

จุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีย์เซียน ที่มีจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 แตกต่างกัน

Histological study of skin in Holstein-Friesian Crossbred with different genotype of HSP70-2 gene

ทัตสปร ศิริภักดิ์¹ และ สุภร กตเวทิน^{1*}

Tatsaporn Siripug¹ and Suporn Katawatin^{1*}

บทคัดย่อ: โปรตีน HSP70-2 เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการทนร้อน จีโนไทป์ที่แตกต่างกันของยีน HSP70-2 อาจบ่งบอกความสามารถในการทนร้อนและมีลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังที่แตกต่างกัน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังในโคนมที่มีจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 แตกต่างกัน โดยเก็บตัวอย่างเลือดโคนมสาวลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีย์เซียน อายุระหว่าง 2-3 ปี น้ำหนักตัวเฉลี่ย 293 ± 35.3 กิโลกรัม เพื่อศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อผิวหนังสีดำบริเวณกลางลำตัว ด้วย Biopsy skin puncher จากโคจีโนไทป์ AA และ AB จีโนไทป์ละ 5 ตัว นำเนื้อเยื่อเข้าสู่กระบวนการทาง Histological technique ย้อมสี Masson's Trichrome ประเมินความหนาแน่น ความกว้าง ความยาว อัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง ปริมาตรของต่อมเหงื่อ และประเมินความหนาแน่นของเส้นใยประสาท ผลการศึกษาพบว่า ต่อมเหงื่อของโคจีโนไทป์ AA และ โคจีโนไทป์ AB มีความหนาแน่นเท่ากับ 402.17 และ 286.48 gland/cm² มีความยาวเท่ากับ 161.62 และ 190.54 μ m และความกว้าง 69.97 และ 64.23 μ m ค่าอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างมีค่าเท่ากับ 2.32 และ 2.45 μ m ปริมาตรต่อมเหงื่อมีค่าเท่ากับ $0.62 \mu^3 \times 10^{-6}$ และ $0.62 \mu^3 \times 10^{-6}$ และความหนาแน่นของเส้นใยประสาทในเนื้อเยื่อผิวหนังมีค่าเท่ากับ 21.31 และ 20.99 bundle/cm² ตามลำดับ จากผลการศึกษาครั้งนี้พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความหนาแน่นของต่อมเหงื่อ โดยโคที่มีจีโนไทป์ AA มีความหนาแน่นของต่อมเหงื่อมากกว่าโคจีโนไทป์ AB

คำสำคัญ: ต่อมเหงื่อ, เส้นใยประสาท, การทนร้อน, รูปแบบจีโนไทป์, HSP70-2

ABSTRACT: Protein HSP70-2 has been known to associate with thermotolerance. In this study, we hypothesized that dairy cattle with different genotype of HSP70-2 gene might be different in histological of skin, where the difference could be pointed to the ability on thermotolerance of cattle. Holstein Friesian (HF) crossbreds, 2-3 years of age, 293 ± 35.3 kg body weight, were kept outdoor with partial roof. Blood samples were collected to do genotyping of HSP70-2 using PCR-RFLP technique. Skin sample was obtained from black skin near midline with biopsy skin puncher in 5 cattle of each genotype (AA and AB). Skin samples were prepared for histological study and stained with Masson's Trichrome. The skin samples were measured for density, length, diameter, length/diameter, and volume of sweat glands. Density of nerve fiber was also determined. The results were that cattle with genotype AA and AB have density of sweat gland of 402.17 and 286.48 gland/cm², sweat gland length was 161.62 and 190.54 μ m, sweat gland diameter was 69.97 and 64.23 μ m, length/diameter was 2.32 and 2.45 and sweat gland volume was 0.62 and $0.62 \mu^3 \times 10^{-6}$. Density of nerve bundles were 21.31 and 20.99 per cm² respectively. In conclusion, this study found the differences ($P < 0.05$) in the density of sweat glands between two genotypes of HSP70-2 in which cattle with genotype AA has higher density of sweat gland than cattle with genotype AB.

