ความสัมพันธ์ระหว่างยีน adiponectin และ follicle stimulating hormone receptor กับช่วงวันท้องว่างหลังหย่านมถึงผสมพันธุ์ครั้งแรกและการให้ลูกในประชากรสุกรเชิงการค้าในเขตภาคเหนือของประเทศไทย

Relationship between adiponectin and follicle stimulating hormone receptor genes and weaning-to-first service interval and litter traits in a commercial swine population in Northern Thailand

ฉัตรชัย จันทร์สมบูรณ์[1] Mauricio A. Elzo[2], ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี[1] และ ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ[1,*]

Chatchai Chansomboon[1] Mauricio A. Elzo[2], Thanathip Suwanasopee[1] and Skorn Koonawootrittriron[1,*]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบที่ต่างกัน (polymorphism) ของยีน adiponectin (ADIPOQ) และ follicle stimulating hormone receptor (FSHR) เทียบกับช่วงวันท้องว่างหลังหย่านมถึงผสมพันธุ์ครั้งแรก (WSI) จำนวนลูกแรกคลอดมีชีวิต (NBA) น้ำหนักครอกแรกคลอด (LBW) จำนวนลูกมีชีวิตเมื่อหย่านม (NPW) และน้ำหนักครอกเมื่อหย่านม (LWW) ในประชากรสุกรเชิงการค้าซึ่งประกอบด้วยสุกรพันธุ์แลนด์เรซ (L) ลาร์จไวท์ (W) ลูกผสมแลนด์เรซ×ลาร์จไวท์ (LW) และลูกผสมลาร์จไวท์×แลนด์เรซ (WL) ในภาคเหนือของประเทศไทย ชุดข้อมูลประกอบด้วย WSI, NBA และ LBW จำนวน 470 ข้อมูล และ NPW และ LWW จำนวน 330 ข้อมูล พร้อมกับเลือด 363 ตัวอย่างจากแม่สุกร 363 ตัว SNP 1 ตำแหน่งและรูปแบบยีน 2 รูปแบบถูกศึกษาสำหรับ ADIPOQ (G และ A) และ FSHR (C และ T) SNP ที่ศึกษาสำหรับ ADIPOQ ได้แก่ AJ849536: g.1716G>A และสำหรับ FSHR ได้แก่ AF025377: g.1166C>T ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษากับรูปแบบของยีนและยีโนไทป์ถูกประมาณค่าโดยหุ่นจำลองเชิงเส้นตรง อิทธิพลของรูปแบบของยีนถูกพิจารณาในรูปของการถดถอยของลักษณะต่อจำนวนรูปแบบของยีน G สำหรับ ADIPOQ และจำนวนรูปแบบของยีน T สำหรับ FSHR ผลการศึกษาพบว่าทั้งรูปแบบของยีนและยีโนไทป์มีอิทธิพลอย่างไม่มีนัยสำคัญสำหรับยีน ADIPOQ หรือ FSHR จำนวนสุกรที่ใช้ในการศึกษา สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้น และความใกล้เคียงกันของพันธุกรรมระหว่างสุกรที่เป็นผลมาจาก การทดแทนพ่อพันธุ์และสุกรสาวภายในฝูงระหว่างช่วงเวลาที่ศึกษาอาจเป็นสาเหตุของความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ระหว่างอิทธิพลรูปแบบของยีนและยีโนไทป์ในประชากรที่ศึกษา ดังนั้น ADIPOQ และ FSHR ยีนจึงมีส่วนช่วยการคัดเลือกพันธุ์สุกรในประชากรนี้ได้เพียงเล็กน้อย

ABSTRACT

The objectives of this research were to evaluate association of polymorphisms in the ADIPOQ and FSHR genes and weaning-to-first service interval (WSI), number of piglets born alive (NBA), total litter birth weight (LBW), number of piglets at weaning (NPW) and total litter weaning weight (LWW) in a commercial swine population composed of Landrace (L), Large White (W), L × W and W × L sows in northern Thailand. The dataset consisted of 470 records for WSI, NBA, and LBW, and 330 records

[1] ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Jatujak, Bangkok, 10900

[2] Department of Animal Sciences, University of Florida, Gainesville, FL 32611-0910, USA

* Corresponding author: agrskk@ku.ac.th

for NPW and LWW from 363 sows. Blood samples were also collected from these 363 sows. One SNP and 2 alleles were studied for the ADIPOQ (G and A) and FSHR (C and T) genes. The SNP for ADIPOQ was AJ849536: g.1716G>A and the SNP for FSHR was SNP as AF025377: g.1166C>T. Associations between traits and alleles, and traits and genotypes were performed using linear models. Allelic effects were modeled as regressions of traits on numbers of G alleles for ADIPOQ and numbers of T alleles for FSHR. Neither allelic nor genotypic effects were significant for either the ADIPOQ or the FSHR gene. Low numbers of animals, tropical environmental conditions and genetic similarity among animals due to intra-herd replacement of boars and gilts during the period of the study may have contributed to the lack of significant differences among allelic and genotypic effects in this population. Thus, the ADIPOQ and FSHR genes will be of little help for selecting pigs in this population.

