

มาลิกเนนท์ไฮเปอร์เทอร์เมียในสุกร II. เปรียบเทียบสมรรถภาพ การผลิตของลักษณะปกติกับลักษณะพาหะ

Malignant Hyperthermia in Swine II. Production Traits Comparing between Normal and Heterozygous

สุรชัย แซ่ลิ่ม สินชัย พารักษา เนรมิตร สุขมณี และนวลจันทร์ พารักษา¹

Surachai Saelim, Sinchai Paraksa, Neramit Sookmanee, and Nuanchan Paraksa

ABSTRACT

The swine performance test in relation to malignant hyperthermia genotype, 79 boars (23 Landrace, 28 Largewhite and 28 Duroc) from the Thai - Belgium swine breeding project testing station were used. The average daily gain, feed conversion ratio and carcass quality were measured from 30 - 90 kg body weight. Swine with heterozygous genotype showed average daily weight gain, feed conversion ratio, back fat thickness, loin eye area and lean percentage which are respectively 2.60, 3.46, 0.48, 3.35 and 1.25 percent better than that of the normal genotype.

Key words : malignant hyperthermia, production traits, swine.

บทคัดย่อ

การศึกษาสมรรถภาพการผลิตของสุกรที่เป็นพาหะลักษณะมาลิกเนนท์ ไฮเปอร์เทอร์เมีย (Nn) เปรียบเทียบกับสุกรที่มีลักษณะปกติ (NN) ในสถานีวิจัยสุกรโครงการปรับปรุงพันธุ์สุกรไทย-เบลเยียมเพศผู้จำนวน 79 ตัว (พันธุ์แลนด์เรซ 23 ตัว, พันธุ์ดาร์กไวท์ 28 ตัว และพันธุ์ดуроค 28 ตัว) พบว่า

สุกรที่เป็นพาหะของลักษณะมาลิกเนนท์ ไฮเปอร์เทอร์เมีย (Nn) ให้ค่าอัตราการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหารตลอดช่วงน้ำหนักตัว 30 - 90 กิโลกรัม ตลอดจนความหนาของไขมันสันหลัง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงภายในซากดีกว่าสุกรปกติ (NN) เท่ากับ 2.60, 3.46, 0.48, 3.35 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

¹ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

คำนำ

Malignant Hyperthermia (MH) ในสุกร เป็นอาการผิดปกติทางพันธุกรรมของลักษณะยีนด้อย ทำให้สุกรที่เป็น MH เกิดการช็อคตายอย่างเฉียบพลัน เมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดความเครียด นอกจากนี้ยังผลให้ซากสุกรที่เป็น MH มีเนื้อลักษณะซีด เหลว และแฉะ (pale soft and exudative muscle) ซึ่งทำให้เนื้อมีคุณภาพเนื้อต่ำ อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานว่าสุกรที่เป็นพาหะของอาการ MH มีปริมาณเนื้อแดงภายในซากมากกว่าสุกรปกติประมาณ 1 - 3 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีปัญหาการเกิดเนื้อซีด เหลว และแฉะ (Sather and Murray, 1989) นักปรับปรุงพันธุ์สุกรจึงมีแนวคิดในการนำยีน MH มาปรับปรุงสุกรขุนให้มีปริมาณเนื้อแดงเพิ่มมากขึ้น โดยการวางแผนผสมพันธุ์ระหว่างพ่อสุกรที่เป็น MH กับแม่สุกรปกติ เพื่อให้ได้ลูก สุกรขุนที่เป็นพาหะ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นจุดน่าสนใจในการศึกษาเปรียบเทียบสมรรถภาพการผลิตตลอดจน คุณภาพซากระหว่างสุกรปกติกับสุกรที่เป็นพาหะที่เลี้ยงอยู่ในประเทศ

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้สุกรเพศผู้จำนวน 79 ตัว ประกอบด้วยพันธุ์แลนด์เรซ จำนวน 23 ตัว ลาร์จไวท์ จำนวน 28 ตัว และดรูคอก จำนวน 28 ที่เลี้ยงอยู่ในสถานทดสอบพันธุ์โครงการปรับปรุงพันธุ์สุกรไทย-เบลเยียม ก่อนเริ่มต้นเก็บข้อมูลสุกรทุกตัวจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาตรวจลักษณะพันธุกรรม MH ตามวิธีการของ Houde and Pommier (1993)

การตรวจลักษณะพันธุกรรม MH โดยเทคนิค PCR

1. การเตรียมสารละลายแม่พิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA template) จากเลือดสุกร โดยวิธีตกตะกอนด้วย ethanol

(Kanasaki, 1990)