Keywords: sweat gland, nerve fiber, thermotolerance, genotypes, HSP70-2

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

* Corresponding author: supkat@kku.ac.th

บทนำ

ภาวะโลกร้อน (Global warming) ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ มีผลกระทบต่อระบบการผลิตสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโคนม อุณหภูมิสภาพแวดล้อมที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้โคนมมีอุณหภูมิร่างกายที่เพิ่มขึ้นกว่าสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่น (Bernabucci et al., 2010) ก่อให้เกิดปัญหาความเครียดเนื่องจากความร้อน (Heat stress) เนื่องมาจากการสะสมความร้อนในร่างกายที่สูง ส่งผลกระทบต่อการผลิตโคนม ทั้งในด้านผลผลิตน้ำนมที่ลดลง (Ravagnolo et al., 2000) ความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง (Sartori et al., 2004) การแก้ปัญหาด้วยการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุกรรมโคนมทนร้อนจึงอาจเป็นอีกวิธีการที่สามารถใช้เป็นแนวทางนำไปสู่การแก้ปัญหาความเครียดเนื่องจากความร้อนในโคนมได้อย่างยั่งยืน ปัจจุบันมีการวิจัยเพื่อหาแนวทางแก้ปัญหาความเครียดเนื่องจากความร้อนในโคนมด้วยการคัดเลือกลักษณะโคนมที่มีความทนร้อน

การระบายความร้อนจากการระเหย (evaporative heat loss) เป็นวิธีการหลักในการระบายความร้อนออกจากร่างกายในโคนม (Gebremedhin and Wu, 2001) ในสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิสูงโคจะรักษาสมดุลอุณหภูมิร่างกายโดยการเพิ่มอัตราการหายใจและการขับเหงื่อ (อุทัย และคณะ, 2548; Guaghan et al., 2000) และพบว่าในโคที่มีความทนร้อนได้ดีจะมีการระบายความร้อนโดยการขับเหงื่อผ่านทางผิวหนังมากที่สุด (Hensel, 1973) ทั้งนี้ความสามารถในการระบายความร้อนรวมถึงการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมถูกควบคุมด้วยระบบประสาท ซึ่งเป็นตัวควบคุมการระบายความร้อนด้วยการขับเหงื่อ (Hensel, 1973) จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างโคเชตร้อน (*Bos indicus*) กับโคเชตหนาว (*Bos taurus*) พบเส้นใยประสาทบริเวณผิวหนังและความหนาแน่นของต่อมเหงื่อในโคเชตร้อนมีจำนวนมากกว่าโคเชตหนาว และมีความสัมพันธ์กับการระบายความร้อนผ่านการขับเหงื่อ (Wang et al., 2014)

การศึกษาในระดับเซลล์ พบว่า HSP70 เป็นโปรตีนทนร้อน (Kregel, 2002) และมีการศึกษาถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ในโคพื้นเมืองและในโคนมลูกผสมไฮลส์ไตน์ฟรีเซียนของยีน HSP70-2 พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกันส่งผลต่อความสามารถในการทนร้อนแตกต่างกัน (จุฬานีย์ และคณะ, 2555) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่ารูปแบบจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 ที่แตกต่างกันอาจส่งผลต่อความสามารถในการทนร้อนที่ต่างกันด้วย ประกอบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ทศพร และสุกร (2557) รายงานว่าภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน โคนมลูกผสมไฮลส์ไตน์ฟรีเซียนที่มีจีโนไทป์แตกต่างกันของยีน HSP70-2 มีแนวโน้มในการระบายความร้อนออกจากร่างกายต่างกัน โดยที่จีโนไทป์ AA สามารถปรับอุณหภูมิร่างกายเข้าสู่ภาวะปกติได้เร็วกว่าจีโนไทป์ AB

ดังนั้น ลักษณะจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 ที่ต่างกัน อาจแสดงลักษณะจุลกายวิภาคของผิวหนังและความสามารถในการทนร้อนที่ต่างกันด้วย การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการเปรียบเทียบลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อผิวหนัง โดยศึกษาลักษณะต่อมเหงื่อและเส้นประสาทของผิวหนังในโคนมลูกผสมไฮลส์ไตน์ฟรีเซียนที่มีจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 แตกต่างกัน

