



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การปรับปรุงพันธุ์สัตว์)

ปริญญา

การปรับปรุงพันธุ์สัตว์

สัตว์บาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง อิทธิพลของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะไขมันแทรกและคุณภาพซากในโคเนื้อ
ลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสน

Effect of Thyrogobulin Gene on Marbling Score and Carcass Traits in Kamphaeng Saen
Crossbreed Beef Cattle

نامผู้วิจัย นายบัณฑิต วงศ์พรหม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์อรรถรัตน์ โมฬี, ปร.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์วณิ ชัยวัฒนสิน, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมากร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

อิทธิพลของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะไขมันแทรกและคุณภาพซากในโคเนื้อลูกผสม
สายพันธุ์กำแพงแสน

Effect of Thyroglobulin Gene on Marbling Score and Carcass Traits in Kamphaeng Saen
Crossbreed Beef Cattle

โดย

นายบัณฑิต วังศัพรหม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การปรับปรุงพันธุ์สัตว์)

พ.ศ. 2553

บดินทร์ วงศ์พรหม 2553: อิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลินต่อลักษณะไขมันแทรกและ
คุณภาพซากในโคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(การปรับปรุงพันธุ์สัตว์) สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสัตวบาล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์อมรรัตน์ โมฬี, ปร.ด. 60 หน้า

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ คือ เพื่อศึกษาความหลากหลายและรูปแบบของ single nucleotide polymorphisms ของยีนไทโรไกลบูลินในโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน จำนวน 336 ตัว ที่นำมาที่ศูนย์วิจัย และพัฒนาผลผลิตจากสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยก่อนเข้ามาเท่ากับ 561.91 ± 55.11 และเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ single nucleotide polymorphisms ตำแหน่งต่างๆ ต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพซากในโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน

จากการศึกษาพบตำแหน่งที่เป็น SNPs 16 ตำแหน่ง คือ A110T, A133T, G156C, G161A, C220T, A228G, A253G, C338T, T350G, A351G, T354C, G392A, A430G, T433G, G461A และ A506C ซึ่งแสดงถึงยีนไทโรไกลบูลินมีความหลากหลายของ SNPs และรูปแบบที่แตกต่างกันในประชากรโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน และแต่ละตำแหน่งของ SNPs มี linkage disequilibrium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs แต่ละตำแหน่งกับลักษณะที่สนใจ ควรนำตำแหน่ง SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่งมาศึกษาควบคู่กันเพื่อประมาณค่าอิทธิพลของ SNPs แต่ละตำแหน่ง และพบว่าการเปลี่ยนแปลงของเบสเพียงตำแหน่งเดียวของยีนไทโรไกลบูลิน มีผลต่อการเปลี่ยนของลักษณะน้ำหนักซากร้อน (THC), น้ำหนักซากเย็น (TC), ความหนาของไขมันสันหลัง (FD) และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต (TF) การที่จะนำยีนไทโรไกลบูลินมาเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมนั้นยังไม่สามารถนำไปใช้ได้ ควรจะต้องมีการพัฒนาในวิธีการนำไป เพื่อให้เกิดความสะดวกในการนำไปใช้

Bodin Wongpom 2010: Effect of Thyroglobulin Gene on Marbling Score and Carcass Traits in Kamphaeng Saen Crossbreed Beef Cattle. Master of Science (Animal Breeding), Major Field: Animal Breeding, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Mrs. Amonrat Molee, Ph.D. 60 pages.

The aim of the present study was to study the polymorphism single nucleotide polymorphisms (SNPs) of thyroglobulin gene and study the associated between SNPs and marbling score, carcass traits of 336 Kamphaeng Saen crossbreed beef cattle from Suwanvajokkasikit Animal Research and Development Institute (SARDI) with the cattle were mean of body weight 561.91 ± 55.11 .

Sixteen polymorphism of single nucleotide polymorphism; SNPs A110T, A133T, G156C, G161A, C220T, A228G, A253G, C338T, T350G, A351G, T354C, G392A, A430G, T433G, G461A and A506C were observed and all of SNPs have the significant linkage disequilibrium ($P < 0.01$). This study thyroglobulin gene had polymorphism, associated carcass weight, Fat thickness and KPH fat ($P < 0.05$) and not associated marbling score ($P > 0.05$) in Kamphaeng Saen crossbreed beef cattle. Thyroglobulin gene should be developed to use genetic marker for selections carcass traits.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อมรรัตน์ โมฬี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ วาณี ชัยวัฒนสิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ พงษ์ชาญ ณ ลำปาง และผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอชาติ บุญเอก ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนแนวทางการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนเงินวิจัยเพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ สหกรณ์โคนมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลผลผลิต และข้อมูลคุณภาพเนื้อโคลูกผสม ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ สถาบันสุวรรณวาลกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บตัวอย่างเลือดโค และขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์รวิทย์ สิริพลวัฒน์ ที่ให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ และให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรมสั่งสอนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ขอขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสมดี และคุณแม่จงจิต วงศ์พรหม ที่ให้การอบรมสั่งสอน ให้การสนับสนุนทางด้านการศึกษามาโดยตลอด และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

บดินทร์ วงศ์พรหม

พฤษภาคม 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	18
ผลและวิจารณ์	23
สรุปและข้อเสนอแนะ	43
สรุป	43
ข้อเสนอแนะ	43
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	45
ภาคผนวก	52
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	60

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะคุณภาพซากของโค	6
2 ค่าสหสัมพันธ์ของไทรอยด์ฮอร์โมนกับ EBG (empty body gain), DMI (dry matter) protein accretion และfat accretion ในโคขุน	11
3 ความหลากหลายของยีนไทโรโกลบูลิน	14
4 ความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะคุณภาพซาก	15
5 ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviationists) ค่าสูงสุด (Maximum; Max) และค่าต่ำสุด (Minmium; Min) ของลักษณะคุณภาพซาก	23
6 ค่าความถี่ของลักษณะไขมันแทรก	23
7 อิทธิพลของวันที่เข้ามาและฝูงการจัดการที่มีผลลักษณะคุณภาพซาก และไขมันแทรก	24
8 ตารางเปรียบเทียบตำแหน่ง SNPs ที่พบกับงานวิจัยอื่น	27
9 การทดสอบHardy-Weinberg Equilibrium	29
10 ความถี่โนไทป์ และความถี่อัลลีล ของ Thyroglobulin gene	30
11 ค่าอิทธิของยีนไทโรโกลบูลิน (means±SE) ต่อลักษณะคุณภาพซาก	34
12 ค่าอิทธิของยีนไทโรโกลบูลิน (Frequency และExpected) ต่อลักษณะไขมันแทรก	38

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กลไกการสังเคราะห์ (synthesis) และการหลั่ง (secretion) ของไทรอยด์ฮอร์โมน	8
2	กลไกของไทรอยด์ฮอร์โมนที่มีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน	9
3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์กับการเจริญเติบโตของโคขุน	10
4	กลไกของไทรอยด์ฮอร์โมนที่มีผลต่อการกินได้ และการควบคุมสมดุลอุณหภูมิในร่างกาย	11
5	ไทรอยด์ฮอร์โมนเป็นตัวเหนี่ยวนำ (induced) ทำให้เกิด catecholamine-mediated ในขบวนการ lipolysis ในเซลล์ไขมัน	12
6	ลำดับเบสมาตรฐาน (Gene Bank accession EU591737)	20
7	แสดงแถบ PCR produce ใน gel โดยใช้เครื่อง Gene douctement	25
8	ตารางแสดงค่า Similarity จากผลการวิเคราะห์ ด้วยโปรแกรม BLAST2.2.22	26
9	แสดงการเปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสมาตรฐานกับลำดับเบสของตัวอย่าง	27
10	แสดงให้เห็นตำแหน่งที่มี เบสเพียง 2 เบส ด้วยโปรแกรม GeneDoc	28
11	แสดงการกราฟของเบส G และเบส C ที่ตำแหน่ง 156 bp ด้วยโปรแกรม Chormas	28
12	แสดง Linkage disequilibrium ของยีนไทโรไกลูตินใน SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่ง	32

ภาพผนวกที่

1	แสดงการเข้าไปยัง Hardy Weinberg Exact Tests	53
2	แสดงการเลือกใช้เมนูของ Hardy Weinberg Exact Tests	54
3	แสดงผลการทดสอบ Hardy Weinberg	55
4	แสดงการเข้าไปยัง Linkage Disequilibrium เพื่อทำการทดสอบ	56
5	แสดงการเลือกใช้เมนูของ Linkage Disequilibrium	56
6	แสดงผลการทดสอบ Linkage Disequilibrium	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
7 แสดงการเข้าไปยัง Basic Information, Fis and gene diversities เพื่อทำการหาความถี่จีโนไทป์	58
8 แสดงการเลือกใช้เมนูของ Basic Information, Fis and gene diversities	58
9 แสดงผลความถี่จีโนไทป์ของ SNPs ตำแหน่งต่างๆ	59

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

TG	=	Thyroglobulin
EBG	=	empty body gain
DMI	=	dry matter intake
SNPs	=	Single Nucleotide Polymorphism
EtBr	=	Ethidium bromide
THC	=	Total Hot Carcass
TC	=	Total Carcass
FD	=	Fat Dress
LEA	=	Loin eye area
WLC	=	Weight Loss Chill
MS	=	Marbling Score
TF	=	Total Fat

อิทธิพลของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะไขมันแทรกและคุณภาพซากในโคเนื้อลูกผสม สายพันธุ์กำแพงแสน

Effect of Thyroglobulin Gene on Marbling Score and Carcass Traits in Kamphaeng Saen Crossbreed Beef Cattle

คำนำ

โคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสนเป็นสายพันธุ์ที่อยู่ระหว่างการพัฒนาพันธุ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นโคเนื้อคุณภาพดี มีปริมาณไขมันแทรกสูง และตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางที่สำคัญในการที่ลดการนำเข้าเนื้อโคจากต่างประเทศ ซึ่งจากรายงานของ สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์ จะเห็นได้ว่าในระหว่างปี พ.ศ. 2544 ถึง พ.ศ. 2549 ประเทศไทยต้องเสียเงินประมาณ 222.65 ล้านบาท ในการนำเข้าเนื้อโคคุณภาพ ปัจจุบันผู้บริโภคมีความต้องการบริโภคเนื้อโคที่มีไขมันแทรกมาก เนื่องจากปริมาณไขมันแทรกมากนั้นมีผลต่อกลิ่นและรสชาติที่หอมอร่อยของเนื้อโค และยังบอกถึงคุณภาพของเนื้อโคอีกด้วย โดยที่ปริมาณไขมันแทรกมีความสัมพันธ์กับคุณภาพซาก ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจจึงจำเป็นต้องปรับปรุงปริมาณไขมันแทรกและคุณภาพซากให้ดีขึ้น โดยวิธีการจัดการเรื่องอาหาร และการปรับปรุงพันธุ์แต่การจัดการอาหารนั้นเป็นเพียงการจัดการด้านสิ่งแวดล้อมเท่านั้นซึ่งไม่สามารถถ่ายทอดได้ การปรับปรุงพันธุ์จึงเป็นวิธีที่ใช้ในการปรับปรุงปริมาณไขมันแทรกและคุณภาพซากให้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพซากและ ไขมันแทรกในเนื้อจัดเป็น ลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait) และเป็นลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) อยู่ในช่วง 0.42-0.97 ดังตารางที่ 1 ซึ่งเป็นลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูงหมายความว่า เป็นลักษณะที่มีพันธุกรรมเข้ามาอิทธิพลสูงต่อการแสดงออกของลักษณะนั้น หรืออาจจะทำให้การปรับปรุงพันธุ์ประสบผลสำเร็จได้เร็วขึ้น แต่การคัดเลือกสัตว์ที่มีลักษณะคุณภาพซากที่ดีนั้น นิยมใช้พ่อพันธุ์ที่ให้ลูกที่มีลักษณะคุณภาพซากที่ดี โดยดูจากค่า expected progeny differences (EPD) ซึ่งค่าดังกล่าว มีข้อจำกัด คือ ต้องใช้ระยะเวลาในการประเมินค่านี้ และค่าสังเกตที่นำมาใช้การประเมินค่า EPD เป็นค่าสังเกตที่หายากหรือ วิธีที่วัดใช้เทคนิคแบบหายากๆ เช่น การวัดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน การให้คะแนนไขมันแทรกเป็นต้นทำให้ความแม่นยำลดลง และใช้ค่าใช้จ่ายสูง (Bertrand *et al.*, 2001; Zhao, 2002; Andrew, 2007) จึงทำให้การปรับปรุงลักษณะดังกล่าว ด้วยวิธีการปรับปรุงพันธุ์สัตว์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) เพียงอย่างเดียวไม่

ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากการประเมินลักษณะดังกล่าว จำเป็นจะต้องให้สัตว์เจริญเติบโตเต็มที่หรือต้องฆ่าสัตว์ก่อนซึ่งใช้ระยะเวลานาน ปัจจุบันความก้าวหน้าทางพันธุศาสตร์โมเลกุล (molecular genetics) ทำให้นักปรับปรุงพันธุ์ สามารถนำเอาข้อมูลในระดับพันธุกรรมที่แท้จริงของสัตว์ซึ่งได้จากเทคนิคทางพันธุศาสตร์โมเลกุล มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ ร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์สัตว์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและเพิ่มความแม่นยำในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ และยังสามารถแก้ปัญหของข้อจำกัดการปรับปรุงพันธุ์สัตว์แบบดั้งเดิมได้ โดยใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรม (Marker assisted selection, MAS) ในการคัดเลือกโคที่มีไขมันแทรกมาก และคุณภาพซากที่ดี

จากการศึกษาของ Barendse (1999) พบว่า Thyroid hormones ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ผลิตจากต่อมไทรอยด์เป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อระบบเมตาบอลิซึมของไขมัน และนอกจากนี้ ฮอร์โมนดังกล่าวมีผลต่อปริมาณไขมันแทรกและคุณภาพซากด้วย กล่าวคือ Thyroid hormones มีความสำคัญในการพัฒนาของ adipocytes (Chawla, 1993; Harper and Pethick, 2004; Andrew, 2007) จากที่ได้กล่าวมาจะเห็นว่า Thyroid hormones มีผลต่อการพัฒนาของ adipose tissue ซึ่งเป็นที่เซลล์ที่ทำหน้าเก็บสะสมไขมัน และเซลล์ดังกล่าวยังกระจายไปในส่วนต่างๆ ของร่างกาย และแทรกอยู่กล้ามเนื้อ (marbling) ด้วย ซึ่ง Thyroid hormones นั้นถูกควบคุมการแสดงออกด้วย Thyroglobulin gene (TG) อยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 14 บริเวณ centromeric ของโครโมโซม (Casas *et al.*, 2005; Moor *et al.*, 2003) และจากการศึกษาของ Barendse (2004); Casas *et al.* (2007) พบว่า ยีนไทโรโกลบูลินมีศักยภาพในการที่นำมาพัฒนาเป็น genetic marker เพื่อช่วยในการคัดเลือกโคให้มีลักษณะคุณภาพเนื้อที่ดี และมีไขมันแทรกสูง แต่อย่างไรก็ตามยีนไทโรโกลบูลินยังมีความหลากหลายของ single nucleotide polymorphism; SNPs ในตำแหน่งต่างๆ ที่แตกต่างกันในสายพันธุ์ที่ต่างกัน และมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะที่แตกต่างกัน (Barendse, 2004; Casas *et al.*, 2005; Casas *et al.*, 2007)

จากงานวิจัยที่ทำการศึกษา Thyroglobulin gene (TG) ที่ผ่านมานั้น มีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนา Thyroglobulin gene (TG) ให้เป็น genetic marker ที่มีประสิทธิภาพ และช่วยในการคัดเลือกลักษณะคุณภาพซาก (Barendse, 2004; Casas *et al.*, 2005; Rincker *et al.*, 2006; Casas *et al.*, 2007; Qian *et al.*, 2008)

ดังนั้น วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จึงศึกษาความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลินรูปแบบต่างๆ ต่อปริมาณไขมันแทรกและลักษณะคุณภาพซากของโคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสน เพื่อหา

เครื่องหมายพันธุกรรมที่นำไปช่วยในการคัดเลือกโคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสนเพื่อให้มีปริมาณไขมันแทรกสูงและคุณภาพซากที่ดีต่อไป โดยมีสมมุติฐานว่า ยีนไทโรไกลบูลินมีอิทธิพลต่อลักษณะคุณภาพซาก และลักษณะไขมันแทรก



วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความหลากหลายและรูปแบบของ single nucleotide polymorphisms ของยีนไทโรไกลบูลินในโคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสน
2. ศึกษาความสัมพันธ์ของ single nucleotide polymorphisms ตำแหน่งต่างๆ ต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพซากในโคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสน



การตรวจเอกสาร

โคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนกับปัญหาและข้อจำกัดในการปรับปรุงคุณภาพซาก

