้ลูก (calving interval; CI) และ จำนวนวันท้องว่าง (day open; DO) มีค่าอัตราพันธุกรรมไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (Wall et al. 2003) ค่าอัตราพันธุกรรมที่ต่ำนั้น ทำให้การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธี conventional breeding นั้นจะใช้เงินทุน และระยะเวลาที่ยาวนานมาก อย่างไรก็ตาม ปัจจุบัน เราสามารถใช้เครื่องหมายทางพันธุศาสตร์เพื่อมาช่วยในการคัดเลือกสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมที่ต่ำ จะสามารถเพิ่มความแม่นยำ และสามารถลดระยะเวลาในการคัดเลือกให้สั้นลงได้ Lande and Thomsom (1990); Meuwissen and Van Arendonk (1992); Spelman and Garrick (1998); Abdel-Azim and Freeman (2003) และ Veerkamp and Beerda (2007) ดังนั้น การใช้เครื่องหมายทางพันธุศาสตร์เพื่อใช้ช่วยในการปรับปรุงลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมของประเทศ จึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการที่จะนำมาใช้ปรับปรุงพันธุกรรมของโคนมในประเทศต่อไป

วงรอบการเป็นสัด

วงรอบการเป็นสัดของโคหมายถึง ช่วงเวลาที่โคเป็นสัดรอบหนึ่งจนถึงเป็นสัดรอบถัดไปโดยปกติรอบการเป็นสัดจะกินเวลาต่อรอบประมาณ 18-24 วัน (เฉลี่ย 21 วัน) โดยการเจริญของฟอลลิเคิล (follicle) ชนิดต่าง ๆ บนรังไข่ ในรอบการเป็นสัดรอบหนึ่ง ๆ ของวงจรการเป็นสัดของโคมีลักษณะเป็นคลื่น โดยมีฟอลลิเคิลอื่น ๆ ขนาดเท่ากับฟอลลิเคิลที่จะตกไข่ เจริญขึ้นมาจากฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่างวงจรการเป็นสัด เรียกว่า คลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave)

ในรอบการเป็นสัดรอบหนึ่ง ๆ อาจมีฟอลลิเคิลหลาย ๆ ใบเจริญขึ้นมาและฝ่อสลายไปหลังจากนั้น จะมีฟอลลิเคิลอีกหลาย ๆ ใบเจริญขึ้นมาอีก แล้วส่วนใหญ่จะฝ่อสลายไป แต่ฟอลลิเคิลบางใบจะมีการตกไข่ การเจริญและฝ่อสลายไปของฟอลลิเคิล จะเกิดเป็นชุด ๆ หรือเป็นกลุ่ม ๆ โดยใน 1 รอบของการเป็นสัด อาจมีฟอลลิเคิลเจริญและฝ่อสลายไปถึง 2 ชุด หรือบางรอบการเป็นสัด อาจมีฟอลลิเคิลเจริญและฝ่อสลายไปถึง 3 ชุด (George, 2004) ดังแสดงในภาพที่ 1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

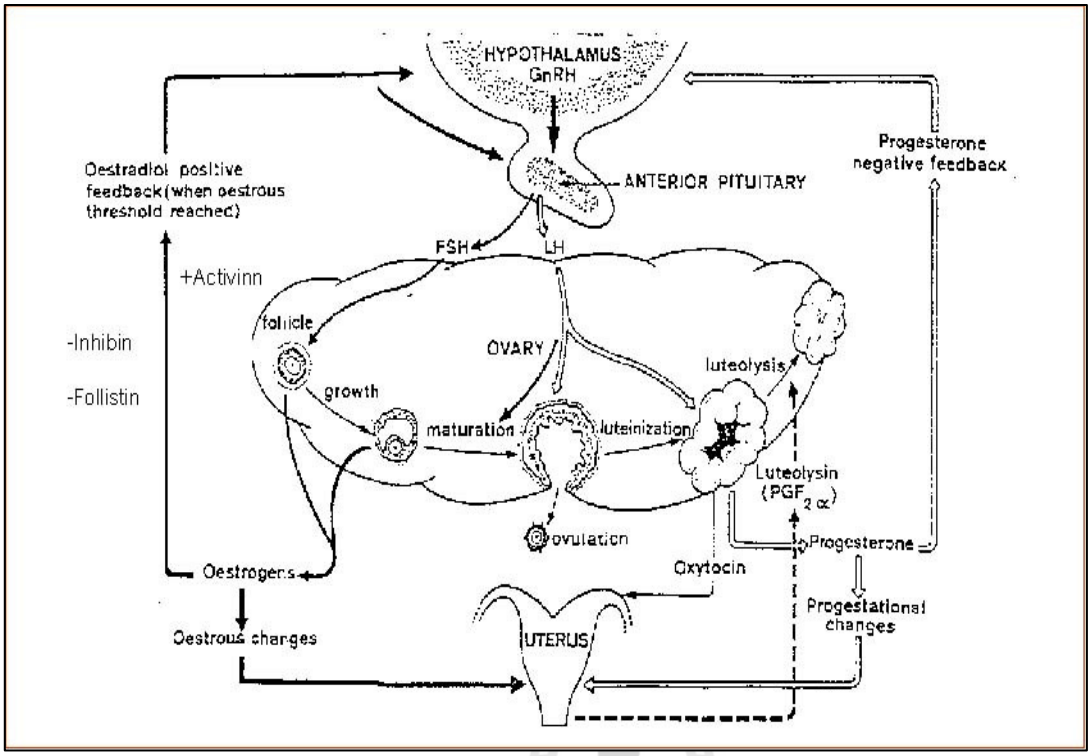


ภาพที่ 1 คลื่นฟอลลิเคิลและระดับฮอร์โมนในการเป็นสัด

ที่มา : http://cal.vet.upenn.edu/projects/fieldservice/Dairy/Graph2.jpg

จากภาพที่ 1 หากรอบการเป็นสัดของโคมีคลื่นฟอลลิเคิล 2 คลื่น พบว่าคลื่นที่ 1 จะไม่มีการตกไข่โดยฟอลลิเคิลทั้งหมดจะสลายไป ส่วนในคลื่นที่ 2 ฟอลลิเคิลส่วนใหญ่จะฝ่อสลายไป แต่โดมิแนนท์ฟอลลิเคิลของคลื่นที่ 2 จะมีการตกไข่ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากมีฮอร์โมนเกี่ยวข้องในวงจรการเป็นสัด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากภาพเห็นว่าคลื่นฟอลลิเคิลคลื่นที่ 1 มีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่แต่ไม่มีการตกไข่ เนื่องจากก้อนเนื้อเหลือง (Corpus Luteum) บนรังไข่สร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ส่งผลให้มีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนปริมาณสูงโดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะคอยกดความถี่ของฮอร์โมน LH ไม่ให้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความถี่ของฮอร์โมน LH ไม่มากนักทำให้ฟอลลิเคิลในคลื่นที่ 1 ไม่แตกจึงทำให้ไม่มีการตกไข่ ฟอลลิเคิลจึงฝ่อสลายไป ส่วนฟอลลิเคิลชุดที่ 2 มีการตกไข่ เนื่องจากเมื่อฟอลลิเคิลโตเต็มที่ จะพอดีช่วงเวลาที่ก้อนเนื้อเหลือง (Corpus Luteum) บนรังไข่สลาย ส่งผลให้ปริมาณของโปรเจสเตอโรนที่สร้างจากก้อนเนื้อเหลือง (Corpus Luteum) ลดลง เมื่อไม่มีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคอยควบคุมความถี่ของจังหวะฮอร์โมน LH จึงมาก ซึ่งจากการที่ความถี่ของฮอร์โมน LH ที่สูงขึ้นนั้นส่งผลให้ฟอลลิเคิลแตกจึงเกิดการตกไข่ขึ้น (Hafez and Hafez, 2000)