2. การเพิ่มปริมาณสายชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค PCR โดยการดำเนินการสังเคราะห์สายชิ้นส่วนดีเอ็นเอความยาว 650 base pair (bp) จากการกำหนดช่วงของสาย forward primer (5'-TCCAGTTTGCCACAGGTCCTACCA-3') และสาย reverse primer (5'-TTCACCGGAGTGGGTCTCTGAGT-3') พบว่าเบสในตำแหน่งที่ 494 นับจากปลายสาย forward primer เป็นตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ของเบสไซโตซีน (cytosine) ถูกเปลี่ยนเป็นเบสไธมีน (thymine) สำหรับความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์สายชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากเทคนิค PCR ในสารละลาย 100 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

dATP	0.2	มิลลิโมล
dTTP	0.2	มิลลิโมล
dCTP	0.2	มิลลิโมล
dGTP	0.2	มิลลิโมล
KCl	50	มิลลิโมล
Tris-HCl pH 8	20	มิลลิโมล
MgCl ₂	1.5	มิลลิโมล
forward primer	0.4	ไมโครโมล
reverse primer	0.4	ไมโครโมล
Taq DNA polymerase	2.5	หน่วย
ตัวอย่างดีเอ็นเอ	600	นาโนกรัม

โดยมีการกำหนดอุณหภูมิภายในเครื่อง PCR ดังนี้

DNA denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที

primer annealing ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

primer extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

โดยสารละลายจะผ่านกระบวนการ PCR เป็น

จำนวนทั้งหมด 35 รอบ

3. การตรวจสอบลำดับเบสที่ 494 ของสายชั้นส่วนดีเอ็นเอ ว่าตำแหน่งนี้เป็นเบสไธมีนหรือเบสไซโตซีน ด้วยเอนไซม์ restriction endonuclease ที่ชื่อว่า *Hha I* ซึ่งจดจำต่อการย่อยของลำดับเบส GCG↓C โดยนำชั้นส่วนดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ในข้อที่ 2 ย่อยด้วยเอนไซม์ *Hha I* จากนั้นทำการแยกแถบดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบพันธุกรรม MH ใน agarose gel electrophoresis ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งย้อมสี ethidium bromide และดูลักษณะแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต พบว่าสุกรปกติปรากฏแถบดีเอ็นเอสองแถบมีความยาว 166 และ 493 base pair (bp) สุกรพาหะปรากฏแถบดีเอ็นเอสามแถบมีความยาว 166 493 และ 659 bp สุกรที่เป็น MH ปรากฏแถบดีเอ็นเอแถบเดียวมีความยาว 659 bp (สินชัย และคณะ, 2539)

วิธีการทดลอง

สุกรทดสอบทุกตัวถูกเลี้ยงในกรงขังเดี่ยว มีที่ให้อาหารและน้ำเฉพาะตัว สุกรทุกตัวได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ ข้อมูลอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร วัดในช่วงน้ำหนักตัว 30 -

90 กิโลกรัม ส่วนความหนาของไขมันสันหลังวัดที่น้ำหนัก 90 กิโลกรัม จากการหาค่าเฉลี่ย 2 บริเวณ คือกระดูกซี่โครงซี่สุดท้ายกับกระดูกสันหลังคู่สุดท้ายที่ต่อกับกระดูกโคนหาง ส่วนพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันและเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงวัดโดยเครื่องอัลตราซาวด์ (real time animal ultrasonic) ที่น้ำหนัก 90 กิโลกรัม

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ด้วยวิธี least square mean analysis โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS

ผลและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบยีนโพลิด้วยเทคนิค PCR พบว่าสุกรจำนวน 79 ตัวนั้น จะเป็นลักษณะปกติ 52 ตัว และลักษณะพาหะ MH 27 ตัว และเมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการผลิตของลักษณะทั้งสอง ดังกล่าวพบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความหนาของไขมันสันหลัง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของลักษณะพาหะดีกว่าสุกรลักษณะปกติ 2.60, 3.46, 0.48, 3.35 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1)

Table 1 Performance test of Malignant Hyperthermia genotype in swine comparing between normal (NN) and heterozygous genotypes (Nn).

	MH genotype		[(Nn-NN)/NN] X 100
	NN	Nn	
Average daily gain (g.)	727.68 ± 94.49	746.59 ± 96.07	2.60
Feed conversion ratio	2.31 ± 0.27	2.23 ± 0.29	- 3.46
Back fat thickness (mm.)	14.51 ± 1.95	14.44 ± 2.27	- 0.48
Loin eye area (cm ²)	31.33 ± 3.51	32.38 ± 3.82	3.35
Lean percentage	52.67 ± 1.95	53.33 ± 2.07	1.25

± : Standard error

เมื่อพิจารณาตามพันธุ์สุกรพบว่าพันธุ์แลนด์เรซ จำนวน 23 ตัว เมื่อถูกตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR จะปรากฏพบเป็นลักษณะปกติ 12 ตัว และลักษณะพาหะ 11 ตัว และเมื่อเปรียบเทียบ สมรรถภาพการผลิตของลักษณะทั้งสอง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และความหนาของไขมัน สันหลังของลักษณะปกติให้ค่าดีกว่าลักษณะพาหะ MH 0.68 และ 7.17 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของลักษณะพาหะ MH ให้ค่าสังเกตดีกว่าลักษณะปกติ 3.40, 5.40 และ 1.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2)