ในอดีตประเทศไทยยังไม่มีโคพันธุ์เนื้อที่สามารถเลี้ยงเป็นโคขุนในเชิงธุรกิจเหมือนโคเนื้อพันธุ์ต่างประเทศ เช่น ยุโรปและอเมริกา ส่วนโคพื้นเมืองของประเทศไทยแม้ว่ามีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น ด้านทานโรค ทนร้อน แต่ก็มีขนาดเล็กและอัตราการเจริญเติบโตช้า ดังนั้นนักวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จึงได้พัฒนาโคพันธุ์ใหม่ขึ้นมาเพื่อใช้เป็นโคเนื้อพันธุ์แรกของประเทศชื่อว่าพันธุ์กำแพงแสน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นโคเนื้อคุณภาพดี ช่วยลดการนำเข้าเนื้อโคจากต่างประเทศ และตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการบริโภคเนื้อโคที่มีปริมาณไขมันแทรกสูง เนื่องจากปริมาณไขมันแทรกที่สูงนั้นมีผลต่อกลิ่นและรสชาติที่หอมอร่อยของเนื้อ ซึ่งโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนปรับปรุงพันธุ์ มาจากโคพื้นเมืองกับโคพันธุ์บราห์มัน และโคพันธุ์ชาโรเลส์ ที่มีเลือดของโคพื้นเมืองไทย 25% พันธุ์บราห์มัน 25% และพันธุ์ชาโรเลส์ 50% โดยได้รับลักษณะที่ดีจากโคพื้นเมืองไทย คือ ด้านทานโรค ทนร้อน และเจริญเติบโตได้ในสภาพที่อาหารสัตว์มีคุณภาพต่ำ และโครงสร้างใหญ่จากโคพันธุ์บราห์มัน และสามารถเพิ่มการสร้างเนื้อคุณภาพดี จากโคพันธุ์ชาโรเลส์ (ปรารณา, 2544) แต่การคัดเลือกโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนที่มีลักษณะคุณภาพซาก คุณภาพเนื้อที่ดี หรือการคัดเลือกโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนจากค่า EBV ในลักษณะคุณภาพซาก หรือคุณภาพเนื้อในโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนนั้น ประสบปัญหาอย่างมาก เพราะในประชากรโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนยังไม่มีพันธุ์ประวัติในรุ่นของพ่อแม่หรือลูก จึงไม่สามารถประเมินได้ หรือไม่แม่นยำ เนื่องจากจะต้องวัดค่าที่เกี่ยวกับคุณภาพซากในรุ่นลูกเพื่อที่จะไปประเมินพ่อพันธุ์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าระยะเวลาดังแต่พ่อพันธุ์ผสมแล้วได้ลูกและลูกก็ต้องใช้ระยะเวลานานกว่าเจริญเติบโตเต็มจึงจะสามารถวัดค่าที่เกี่ยวกับคุณภาพซากในรุ่นลูกได้ ซึ่งใช้ระยะเวลานานมากและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และถ้าประเมินจากลูกแล้วพ่อพันธุ์ทดสอบมีลักษณะคุณภาพซากและการเจริญเติบโตที่ไม่ดีก็ทำให้เสียทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายโดยเปล่าประโยชน์ (Andrew, 2007) และบางลักษณะที่เกี่ยวกับคุณภาพซากนั้น ไม่สามารถวัดในสัตว์ที่มีชีวิตได้ จำเป็นต้องฆ่าสัตว์ (Andrew, 2007; Parmentler *et al.*, 2001) จากข้อจำกัดดังกล่าวการใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรม ในการปรับปรุงลักษณะดังกล่าวจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถคัดเลือกสัตว์ที่พันธุกรรมดีถูกต้องได้โดยตรงและสามารถย่นระยะเวลา ในการคัดเลือกได้โดยสามารถทำการคัดเลือกสัตว์ได้ตั้งแต่สัตว์ยังไม่ให้ผลผลิต และลักษณะคุณภาพซาก ลักษณะคุณภาพเนื้อเป็น

ลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมสูง ดังตารางที่ 1 หรือเป็นลักษณะที่มีพันธุกรรมเข้ามาอิทธิพลสูงต่อการแสดงออกของลักษณะ

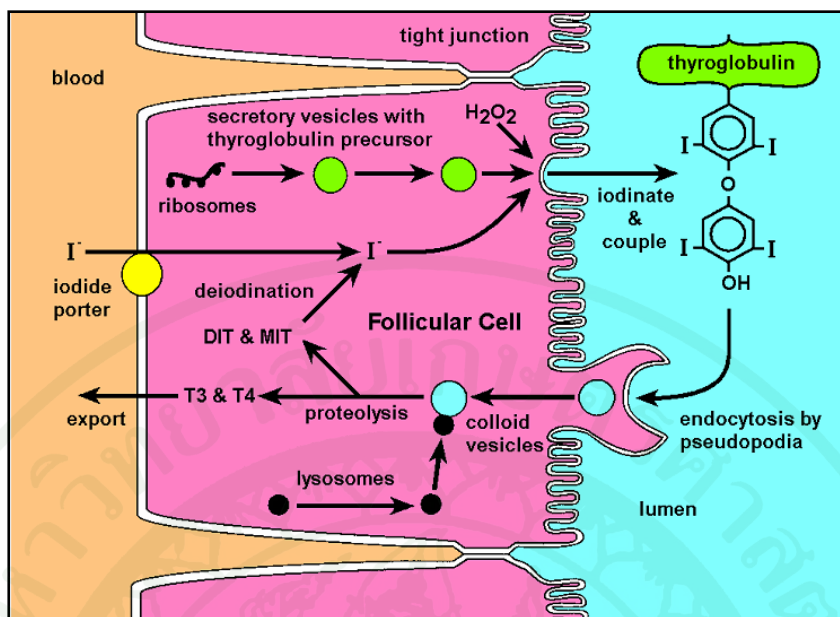
ตารางที่ 1 ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะคุณภาพซากของโค

Reference	Breed	Trait	$h^2 \pm SE$
Pariacote <i>et al.</i> (1998)	American Shorthorn	Hot carcass weight	0.6 $\pm$ 0.19
		Dressing percentage	0.49 $\pm$ 0.19
		Fat thickness	0.46 $\pm$ 0.19
		Ribeye area	0.97 $\pm$ 0.21
		Kidney-pelvic-heart	0.45 $\pm$ 0.19
		Marbling	0.88 $\pm$ 0.21
		Yield grade	0.54 $\pm$ 0.19
Riley <i>et al.</i> (2002)	Brahman	Fat thickness	0.63
		Hot carcass weight	0.55
		Dressing percentage	0.77
		Loin muscle area	0.44
		Kidney-pelvic-heart	0.46
		Marbling	0.44
		Yield grade	0.71
Eriksson <i>et al.</i> (2003)	Hereford	carcass weight	0.70
	Charolais	carcass weight	0.45
	Simmental	carcass weight	0.42

ความสำคัญของฮอร์โมนไทรอยด์ต่อคุณภาพซาก

ต่อมไทรอยด์ (Thyroid gland) พบในสัตว์มีกระดูกสันหลังเกือบทุกชนิด เจริญมาจากเอนโดเดิร์ม (endoderm) ที่พื้นของคอหอยตรงระดับฟาริงเจียล อาร์ชคู่ที่ 2 โดยเจริญขึ้นมาในแนวกลาง แล้วขาดการติดต่อกับคอหอยเคลื่อนไปอยู่บริเวณคอ มี 2 พูเชื่อมกันตรงกลางด้วย isthmus

ขนาดของต่อมนี้จะเล็กลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น ต่อมมีเปลือกหุ้ม และยื่นเป็นผนังกันแทรกเข้าไปในเนื้อต่อม (James, 2002) ต่อมไทรอยด์ประกอบด้วย Parafollicular cells (C cells หรือ clear cells) แทรกอยู่กับ follicular cells และยังประกอบไปด้วย follicles cells หรือ acini เซลล์จะเรียงตัวชั้นเดียวเป็นวงกลม ภายในวงกลมจะมีสารพวก colloid หรือ columnar ขนาดช่องว่างภายใน ซึ่งบรรจุสาร colloid ไม่ใหญ่นัก แต่ถ้าเซลล์ทำหน้าที่น้อย สาร colloid ภายในจะมีจำนวนมาก และเซลล์ follicle จะมีขนาดเล็ก โดยที่สาร colloid ในต่อมไทรอยด์ จะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นพวก glycoprotein อยู่ในรูปของ thyroglobulin ซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นมาโดยเซลล์ follicle โดยที่ follicles cells มีหน้าที่ในการสร้าง และหลั่ง thyroxine หรือ iodine-containing hormone T_3 และ T_4 ออกมาเก็บรวมเป็น glycoprotein อยู่ในรูปของ thyroglobulin hormone complex โดยลักษณะของต่อมไทรอยด์จะมีความสามารถที่จะรับและสะสมสาร iodine ไว้ในเซลล์ของต่อมได้มาก โดยที่มันสามารถจะรับ iodine จากเลือดเข้ามาอยู่ในต่อมในรูปของ iodine ซึ่ง iodine จะเคลื่อนเข้าสู่ต่อมโดยการ diffusion และโดยกระบวนการ active transport ดังภาพที่ 1 ซึ่ง iodine จะเก็บสะสมในรูปของ thyroxine ภายใน thyroglobulin เมื่อร่างกายต้องการ thyroxine hormone (T_3 และ T_4) Thyroglobulin จะถูกส่งผ่าน apical membrane และเข้าไปยังกระแสเลือด โดยอาศัยการกระตุ้นของฮอร์โมน thyroid stimulating hormone (TSH) จาก anterior pituitary gland ที่หลังจะ TSH ไปกระตุ้นการทำงานของ enzyme protease ในการปล่อย thyroxine ที่อยู่ในรูปอิสระนี้ จะ diffuse ผ่าน membrane ออกมาสู่กระแสโลหิต (ยรรยง, ม.ป.ป.; James, 2002) ดังภาพที่ 1 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า TSH สามารถควบคุมทั้งการสังเคราะห์ (synthesis) และเร่งการหลั่ง (secretion) ของฮอร์โมน thyroxine ด้วย

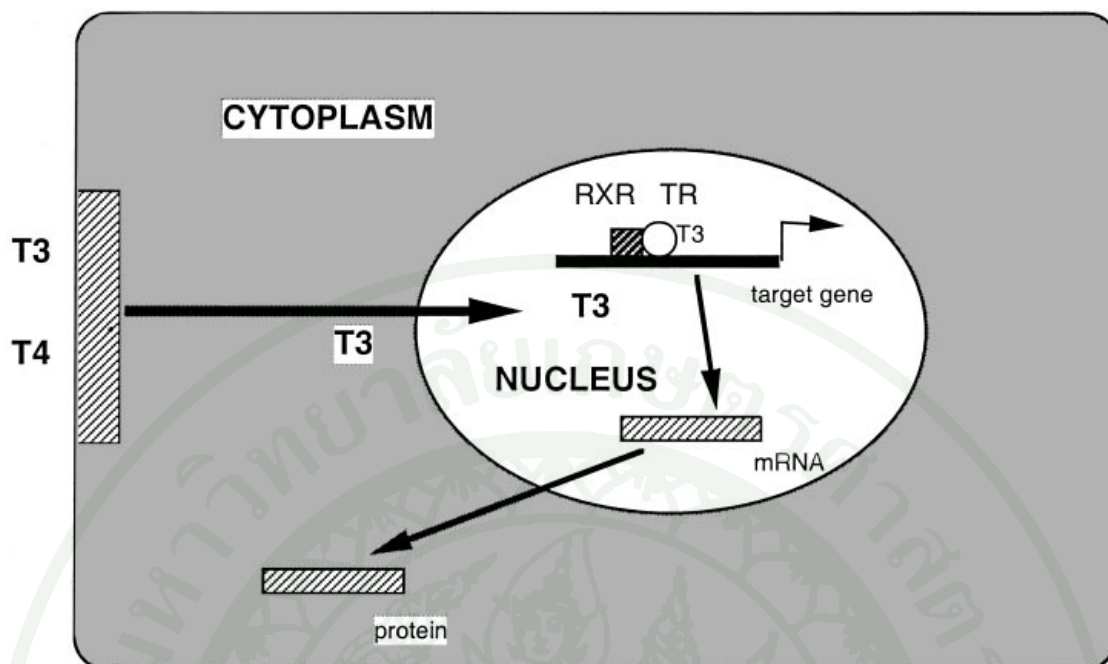


ภาพที่ 1 กลไกการสังเคราะห์ (synthesis) และการหลั่ง (secretion) ของไทรอยด์ฮอร์โมน

ที่มา: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2549)

thyroxine ที่อยู่ใน colloid จะมีอยู่ 2 รูป คือ thyroxine หรือ tetraiodothyroxine (T_4) ซึ่งจะพบอยู่ในวงจรโลหิตและมีความสำคัญมากที่สุด ส่วน triiodothyroxine (T_3) จะพบอยู่ในวงจรโลหิตจำนวนน้อยประมาณ 5 % ของฮอร์โมน thyroxine ทั้งหมด

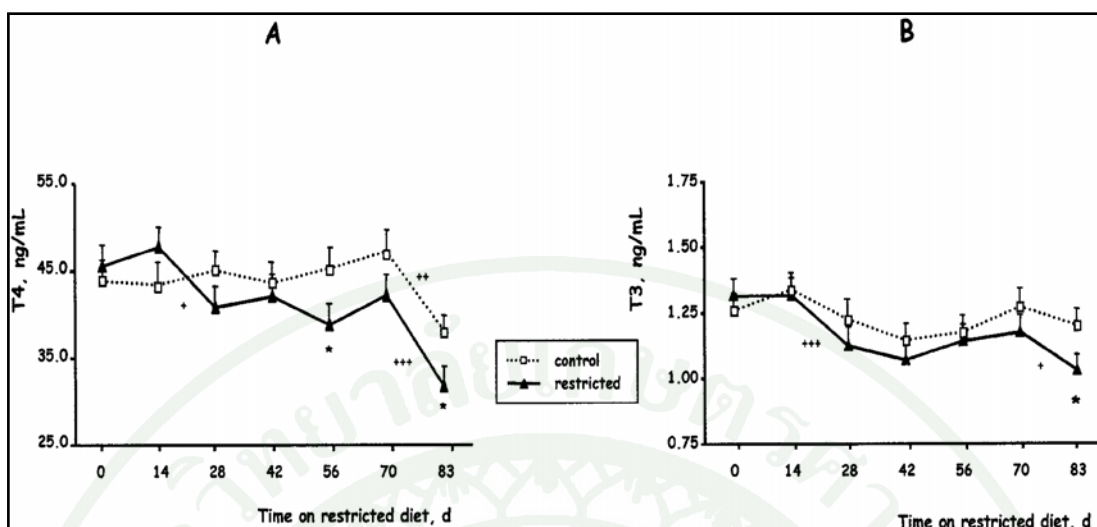
ไทรอยด์ฮอร์โมนมีความสำคัญต่อเมตาบอลิซึมของร่างกายโดยทั่วไป (Basal metabolic) และกระตุ้นให้เซลล์สร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (protein synthesis) ดังภาพที่ 2 (ชุมพล, 2539; Paul, 2001; Carolyn, 2006) โดยจะเพิ่มอัตราการกินได้ (food intake) เมื่ออยู่ในสถานะ Hyperthyroid และลดอัตราการกินได้เมื่อ Hypothyroidism (Macari *et al.*, 1986)



ภาพที่ 2 กลไกของไทรอยด์ฮอร์โมนที่มีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน

ที่มา: Paul (2001)

และมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของกรดอะมิโนที่จำเป็น (Carew *et al.*, 1998) และยังมีบทบาทต่อขบวนการเมตาโบลิซึมของไขมัน (Casas *et al.*, 2007) และต่อมไทรอยด์ฮอร์โมนมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการกินได้ของโคขุน (Cassar-Malek *et al.*, 2001) ดังภาพที่ 3 นอกจากนี้ไทรอยด์ฮอร์โมนยังมีบทบาทต่อขบวนการควบคุมการเจริญเติบโต ขบวนการพัฒนาของร่างกาย และขบวนการเมตาโบลิซึม ของไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (McDonald and Pineda, 1989) โดย Thyroxine จะทำให้ลดการสร้าง cholesterol ในเลือด โดยการเพิ่มการแตกสลายของไขมัน (lipolysis) จากเนื้อเยื่อไขมัน และเซลล์อื่นๆ (ชุมพล, 2539; ขรรขง, ม.ป.ป.; James, 2002)



