

## ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา

### 1. ข้อมูลลักษณะปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมที่ทำการศึกษา

ลักษณะปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ เป็นข้อมูลที่เก็บบันทึกรายตัวของแม่โครีดนม ณ วันทดสอบทั้งหมด 231 ตัว และทำการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของทุกลักษณะ โดยแสดงจำนวนข้อมูล ณ วันทดสอบ (N) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) ของ แต่ละลักษณะที่ทำการศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) ของกลุ่มตัวอย่างที่ 1 (G1) และกลุ่มตัวอย่างที่ 2 (G2)

Traits	G1				G2			
	N	mean	SD.	%CV.	N	mean	SD.	%CV.
MY, kg	1118	10.45	3.86	36.98	865	10.29	3.96	38.51
%Fat	1104	3.69	0.69	18.85	856	3.69	0.61	16.60
Fat, g	1104	377.38	131.54	34.86	856	373.30	133.70	35.81
%Protein	1116	3.13	0.38	12.03	865	2.89	0.34	11.88
Protein, g	1116	322.22	111.89	34.72	865	293.18	108.61	37.04
%Lactose	1118	4.69	0.34	7.33	862	4.53	0.38	8.46
Lactose, g	1118	491.60	189.94	38.64	862	463.67	176.55	38.08
%SNF	1104	8.50	0.48	5.69	856	8.21	0.46	5.59
SNF, g	1104	887.46	232.02	36.40	856	841.81	313.58	37.25
%TS	1118	12.22	1.00	8.25	865	11.93	0.91	7.63
TS, g	1118	1264.70	441.85	34.94	865	1214.35	437.00	35.99

หมายเหตุ MY = milk yield, SNF = solid not fat, TS = total solid, g = gram, kg = kilogram

## 2. รูปแบบ gene หรือ allele, genotype และ composite genotype ของยีน

$\beta, \kappa, \alpha_1, \alpha_2$  - casein ของกลุ่มตัวอย่างโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน

จากการศึกษารูปแบบ allele ของยีน  $\beta, \kappa, \alpha_1, \alpha_2$  - casein พบว่าในกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม (G1, G2) มีรูปแบบที่ไม่แตกต่างกัน กล่าวคือยีน  $\beta$  - casein พบ allele 3 รูปแบบคือ  $A^1, A^2$  และ B (รูปแสดงในภาคผนวก) ยีน  $\kappa$  - casein พบ 3 รูปแบบ คือ A, B และ E (รูปแสดงในภาคผนวก) ยีน  $\alpha_1$  - casein และ ยีน  $\alpha_2$  - casein ไม่พบความหลากหลายของรูปแบบ allele กล่าวคือ ยีน  $\alpha_1$  - casein พบเพียงรูปแบบ BC เพียงรูปแบบเดียว (รูปแสดงในภาคผนวก) และยีน  $\alpha_2$  - casein พบรูปแบบ AA และ AB (รูปแสดงในภาคผนวก) แต่รูปแบบ AB พบน้อยมาก คิดเป็นความถี่เท่ากับ 0.07 เท่านั้น จากผลการศึกษาในครั้งนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า ยีน casein family ซึ่งประกอบด้วย  $\beta, \kappa, \alpha_1, \alpha_2$  - casein gene นั้นมียีนเพียงสองตำแหน่งเท่านั้นที่อาจมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ คือ ยีน  $\beta$  - casein และ ยีน  $\kappa$  - casein เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากยีนอีก 2 ตำแหน่งคือ ยีน  $\alpha_1$  - casein และ ยีน  $\alpha_2$  - casein ไม่พบความหลากหลายของรูปแบบ ดังนั้นในการศึกษาในเรื่องของ ความถี่ยีน ความแตกต่างของความถี่ระหว่าง G1 และ G2 และอิทธิพลของยีนต่อลักษณะที่สนใจ ซึ่งจะรายงานผลในหัวข้อต่อจากนี้ จะเป็นการรายงานเฉพาะผลของยีน  $\beta$  - casein และ  $\kappa$  - casein เท่านั้น