สมรรถภาพการผลิตของสุกรสายพันธุ์ลาร์จไวท์ จำนวน 28 ตัว (ลักษณะปกติ 22 ตัว และลักษณะพาหะ MH 6 ตัว) พบว่าลักษณะพาหะ MH มีค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวันดีกว่าลักษณะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ถึงแม้ว่าค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความหนาของไขมันสันหลัง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของสุกรลักษณะพาหะ MH และสุกรลักษณะปกติมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แต่สุกรลักษณะพาหะ MH มีแนวโน้มให้ค่าสังเกตดีกว่าลักษณะปกติเท่ากับ 6.90,

1.88, 2.14 และ 1.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

ในสุกรสายพันธุ์ดรูคจำนวน 28 ตัว (ลักษณะปกติ 18 ตัว และลักษณะพาหะ 10 ตัว) พบว่าสุกรลักษณะปกติให้ค่าสังเกต อัตราการเจริญเติบโตต่อวันดีกว่า ลักษณะพาหะ MH 3.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความหนาของไขมันสันหลัง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงพบว่าสุกรลักษณะพาหะ MH ให้ค่าสังเกตดีกว่าลักษณะปกติ 0.88, 9.19, 4.02 และ 1.46 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 4)

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการผลิตระหว่างสุกรปกติกับสุกรที่เป็นพาหะ MH จากสุกรพันธุ์แลนด์เรซ ลาร์จไวท์ และดรูค พบว่าสุกรพาหะทั้งสามพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงภายในซาก และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันมากกว่าสุกรปกติ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Sather and Murray (1989) ที่รายงานว่าสุกรลักษณะพาหะ MH มีเนื้อแดงมากกว่าสุกรปกติ 1 - 3 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นผลจากการทดลองนี้จึงสนับสนุนแนวความคิดในการใช้ยีน MH เพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อแดงภายในซากของสุกรขุน โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพซากของสุกรแต่อย่างใด

Table 2 Performance test comparing between normal (NN) and heterozygous genotype (Nn) of Landrace breed.

	Genotype		[(Nn-NN)/NN] X 100
	NN	Nn	
Average daily gain (g.)	760.36 ± 127.02	755.17 ± 125.80	- 0.68
Feed conversion ratio	2.35 ± 0.41	2.27 ± 0.39	- 3.40
Back fat thickness (mm.)	13.95 ± 1.66	14.95 ± 2.59	7.17
Loin eye area (cm ²)	30.68 ± 3.17	32.34 ± 4.09	5.40
Lean percentage	52.55 ± 1.92	53.54 ± 2.24	1.86

± : Standard error

Table 3 Performance test comparing between normal (NN) and heterozygous genotype (Nn) of Large White breed.

	Genotype		[(Nn-NN)/NN] X 100
	NN	Nn	
Average daily gain (g.)	688.65 ± 95.06 ^a	774.23 ± 55.13 ^b	8.07
Feed conversion ratio	2.32 ± 0.25	2.16 ± 0.26	- 6.90
Back fat thickness (mm.)	14.38 ± 1.80	14.11 ± 2.54	- 1.88
Loin eye area (cm ²)	32.69 ± 3.82	33.39 ± 5.04	2.14
Lean percentage	53.25 ± 2.09	53.81 ± 2.62	1.05

a, b Means within a row lacking a superscript letter differ significantly (P<0.05)

± : Standard error

Table 4 Performance test comparing between normal (NN) and heterozygous genotype (Nn) of Duroc breed.

	Genotype		[(Nn-NN)/NN] X 100
	NN	Nn	
Average daily gain (g.)	739.28 ± 57.59	717.02 ± 87.87	- 3.10
Feed conversion ratio	2.26 ± 0.18	2.24 ± 0.20	- 0.88
Back fat thickness (mm.)	15.23 ± 2.34	13.83 ± 2.08	- 9.19
Loin eye area (cm ²)	30.31 ± 3.04	31.53 ± 3.18	4.02
Lean percentage	52.02 ± 1.68	52.79 ± 1.82	1.46

เอกสารอ้างอิง

- สินชัย พารักษา, วรวิทย์ วัชรวัลกุล, สุรัชย์ แซ่ลิ้ม, ประพันธ์ เกษสังข์, และลออิด้า เมฆสองสี. 2539. มาลิกแนนท์ ไฮเปอร์เทอร์เมียในสุกร I. เปรียบเทียบการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์กับเทคนิคฮาโลเทน. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 30: 429-434.
- Houde, A. and S. A. Pommier. 1993. Use of polymerase chain reaction technology to detect a mutation associated with malignant hyperthermia in different pig tissues. Meat Sci. 33 : 349-358.
- Kanasaki, E. S. 1990. Sample preparation from blood, cell and other fluids, pp. 456-458. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J. J. Sninsky and T.J. White. PCR Protocols : Guide to Methods and Applications. Academic Press, Inc., San Diego.
- Sather, A.P. and A.C. Murray. 1989. The development of halothane sensitive line of pigs. Can. J. Anim. Sci. 69 : 323-331.