Keywords: adiponectin, follicle stimulating hormone receptor, polymorphism, service interval, litter traits, swine, tropical

C. Chansomboon: chatchai03@gmail.com

คำนำ

ประสิทธิภาพของแม่สุกรสามารถพัฒนาได้โดยการลดช่วงวันท้องว่างที่ไม่ให้ผลผลิต (non-productive sow day) ซึ่งได้แก่ ช่วงวันท้องว่างหลังหย่านมถึงผสมพันธุ์ครั้งแรก (WSI) และการเพิ่มปริมาณของลักษณะการให้ลูก เช่น จำนวนลูกแรกคลอดมีชีวิต (NBA) น้ำหนักครอกแรกคลอด (LBW), จำนวนลูกมีชีวิตเมื่อหย่านม (NPW) และน้ำหนักครอกเมื่อหย่านม (LWW) ซึ่งลักษณะเหล่านี้ถูกรายงานว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ โดยลักษณะเหล่านี้ผันแปรตามอิทธิพลเนื่องจากสภาพแวดล้อมมากกว่าอิทธิพลเนื่องจากพันธุกรรม (Holm *et al.*, 2005; Imboonta *et al.*, 2007) ส่งผลให้การปรับปรุงลักษณะเหล่านี้โดยอาศัยเฉพาะวิธีทาง quantitative genetic เพื่อคัดเลือกสัตว์นั้นทำได้ยากและใช้เวลานาน ทั้งนี้หากผู้ผลิตสามารถใช้ข้อมูล genotype ของยีนที่สัมพันธ์กับลักษณะต่างๆ เหล่านี้ ร่วมกับวิธีทาง quantitative genetics อาจเพิ่มความแม่นยำในการคัดเลือกสัตว์เพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ซึ่งจะทำให้การปรับปรุงลักษณะดังกล่าวทำได้เร็วยิ่งขึ้น

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะดังกล่าวกับยีนที่เกี่ยวข้องถูกรายงานโดย Houde *et al.* (2008) ซึ่งพบว่าสุกรที่มี genotype แบบ GA มีช่วงวันเป็นสัดครั้งแรกหลังหย่านม (WEI) น้อยกว่าสุกรที่มี genotype แบบ GG สำหรับยีน ADIPOQ (c.178G>A; $P < 0.05$) และสำหรับยีน adiponectin receptor (c.*112G>A; $P < 0.01$) โดยที่ adiponectin เป็นฮอร์โมนที่ถูกสร้างมาจากเซลล์ไขมัน มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการเผาผลาญไขมันในร่างกาย และรักษาสมดุลของกลูโคส เพื่อสร้างพลังงาน ทำให้ปริมาณไขมันสะสมในร่างกายลดลง (Yamauchi *et al.*, 2002; Kadowaki and Yamauchi, 2005) ซึ่งสมดุลของพลังงานที่สะสมในร่างกายในรูปของการสะสมไขมันนั้นเป็นตัวควบคุมการหลั่งของ gonadotropin releasing hormone ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเป็นสัดและการตกไข่ในแม่สุกร (Bard *et al.*, 1999) ส่วน follicle stimulating hormone (FSH) นั้นมีบทบาทในการกระตุ้นการพัฒนาของฟองไข่ (follicle maturation) ที่มีผลต่อจำนวนของ Graafian follicle ในวันที่ไข่ตกและปริมาณของฮอร์โมนเอสโตรเจนในกระแสเลือด ที่ส่งผลต่อลักษณะการให้ลูก และการแสดงการเป็นสัดในแม่สุกรตามลำดับ หากแต่ว่ากลไกการทำงานของฮอร์โมน FSH นั้นต้องผ่านตัวรับคือ follicle stimulating hormone receptor (FSHR) การทำงานของฮอร์โมน FSH จึงถูกควบคุมด้วย FSHR (Ulloa-Aguirre *et al.*, 2007) อิทธิพลของยีน FSHR ต่อลักษณะขนาดครอก (litter size) ถูกรายงานโดย Jiang *et al.* (2002) ในสุกรพันธุ์แลนด์เรซ