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

โคนมสาวลูกผสมไฮลส์ไตน์ฟรีเซียน ระดับสายเลือด 85-95% อายุระหว่าง 2-3 ปี น้ำหนักตัวเฉลี่ย 293 ± 35.3 กิโลกรัม ได้รับการตรวจรูปแบบจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 และทำการศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังในโคนมจำนวน 10 ตัวที่มีจีโนไทป์ต่างกัน โคนมที่ใช้ในการศึกษา เลี้ยงในคอกกลางแจ้งมีหลังคาปกคลุมบางส่วน ให้อาหาร 2 ช่วงเวลา คือ 07.00 และ 16.00 น. มีน้ำให้ดื่มตลอดเวลา ตามมาตรฐานการเลี้ยงของสถานทดลองและฝึกอบรมเกษตรกรรมร้อยเอ็ด มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การตรวจรูปแบบจีโนไทป์

ตรวจรูปแบบจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 (ลำดับเบส 614-862) ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction - restriction fragment (PCR-RFLP) โดยห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ดังนี้ เจาะเก็บตัวอย่างเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณหาง นำมาสกัดและตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Nano-Drop2000, Delaware USA) และเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน HSP70-2 ตามวิธีการของ จุฬานี้อย และคณะ (2555) นำชิ้นส่วนยีนมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ HPY 188I โดยแบ่งชิ้นส่วนยีนใส่หลอดทดลองหลอดละ 2 μ l แล้วเติมองค์ประกอบในการตัดเอนไซม์ ประกอบด้วย น้ำกลั่น ปริมาตร 6.8 μ l, 10x buffer ปริมาตร 1 μ l, enzyme HPY 188I ปริมาตร 0.2 μ l ป่มใน Dry block heating thermostat ที่ 37°C เป็นเวลา 6 ชม. หลังจากนั้นทำการตรวจสอบหารูปแบบจีโนไทป์ ด้วย 2% agarose gel บันทึกภาพแถบ DNA ภายใต้แสง UV และกำหนดรูปแบบจีโนไทป์ (สุพิชฌาย์ และคณะ, 2555)

การเก็บตัวอย่างผิวหนังและการทำสไลด์

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อผิวหนังสีดำ บริเวณกลางลำตัว ที่ตำแหน่งระหว่างกระดูกซี่โครงคู่ที่ 8 และ 10 ด้วย Biopsy skin puncher เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร และเจาะลงลึกประมาณ 5.1-6.2 มิลลิเมตร แล้วนำตัวอย่างเนื้อเยื่อมาล้างด้วยน้ำเกลือ (0.9%NaCl) ทำการคงสภาพเนื้อเยื่อโดยการแช่เนื้อเยื่อในสารละลายฟอร์มาลีน 10% หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อเยื่อเข้าสู่กระบวนการทาง Histological Technique โดยจัดเตรียมเนื้อเยื่อสำหรับตัดตามขวางและตัดตามยาวที่ด้วยเครื่อง Microtome เป็น Serial section มีความหนา 6 μ m ตามวิธีการของ Nay and Hayman (1956) และ Udo (1978) การทำ serial section นั้น ใน 1 บล็อกพาราฟิน ได้เนื้อเยื่อประมาณ 720 ชิ้น โดยหยิบชิ้นที่ 1 แล้วนับไปทุกๆ 5 ชิ้น แล้วหยิบเอาชิ้นถัดไป (ชิ้นที่ 6) หลังจากนั้นทำการสุ่มชิ้นเนื้อจนเหลือ 120 ชิ้น

จาก 720 ชิ้น และทำการสุ่มเช่นเดิมอีกครั้ง จาก 120 ชิ้น ทำให้ได้ตัวอย่างมา 20 ชิ้น / 1 บล็อกพาราฟิน จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่สุ่มไว้ทั้ง 20 ชิ้นติดลงบนสไลด์ๆ ละ 3 ชิ้น จะได้บล็อกละ 7 สไลด์ (Udo, 1978) ทำการย้อมสีด้วย Masson's Trichrome Method (ศุภลักษณ์, 2545) และประเมินค่าพารามิเตอร์ของผิวหนัง