กลไกของฮอร์โมน FSH และ LH ที่เกี่ยวข้องกับการเป็นสัดของโค



ภาพที่ 2 กลไกการทำงานของฮอร์โมน FSH และ LH ต่อระบบสืบพันธุ์โคเพศเมีย

ที่มา : http://www.dld.go.th/airc_nak/Knowledge/Text/C-2.doc

จากภาพที่2 เริ่มจากสมองส่วนไฮโปรธารามัสสร้างและหลั่งฮอร์โมน GnRH เพื่อไปกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้สร้างและหลั่งฮอร์โมน FSH จากนั้นฮอร์โมน FSH จะไปกระตุ้นฟอลลิเคิลคลื่นที่1 ให้ฟอลลิเคิลใบเล็กๆมีการเจริญขึ้นเรื่อยๆ โดยฟอลลิเคิลใบเล็กๆเหล่านี้มีตัวรับ (Receptor) ต่อฮอร์โมน FSH ทำให้ฮอร์โมน FSH สามารถเกิดปฏิกิริยาด้วยการไปกระตุ้นเซลล์แกรนูโรซาของฟอลลิเคิลใบเล็กๆ และกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลมีการเร่งสร้างช่องว่าง (Antrum) ภายใน เมื่อฟอลลิเคิลเจริญจนกลายเป็นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลจะมีการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจน เพื่อไปยับยั้งต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้สร้างและหลั่งฮอร์โมน FSH ลดลงส่งผลให้ฟอลลิเคิลหยุดการเจริญ จากนั้นฟอลลิเคิลจะแตกและมีการตกไข่ได้จะต้องมีฮอร์โมน LH ที่มีความถี่สูงๆโดยหลั่งออกมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการหลั่งฮอร์โมน LH จะมีลักษณะเป็นจังหวะ (Pulse) โดยจังหวะที่มีความถี่มากหรือน้อยนั้นจะถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สร้างมาจากก้อนเนื้อเหลือง (Corpus Luteum) บนรังไข่ หากปริมาณโปรเจสเตอโรนมากความถี่จังหวะของฮอร์โมน LH จะน้อย ซึ่งการที่ความถี่ของฮอร์โมน LH ไม่สูงพอนั้น ส่งผลให้ฟอลลิเคิลไม่สามารถแตกและไม่เกิดการตกไข่ขึ้นทำให้เกิดความล้มเหลวในการตกไข่ ส่งผลให้การตกไข่ต้องเคลื่อนไปที่ฟอลลิเคิลที่ 2 ต่อไป ซึ่งหากฟอลลิเคิลที่โตเต็มที่นั้นพอดีกับช่วงเวลาที่ก้อนเนื้อเหลือง (Corpus Luteum) บนรังไข่สลาย ส่งผลให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลงทำให้ฮอร์โมน LH มีความถี่สูงขึ้นจึงทำให้ฟอลลิเคิลแตกและเกิดการตกไข่ขึ้น (Hafez and Hafez, 2000)

บทบาทของ Luteinizing Hormone (LH)

LH เป็นสารประกอบไกลโ คโปรตีนที่ผลิตจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า มีน้ำหนักโมเลกุล 25,200-30,000 โดยมีสายอะมิโน 2 สายเชื่อมกันด้วยพันธะ noncovalent และมีสายของคาร์โบไฮเดรตเชื่อมติดกับโพลีเปปไทม์ด้วย N-acetylglucosaminyl-asparagine linkage สายของกรดอะมิโนของ LH เรียกว่า α และ β subunits ซึ่งโครงสร้างของ α subunit ของ LH มีลักษณะคล้ายกับ α subunit ของฮอร์โมนตัวอื่นในกลุ่มไกลโคโปรตีนที่ผลิตจากต่อมใต้สมอง ในทางตรงกันข้าม β subunit จะมีโครงสร้างที่แตกต่างกันระหว่างฮอร์โมนในกลุ่มไกลโคโปรตีน ซึ่ง β subunit เป็นตัวบ่งบอกถึงความแตกต่างที่เรียกว่า specific subunit (Hafez and Hafez, 2000 ; Alan et al., 2003)

ความสำคัญของเซลล์ตัวรับของ ฮอร์โมน LH ต่อระบบสืบพันธุ์

การเจริญของฟอลลิเคิลจะมีการสร้างฮอร์โมนเอสโตเจนในการควบคุมให้หยุดการพัฒนาเมื่อฟอลลิเคิลโตเต็มที่แล้ว และฮอร์โมนเอสโตรเจนจะมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการเป็นสัดของโค ซึ่งในการสร้างฮอร์โมนเอสโตเจนจะต้องอาศัยการทำงานของทั้งฮอร์โมน FSH และฮอร์โมน LH ร่วมกัน โดยเมื่อฮอร์โมน LH จับกับตัวรับ (Receptor) ที่บริเวณเซลล์ทีก้า ได้ผลผลิตเป็น androstenedione ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนเอสโตเจน และในขณะเดียวกันฮอร์โมน FSH จับกับตัวรับ (Receptor) ที่บริเวณเซลล์แกรนูโลซา เกิดปฏิกิริยาทางเคมีเปลี่ยนจาก androstenedione เป็นฮอร์โมนเอสโตเจน และฮอร์โมน FSH จะทำงานร่วมกับฮอร์โมนเอสโตเจนในการพัฒนาตัวรับ (Receptor) ของฮอร์โมน LH ในช่วงกลางจนถึงช่วงท้ายของระยะฟอลลิคูลา จากนั้นเมื่อฮอร์โมน LH มีจังหวะความถี่ที่เหมาะสมในระยะลูเทียล ฮอร์โมน LH จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตเจนจาก luteinized thecal และเซลล์แกรนูโลซา (Alan et al., 2003)

ตำแหน่งและหน้าที่ของยีน Luteinizing Hormone Receptor (LHR)

ในโคยีน LHR ตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 มีขนาดประมาณ 2416 bp มี accession number ใน ฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) เป็น NM_174381 ยีนดังกล่าวมีการแสดงออกบริเวณผนังรังไข่ในเพศเมียและผนังถุงอัณฑะในเพศผู้ ทำหน้าที่ในการจับกับ ฮอร์โมน LH (http://en.wikipedia.org/wiki/LHCG_receptor; วันที่ 1กย. 2551; และ Zhang et al., 2005)

จากการศึกษาเรื่องบทบาทและหน้าที่ของ LHR ในสัตว์ และมนุษย์ จำนวนหนึ่ง เช่น งานของ Minegishi et al. (2008) ซึ่งทำการศึกษาในมนุษย์ Smith et al. (1996) ทำการศึกษาในแกะ Hastings et al. (2006); Mihm et al. (2006) และ Marson et al. (2008) ซึ่งทำการศึกษาในโคนมต่างพบผลการศึกษาที่สอดคล้องกัน คือ LHR มีบทบาทสำคัญ ตั้งแต่ การเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของสัตว์ และเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์แล้วยังมีบทบาทเกี่ยวกับการเป็นสัดของสัตว์ด้วย ดังนั้นจึงเป็นที่ชัดเจนว่า การทำงานของ LHR นั้นจะมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการทำงานของฮอร์โมน LH ดังนั้น การที่สัตว์จะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ แสดงการเป็นสัด และมีวงรอบการเป็นที่เป็นปกตินั้น ย่อมขึ้นอยู่กับการทำงานของ LHR ด้วย จึงเป็นที่น่าสนใจว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของ LHR นั้นน่าจะมีอิทธิพลต่อลักษณะที่กล่าวมา ซึ่งเป็นลักษณะที่ทำให้สัตว์มีความสมบูรณ์ที่ดี และถ้าสามารถศึกษารูปแบบของยีนที่มีอิทธิพลต่อลักษณะ