ในประเด็นของความแตกต่างของรูปแบบ genotype ของยีนทั้ง 2 ตำแหน่งในกลุ่มตัวอย่าง G1 และ G2 พบว่า พบความแตกต่างกันเล็กน้อยในยีน  $\kappa$  - casein กล่าวคือในกลุ่ม G1 จะพบรูปแบบ genotype ครบทั้ง 5 รูปแบบคือรูปแบบ AA, AB, AE, BB และ BE ในขณะที่กลุ่ม G2 พบเพียง 4 รูปแบบโดยไม่พบรูปแบบ BB ในกลุ่มนี้ สำหรับยีนอื่นๆ พบว่ารูปแบบ genotype ที่พบในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน โดยยีน  $\beta$  - casein พบรูปแบบ 5 รูปแบบคือ  $A^1A^1, A^1A^2, A^1B, A^2A^2$  และ  $A^2B$

ในการศึกษานี้ โดยภาพรวมพบว่าระดับสายเลือดไม่มีผลต่อการมีรูปแบบ genotype ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้จากผลการศึกษาในครั้งนี้และการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Aroondechachai et al.(2004) ซึ่งทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ และพบรูปแบบยีนเช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ อาจสรุปได้ว่าโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีสัดส่วนของพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยนั้นมีรูปแบบของ allele ของยีน casein ตำแหน่งต่างๆ ดังที่รายงานในการศึกษานี้

### 3. ความถี่และการเปรียบเทียบความถี่ gene ของ $\beta, \kappa$ - casein ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง G1 และ G2

จากการศึกษาครั้งนี้พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญของความถี่ allele, genotype และ composite genotype ของยีน 2 ตำแหน่งใน 2 กลุ่มตัวอย่างที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน (ตารางที่ 7) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มระดับสายเลือดที่สูงขึ้นนั้นไม่ได้ทำให้รูปแบบและความถี่ของยีนในแต่ละตำแหน่งเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงผลการศึกษางานวิจัยที่ทำมาก่อนหน้านี้ เช่น Aroondechachai et al. (2004) ซึ่งทำการศึกษาในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ การศึกษาของ Bech and Kristiansen (1990) ทำการศึกษาในโค Red Danish and Black and White Danish, การศึกษาของ Lunden et al. (1997) ศึกษาใน Swedish Red and White และ Swedish Holstein, การศึกษาของ Ojala et al. (1997) ศึกษาในโค Holstein, การศึกษาของ Ikonen et al. (1999) ศึกษาใน Finnish Ayrshire และการศึกษาของ Comin et al. (2008) ศึกษาใน Italian Holstein พบว่ารูปแบบความถี่ของยีนทั้งสองตำแหน่งนี้จะมีความคล้ายคลึงกัน จึงอาจสามารถสรุปได้ว่า ระดับสายเลือด หรือ strain ที่แตกต่างกันของโคนม Holstein นั้นไม่เป็นสาเหตุที่ทำให้ รูปแบบความถี่ยีนทั้งสองตำแหน่งนี้มีความแตกต่างกัน



**ตารางที่ 7** ความถี่ allele, genotype และ composite genotype ของยีน  $\beta, \kappa$  - casein ของกลุ่มตัวอย่าง G1 (ระดับสายเลือด Holstein  $\leq$  87.5%) และ G2 (ระดับสายเลือด Holstein  $>$  87.5%)

frequency of $\beta$ (above) and $\kappa$ (below) casein gene								
breed group	A1A1	A1A2	A1B	A2A2	A2B	A1	A2	B
	AA	AB	AE	BB	BE	A	B	E
G1 (n=89)	0.056	0.528	0.034	0.315	0.067	0.337	0.612	0.051
	0.584	0.360	0.022	0.022	0.011	0.775	0.208	0.017
G2 (n=142)	0.056	0.606	0.007	0.268	0.063	0.363	0.602	0.035
	0.563	0.338	0.078	0	0.021	0.771	0.180	0.049
frequency of composite genotype (higher than 0.03)								
	A1A2AA	A1A2AB	A2A2AA	A2A2AB	A2BAB			
G1 (n=89)	0.348	0.169	0.214	0.101	0.067			
G2 (n=142)	0.380	0.148	0.148	0.120	0.064			

##### 5. ความสัมพันธ์ linkage disequilibrium ระหว่างตำแหน่งของยีน $\beta$ -casein และ $\kappa$ casein ของกลุ่มตัวอย่างโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน

ผลการทดสอบความสัมพันธ์ linkage disequilibrium (LD) ระหว่างตำแหน่งของยีน  $\beta$ -casein และ  $\kappa$ -casein พบว่า มี LD อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.0001$ ) ในโคนมทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่าง ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบของยีนต่อลักษณะที่สนใจจึงควรพิจารณาใน  $\beta$  และ  $\kappa$ -casein ความคู่กันไป อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Toosi et al. (2010) พบว่าการเกิด LD ระหว่างคูยีนนั้นจะลดลงในประชากรที่เป็นลูกผสม ดังนั้นการวิเคราะห์ LD ระหว่างคูยีนในประชากรลูกผสมเป็นระยะๆ จึงมีความจำเป็นเนื่องจาก LD สามารถเปลี่ยนแปลงได้

## 6. ความสัมพันธ์ของระดับสายเลือดของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์กับรูปแบบ genotype และ composite genotype ของยีน $\beta$ และ $\kappa$ -casein

จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของกลุ่มระดับสายเลือดที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม กับรูปแบบ genotype และ composite genotype ของยีนทั้งสองนั้นไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลในเรื่องการเปรียบเทียบความถี่ของทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าในแต่ละกลุ่มระดับสายเลือดมีโอกาสที่จะพบได้ทุกรูปแบบ genotype และ composite genotype

## 7. อิทธิพลของรูปแบบของยีน $\beta$ และ $\kappa$ -casein ต่อปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมของกลุ่มโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน

เนื่องจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ linkage disequilibrium พบว่ายีนทั้ง 2 ตำแหน่งมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการศึกษาอิทธิพลที่มีต่อปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำมนั้น ควรศึกษาในรูปแบบของ composite genotype อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ยังคงมีการวิเคราะห์ค่าอิทธิพลของ allele และ genotype ทั้งนี้เพื่อความเข้าใจในบทบาทของรูปแบบ allele และ genotype ต่างๆต่ออิทธิพลของรูปแบบ composite genotype

ในการศึกษาครั้งนี้จะพิจารณาเลือก genotype และ composite genotype ที่มีความถี่สูงกว่า 0.03 ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจเท่านั้น โดยผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ดังกล่าวแสดงในตารางที่ 8

การศึกษาอิทธิพลของรูปแบบของยีน  $\beta$  และ  $\kappa$ -casein ต่อปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมของกลุ่มโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกันพบว่า โดยทิศทาง (บวก ลบ) ของอิทธิพลของ genotype ต่างๆของยีนทั้ง 2 ตำแหน่งต่อลักษณะที่สนใจในโคนมที่มีระดับสายเลือดที่แตกต่างกัน (G1 และ G2) ก่อนข้างจะคล้ายคลึงกัน ยกเว้นเพียง 3 genotype เท่านั้นที่พบว่ามิติศทางของอิทธิพลที่แตกต่างกันในกลุ่ม G1 และ G2 คือ genotype A2A2 ( $\beta$ -casein) ต่อลักษณะ %Fat หรืออิทธิพลของ genotype AA ( $\kappa$ -casein) ต่อลักษณะ %SNF และอิทธิพลของ genotype AB ต่อ MY

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าทิศทางของอิทธิพลของ genotype ในกลุ่ม G1 และ G2 จะมีความคล้ายคลึงกัน แต่การพบนัยสำคัญของอิทธิพลของ genotype ต่างๆ ต่อลักษณะนั้นมีความแตกต่างกัน ใน G1 และ G2 เช่น ใน G1 พบนัยสำคัญของอิทธิพลของ genotype A1A1 ต่อทุกลักษณะ ในขณะที่อิทธิพลของ genotype นี้ใน G2 กลับไม่พบนัยสำคัญของอิทธิพลต่อลักษณะ MY และเมื่อพิจารณาในรูปแบบของ composite genotype ก็พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน ตัวอย่างเช่น ในกลุ่ม G1 composite genotype A1A2AA มีอิทธิพลที่มีนัยสำคัญต่อลักษณะ %Fat และ %SNF เท่านั้น ในขณะที่ รูปแบบดังกล่าวมีอิทธิพลที่มีนัยสำคัญต่อทุก

