บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความหลากหลายทางพันธุกรรมและตรวจหาความสัมพันธ์ของยีน *PRL* กับการให้ผลผลิตในเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ซึ่งเป็นเป็ดไข่ที่มีความโดดเด่นในด้านสมรรถภาพในการให้ผลผลิตไข่เป็ดซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดในท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานี

2.1 ลักษณะประจำพันธุ์ของเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Anas platyrhuclus* เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เพศผู้มีลักษณะขนลำตัวสีน้ำตาล ขนหน้าอกสีน้ำตาลเข้มกว่าลำตัว หัวสีเขียว ขนปลายหางม้วนงอ มีวงแหวนสีน้ำตาลอ่อนรอบคอ ปากสีเขียวแกมน้ำเงิน แข้งและเท้าสีส้ม ดังแสดงในภาพที่ 2.1 เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เพศเมีย มีขนสีน้ำตาลตลอดลำตัว หัวสีน้ำตาลเข้ม ปากสีดำ แข้งและเท้าสีน้ำตาล ดังแสดงในภาพที่ 2.2 สมรรถภาพด้านการผลิตของเป็ดไข่กากีแคมเบลล์ พบว่า อายุการให้ไข่ฟองแรก 159.28+13.39 วัน น้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรก 1536.07±112.58 กรัม น้ำหนักไข่เฉลี่ย 70.94±5.08 กรัม น้ำหนักแรกเกิด 44.74±4.42กรัม และปริมาณผลผลิตไข่ 303.05±45.66 ฟองต่อตัวต่อปี อายุการให้ผลผลิตไข่ 2 ปี (ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี, 2556)

ภาพที่ 2.1 เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เพศผู้

ภาพที่ 2.2 เป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์เพศเมีย

2.2 แนวทางการเพิ่มผลผลิตไข่

ปัจจุบันนักวิจัยหาแนวทางในการเพิ่มสมรรถนะการให้ผลผลิตไข่ของสัตว์ปีก ได้แก่

1) การจัดการด้านช่วงแสง (photoperiod) เนื่องจากแสงเป็นปัจจัยที่กระตุ้นกระบวนการผลิตไข่ โดยมีผลผ่านทาง retino hypothalamic pituitary axis (Austic and Nesheim, 1990) ชักนำให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าหลั่งฮอร์โมน gonadotrophins สูงขึ้นจากการศึกษาของไก่พื้นเมืองไทยที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาวเริ่มออกไข่เร็วกว่ากลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงธรรมชาติ กลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงปกติ และกลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงสั้น จำนวนของไก่ที่ออกไข่และผลผลิตไข่สูงสุดในกลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาว (Sartsoongnoen, 2007) แสดงให้เห็นว่าช่วงแสงมีผลต่อประสิทธิภาพการให้ไข่และการเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของไก่พื้นเมืองไทย นอกจากนี้การศึกษาการเลี้ยงไก่พื้นเมืองภายใต้ช่วงแสงต่างกันพบว่าไก่ที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาวมีน้ำหนักรังไข่และท่อนำไข่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ (Kosonsiriluk

et al., 2008) แสดงว่าช่วงวันยาวสามารถปรับปรุงประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของไก่พื้นเมืองไทยได้ การปรากฏของฟอลลิเคิลในรังไข่แสดงให้เห็นถึงพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ (Etches, 1993) ไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาวมีการปรากฏของฟอลลิเคิลมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าอวัยวะสืบพันธุ์ของไก่ที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาวมีแนวโน้มที่จะพัฒนาเร็วกว่ากลุ่มการทดลองอื่น ไก่ตัวแรกที่เริ่มไข่พบในกลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาวเช่นเดียวกับจำนวนไก่ที่ให้ไข่ก็พบในกลุ่มที่เลี้ยงภายใต้ช่วงแสงยาวมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Thapliyal and Gupta, 1989; Rani and Kumar, 2000)

2) การทำ active immunization เพื่อยับยั้งการทำงานของ Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) เนื่องจากฮอร์โมน VIP เป็นฮอร์โมนที่กระตุ้น hypothalamus ทำให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนโพรแลคตินทำให้แสดงพฤติกรรมฟักไข่และให้ผลผลิตไข่ลดลง จากการศึกษาของ Rozenboim *et al.* (1996) พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับ VIP conjugated มีการผลิตฮอร์โมนโพรแลคตินลดลง และเพิ่มความเข้มข้นของ LH จนก่อให้เกิด LH surges จนเกิดกระบวนการตกไข่ ซึ่งสอดคล้องกับ El-Halawani *et al.* (2000) พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับ VIP conjugated จะผลิตโพรแลคตินต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และให้ผลผลิตไข่สูงสุด นอกจากนี้ Reddy *et al.* (2006) พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับ immunization against cProlactin จะผลิตโพรแลคตินต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และให้ผลผลิตไข่สูงสุดเช่นกัน