สายพันธุ์เยอรมัน ซึ่งพบว่าสุกรที่มี genotype แบบ CC จะมีขนาดครอกใหญ่กว่าสุกรที่มี genotype แบบ CT และ TT ($P < 0.0499$) แต่มีผลในทางตรงกันข้ามในสุกรพันธุ์ Erhualian ของประเทศจีน ($P < 0.0137$) การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบที่ต่างกัน (polymorphism) ของยีน ADIPOQ และ FSHR เทียบกับลักษณะช่วงวันท้องว่างหลังหย่านมถึงผสมพันธุ์ครั้งแรก (WSI) และลักษณะการให้ลูกของสุกรได้แก่ (NBA, LBW, NPW และ LWW) ในประชากรสุกรเชิงการค้าแห่งหนึ่งในภาคเหนือของประเทศไทย

อุปกรณ์วิธีการ

1. สัตว์ทดลอง และชุดข้อมูล

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ แม่สุกร จำนวน 363 ตัว จากฟาร์มสุกรเชิงการค้าในจังหวัดเชียงใหม่ ประกอบด้วยแม่สุกรพันธุ์แลนด์เรซ (L; n = 120 ตัว) ลาร์จไวท์ (W; n = 120 ตัว) ลูกผสมแลนด์เรซ×ลาร์จไวท์ (LW; n = 26 ตัว) และลูกผสมลาร์จไวท์×แลนด์เรซ (WL; n = 97 ตัว) ซึ่งถูกเลี้ยงในโรงเรือนเปิดและมีการคัดเลือกแม่พันธุ์สุกรทดแทนจากฝูงประชากรเดิม

ข้อมูลเริ่มต้นมีทั้งหมด 619 ข้อมูล จากแม่สุกร 363 ตัว ซึ่งถูกรวบรวมตั้งแต่ปี 2549 ถึง 2552 ประกอบด้วยข้อมูลของลักษณะที่ศึกษา ได้แก่ ช่วงวันท้องว่างหลังหย่านมถึงผสมพันธุ์ครั้งแรก (weaning-to-first service interval; WSI), จำนวนลูกแรกคลอดมีชีวิต (number of piglets born alive; NBA) น้ำหนักครอกแรกคลอด (total litter birth weight; LBW) จำนวนลูกมีชีวิตเมื่อหย่านม (number of piglets weaning; NPW) และน้ำหนักครอกเมื่อหย่านม (total litter weight at weaning; LWW) ข้อมูลที่ผิดพลาดและไม่สมบูรณ์จะถูกตัดออกจากชุดข้อมูล ทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลสำหรับ WSI, NBA และ LBW มีจำนวนทั้งสิ้น 470 ข้อมูล และสำหรับ NPW และ LWW มีจำนวน 330 ข้อมูล ปัจจัยกำหนด (fixed effects) ในหุ่นจำลองทางสถิติ ได้แก่ ลำดับครอกของแม่สุกรซึ่งแบ่งเป็น 4 กลุ่ม (ได้แก่ ครอกที่ 1, 2, 3 และ ≥ 4), ฤดูกาลแบ่งเป็นฤดูหนาว (พฤศจิกายน ถึง กุมภาพันธ์) ฤดูร้อน (มีนาคม ถึง มิถุนายน) และฤดูฝน (กรกฎาคม ถึง ตุลาคม) อายุของแม่สุกรในประชากรมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.59 เดือน และช่วงเวลาเลี้ยงลูกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.83 วัน

2. การเก็บตัวอย่างเลือด และการสกัด DNA

ตัวอย่างเลือดถูกเก็บจากเส้นเลือด jugular vein ปริมาณ 5 มล. บรรจุในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) และเก็บไว้ในน้ำเข็ง จากนั้นตัวอย่างเลือดจะถูกสกัด DNA โดยใช้สารเคมีและวิธีการของ MasterPure™ DNA PurificationKit for Blood และเก็บสาร DNAไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

3. DNA amplification

ยีน ADIPOQ (Gene Bank Acc. No. AJ849536) ถูกเพิ่มจำนวนโดยใช้ชุด primer ดังนี้ forward primer คือ 5'-TCA GGA TGC TGT TGT TGG GA-3' และ reverse primer คือ 5'-CCC TGT GAA TAG GCC TTT GG-3' (Houde *et al.*, 2008), PCR reagent ประกอบด้วย 1x ของ PCR buffer, $MgCl_2$ ความเข้มข้น 1.6 mM, dNTP ความเข้มข้น 0.2 mM, forward และ reverse primer มีความเข้มข้นอย่างละ 1.0 μM, และ Taq polymerase จำนวน 0.04 U (Fermentas, USA) โดยปริมาตรรวมเท่ากับ 12.6 μl จากนั้นใช้ PCR cycle protocol มาตรฐาน 35 รอบ อุณหภูมิ annealing ที่ 55°C โดย PCR product มีขนาด 326 bp

