

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพันธุ์ต่างๆ ก่อนหน้านี้จะมุ่งเน้นความสนใจไปที่โคพันธุ์ยุโรป โดยมีการใช้เทคนิคทางด้านโปรตีน (allozyme test) และทางด้านภูมิคุ้มกัน จนกระทั่งในปี 1990 จึงได้มีการนำเทคนิคทางด้านอณูโมเลกุลมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายโดยศึกษาทั้งในโคพันธุ์ยุโรปและพันธุ์อินเดีย

ในการศึกษาครั้งนี้ เลือกใช้ไมโครแซทเทลไลท์ 5 ตำแหน่ง คือ UWCA9, TGLA153, BM203, CSSSM065 และ IGF-1 ซึ่งเป็นไมโครแซทเทลไลท์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำนม ประชากรโคที่ทำการศึกษานี้ แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ โคขาวลำพูนซึ่งอยู่ในกลุ่มโคอินเดีย (*Bos indicus*) จัดเป็นโคพันธุ์พื้นเมือง โคนมพันธุ์แท้ฟรีเซียน 100 % ซึ่งอยู่ในกลุ่มโคยุโรป (*Bos taurus*) และ โคนมลูกผสมฟรีเซียนที่มีระดับสายเลือด 87.5 % และ 75 % เป็นลูกผสมระหว่างโคอินเดียและโคยุโรป (*Bos taurus* X *Bos indicus*) การผลิตโคนมลูกผสมนี้จะนำโคนมพันธุ์แท้มาผสมกับโคพันธุ์พื้นเมืองในประเทศ รวมถึงโคเนื้อพันธุ์อื่นๆ ที่มีการเลี้ยงกันอยู่ในประเทศ โดยโคขาวลำพูนก็อาจจะเป็นโคพื้นเมืองพันธุ์หนึ่ง ที่นำมาในการสร้างสายพันธุ์ลูกผสมด้วย

จากผลการศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ที่ตำแหน่ง UWCA9 พบอัลลีลทั้งหมด 14 อัลลีล มีขนาดตั้งแต่ 83-111 คู่เบส โดยอัลลีลขนาด 111 คู่เบส จะพบในโคขาวลำพูนเท่านั้น ซึ่งอาจจะเป็นอัลลีลที่พบได้ในพันธุ์นี้เท่านั้น และที่ตำแหน่งนี้ รายงานของ Sun *et al.* (1994) และ Kappes *et al.* (1997) พบอัลลีลขนาด 83-107 คู่เบส มีขนาดใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้

ที่ตำแหน่ง TGLA153 มีการกระจายความถี่อย่างสม่ำเสมอในกลุ่มโคนมพันธุ์แท้ ลูกผสม 87.5 % และ 75 % มากกว่าโคขาวลำพูน โดยพบว่าโคขาวลำพูนพบ 5 อัลลีล โดยอัลลีลขนาด 129 คู่เบส พบบ่อยที่สุด (ความถี่ 0.579) และอัลลีลขนาด 153 คู่เบสจะพบในโคขาวลำพูนพันธุ์เดียวเท่านั้น ส่วนในโคนมพันธุ์แท้ฟรีเซียน พบอัลลีล ขนาด 119 และ 143 คู่เบส พบในพันธุ์นี้เท่านั้น ที่ตำแหน่งนี้จะพบทั้งหมด 14 อัลลีล มีขนาด 119-153 คู่เบส เมื่อเปรียบเทียบกับงานของ Geoege *et al.* (1992) ที่พบอัลลีลขนาด 125-151 คู่เบส ซึ่งถือว่ามีความใกล้เคียงกัน

ที่ตำแหน่ง BM203 มีการกระจายความถี่อัลลีลอย่างสม่ำเสมอในประชากรทั้ง 4 กลุ่ม แต่พบว่าไม่มีบางอัลลีลเท่านั้นที่พบเฉพาะในบางพันธุ์ คือ อัลลีลขนาด 239 และ 241 คู่เบส จะพบแต่ในโคขาวลำพูนเท่านั้น ที่ตำแหน่งนี้พบทั้งหมด 17 อัลลีล ขนาดตั้งแต่ 209-243 คู่เบส ซึ่งแตกต่าง