3) การจัดการด้านพฤติกรรมการฟัก (broodiness) ในเชิงอุตสาหกรรมมีการพัฒนาระบบการเลี้ยงแบบกรงตับ เพื่อลดพฤติกรรมการฟักไข่ จากการรายงานของศูนย์วิจัยและปรับปรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี (2556) รายงานผลผลิตไข่ที่เลี้ยงบนกรงตับเพื่อลดการฟักสามารถให้ผลผลิต เท่ากับ 303.05±45.66 ฟอง/แม่/ปี ผลผลิตไข่ที่เลี้ยงแบบปล่อยลานให้ผลผลิต 287.21±52.40 /แม่/ปี ซึ่งถือได้ว่าเป็ดไข่มีสมรรถนะการให้ผลผลิตไข่ที่เพิ่มขึ้น

แนวทางที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสัตว์ปีกมีสมรรถนะการให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเลือกใช้แนวทางใดแนวทางหนึ่งในการเพิ่มสมรรถนะการผลิตพบว่าผลผลิตไข่ในสัตว์ปีกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่แนวทางการเพิ่มสมรรถนะการให้ผลผลิตดังกล่าวเป็นเพียงการแก้ปัญหาในระยะสั้น ดังนั้นในมุมมองของผู้วิจัยต้องการแก้ปัญหาด้านการให้ผลผลิตอย่างยั่งยืน นักวิจัยจึงเลือกวิธีการปรับปรุงพันธุ์จากความแปรปรวนของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ (egg production variations) ที่เกิดจากความแตกต่างด้านพันธุกรรมของสัตว์ปีกแต่ละตัว จึงทำให้มีแนวทางในการศึกษาพันธุกรรมที่มีศักยภาพ เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกเป็ดไข่กากีแคมป์เบลล์ให้มีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นต่อไป และเป็นแนวทางที่ยั่งยืน

2.3 เครื่องหมายพันธุกรรม (Genetic marker)

Genetic marker เป็นส่วนของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในสัตว์แต่ละตัว และสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ direct marker และ indirect marker หรือ linkage marker (Kinghorn and Clarke, 1997) ซึ่ง direct marker หมายถึงเครื่องหมายพันธุกรรมเป็นส่วนหนึ่งของยีนและมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะนั้นๆ โดยตรง ดังนั้นหากใช้ direct marker ในการคัดเลือกสัตว์ในรุ่นพ่อแม่เพื่อปรับปรุงพันธุ์ลักษณะที่สนใจ ก็แสดงว่าในรุ่นลูกจะได้รับพันธุกรรมที่ดีจากพ่อแม่ด้วย เช่น การ

คัดเลือกสุกรด้วย genetic marker ที่ได้จากการศึกษาเกี่ยวกับยีน halothane ต่อความเครียด พบว่า สุกรจะมีความเครียดลดลง ส่วน indirect marker หมายถึงเครื่องหมายพันธุกรรมที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci: QTL) แต่ไม่ใช่ส่วนหนึ่งของยีน ซึ่งในการใช้ indirect marker จำเป็นต้องคำนึงถึงอัตราการเกิด crossing over ของระยะห่างระหว่าง genetic marker กับ QTL ซึ่งจะทำให้มั่นใจว่า genetic marker กับ QTL จะถ่ายทอดไปด้วยกัน ดังนั้นในการใช้ indirect marker ต้องทราบว่า genetic marker มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจแบบ linkage disequilibrium (LD marker) หรือ linkage equilibrium (LE marker) (Kinghorn *et al.*, 1993; Montaldo and Meza-Herrera, 1998) เป็นเทคนิคที่ตรวจหาเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic marker) ซึ่งอยู่ในตำแหน่งที่ใกล้ยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci: QTL) ไปใช้ในการคัดเลือกสัตว์ ที่เรียกว่า marker assisted selection หรือ MAS ช่วยเพิ่มความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ให้ไปถึงเป้าหมายได้รวดเร็วยิ่งขึ้น อีกทั้งยังสามารถคัดเลือกสัตว์ที่มีการแสดงออกในบางลักษณะที่ถูกจำกัดด้วยเพศ (sex limited) ได้อย่างแม่นยำ เช่น ความสามารถในการให้ผลผลิตไข่ในไก่ และความสามารถในการให้ผลผลิตน้ำนมในโคนม ซึ่งไม่สามารถประเมินความสามารถในการแสดงออกของลักษณะเหล่านี้ได้โดยตรงในสัตว์เพศผู้ (Kinghorn and Clarke, 1997) ดังนั้นการใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมในการคัดเลือกสัตว์จึงเป็นทางเลือกในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ และในการค้นหา genetic marker ควรพิจารณาข้อมูลที่มีและเลือกวิธีที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ genetic marker ที่ถูกต้องและมีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับใช้ในการคัดเลือกสัตว์ต่อไป