การเพิ่มจำนวนยีน FSHR (Gene Bank Acc. No. AF025377) ใช้วิธีการของ Jiang *et al.* (2002) โดยที่ใช้ชุด primer (outer primer) ซึ่งมี forward primer คือ 5'-GCA ACA AAT CTA TTT TAA GGC AAG A-3' และ

reverse primer คือ 5'-GAT GCT CAC CTT CAT GTA GCT G-3' ใน PCR reagent ที่ประกอบด้วย 1x ของ PCR buffer, $MgCl_2$ ความเข้มข้น 1.2 mM, dNTP ความเข้มข้น 0.1 mM, forward และ reverse primer มีความเข้มข้นอย่างละ 0.25 μM, และ Taq polymerase จำนวน 0.04 U (Fermentas, USA) ปริมาตรรวมของ PCR reagent เท่ากับ 10.07 μl แล้วนำไปเข้าเครื่องเพิ่มจำนวน DNA โดยใช้ PCR protocol มาตรฐาน 30 รอบ และอุณหภูมิ annealing ที่ 60°C ความยาวของ PCR product เท่ากับ 674 bp

4. SNP classification and detection

SNP ของยีน ADIPOQ ในการศึกษาครั้งนี้ (AJ849536:g.1716G>A) เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลง nucleotide ที่ตำแหน่ง 1716 ของยีน ADIPOQ (AJ849536) ซึ่งเคยรายงานไว้โดย Houde *et al.* (2008) ที่ใช้รหัส SNP คือ c.178G>A โดย SNP ที่ตำแหน่งนี้สามารถใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Bsa*HI ตัดสาย DNA ที่ตำแหน่ง 180 bp ของ PCR product ที่มี nucleotide แบบ G ถ้าเป็น nucleotide ตัวอื่นจะไม่มีการตัด ทำให้ได้ชิ้นส่วนของ DNA เป็น 2 แถบ คือ 181 bp และ 145 bp หากสุกรนั้นมี genotype แบบ GG และได้ 3 แถบ คือ 326 bp, 181 bp และ 145 bp หากสุกรนั้นมี genotype แบบ GA (Houde *et al.*, 2008) ชิ้นส่วนของ DNA จาก SNP เหล่านี้ถูกแยกออกจากกันโดยสนามไฟฟ้า (electrophoresis) ใน 2% agarose gel และสามารถตรวจสอบแถบของชิ้นส่วน DNA โดยการส่องดูภายใต้แสง UV หลังจากย้อมด้วย ethidium bromide

รายละเอียด SNP ของยีน FSHR (AF025377:g.1166C>T) นี้ถูกรายงานโดย Jiang *et al.* (2002) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลง nucleotide ที่ตำแหน่ง 1166 ของยีน FSHR (AF025377) และเนื่องจาก SNP นี้ไม่สามารถหาเอนไซม์ตัดจำเพาะมาตัดได้จึงต้องใช้เทคนิค bi-directional PCR amplification of specific alleles (Bi-PASA; Liu *et al.*, 1997) เพื่อจำแนกยีน FSHR ที่มี C allele ออกจาก T allele โดยอาศัยชุด primer (inner primers) ที่กำหนดให้สาย forward (F: 5'-ATG GTT TAT TAG TAT CCT TGC CA<u>C</u>-3') จำเพาะต่อ allele C และสาย reverse (R: 5'-AGC ACT ATG ATG TTC CCA GTG <u>A</u>-3') จะจำเพาะต่อ allele T ซึ่งผลของ inner forward primer และ outer reverse primer ทำให้ได้ชิ้นส่วน DNA ที่มีขนาด 442 bp สำหรับ DNA ที่มี C nucleotide ประกอบอยู่ ส่วนผลของ outer forward primer และ inner reverse primer ทำให้ได้ชิ้นส่วน DNA ที่มีขนาด 277 bp สำหรับสาย DNA ที่มี T nucleotide ประกอบอยู่ ส่งผลให้สุกรที่มี genotype แบบ CC แสดงแถบ DNA เป็น 2 แถบ คือ 674 bp และ 442 bp สำหรับสุกรที่มี genotype แบบ CT จะแสดงแถบ DNA ออกมาเป็น 3 แถบ คือ 674 bp, 442 bp และ 277 bp ในขณะที่สุกรที่มี genotype แบบ TT จะแสดงแถบ DNA เป็น 2 แถบ คือ 674 bp และ 277 bp การแยกชิ้นส่วน DNA ทำได้โดยใช้ 1.2% agarose gel ในสนามไฟฟ้า แถบ DNA ถูกตรวจสอบโดยส่องดูภายใต้แส่ง UV หลังจากย้อมด้วย ethidium bromide