จากงานของ Bishop *et al.* (1994) ที่พบอัลลีลขนาด 201-233 คู่เบส อาจจะเนื่องจากทำการทดลองในพันธุ์ที่แตกต่างกัน

ที่ตำแหน่ง CSSM065 พบทั้งหมด 13 อัลลีล มีขนาดตั้งแต่ 148-178 คู่เบส ซึ่งอัลลีลขนาด 148 และ 178 คู่เบส จะพบในเฉพาะโคขาวลำพูนเท่านั้น ซึ่งการกระจายความถี่ของกลุ่มโคนมจะใกล้เคียงกันกับรายงานของ Barendes *et al.* (1994) ที่พบอัลลีลขนาด 154-174 คู่เบส แสดงว่าอัลลีลที่พบเฉพาะในโคขาวลำพูนนี้เป็นอัลลีลที่พบได้ในพันธุ์นี้เท่านั้น

ที่ตำแหน่ง IGF-1 พบทั้งหมด 13 อัลลีล ขนาด 213-239 คู่เบส โดยพบว่าอัลลีลขนาด 213, 237 และ 239 คู่เบส พบเฉพาะในโคนมลูกผสมฟรีเซียน 87.5 % ซึ่งขนาดที่ได้มีความแตกต่างจากงานของ Bishop *et al.* (1994) ที่มีขนาด 225-231 คู่เบส ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าอัลลีลที่มีขนาดแตกต่างกันนั้นมาจากการเป็นลูกผสมระหว่าง โคพันธุ์พื้นเมืองกับ โคนมฟรีเซียน

เมื่อพิจารณาความแตกต่างระหว่างประชากร 4 กลุ่ม คือ โคขาวลำพูน, โคนมพันธุ์แท้ฟรีเซียน 100 %, โคนมลูกผสมฟรีเซียน 87.5 % และ โคนมลูกผสมฟรีเซียน 75 % ด้วยการทดสอบความแปรปรวนด้วยวิธีไคสแควร์ ที่ตำแหน่ง UWCA9, TGLA153, BM203 และ IGF-1 แสดงความแตกต่างกันในแต่ละประชากร ส่วนในตำแหน่ง CSSM065 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษา เมื่อพิจารณาความแตกต่างระหว่างประชากรแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบกัน พบว่า จะมีความแตกต่างระหว่างการกระจายความถี่อัลลีลของประชากรโคขาวลำพูนและกลุ่มโคนม ส่วนการเปรียบเทียบในกลุ่มโคนมเองนั้น แทบไม่มีความแตกต่างของการกระจายความถี่อัลลีลมากนัก แสดงว่าแบบแผนการกระจายความถี่อัลลีลในประชากรโคขาวลำพูนกับกลุ่มโคนมค่อนข้างแตกต่างกัน ส่วนในกลุ่มโคนมเองมีการกระจายความถี่ค่อนข้างจะคล้ายคลึงกัน

ในด้านความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าโคขาวลำพูนมีค่าความหลากหลายต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มโคนม โดยโคนมลูกผสม 75 % มีความหลากหลายสูงที่สุด รองลงมาคือ โคนมลูกผสม 87.5 % ที่ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ศึกษาในแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 0.7 เนื่องจากไมโครแซทเทลไลท์มีประสิทธิภาพในการแยกแยะความแตกต่างได้สูงกว่าวิธีอื่นๆ โคขาวลำพูนมีค่าความหลากหลายต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ เนื่องจากที่ตำแหน่ง TGLA153 โคขาวลำพูนมีค่า heterozygosity เพียง 0.594 เท่านั้น แตกต่างจากกลุ่มโคนมซึ่งมีค่ามากกว่า 0.8 ดังนั้นเมื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย จึงทำให้ค่าเฉลี่ย heterozygosity ของโคขาวลำพูนต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ แสดงว่าที่ตำแหน่ง TGLA153 สามารถใช้แยกแยะระหว่างกลุ่มโคขาวลำพูน และกลุ่มโคนมได้ดี