ดังกล่าวก็จะเป็นแนวทางในการนำรูปแบบยีนที่ได้มาเป็นเป็นเครื่องหมายทางพันธุศาสตร์ เพื่อใช้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะ ดังกล่าวต่อไป

อิทธิพลของยีน LHR ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนม

การศึกษาเรื่องอิทธิพลของยีน LHR ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมยังมีน้อยมาก กล่าวคือ มีการศึกษาของ Hasting et al. (2006) และ Marson et al. (2008) เท่านั้นที่ทำการศึกษาในเรื่องดังกล่าว ซึ่งผลงานวิจัยของทั้ง 2 งานนี้สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาอิทธิพลของยีน Luteinizing Hormone Receptor (LHR) ที่มีต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนม

เอกสารอ้างอิง	รูปแบบของอิทธิพลและประชากร	CI[1] (days)	DFS[1] (days)	NR56[1]	CINS[1]	CS[1]	PIN[1]	PAF[1] (%)
Hastings et al. (2006)	รูปแบบของอิทธิพลจากการเปลี่ยน GCG เป็น TCT ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนลำดับที่ 467 ประชากรที่ศึกษา : British Friesian และ American Holstein	-2.58*	-1.59*	0.004*	-0.008*	0.072*	-24.2*	-
Marson et al. (2008)	Genotype: 3 รูปแบบ							
	TT	-	-	-	-	-	-	65
	CT	-	-	-	-	-	-	67
	CC	-	-	-	-	-	-	58
	ซึ่งเป็นการศึกษาบริเวณ exon ที่ 11 ของยีน ประชากรที่ศึกษา : ลูกผสมระหว่างโคสายพันธุ์ Zebu กับสายพันธุ์ยุโรป							

[1]: CI calving interval, DFS days to first service, NR56 non-return rate at day 56, CINS number of inseminations to conception, CS condition score, PIN production index, PAF pregnancy rate at first breeding

*: significant effect $P<0.05$

จากตารางการศึกษาของ Hastings et al. (2006) และ Marson et al. (2008) เป็นการศึกษาความหลากหลายของรูปแบบของยีน ณ บริเวณเดียวกัน คือบริเวณ exon ที่ 11 จากตารางการศึกษาของ Hastings et al. (2006) เป็นศึกษาอิทธิพลของยีน LHR ในรูปของ single nucleotide polymorphisms; SNPs ดังกล่าว โดยพบว่ายีนดังกล่าวเมื่อ

มีลำดับเบสเปลี่ยนแปลงไปนั้นจะมีต่อลักษณะต่างๆ ที่แสดง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่ชัดเจนว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบส ซึ่งทำให้ลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไปนั้น มีผลอย่างไรต่อการทำงานของยีน LHR ในขณะที่งานของ Marson et al. (2008) ที่ทำการศึกษาในลักษณะที่แตกต่างไป และใช้รูปแบบของยีนที่แตกต่างกันนั้นพบว่า genotype ที่แตกต่างกันมีผลต่อลักษณะ PAF ที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาจากทั้งสองงานนี้ ยังไม่สามารถยืนยันซึ่งกันและกันได้ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาของทั้ง 2 งานนี้ มีความน่าสนใจ โดยเฉพาะในงานของ Hastings et al. (2006) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ยีน LHR นั้นเป็นยีนที่มีศักยภาพในการที่จะนำมาประยุกต์เป็น candidate gene marker ที่ใช้ในการช่วยคัดเลือกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา อิทธิพลของยีนดังกล่าวในประชากรโคนมของประเทศ เพื่อเป็นแนวทางในการนำมาช่วยคัดเลือกโคนม เพื่อปรับปรุงลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคในประเทศต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง

ประชากรโคนมที่ใช้สำหรับการศึกษา เป็นประชากรโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนระดับสายเลือดประมาณ 75%HF - 93.75%HF จากฟาร์มโคนมของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี รวมทั้งสิ้น 241 ตัว โดยเป็นโคที่อยู่ใน lactation ที่ 1 -5

การจัดการอาหาร

อาหารข้นจะใช้อาหารสำเร็จรูปโดยโคหลังคลอดถึงประมาณ 150 วันใช้อาหารโครีดนม 21 %โปรตีนและหลังจากนั้นลดระดับโปรตีนลงเป็น 17 %โปรตีน โดยการให้อาหารข้นจะให้ในปริมาณ 5 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ส่วนอาหารหยาบเป็นข้าวโพดหมัก หญ้าหมัก และหญ้าสด โดยอาหารหยาบนี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาล และเป็นการให้กินตลอดทั้งวัน

ข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบของยีนกับลักษณะที่สนใจได้แก่ ประกอบด้วย ข้อมูลพันธุ์ประวัติโคนมของฟาร์ม โดย ข้อมูลอัตราการผสมติด จำนวนครั้งที่ผสม ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่างเป็นรายตัวของโคนมรายตัว โดยมีข้อมูลจำนวน 235 ข้อมูล เป็นข้อมูล ตั้งแต่ปี 2551 – 2554 โดยข้อมูลทั้งหมดที่ใช้ในการหาความสัมพันธ์กับรูปแบบยีนเป็นข้อมูลของโคนมของฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตัวอย่างเลือดและการสกัด DNA

เก็บตัวอย่างเลือดโดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 เจาะที่เส้นเลือดดำบริเวณโคนหางปริมาณ 10 ml บรรจุในหลอดสุญญากาศที่มีส่วนประกอบของ EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด และเก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ -20°C เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอ (genomic DNA extraction) โดยใช้ชุดน้ำยาสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปสำหรับตัวอย่างเลือด (Geneaid Biotech Ltd.) ในขั้นตอนต่อไป

การสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดน้ำยาสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปสำหรับตัวอย่างเลือด (Genomic DNA Mini Kit Protocal-Blood) มีทั้งหมด 5 ขั้นตอนดังนี้

1. ขั้นตอน RBC Lysis นำเลือดจากหลอดสุญญากาศที่มีส่วนประกอบของEDTA เพื่อป้องกันเลือดแข็งตัว ที่เก็บในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ -20 °C ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าเลือดจะเปลี่ยนสภาพจากที่แข็งตัวกลายเป็นของเหลว ดูดตัวอย่างเลือดด้วย micropipet ปริมาณ 300 μl ใส่ลงใน microcentrifuge tube (1.5 ml) ใส่ RBC Lysis Buffer 3 เท่าของตัวอย่างเลือด (900 μl) ผสมให้เข้ากัน incubate 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไป Centrifuge นาน 2 นาที ที่ 10,000 rpm ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง ใส่ 100 μl RBC Lysis Buffer อีกครั้ง