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

อิทธิพลของรูปแบบของยีนถูกพิจารณาในรูปของการถดถอยของลักษณะต่อจำนวนรูปแบบของยีน G (การเข้าแทนที่ของ allele G) สำหรับ ADIPOQ และจำนวนรูปแบบของยีน T (การเข้าแทนที่ของ allele T) สำหรับ FSHR การประมาณค่าสัมประสิทธิ์สมการถดถอย หุ่นจำลองทางสถิติเชิงเส้นตรง (linear model) ประกอบด้วยปีและฤดูกาลที่คลอดลูก (11 กลุ่ม) ลำดับครอกของแม่สุกร (1, 2, 3 และ ≥4 ครอก) และกลุ่มพันธุ์ของแม่สุกร (L, W, LW และ WL) เป็นปัจจัยกำหนดแบบกลุ่ม (fixed subclass effects) และพิจารณาอายุแม่สุกรที่คลอดลูก ระยะเวลาเลี้ยงลูก (สำหรับ WSI, NPW และ LWW) จำนวนลูกเมื่อหย่านม (เฉพาะ WSI) และอิทธิพลของรูปแบบ

ของยีน (การเข้าแทนที่ของ allele G สำหรับ ADIPOQ และการเข้าแทนที่ของ allele T สำหรับ FSHR) เป็นปัจจัยกำหนดแบบร่วม (fixed covariates effects) และส่วนที่เหลือ (residual) ถูกจัดให้เป็นปัจจัยสุ่ม

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง genotype ของยีน ADIPOQ และ FSHR ทำโดย การวิเคราะห์ความมีนัยสำคัญทางสถิติของปัจจัยในหุ่นจำลองทางสถิติเชิงเส้นตรงที่กล่าวข้างต้น โดยใช้ MIXED procedure จากโปรแกรม SAS (SAS, 2003) โดยเปลี่ยนปัจจัยร่วม (fixed covariates) 2 ปัจจัย ให้เป็นปัจจัยกำหนด (fixed subclass effects) ได้แก่ จำนวน allele G ที่เข้าแทนที่ เป็น genotype ของยีน ADIPOQ (GA และ GG) และเปลี่ยนจำนวน allele T ที่เข้าแทนที่ เป็น genotype ของยีน FSHR (CC, CT และ TT)

ผลและวิจารณ์

1. อิทธิพลของ allele (allelic effects)

ค่าสัมประสิทธิการถดถอยของอิทธิพลของรูปแบบของยีน G สำหรับยีน ADIPOQ มีทิศทางเป็นบวกสำหรับ WSI และ NPW ในขณะที่ NBA LBW และ LWW มีทิศทางเป็นลบ (Table 1) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในทุกลักษณะที่ศึกษา ดังนั้น การเข้าแทนที่ของ allele G ที่ SNP AJ849536:g.1716G>A นี้ ส่งผลเพียงเล็กน้อยต่อความแตกต่างของลักษณะที่แสดงออกในสุกรที่มี genotype ของยีน ADIPOQ แตกต่างกัน และลักษณะแบบเดียวกันนี้ ยังเกิดขึ้นในกับการเข้าแทนที่ของ allele T สำหรับยีน FSHR ที่ SNP AF025377:g.1166C>T โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของการเข้าแทนที่ด้วยจำนวน allele T สำหรับยีน FSHR มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ สำหรับ NBA ขณะที่ WSI NPW LBW และ LWW นั้นมีค่าเป็นบวก แต่ค่าสัมประสิทธิการถดถอยไม่มีนัยสำคัญทางสถิติสำหรับทุกลักษณะ นั่นหมายความว่าการเข้าแทนที่ของ allele ทั้ง T และ G ไม่สามารถช่วยให้จำนวนวันท้องว่างหลังหย่านมและจำนวนลูกสุกรเพิ่มขึ้นหรือลดลง อย่างไรก็ตาม ที่ผ่านมายังไม่เคยมีรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ในเชิงสมการถดถอยที่เกี่ยวกับการเข้าแทนที่ของ allele สำหรับยีน ADIPOQ และ FSHR มาก่อน

Table 1 Regression coefficient (± SE) of weaning-to-first service interval (WSI) and litter traits (NBA, LBW, NPW and LWW) on number of G alleles in the adiponectin (ADIPOQ) locus and number of T alleles in the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) locus.

