บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การสกัดดีเอ็นเอและความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

การศึกษาในครั้งนี้มีการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยการวัดที่ความยาวคลื่นแสง 260 นาโนเมตร เพื่อหาค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอ พบว่า ดีเอ็นเอที่สกัดจากชิ้นส่วนใบหู เลือดและน้ำเชื้อมีค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอเฉลี่ย 701.07, 510 และ 82.35 ng/µl ตามลำดับ ซึ่งค่าที่วัดได้มีค่าน้อยกว่าในรายงานของ รังสรรค์ (2549) ซึ่งตรวจความเข้มข้นโดยใช้เครื่อง Automated Spectrophotometer (Nanodrop®) พบว่าชิ้นส่วนใบหูและเลือด มีค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอ เท่ากับ 1,489.01 และ 1,570.29 ng/µl ตามลำดับ โดยค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากการปริมาณเนื้อเยื่อที่ใช้และชนิดของเครื่อง Spectrophotometer เนื่องจากเครื่องแบบธรรมดาจะมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน และอาจเกิดความผิดพลาดในระหว่างการเตรียมตัวอย่างก่อนทำการวัดในขั้นตอนการเจือจางตัวอย่างปริมาณ 100 เท่าก่อนทำการวัด หรือขั้นตอนการทำความสะอาด Cuvett ที่บรรจุสารละลายดีเอ็นเอเจือจาง นอกจากนี้เครื่อง Spectrophotometer แบบธรรมดาจะตรวจสอบสารละลายดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้นต่ำได้ยากหรือไม่ได้เลย (จิระประภาและวิไลวรรณ, 2539)

5.2 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยพีซีอาร์

จากการศึกษาเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีความยาว 74 bp เช่นเดียวกับการศึกษาของ Fujii *et al.* (1991) ที่เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสเดียวกันในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในช่วงลำดับเบสที่ 1,811 ถึง 1,884 แตกต่างจากการศึกษาของ Houde *et al.* (1993) และ Bastos *et al.* (2000) ได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีความยาว 81 bp เนื่องจากใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสในการเริ่มต้นปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ต่างกันทำให้ได้ผลผลิตจากพีซีอาร์มีความยาวต่างกัน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่นๆ ที่เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยพีซีอาร์ ได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีความยาว 659 bp (Bu *et al*., 2000; Burgos *et al*., 2005; Band *et al*., 2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.3 การจำแนกจุดกลายพันธุ์โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP

เมื่อทำการจีโนไทป์สุกรทั้งหมด 363 ตัว ด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ *Hin* 6I ได้ผลผลิตพีซีอาร์และขนาดความยาวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอหลังถูกตัดด้วยเอนไซม์เช่นเดียวกับการศึกษาของ Fujii *et al.* (1991) ในการตรวจหาการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 1,843 ในการศึกษาอื่นๆ รายงานผลการศึกษาที่มีความยาวของผลผลิตพีซีอาร์และชิ้นส่วนดีเอ็นเอต่างกันเนื่องจากการใช้ไพรเมอร์คนละตำแหน่งและการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะคนละชนิด เช่น การศึกษาของ Houde *et al.* (1993) และ Bastos *et al.* (2000) ที่ได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีความยาว 81 bp และใช้เอนไซม์ *Hha*I และ *Cfo*I ที่มีจุดตัดจำเพาะ จะได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีความยาว 49 และ 32 bp ในกรณีที่มีเบส C ส่วนเบส T จะไม่ถูกตัดโดยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ทำให้มีความยาวของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเป็น 81 bp นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Bu *et al.* (2000); Burgos *et al.* (2005) และ Band *et al.* (2005) ที่ได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีความยาว 659 bp ทำการตัดผลผลิตดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ต่างกันมีผลทำให้ได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีความยาวแตกต่างกัน โดยในการศึกษาของ Bu *et al.* (2000) ใช้เอนไซม์ *Hha*I ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีจุดตัดที่จำเพาะทำให้ได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีความยาว 166 และ 493 bp ในกรณีที่มีเบส C และมีความยาว 659 bp ในกรณีที่เป็นเบส T ซึ่งจะไม่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hha*I ส่วนการศึกษาของ Burgos *et al.* (2005) และ Band *et al.* (2005) ใช้เอนไซม์ *BsiHKAI* พบว่า ในกรณีที่มีเบส C ผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากการทำพีซีอาร์จะมีความยาว 524 และ 135 bp ส่วนเบส T จะถูกตัดโดยเอนไซม์ *BsiHKAI* ทำให้ได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีความยาว 358, 166 และ 135 bp