ลักษณะใน G1 ความแตกต่างของนัยสำคัญของอิทธิพลที่พบในกลุ่มโคนมที่แตกต่างกัน 2 กลุ่มนี้ มีสาเหตุที่เป็นไปได้ 2 ประการ

ประการที่หนึ่ง อาจเกิดจากความคลาดเคลื่อนทางสถิติอันมีสาเหตุจากขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่เล็กจึงทำให้การประมาณค่าอิทธิพล รวมถึงการพบนัยสำคัญในกลุ่ม G1 และ G2 มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ใช้จำนวนข้อมูลซ้ำต่อตัวสัตว์มากกว่า 1 ข้อมูลในการประมาณค่าอิทธิพลของยีนและเมื่อคำนวณค่า power of test ก็พบว่ามีความสูงมาก (80 – 95%) ค่าดังกล่าวสามารถบ่งบอกถึงความสามารถที่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญถ้าความแตกต่างดังกล่าวมีอยู่จริง จึงอาจกล่าวได้ว่านัยสำคัญที่พบและไม่พบในการศึกษานี้ควรจะเป็นความจริง และไม่ได้เกิดจากความคลาดเคลื่อนทางสถิติแต่อย่างใด ดังนั้นผลการศึกษาก็แตกต่างกันใน G1 และ G2 นั้นจึงไม่น่าจะเกิดจากสาเหตุนี้

สาเหตุประการที่สองจากการศึกษาของ Bovenhuis et al. (1992); Boettcher et al. (2004) พบว่าเมื่อประชากร หรือสายพันธุ์สัตว์เปลี่ยนแปลงไป อิทธิพลของยีนต่อลักษณะที่สนใจอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจาก ลักษณะปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม เป็นลักษณะเชิงปริมาณที่ควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง มีความเป็นไปได้ที่ ยีนในตำแหน่งอื่นที่นอกเหนือจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีน casein ถ้ารูปแบบของยีนอื่นๆ มีความแตกต่างกันในประชากร หรือสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกัน มีความเป็นไปได้ที่อิทธิพลของยีนอื่นๆ ที่มีต่อยีน casein ก็จะไม่แตกต่างกันด้วย จึงส่งผลให้อิทธิพลของยีน casein จึงมีการเปลี่ยนแปลงไป (Boettcher et al., 2004) ดังนั้นในกรณีของโคนมลูกผสมไฮลสไดน์ที่มีระดับสายเลือดไฮลสไดน์ที่แตกต่างกัน จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้อิทธิพลของยีน casein ต่อลักษณะที่สนใจมีความแตกต่างกันด้วย จากผลการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าการศึกษาอิทธิพลของยีน casein และยีนตำแหน่งอื่นๆ ที่มีต่อลักษณะเชิงปริมาณใดๆ เพื่อนำมาใช้เป็นยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกนั้น มีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาในแต่ละระดับสายเลือด เพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนก่อนที่จะนำผลดังกล่าวมาใช้จริงในการปฏิบัติ

**ตารางที่ 8** ค่าอิทธิพล (SE) ของ genotype และ composite genotype ของยีน  $\beta$  และ  $\kappa$  casein ต่อ milk yield (MY), %fat, %protein (%Prot), % Solid not fat (%SNF)., เมื่อ \*, \*\*, และ \*\*\* คือค่า P-value <0.05, <0.01, and 0.0001 ตามลำดับ