Trait[1]	Locus	Regression coefficient	P value
WSI (d)	ADIPOQ	0.85 ± 0.73	0.2429
	FSHR	0.32 ± 0.32	0.3218
NBA (piglets)	ADIPOQ	-0.06 ± 0.46	0.8999
	FSHR	-0.04 ± 0.20	0.8394
LBW (kg)	ADIPOQ	-0.32 ± 0.74	0.6664
	FSHR	0.11 ± 0.32	0.7419
NPW (piglets)	ADIPOQ	0.22 ± 0.35	0.5235
	FSHR	0.10 ± 0.16	0.5166
LWW (kg)	ADIPOQ	-0.91 ± 3.08	0.7686
	FSHR	1.80 ± 1.40	0.1979

[1] WSI = weaning-to-first service interval, NBA = number of piglets born alive, LBW = litter birth weight, NPW = number of piglets at weaning, and LWW = litter weaning weight.

2. **อิทธิพลของ genotype (genotypic effects)**

ความแตกต่างระหว่าง genotype ของยีน ADIPOQ (GA และ GG) สำหรับ WSI NBA, LBW, NPW และ LWW นั้นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าจะไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของยีน ADIPOQ กับลักษณะการสืบพันธุ์ของประชากรสุกรในประเทศไทยให้เปรียบเทียบ แต่ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ขัดแย้งกับการศึกษาของ Houde *et al.* (2008) ที่รายงานว่าสุกรที่มี genotype แบบ GA มีช่วงวันท้องว่างถึงวันแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก (WEI) น้อยกว่าสุกรที่มี genotype แบบ GG ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกันสำหรับลักษณะ NBA ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นกัน นอกจากนี้ ยังไม่พบรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน ADIPOQ กับลักษณะ LBW, NPW และ LWW ในสุกร

ในสุกรพันธุ์แลนด์เรซ สุกรที่มี allele G สำหรับยีน ADIPOQ ที่ SNP AJ849536:g.1716G>A จะมีการสะสมไขมันในร่างกายน้อยและมีเนื้อแดงมาก (Dai *et al.*, 2006; Houde *et al.*, 2008) และการถูกแทนที่ด้วย allele A สำหรับ SNP นี้ส่งผลให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 60 ของฮอร์โมน adiponectin เปลี่ยนจาก isoleucine ไปเป็น valine (Ile60Val) ในส่วนของ collagenous domain ที่มีผลทำให้ biological function ของฮอร์โมน adiponectin ลดลง การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้มีผลทำให้สุกรที่มี genotype แบบ GA มีการสะสมไขมันในร่างกายมากกว่าสุกรที่มี genotype แบบ GG (Dai *et al.*, 2006)

Houde *et al.* (2008) รายงานว่า แม่สุกรที่มี genotype แบบ GA มี WEI น้อยกว่าแบบ GG นั้นเนื่องมาจากการสะสมไขมันในแม่สุกรที่มี genotype แบบ GA มีมากกว่า สะท้อนให้เห็นว่า พลังงานสะสมในร่างกายของแม่สุกรที่มี genotype แบบ GA มีมากกว่าแบบ GG นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Dall'Olio *et al.* (2009) ในสุกรพันธุ์ดูร็อค โดยใช้ SNP ที่ตำแหน่งเดียวกัน พบว่าสุกรที่มี genotype แบบ GA เจริญเติบโตดีกว่า ($P < 0.003$) ใช้อาหารน้อยกว่า ($P < 0.033$) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกันกับการศึกษาในครั้งนี้ที่มี LWW (genotype GA - GG) เป็นบวก แต่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 2 Differences (± SE) between ADIPOQ and FSHR genotypes for weaning-to-first service interval (WSI) and litter traits (NBA, LBW, NPW and LWW).