การวัดและการคำนวณค่าพารามิเตอร์

ประเมินความหนาแน่นของต่อมเหงื่อจากตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ตัดตามขวาง (cross section) ด้วยการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10X โดยเลื่อน vernier scale บนแท่นวางสไลด์ ขึ้น-ลง และซ้าย-ขวา ครั้งละ 1 mm. สำหรับถ่ายภาพในแต่ละตำแหน่งของชิ้นเนื้อที่สุ่มมา 20 ชิ้น แล้วหาค่าเฉลี่ยเป็นความหนาแน่นของต่อมเหงื่อต่อพื้นที่ (gland/cm^2)

ประเมินความยาวและความกว้างของต่อมเหงื่อจากตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ตัดตามยาว (longitudinal section) ด้วยการสุ่มวัดความยาวและความกว้างของต่อมเหงื่อ 150 ต่อม จาก 20 ชิ้น (Wang et al., 2014) ด้วยโปรแกรม AxioVision 4.8.2 จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10X แล้วหาค่าเฉลี่ย ประเมินรูปร่างของต่อมเหงื่อได้จากการคำนวณค่าอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของต่อมเหงื่อ 150 ต่อม และประเมินปริมาตรต่อมเหงื่อจากความกว้าง และความยาวของต่อมเหงื่อ ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร $\pi(D/2)^2 L \times 10^{-6}$ (Udo, 1978)

ประเมินความหนาแน่นของเส้นใยประสาท โดยสุ่มวัดตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ตัดตามขวาง (cross section) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100X โดยเลื่อน vernier scale บนแท่นวางสไลด์ ขึ้น-ลง และซ้าย-ขวา ครั้งละ 0.1 mm. เพื่อถ่ายภาพ และนับจำนวนเพื่อหาค่าเฉลี่ย (Findlay and Yang, 1948)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของต่อมเหงื่อ, ความยาวของต่อมเหงื่อ, ความกว้างของต่อมเหงื่อ, อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของต่อมเหงื่อ,

ปริมาตรของต่อมเหงื่อ และความหนาแน่นของเส้นใยประสาทด้วยวิธีการ T-test (Steel and Torrie, 1980) ที่มี 5 ซ้ำโดยแบ่งกลุ่มทดลองเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีรูปแบบจีโนไทป์ AA และ AB ของยีน HSP70-2

ผลการศึกษาและวิจารณ์

รูปแบบจีโนไทป์

จากการศึกษาด้วยเทคนิค PCR-RFLP พบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน HSP70-2 บริเวณตำแหน่งเบส 614-862 จำนวน 2 รูปแบบคือ จีโนไทป์ AA (แถบ DNA 1 แถบ ขนาด 250 bp) และจีโนไทป์ AB (แถบ DNA 2 แถบ ขนาด 250 และ 150 bp) (Figure 1) โดยไม่พบจีโนไทป์ BB ในกลุ่มโคนมที่ศึกษาครั้งนี้

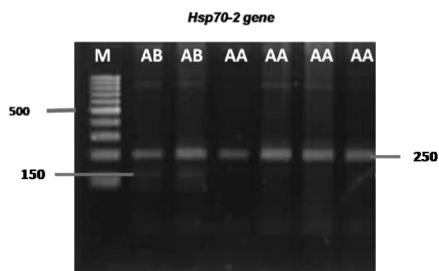


Figure 1 PCR-RFLP patterns of Hsp70-2 gene (base pair 614 -862) from blood samples of Holstein Friesian cows. Two different genotypes were found, genotype AA (250 bp) and genotype AB (250,150 bp).