5.4 การวิเคราะห์ความถี่ของจีโนไทป์และความถี่อัลลีล

ผลการวิเคราะห์ความถี่อัลลีลของจุดกลายพันธุ์ในยีน *RYR1* มีความแตกต่างกับการศึกษาของ Bastos *et al.* (2000) ซึ่งพบว่าสุกรพันธุ์เพียเทรนมีความถี่อัลลีล C : T = 0.37 : 0.63 มีแนวโน้มใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Knorr and Brenig (2003) ที่ทำการทดสอบจุดกลายพันธุ์นี้ในสุกรพันธุ์ต่างๆในประเทศเยอรมัน โดยพบว่าสุกรพันธุ์เพียเทรนมีความถี่อัลลีล C อยู่น้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ (C : T = 0.01 : 0.91) ซึ่งทำให้สุกรพันธุ์นี้แสดงอาการของโรค PSS มาก สอดคล้องกับการศึกษาของ Carolino *et al.* (2007) ทำการศึกษาความถี่ของยีน *RYR1* ในสุกรพันธุ์เพียเทรน พบความถี่ของอัลลีล C : T เท่ากับ 0.25 : 0.75 สำหรับประเทศไทยมีรายงานของ ภานุพงศ์ (2549) ที่ทำการศึกษาในสุกรพันธุ์เพียเทรน ภายในศูนย์วิจัยบำรุงพันธุ์สัตว์สันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ พบความถี่ของอัลลีล C : T เท่ากับ 0.63 : 0.37 แต่ไม่มีความแตกต่างของความถี่อัลลีล C : T ในสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ แลนด์เรซ และดูรอค และเมื่อนำผลการศึกษาในแต่ละประชากรมาเปรียบเทียบจะเห็นได้ว่าความถี่อัลลีล C ในสุกรสายพันธุ์ลาร์จไวท์ แลนด์เรซ และดูรอค มีความแปรปรวนน้อย (SE±0.012, ±0.035 และ ±0.059

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตามลำดับ) (ตาราง 12) แต่ในสุกรสายพันธุ์เพียเทรนมีความแตกต่างของอัลลีล C ในประชากรของประชากรในแต่ละการศึกษาสูง (SE±0.141) ทั้งนี้อาจขึ้นมาจากการคัดเลือกที่เข้มงวดหรือมีการคัดเลือกสุกรพันธุ์เพียเทรนโดยใช้วิธีการอณูพันธุศาสตร์ให้ปลอดจากยีนเครียด

ตาราง 12 เปรียบเทียบความถี่อัลลีล C และ T ของยีน *RYR1* กับการศึกษาในประชากรอื่นๆ

ความถี่อัลลีล (C:T)				อ้างอิง
แลนด์เรซ	ลาร์จไวท์	ดูรอค	เพียเทรน	
0.85 : 0.15	0.93 : 0.07	0.94 : 0.06	0.87 : 0.13	จากการศึกษานี้
-	-	-	0.63 : 0.37	ภานุพงศ์ (2549)
0.58 : 0.42	0.92 : 0.08	0.67 : 0.33	0 : 1	Fujii *et al*. (1991)
0.85 : 0.15	0.89 : 0.11	0.97 : 0.03	-	Houde *et al*. (1993)
0.78 : 0.22	0.96 : 0.04	0.91 : 0.09	0.37 : 0.63	Bastos *et al*. (2000)
0.80 : 0.20	0.99 : 0.01	-	0.01 : 0.99	Knorr and Brenig (2003)
0.75 : 0.25	0.92 : 0.08	-	-	Bogdzinska (2004)
0.72 : 0.28	0.95 : 0.05	1 : 0	0.25 : 0.75	Carolino *et al*. (2007)
0.76 ± 0.035	0.94 ± 0.012	0.90 ± 0.059	0.36 ± 0.141	ค่าเฉลี่ยอัลลีล C ± S.E