2. ขั้นตอน Cell Lysis ใส่ Proteinase K 20 μl (10-20 mg/ml) และ vortex เบาๆ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 นาที ใส่ 200 μl GB Buffer และผสมกันด้วยเครื่อง Vortex นำไป Incubate 10 นาที ที่อุณหภูมิ 60°C จนกระทั่งตัวอย่างย่อย ทุกๆ 3 นาทีให้ทำการกลับหลอดไปมา ในระหว่างนี้ นำ Elution Buffer ไปอุ่นใน Water bath ที่อุณหภูมิ 60°C เพื่อใช้ในขั้นตอน DNA Elution (100 μl ต่อ 1 ตัวอย่าง)
3. ขั้นตอน DNA Binding ใส่ Ethanol 200 μl และ Vortexing 10 วินาที ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงใน GD column ที่วางอยู่บน collection tube (2 ml) นำไป Centrifuge 13,000 rpm นาน 5 นาที
4. ขั้นตอน Wash ใส่ 400 μl W1 Buffer ลงใน GD column นำไป Centrifuge 13,000 rpm นาน 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ทำการล้างออกไปที่อยู่ใน collection tube (2 ml) ใส่ 600 μl Wash Buffer (ethanol added) ลงใน GD column นำไป Centrifuge 13,000 rpm นาน 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ทำการล้างออกไปที่อยู่ใน collection tube (2 ml) และนำไป Centrifuge 13,000 rpmนาน 3 นาทีอีกครั้งเพื่อให้แห้งและเหลือเฉพาะส่วนที่เป็นดีเอ็นเอที่สกัดได้
5. ขั้นตอน DNA Elution นำ GD column ใส่ลงใน microcentrifuge tube (1.5 ml) ใหม่ ใส่ 100 μl Elution Buffer ที่เตรียมไว้ลงใน GD column ตั้งทิ้งไว้ 3-5 นาที นำไป Centrifuge 13,000 rpm นาน 3 วินาที และจะได้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ (purified DNA) เก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ (Genomic DNA) ไว้ในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ -20 °C

หลังจากทำการสกัดเรียบร้อยแล้ว นำไปตรวจสอบคุณภาพ ปริมาณและความคมชัดของแถบดีเอ็นเอ ด้วย 0.8% agarose gel electrophoresis ย้อมด้วย ethidium bromide นำไปส่องดูในตู้ภายใต้แสง UV และทำการวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง spectrophotometer (optical-density, 260 nm and 280 nm) เพื่อทำการปรับความเข้มข้นของทุกตัวอย่างเป็น 10 ng/ μl สำหรับใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) เก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ -20°C รอทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) เพื่อตรวจหารูปแบบจีโนไทป์ในขั้นตอนต่อไป

ศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน LHR

นำ genomic DNA ที่ได้เข้าสู่ขบวนการ PCR RFLP (Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism) โดย Primers และเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ อ้างอิงจากงานวิจัยของ Marson et al. (2008)

forward primer : 5'-CAA ACT GAG AGT CCG CTT T-3'

reverse primer : 5'-CCT CCG AGC ATG ACT GGA ATG GC-3'

สำหรับ PCR Reaction mix รวมทั้งหมดเท่ากับ 25 µl ประกอบด้วย genomic DNA เข้มข้น 10 ng 1 µl เติมสารประกอบต่าง ๆ ในปฏิกิริยา ซึ่งประกอบด้วย 10X PCR buffer 2.5 µl, dNTP's (0.5 mM) 2.5 µl , Primers อย่างละ 0.2 µl, 0.5 U *Taq* DNA polymerase 0.2 µl และเติม Nuclease free water ให้ได้ 25 µl Initial denaturation

จะเริ่มที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบ แต่ละรอบมีรายละเอียดในปฏิกิริยา ดังนี้ เริ่มที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที Primer annealing ที่อุณหภูมิ 63 °C เป็นเวลา 30 วินาที และ Primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 60 วินาที และขั้นตอนสุดท้าย (final extension) ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที

ตัดด้วยเอนไซด์ตัดจำเพาะ เอนไซม์จำเพาะที่ใช้ ได้แก่ *HhaI* โดยเติม 1U และ PCR product 8 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งตำแหน่งการตัดของเอนไซม์แสดงดัง ภาพที่ 3 และศึกษารูปแบบของจีโนไทป์ด้วยเทคนิค gel electrophoresis โดยใช้ Agarose gel 1.5%

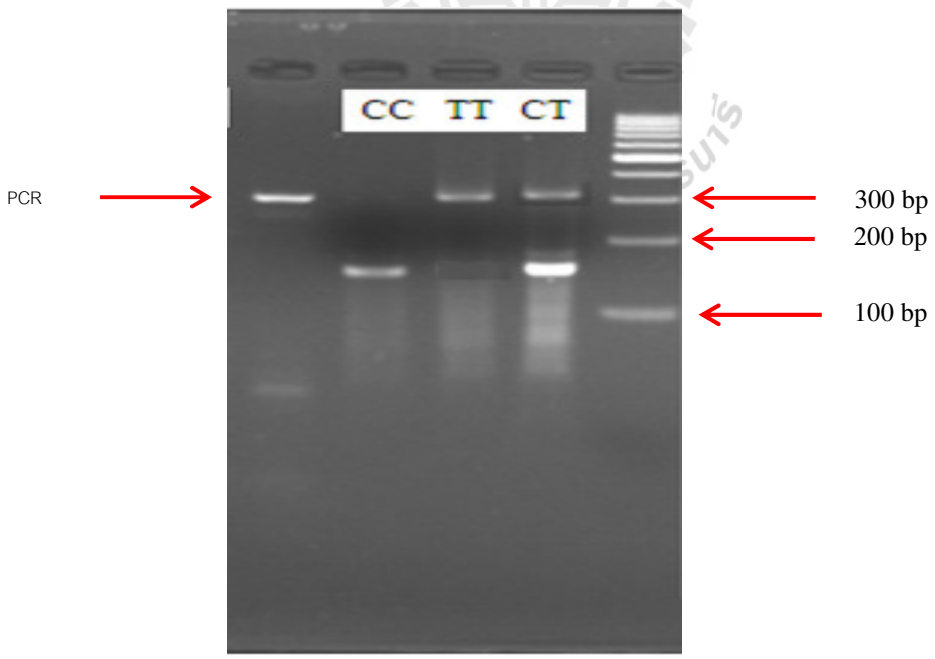
Recognition Site:

5'…GCG/C…3'

3'…C/GCG…5'

ภาพที่ 3 บริเวณของ recognition site ของเอนไซม์ *HhaI*

จากการศึกษาของ Marson et al. (2008) พบว่ายีนมีรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ TT CT CC ซึ่งมีขนาด 303 bp, 303 และ 155/148 bp, 155/148 bp ตามลำดับ บนโครโมโซมคู่ที่ 11 exon ที่ 11



ภาพที่ 4 แถบ PCR product ขนาดต่างๆ ที่บ่งบอกถึง genotype CC, TT, และ CT

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความถี่ของ allele และ genotype ของยีน *LHR*

วิเคราะห์ความถี่ allele และ genotype รวมถึงการทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) ของยีน LHR ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป GENEPOP version 3.4 (Raymond M. and Rousset F., 1995)

การตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล

ตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลซึ่งได้แก่ outlier การกระจายตัวของข้อมูลแบบ normal distribution ค่าเฉลี่ย การส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Release 10) (SPSS, Inc., Chicago, IL)