ความหนาแน่นของต่อมเหงื่อและเส้นใยประสาทผิวหนังตามรูปแบบจีโนไทป์

ความหนาแน่นของต่อมเหงื่อของโคจีโนไทป์ AA และ โคจีโนไทป์ AB มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 402.17 และ 286.48 gland/cm² ตามลำดับ (Figure 2, Table 1) ทั้งนี้การที่โคจีโนไทป์ AA มีความหนาแน่นของต่อมเหงื่อ มากกว่าโคจีโนไทป์ AB จะส่งผลให้โคจีโนไทป์ AA มีการขับเหงื่อมากกว่าโคจีโนไทป์ AB เพราะต่อมเหงื่อที่มีจำนวนมากจะทำให้สัตว์สามารถ

ขับเหงื่อออกมาได้มากขึ้น (Nay and Hayman, 1956) ช่วยให้มีการระบายความร้อนได้ดี มีการลดอุณหภูมิของร่างกายได้เร็ว (อุทัย และคณะ, 2548) และมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทนร้อนที่แตกต่างกัน ดังที่มีการรายงานว่าโคที่มีลักษณะเด่นในการทนร้อน มีความหนาแน่นของต่อมเหงื่อมากกว่าโคที่มีความสามารถในการทนร้อนน้อย (Wang et al., 2014) การศึกษาก่อนหน้านี้ของ ทศพร และ สุภร (2557) พบว่าโคที่มีจีโนไทป์ AA มีแนวโน้มในการทนร้อนที่ดีกว่า เพราะสามารถลดอุณหภูมิร่างกายได้เร็วกว่าโคจีโนไทป์ AB

สำหรับความยาวและความกว้างของต่อมเหงื่อของโคจีโนไทป์ AA และ โคจีโนไทป์ AB ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีความยาว เท่ากับ 161.62, 190.54 μm ความกว้าง เท่ากับ 69.97 และ 64.23 μm อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของต่อมเหงื่อไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.32 และ 2.96 μm ตามลำดับ และปริมาตรของต่อมเหงื่อมีค่าเท่ากันทั้ง 2 จีโนไทป์ คือ $0.62 \mu^3 \times 10^6$ (Table 1)

ทั้งนี้รูปร่างของต่อมเหงื่อสามารถประเมินได้จากอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของต่อมเหงื่อ (L/D) พบว่าโคทั้งสองรูปแบบจีโนไทป์ มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของต่อมเหงื่อ น้อยกว่า 8 แสดงว่าต่อมเหงื่อมีรูปร่างเป็นชนิดถุง (baggy sweat gland) (Udo, 1978) โดยต่อมเหงื่อชนิดถุงเป็นชนิดที่อยู่ใกล้พื้นผิวหนังมากที่สุด ไม่มีลักษณะของการขดม้วน ทำให้การขับเหงื่อเกิดขึ้นได้รวดเร็ว (Nay and Hayman, 1956) รูปร่างของต่อมเหงื่อจึงอาจเป็นอีกปัจจัยที่สนับสนุนประสิทธิภาพการการระบายความร้อนออกจากร่างกายโดยการขับเหงื่อ ซึ่งอาจจะส่งผลต่อความสามารถในการทนร้อนในโคได้ อย่างไรก็ตาม การพบรูปร่างของต่อมเหงื่อมีลักษณะแบบเดียวกันในโคทั้งสองจีโนไทป์ ไม่ได้บ่งชี้ถึงความคล้ายคลึงกัน เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ใช้สัตว์ทดลองเป็นโคนมลูกผสมไฮลด์ไทรฟ์ฟรีเซียนที่มีระดับสายเลือดเดียวกันรวมทั้งตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างเป็นบริเวณเดียวกัน (Wang et al., 2014, Klangchamnan, 2010)

ผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าความหนาแน่นของเส้นใยประสาทของโคจีนไทป์ AA และโคจีนไทป์ AB ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยมีค่า เท่ากับ 21.31 และ 20.99 bundle/cm² ตามลำดับ (Figure 3, Table 1) ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Wang et al. (2014) ที่พบว่าโคที่มีลักษณะทนมร้อนจะมีความหนาแน่นของเส้นใยประสาทมากกว่าโคไม่ทนมร้อน อย่างไรก็ตาม การพบความแตกต่างกันในโคต่างสายพันธุ์ และต่างระดับสายเลือด แต่การศึกษาในครั้งนี้ทำการศึกษาในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนที่มีระดับสายเลือดเดียวกัน จึงอาจส่งผลให้ความหนาแน่นของเส้นใยประสาทมีความใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม ความหนาแน่นของเส้นใยประสาทไม่ได้สัมพันธ์กับปริมาณน้ำเหงื่อที่ถูกขับออกมา แต่จะเป็นตัวส่งสัญญาณในการกระตุ้นการทำงานของต่อมเหงื่อ โดยการที่สัตว์มีต่อมเหงื่อจำนวนมากจะทำให้สามารถขับเหงื่อออกมาได้มากขึ้น ช่วยให้มีการระบายความร้อนที่ดีขึ้น (Nay and Hayman, 1956) ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์ต่อความสามารถในการทนร้อนในโค

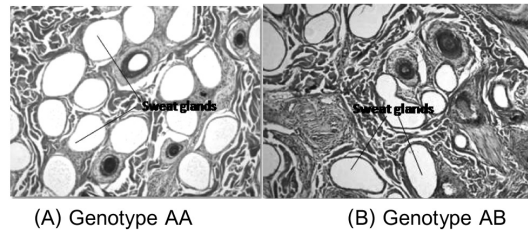


Figure 2 Sweat glands of Holstein Friesian crossbred cow with genotype AA and genotype AB of HSP70-2 gene. Note that (A) cow with genotype AA has greater density of sweat gland than (B) cow with genotype AB ($P < 0.05$). (Masson's trichrome stain x 100)

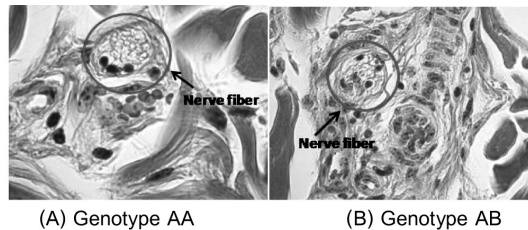


Figure 3 Nerve fiber of Holstein Friesian crossbred cow with (A) genotype AA and (B) genotype AB of HSP70-2 gene. There was no significant difference between these two genotype groups ($P > 0.05$). (Masson's trichrome x 100)

Table 1 Means of skin histological components in Holstein Friesian crossbred cows with genotype AA and AB of HSP70-2 gene.

Item/Genotype	AA	AB	SEM
Density of sweat gland (number/cm ²)	402.17 ^a	286.48 ^b	46.25
Sweat gland length(μm)	161.62 ^a	190.54 ^a	14.26
Sweat gland diameter(μm)	69.97 ^a	64.23 ^a	2.88
Length/Diameter	2.32 ^a	2.96 ^a	0.22
Sweat gland volume (μ ³ *10 ⁻⁶)	0.62 ^a	0.62 ^a	0.08
Density of Nerve (bundles/cm ²)	21.31 ^a	20.99 ^a	0.22

^{a,b}Means in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

สรุป

จากการศึกษานี้ พบว่า โคโฮลสไตน์ฟรีเซียนลูกผสมระดับสายเลือด 85-95% ที่มีรูปแบบจีโนไทป์

ของยีน HSP70-2 ที่ต่างกัน มีความหนาแน่นของต่อมเหงื่อต่างกัน โดยโคจีโนไทป์ AA มีความหนาแน่นของต่อมเหงื่อมากกว่า โคจีโนไทป์ AB ซึ่งการมีจำนวนต่อมเหงื่อที่มากกว่าเป็นโอกาสให้มีการระบายความร้อน

ที่ดี และเป็นลักษณะของโคที่มีความสามารถในการทนร้อน ดังนั้นโคที่มีจีโนไทป์ AA ของยีน HSP70-2 มีศักยภาพในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ให้มีความทนต่อสภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ผู้วิจัยขอขอบคุณสถานที่ทดลองและฝึกอบรมเกษตรกรมรร้อยเอ็ด มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่อนุเคราะห์สัตว์ทดลอง และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์, ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ และกลุ่มวิจัยโคนมทนร้อน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จุฬานีย์ นวมจิตร, ยุพิน ผาสุข, เทวรินทร์ วงษ์พระลับ, และ สุรกตเวทิน. 2555. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน HSP70-2 ระหว่างโคพื้นเมืองไทย และไฮลด์ไต้หวัน. แก่นเกษตร. (พิเศษ) 2: 381-386.
- ทศพร ศิริภักดิ์ และสุรกตเวทิน. 2557. การตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อความเครียดเนื่องจากความร้อนในโคนมที่มีจีโนไทป์ที่แตกต่างกันของยีน HSP70-2. แก่นเกษตร. (พิเศษ) 1: 20-25.
- ศุภลักษณ์ ไรรัตน์พันธ์. 2545. เทคนิคเนื้อเยื่อสัตว์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุพิชฌาย์ บุญช่วย, ปิยะณัฐ ประวชิโก, มนต์ชัย ดวงจินดา และ วุฒิไกร บุญคุ้ม. 2557. การศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน ฮีทช็อกโปรตีนในโคนม. แก่นเกษตร. (พิเศษ) 2: 575-579.
- อุทัย โคตรดก, สุรกตเวทิน, สุจินต์ สิมารักษ์, มนต์ชัย ดวงจินดา, และยุพิน ผาสุข. 2548. การศึกษาเปรียบเทียบกลไกทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการทนร้อนระหว่างโคเขตร้อนและโคเขตหนาว. แก่นเกษตร. 34: 347-354.
- Bernabucci, U., N. Lecetera, L.H. Baumgard, R.P. Rhoads, B.Ronchi and A. Nardone. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal*. P. 1167-1183.
- Findlay, J.D., and S.H. Yang. 1948. Capillary distribution in cow skin. *Nature*. 161: 1012- 1013.
- Gaughan, J.B., S.M. Holt, G.L. Hahn, T.L. Mader, and R. Eigenberg. 2000. Respiration rate-Is it a good measure of heat stress in cattle? *J. Anim.Sci.* 13: 329-332.
- Gebremedhin, K., and B. Wu. 2001. A model of evaporative cooling of wet skin surface and fur layer. *J. Thermal Biol.* 26: 537-545.
- Hensel, H. 1973. Neural processes in thermoregulation. *Physiol. Rev.* 53: 948-1017.
- Klangchamnan, K. 2010. Relationships of cutaneous nerves and sweat gland on the black and white skin areas of Holstein Friesian crossbred heifers. M. Sc. Thesis. Kasetsart University, Bangkok.
- Kregel, K.C. 2002. Molecular biology of thermotolerant invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J. Appl. Physiol.* 92: 12177-12186.
- Nay, T. 1959. Sweat gland in cattle: histology, morphology, and evolutionary trends. *Aust. J. Agric. Res.* 10: 121-131.
- Nay, T., and R. H. Hayman. 1956. Sweat glands in zebu (*Bos indicus* L.) and european (*Bos taurus* L.) cattle. I. size of Individual glands, the denseness of their population, and their depth below the skin surface. *Aust. J. Agric. Res.* 7: 482-495.
- Rasmussen, H. B. 2012. Restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments (PCR-RFLP) and gel electrophoresis - valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting. Available: <http://goo.gl/KLG2RJ>. Accessed Dec. 18, 2014.
- Ravagnolo, O., I. Miszal, and G. Hoogenboomt. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *J. Dairy Sci.* 83: 2120-2125.
- Sartori, R., J.M. Haughian, R.D. Shaver, G.J. Rosa, and M.C. Wiltbank. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 87: 905-920.
- Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. 2nd Edition. McGraw-Hill, Mexico.
- Udo, H.M.J., 1928. Hair coat characteristics in Friesian heifers in the Netherlands and Kenya. M. Sc. Thesis. Agricultural University. Wageningen, The Netherlands.
- Wang, J., M. Duangjinda, C. Vajrabukka, and S. Katawatin. 2014. Differences of skin morphology in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and their crossbreds. *J. Biometeorol.* 58: 1087-1094.