Trait[1]	ADIPOQ	FSHR	
	GA - GG	CC – TT	CT – TT
WSI (d)	-0.90 ± 0.73	-0.59 ± 0.72	-0.24 ± 0.72
	(P < 0.2173)	(P < 0.4109)	(P < 0.7424)
NBA (piglets)	0.08 ± 0.45	0.23 ± 0.45	0.34 ± 0.45
	(P < 0.8617)	(P < 0.6082)	(P < 0.4532)
LBW (kg)	0.42 ± 0.73	0.00 ± 0.73	0.33 ± 0.73
	(P < 0.5709)	(P < 0.6082)	(P < 0.4532)
NPW (piglets)	-0.23 ± 0.35	-0.25 ± 0.35	-0.20 ± 0.35
	(P < 0.5106)	(P < 0.4737)	(P < 0.5709)
LWW (kg)	0.90 ± 3.10	-3.67 ± 3.08	-1.96 ± 3.09
	(P < 0.7728)	(P < 0.2337)	(P < 0.5266)

[1] WSI = weaning-to-first service interval, NBA = number of piglets born alive, LBW = litter birth weight, NPW = number of piglets at weaning, and LWW = litter weaning weight.

เช่นเดียวกันกับ ผลของยีน ADIPOQ ที่ไม่พบความมีนัยสำคัญทางสถิติของความแตกต่างระหว่าง genotype ของยีน FSHR (CC - TT และ CT - TT) ในทุกลักษณะที่ศึกษา (Table 2) นอกจากนี้ ยังไม่พบรายงานการศึกษาที่มีลักษณะเช่นนี้ในประเทศไทย อย่างไรก็ตาม Jiang *et al.* (2002) รายงานว่า สุกรพันธุ์แลนด์เรซสายพันธุ์เยอรมันที่มี genotype แบบ CC จะมีขนาดครอกใหญ่กว่าสุกรที่มี genotype แบบ TT ($P < 0.05$)

การศึกษา SNP AF025377:g.1166C>T ของยีน FSHR ได้รายงานไว้โดย Jiang *et al.* (2002) ว่าเป็นการเปลี่ยนแปลง nucleotide ที่ตำแหน่ง 1166 ของยีน FSHR (AF025377) จาก C ไปเป็น T ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 377 จาก isoleucine เป็น threonine ของโปรตีน FSHR (Ile377Thr) การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้เกิดขึ้นในส่วนของ transmembrane-1 ของโปรตีน FSHR (Ulloa-Aguirre *et al*., 2007) ซึ่งไม่ส่งผลต่อโครงสร้าง 3 มิติ สำหรับการเข้าจับของฮอร์โมน FSH ภายนอกเซลล์ และไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารตัวกลางภายในเซลล์ ด้วยเหตุนี้ ทำให้สุกรที่มี genotype ของยีน FSHR ต่างกัน มีการตอบสนองต่อฮอร์โมน FSH ที่ใกล้เคียงกัน สำหรับจำนวนของฟองไข่ที่จะเปลี่ยนไปเป็น antral follicle (Cárdenas and Pope, 2002) และสำหรับการผลิตเอนไซม์ aromateas เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Richards, 2001) ส่งผลให้สุกรที่มี genotype แบบ CC, CT และ TT มีจำนวนของไข่ที่จะตกและอาการเป็นสัดที่แสดงออกใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ ความแตกต่างทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ และความสัมพันธ์ระหว่างสุกรในประชากร อาจส่งผลทำให้ไม่พบความแตกต่างในทุกลักษณะที่ศึกษา เพราะแม่สุกรทดแทนถูกคัดเลือกมาจากสุกรภายในประชากรเดิม และไม่มีการสั่งพ่อแม่พันธุ์สุกรจากแหล่งอื่นตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2545

สรุปผลการศึกษา

การจำแนกยีน ADIPOQ โดยใช้ SNP AJ849536:g.1716G>A ซึ่งประกอบด้วย 2 allele (G และ A) นั้นพบ genotype 2 แบบ ได้แก่ GA และ GG และการจำแนกยีน FSHR ด้วย SNP AF025377:g.1166C>T ซึ่งประกอบด้วย 2 allele (C และ T) นั้นพบ genotype 3 แบบได้แก่ CC, CT และ TT สัมประสิทธิการถดถอยของการเข้าแทนที่ของ allele G และ T ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติสำหรับทุกลักษณะที่ศึกษา อิทธิพลเนื่องจาก genotype ของยีน ADIPOQ (GA - GG) และยีน FSHR (CC – TT และ CT – TT) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติสำหรับทุกลัษณะที่ศึกษาเช่นกัน ลักษณะเช่นนี้ชี้ให้เห็นว่า genotype ที่เกิดจาก SNP ที่นำมาศึกษาในแต่ละยีนนั้น อาจมีความสัมพันธ์กับลักษณะ WSI และการให้ลูก (NBA, LBW, NPW และ LWW) เพียงเล็กน้อยซึ่งไม่เพียงพอต่อการจำแนกความแตกต่างกันภายใต้สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้น โดยอาจเป็นผลมาจากข้อจำกัดของสภาพแวดล้อม จำนวนสัตว์ที่ใช้เก็บข้อมูล และความใกล้เคียงกันของพันธุกรรมระหว่างสุกรแต่ละตัวในประชากรที่มีการคัดเลือกแม่พันธุ์ทดแทนจากฝูงประชากรเดิม ผลการศึกษาอิทธิพลของยีน ADIPOQ และ FSHR อาจมีความชัดเจนยิ่งขึ้น หากประชากรสุกรที่จะนำมาใช้ในการศึกษามีขนาดใหญ่และมีจำนวนมาก