การศึกษาความสัมพันธ์และอิทธิพลของยีนรูปแบบต่างๆ ต่อลักษณะที่สนใจ

การศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบต่างๆของยีนกับลักษณะที่สนใจ ได้แก่โดย ข้อมูลอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก ข้อมูลอัตราการผสมติด ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่างเป็นรายตัวด้วย สมการ general linear model และประมาณค่าอิทธิพลของยีนต่อลักษณะที่สนใจโดยใช้ Ordinary Least Square (OLS) ดังตัวแปรที่แสดงในสมการด้านล่างนี้

$$y = X_1\beta_1 + X_2\beta_2 + \varepsilon$$

เมื่อ y คือ ค่าสังเกต ได้แก่ ข้อมูลอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก ข้อมูลอัตราการผสมติด ช่วงห่างการให้ลูกและจำนวนวันท้องว่างรายตัว , μ คือ ค่าเฉลี่ยกลางประชากร, β_1 คือ อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ ระยะการให้นม ระดับสายเลือด ฝูง-ปี-ฤดูกาล จำนวนวันที่รีดนม (day in milk) β_2 เป็นอิทธิพลเนื่องจาก genotype , ε คือ อิทธิพลของความคลาดเคลื่อนอื่นๆ X_1, X_2 คือ incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลคงที่ และแสดงการปรากฏของรูปแบบ allele หรือ genotype ในแต่ละค่าสังเกต (โดยเลือก genotype ที่มีความถี่มากกว่า 0.05) ตามลำดับ

ทดสอบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยวิธี Analysis of variance และตัวสถิติ F ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Release 10) (SPSS, Inc., Chicago, IL)

อนึ่งสำหรับค่าอิทธิพลของ genotype ที่วิเคราะห์ได้จากวิธี OLS นั้นสามารถบ่งบอกถึงนัยสำคัญของค่าอิทธิพลแบบ additive effect และ dominance effect โดยการพิจารณาเปรียบเทียบค่าอิทธิพลของ genotype ที่เป็นแบบ homozygous และ heterozygous ได้ โดยใช้วิธี least significance ในการทดสอบความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 3
ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

เพื่อให้ได้ข้อสรุปว่ายีน LHR มีศักยภาพในการประยุกต์เป็น gene marker สำหรับการช่วยในการคัดเลือกโคนมลูกผสมโฮลสไตล์ในประเทศให้มีความสมบูรณ์พันธุ์ที่ดีขึ้น ได้หรือไม่นั้น การศึกษานี้ จึงได้ ศึกษาประเด็นที่สำคัญ คือ จำนวนรูปแบบของยีนที่พบในโคนมลูกผสมโฮลสไตล์การศึกษาความถี่ของรูปแบบต่างๆของยีนนี้ในโคนมลูกผสมโฮลสไตล์ เพื่อบอกถึงสภาพความสมดุล Hardy – Weinberg ซึ่งจะบอกถึงความสามารถในการเพิ่มความถี่ของยีนในบางรูปแบบที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจ และ การศึกษาถึงความสัมพันธ์และระดับของอิทธิพลของยีนดังกล่าวกับการเพิ่ม หรือลด ลักษณะที่สนใจ เพื่อระบุว่ายีนดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็น gene marker ได้หรือไม่ และ ดังนั้นในการรายงานผลการศึกษาจึงรายงานตามประเด็นที่กล่าวมา ดังนี้

ข้อมูลความสมบูรณ์พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีค่าเฉลี่ยของค่าความสมบูรณ์พันธุ์ ต่างๆ ที่แสดงในตารางที่ 2 แตกต่างจากค่ามาตรฐานค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตาม ค่าดังกล่าวของกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษานี้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ สุณีรัตน์ และคณะ (2549), อดิศร และคณะ (2550) และ ชนิตา และคณะ (2553) ซึ่งสถานการณ์เช่นนี้ บ่งบอกถึงสมรรถนะด้านการสืบพันธุ์ของโคนมของกลุ่มตัวอย่างและภาพรวมของประเทศยังค่อนข้างมีปัญหา ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุมาจากการจัดการ และด้านพันธุกรรมด้วย และการปรับปรุงลักษณะดังกล่าวให้ดีขึ้น ควรต้องให้ความสำคัญกับการจัดการและพันธุกรรมควบคู่กัน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย และ (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และค่ามาตรฐานของจำนวนครั้งการผสมติด (Number of service), จำนวนวันท้องว่าง (Day open), ระยะห่างของการให้ลูก (Calving interval), อัตราการผสมติด (Conception rate)

Traits	Number of record	Mean (SD)	Standard[1/]
Number of service (time)	235	2.35 (1.47)	< 2
Day open (day)	227	199.59 (95.16)	<100
Calving interval (day)	210	467.84 (101.24)	<380
Conception rate (%)	235	59.90 (31.86)	70

1/ อ้างอิงจากสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ (2554)

ความถี่ allele และ genotype และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน LHR

เพื่อนำไปสู่ข้อสรุปที่ว่า ยีน LHR จะมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็น marker assisted selection (MAS) ให้กับโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ในประเทศได้หรือไม่นั้น ในเบื้องต้นการศึกษาในเรื่องรูปแบบ และความถี่ของยีนดังกล่าวมีความสำคัญ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ยีน LHR มีศักยภาพเบื้องต้นที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็น MAS ในประชากรโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ในประเทศได้ ในกรณีที่พบว่า genotype CC หรือ CT มีความสัมพันธ์ในทางที่ดีต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ เนื่องจาก การศึกษาครั้งนี้พบรูปแบบ genotype CC มีความถี่สูงที่สุดเมื่อเทียบ genotype CT และ TT และ genotype TT เป็นรูปแบบที่มีความถี่ต่ำสุด (ตารางที่ 3)

อนึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าความถี่ของ genotype TT นั้นต่ำมาก เมื่อพิจารณาจากงานวิจัยที่ทำก่อนหน้านี้โดย Marson et al. (2008) พบว่างานทั้งสองนี้มีความสอดคล้องกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเด็นของความถี่ของ genotype TT ซึ่งต่ำมาก โดยงานของ Marson et al. (2008) ทำการศึกษาในโคลูกผสมระหว่าง *Bos Taurus* x *Bos indicus* ซึ่งมีโครงสร้างทางพันธุกรรมคล้ายคลึงกับกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ จึงมีความเป็นไปได้ที่รูปแบบความถี่ที่พบเช่นนี้ เป็นลักษณะเฉพาะของโคลูกผสม

ในประเด็นของ Hardy – Weinberg equilibrium นั้น ยีน LHR ในกลุ่มตัวอย่างโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ยังคงอยู่ในสภาพสมดุล hardy –Weinberg ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในกลุ่มตัวอย่างนี้ยังไม่มีการใช้ยีนดังกล่าวในการคัดเลือกโค หรืออาจกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่า กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้ยังไม่ถูกปรับปรุงพันธุกรรมในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ โครงสร้างของยีน LHR ในกลุ่มตัวอย่างนี้ยังคงอยู่ในสภาพสมดุล ภายใต้เงื่อนไงว่า สมมุติฐานของการศึกษาครั้งนี้ คือ ยีนดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์กับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ ถูกต้อง

ตารางที่ 3 ความถี่ allele และ genotype (จำนวนตัว) และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน LHR

Gene	Number of cows	Allele frequency		Genotype frequency		
		C	T	CC	CT	TT
LHR	241	0.91	0.09	0.82 (198)	0.17 (41)	0.01 (2)