2.4 Genetic marker ที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่

การรวบรวมข้อมูลวิจัยเกี่ยวกับยีนที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในสัตว์ปีกของต่างประเทศพบว่ามียีนที่ศึกษาจำนวนมาก ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 Marker – Assisted Selection ที่สัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่

Marker-Assisted Selection	Function	Animal	References
Direct marker assisted selection			
GH	Growth hormone	bird	Kansaku *et al.* (2008)
PRL	Broodiness behavior	chicken	Masoud *et al.* (2011)
BMPR-IB	ovulation rate and follicular growth	sheep	Morteza *et al.* (2014)
GnRHR	regulates production of gametes and gonadal hormones	chicken	Wu *et al.* (2007)
NPY	release of gonadotropin-releasing	chicken	Wu *et al.* (2007)

Marker-Assisted Selection	Function	Animal	References
	hormone		
DRD2	regulation of broodiness	chicken	Xu *et al.* (2010)
VIPR-1	regulation of broodiness	chicken	Xu *et al.* (2011)
Indirect marker assisted selection			
OCX-32	Mineral deposition of egg shell	chicken	Hincke *et al.* (2003)
Naked neck	Heat tolerance	chicken	Zein El-Dein *et al.* (2009)
MHC	Immune system	chicken	Sander (1993)
apoB	Estrogen transportation to yolk egg	chicken	Ding *et al.* (2008)

ซึ่งจาก Marker Assisted Selection ข้างต้นสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และเพิ่มผลผลิตไข่ (Direct Marker – Assisted Selection) กล่าวคือ ยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างผลผลิตไข่และยับยั้งการทำงานของยีน *PRL* ซึ่งกระบวนการสร้างผลผลิตไข่ ได้แก่ กระบวนการพัฒนาของ follicles (follicles maturation) และ กระบวนการตกไข่ (ovulation) อาทิเช่น ยีน GH, GnRHR, NPY และ BMPR-IB นอกจากนี้ ยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานของยีน *PRL* ได้แก่ ยีน 24BP-*PRL*, 5F-*PRL*, VIPR-1 และ DRD1 ส่วนยีนอีกกลุ่มหนึ่งคือยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องทางอ้อมกับการให้ผลผลิตไข่ (Indirect Marker Assisted Selection) อาทิเช่น ยีน apolipoprotein B (apoB) มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งฮอร์โมน estrogen ไปยังไข่แดง เพื่อการพัฒนาของไข่ (oocyte) (Laziera *et al.*, 1994) และ ยีน major histocompatibility complex (*MHC*) เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน จากการศึกษาของ Lakshmanan *et al.* (1997) พบว่า Haplotype ของ MHC gene รูปแบบที่ 6 มีความสัมพันธ์กับไก่กลุ่มที่ต้านทานต่อโรคมาเร็กซ์ และให้ผลผลิตไข่สูง

2.5 บทบาทหน้าที่ของยีน *PRL* กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และการประยุกต์ใช้ยีน *PRL* ในการปรับปรุงลักษณะการให้ผลผลิตไข่

บทบาทหน้าที่ของยีน *PRL* ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่

ยีน *PRL* เป็นยีนที่ควบคุมการสร้างฮอร์โมนโพรแลคตินซึ่งฮอร์โมนโพรแลคตินเป็นโปรตีนสายเดี่ยวผลิตจาก oxyphil cells ของ anterior pituitary ถูกแปลรหัสมาจากยีน *PRL* มีหน้าที่หลากหลายในสัตว์มีกระดูกสันหลัง อาทิเช่น สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการพัฒนาของเต้านมและรักษาสภาพการตั้งท้อง (Lu *et al.*, 2010) ส่วนในสัตว์ปีกมีความเกี่ยวข้องกับวงจรการสืบพันธุ์ของสัตว์ปีกหลายชนิด เช่น ไก่งวง นกกระทา ไก่ขนาดเล็ก นกนางนวล นกพิราบ และนกเป็ดน้ำ (El Halawani *et al.*, 1997) รวมถึงไก่พื้นเมืองไทยด้วย (Kosonsiriluk *et al.*, 2008)