จากการศึกษาความถี่อัลลีลในสุกรพื้นเมืองของประเทศต่างๆ พบว่า สุกรพันธุ์เหมยซานมีลักษณะการปลอดจากโรค PSS ทั้งหมดคือมี C : T = 1 : 0 (Knorr and Brenig, 2003) สอดคล้องกับการจีโนไทป์สุกรไทยพื้นเมืองในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งแสดงถึงลักษณะที่ปลอดจากโรค PSS (C : T = 1 : 0) เช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสุกรพื้นเมืองจะถูกคัดเลือกโดยธรรมชาติ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับภูมิประเทศ และสภาพแวดล้อมของประเทศไทย จึงมีการปรับตัวได้ดีในสภาพอากาศร้อนชื้นได้ดี ทนต่อการเลี้ยงด้วยอาหารคุณภาพต่ำ และมีแนวโน้มว่ามีความต้านทานต่อพยาธิภายนอก และโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and Mouth Disease; FMD) (ธีระและโชค, 2523; Rattanaronchart, 1994) จึงควรศึกษาเพื่อใช้ในการอนุรักษ์สายพันธุ์และใช้เป็นแหล่งพันธุกรรม (genetic resource) ที่สำคัญของประเทศต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.6 ความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ในยีน *RYR1* ต่อคุณภาพเนื้อ

5.6.1 ความเป็นกรดด่างของเนื้อ

จากการศึกษาในครั้งนี้ให้ผลการศึกษาเช่นเดียวกับการศึกษาของ เดชา (2539) ที่ทำการศึกษาในสุกรพันธุ์แลนด์เรซ พบว่าค่า pH_1 และ pH_u ในสุกรปกติมีค่าสูงกว่าในกลุ่มสุกรที่เป็นพาหะและกลุ่มสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียด ($P < 0.05$) และ Fisher *et al*. (2000) ทำการศึกษาในสุกรลูกผสมลาร์จไวท์ × แลนด์เรซ พบว่าค่า pH_1 และ pH_u ในสุกรปกติและกลุ่มที่เป็นพาหะมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่ค่า pH ของสุกรทั้ง 2 กลุ่มมีค่าแตกต่างกับกลุ่มสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kocwin-Podsiadla *et al*. (1995) พบว่าสุกรพันธุ์ Polish Landrace ที่ปกติและที่เป็นพาหะมีค่า pH_1 ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีค่าแตกต่างจากกลุ่มสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ซึ่งค่า pH_1 ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากการศึกษาของ van Laack *et al*. (1993), de Smet *et al*. (1996), Monin *et al*. (1999) และ Kortz *et al*. (2003) รายงานว่า ค่า pH_1 ในสุกรปกติ สุกรที่เป็นพาหะและสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่า pH_1 ระหว่างสุกรปกติและสุกรที่เป็นพาหะมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยค่า pH_1 ของสุกรปกติมีแนวโน้มสูงกว่าในกลุ่มที่เป็นพาหะ (Leach *et al*., 1996; Sensky *et al*., 1999; Band *et al*., 2005) จากการศึกษาของ de Smet *et al*. (1992) ทำการศึกษาในสุกรที่เป็นพาหะและสุกรที่ไวต่อความเครียด สายพันธุ์ Belgian Landrace, Belgian Landrace × Pietrain และ German Landrace × Belgian Landrace พบว่าสุกรที่เป็นพาหะและสุกรที่ไวต่อความเครียดมีค่า pH_1 แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสุกรที่เป็นพาหะมีแนวโน้มของค่า pH_1 ที่สูงกว่า ส่วนค่า pH_u ที่วัดที่ 24 ชั่วโมงหลังฆ่า จากการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Sensky *et al*. (1999) และ Band *et al*. (2005) รายงานว่าสุกรปกติและสุกรที่เป็นพาหะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยที่สุกรปกติมีแนวโน้มของค่า pH_u ที่สูงกว่ากลุ่มที่เป็นพาหะ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Monin *et al*. (1999) ที่ทำการศึกษาในสุกรลูกผสมเพียเทรน × ลาร์จไวท์ พบว่าสุกรปกติมีค่า pH_u แตกต่างจากสุกรที่ไวต่อความเครียด ($P < 0.05$) แต่สุกรทั้ง 2 กลุ่มมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มสุกรที่เป็นพาหะ ($P > 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ van Laack *et al*. (1993), Kocwin-Podsiadla *et al*. (1995), de Smet *et al*. (1996) และ Kortz *et al*. (2003) ที่รายงานว่า ค่า pH_u ของสุกรปกติ สุกรที่เป็นพาหะและสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดไม่ต่างกัน ($P > 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.6.2 สีของเนื้อ