Effect of $\beta$ (above) and $\kappa$ (below) casein gene										
Trait	A1A1 AA		A1A2 AB		A2A2 AE		A2B			
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2		
MY	-1.62** (0.57)	-0.60 (0.81)	0.10 (0.42)	1.50* (0.49)	0.17 (0.45)	1.01 (0.53)	0	0		
	0.95 (0.57)	0.66 (0.46)	0.37 (0.58)	-0.88 (0.48)	0	0	-	-		
%Fat	-0.56*** (0.12)	-0.34* (0.14)	-0.22* (0.09)	-0.25** (0.08)	-0.27** (0.09)	0.15 (0.09)	0	0		
	0.24* (0.12)	0.12 (0.08)	0.41*** (0.12)	0.16* (0.08)	0	0	-	-		
%Prot	-0.32*** (0.06)	-0.16* (0.07)	-0.02 (0.04)	-0.17*** (0.04)	-0.02 (0.05)	-0.03 (0.05)	0	0		
	0.05 (0.06)	0.09* (0.04)	0.16** (0.06)	0.14* (0.04)	0	0	-	-		
%SNF	-0.39*** (0.08)	-0.19* (0.10)	-0.22*** (0.06)	-0.23*** (0.06)	-0.14* (0.07)	-0.13* (0.07)	0	0		
	-0.12 (0.08)	0.12* (0.06)	-0.07 (0.08)	0.22*** (0.06)	0	0	-	-		
%TS	-1.00*** (0.17)	-0.49* (0.20)	-0.48*** (0.13)	-0.43*** (0.12)	-0.47*** (0.13)	-0.20 (0.13)	0	0		
	0.13 (0.17)	0.24* (0.12)	0.38* (0.17)	0.38* (0.12)	0	0	-	-		
Effect of composite genotype of $\beta$ and $\kappa$ casein gene										
Trait	A1A2AA		A1A2AB		A2A2AA		A2A2AB		A2BAB	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
MY	0.31	2.0***	-0.44	0.70	0.14	2.30***	-0.84		0	0
	(0.44)	(0.05)	(0.49)	(0.53)	(0.48)	(0.57)	(0.54)	-0.20 (0.58)		
%Fat	-0.27**	-0.24**	-0.06	-0.27**	-0.29**	-0.19	-0.22*		0	0
	(0.09)	(0.09)	(0.10)	(0.09)	(0.10)	(0.10)	(0.11)	-0.11 (0.10)		
%Prot	-0.05	-0.16***	0.07	-0.16***	-0.02	-0.03	0.12		0	0
	(0.04)	(0.04)	(0.05)	(0.05)	(0.05)	(0.05)	(0.05)	-0.03 (0.05)		
%SNF	-0.23***	-0.23***	-0.23***	-0.19*	-0.20**	-0.18*	-0.03		0	0
	(0.06)	(0.06)	(0.07)	(0.07)	(0.07)	(0.07)	(0.08)	0.07 (0.07)		
%TS	-0.52***	-0.42***	-0.30*	-0.41**	-0.53***	-0.28	-0.29		0	0
	(0.13)	(0.13)	(0.14)	(0.14)	(0.14)	(0.15)	(0.16)	-0.11 (0.15)		

## 8. อิทธิพลของการข่มกันระหว่างยีนที่อยู่ต่างตำแหน่ง (epistasis effect) หรืออิทธิพลร่วมระหว่างยีน (gene interaction) ต่างตำแหน่ง