กิตติกรรมประกาศ

คณะวิจัยขอขอบคุณ บริษัท โฟร์ ที จำกัด สำหรับการให้ความอนุเคราะห์ข้อมูล และตัวอย่างเลือดสุกรที่ใช้ในการศึกษา, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ สำหรับทุนอุดหนุนการศึกษาและวิจัย ภายใต้งบยุทธศาสตร์การพัฒนามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ในโครงการพัฒนาการจัดการศึกษาสาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ปีงบประมาณ 2550

เอกสารอ้างอิง

Bard, C. R., J. B. Barrett, R. R. Kraeling and G. B. Rampacek. 1999. Role of leptin in modulating neuroendocrine function: A metabolic link between the brain-pituitary and adipose tissue. **Reprod. Com. Anim.** 34: 111-125.

Cárdenas, H. and W. F. Pope. 2002. Control of ovulation rate in swine. **J. Anim. Sci.** 80(E. Suppl. 1): E39-E46.

Dai, L. H., Y. Z. Xiong, C. Y. Deng, S. W. Jiang, B. Zuo, R. Zheng, F. E. Li and M. G. Lei. 2006. Association of the A-D polymorphism in porcine adiponectin gene with fat deposition and carcass traits. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 19: 779-783.

Dall'Olio, S., R. Davoli, L. Buttazzoni, P. Zambonelli, and V. Russo. 2009. Study of porcine adiponectin (ADIPOQ) gene and association of a missense mutation with EBVs for production and carcass traits in Italian Duroc heavy pigs. **Livest. Sci.** 125: 101-104.

Holm, B., M. Bakken, O. Vangen and R. Rekaya. 2005. Genetic analysis of age first service, return rate, litter size, and weaning-to-first service interval of gilts and sows. **J. Anim. Sci.** 83: 41-48.

Houde, A.A., B.D. Murphy, O. Mathieu, V. Bordignon and M.F. Palin. 2008. Characterization of swine adiponectin and adiponectin receptor polymorphisms and their association with reproductive traits. **Anim. Genet.** 39: 249–257.

Imboonta, N., L. Rydhmer and S. Tumwasorn. 2007. Genetic parameters and trends for production and reproduction traits in Thai landrace sows. **Livest. Sci.** 111: 70-79.

Jiang, Z., O.J. Rottmann, O. Krebs, J. Chen, H. Liu and F. Pirchner. 2002. A missense mutation in the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene shows different allele effects on litter size in Chinese Erhualian and German Landrace pigs. **J. Anim. Breed. Genet.** 119: 335-341.

Kadowaki, T. and T. Yamauchi. 2005. Adiponectin and adiponectin receptors. **Endocrine Reviews.** 26: 439–451.

Liu, Q., E. C. Thorland, J. A. Heit and S. S. Sommer. 1997. Overlapping PCR for bidirectional PCR amplification of specific alleles: A rapid one-tube method for simultaneously differentiating homozygotes and heterozygotes. **Genome Research** 7: 389-398.

Richards, J. S. 2001. Perspective: The ovarian follicle - A perspective in 2001. **Endocrinology** 142: 2184-2193.

SAS. 2003. **SAS Online Doc 9.1.3.** SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Ulloa-Aguirre, A., T. Zarinan, A.M. Pasapera, P. Casas-Gonzalez and J.A. Dias. 2007. Multiple facets of follicle-stimulating hormone receptor function. **Endocrinology** 32: 251-263.

Yamauchi, T., J. Kamon, Y. Minokoshi, Y. Ito, H. Waki, S. Uchida, S. Yamashita, M. Noda, S. Kita, K. Ueki, K. Eto, Y. Akanuma, P. Froguel, F. Foufelle, P. Ferre, D. Carling, S. Kimura, R. Nagai, B.B. Kahn and T. Kadowaki. 2002. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat. Med.** 8: 1288-1295.