P – value : Hardy-Weinbreg equilibrium test 1.00

อิทธิพลรูปแบบของยีน LHR ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

สมมุติฐานของการศึกษาครั้งนี้ คือ รูปแบบของยีน LHR มีความสัมพันธ์กับลักษณะด้านความสมบูรณ์ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ และ การศึกษาครั้งนี้พบว่าผลการศึกษาไม่เป็นไปตามสมมุติฐานในทุกลักษณะของความสมบูรณ์พันธุ์โดยรายละเอียดของผล แสดงในตารางที่ 4

โดยทฤษฎีแล้ว LHR เป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการตกไข่ และการเป็นสัด (Alan et al., 2003) และจากการศึกษาเรื่องบทบาทและหน้าที่ของ LHR ในสัตว์ และมนุษย์ จำนวนหนึ่ง เช่น งานของ Minegishi et al. (2008) ซึ่งทำการศึกษาในมนุษย์ Smith et al. (1996) ทำการศึกษาในแกะ Liron et al. (2012) ทำการศึกษาในโคเนื้อ Hastings et al. (2006); Mihm et al. (2006) และ Marson et al. (2008) ซึ่งทำการศึกษาในโคนมต่างกล่าวเช่นเดียวกันว่า LHR มีบทบาทสำคัญ ตั้งแต่ การเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของสัตว์ และเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์แล้วยังมีบทบาทเกี่ยวกับการเป็นสัดของสัตว์ด้วย ดังนั้นจึงเป็นที่ชัดเจนว่า การทำงานของ LHR นั้นจะมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการทำงานของฮอร์โมน LH ดังนั้น การที่สัตว์จะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ แสดงการเป็นสัด และมีวงรอบการเป็นที่เป็นปกตินั้นย่อมขึ้นอยู่กับการทำงานของ LHR ด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนดังกล่าวกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ Liron et al. (2012) และ Marson et al.(2008) พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ จากที่กล่าวมา จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจว่า เหตุใดในการศึกษาเหล่านี้จึงไม่พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างรูปแบบของยีน LHR และลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์

แม้ว่าโดยทฤษฎี ยีน LHR จะมีความเกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ แต่ก็ชัดเจนว่า โดยตรงแล้วยีน LHR มีความเกี่ยวข้องกับการตกไข่ และการเป็นสัด ดังนั้นอาจมีความเป็นไปได้ที่ลักษณะที่การศึกษาในครั้งนี้ และการศึกษาของ Liron et al. (2012) และ Marson et al.(2008) ซึ่งเน้นการศึกษาความสัมพันธ์กับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการผสมติด เช่น อัตราการผสมติด ช่วงห่างการให้ลูก จำนวนวันท้องว่าง (ถ้าการผสมติดต่ำ ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่างจะยาว) ซึ่งโดยข้อเท็จจริงแล้ว แม้ว่าลักษณะเหล่านี้ จะเป็นลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่และการเป็นสัดก็ตาม แต่ในขณะเดียวกันก็มีอิทธิพลเนื่องจากสิ่งแวดล้อม และการจัดการร่วมอยู่มาก และในกรณีที่การจัดการฝูงสัตว์ทำได้ไม่เต็มที่ และไม่สม่ำเสมอ ลักษณะปรากฏที่แสดงออกมา ก็เป็นผลเนื่องสิ่งแวดล้อม และการจัดการเป็นส่วนใหญ่ จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไม่สามารถตรวจพบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติได้ อนึ่งในเบื้องต้นของการศึกษาครั้งนี้ มีเป้าหมายเพื่อต้องการใช้ MASในการปรับปรุงพัฒนาลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการผสมติด และคาดว่าลักษณะที่เลือกใช้ในการศึกษา และลักษณะการตกไข่และการเป็นสัด จะมีความสัมพันธ์กันและเป็นสาเหตุให้เราสามารถตรวจพบความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเหล่านี้กับยีน LHR ด้วย ดังนั้น เมื่อผลการศึกษาไม่เป็นไปตามที่คาดไว้ ในการศึกษาต่อไปในอนาคตอาจต้องพิจารณาเลือกลักษณะการตกไข่ และการเป็นสัด โดยตรงและจำเป็นต้องมีการวางแผนในการเก็บบันทึกข้อมูลเหล่านี้เป็นอย่างดี

อีกสาเหตุหนึ่งที่เป็นไปได้คือ โดยทฤษฎีทางสถิติการตรวจสอบความแตกต่างทางสถิติ มีโอกาสในการเกิด type II error ได้โดย สาเหตุหลักของการเกิด type II error ได้แก่ จำนวนข้อมูลที่น้อยเกินไป ความแตกต่างของหน่วยทดลองที่เกิดตามธรรมชาติมากไม่เหมาะสมกับจำนวนข้อมูล และขนาดของ effect size ที่เล็กเมื่อเทียบความความแตกต่างทางธรรมชาติ เมื่อวิเคราะห์การศึกษาครั้งนี้ พบว่า มีความเป็นไปได้ที่การศึกษาครั้งนี้อาจเป็นกับ type II

error ที่สูง เนื่องจาก จะ สังเกตเห็นว่าความแตกต่างเนื่องจากธรรมชาติมีค่าสูงมาก (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของข้อมูลที่สูง; ตารางที่ 2) และสะท้อนออกมาด้วยค่า power of test (โอกาสที่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อความแตกต่างนั้นมีอยู่จริง) ที่ต่ำมาก (ประมาณ 10%)

ตารางที่ 4 อิทธิพลของ genotype รูปแบบต่างๆของยีน LHR (Luteinizing Hormone Receptor) ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

Traits	Least square mean (SE)		Genotype effect	
	CC	CT	CC	CT
Number of service (time)	2.64 (0.22)	2.16 (0.43)	0.48	0
Day open (day)	189.09 (15.40)	200.54 (29.36)	-11.45	0
Calving interval (day)	442.85 (17.35)	422.60 (33.12)	20.25	0
Conception rate (%)	55.18 (4.9)	68.65 (9.37)	-13.42	0

รูปแบบอิทธิพลของยีน LHR ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

ในการใช้ยีน LHR เป็น MAS รูปแบบของอิทธิพลของยีน (additive effect, dominance effect) เป็นอีกประเด็นหนึ่งที่สำคัญ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเหตุผลของการไม่พบนัยสำคัญครั้งนี้เป็นเหตุผลเดียวกับหัวข้อก่อนหน้านี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาที่กล่าวมา สามารถกล่าวได้ว่ายีนนี้มีศักยภาพในเบื้องต้นของการนำมาประยุกต์ใช้เป็นยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ทั้งนี้พิจารณาจากจำนวน genotype และความถี่ของ genotype ที่พบในการศึกษา ซึ่งแสดงว่าสามารถใช้ยีนตำแหน่งนี้ในการคัดเลือกในประชากรนี้ได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อศึกษาถึงอิทธิพลของยีนต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์จำเป็นที่ต้องสรุปว่า ยีน LHR ยังไม่มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็น MAS สำหรับฝูงโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ภายใต้การจัดการที่ก่อให้ความความแปรปรวนของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ซึ่งได้แก่ อัตราการผสมติด ช่วงห่างการให้ลูก จำนวนวันท้องว่าง มากเช่นการศึกษานี้ ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบของยีน LHR กับลักษณะดังกล่าว อย่างไรก็ตาม ถ้าฝูงโคนมนั้นมีเป้าหมายในการพัฒนาพันธุกรรมของลักษณะเหล่านี้ให้ดีขึ้น การจัดการที่เหมาะสมต่อเนื่อง อันจะทำให้ การแสดงออกของลักษณะต่างๆเหล่านั้นมีความสม่ำเสมอมากขึ้น มีความ
จำเป็นมาก