ในกลุ่มของโคนมพันธุ์แท้ฟรีเซียน 100 %, โคนมลูกผสมฟรีเซียน 87.5 % และ โคนมลูกผสมฟรีเซียน 75 % พบว่าโคนมลูกผสม 75 % และ 87.5 % ที่มีความหลากหลายสูงกว่ากลุ่มโคนมพันธุ์แท้และโคขาวลำพูน (โคพื้นเมือง) เนื่องจากเป็น โคนมลูกผสมระหว่างสองหรือสามสายพันธุ์ จึงมี

ค่าความหลากหลายสูง ทั้งนี้พบว่าถ้ามีการคัดเลือกจะโดยธรรมชาติหรือว่าโดยมนุษย์ เช่นการผสมเทียม ก็จะทำให้เปลี่ยนแปลงความถี่ของยีนต่างๆ ในประชากร ทำให้ประชากรเบี่ยงเบนจากสมดุล (Russell *et al.*, 2000) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความถี่อัลลีลก็จะนำมาสู่การเปลี่ยนแปลงค่าความหลากหลาย

ในการศึกษาถึงระยะห่างทางพันธุกรรมนั้น ตำแหน่งไมโครแซทเทลไลท์ที่ทำการศึกษาควรจะมีมากกว่า 4 ตำแหน่ง ซึ่งจะลดความคลาดเคลื่อนจากการคำนวณได้ (Barker *et al.*, 1994) โดยจากการทดลองพบว่า โคขาวลำพูนมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับโคนมลูกผสม 75 % มากที่สุด และมีการแยกออกจากกลุ่ม โคนมพันธุ์แท้และโคนมลูกผสม 87.5 % และ 75 % อย่างชัดเจน ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของ Manneh *et al.* (1998) และ MacHugh *et al.* (1997)

เมื่อศึกษาถึงแบบแผนการกระจายความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากร โคนมที่ให้น้ำนมจริงสูง โคนมที่ให้น้ำนมจริงต่ำ และโคขาวลำพูน พบว่ามีเพียงตำแหน่ง TGLA153 เท่านั้นที่มีการกระจายความถี่ในแต่ละประชากรที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะที่ ตำแหน่ง 127 และ 129 คู่เบส รายงานของ Arranz *et al.* (1998) พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 20 ซึ่งเป็นที่ตั้งของ TGLA153 ตรงตำแหน่ง ระหว่าง AGLA29 – BM5004 เป็นช่วงที่มียีน growth hormone receptor และ prolactin ตั้งอยู่ ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ขนาด 127 คู่เบส พบมากในประชากรโคนมกลุ่มที่ให้น้ำนมจริงสูง พบน้อยในประชากรโคนมที่ให้น้ำนมจริงต่ำ และไม่พบในกลุ่มโคขาวลำพูน ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่อัลลีลขนาด 127 คู่เบส มีความสัมพันธ์กับการให้น้ำนมจริงสูง ส่วนอัลลีลขนาด 129 คู่เบส พบมากในกลุ่มโคนมที่ให้น้ำนมจริงต่ำ และกลุ่มโคขาวลำพูน พบน้อยในกลุ่มโคนมที่ให้น้ำนมจริงสูง แสดงว่าอัลลีลขนาด 129 คู่เบส สัมพันธ์กับการให้น้ำนมจริงต่ำ ซึ่งเมื่อนำกลุ่มประชากรโคนมมาแยกโดยใช้ น้ำนมเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน และระยะให้นมเป็นเกณฑ์ในการแบ่ง พบว่ามีแนวโน้มที่คล้ายคลึงกับการใช้ปริมาณน้ำนมจริงเป็นเกณฑ์ อาจเป็นไปได้ว่า ที่ตำแหน่ง TGLA153 มีความสัมพันธ์กับยีน growth hormone receptor และ prolactin ไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง TGLA153 เหมาะแก่การนำไปใช้เป็นมาร์คเกอร์อีกตัวหนึ่งในเรื่องของการผลิตน้ำนม แต่รายงานนี้เป็นเพียงรายงานเบื้องต้น เนื่องจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการให้นมนั้นมีจำนวนมาก ทั้งด้าน พันธุ์ อาหาร และการจัดการอีกทั้งกลุ่มประชากรที่ใช้ยังมีจำนวนน้อยจึงต้องทำศึกษาเพิ่มเติมต่อไป