จากผลการศึกษาพบว่ามีความเป็นไปได้ที่ยีน  $\kappa$ -casein และ  $\beta$ -casein จะมีอิทธิพลร่วมต่อกันในรูปแบบของ epistasis effect โดยยีน  $\beta$ -casein สามารถข่มการแสดงออกของยีน  $\kappa$ -casein ได้ อันเป็นข้อสังเกตที่อยู่นอกเหนือสมมุติฐานที่กำหนดไว้แต่ต้น อิทธิพลดังกล่าวสังเกตได้จาก รูปแบบ genotype ของยีน  $\beta$ -casein ทุกรูปแบบมีอิทธิพลทางลบลักษณะที่สนใจ (ตารางที่ 8) ยกเว้นรูปแบบ  $A^1A^2$  ที่มีอิทธิพลทางบวกต่อลักษณะ MY แต่เมื่อพิจารณาอิทธิพลของ genotype ของยีน  $\kappa$ -casein พบว่าทุกรูปแบบ genotype ของยีนในตำแหน่งนี้มีผลบวกต่อทุกลักษณะที่สนใจ (ตารางที่ 8) ยกเว้นลักษณะ MY เท่านั้นที่ไม่พบความสัมพันธ์ที่นัยสำคัญ และเมื่อพิจารณารูปแบบของ composite genotype พบว่า ทุกรูปแบบของ composite genotype มีอิทธิพลทางลบต่อลักษณะที่สนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะ %Prot และ %SNF ยกเว้นรูปแบบ  $A^1A^2AA$ ,  $A^2A^2AA$  เท่านั้นที่มีอิทธิพลทางบวกต่อลักษณะ MY เมื่อศึกษางานวิจัยที่ทำมาก่อนหน้านี้, Bobe et al. (1999); Van Eenennaam and Medrano (1991); Bovenhuis et al. (1992); Famula and Medrano (1994); Ron et al. (1994); Ojala et al. (1997); Freyer et al. (2003); Ikonen et al. (1999, 2001); Braunschweig et al. (2000); Boettcher et al. (2004); and Comin et al. (2008), พบว่ามีผลการศึกษาที่สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ กล่าวคือพบปฏิกริยาร่วมระหว่างยีน 2 ตำแหน่งนี้ ซึ่งทำได้ข้อสังเกตคือการใช้ยีนที่กลุ่ม casein gene family เพื่อเป็นยีนเครื่องหมาย อาจไม่จำเป็นที่จะต้องใช้ยีนทั้ง 4 ตำแหน่ง เนื่องจาก ยีน  $\alpha_{s1}, \alpha_{s2}$ -casein ไม่มีความหลากหลายในรูปแบบดังที่รายงานไปแล้วในเบื้องต้น ในขณะที่ยีน  $\kappa$ -casein ถูก dominate โดยยีน  $\beta$ -casein ถ้าการศึกษาในอนาคตมุ่งประเด็นในเรื่องปฏิกริยาร่วมระหว่างยีนทั้งสองตำแหน่งนี้เพื่อหาข้อสรุปที่ชัดเจน ยีน  $\beta$ -casein อาจเป็นยีนเพียงตำแหน่งเดียวที่นำมาใช้เพื่อเป็นยีนเครื่องหมาย ซึ่งเป็นการประหยัดเวลา งบประมาณ และลดของเสียที่เกิดจากการตรวจสอบรูปแบบยีนในห้องปฏิบัติการ

อนึ่ง เมื่อพิจารณาผลการศึกษาในครั้งนี้ เทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ พบประเด็นที่น่าสนใจอีกประเด็น กล่าวคือ อิทธิพลของยีนที่ศึกษาต่อลักษณะที่สนใจโดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะ %Prot หรือ %SNF ที่พบในการศึกษานี้จะมีอิทธิพลในเชิงลบ ซึ่งจากสมมุติฐานอิทธิพลดังกล่าวควรส่งผลทางบวกต่อลักษณะเหล่านี้ เช่นเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้าส่วนใหญ่มักพบอิทธิพลในทางบวก ผลการศึกษาเช่นนี้อาจเป็นไปได้ว่า โคนมลูกผสมโฮลสโตนที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีโครงสร้างพันธุกรรมส่วนหนึ่งมาจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความสามารถในการให้ผลผลิตน้ำนม หรือองค์ประกอบน้ำนมต่ำมาก และอย่างที่ได้กล่าวมาก่อนหน้านี้ว่าลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะเชิงปริมาณ มียีนหลากหลายตำแหน่งที่มีส่วนร่วมในการแสดงออก ดังนั้น อาจมียีนในหลายๆ ตำแหน่งที่ถูกถ่ายทอดมาจากโคพื้นเมืองซึ่งก่อให้เกิดอิทธิพลทางลบ

ต่อลักษณะ และยีนเหล่านั้นอาจมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีนในกลุ่ม casein gene family และก่อให้เกิดอิทธิพลทางลบที่ปรากฏในการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นอาจมีความจำเป็นที่ในการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ยีนในกลุ่ม casein เพื่อเป็นยีนเครื่องหมายในอนาคต อาจต้องศึกษาควบคู่ไปกับการศึกษา fine Quantitative trait loci (QTL) mapping ในประชากรโคนมลูกผสมพื้นเมือง โดยเฉพาะอย่างยิ่งบนโครโมโซมแท่งที่ 6 ซึ่งเป็นที่ตั้งของ casein gene family และจากรายงานของ Ron et al. (2001); Freyer et al. (2003); Chen et al. (2006) พบว่าบนโครโมโซมแท่งนี้พบ QTL-linked marker หลายตำแหน่งที่มีอิทธิพลต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับลักษณะปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบในน้ำนม ทั้งนี้เพื่อที่จะได้ใช้ข้อมูล QTL ที่อาจพบเป็นอิทธิพลร่วมในการประมาณค่าอิทธิพลของยีน casein เพื่อความรอบคอบในการสรุปเพื่อใช้ยีนดังกล่าวในการคัดเลือกต่อไปในอนาคต