สำหรับการศึกษาที่จะทำต่อไปในอนาคต เมื่อการจัดการมีความสม่ำเสมอขึ้น การศึกษาเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบยีน LHR กับลักษณะดังกล่าวและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่ และการเป็นสัดโดยตรง เป็นประเด็นที่ควรให้ความสำคัญ อย่างไรก็ตามลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่ และการเป็นสัดโดยตรง เป็นลักษณะที่เก็บข้อมูลได้ยาก และอาจสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย เช่นลักษณะของปริมาณฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่และการเป็นสัด ดังนั้นการพบความสัมพันธ์ของยีนกับลักษณะเหล่านี้ อาจประยุกต์ใช้ในการทำงานจริงได้ยาก การศึกษาความสัมพันธ์ เช่น correlation ระหว่างปริมาณฮอร์โมนและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์ เป็นอีกประเด็นหนึ่งที่ควรให้ความสำคัญ นอกจากนี้การศึกษาอีกประเด็นหนึ่ง คือ การเปลี่ยนตำแหน่งเป็นบริเวณอื่นๆของยีน LHR ซึ่งอาจใช้การออกแบบ primer หรือเทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ เพื่อให้ได้ตำแหน่งที่มี polymorphism และทดสอบความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจต่อไป

การประยุกต์ประโยชน์จากงานวิจัย

ในการศึกษาเรื่องนี้นักวิจัยมีความคาดหวังว่า กรณีที่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ จะใช้ genotype ของยีนนี้ในการร่วมประเมินค่าทางพันธุกรรม เพื่อใช้ในการคัดเลือกโคนม ทั้งนี้มีแผนการใช้ประโยชน์คือ ฟาร์มโคนมของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป็นฟาร์มโคนมที่มีเป้าหมายในการพัฒนาพันธุกรรมของโคนม และจำหน่ายโคนมที่ผ่านการพัฒนาพันธุกรรมแล้วให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมของประเทศ ซึ่งจะทำให้โคนมเหล่านี้เป็นโคนมที่มีความสามารถในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์ที่ดี และเป็นกลไกหนึ่งที่จะทำให้โคนมของประเทศมีลักษณะเหล่านี้ดีขึ้น อันเป็นการช่วย และพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงนมในประเทศให้ดีขึ้นได้

เอกสารอ้างอิง

ชนิตา สุจริตธัญตระกูล; กฤษฎา บำรุงกิจ; ศุภชาติ ปานเนียม. 2553. สมรรถภาพระบบสืบพันธุ์โคนมของฟาร์มโคนมในเขตอำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสาขาสัตวแพทยศาสตร์ครั้งที่ 48. 274-282.

สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย, สินชัย เรืองไพบูลย์, อดุลย์ วังตาล, จิตศักดิ์ ไชยพาน, และ ฉลอง วชิราภากร. 2549. บทวิเคราะห์อุตสาหกรรมโคนมไทยกับการแข่งขันในอนาคตและการปรับตัวของ เกษตรกร. ประชุมวิชาการโคนม 2549 “ อุตสาหกรรมโคนมไทยกับการแข่งขันในอนาคตและ การปรับตัวของเกษตรกร” 21-22 สิงหาคม 2549 คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์, กรมปศุสัตว์. 2554. ดัชนีบ่งชี้ประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ของโคนม [ออนไลน์]. ได้จากhttp://www.dld.go.th/biotech/Data/Nuch/The_system_ reproduces/system_ efficiency_reproduce/System_efficiency_reproduces

อดิศร ยะวงศา ณัฐพล เมืองทอง และ คมเดช จีนะเจริญ. 2550. ประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ของแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนในฟาร์มรายย่อยเขตอำเภอกำแพงแสนจังหวัดนครปฐมปี 2545-2549. วิทยาสารกำแพงแสน. 5(2); 11-18.

Abdel-Azim, G. and A.E. Freeman. 2003. Effect of including a quantitative trait locus in selection under different waiting plans of young bulls. J. Dairy Sci. 86:667.

Arslan, A. A., Zeleniuch-Jacquotte, A., Lukanova, A., Rinaldi, S., Kaaks, R. and Toniolo, P. 2003. Reliability of follicle-stimulating hormone measurements in serum. Reproductive Biology and Endocrinology. 1:49.

Hafez, E.S.E., and B. Hafez. 2000. Reproduction in farm animals. 7th ed. Wolters Kluwer Company, USA.

Hastings, N., S. Donn, K. Derecka, A.P. Flint, and J.A. Woolliams. 2006. Polymorphisms within the coding region of the bovine luteinizing hormone receptor gene and their association with fertility traits. Animal Genetics.37:583.

Holmberg, M. and L. Andersson – Eklund. 2006. Quantitative trait loci affecting fertility and calving traits in Swedish dairy cattle. J. Dairy Sci. 89:3664.

Lande, R. and R. Thompson. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement ofquantitative trait. Genetics 124:743.

Marson, E.P., Ferraz,J.B.S., Meirelles, F. V., Balieir, J.C.C. and Eler, J. P. 2008. Effects of polymorphisms of LHR and FSHR genes on sexual precocity in a *Bos Taurus* x *Bos indicus*beef composite population. Genetics and Molecular Research.7:243.

Meuwissen, T.H.E., and J.A.M. Van Arendonk. 1992. Potential improvements in rate of genetic gain from marker-assisted selection in dairy cattle breeding schemes. J. Dairy Sci. 75:1651.

Mihm, M., P.J. Baker, J.L.H. Ireland, G.W. Smith, P.M. Coussens, A.C.O. Evans, and J.J. Ireland. 2006. Molecular evidence that growth of dominant follicles involves a reduction in follicle-stimulating hormone dependence and an increase in luteinizing hormone dependence in cattle. Biology of Reproduction.74:1051.

Minegishi, T., K. Nakamura, S. Yamashita, S. Ikeda, and K. Kogure. 2008. Regulation of human luteinizing hormone receptor in the ovary. Reproductive Medicine and Biology. 7:11.

Raymond, M. and Rousset, F. 2003. Genepop 3.4., an updated version of Genepop V.1.2 (1995): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal Heredity.86:248-9.

Rhoads, M.L., J.P. Meyer, S.J. Kolath, W.R. Lamberson, and M.C. Lucy. 2008. Growth hormone receptor, insulin-like growth factor (IGF)-1, and IGF-binding protein-2 expression in the reproductive tissues of early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 91:1802.

Smith, G.W., P.C. Gentry, R.M. Roberts, and M.F. Smith. 1996. Ontogeny and regulation of luteinizinghormone receptor messenger ribonucleic acid within the ovine corpus luteum. Biology of Reproduction.54:76.

Spelman, R.J. and D.J. Garrick. 1998. Genetic and economic responses for within-family marker-assisted selection in dairy cattle breeding Schemes. J. Dairy Sci. 81:2942.

Veerkamp R.F., and B. Beerda. 2007. Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. Theriogenology.68:266.

Wall, E., S. Brotherstone, J.A. Woolliams, G. Banos, and M.P. Coffey. 2003. Genetic evaluation of fertility using direct and correlated traits. J. Dairy Sci. 86:4093.