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์กับการเจริญเติบโตของโคขุน

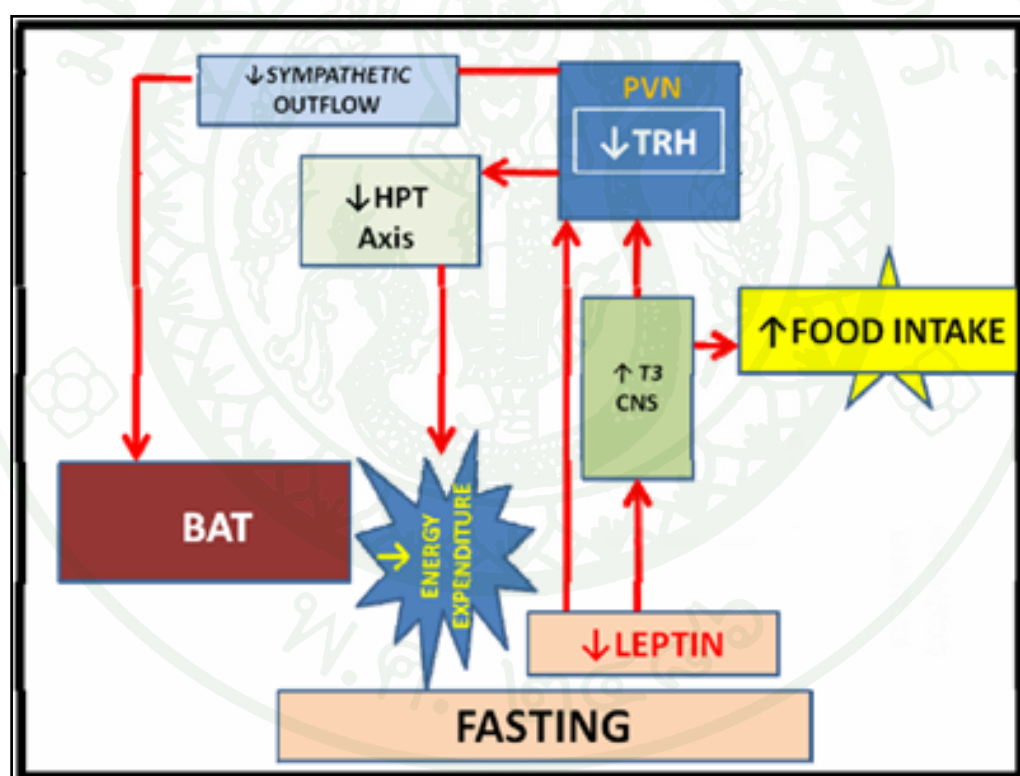
ที่มา: Cassar-Malek *et al.* (2001)

ไทรอยด์ฮอร์โมนมีผลการควบคุมขบวนการเมตาโบลิซึมของ mitochondria โดยเมื่อให้ Thyroxine แก่สัตว์มีผลทำให้ mitochondrion ในเซลล์เกือบทุกชนิดภายในร่างกายมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น และมีการเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น ส่งผลทำให้ร่างกายมีการเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ ATP ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานให้กับเซลล์ ทำให้เซลล์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น (Louise, 2002; ยรรยง, ม.ป.ป.) และไทรอยด์ฮอร์โมนยังมีสหสัมพันธ์ทิศทางเดียวกันกับ EBG (empty body gain), DMI (dry matter intake), Protein accretion และ Fat accretion ในโคขุน (Hayden *et al.*, 1993) ดังตารางที่ 2 ไทรอยด์ฮอร์โมนยังมีผลต่อการกินได้ และการควบคุมสมดุลอุณหภูมิในร่างกายด้วย (Saira *et al.*, 2010) ดังภาพที่ 4 เมื่อปริมาณ Leptin hormone ลดลงจะส่งผลทำให้ปริมาณไทรอยด์ฮอร์โมนเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการกินได้มากขึ้น และการที่กินได้มากขึ้นทำให้อุณหภูมิในร่างกายสูงขึ้น ทำให้เกิดการควบคุมสมดุลอุณหภูมิ ทำให้อุณหภูมิร่างกายลดลง

ตารางที่ 2 ค่าสหสัมพันธ์ของไทรอยด์ฮอร์โมนกับ EBG (empty body gain), DMI (dry matter intake), protein accretion และ fat accretion ในโคขุน

Item	Empty body gain	Protein	Fat	DMI
T ₃	0.76 (0.01)	0.67 (-0.02)	0.70 (0.04)	0.67 (-0.04)
T ₄	0.78 (-0.40)	0.71 (-0.46)	0.73 (-0.12)	0.84 (-0.21)

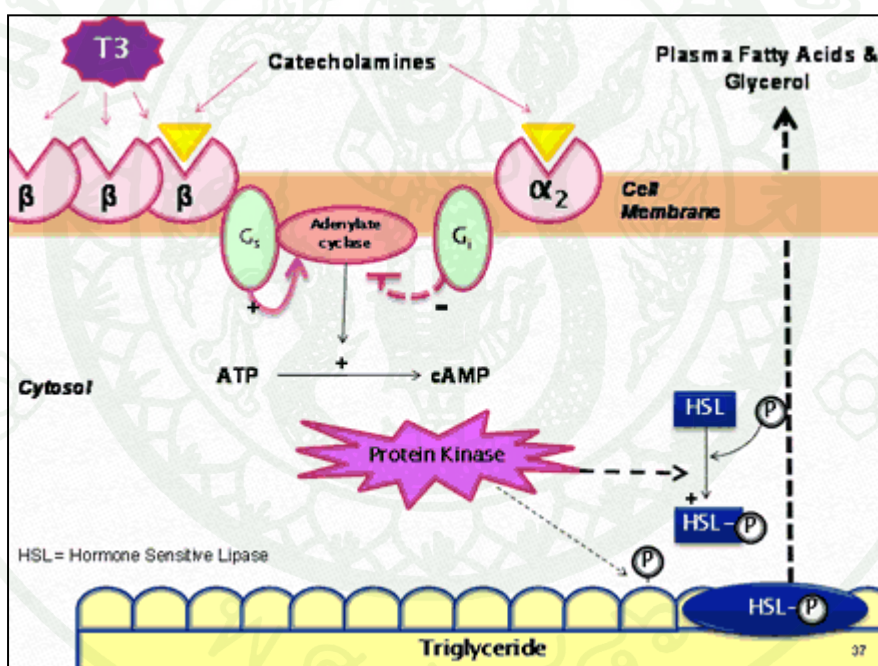
ที่มา: Hayden *et al.* (1993)



ภาพที่ 4 กลไกของไทรอยด์ฮอร์โมนที่มีผลต่อการกินได้ และการควบคุมสมดุลอุณหภูมิในร่างกาย

ที่มา: Saira *et al.* (2010)

นอกจากนี้ไทรอยด์ฮอร์โมนยังมีความสำคัญในการพัฒนาของ adipocytes (Ailhaud *et al.*, 1992; Andrew, 2007; Harper and Pethick, 2004) โดย Thyroid hormones เหนี่ยวนำให้ white adipose tissue (WAT) ของหนู มีการพัฒนา (Grimaldi *et al.*, 1982; Levacher *et al.*, 1984; Flores-Delgado *et al.*, 1987; Teboul *et al.*, 1991) ส่วนในเรื่องของกลไกการทำงาน Thyroid hormones ที่มีผลต่อ adipose tissue นั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่จากที่ Thyroid receptors ชนิด TR α -1 และ TR β -1 ที่มีผลต่อการแสดงออกของ Ob17 cells (Chawla *et al.*, 1993) ซึ่ง Ob17 cells เป็นเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็น adipose tissue และนอกจากนี้ Thyroid hormones มีผลต่อการพัฒนาของ adipose tissue และจากการศึกษาของ Oppenheimer *et al.* (1987a, 1991b) ที่ทำการศึกษา Thyroid hormones ต่อขบวนการต่างๆ ในร่างกายของหนู พบว่า Thyroid hormones มีผลต่อการเพิ่มของขบวนการ lipogenesis, thermogenesis และ lipolysis ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ไทรอยด์ฮอร์โมนเป็นตัวเหนี่ยวนำ (induced) ทำให้เกิด catecholamine-mediated ในขบวนการ lipolysis ในเซลล์ไขมัน

ที่มา: Complete Wellbeing Solutions (2009)

และนอกจากนี้ Thyroid hormones ยังมีผลต่อการเหนี่ยวนำ enzymes ต่างๆ ในขบวนการ lipogenesis เช่น Acetyl CoA carboxylase malic enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase และ fatty acid synthase (Gharbi-Chihi *et al.*, 1991; Moustaid *et al.*, 1991; Perez *et al.*, 1993; Blennemann *et al.*, 1995) จากที่ได้กล่าวมาจะเห็นได้ ไทรอยด์ฮอร์โมนมีผลต่อการพัฒนาของ adipose tissue ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าเก็บสะสมไขมัน และเซลล์ดังกล่าวยังกระจายไปในส่วนต่างๆ ของร่างกาย และแทรกอยู่กล้ามเนื้อ (marbling) ด้วย และไทรอยด์ฮอร์โมนยังมีผลต่อการเจริญเติบโตอีกด้วย ซึ่งไทรอยด์ฮอร์โมนนั้นถูกควบคุมการแสดงออกด้วย Thyroglobulin gene (TG) ที่จะได้กล่าวในลำดับต่อไป

ความหลากหลายของ Thyroglobulin gene (TG)

Thyroglobulin gene (TG) อยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 14 บริเวณ centromere ของโครโมโซม (Casas *et al.*, 2005; Moor *et al.*, 2003) รูปแบบของยีนหนึ่งมีลักษณะรูปแบบแตกต่างกันไปในประชากรที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของยีน (crossing over) หรือการกลายพันธุ์ (mutation) โดยที่ Thyroglobulin gene มีความหลากหลายของรูปแบบยีนที่แตกต่างกันในประชากรโคที่ต่างสายพันธุ์ (Barendse, 2004; Casas *et al.*, 2005; Casas *et al.*, 2007) ซึ่งจะเห็นได้ว่าความถี่จีโนไทป์ของ Thyroglobulin gene แต่ละงานวิจัยมีความแตกต่างกัน ดังตารางที่ 3 จึงเป็นเหตุผลที่ต้องทำการศึกษาความหลากหลายของรูปแบบของยีนไทโรโกลบูลินในประชากรโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาเรื่องความสัมพันธ์ของยีนกับลักษณะต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพเนื้อ และการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

วิธีการที่นิยม คือ SNP (single nucleotide polymorphism) ด้วยเทคนิค Single Strand Conformation (SSCP) เทคนิค Microarray และ PCR-RFLP ซึ่งเทคนิค Single Strand Conformation (SSCP) เป็นการตรวจหาโพลีมอร์ฟิซึมจากดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ที่มีความแตกต่างกันเฉพาะเบสตัวใดตัวหนึ่งในชิ้นดีเอ็นเอ (point mutation) (สุรินทร์, 2540) โดยอาศัยหลักที่ว่าดีเอ็นเอสายเดี่ยวในสภาพธรรมชาติ (nondenaturing condition) จะมีการขดหรือพันกันภายในโมเลกุล เกิดเป็นโครงสร้างจำเพาะหรือมี conformation ที่จำเพาะขึ้นอยู่กับลำดับเบสของดีเอ็นเอสายนั้น ซึ่งจัดเป็นโครงสร้างขั้นทุติยภูมิ (secondary structure) ซึ่งจะมีผลต่อการเคลื่อนที่ในระหว่างการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส ในสภาพ non denaturing polyacrylamide gel ต่างกัน

ตารางที่ 3 ความหลากหลายของยีนไมโทโครนูลิน

References	Breed	Technical	Genotype
Barendse <i>et al.</i> (2004)	AMH ^{1*} Toowoomba	SSCP	g22, g23, g33
Casas <i>et al.</i> (2005)	Brahman	Microarray	CC,CT,TT
Rincker <i>et al.</i> (2006)	Simmental	GeneSTAR MARB Analysis	0-STAR, 1-STAR, 2-STAR
Casas <i>et al.</i> (2007)	GPE6 ^{2*} GPE7 ^{3*} GPE8 ^{4*}	Microarray	CC, CT, TT
Qian <i>et al.</i> (2008)	Simmental, Angus, Hereford, Charolais, Limousin, Qinchuan, Luxi Jinnan	Sequencing	A110T, G133C, G156C, C220T, A351G, A506C

หมายเหตุ ^{1*} = Australia Meat Holdings.

^{2*} = Germplasm Evaluation Program, Cycle 6, includes animals with Hereford, Angus, Norwegian Red, Swedish Red and White, Friesian, and Wagyu inheritance.

^{3*} = Germplasm Evaluation Program, Cycle 7, includes animals with Hereford, Angus, Red Angus, Simmental, Gelbvieh, Limousin, and Charolais inheritance.

^{4*} = Germplasm Evaluation Program, Cycle 8, includes animals with Hereford, Angus, Beefmaster, Brangus, Bonsmara, and Romosinuano inheritance

นอกจากนี้ต้องคำนึงว่า SSCP สามารถตรวจสอบได้เฉพาะชิ้น DNA ขนาดเล็กๆ เท่านั้น ประมาณ 0.3 – 0.7 Kb ดังนั้นถ้าชิ้น DNA ที่มีขนาดใหญ่เกินไปจะต้องนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะให้มีขนาดเล็ก แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SSCP เรียกเทคนิคนี้ว่า PCR – RF – SSCP

หรือ Ref – SSCP (restriction endonuclease fingerprinting – SSCP) ส่วนเทคนิค Microarray เป็นเทคนิคที่พัฒนามากจากเทคนิค Southern blot และ Northern blot โดยอาศัยความรู้เรื่องโครงสร้างดีเอ็นเอ 2 ลักษณะ คือ เบสคู่สมและพันธะระหว่างสันดีเอ็นเอ หลักการของดีเอ็นเอไมโครแอเรย์อาศัยหลักการ hybridization ของดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษากับดีเอ็นเอที่เรารู้ลำดับแล้ว ซึ่งอาจเป็น cDNA หรือ oligonucleotide สั้นๆ โดยผลการวิจัยที่ทำการศึกษา Thyroglobulin (TG) ต่อลักษณะคุณภาพซาก และการเจริญเติบโตได้รวบรวมแสดงดังตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่า มีงานวิจัยจำนวนมากที่ให้ความสนใจในการศึกษา ยีนไทโรโกลบูลิน เพื่อพัฒนาเป็น genetic marker ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพซากและไขมันแทรก แต่อย่างไรก็ตามผลงานวิจัยดังกล่าว มีความแตกต่างกันไปในแต่ละประชากรที่ทำการศึกษานั้น ยีนไทโรโกลบูลินมีความสัมพันธ์ หรืออิทธิพลต่อลักษณะคุณภาพซาก และไขมันแทรก ที่แตกต่างกัน จากความสนใจนี้ จึงเป็นประเด็นวิจัยสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อในประเทศที่จะพัฒนางานวิจัย เพื่อหาแนวทางในการนำ genetic marker มาใช้เพื่อการปรับปรุงลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพซาก และการเจริญเติบโตต่อไป

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะคุณภาพซาก

Reference	Breed	Traits	P-value
Moore <i>et al.</i> (2003)	- M1 ^{3*}	-backfat	0.4192
Thaller <i>et al.</i> (2003)	-German Holstein	-longissimus dorsi	<0.05
		-semitendinosus	>0.05
	-Charolais	-longissimus dorsi	>0.05
		-semitendinosus	>0.05
Barendse <i>et al.</i> (2004)	- Angus	-Marbling score	<0.05
	- Shorthorn	-Marbling score	<0.05
Casas <i>et al.</i> (2005)	-Brahman	-Marbling score	0.078
		-fat thickness	0.016
		-longissimus area	0.021
		-Tenderness	0.181
Rincker <i>et al.</i> (2006)	-Simmental	- Marbling score	>0.10
		-Quality grade	>0.10

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Reference	Breed	Traits	P-value
Casas <i>et al.</i> (2007)	-Wagyu	-Marbling score	0.019
	-Non-Wagyu ^{1*}	-Marbling score	0.897
	-GPE7 ^{2*}	-Bone yield	0.015
		-Fat yield	0.030
		-retail product yield	0.041
Qian <i>et al.</i> (2008)	-Simmental, Angus,	- live weight;	0.45
	Hereford, Charolais,	- carcass weight	0.46
	Limousin,	-dressing percentage	0.93
	Qinchuan, Luxi	- backfat thickness	0.78
	Jinnan	- marbling score;	0.02
		- loin muscle area	0.66

หมายเหตุ ^{1*} = Hereford, Angus, Norwegian, Swedish Red, Friesian.

^{2*} = Hereford, Angus, Red Angus, Simmental, Gelbvieh, Limousin, Charolais.

^{3*} = commercial line was developed from an Angus

การศึกษา Linkage disequilibrium

การศึกษา Linkage disequilibrium มีความสำคัญ คือ ทำให้เข้าใจถึงโครงสร้างของgenome และมีประโยชน์ในเรื่องการศึกษาแผนที่ของยีน (Yuguo *et al.*, 2006) เพราะเมื่อเราทราบว่ายีนใดๆ หรือเครื่องหมายพันธุกรรมใดๆ ที่มี Linkage ต่อกันแล้ว ข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปเขียนเป็นแผนที่ยีน หรือนำไปศึกษาอิทธิพลของยีนหนึ่งที่มีอิทธิพลต่ออีกยีน

Sripicchai (2006) ศึกษา linkage disequilibrium ของ SNPs 45 ตำแหน่งที่ปรากฏอยู่บน β -globin gene cluster บนโครโมโซม 11 ในผู้ป่วยโรคเบต้า-ธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี นอกจากนี้ยังมี Andrew *et al.*, (1998) ที่ศึกษา linkage disequilibrium ของ SNPs 88 ตำแหน่งที่ปรากฏอยู่บน human lipoprotein lipase gene (*LPL*) ในประชากร African American, Finnish และ non-Hispanic white จำนวน 71 คน ดังนั้นการ Linkage disequilibrium ระหว่างตำแหน่งของ SNPs ที่อยู่ในยีน

เดียวกันนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากในกรณีที่พบนัยสำคัญของ linkage disequilibrium การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่ง SNPs กับลักษณะที่สนใจ ก็ไม่สามารถที่จะแยกศึกษาในแต่ละตำแหน่งได้



อุปกรณ์และวิธีการ

1. สัตว์ทดลองและข้อมูล

โคเนื้อที่ใช้ในการศึกษา คือ โคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน จำนวน 336 ตัว ที่นำมาฆ่าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ทำการเก็บข้อมูลลักษณะคุณภาพซาก คือ น้ำหนักซากร้อน (THC) น้ำหนักซากเย็น (TC) น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก (WLC) ไขมันแทรก (MS) พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (LEA) ความหนาของไขมันสันหลัง และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต (TF) ซึ่งค่าพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันและค่าความหนาของไขมันสันหลังวัดจากบริเวณซี่โครงซี่ที่ 12 และ 13 ตามมาตรฐานสากล ไขมันแทรกจะตัดสินโดยบุคลากรจากศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์

2. เก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือด โดยการรองจากโคที่ถูกฆ่า ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง (tube) ที่เคลือบด้วย EDTA เพื่อป้องกันเลือดแข็งตัว และนำเลือดที่เจาะแช่เย็นที่ -20°C เพื่อรักษาสภาพดีเอ็นเอก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3. การสกัดดีเอ็นเอ

วิธีการสกัดดีเอ็นเอ จากตัวอย่างเลือดโดยใช้น้ำยาสกัดสำเร็จรูป (DNA trap II) โดยนำตัวอย่างเลือดใช้ปริมาตร 200 μl ใส่ในหลอด เติม 400 μl ของ Trapping Buffer ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 10 วินาทีที่อุณหภูมิห้อง ใช้ Micropipette ดึงของเหลวส่วนบนทิ้งไป เติม Extraction Buffer 500 μl นำไป vortex ให้ตะกอนแตกตัวจนหมด ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 10 วินาทีเทส่วนใสทิ้ง เติม Washing buffer I 500 μl ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 10 วินาทีเทส่วนใสทิ้ง เติม Washing buffer II 500 μl ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 10 วินาทีเทส่วนใสทิ้ง เปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าของเหลวจะระเหยออกจากตะกอนจนหมด เติม Elution Buffer 100 μl ผสมให้เข้ากันนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65 $^{\circ}\text{C}$

นาน 30 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 10 นาที ดึงส่วนใสที่เป็น DNA ใส่หลอด 1.5 ml หลอดใหม่ นำ DNA ไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณ

4. การตรวจปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ

การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยวิธี Agarose Gel Electrophoresis ตรวจสอบผลการสกัดดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ที่ทราบขนาดโดยในที่นี้เราจะใช้ Gene Ruler 100 bp DNA ladder โดยใช้ DNA จากจำนวน 3 ไมโครลิตร ผสมกับ tracking dye 2 ไมโครลิตร ใช้ 0.8% agarose gel เป็นตัวกลางสำหรับแยกดีเอ็นเอ ใน 1% TBE buffer ผ่านสนามไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำ gel ไปย้อมด้วยสารละลาย EtBr 0.5 µg/ml ประมาณ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างสีของ Ethidium bromide (EtBr) ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำ gel ไปส่องด้วย UV-Source โดยใช้เครื่องคือ Gene docuement เพื่อดูแถบ DNA ใน gel

5. การตรวจสอบการเพิ่มปริมาณยีน Thyroglobulin จากวิธี PCR โดย agarose gel electrophoresis

ดีเอ็นเอที่สกัดได้นำมาเพิ่มปริมาณยีน Thyroglobulin ที่ต้องการด้วยไพรเมอร์ (5' -TCC CAG AGT TAG CCT CCA AG-3') และ (5'-GAC CTC ACC ACC TCT CAT TCA-3') (Qian *et al.*, 2008) ที่จำเพาะเจาะจงกับยีน Thyroglobulin ที่มีขนาด 709-bp และทำการตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณยีน โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ที่ทราบขนาดโดยในที่นี้เราจะใช้ Gene Ruler 100 bp DNA ladder โดยใช้ DNA จากวิธี PCR จำนวน 3 ไมโครลิตร ผสมกับ tracking dye 2 ไมโครลิตร ใช้ 1.5% agarose gel เป็นตัวกลางสำหรับแยกดีเอ็นเอ ใน 1% TBE buffer ผ่านสนามไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำ gel ไปย้อมด้วยสารละลาย Ethidium bromide 0.5 µg/ml ประมาณ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างสีของ Ethidium bromide (EtBr) ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำ gel ไปส่องด้วย UV-Source โดยใช้เครื่อง Gene docuement เพื่อดูแถบ PCR produce ใน gel

6. การศึกษาความหลากหลายจีโนไทป์ของยีนไทโรโกลบูลิน

การศึกษาความหลากหลายจีโนไทป์ของยีนไทโรโกลบูลินในกลุ่มตัวอย่างโคเนื้อลูกผสม 336 ตัว โดยวิธี PCR (Qian *et al.*, 2008) และ นำ PCR product ไปทำให้บริสุทธิ์ (DNA Technology Laboratory) และส่งตรวจหาลำดับเบส (1st BASE) ทุกตัวอย่าง หาความแตกต่างของลำดับเบสด้วย

โปรแกรม BLAST2.2.22 (National Center for Biotechnology Information) โดยเปรียบเทียบกับ ลำดับเบสมาตรฐาน (Gene Bank accession EU591737) ดังภาพที่ 6 ที่มีขนาด 709bp เพื่อศึกษา polymorphism ของ single nucleotide polymorphisms โดยได้เลือกตัวอย่างจำนวน 242 ตัวอย่าง ที่มี ค่า Similarity ตั้งแต่ 80% ขึ้นไปกับลำดับเบสมาตรฐาน หาความถี่ของจีโนไทป์ ใน SNPs ตำแหน่ง ต่างๆ

```

1 tcccagagtt agcctccaag acctatagca agtgaccagc cccatcccaa atgccacct
61 ggacaccta ttctccaaca tagctgctaa ctatcaataa agtgtctaca tgcagaaaag
121 cattgggtgac tcagattctt taatttcaga cagtcgttgg gagacaccag ggattcttgt
181 ggctcagagg gtaaagcatc tgcctgcaat gcaggaaccc gggttcaatc cctgggtcag
241 gaagatcccc tgaagaagga aatggcaacc cactccagta ctctgcctg gaaaatccca
301 tggatgggtg agcctggtag gctacagtcc atggtgtcgc aaagagctgt acatgactga
361 gcgacttcac tctactcact acctggggaga cgccaaacta tgtcttaatc ctcccaaggt
421 ttgaatccca ggtgctgttt ccttttgaca aatattgatg gagcatcccc ttgcaccaa
481 gccctgtgca ggggtactggg ggtggagggg gtggcgagga ccctcctctc aagaaggaga
541 ggagggcagg tcaacagtga cccagggaat ggggatctat caaggcgaa cccagaagg
601 agacagtctc acctgtgtgt tagaaagaat tctcatgtga agattccaaa atggaggtgg
661 gaggccaact caggctggga cagtattctg aatgagaggt ggtgaggtc

```

ภาพที่ 6 ลำดับเบสมาตรฐาน (Gene Bank accession EU591737)

ที่มา: National Center for Biotechnology Information (2008)

โดยเริ่มจากการวิเคราะห์ ด้วยโปรแกรม BLAST2.2.22 ที่เปรียบเทียบระหว่างลำดับเบส มาตรฐาน กับลำดับเบสของตัวอย่าง แล้วจัดรูปแบบให้เหมือนกับผลการเปรียบเทียบระหว่างลำดับ เบสมาตรฐาน กับลำดับเบสของตัวอย่างให้อยู่รูปของไฟล์ FASTA นำเข้าโปรแกรม GeneDoc

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติอิทธิพลของยีน Thyroglobulin ต่อลักษณะคุณภาพซากและลักษณะไขมันแทรก

7.1 หาความถี่ของจีโนไทป์ และอัลลีล ทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium และค่า Linkage disequilibrium ของ SNPs ตำแหน่งต่างๆ โดยใช้ GENEPOP version 4.0.10 (Raymond *et al.*, 1995)

7.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลิน ต่อลักษณะคุณภาพซาก ได้แก่ น้ำหนักซากร้อน น้ำหนักซากเย็น น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก ไขมันแทรก พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน ความหนาของไขมันสันหลัง และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนไทโรโกลบูลิน ต่อลักษณะคุณภาพซากด้วยวิธี multiple linear regression โดยการประมาณค่าอิทธิพลของยีนไทโรโกลบูลิน ต่อลักษณะคุณภาพซาก ด้วยวิธี OLS (Ordinary Least Square) โดยมีตัวแบบในการทำนายดังนี้

$$Y_{ijk} = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 (X_{ij} + \bar{X}) + \varepsilon_{ijk}$$

โดย Y_{ij} คือ ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ทำการศึกษาซึ่งได้แก่ น้ำหนักซากร้อน น้ำหนักซากเย็น น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก ไขมันแทรก พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน ความหนาของไขมันสันหลัง และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต ของโคตัวที่ k การจัดการที่ j และ genotype ที่ i, X_{ij} คือ น้ำหนักโคก่อนฆ่า $\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักโคก่อนเข้าฆ่า $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ คือ ค่า regression coefficient ของ $X_1, X_2, (X_{ij} + \bar{X})$ เมื่อ $X_1, X_2, (X_{ij} + \bar{X})$ เป็น ปัจจัยเนื่องจากความแตกต่างของการจัดการ หรือ ฤดูกาล, ปัจจัยเนื่องจากจีโนไทป์ยีน Thyroglobulin ของทุกตำแหน่ง ตำแหน่ง SNPs และน้ำหนักก่อนเข้าฆ่า (coefficient) ε_{ijk} คือ ปัจจัยอื่นๆ

7.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลิน ต่อลักษณะไขมันแทรก วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนไทโรโกลบูลิน ต่อลักษณะไขมันแทรกด้วยวิธี nonparametric ซึ่งเป็น

วิธีการทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบอิสระ (Free distribution) และเนื่องจากค่าของลักษณะไขมันแทรกนั้น เป็นค่าคะแนนที่ได้จากบุคลากรจากศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์เป็นผู้ตัดสิน โดยใช้ Chi-Square Test เป็นสถิติใช้ในการทดสอบ

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

เมื่อ O คือ ความถี่ที่ได้มาจากการสังเกต

E คือ ความถี่ที่คาดหวังตามทฤษฎี

ผลและวิจารณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาอิทธิพลของอินโทโรโกลูตินต่อลักษณะคุณภาพซาก คือ น้ำหนักซากร้อน (THC) น้ำหนักซากเย็น (TC) น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก (WLC) ไขมันแทรก (MS) พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (LEA) ความหนาของไขมันสันหลัง และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต (TF) ซึ่งข้อมูลค่าเฉลี่ย $\pm$ SD และอิทธิพลของวันเข้าฆ่า ผู้จัดการการที่มีผลต่อลักษณะดังกล่าวได้แสดงในตารางที่ 5 ตารางที่ 6 และตารางที่ 7 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviationists) ค่าสูงสุด (Maximum; Max) และค่าต่ำสุด (Minimum; Min) ของลักษณะคุณภาพซาก

Trait	n	Mean	SD	Min	Max
THC	242	337.78	36.84	259	511
TC	242	327.45	36.13	250.3	497
WLC	242	10.18	1.73	4.4	13.7
LEA	242	115.54	16.78	55.05	159.27
FD	242	2.43	0.88	0.5	4.5
TF	242	25.81	6.44	9.9	56.5
WG	242	561.91	55.11	438	85

หมายเหตุ THC= น้ำหนักซากร้อน, TC=น้ำหนักซากเย็น, WLC=น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก, LEA=พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน, FD =ความหนาของไขมันสันหลัง, TF =น้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต, WG= น้ำหนักเข้าฆ่า

ตารางที่ 6 ค่าความถี่ของลักษณะไขมันแทรก

Marbling Score					
	1	2	3	4	Total
N	133	97	10	2	242
Percent (%)	54.96	40.08	4.13	0.83	100

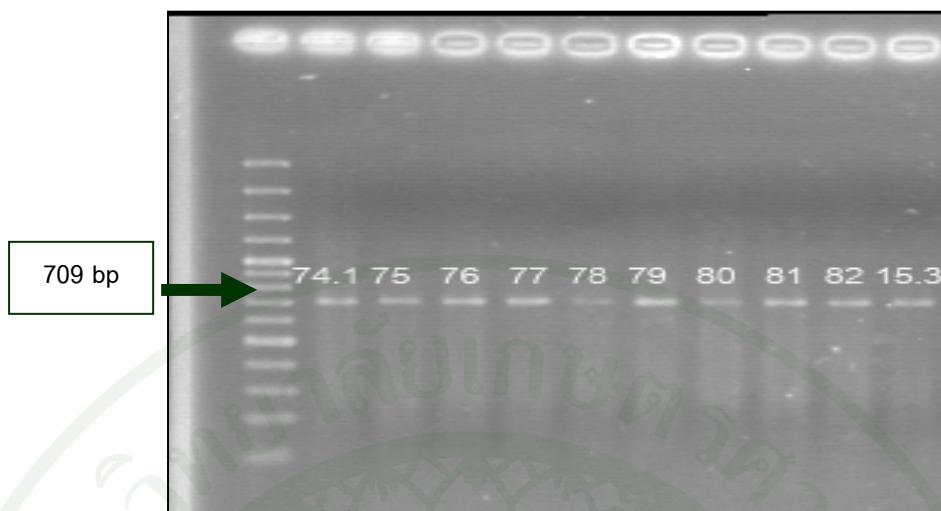
ตารางที่ 7 อิทธิพลของวันที่เข้ามา และฝูงการจัดการ ที่มีผลต่อลักษณะคุณภาพซาก และลักษณะไขมันแทรก

	Day		Herd	
	ระดับ	P-value	ระดับ	P-value
THC	3	0.018	32	0.2261
TC	3	0.2196	32	0.1827
WLC	3	<0.0001	32	0.6018
LEA	3	<0.0001	32	0.1159
MS	3	0.0154	32	0.0049
FD	3	0.3559	32	0.3055
TF	3	<0.0001	32	0.1142

วันที่โคเข้ามาที่แบ่งออกเป็น 3 ฤดู มีอิทธิพลต่อน้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต แต่ฝูงการจัดการไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะคุณภาพซาก และไขมันแทรก ดังตารางที่ 7 ซึ่งจากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเมื่อทำการศึกษาอิทธิพลของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะน้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต จะต้องวันที่โคเข้ามาเข้ามาศึกษาพร้อมเพื่อประมาณค่าอิทธิพลของยีนไทโรโกลบูลิน ต่อลักษณะที่ทำการศึกษา

1. ผลการตรวจสอบการเพิ่มปริมาณยีนไทโรโกลบูลินด้วยเทคนิค PCR

ทำการตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณยีนไทโรโกลบูลิน โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ที่ทราบขนาด เพื่อเป็นตรวจสอบความถูกต้องของการเพิ่มปริมาณยีนไทโรโกลบูลิน ที่มีขนาดเท่ากับ 709 bp ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงแถบ PCR produce ใน gel โดยใช้เครื่อง Gene douctement

2. ผลการศึกษาความหลากหลายของยีนไทโรไกลบูลิน

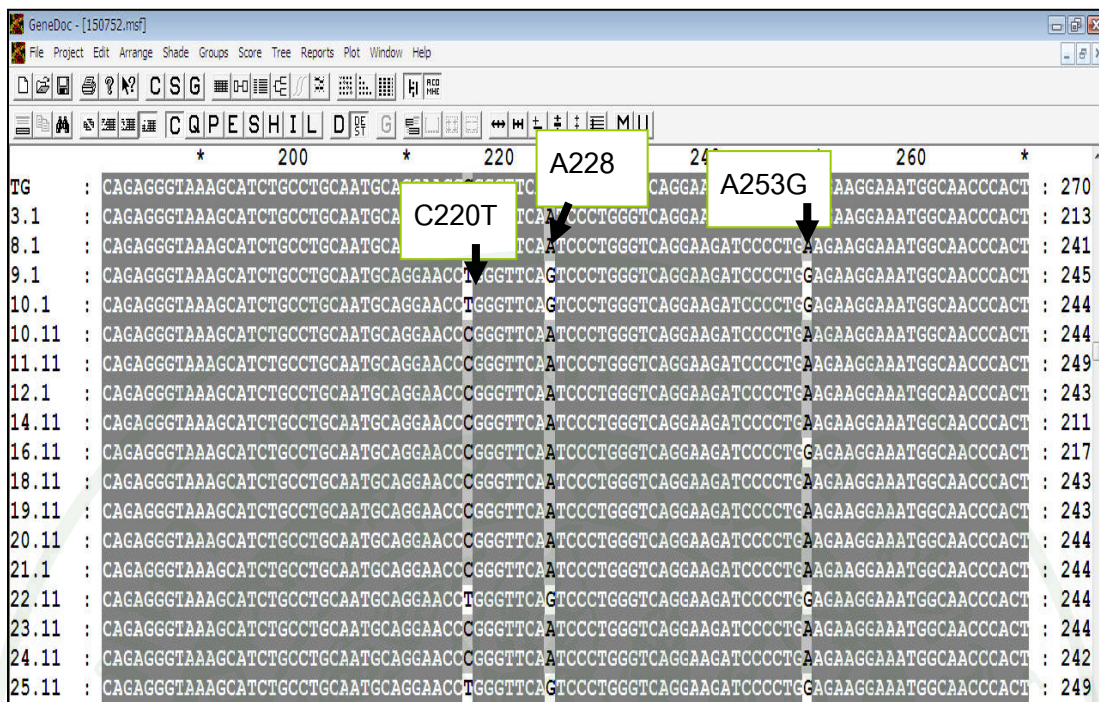
จากการศึกษาความหลากหลายจีโนมไทป์ของยีนไทโรไกลบูลินในกลุ่มตัวอย่างโคเนื้อลูกผสม 336 ตัว โดยได้เลือกตัวอย่างที่มีค่า Similarity ตั้งแต่ 80% ดังภาพที่ 8 ขึ้นไปกับลำดับเบสมาตรฐาน พบว่ามีโคเนื้อลูกผสมจำนวน 242 ตัว ที่มีค่า Similarity ตั้งแต่ 80% ขึ้นไปกับลำดับเบสมาตรฐาน แล้วหาดำแหน่ง SNPs โดยเริ่มจากดูผลการวิเคราะห์ ด้วยโปรแกรม BLAST2.2.22 ที่เปรียบเทียบกับลำดับเบสมาตรฐาน (Gene Bank accession EU591737) กับลำดับเบสของตัวอย่างดังภาพที่ 9 แล้วจัดรูปแบบให้เหมือนกับผลการเปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสมาตรฐาน กับลำดับเบสของตัวอย่างให้อยู่รูปของไฟล์ FASTA นำเข้าโปรแกรม GeneDoc จะพบตำแหน่งที่มีเพียง 2 เบส ดังภาพที่ 10 เช่น ที่ตำแหน่ง 220 bp พบเบสเพียง เบสC และเบสT และจากศึกษาพบว่าตำแหน่งที่มีเพียง 2 เบส หรือ SNPs 16 ตำแหน่ง คือ A110T, A133T, G156C, G161A, C220T, A228G, A253G, C338T, T350G, A351G, T354C, G392A, A430G, T433G, G461A และ A506C

Sequences producing significant alignments: (Click headers to sort columns)				
Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage
54206	1.3	1127	1127	91%
54207	1.4	1155	1155	93%
54208	2.4	1127	1127	91%
54209	3.4	1053	1053	90%
54210	4.1	952	952	77%
54211	4.3	1092	1092	90%
54212	4.4	1140	1140	91%
54213	5.1	662	662	56%
54214	5.3	974	974	86%
54215	5.4	1022	1022	88%
54216	6.3	1110	1110	89%
54217	6.4	1094	1094	91%
54218	7.3	1110	1110	91%
54219	7.4	1081	1081	90%
54220	8.3	1114	1114	90%
54221	8.4	1122	1122	91%
54222	9.3	1140	1140	92%

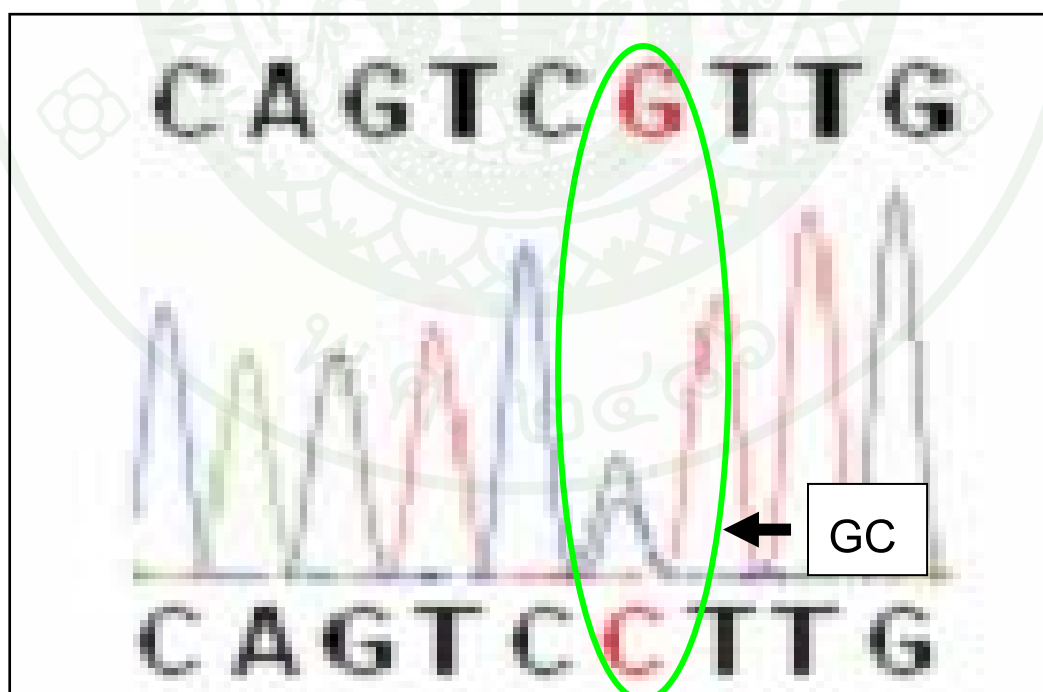
ภาพที่ 8 ตารางแสดงค่า Similarity จากผลการวิเคราะห์ ด้วยโปรแกรม BLAST2.2.22

ที่มา: National Center for Biotechnology Information (2009)

สอดคล้องกับ Qian *et al.* (2008) ที่ศึกษาประชากรของ Simmental, Angus, Hereford, Charolais, Limousin, Qinchuan, Luxi และ Jinnan จำนวน 271 ตัว พบตำแหน่ง SNPs 6 ตำแหน่ง A110T, G133C, G156A, C220T, A351G และ A506C ดังตารางที่ 6 ซึ่งพบตำแหน่งเหมือนกับ Qian *et al.* (2008) คือ 110, 133, 156, 220, 351 และ 506 แต่ในขณะเดียวกันยังพบตำแหน่ง SNPs อื่นที่ต่างจาก Qian *et al.* (2008) คือตำแหน่งที่ G161A, C220T, A228G, A253G, C338T, T350G, T354C, G392A, A430G, T433G และ G461A ดังตารางที่ 7 แต่ลักษณะ SNPs ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ที่ตำแหน่ง 133 และ 156 ต่างกัน คือ A เปลี่ยนเป็น T กับ G เปลี่ยนเป็น C และ G เปลี่ยนเป็น C กับ G เปลี่ยนเป็น A ทั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของสายพันธุ์ที่ทำการศึกษา (Casas *et al.*, 2005) และการแตกต่างกันออกไปแต่ละสายพันธุ์นั้น มีผลต่อการแสดงออกที่แตกต่างในลักษณะต่างๆ ทั้งนี้เนื่องจากการที่โคมีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันก็มีลำดับเบสที่แตกต่างกันออกไป และการที่มีลำดับเบสที่แตกต่างก็ส่งผลให้การแสดงออกของโคแต่ละสายพันธุ์ก็ส่งผลต่อการแสดงออกที่แตกต่างกันออกไปด้วย ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าโคดังกล่าวมีความหลากหลายของรูปแบบที่แตกต่างกันในประชากรโคที่ต่างสายพันธุ์ และควรจะต้องศึกษาความหลากหลายของรูปแบบของ



ภาพที่ 10 แสดงให้เห็นตำแหน่งที่มี เบสเพียง 2 เบส ด้วยโปรแกรม GeneDoc



ภาพที่ 11 แสดงการกราฟของเบส G และเบส C ที่ตำแหน่ง 156 bp ด้วยโปรแกรม Chormas

แล้วหาความถี่ของจีโนไทป์ของ SNPs ในแต่ละตำแหน่ง จะเห็นได้จากตัวอย่าง ดังภาพที่ 11 จะมีกราฟ ของเบส G และเบส C ซ้อนกันที่ตำแหน่ง 156 bp แสดงว่าตัวอย่างดังกล่าวมีจีโนไทป์ GC แต่มีเพียงกราฟ G หรือกราฟ C ตัวอย่างจะมีจีโนไทป์ GG หรือ CC ตามลำดับ และจาก ผลการศึกษาความถี่ของจีโนไทป์ และความถี่อัลลีล ของแต่ละตำแหน่ง SNPs ของยีนไทโรไกลบูลิน พบว่า ความถี่ของจีโนไทป์ และความถี่อัลลีลของยีนไทโรไกลบูลิน มีความแตกต่างกัน ดังตารางที่ 9 และทำการศึกษาจากตารางจะเห็นได้ว่าบางตำแหน่งมีความแตกต่างของความถี่อัลลีล และความถี่ จีโนไทป์มาก เช่น ที่ตำแหน่ง 110 จีโนไทป์ TT มีความถี่เท่ากับ 0.017 แต่จีโนไทป์ AT มีความถี่ เท่ากับ 0.927 และเมื่อทำการศึกษากการทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium ก็พบว่าในตำแหน่ง เหล่านั้นมีจีโนไทป์เบี่ยงเบนออกจากสมดุล ซึ่งอาจเกิดจากการที่มีการจับคู่ผสมให้กับสัตว์โดยไม่ ปลอ่ยให้สัตว์มีการผสมแบบสุ่ม (random mating) หรืออาจเกิดจากการคัดเลือกโดยมนุษย์ เช่น การ คัดเลือกพ่อแม่โคพื้นเมืองไทย บราห์มัน และชาโรเลส์ เพื่อที่สร้างโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน หรือ การคัดเลือกน้ำเชื้อพ่อพันธุ์กำแพงแสนที่มีลักษณะดีมาผสม นอกจากนี้อาจเกิดการกลายพันธุ์ เนื่อง การศึกษาอิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลินในประชากรโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสนนั้นได้ศึกษาใน ลักษณะของความแตกต่างของเบสเพียงเบสเดียว (SNPs; single nucleotide polymorphism) ดังตารางที่ 8 โดยข้อมูลดังกล่าวมีประโยชน์ในเรื่องการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ เพราะถ้าเรา ทราบว่าจีโนไทป์ใดๆ มีความสำคัญต่อลักษณะคุณภาพซาก หรือลักษณะที่เกี่ยวข้องกับลักษณะ คุณภาพซากแล้ว เราสามารถวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ได้ตรงตามเป้าหมายของการปรับปรุงพันธุ์ (breeding objective) โดยที่จะเพิ่มหรือลดความถี่จีโนไทป์ใดๆ ขึ้นอยู่กับปริมาณอิทธิพลของจีโนไทป์ ใดๆ ที่มีต่อลักษณะที่สนใจ

ตารางที่ 9 การทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium

SNPs	P-value	SNPs	P-value
A110T	0.000	T350G	0.008
A133T	0.000	A351G	0.000
G156C	0.124	T354C	0.606
G161A	0.000	G392A	0.071
C220T	0.075	A430G	0.008
A228G	0.055	T433G	0.000
A253G	0.523	G461A	0.051
C338T	0.605	A506C	0.161

ตารางที่ 10 ความถี่ในไทย และความถี่อัลลีล ของ Thyroglobulin gene

SNPs	Allele/ Genotype	Frequency	SNPs	Allele Genotype	Frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency
A110T	A	0.519	C220T	C	0.504	T350G	T	0.508	A430G	A	0.527
	T	0.481		T	0.496		G	0.492		G	0.473
	AA	0.056		CC	0.215		TT	0.302		AA	0.322
	AT	0.927		CT	0.562		TG	0.413		AG	0.409
	TT	0.017		TT	0.223		GG	0.285		GG	0.269
A133T	A	0.923	A228G	A	0.502	A351G	A	0.769	T433G	T	0.537
	T	0.077		G	0.498		G	0.231		G	0.463
	AA	0.889		AA	0.219		AA	0.719		TT	0.347
	AT	0.070		AG	0.566		AG	0.099		TG	0.380
	TT	0.041		GG	0.215		GG	0.182		GG	0.273
G156C	G	0.524	A253G	A	0.510	T354C	T	0.508	G461A	G	0.845
	C	0.476		G	0.490		C	0.492		A	0.155
	GG	0.252		AA	0.248		TT	0.248		GG	0.732
	GC	0.446		AG	0.525		TC	0.521		GA	0.227
	CC	0.302		GG	0.227		CC	0.231		AA	0.041

ตารางที่ 10 (ต่อ)

SNPs	Allele/ Genotype	Frequency	SNPs	Allele Genotype	Frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency
G161A	G	0.444	C338T	C	0.496	G392A	G	0.512	A506C	A	0.502
	A	0.556		T	0.504		A	0.488		C	0.498
	GG	0.426		CC	0.235		GG	0.231		AA	0.227
	GA	0.037		CT	0.521		GA	0.562		AC	0.550
	AA	0.537		TT	0.244		AA	0.207		CC	0.223

ภาพที่ 12 แสดง Linkage disequilibrium ของยีนไทโรไกลบูลินใน SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่ง

A506C	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
G461A	ns	Ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
T433G	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
A430G	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
G392A	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
T354C	*	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
A351G	ns	Ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
T350G	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
C338T	*	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
A253G	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
A228G	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
C220T	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
G161A	**	**	ns													
G156C	ns	**														
A133T	ns															
A110T																
SNPs	A110T	A133T	G156C	G161A	C220T	A228G	A253G	C338T	T350G	A351G	T354C	G392A	A430G	T433G	G461A	A506C

หมายเหตุ * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; ns = non significant

3. การศึกษา Linkage disequilibrium

การศึกษา Linkage disequilibrium ทำให้เข้าใจถึงโครงสร้างของ genome และมีประโยชน์ในเรื่องการศึกษาแผนที่ของยีน หรือนำไปศึกษาอิทธิพลของยีนหนึ่งที่มีอิทธิพลต่ออีกยีนการศึกษาครั้งนี้พบว่า SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่ง คือ A110T, A133T, G156C, G161A, C220T, A228G, A253G, C338T, T350G, A351G, T354C, G392A, A430G, T433G, G461A และ A506C มี Linkage disequilibrium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังรูปที่ 12 ซึ่งสอดคล้องกับ Qian *et al.* (2008) ที่ศึกษา linkage disequilibrium ในประชากรของ Simmental, Angus, Hereford, Charolais, Limousin, Qinchuan, Luxi และ Jinnan จำนวน 271 ตัว มี SNPs 6 ตำแหน่ง A110T, G133C, G156A, C220T, A351G และ A506C และทั้ง 6 SNPs มี linkage disequilibrium ต่อกัน

ดังนั้นการจะวิเคราะห์เพื่อประมาณค่าอิทธิพลในการศึกษาความสัมพันธ์ หรืออิทธิพลของ SNPs กับลักษณะที่สนใจ ควรต้องนำตำแหน่ง SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่งมาศึกษาควบคู่กันในการประมาณค่าอิทธิพล ดังเช่นการศึกษาของ Moore *et al.* (2003) ที่ทำการศึกษาอิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลินกับยีน DGAT1 ในโคสายพันธุ์การคัดเลือกที่พัฒนาจากโคเขตหนาว (*Bos Taurus*) และ Casas *et al.* (2005) ที่ทำการศึกษาอิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลิน ร่วมกับยีน DGAT1 (DIACYLGLYCEROL O-ACYLTRANSFERASE 1) และยีน CAPN1 (Calpain-1) ในโคบรามัน ซึ่งในการประมาณค่าอิทธิพลในการศึกษาความสัมพันธ์ หรืออิทธิพลของ SNPs กับลักษณะคุณภาพซากจะต้องนำตำแหน่ง SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่งมาศึกษาควบคู่กัน

4. ผลการศึกษาความสัมพันธ์ และอิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลิน ต่อลักษณะคุณภาพซาก

การศึกษาอิทธิพลของ SNPs แต่ละตำแหน่ง ต่อลักษณะ THC, TC, WLC, LEA และ TF โดยการนำ SNPs ตำแหน่งอื่นเข้ามาปรับ เนื่องจาก SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่งมี linkage disequilibrium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากศึกษาพบว่าตำแหน่ง SNPs ที่ G156C, T350G และ G392A มีความสัมพันธ์ต่อลักษณะ THC และ TC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังตารางที่ 10 และพบว่าตำแหน่ง SNPs ที่ A110T, A133T และ T350G มีความสัมพันธ์ ต่อลักษณะ TF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังตารางที่ 10 และพบว่าตำแหน่ง SNPs ที่ A228G และ C338T มีความสัมพันธ์ ต่อลักษณะ FD ดังแสดงตารางที่ 10 ซึ่งจะเห็นได้ว่ายีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์ ต่อลักษณะ THC, TF, FD และ TC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Qian *et al.* (2008) ที่ศึกษาประชากรของ Simmental, Angus, Hereford, Charolais, Limousin, Qinchuan, Luxi

และ Jinnan พบว่ายีนไทโรไกลบูลินไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติ ($P>0.05$) ต่อลักษณะ WLC และ LEA และสอดคล้อง Casas *et al.* (2005) ที่ทำการศึกษาอิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลิน ในโคบราห์มัน พบว่ายีนไทโรไกลบูลินไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติ ($P>0.05$) ต่อลักษณะ WLC และยีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะ FD แต่แตกต่างจาก Qian *et al.* (2008) ที่ศึกษาประชากรของ Simmental, Angus, Hereford, Charolais, Limousin, Qinchuan, Luxi และ Jinnan พบว่ายีนไทโรไกลบูลินไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติ ($P>0.05$) ต่อลักษณะ THC และแตกต่างจาก Casas *et al.* (2005) ที่ทำการศึกษาอิทธิพลของยีนไทโรไกลบูลิน ในโคบราห์มัน พบว่ายีนไทโรไกลบูลิน มีความสัมพันธ์ต่อลักษณะ LEA ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้มีบางลักษณะที่ไม่มีความสัมพันธ์กับยีนไทโรไกลบูลิน ซึ่งอาจเกิดจากความแตกต่างกันในประชากรโคที่ทำการศึกษา ซึ่งจากข้อมูลที่ได้กล่าวมาจะเห็นได้ว่า ยีนไทโรไกลบูลิน มีความสัมพันธ์ต่อลักษณะคุณภาพซากที่แตกต่างกันในแต่ละประชากร ดังนั้น การที่จะพัฒนา ยีนไทโรไกลบูลินเป็น เครื่องหมายพันธุกรรมนั้น ในแต่ละประชากรที่ทำการศึกษา ควรจะต้องศึกษาความสัมพันธ์ของยีนไทโรไกลบูลินต่อลักษณะคุณภาพซากก่อน

ตารางที่ 11 ค่าอิทธิของยีนไทโรไกลบูลิน (means $\pm$ SE) ต่อลักษณะคุณภาพซาก

	Genotype	THC	TC	WLC	LEA	FD	TF
A110T	AA	-8.65 (8.44)	-7.61 (8.16)	-0.39 (1.05)	227.13 (357.48)	0.28 (0.57)	-4.33** (3.94)
	AT	-4.11 (7.34)	-3.98 (7.10)	-0.11 (0.91)	279.81 (311.10)	0.19 (0.50)	-7.83** (3.43)
	TT	-	-	-	-	-	***
A133T	AA	-7.21 (5.21)	-5.53 (5.04)	-1.10 (0.64)	-113.49 (220.94)	-0.04 (0.35)	-0.84* (2.43)
	AT	-13.26 (6.4)	-11.71 (6.21)	-1.17 (0.79)	-73.85 (272.24)	0.40 (0.44)	-0.75* (3.00)
	TT	-	-	-	-	-	-*
G156C	CC	-21.36** (5.24)	-19.81** (5.07)	-1.37** (0.65)	-146.13 (222.16)	0.18 (0.35)	2.53 (2.45)
	GC	-1.78** (3.12)	-2.38** (3.01)	0.65** (0.38)	9.87 (132.15)	-0.23 (0.21)	0.39 (1.45)
	CC	***	***	***	-	-	-

ตารางที่ 11 (ต่อ)

	Genotype	THC	TC	WLC	LEA	FD	TF
G161A	GG	0.22	0.88	-0.29	-55.97	0.20	0.53
		(1.93)	(1.87)	(0.24)	(82.12)	(0.13)	(0.90)
	GA	5.08	04.92	0.23	-23.37	0.03	0.27
		(4.86)	(4.70)	(0.60)	(206.09)	(0.33)	(2.27)
	AA	-	-	-	-	-	-
C220T	CC	-3.33	-2.27	-1.07	530.73	2.47	16.35
		(16.24)	(15.70)	(2.02)	(687.78)	(1.11)	(7.59)
	CT	-16.92	-14.84	-2.15	453.08	2.24	14.94
		(17.65)	(17.07)	(2.19)	(747.79)	(1.21)	(8.25)
	TT	-	-	-	-	-	-
A228G	AA	7.57	7.31	0.39	-617.11	-2.03*	-7.66
		(13.20)	(12.76)	(1.64)	(559.05)	(0.90)	(6.17)
	AG	15.05	16.41	-1.07	-546.24	-2.38*	-7.49
		(12.87)	(12.45)	(1.60)	(545.20)	(0.88)	(6.01)
	GG	-	-	-	-	-*	-
A253G	AA	0.67	0.74	-0.68	-13.38	1.69	2.43
		(13.11)	(12.48)	(1.63)	(555.27)	(0.89)	(6.13)
	AG	-4.23	-4.12	-0.67	7.12	1.40	7.26
		(12.61)	(12.20)	(1.56)	(534.20)	(0.86)	(5.89)
	GG	-	-	-	-	-	-
C338T	CC	10.11	8.95	0.89	115.13	-1.55*	-0.52
		(7.82)	(7.57)	(0.97)	(331.49)	(0.53)	(3.65)
	CT	10.42	9.16	1.34	105.67	-1.09*	-1.32
		(6.58)	(6.36)	(0.81)	(278.89)	(0.45)	(3.07)
	TT	-	-	-	-	-*	-
T350G	GG	9.94*	10.17*	-0.40	-58.54	-0.53	6.83*
		(5.18)	(5.01)	(0.64)	(219.56)	(0.35)	(2.42)
	TG	6.18*	6.19*	-0.40	-7.64	0.17	3.64*
		(3.64)	(3.52)	(0.45)	(154.29)	(0.24)	(1.70)
	GG	-*	-*	-	-	-	-*

ตารางที่ 11 (ต่อ)

	Genotype	THC	TC	WLC	LEA	FD	TF
A351G	AA	2.01	1.20	0.89	44.28	0.50	-2.74
		(4.84)	(4.68)	(0.60)	(205.05)	(0.33)	(2.26)
	AG	4.02	3.41	0.57	100.75	0.46	-1.69
		(3.92)	(3.79)	(0.48)	(166.36)	(0.26)	(1.83)
	GG	-	-	-	-	-	-
T354C	CC	8.85	8.24	0.02	134.68	0.54	-2.80
		(12.64)	(12.23)	(1.57)	(535.64)	(0.86)	(5.91)
	TC	7.05	6.20	0.19	3.24	0.17	1.10
		(4.58)	(4.43)	(0.57)	(194.26)	(0.31)	(2.14)
	TT	-	-	-	-	-	-
G392A	AA	2.02*	1.78*	0.53	120.88	0.46	-9.39
		(10.05)	(9.72)	(1.25)	(425.97)	(0.69)	(4.70)
	GA	9.39*	8.13*	1.39	106.68	0.42	-6.05
		(7.75)	(7.50)	(0.96)	(328.45)	(0.53)	(3.62)
	GG	-*	-*	-	-	-	-
A430G	AA	0.40	0.015	0.38	92.85	-0.18	-2.59
		(5.59)	(5.41)	(0.69)	(236.94)	(0.38)	(2.61)
	AG	-0.33	-0.77	0.34	55.60	-0.34	-2.29
		(5.30)	(5.13)	(0.66)	(224.71)	(0.36)	(2.48)
	GG	-	-	-	-	-	-
T433G	GG	-5.47	-4.95	-0.30	103.54	0.46	0.68
		(5.69)	(5.50)	(0.70)	(241.24)	(0.39)	(2.66)
	TG	-4.97	-4.64	-0.30	120.96	0.10	0.16
		(3.42)	(3.30)	(0.42)	(144.86)	(0.23)	(1.59)
	TT	-	-	-	-	-	-
G461A	AA	5.91	4.41	1.56	46.41	0.72	-0.99
		(6.52)	(6.31)	(0.81)	(276.31)	(1.07)	(3.04)
	GA	-0.89	-1.10	0.57	-101.67	0.66	-1.95
		(4.79)	(4.64)	(0.59)	(203.23)	(1.04)	(2.24)
	GG	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 11 (ต่อ)

	Genotype	THC	TC	WLC	LEA	FD	TF
A506C	AA	-16.37	-14.51	-1.31	61.89	0.72	-9.57
		(15.71)	(15.19)	(1.95)	(665.27)	(1.07)	(7.34)
	AC	-19.32	-18.20	-0.59	8.97	0.66	-10.48
		(15.20)	(14.70)	(1.89)	(643.69)	(1.04)	(7.10)
	CC	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; ns = non significantly

5. ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนไทโรไกลบูลินต่อลักษณะไขมันแทรก ด้วยวิธี Nonparametric

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีนไทโรไกลบูลินต่อลักษณะไขมันแทรก และนอกจากนั้นยังเป็นการยืนยันว่ายีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะไขมันแทรกที่แตกต่างกันออกไปแต่ละประชากร ดังเช่นงานวิจัย Barendse *et al.* (2004) พบว่ายีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์กับลักษณะไขมันแทรก ($P < 0.05$) ในประชากร Angus และ Shorthorn Casas *et al.* (2005) พบว่ายีนไทโรไกลบูลินไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะไขมันแทรก ($P > 0.05$) ในประชากร Brahman Rincker *et al.* (2006) พบว่ายีนไทโรไกลบูลินไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะไขมันแทรก ($P > 0.05$) ในประชากร Simmental ซึ่งจากการศึกษาพบว่ายีนไทโรไกลบูลิน ไม่มีความสัมพันธ์ต่อลักษณะไขมันแทรก ($P > 0.05$) ในประชากรโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน ดังตารางที่ 11 ซึ่งเป็นการยืนยันอย่างแน่ชัดว่า ยีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะไขมันแทรกที่แตกต่างกันออกไปแต่ละประชากร

ตารางที่ 12 ค่าอิทธิของยีนไทโรไกลบูลิน (Frequency และExpected) ต่อลักษณะไขมันแทรก

	<i>P</i> -value	Genotype	Marbling score			
			1	2	3	4
A110T	0.9764	AA	6	7	0	0
			7.14	5.21	0.53	0.10
		AT	121	84	10	2
			119.26	86.97	8.96	1.79
		TT	2	2	0	0
			2.19	1.60	0.16	0.03
A133T	0.1963	AA	117	88	9	1
			118.16	86.17	8.88	1.77
		AT	8	7	1	1
			9.34	6.81	0.70	0.14
		TT	8	2	0	0
			5.49	4.00	0.41	0.08
G156C	0.5303	CC	32	26	2	1
			33.52	24.45	2.52	0.50
		GC	61	40	7	0
			59.35	43.28	4.46	0.89
		CC	40	31	1	1
			40.12	29.26	3.01	0.60
G161A	0.5789	GG	76	50	3	1
			71.44	52.10	5.37	1.07
		GA	6	3	0	0
			4.94	3.60	0.37	0.07
		AA	51	44	7	1
			56.60	41.28	4.25	0.85
C220T	0.6847	CC	27	23	1	1
			28.579	20.843	2.1488	0.4298
		CT	76 74.744	53	7	0
				54.512	5.6198	1.124
		TT	30 29.678	21	2	1
				21.645	2.2314	0.4463

ตารางที่ 12 (ต่อ)

	<i>P</i> -value	Genotype	Marbling score				
			1	2	3	4	
A228G	0.3913	AA	28	29.128	24	1	0
					21.244	2.1901	0.438
		AG	76	75.293	53	8	0
					54.913	5.6612	1.1322
		GG	29	28.579	20	2	1
					20.843	2.1488	0.4298
A253G	0.6821	AA	29	32.975	28	2	1
					24.05	2.4793	0.4959
		AG	73	69.798	48	6	0
					50.905	5.2479	1.0496
		GG	31		21	2	1
				30.227	22.045	2.2727	0.4545
C338T	0.6623	CC	30	31.326	25	1	1
					22.847	2.3554	0.4711
		CT	69	69.248	50	7	0
					50.504	5.2066	1.0413
		TT	34	32.426	22	2	1
					23.649	2.438	0.4876
T350G	0.2919	GG	35		30	3	1
				37.921	27.657	2.8512	0.5702
		TG	54	54.959	39	7	0
					40.083	4.1322	0.8264
		GG	44		28	0	1
				40.12	29.26	3.0165	0.6033
A351G	0.4787	AA	93		73	6	2
				95.628	69.744	7.1901	1.438
		AG	15		9	0	0
				13.19	9.6198	0.9917	0.1983
		GG	25		15	4	0
				24.182	17.636	1.8182	0.3636

ตารางที่ 12 (ต่อ)

	<i>P</i> -value	Genotype	Marbling score			
			1	2	3	4
T354C	0.8323	CC	31 30.777	22	2	1
				22.446	2.314	0.4628
		TC	71 69.248	49	6	0
				50.504	5.2066	1.0413
		TT	31 32.975	26	2	1
				24.05	2.4793	0.4959
G392A	0.4589	AA	29 30.777	23	3	1
				22.446	2.314	0.4628
		GA	77 74.744	52	7	0
				54.512	5.6198	1.124
		GG	27 27.479	22	0	1
				20.041	2.0661	0.4132
A430G	0.7978	AA	43	32	2	1
			42.868	31.264	3.2231	0.6446
		AG	55 54.409	38	6	0
				39.682	4.0909	0.8182
		GG	35 35.723	27	2	1
				26.054	2.686	0.5372
T433G	0.6324	GG	34 36.273	29	2	1
				26.455	2.7273	0.5455
		TG	53 50.562	33	6	0
				36.876	3.8017	0.7603
		TT	46 46.165	35	2	1
				33.669	3.4711	0.6942
G461A	0.7454	AA	7	3	0	0
			5.4959	4.0083	0.4132	0.0826
		GA	30 30.227	21	4	0
				22.045	2.2727	0.4545
		GG	96 97.277	73	6	2
				70.946	7.314	1.4628

ตารางที่ 12 (ต่อ)

	P-value	Genotype	Marbling score			
			1	2	3	4
A506C	0.7176	AA	30 30.227	23	1	1
				22.045	2.2727	0.4545
		AC	74 73.095	52	7	0
				53.31	5.4959	1.0992
		CC	29 29.678	22	2	1
				21.645	2.2314	0.4463

จากผลการศึกษาที่ได้กล่าวมาข้างต้น พบว่ายีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะลักษณะน้ำหนักซากร้อน (THC), น้ำหนักซากเย็น (TC), ความหนาของไขมันสันหลัง (FD) และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต (TF) ($P < 0.05$) และยังพบว่ายีนไทโรไกลบูลิน ไม่มีความสัมพันธ์ต่อ น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก (WLC), พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (LEA) และลักษณะไขมันแทรก (MS) ($P > 0.05$) ทั้งนี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุด้วยกัน

ประการที่หนึ่ง อาจเกิดความหลากหลายสายพันธุ์สัตว์ที่แตกต่างกัน ซึ่งความหลากหลายสายพันธุ์สัตว์นั้นมีผลต่อประสิทธิภาพของยีนที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ความหลากหลายของสายพันธุ์อาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีน (gene expression) ที่ผิดปกติหรือแตกต่างจากสัตว์สายพันธุ์อื่น เนื่องจากในจีโนมของสัตว์มีทั้งส่วนที่มีลำดับเบสเหมือนกัน ซึ่งสามารถพบได้ในสัตว์ทุกตัวทุกสายพันธุ์ หรืออาจพบได้ทุก species และนอกจากยังมีส่วนที่มีลำดับเบสแตกต่างออกจากสายพันธุ์อื่นๆ ซึ่งส่วนดังกล่าวอาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกัน ส่งผลทำให้เกิดความแตกต่างกับงานวิจัยอื่น ในเรื่องของการศึกษาความสัมพันธ์ยีนไทโรไกลบูลินต่อลักษณะคุณภาพซาก และลักษณะไขมันแทรก ในประชากรที่แตกต่างกัน

ประการที่สอง อาจเกิดจากการจัดการ โดยเฉพาะการให้อาหารที่แตกต่างกัน หรือระบบการขุนโคเนื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งจะเห็นได้จากลักษณะของไขมันแทรกมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของวันที่อาหารโคขุน (Van Koeveering *et al.*, 1995) และแต่ละช่วงอายุการเข้าขุนมีผลต่อยีนไทโรไกลบูลินที่ต่างกัน (Genetic Solution, 2002) และนอกจากนี้การเพิ่มอายุการหย่านม มีผลต่อลักษณะไขมันแทรกของลูกโคเนื้อที่จะเข้าขุน (Myers *et al.*, 1999) และการให้อาหารขึ้นกับลูกโคก่อนหย่านมจะมีผลต่อลักษณะของคุณภาพซาก และความหนาของไขมัน (Wertz *et al.*, 2002) แต่สิ่งที่

ยังขาดคือ เรายังไม่ทราบแน่ชัดว่าปริมาณสารอาหารเท่าไรที่ส่งผลทำให้ยีนไทโรไกลบูลินมีการแสดงออกได้ดี

ประการที่สาม จากผลการศึกษา ที่พบว่ายีนไทโร ไกลบูลินมีความสัมพันธ์กับลักษณะ น้ำหนักซาก แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะไขมันแทรก ซึ่งจากการตรวจเอกสารพบว่ายีนไทโรไกลมีความสัมพันธ์ลักษณะน้ำหนักซาก และต้องมีความสัมพันธ์กับลักษณะไขมันแทรกเช่นกัน โดยสามารถอธิบายทางสรีรวิทยาได้ว่า ในสถานะที่สัตว์ต้องการอาหาร (Leptin ต่ำ, Thyroid hormone สูง) ดังภาพที่ 4 ส่งผลทำให้สัตว์กินอาหารได้มากขึ้น และในขณะเดียว Thyroid hormone ยังเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดขบวนการสลายไขมัน (lipolysis) ดังภาพที่ 5 เพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโต ที่เนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ทำให้ปริมาณของเนื้อเยื่อไขมันลดลง หรือปริมาณไขมันแทรกลดลง หรือระดับ Thyroid hormone ที่สูงจะมีความสัมพันธ์กับ Metabolic rates ที่สูง แต่ในระดับ Thyroid hormone ที่ต่ำจะมีความสัมพันธ์กับ Marbling score ที่สูง หรือ Metabolic rates ที่ต่ำ (Harper and Petthick, 2004) ทั้งนี้จากการความผิดพลาดในการให้คะแนนของระดับไขมันแทรก ซึ่งเป็นการให้คะแนนจากคาดคะเนจากสายตา และในการให้คะแนนของระดับไขมันแทรก ไม่มีเกณฑ์ในการวัด หรือเครื่องมือในการที่ได้มาตรฐานอาจจะทำให้เกิดความผิดได้

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาพบตำแหน่งที่เป็น SNPs 16 ตำแหน่ง คือ A110T, A133T, G156C, G161A, C220T, A228G, A253G, C338T, T350G, A351G, T354C, G392A, A430G, T433G, G461A และ A506C ซึ่งแต่ละตำแหน่งของ SNPs มี linkage disequilibrium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และยีนไทโรไกลบูลินมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะน้ำหนักขากรรอน (THC), น้ำหนักขากเย็น (TC), ความหนาของไขมันสันหลัง (FD) และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต (TF) ($P < 0.05$) แต่ไม่มีความสัมพันธ์ต่อ น้ำหนักที่สูญเสียจากการตัดแต่งซาก (WLC), พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (LEA) และลักษณะไขมันแทรก (MS) ($P > 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า

1. ยีนไทโรไกลบูลินมีความหลากหลายของ SNPs รูปแบบ ความถี่โนไทป์ และความอัลลีลที่แตกต่างกันในประชากรโคเนื้อลูกผสมสายพันธุ์กำแพงแสน
2. ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SNPs แต่ละตำแหน่งกับลักษณะที่สนใจ ควรจะต้องนำตำแหน่ง SNPs ทั้ง 16 ตำแหน่งมาศึกษาควบคู่กันเพื่อประมาณค่าอิทธิพลของ SNPs แต่ละตำแหน่ง เนื่องจากแต่ละตำแหน่งของ SNPs มี linkage disequilibrium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)
3. การเปลี่ยนแปลงของเบสเพียงตำแหน่งเดียวของยีนไทโรไกลบูลิน มีผลต่อการเปลี่ยนของลักษณะน้ำหนักขากรรอน (THC), น้ำหนักขากเย็น (TC), ความหนาของไขมันสันหลัง (FD) และน้ำหนักไขมันรวมที่ได้จากการรวมไขมันหุ้มไต (TF) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าว การที่จะนำยีนไทโรไกลบูลินมาเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมนั้นยังไม่สามารถนำไปใช้ได้ ควรจะต้องมีการพัฒนาในวิธีการนำไป เพื่อให้เกิดความสะดวกในการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

จากผลการสรุปแสดงให้เห็นว่าการที่เบสเปลี่ยนเพียงตำแหน่งเดียวของยีนไทโรไกลบูลินมีผลต่อลักษณะคุณภาพซาก และสามารถนำยีนดังกล่าวนี้มาพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่

ช่วยในการคัดเลือกได้ในประชากรโคเนื้อลูกผสมกำแพงแสน โดยการศึกษาที่ตำแหน่งเบสที่เปลี่ยนไปของยีนไทโรไกลบูลินที่มีผลต่อลักษณะที่สนใจ เช่น ศึกษาลำดับเบสบริเวณที่มีการต่อลักษณะคุณภาพซากที่สนใจแล้วหาเอ็นไซม์ตัดจำเพาะกับบริเวณดังกล่าวเป็นต้น และนอกจากนี้ควรมีการจัดการหรือการควบคุมดูแลการจัดเก็บข้อมูลของแต่ละฟาร์ม เนื่องจากปัจจุบันการจัดข้อมูลพันธุ์ประวัติ และข้อมูลเบื้องต้นของสัตว์ เช่น ประสิทธิภาพการใช้อาหาร รูปแบบการจัดการยังประสบปัญหา เพราะบางฟาร์มไม่เห็นความสำคัญของการจัดเก็บข้อมูล หรือระบบการจัดเก็บข้อมูลยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรจึงส่งทำให้ข้อมูลพันธุ์ประวัติ หรือข้อมูลอื่นๆที่ได้มาไม่สมบูรณ์ และการให้คะแนนของไขมันแทรก ควรจะใช้เครื่องมือที่สามารถวัดออกมาเป็นค่าได้ เนื่องปัจจุบันการให้คะแนนไขมันแทรกเป็นการให้คะแนนด้วยสายตาของบุคคลากรของแต่ละหน่วยงาน ซึ่งอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ในการให้คะแนนได้ และนอกจากนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ในเรื่องของปริมาณอาหารที่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนไทโรบูลินต่อลักษณะคุณภาพซาก และลักษณะไขมันแทรก และศึกษาเรื่องของอิทธิพลของยีนไทโรบูลินในลักษณะความนุ่มของเนื้อ และความพึงพอใจของผู้บริโภค

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2549. เอกสารการสัมมนาทางสรีรวิทยาทางสัตวแพทย์. แหล่งที่มา: http://www.vet.ku.ac.th/std/CAI/physio/semina/49/Feline_hyperthyroidism_report.pdf, 23 ตุลาคม 2551.
- ชุมพล ผลประมูล. 2539. สรีรวิทยา. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.
- ปรารธนา พุกกะศรี. 2544. โคพันธุ์กำแพงแสน. สมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน, ม.ป.ท.
- ขรรยง อินทรรักษา. ม.ป.ป. สรีรวิทยาระบบต่อมไร้ท่อและสืบพันธุ์. โครงการตำราคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2540. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ:ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. ภาควิชาพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2549. รายงานการนำเข้าโคเนื้อ กระบือ และเนื้อโคระหว่างปี 2544-2549 (มค.-กย.). ม.ป.ท.
- Ailhaud, G., P. Grimaldi and R. Negrel. 1992. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. **Annu Rev Nutr** 12: 207-233.
- Andrew, G.C., M.W. Kenneth, A.N. Deborah, L.T. Scott, A. Buchanan, J. Stengard, V. Salomaa, E. Vartiainen, M. Perola, E. Boerwinkle and C.F. Sing. 1998. Haplotype Structure and Population Genetic Inferences from Nucleotide- Sequence Variation in Human Lipoprotein Lipase. **Am. J. Hum. Genet.** 63:595-612.
- Andrew, C. McPeake. 2007. **Marker Assisted Selection for Beef Palatability Characteristics.** Animal Science Department Michigan State University, Michigan.

- Barendse, W.J. 1999. **Assessing lipid metabolism**. International patent application PCT/AU98/00882 [International patent application WO 99/23248].
- Barendse, W., R. Bunch, M. Thomas, S. Armitage, S. Baud, N. Donaldson. 2004. The *TG5* thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. **Aust. J. Exp. Agric.** 44: 669-674.
- Bertrand, J.K., R.D. Green, W.O. Herring and D.W. Moser. 2001. Genetic evaluation for beef carcass traits. Animal and Dairy Science Department, University of Georgia, Athens 30602-2771, Department of Animal Sciences, Colorado State University, Fort Collins 80523, Animal Sciences, University of Missouri, Columbia, and Department of Animal Science & Industry, Kansas State University, Manhattan. **J. Anim. Sci.** 79 (E. Suppl.): E190–E200.
- Blennemann, B., P. Leahy, T.S. Kim and H.C. Freake. 1995. Tissue-specific regulation of lipogenic mRNAs by thyroid hormone. **Mol Cell Endocrinol** 110: 1-8.
- Carolyn, D.B. 2006. **Mitochondrial Gene Expression: Influence of Nutrients and Hormones**. University of Georgia, the Society for Experimental Biology and Medicine, 1535-3702/06/23110-1593.
- Cassar-Malek, S., C.R. Kahl and B. Picard. 2001. Thyroid hormones and extrathyroidal 5'-deiodination in steers Influence of feeding level during postweaning growth. **J Anim Sci.** 79: 2679-2687.
- Casas, E., S.N. White, D.G. Riley, T.P.L. Smith, R.A. Breneman, T.A. Olson, D.D. Johnson, S.W. Coleman, G.L. Bennett and C.C. Chase, Jr. 2005. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. **J. Anim. Sci.** 83: 13-19.

- Casas, E., S.N. White, S.D. Shackelford, T.L. Wheeler, M. Koohmaraie, G.L. Bennett and T.P.L. Smith. 2007. Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 85: 2807–2814.
- Carew, L.B., K.G. Evaets and F.A. Alster. 1998. Feed Intake, and Plasma Thyroid Hormone Levels in Chicks Fed Dietary Excesses of Essential Amino Acids. **Poultry Science** 77:295–298.
- Chawla, A. and M.A. Lazar. 1993. Induction of Rev-*erbA* alpha, an orphan receptor encoded on the opposite strand of the alpha-thyroid hormone receptor gene, during adipocyte differentiation. **J Biol Chem.** 268: 16265-16269.
- Complete Wellbeing Solutions. 2009. **Thyroid Function and Weight Management**. Available:<http://www.completewellbeingsolutions.com/thyroid.html>, January 21, 2010.
- Eriksson, E. A. Nasholm, K. Johansson and J. Philipsson. 2003. Genetic analyses of field-recorded growth and carcass traits for Swedish beef cattle. **Livestock Production Science** 84 (2003): 53–62.
- Flores-Delgado, G., M. Marsch-Moreno and W. Kuri-Harcuch. 1987. Thyroid hormone stimulates adipocyte differentiation of 3T3 cells. **Mol Cell Biochem.** 76: 35-43.
- Genetic Solutions. 2002. **The effect of the GeneSTAR marbling test under typical US lot-fedfinishing systems**. GeneNOTE 3/02. Available Source: http://www.geneticsolutions.com.au/files/GeneSTAR/pdf/GeneNOTE_3.pdf, June 10, 2008.
- Gharbi-Chihi, J., T. Facchinetti, J. Berge-Lefranc, J. Bonne and J. Torresani. 1991. Triiodothyronine control of ATP-citrate lyase and malic enzyme during differentiation of a murine preadipocyte cell line. **Horm Metab Res** 23: 423-427.

- Grimaldi, P., P. Djian, R. Negrel and G. Ailhaud. 1982. Differentiation of Ob 17 preadipocytes to adipocytes: requirement of adipose conversion factor(s) for fat cell cluster formation. **EMBO J** 1: 687-692.
- Harper, G.S. and D.W. Pethick. 2004. How might marbling begin. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 44: 653-662.
- Hayden, J.M., J.E. Williams and R.J. Collier. 1993. Plasma growth hormone, insulin-like growth factor, insulin, and thyroid hormone association with body protein and fat accretion in steers undergoing compensatory gain after dietary energy restriction. **J Anim Sci.** 71: 3327-3338.
- James, G.C. 2002. **Veterinary Physiology**. Michigan state university, Michigan.
- Louise Tartaglia. 2002. **Veterinary physiology and applied anatomy**. n.p.
- Levacher, C., C. Sztalryd, M.F. Kinebanyan and L. Picon. 1984. Effects of thyroid hormones on adipose tissue development in Sherman and Zucker rats. **Am J Physiol Cell Physiol** 246: C50-C56.
- Macari, M., M.F.Z. Sonia, R.S. Euclides and R.G. José. 1986. Effects of ambient temperature and thyroid hormones on food intake by pigs. **Physiology & Behavior** 36: 1035-1039.
- Mcdonld, L.E. and M.H. Pineda. 1989. **Veterinary endocrinology and reproduction**. Philadelphia, London.
- Moore, S.S., C. Li, J. Basarab, W.M. Snelling, J. Kneeland, B. Murdoch *et al.* 2003. Fine mapping of quantitative trait loci and assessment of positional candidate genes for backfat on bovine chromosome 14 in a commercial line of *Bos taurus*. **J Anim Sci** 81: 1919–1925.

- Moustaid, N. and H.S. Sul. 1991. Regulation of expression of the fatty acid synthase gene in 3T3-L1 cells by differentiation and triiodothyronine. **J Biol Chem** 266: 18550-18554.
- Myers, S.E., D.B. Faulkner, F.A. Ireland, L.L. Berger and D.F. Parrett. 1999. Comparison of three weaning ages on cow-calf performance and steer carcass traits. **J. Anim. Sci.** 77: 323-329.
- National Center for Biotechnology Information. 2008. **Gene Bank accession EU591737**. Available Source: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, July 23, 2008.
- National Center for Biotechnology Information. 2009. **BLAST2.2.22**. Available Source: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, August 10, 2009.
- Oppenheimer, J.H., H.L. Schwartz, J.T. Lane and M.P. Thompson. 1991. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat. **J Clin Invest** 87: 125-132.
- _____, _____, C.N. Mariash, W.B. Kinlaw, N.C.W. Wong and H.C. Freaque. 1987. Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level. **Endocr Rev** 8: 288-308.
- Parmentler, I., D. Portetelle, C. Bertozzi, V. Haezebroeck, M. Pirard and R. Renaville. 2001. **Marker Genes in Farm Animals**. Animal and Microbial Biology Unit, Gembloux Agricultural University, Belgium.
- Pariacote, F.V., L.D. Vleck and R.E. Hunsley. 1998. Genetic and Phenotypic Parameters for Carcass Traits of American Shorthorn Beef Cattle. **J. Anim. Sci.** 76: 2584-2588.
- Paul, M.Y. 2001. **Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action**. Physiological Reviews Vol. 81, No. 3.

- Perez, P., A. Schonthal and A. Aranda. 1993. Repression of *c-fos* gene expression by thyroid hormone and retinoic acid receptors. **J Biol Chem** 268: 23538-23543.
- Qian-Fu, G., Z. Lu-Pei, L. Jun-Ya, H. Guan-Yu, L. Heng-De, X. Gao, R. Hong-Yan, C. Jin-Bao, X. Shang-Zhong. 2008. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. **J Appl Genet** 49(3): 251–255.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J. Heredity** 86: 248-249.
- Riley, D.G., C.C. Chase, Jr., A.C. Hammond, R.L. West, D.D. Johnson, T.A. Olson and S.W. Coleman. 2002. Estimated genetic parameters for carcass traits of Brahman cattle. **J. Anim.Sci.** 80: 955–962.
- Rincker, C.B., N.A. Pyatt, L.L. Berger, D.B. Faulkner. 2006. Relationship among GeneSTAR marbling marker, intramuscular fat deposition, and expected progeny differences in early weaned Simmental steers. **J Anim Sci** 84: 686–693.
- Saira, H., S.D. Waljit, S. Bloom and M. Patterson. 2010. **The Central Regulation of Food Intake and Energy Expenditure by Thyroid Hormones**. Available Source: www.hotthyroidology.com, Febuary 10, 2010.
- Sripicchai, O. 2006. **Genome-wide search for disease modifier genes in β -Thalassemia**. Ph.D. thesis, Mahidol University.
- Teboul, M., J. Bismuth, O. Ghiringhelli, J. Bonne and J. Torresani. 1991. Developmental and thyroid regulation of the nuclear T_3 receptors/*c-erbA* oncogene products in the Ob 17 preadipocyte cell line. **J Receptor Res** 11: 865-882.

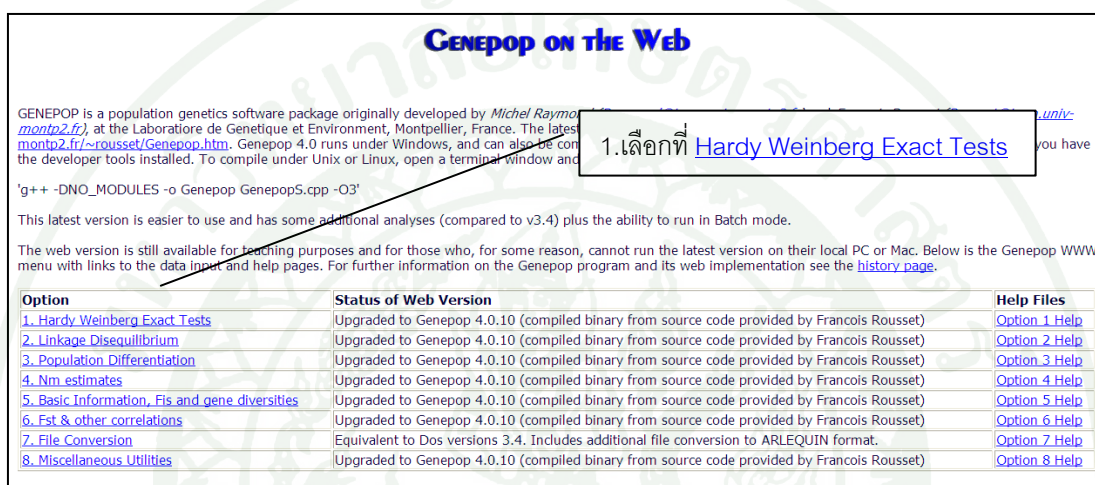
- Thaller, G., C. Kuhn, A. Winter, G. Ewald, O. Bellmann, J. Wegner *et al.* 2003. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. **Anim Genet** 34: 354–357.
- Van Koevinger, M.T., D.R. Gill, F.N. Owens, H.G. Dolezal and C.A. Strasia. 1995. Effect of time on feed on performance of feedlot steers, carcass characteristics, and tenderness and composition of longissimus muscles. **J. Anim. Sci.** 73:21–28.
- Wertz, A.E., L.L. Berger, P.M. Walker, D.B. Faulkner, F.K. McKeith and S.L. Rodriguez-Zas. 2002. Early-weaning and postweaning nutritional management affect feedlot performance, carcass merit, and the relationship of 12th-rib fat, marbling score, and feed efficiency among Angus and Wagyu heifers. **J. Anim. Sci.** 80: 28–37.
- Yuguo, C., L. Chia-Ho and C. Sabatti. 2006. Volume measures for linkage disequilibrium. **BMC Genetics J.** 10: 1186/1471-2156-7-54.
- Zhao, Q.B.S. 2002. **Genetic Markers for Genes Encoding Pit-1, GHRH-receptor, and IGF-II, and their Association with Growth and Carcass Traits in Beef Cattle.** Ph.D. Thesis, The Ohio State University.



วิธีการใช้โปรแกรม Gene pop on The web

1. การทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium

1.1 เข้าไปที่ <http://genepop.curtin.edu.au/> แล้วเลือกไปที่ Hardy Weinberg Exact Tests



GENEPOP ON THE Web

GENEPOP is a population genetics software package originally developed by *Michel Raymond* (montp2.fr/~rousset/Genepop.htm), at the Laboratoire de Genetique et Environnement, Montpellier, France. The latest version (4.0) runs under Windows, and can also be compiled for Unix or Linux. To compile under Unix or Linux, open a terminal window and type:

```
'g++ -DNO_MODULES -o Genepop GenepopS.cpp -O3'
```

This latest version is easier to use and has some additional analyses (compared to v3.4) plus the ability to run in Batch mode.

The web version is still available for teaching purposes and for those who, for some reason, cannot run the latest version on their local PC or Mac. Below is the Genepop WWW menu with links to the data input and help pages. For further information on the Genepop program and its web implementation see the [history page](#).

Option	Status of Web Version	Help Files
1. Hardy Weinberg Exact Tests	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 1 Help
2. Linkage Disequilibrium	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 2 Help
3. Population Differentiation	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 3 Help
4. Nm estimates	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 4 Help
5. Basic Information, Fis and gene diversities	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 5 Help
6. Fst & other correlations	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 6 Help
7. File Conversion	Equivalent to Dos versions 3.4. Includes additional file conversion to ARLEQUIN format.	Option 7 Help
8. Miscellaneous Utilities	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 8 Help

ภาพผนวกที่ 1 แสดงการเข้าไปยัง Hardy Weinberg Exact Tests

1.2 แล้วโปรแกรมจะแสดงหน้าต่างใหม่ และเลือกตามขั้นตอนดังภาพ

The screenshot shows the Hardy-Weinberg Exact Tests web application interface. It is divided into several sections: **Suboptions & Parameters**, **Output Format & Delivery**, and **Input Data**. The **Suboptions & Parameters** section includes options for each locus in the population (H1 = Heterozygote deficiency, H1 = Heterozygote excess, Probability test) and a global test (H1 = Heterozygote deficiency, H1 = Heterozygote excess). It also has a checkbox for "Would you like complete enumeration of alleles if possible?" and Markov chain parameters (Dememorization number, Number of batches, Number of iterations per batch). The **Output Format & Delivery** section has checkboxes for "Email the results" and "HTML - Plain Text". The **Input Data** section has a text box for data and buttons for "Browse...", "Submit data", and "Clear Form".

Annotations in Thai are present:

- 3. ค้นหาไฟล์ข้อมูลที่จะทำการวิเคราะห์ (Find the data file to be analyzed) - points to the "Browse..." button.
- 2. เลือกให้ output แสดงในหน้าต่างต่อไป (Select to show output in the next window) - points to the "HTML - Plain Text" checkbox.
- 4. เลือกปุ่ม Submit data เพื่อให้โปรแกรมทำการวิเคราะห์ (Select the Submit data button for the program to perform analysis) - points to the "Submit data" button.

ภาพผนวกที่ 2 แสดงการเลือกใช้เมนูของ Hardy Weinberg Exact Tests

1.3 Out put ที่ได้จากการทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium จากโปรแกรม GENEPOP

Genepop version 4.0.10: Hardy-weinberg test

File: 235931 (Title line: "be Thyroglobulin gene ")

Number of populations detected: 1
Number of loci detected: 18

Estimation of exact P-values by the Markov chain method.

Markov chain parameters for all tests:
Dememorization: 1000
Batches: 100
Iterations per batch: 1000
Hardy weinberg: Probabilistic

=====

Results by population

=====

Pop : 96.11

Fis estimates

locus	P-val	S.E.	W&C	R&H	Steps	
loc1	0.0000	0.0000	0.7636	0.7671	87637	switches
loc2	0.0000	0.0000	0.9382	0.9426	88235	switches
log3	0.0000	0.0000	-0.8569	-0.8571	89518	switches
log4	0.0000	0.0000	0.5041	0.5056	63419	switches
log5	0.1229	0.0051	0.1073	0.1075	89857	switches
log6	0.0000	0.0000	0.9250	0.9287	89678	switches
log7	0.0735	0.0047	-0.1220	-0.1222	89707	switches
log8	0.0522	0.0034	-0.1302	-0.1305	89832	switches
log9	0.0017	0.0004	-0.0396	0.4758	32272	switches
log10	0.0018	0.0005	-0.0309	0.4802	29503	switches
log11	0.0058	0.0007	0.1753	0.1758	89915	switches
log12	0.0000	0.0000	0.7222	0.7248	85700	switches
log13	0.6168	0.0049	-0.0395	-0.0396	89698	switches
log14	0.0000	0.0000	-0.1093	0.2934	14500	switches
log15	0.0060	0.0010	0.1815	0.1819	89516	switches
log16	0.0000	0.0000	0.2441	0.6197	29891	switches
log17	0.0002	0.0001	0.1566	0.5690	21545	switches
log18	0.1502	0.0053	-0.0971	-0.0973	89866	switches

All (Fisher's method):
chi2 : Infinity
Df : 36.0000
Prob : High. sign.

5. ดูที่ค่า P-value

- ถ้าค่า $P > 0.05$ แสดงว่าตำแหน่งดังกล่าวไม่อยู่

สมดุลของ Hardy-Weinberg

- ถ้าค่า $P < 0.05$ แสดงว่าตำแหน่งดังกล่าวอยู่

สมดุลของ Hardy-Weinberg

ภาพผนวกที่ 3 แสดงผลการทดสอบ Hardy Weinberg

2. การทดสอบ Linkage disequilibrium

2.1 เข้าไปที่ <http://genepop.curtin.edu.au/> แล้วเลือกไปที่ Linkage Disequilibrium

GENEPOP ON THE Web

GENEPOP is a population genetics software package originally developed by Michel Raymond (Raymond@isem.univ-montp2.fr) and Francois Rousset (Rousset@isem.univ-montp2.fr), at the Laboratoire de Genetique et Environnement, UMR 5175 CNRS, Université de Montpellier 2, 34293 Montpellier Cedex 5, France. Genepop 4.0 runs under the developer tools installed. To compile under Unix or Linux, see the <http://kimura.univ-montp2.fr/~rousset/Genepop.htm>. It will compile on Mac OSX machines if you have Xcode 4.2 or later. Then issue the command:

```
'g++ -DNO_MODULES -o Genepop Genepop5.cpp -O3'
```

This latest version is easier to use and has some additional analyses (compared to v3.4) plus the ability to run in Batch mode.

The web version is still available for teaching purposes and for those who, for some reason, cannot run the latest version on their local PC or Mac. Below is the Genepop WWW menu with links to the data input and help pages. For further information on the Genepop program and its web implementation see the [history page](#).

Option	Status of Web Version	Help Files
1. Hardy Weinberg Exact Tests	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 1 Help
2. Linkage Disequilibrium	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 2 Help
3. Population Differentiation	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 3 Help
4. Nm estimates	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 4 Help
5. Basic Information, Fis and gene diversities	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 5 Help
6. Fst & other correlations	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 6 Help
7. File Conversion	Equivalent to Dos versions 3.4. Includes additional file conversion to ARLEQUIN format.	Option 7 Help
8. Miscellaneous Utilities	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 8 Help

ภาพผนวกที่ 4 แสดงการเข้าไปยัง Linkage Disequilibrium เพื่อทำการทดสอบ

2.2 แล้วโปรแกรมจะแสดงหน้าต่างใหม่ และเลือกตามขั้นตอนดังภาพ

Suboptions & Parameters Linkage Disequilibrium

Diploid Data:

Genotypic disequilibrium:

1. Test for each pair of loci in each population ☒

using the log likelihood ratio statistic ☒

using probability tests ☐

2. Only Create genotypic contingency tables ☐

Markov chain parameters for simulation (initially please):

Dememorization number:

Number of batches (10 -

Number of iterations per batch (100 - 10000):

Output Format & Delivery

☐ Email the results. Address:

☐ HTML - Plain Text (Not recommended for Suboption 1 - see the [help page](#))

Input Data

Choose a datafile to upload or paste the datafile into the text area below:

ภาพผนวกที่ 5 แสดงการเลือกใช้นิพจน์ของ Linkage Disequilibrium

2.3 Out put ที่ได้จากการทดสอบ Linkage disequilibrium จากโปรแกรม GENEPOP

Genepop version 4.0.10, Genotypic linkage disequilibrium

File: ... (populin gene ")

Num: ...

Num: ...

Max: ...

5.ดูที่ค่า P-value

- ถ้าค่า $P > 0.05$ แสดงว่าทั้งสองตำแหน่งไม่อยู่ Linkage disequilibrium เดียวกัน
- ถ้าค่า $P < 0.05$ แสดงว่าทั้งสองตำแหน่งอยู่ Linkage disequilibrium เดียวกัน

Pop	Locus#1	Locus#2	P -Value	S.E.	Switches
96.11	loc1	loc2	0	0.000000	62867
96.11	loc1	log3	0.000290	0.000172	39738
96.11	loc2	log3	0.002520	0.000584	31189
96.11	loc1	log4	0.154900	0.004117	46019
96.11	loc2	log4	0.059480	0.003387	34309
96.11	log3	log4	1.000000	0.000000	24240
96.11	loc1	log5	0.951230	0.002018	78176
96.11	loc2	log5	0.484170	0.008034	68585
96.11	log3	log5	0.082080	0.003267	58209
96.11	log4	log5	0.000000	0.000000	68416
96.11	loc1	log6	0.000000	0.000000	65249
96.11	loc2	log6	0.000000	0.000000	48361
96.11	log3	log6	0.000070	0.000054	37366
96.11	log4	log6	0.004060	0.000750	48906
96.11	log5	log6	0.123060	0.006149	73427
96.11	loc1	log7	0.348300	0.008389	76764
96.11	loc2	log7	0.494410	0.008472	66244
96.11	log3	log7	0.021830	0.001531	55725
96.11	log4	log7	0.000000	0.000000	66748
96.11	log5	log7	0.000000	0.000000	82887
96.11	log6	log7	0.003310	0.000963	71503

ภาพผนวกที่ 6 แสดงผลการทดสอบ Linkage Disequilibrium

3. การความถี่จีโนไทป์

3.1 เข้าไปที่ <http://genepop.curtin.edu.au/> แล้วเลือกไปที่ Basic Information, Fis and gene diversities

GENEPOP ON THE Web

GENEPOP is a population genetics software package originally developed by Michel Raymond (Raymond@isem.univ-montp2.fr) and Francois Rousset (Rousset@isem.univ-montp2.fr), at the Laboratoire de Genetique et Environnement, <http://isem.univ-montp2.fr/~rousset/Genepop.htm>. Genepop 4.0 runs under Linux. It will compile on Mac OSX machines if you have the developer tools installed. To compile under Unix or Linux, see the [compilation instructions](#).

'g++ -DNO_MODULES -o Genepop GenepopS.cpp -O3'

This latest version is easier to use and has some additional features.

The web version is still available for teaching purposes and for those who, for some reason, cannot run the latest version on their local PC or Mac. Below is the Genepop WWW menu with links to the data input and help pages. For further information on the Genepop program and its web implementation see the [history page](#).

Option	Status of Web Version	Help Files
1. Hardy Weinberg Exact Tests	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 1 Help
2. Linkage Disequilibrium	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 2 Help
3. Population Differentiation	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 3 Help
4. Nm estimates	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 4 Help
5. Basic Information, Fis and gene diversities	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 5 Help
6. Fst & other correlations	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 6 Help
7. File Conversion	Equivalent to Dos versions 3.4. Includes additional file conversion to ARLEQUIN format.	Option 7 Help
8. Miscellaneous Utilities	Upgraded to Genepop 4.0.10 (compiled binary from source code provided by Francois Rousset)	Option 8 Help

ภาพผนวกที่ 7 แสดงการเข้าไปยัง Basic Information, Fis and gene diversities เพื่อทำการหาความถี่จีโนไทป์

3.2 แล้วโปรแกรมจะแสดงหน้าต่างใหม่ และเลือกตามขั้นตอนดังภาพ

Option 1 Option 2 Option 3 Option 4 **Option 5** Option 6 Option 7 Option 8

Suboptions & Parameters **Allele Frequencies, etc.**

Basic Information
 1. Genotypic matrices, number obs/exp homozygotes and heterozygotes, allele frequencies, etc. ☒ **3. ค้นหาไฟล์ข้อมูลที่จะทำการวิเคราะห์**

Gene diversities & Fis:
 2. Using allele identity ☐
 3. Using allele size ☐
 Estimation ploidy for multilocus estimates: ☒ Diploid ☐ Haploid

Please Note : suboption 3 assumes allele sizes are proportional to the number of nucleotides in data file

Output Format & Delivery
☐ Email the results. Address:
☒ HTML - Plain Text

Input Data
 4. เลือกปุ่ม Submit data เพื่อให้โปรแกรมทำการวิเคราะห์

Choose a datafile to upload or paste the datafile into the text area below:

ภาพผนวกที่ 8 แสดงการเลือกใช้เมนูของ Basic Information, Fis and gene diversities

3.3 Out put ที่ได้จากการหาความถี่โนไทป์ จากโปรแกรม

Fis: computed as in Weir & Cockerham (1984);
also as in Robertson & Hill (1984).

=====

Detailed analyses

=====

Pop: 96.11 Locus: loc1

Genotypic matrix:

	2	4
2	108	
4	21	60

Genotypes	Obs.	Expected
2 . 2	108	74.1804
4 . 2	21	88.6393
4 . 4	60	26.1804

Expected number of homozygotes : 100.3607
Observed number of homozygotes : 168
Expected number of heterozygotes: 88.6393
Observed number of heterozygotes: 21

Allele frequencies and Fis:

Allele	Sample count	Frequency	Fis	
			W&C	R&H
2	237	0.6270	0.7636	
4	141	0.3730	0.7636	
Tot	378		0.7636	0.7671

ภาพผนวกที่ 9 แสดงผลความถี่โนไทป์ของ SNPs ตำแหน่งต่างๆ

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ นายบดินทร์ วงศ์พรหม
เกิดวันที่ 25 ธันวาคม 2527
สถานที่เกิด จังหวัดสกลนคร
ประวัติการศึกษา วท.บ. (เกษตรชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน —
สถานที่ทำงานปัจจุบัน —
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ —
ทุนการศึกษาที่ได้รับ —