และพฤติกรรมการสร้างรังในนก (Elkins *et al.*, 2000) ฮอร์โมน PRL มีความเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการฟักไข่ ควบคุมการพัฒนาของกระบวนการตกไข่ การพัฒนาของ crop sac และพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ปีก พฤติกรรมการฟักไข่เกิดขึ้นในระยะหยุดให้ไข่ในสัตว์ปีก (Reddy *et al.* 2007) เนื่องจากฮอร์โมนโพรแลคตินจะยับยั้งการทำงานของ GnRH ที่กระตุ้นการตกไข่ และยับยั้งการผลิตฮอร์โมน estrogen จึงเป็นผลให้รังไข่เกิดการฝ่อและทำให้ผลผลิตไข่ลดลง (Shimada *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตามการแสดงออกของยีน PRL ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิเช่น Dynorphin, serotonin (5-HT), Dopamine (DA) และ VIP (El Halawani *et al.*, 2000) รวมทั้งความหลากหลายของบริเวณ 5' flanking region ของยีน PRL จากการศึกษา Jiang *et al.* (2005) พบว่ายีน PRL บริเวณ 5' flanking region ตำแหน่ง -358 ที่มีการเพิ่มเข้ามาของเบสจำนวน 24 เบส (24 bp insert) เรียกบริเวณดังกล่าวว่า Evi-1 biding site (Cui *et al.*, 2005) ซึ่ง ecotropic viral integration site-1 encoded factor (Evi-1) เป็นโปรตีนประเภท zinc finger domains ที่สามารถยับยั้ง transforming growth factor-β (TGF-β) (Izutsu *et al.*, 2001) อีกทั้งยังมีรายงานว่า Evi-1 เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เป็นโปรตีนยับยั้งอยู่หลายยีน (Izutsu *et al.*, 2002) จึงมีความเป็นไปได้ว่าไก่ไข่แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ลดลงและมีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น เนื่องจากส่วนใหญ่ในไก่ไข่จะพบ 24 bp insertion บริเวณ 5' flanking region ของยีน PRL ที่ตรวจสอบจีโนไทป์พบได้ 3 รูปแบบ คือ II, ID และ DD ซึ่งส่งผลให้ Evi-1 ยับยั้งการแสดงออกของยีน PRL (Jiang *et al.*, 2005) สอดคล้องกับ Emamgholi Begli *et al.* (2010) พบว่าไก่ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ II สามารถให้ผลผลิตไข่สูงสุด เช่นเดียวกับ Cui *et al.* (2006) พบว่าไก่ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ ID ให้ผลผลิตไข่สูงสุด ดังนั้นจึงน่าจะใช้ 24 bp insertion เป็น genetic marker เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองให้มีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นได้ จากการศึกษาของ Enwright *et al.* (2003) พบว่าตำแหน่ง -2402 ของยีน PRL หากมีการเปลี่ยนจากเบส C ไปเป็นเบส T มีผลทำให้เพิ่มการแสดงออก (enhancer) ของยีน PRL ทำให้ไก่ที่มีจีโนไทป์รูปแบบ TT ให้ผลผลิตไข่ต่ำสุด ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์จึงควรคัดเลือกไก่ที่มีจีโนไทป์รูปแบบ CC เนื่องจากสามารถให้ผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบอื่นๆ จากการศึกษาที่ผ่านมาสามารถสรุปได้ว่าฮอร์โมนโพรแลคตินมีบทบาทสำคัญต่อผลผลิตไข่ในไก่ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาและรายงานผลถึงบทบาทหน้าที่ของยีน PRL ในเป็ดของประเทศไทย จากการศึกษา cDNA microarray พบว่า PRL มีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนากระบวนการตกไข่และการสร้างไข่ (Mu-Tzu Chang *et al.*, 2012) การสร้างเยื่อหุ้มเปลือกไข่ (Djojosoebagio, 1996) ยีน PRL ของเป็ดมีขนาด 6.33 kb ประกอบด้วย 5 exons และ 4 introns สามารถแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนได้จำนวน 229 ชนิด จากการศึกษาของ Cui *et al.* (2011) พบว่าการเปลี่ยนลำดับเบสตำแหน่ง C-591T จากเบส cytosine เป็น thymine ซึ่งถูกแทนด้วยจีโนไทป์ CC มีผลให้เปลี่ยนแปลงกรดอะมิโน Cysteine เป็น Arginine ในการเป็น domain และ effect ของ heparin binding site ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่และน้ำหนักไข่ในเป็ดพื้นเมืองของประเทศจีน ดังนั้นการคัดจีโนไทป์ CC ของยีนโพรแลคตินจะมีความสัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่และน้ำหนักไข่สูงกว่าจีโนไทป์ CT