นอกจากนี้การที่อิทธิพลของยีนดังกล่าวเป็นไปในทางลบต่อลักษณะที่สนใจ อาจมีสาเหตุอีกประการหนึ่ง คือ มีความเป็นไปได้ที่การแสดงออกของยีนมีอิทธิพลเนื่องจากสิ่งแวดล้อมเข้ามามีส่วนร่วมด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของอาหาร และการจัดการอาหาร ซึ่งจากการศึกษาของ Hayes et al. (2003); Lillehammer et al. (2009) และ Hammami et al. (2009) พบว่าอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในเรื่องที่เกี่ยวกับอาหารและการจัดการ มีผลต่อการแสดงออกของยีน ดังนั้นการศึกษาอิทธิพลของยีนต่อลักษณะที่สนใจจำเป็นที่จะต้องให้ความสำคัญกับปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมด้วย

## สรุปและข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

27

จากผลการศึกษาที่รายงานทั้งหมด สามารถสรุปเป็นประเด็นตามวัตถุประสงค์ของงานได้ดังต่อไปนี้

1. ระดับสายเลือดที่แตกต่างกันของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ไม่มีผลต่อการเกิดรูปแบบและความถี่ของรูปแบบ genotype แบบต่างๆของ casein gene family แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ยีน  $\alpha_{s1}, \alpha_{s2}$  - casein ไม่พบความหลากหลายของรูปแบบ genotype
2. ระดับสายเลือดที่แตกต่างกันของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์มีผลต่ออิทธิพลของยีนต่อลักษณะที่สนใจที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเด็นของขนาดของอิทธิพลที่มากพอที่จะสามารถพบนัยสำคัญทางสถิติ

ดังนั้นโดยภาพรวมของการศึกษาในครั้งนี้สามารถได้ว่า เรายังไม่สามารถใช้ casein gene family เพื่อเป็นยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ และมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อความชัดเจน ในการจะสรุปว่า ยีนดังกล่าวจะสามารถนำไปประยุกต์เพื่อเป็นยีนเครื่องหมายในอนาคตได้หรือไม่ และถ้าได้จะต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขใดหรือไม่ โดยประเด็นที่ควรต้องทำการศึกษาวิจัยในอนาคต มีดังนี้

1. การศึกษาอิทธิพลของ casein gene family โดยเน้นเฉพาะยีน  $\kappa, \beta$  - casein ภายใต้การควบคุมเรื่องอาหารและการจัดการที่เน้นว่าควรเป็นอาหารและการจัดการที่เป็นภาพรวมของประเทศ และให้ความสำคัญกับระดับสายเลือดที่จะเป็นส่วนใหญ่ของประเทศในอนาคต อนึ่งแนวทางการศึกษาดังกล่าวมิใช่เฉพาะแต่การศึกษาอิทธิพลของยีนที่ศึกษาในการศึกษานี้เท่านั้น แต่หมายรวมถึงการศึกษาอิทธิพลของยีนอื่นๆที่มีต่อลักษณะที่สำคัญอื่นๆอีกด้วย
2. เนื่องจากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะมีอิทธิพลร่วมระหว่างยีนในตำแหน่งที่สนใจกับยีนในตำแหน่งอื่นๆ ดังนั้นจึงเกิดสมมุติฐานขึ้นใหม่ว่า QTL ที่อยู่บริเวณโครโมโซมแท่งที่ 6 ซึ่งเป็นแท่งที่ยีน casein ตั้งอยู่ อาจมีผลต่อการแสดงออกของยีน casein ด้วยและถ้าเป็นเช่นนั้นจริง การใช้ ยีน casein เป็นยีนเครื่องหมายเพียงกลุ่มเดียวอาจไม่เพียงพอ ดังนั้นการทดสอบสมมุติฐานดังกล่าวมีความจำเป็นมาก และมีความเป็นไปได้ที่ในอนาคต การใช้ยีนเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกอาจเป็นในรูปของ package gene marker ก็ได้