Zhang, Y., N. Fatima, and M.L. Dufau. 2005. Coordinated changes in DNA methylation and histone modifications regulate silencing/derepression of luteinizing hormone receptor gene transcription. Molecular and Cellular Biology.25:7929.

http://www.did.go.thวันที่ 2 กันยายน 2551

http://en.wikipedia.org/wiki/LHCG_receptor; วันที่ 1กย. 2551;

ประวัตินักวิจัย

1. **ชื่อ – นามสกุล** **(ภาษาไทย)** นางอมรรัตน์ โมพี
   (ภาษาอังกฤษ) Ms.Amonrat Molee
2. **คุณสมบัติทางวิชาการ มีรายละเอียดดังนี้**
   1. **ประเภทงาน** เป็นอาจารย์มหาวิทยาลัย
   2. **ตำแหน่ง** อาจารย์
3. **หน่วยงานและที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวกพร้อมหมายเลขโทรศัพท์, โทรสาร, มือถือ และ e-mail**

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
โทรศัพท์ 0897446440 e-mail amonrat2369@yahoo.com

4. **ประวัติการศึกษา**

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สัตวศาสตร์)	2533	มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์)	2538	มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปรับปรุงพันธุ์สัตว์)	2548	มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย

5. **สาขาวิชาการที่ชำนาญที่สุด (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ (ถ้ามี)**

ด้านการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งด้าน conventional และ Molecular breeding และการจัดการฐานข้อมูล

6. **ผลงานวิจัย**
   1. **ผลงานที่ตีพิมพ์ โปรดเขียนแยกเป็นรายหัวข้อ**

ผลงานตีพิมพ์วารสารภายในประเทศและนานาชาติ

อมรรัตน์ โมพี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2549. ผลตอบสนองการคัดเลือกเมื่อใช้โมเดลที่มี อิทธิพลของยีนหลักโดยการจำลองข้อมูลในโคนม. วารสารแก่นเกษตร.4(33).

Molee A., B. Bundasak, P. Kuadantiat, and P. Mernkrathoke. 2011. Suitable Precentage of Holstein in Crossbred Dairy Cattle in Climate Change Situation. Journal of Animal and Veterinary Advances. 10(7): 828 – 831.

Molee A., L. Boonek, and N. Rungsakinnin. 2011. The effect of beta and kappa casein genes on milk yield and milk composition in different percentages of Holstein in crossbred dairy cattle. Anim. Sci. J. 82:512 – 516.

Molee A., N. Duanghaklang, and P. Na-Lampang. 2012. Effects of Acyl-CoA:diacylglycerol acyl transferase 1 (DGAT1) gene on milk production traits in crossbred Holstein dairy cattle. Trop. Anim. Health Prod. 44:751 - 755.

ผลงานตีพิมพ์ในรายงานการประชุมและนานาชาติ

อมรรัตน์ โมพี, มนต์ชัย ดวงจินดา, วิโรจน์ ภัทรจินดา, สุภร กตเวทิน, จิรวัฒน์ สนิทชน, กนก ผลารักษ์, และ พงษ์ชาญ ณ ลำปาง. 2547. การตรวจหา quantitative trait loci ต่อ ลักษณะปริมาณน้ำนมบนโครโมโซมคู่ที่ 3 ในประชากรโคนมลูกผสม. งานประชุมประจำปีเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 16. มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

อมรรัตน์ โมพี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2548. ผลตอบสนองการคัดเลือกเมื่อใช้โมเดลที่มีอิทธิพลของยีนหลักโดยการจำลองข้อมูลในโคนม. งานประชุมสัมมนา วิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 1. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อมรรัตน์ โมพี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2549. ขนาดประชากรที่เหมาะสมในการ วิเคราะห์หายีนควบคุมลักษณะเชิงปริมาณน้ำนมในโคนโดยการจำลองข้อมูล.งานประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 1. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นพนันต์ รังสะกินนิน, เลอชาติ บุญเอก และ **อมรรัตน์ โมพี**. 2552. รูปแบบยีนเบต้าและแคปป้าเคซีนในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน. การประชุมวิชาการครั้งที่ 5, ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บดินทร์ วงศ์พรหม, วาณี ชัยวัฒนสิน, **อมรรัตน์ โมพี**. 2553. การศึกษา single nucleotide polymorphism ของยีนไทโรโกบูลินในโคเนื้อลูกผสม. ประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 11 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

กนก เชาวภายี อมรรัตน์ โมพี และ วาณี ชัยวัฒนสิน. 2551. การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมและคุณค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะทางเศรษฐกิจบางลักษณะในโคกำแพงแสน. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Molee A., M. Duangjinda, V. Pattarajinda, S. Katawatin, J. Sanitchon, K Phalaraksh, and P. Na-Lampang. 2005. Detection of putative quantitative trait loci affecting milk yield on chromosome 3 in Thai crossbred Holstein. Annaul conference for 2nd graduate agriculture biotechnology, Juraporn research centre. Bangkok. (Poster)

Molee A., N. Rungsakinnin, and L. Boonek. 2010. Beta and Kappa Casein Gene's Effect on binary data of Milk Composition in Crossbred Holstein in Thailand. 14th Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP), Pingtung, Taiwan, ROC.

Molee A., N. Duanghaklang, and P. Mernkrathoke.2011. Interaction Effect of DGAT1 and Composite Genotype of Beta-Kappa Casein On Economic Milk Production Traits in Crossbred Holstein. World Academy of Science, Engineering and Technology 80. Paris, France.

บทความทางวิชาการ

อมรรัตน์ โมพี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2549. ยีนเครื่องหมายที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. วารสารสัตวบาล.16(77).

มนวิไล เสรีบุตร, และ อมรรัตน์ โมพี. 2551. การใช้ยีน MC4R และยีน IGF2 เป็นเครื่องทางพันธุศาสตร์เพื่อช่วยในการคัดเลือกสุกร. วารสารสัตวบาล. 18(82)

7. **บทบาทความรับผิดชอบในโครงการ เช่น เป็นหัวหน้าโครงการ/ นักวิจัยหลักในโครงการ / นักวิจัยที่สนับสนุนเพียงบางกิจกรรม**

7.1 *โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น* โครงการการสำรวจเพื่อศึกษาสถานภาพการเลี้ยงกวางในประเทศไทย

หน้าที่รับผิดชอบ ผู้วิจัยและเลขานุการโครงการ

แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

7.2 *โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น* การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะคุณภาพเนื้อของโคกำแพงแสน

หน้าที่รับผิดชอบ ผู้ร่วมวิจัย

แหล่งให้ทุน สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.3 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนเคซีนกับระดับสายเลือดโฮลสไตล์ในโคนมลูกผสม

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

7.4 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** รูปแบบของยีน Luteinizing Hormone Receptor ต่อลักษณะความ สมบูรณ์พันธุ์ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.5 ***โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ*** รูปแบบของยีน Major Histocompatibility Complex ต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคในไก่พื้นเมืองไทย

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.6 ***โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ*** การสร้างสายพันธุ์ “ไก่เนื้อโคราช” เพื่อการผลิตเป็นอาชีพวิสาหกิจชุมชน

หน้าที่รับผิดชอบ ผู้ร่วมวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

7.7 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* ยีน Insulin – like growth factor I, II เพื่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่พื้นเมืองไทย

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.8 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* การใช้รูปแบบยีนที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตน้ำนมและความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์เป็นปัจจัยในการประมาณค่าการผสมพันธุ์

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.9 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* ความสัมพันธ์ของอิทธิพลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การต้านทานโรค และคุณภาพเนื้อในไก่พื้นเมือง

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.10 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* การเปรียบเทียบรูปแบบยีนที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตไข่ในไก่ไข่สายพันธุ์การค้าและไก่พื้นเมือง

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี