บทที่ 3: วิธีดำเนินการวิจัย

ข้อมูลที่ใช้ในการวิจัย

ข้อมูลในการวิจัยครั้งนี้เป็นข้อมูลผลผลิตน้ำนมรายตัวของแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน ที่มีระดับสายเลือดโฮลสไตน์ตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป โดยจัดแบ่งเป็น 5 กลุ่มดังนี้ (กลุ่มที่ 1 $\leq$ 50 %HF, กลุ่มที่ 2 < 50 ถึง $\leq$ 75 %HF, กลุ่มที่ 3 < 75 ถึง $\leq$ 87.5 %HF, กลุ่มที่ 4 < 87.5 ถึง $\leq$ 93.75 %HF และกลุ่มที่ 5 > 93.75 %HF) ซึ่งรวบรวมข้อมูลได้จากฟาร์มเกษตรกรรายย่อยและฟาร์มเอกชน 10 แห่งทั่วภูมิภาคของประเทศไทย ช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2533 ถึง พ.ศ. 2550 โดยข้อมูลเหล่านี้ได้จากการสุ่มเก็บน้ำนมรายเดือน เดือนละหนึ่งครั้งติดต่อกันจนกระทั่งแม่โคหยุดรีดนม ด้านการจัดการเลี้ยงดูและการให้อาหารพบว่าแม่โคถูกเลี้ยงในโรงเรือนสลับกับปล่อยแทะเล็มในแปลงหญ้า การให้อาหารจะให้อาหารหยาบร่วมกับอาหารข้น และทำการรีดนมวันละ 2 ครั้ง ด้วยเครื่องรีดนมอัตโนมัติ โดยมีข้อมูลที่ทำการเก็บเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้ได้แก่

1. ปริมาณน้ำนม (กก.) ทำการรีดนมแม่โควันละ 2 ครั้ง โดยแบ่งเป็นตอนเช้าหนึ่งครั้งและตอนเย็นหนึ่งครั้ง (04.00 น. และ 16.00 น.) โดยบันทึกข้อมูลปริมาณน้ำนมแม่โคแยกเป็นรายตัว ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมเดือนละ 1 ครั้ง ตลอดระยะการให้นม
2. ข้อมูลอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับแม่โค เช่น อายุเมื่อคลอดลูก ฝูง และวัน-เดือน-ปีที่ทำการเก็บข้อมูล ระยะการให้นมในช่วงที่ทำการเก็บข้อมูล จำนวนวันให้นมในช่วงที่เก็บข้อมูลน้ำนม
3. ข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นทำการเก็บรวบรวมจากสถานีอุตุนิยมวิทยาซึ่งอยู่ใกล้เคียงฝูงโคนมแต่ละฝูง โดยทำการบันทึกทุก 3 ชั่วโมงตลอดวัน ติดต่อกันจนกระทั่งแม่โคหยุดให้นม

โครงสร้างของข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ สามารถแยกได้เป็น 2 แฟ้มข้อมูล คือ

1. แฟ้มข้อมูลพันธุ์ประวัติ (pedigree files)
   - หมายเลขประจำตัวโคนมที่ใช้ศึกษา
   - หมายเลขประจำตัวพ่อพันธุ์ของโคนม
   - หมายเลขประจำตัวแม่พันธุ์ของโคนม
   - ปีที่เกิดของโคนมที่ใช้ศึกษา
2. แฟ้มข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการให้ผลผลิตของโคนม (data files)
   - หมายเลขประจำตัวโคนมที่ใช้ศึกษา
   - ระยะการให้นม
   - อายุเมื่อคลอดลูกของโคนมที่ใช้ศึกษา (ปี)
   - ฝูงที่อยู่ของโคนมแต่ละตัว
   - วัน-เดือน-ปีที่เก็บข้อมูลของโคนมแต่ละตัว
   - ระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (%HF)
   - อุณหภูมิของอากาศและความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละวันที่สุ่มเก็บน้ำนม
   - ปริมาณน้ำนมในวันที่ทดสอบ (กิโลกรัม)

โมเดลที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมจะใช้โมเดลวันทดสอบ (Random Regression TesDay Model; RRTDM) ร่วมกับดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (THI) โดยใช้ในรูปแบบของฟังก์ชันความเครียดเนื่องจากความร้อน (heat stress function) เพื่อวิเคราะห์หาจุดที่โคนมเกิดความเครียด (threshold point) และวิเคราะห์อัตราการลดลงของปริมาณน้ำนมในช่วงที่โคนมเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน (rate of decline of milk production) โดยรูปแบบโมเดลวันทดสอบทำการดัดแปลงจากของ Ravagnolo และ Misztal (2000) เพื่อให้เหมาะสมกับประชากรโคนมที่ใช้ในการวิจัยและปัจจัยที่มีผลกระทบต่อปริมาณน้ำนม ซึ่งมีรูปสมการดังนี้

$$y_{ijklmn} = htd_i + dim_k(bg_j) + age_l + \alpha * t + a_{0m} + a_{1m} \times t + p_{0m} + p_{1m} \times t + e_{ijklmn}$$

เมื่อ

y_{ijklmn} = บันทึกผลผลิตน้ำนมในแต่ละวันทดสอบ

htd_i = อิทธิพลคงที่ของ ฝูง – วันทดสอบ

bg_j = อิทธิพลคงที่เนื่องจากระดับสายเลือดโคนมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน

dim_k = อิทธิพลคงที่เนื่องจากจำนวนวันให้นมในแต่ละวันทดสอบ ซึ่งซ้อนอยู่ในอิทธิพลเนื่องจากระดับสายเลือดโคนมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน

age_l = อิทธิพลคงที่เนื่องจากอายุตั้งแต่เกิดจนกระทั่งคลอดลูก

a_{0m} = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากพันธุกรรมในแม่โคแต่ละตัว

a_{1m} = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากพันธุกรรมในแม่โคแต่ละตัวซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

p_{0m} = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรในแม่โคแต่ละตัว

p_{1m} = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรในแม่โคแต่ละตัวซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

e_{ijklmn} = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

t = ฟังก์ชันความเครียดเนื่องจากความร้อน

α = อัตราการลดลงของปริมาณน้ำนมในแต่ละระดับของดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์

โดยมีโครงสร้างของความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วมดังนี้

$$Var\begin{bmatrix} a_0 \\ a_1 \\ p_0 \\ p_1 \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & A\sigma_{a\alpha} & 0 & 0 & 0 \\ A\sigma_{a\alpha} & A\sigma_\alpha^2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_p^2 & I\sigma_{p\pi} & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_{p\pi} & I\sigma_\pi^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

สำหรับฟังก์ชันของความเครียดเนื่องจากความร้อน (heat stress function) สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$t = \begin{cases} 0 & THI \le threshold\,(no\ heat\ stress), \\ THI - threshold & THI > threshold\,(heat\ stress) \end{cases}$$

วิธีการวิเคราะห์

1. จัดเตรียมข้อมูลบันทึกปริมาณน้ำนม, อุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ ในแต่ละวันทดสอบของแม่โคแต่ละตัว โดยโคหนึ่งตัวจะมีบันทึกข้อมูลในวันทดสอบตั้งแต่ 1-10 บันทึก ตลอดระยะการให้นม ขึ้นอยู่กับการจัดการและความคงทนของการให้นมของโคแต่ละตัว ทำการวิเคราะห์ตรวจสอบการกระจายของข้อมูลด้วยชุดคำสั่ง PROC UNIVARIATE NORMAL PLOT ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS for WINDOWS version 6.02 (SAS, 1998) เพื่อตรวจสอบลักษณะข้อมูลปริมาณน้ำนมว่ามีข้อมูลที่ผิดปกติหรือไม่ และทำการวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตน้ำนมโดยใช้ชุดคำสั่ง PROC MIXED จากนั้นทำการวิเคราะห์องค์ประกอบความแปรปรวนด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) ซึ่งมีข้อกำหนด (assumption) ให้การกระจายของ ข้อมูลที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์เป็นแบบปกติ (normal distribution)
2. ประมาณค่าองค์ประกอบความแปรปรวน (variance components) เพื่อนำไปประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม เช่น ค่าอัตราพันธุกรรม และค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) (Patterson and Thompson, 1971) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป REMLF90 (Misztal, 1999) จากนั้นประมาณค่าการผสมพันธุ์ด้วยวิธี best linear unbiased prediction (BLUP) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90- PCPAK 2.5 (Duangjinda et al., 2006)
3. ค่าประมาณอัตราพันธุกรรม และสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใช้วิธีการคำนวณของ Ravagnolo และ Misztal (2000) ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

   3.1 ค่าประมาณอัตราพันธุกรรม

$$\hat{h}^2_{THI} = \frac{\hat{\sigma}^2_a + t^2\hat{\sigma}^2_\alpha + 2t\hat{\sigma}_{a\alpha}}{\hat{\sigma}^2_a + t^2\hat{\sigma}^2_\alpha + 2t\hat{\sigma}_{a\alpha} + \hat{\sigma}^2_p + t^2\hat{\sigma}^2_\pi + 2t\hat{\sigma}_{p\pi} + \hat{\sigma}^2_e}$$

   3.2 ค่าประมาณสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพันธุกรรมและความเครียดเนื่องจากความร้อน

$$\hat{r}_{g(Prod,THI)} = \frac{t\hat{\sigma}_{a\alpha}}{\sqrt{\hat{\sigma}^2_a \times t^2\hat{\sigma}^2_\alpha}}$$

เมื่อ

σ^2_a = ความแปรปรวนเนื่องจากพันธุกรรมของสัตว์

σ^2_α = ความแปรปรวนเนื่องจากพันธุกรรมของสัตว์ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

σ^2_p = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวร

σ^2_π = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

σ^2_e = ความแปรปรวนเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

$\sigma_{a\alpha}$ = ความแปรปรวนร่วมระหว่างพันธุกรรมและพันธุกรรมภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน

$\sigma_{p\pi}$ = ความแปรปรวนร่วมระหว่างสภาพแวดล้อมถาวรและสภาพแวดล้อมถาวรภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

มหาวิทยาลัยขอนแก่น