ค่าสีของเนื้อที่ได้จากการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ de Smet *et al*. (1992) ที่พบว่าสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดมีค่า L* และ b* แตกต่างจากกลุ่มที่เป็นพาหะอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่มีค่า a* ไม่แตกต่างกัน และ de Smet *et al*. (1996) รายงานว่าค่า L* และ b* ระหว่างสุกรปกติและสุกรที่เป็นพาหะมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าแตกต่างจากสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียด ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sensky *et al*. (1999) และ Band *et al*. (2005) ที่พบว่า ค่า L* และ a* ระหว่างสุกรปกติและสุกรที่เป็นพาหะมีค่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แตกต่างจากรายงานของ Fisher *et al*. (2000) ทำการศึกษาในสุกรลูกผสมลาร์จไวท์ × แลนด์เรซ พบว่าค่า a* และ b* ระหว่างสุกรปกติ สุกรที่เป็นพาหะและสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียด ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่พบว่าค่า L* ระหว่างสุกรทั้ง 3 กลุ่ม แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยค่า a* ของสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดมีแนวโน้มสูงที่สุด เนื่องจากการที่เนื้อมีปริมาณน้ำอยู่มาก ทำให้ความเข้มข้นของไมโอโกลบิน (Myoglobin) ซึ่งเป็นสารสีในเนื้อเจือจางลง เป็นผลให้เนื้อมีค่า a* ลดลง (Ahmed *et al*., 1990) ดังนั้นการสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดมีค่า a* สูง อาจเกิดจากการสูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) ทำให้ความเข้มข้นของไมโอโกลบินในเนื้อสูงขึ้น (Fisher *et al*., 2000) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการวัดสีของเนื้อ ได้แก่ เวลาในการวัด การเลือกและการเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ ความเข้มของแสง อิทธิพลของไขมันแทรกและเครื่องมือที่ใช้ในการวัดการสะท้อนของแสง โดยทั่วไปการวัดสีของเนื้อจะทำภายหลังจากสัตว์ตาย 48 ชั่วโมง และการเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อตัวอย่างที่ใช้ในการวัดให้ตัดให้เสร็จในคมมีดเดียว เพื่อให้เกิดความสม่ำเสมอและมีเส้นใยกล้ามเนื้อที่เรียงตัวในทิศทางเดียวกัน (สัญชัย, 2551) และจากรายงานของ Hamillon *et al*. (2000) รายงานว่าเพศที่ต่างกันไม่มีผลต่อค่า L*, a* และ b*

5.6.3 ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ

ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (water holding capacity; WHC) จากการสูญเสียน้ำขณะเก็บ (drip loss) ให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ van Laack *et al*. (1993) ที่พบว่า สุกรปกติและสุกรที่เป็นพาหะมีค่า % drip loss ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบค่า % drip loss กับกลุ่มสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากการศึกษาของ de Smet *et al*. (1992) พบว่าสุกรที่เป็นพาหะจะมีค่า % drip loss แตกต่างจากกลุ่มสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียด ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาอื่นๆ ที่รายงานว่า % drip loss ระหว่างสุกรปกติ สุกรที่เป็นพาหะและสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียด มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยสุกรที่มีลักษณะไวต่อความเครียดจะมีค่า % drip loss สูงที่สุด รองมาคือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุกรที่เป็นพาหะและสุกรปกติ ตามลำดับ (Fisher *et al*., 2000; Kortz *et al*., 2003) แต่ต่างจากรายงานของ Leach *et al*. (1996) และ Band *et al*. (2005) รายงานว่าสุกรปกติและสุกรที่เป็นพาหะมีค่า % drip loss แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ซึ่งสุกรที่เป็นพาหะมีแนวโน้มของค่า % drip loss สูงกว่าสุกรที่ปกติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved