บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

3.1 แหล่งของข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลจากระเบียนประจำตัวโคนม (ผท.1) ซึ่งแสดงรายละเอียดและข้อมูลต่างๆที่เกี่ยวข้องกับประวัติของโคแต่ละตัว เช่น ประวัติการผสมเทียม ประวัติสุขภาพ การเลี้ยงและการจัดการโดยทั่วไปในฟาร์ม โคจะถูกเลี้ยงไว้ในโรงเรือนอย่างอิสระ และมีการให้อาหารหยาบและเสริมด้วยอาหารข้นภายในโรงเรือน รีดนมวันละ 2 ครั้งเช้าและเย็น ในโรงรีดนมด้วยเครื่องรีดอัตโนมัติ ข้อมูลปริมาณน้ำนมบันทึกโดยเกษตรกรเป็นรายวัน ข้อมูลเหล่านี้ได้จากการเก็บข้อมูลจากฟาร์มของเกษตรกรเป็นรายฟาร์มโดยตรง ในเขตสหกรณ์โคนมอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ โดยอาศัยการถ่ายเอกสารข้อมูลเพื่อป้องกันการสูญหายของระเบียนประจำตัวโค บันทึกข้อมูลที่เก็บรวบรวมได้เป็นฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.2 โครงสร้างของข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นข้อมูลที่เก็บรวบรวมจากประชากรโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน ในช่วงระหว่างปีพ.ศ. 2538 – 2549 ข้อมูลที่ใช้ศึกษาประกอบด้วย ชื่อเจ้าของฟาร์ม ชื่อโค หมายเลขประจำตัวโค ระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน วัน เดือน ปีที่เกิด หมายเลขพ่อพันธุ์ หมายเลขแม่พันธุ์ หมายเลขตา หมายเลขยาย ลำดับการให้ลูก วัน เดือน ปีที่ผสมครั้งแรก วัน เดือน ปีที่ผสมติด วัน เดือน ปีที่คลอด จำนวนวันให้นม ปริมาณน้ำนมต่อวัน ปริมาณน้ำนมรวมตลอดระยะการให้นม ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ลำดับที่ให้นม อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก(วัน) ช่วงห่างของการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา

ข้อมูลที่ใช้ประกอบด้วยรายละเอียดต่างๆ สามารถแยกได้เป็น 2 แฟ้มข้อมูลดังนี้

3.3.1. ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะต่างๆ (data file)

- หมายเลขประจำตัวโค
- ระดับสายเลือดโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน (แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 (< 62.5%HF) กลุ่มที่ 2 (62.5-75%HF) กลุ่มที่ 3 (75.01-87.5%HF) กลุ่มที่ 4 (87.5-100%HF) และกลุ่มที่ 5 (100%HF))
- วัน เดือน ปีเกิด
- วัน เดือน ปีที่คลอดลูก
- ลำดับการให้นม (ลำดับที่ 1-6)
- ข้อมูลลักษณะการผลิต
    - ปริมาณน้ำนมรวม
    - ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน
    - จำนวนวันให้นม
- ข้อมูลลักษณะการสืบพันธุ์
    - อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก(วัน)
    - จำนวนวันท้องว่าง
    - ช่วงห่างของการให้ลูก

3.3.2. ข้อมูลพันธุ์ประวัติ (pedigree file)

- หมายเลขประจำตัวโค
- หมายเลขพ่อพันธุ์โคนม
- ระดับสายเลือดพ่อพันธุ์
- หมายเลขแม่พันธุ์โคนม
- ระดับสายเลือดแม่พันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การจัดการข้อมูล

ข้อมูลที่เก็บรวบรวมจากระเบียนประวัติโคนม ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 – 2549 มีจำนวนทั้งหมด 4,179 ตัว พ่อพันธุ์ 224 ตัว แม่พันธุ์ 2,901 จาก 161 ฟาร์ม แก้ไขข้อมูลที่ผิดพลาดและลบข้อมูลที่สูงหรือต่ำผิดปกติออกเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องในการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows Evaluation version 15.0 โดยข้อมูลลักษณะการผลิต ได้แก่ ปริมาณน้ำนมรวม และ ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ทำการตัดข้อมูลที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ให้มีบันทึกอยู่ช่วงปริมาณน้ำนม >1,000 - < 8,000 กิโลกรัม จำนวนวันให้นม มีจำนวนวันให้นมไม่น้อยกว่า 150 วัน และไม่เกิน 450 วัน ลำดับการให้นมที่ 1-6 แม่โคมีอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรกระหว่าง 700 -1400 วัน จำนวนวันท้องว่าง อยู่ในช่วง 45 – 250 วัน ช่วงห่างของการให้ลูกอยู่ในช่วง 310 – 530 วัน หลังจากเลือกให้มีความถูกต้องเพิ่มขึ้นพบว่า ปริมาณน้ำนมรวม และ ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วันมีจำนวน 1,429 บันทึก จำนวนวันให้นมมีจำนวน 1,429 บันทึก ลำดับการให้นมมีจำนวน 1,429 บันทึก อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก จำนวน 1,429 บันทึก ช่วงห่างของการให้ลูกจำนวน 993 บันทึก และจำนวนวันท้องว่างจำนวน 983 บันทึก

3.5 โมเดลที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.5.1. **โมเดลสำหรับการทดสอบหาอิทธิพลที่มีผลกระทบต่อลักษณะที่ศึกษา**

โมเดลสำหรับวิเคราะห์ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อลักษณะปริมาณน้ำนมรวม ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่าง คือ

$$Y_{ijklmn} = \mu + H_i + Y_j + S_k + HFG_l + L_m + b_1(AFC)_{ijklm} + b_2(DIM)_{ijklmn} + e_{ijklmn}$$

โดยที่

Y_{ijklmn} = ลักษณะปริมาณน้ำนมรวม ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่าง

μ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่ศึกษา

H_i = อิทธิพลคงที่ของฝูง

Y_j = อิทธิพลคงที่ของปีที่คลอดลูก

S_k = อิทธิพลคงที่ของฤดูกาลเมื่อคลอดลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

HFG_l = อิทธิพลคงที่ของกลุ่มสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนกลุ่มที่ 1 (< 62.5%HF) กลุ่มที่ 2 (62.5-75%HF) กลุ่มที่ 3 (75.01-87.5%HF) กลุ่มที่ 4 (87.5-100%HF) กลุ่มที่ 5 (100%HF) (l= 1,…,5)

L_m = อิทธิพลคงที่ของลำดับการให้นม ที่ 1-6 (m= 1,…,6)

$b_1(AFC)_{ijklm}$ = สัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้นตรงของอายุเมื่อให้ลูกตัวแรก

$b_2(DIM)_{ijklmn}$ = สัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้นตรงของจำนวนวันให้นม

e_{ijklmn} = อิทธิพลสุ่มอื่นๆที่ค่าสังเกตได้รับ

3.5.2. **โมเดลสำหรับการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม**

- โมเดลสำหรับการวิเคราะห์ลักษณะปริมาณน้ำนมรวม

$$Y_{ijklm} = \mu + HYS_i + HFG_j + L_k + b_1(AFC)_{ijklm} + b_2(DIM)_{ijklm} + a_l + e_{ijklm} \ldots\ldots[1]$$

- โมเดลสำหรับการวิเคราะห์ลักษณะปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน

$$Y_{ijklm} = \mu + HYS_i + HFG_j + L_k + b_1(AFC)_{ijklm} + a_l + e_{ijklm} \ldots\ldots [2]$$

- โมเดลสำหรับการวิเคราะห์ลักษณะช่วงห่างการให้ลูกและจำนวนวันท้องว่าง

$$Y_{ijklm} = \mu + HYS_i + HFG_j + L_k + a_l + e_{ijklm} \ldots\ldots[3]$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่

Y_{ijklmn} = บันทึกลักษณะปริมาณน้ำนมรวม ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ช่วงห่างการให้ลูก จำนวนวันท้องว่าง ของสัตว์ตัวที่ 1 ที่ได้รับอิทธิพลของ ฝูง-ปี-ฤดูกาลที่ i กลุ่มสายเลือดที่ j ลำดับการให้นมที่ k

μ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะเป็นอิทธิพลร่วมซึ่งค่าสังเกตทุกค่าได้รับ

HYS_i = อิทธิพลคงที่ของ Contemporary group (ฝูง- ปี- ฤดูกาลที่สัตว์คลอด) ที่ i เพื่อที่จะอธิบายถึงผลของการจัดการและสิ่งแวดล้อม ที่มีผลต่อบันทึกลักษณะน้ำนม โดยฝูงของสัตว์จะแบ่งแยกตามรายฟาร์ม ปีแบ่งเป็นรายปีตั้งแต่ ปีพ.ศ. 2538-2549 และ ฤดูกาลจำแนกออกเป็น 3 ฤดู คือ ฤดูร้อน (มีนาคม-มิถุนายน) ฤดูฝน(กรกฎาคม-ตุลาคม) ฤดูหนาว(พฤศจิกายน-กุมภาพันธ์) (i=1,2,3)

HFG_j = อิทธิพลคงที่ของกลุ่มระดับสายเลือด โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่ j แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 (< 62.5%HF) กลุ่มที่ 2 (62.5-75%HF) กลุ่มที่ 3 (75.01-87.5%HF) กลุ่มที่ 4 (87.5-100%HF) กลุ่มที่ 5 (100%HF) (j =1,..,5)

L_k = อิทธิพลคงที่ของลำดับการให้นมที่ k (1,..,6)

$b_1(AFC)_{ijklm}$ = สัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้นตรงของอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก

$b_2(DIM)_{ijklm}$ = สัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้นตรงของจำนวนวันให้นม

a_l = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากตัวสัตว์ที่ l

e_{ijklm} = อิทธิพลสุ่มอื่นๆที่ค่าสังเกตได้รับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.6 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

3.6.1. ทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะที่ต้องการศึกษา

วิเคราะห์หาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ เพื่อทดสอบปัจจัยอื่นที่ไม่ใช่อิทธิพลเนื่องจากพันธุกรรมโดยกำหนดให้ทุกปัจจัยเป็นอิทธิพลคงที่ (fixed effects) เพื่อศึกษาถึงผลที่มีต่อลักษณะปริมาณน้ำนมรวม ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ลักษณะช่วงห่างการให้ลูก ลักษณะจำนวนวันท้อง

ว่าง ด้วยวิธีการ General Linear Model (GLM) แบบ univariate analysis จากโปรแกรม SAS for Windows version 8.1 (SAS,1990)

3.7 การวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม

3.7.1. การประมาณค่าองค์ประกอบความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วม

ประมาณค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะที่ทำการศึกษาเพื่อจะนำค่าองค์ประกอบความแปรปรวนที่ได้ไปใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม โดยวิเคราะห์หาองค์ประกอบความแปรปรวน ด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) แบบ Animal model ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป VCE 4.2.5 (Groeneveld, 1998) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ ครั้งละลักษณะ(univariate analysis)

3.7.2. การประมาณค่าอัตราพันธุกรรม

ประมาณค่าอัตราพันธุกรรมด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) แบบ Animal model ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป VCE 4.2.5 (Groeneveld, 1998) จากค่าความแปรปรวนของอำนาจยีนแบบบวกสะสม (additive genetic variance : σ^2_a) และความแปรปรวนเนื่องจากความคลาดเคลื่อน (residual error variance : σ^2_e) ค่าอัตราพันธุกรรมที่ได้เรียกว่าอัตราพันธุกรรมอย่างแคบ จากค่าองค์ประกอบความแปรปรวนข้างต้นสามารถหาค่าอัตราพันธุกรรมได้จากสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$h^2 = \frac{\sigma^2_a}{\sigma^2_a + \sigma^2_e}$$

เมื่อ h^2 = อัตราพันธุกรรม

σ^2_a = ความแปรปรวนของยีนแบบบวกสะสม

σ^2_e = ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7.3 การประมาณค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและลักษณะปรากฏ

ประมาณค่าสหสัมพันธ์ลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะต่างๆ ได้แก่ ลักษณะปริมาณนมรวม ปริมาณนมปรับที่ 305 วัน ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่าง ด้วยวิธี Correlation(ณัฐพล, 2549) จากโปรแกรมสำเร็จรูป SAS for windows version 8.1 (SAS,1990)

วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะต่างๆ ได้แก่ ลักษณะปริมาณน้ำนมรวม ปริมาณน้ำนมปรับที่ 305 วัน ช่วงห่างการให้ลูก และจำนวนวันท้องว่าง ภายใต้ Animal model ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป VCE 4.2.5 (Groeneveld, 1998) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะ (bivariate analysis)

3.8 การประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์

จากค่าองค์ประกอบความแปรปรวนของอำนาจยีนแบบบวกสะสม และองค์ประกอบความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน ค่าความแปรปรวนที่ได้จะนำมาใช้ในการคำนวณหาคุณค่าการผสมพันธุ์ด้วยวิธี Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) ด้วยแบบหุ่นตัวสัตว์ (animal model) จากโปรแกรมสำเร็จรูป VCE 4.2.5 (Groeneveld, 1998) ซึ่งผลลัพธ์ของคุณค่าการผสมพันธุ์ของสัตว์ ช่วยให้สามารถจัดเรียงลำดับสัตว์ (rank) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกสัตว์ไว้ผสมพันธุ์ตามความดีเด่นทางพันธุกรรม โดยมีแบบหุ่นจำลองเชิงเส้นผสม (Mix model) ดังนี้

$$\boldsymbol{Y} = \boldsymbol{Xb} + \boldsymbol{Za} + \boldsymbol{e}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยมีข้อกำหนดว่า

$$\begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix} \sim NID(0, V) \qquad V = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 \\ 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

y = เวคเตอร์ของค่าสังเกต (ขนาด n x 1)

b = เวคเตอร์ของอิทธิพลคงที่ ที่ไม่ทราบค่า (ขนาด px1)

a = เวคเตอร์ของอิทธิพลสุ่ม เนื่องจาก ตัวสัตว์ (ขนาด q x 1)

e = เวคเตอร์อิทธิพลของความคลาดเคลื่อน (error) (ขนาด n x 1)

X = เมตริกซ์ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสังเกตกับอิทธิพลคงที่ (ขนาด nx p)

Z = เมตริกซ์ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสังเกตกับอิทธิพลสุ่ม (ขนาด nxq)

สามารถเขียนอยู่ในรูป MME (mix model equation) ได้ดังนี้

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'Y \\ Z'Y \end{bmatrix}$$

เมื่อ $\alpha = \sigma_e^2 / \sigma_a^2$, A^{-1} = เมตริกซ์ผกผันแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวสัตว์

3.9 ประเมินผลตอบสนองของแผนการผสมพันธุ์

การประเมินผลตอบสนองของแผนการผสมพันธุ์ ซึ่งในแผนการผสมพันธุ์จะแบ่งตามการคัดเลือกสัตว์เพื่อผสมพันธุ์ออกเป็น 5 สาย ประกอบด้วย พ่อของพ่อพันธุ์ (bull sire) พ่อของแม่พันธุ์ (cow sire) แม่ของพ่อพันธุ์ (bull dam) แม่ของแม่พันธุ์ (cow dam) และโคพ่อพันธุ์ทดสอบ (testing bull) โดยที่ผลตอบสนองการคัดเลือกจากแต่ละสายสามารถหาได้จากการหาสัดส่วนของการคัดเลือกสัตว์ในแผนการผสมพันธุ์ จากนั้นนำค่าที่ได้ไป เปิดหาค่า selection intensity จากตาราง Appendix Table A ของ Folconer (1986) นำค่า selection intensity ที่ได้ มาวิเคราะห์ร่วมกับค่าอัตราพันธุกรรมและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะที่ต้องการศึกษา ส่วนช่วงอายุของการใช้งาน (generation interval: L) ศึกษาจากโครงสร้างอายุของสัตว์แต่ละประเภทที่ใช้งานในแผนการผสมพันธุ์ และคำนวณค่าต่างๆตาม Chongkasikit (2002) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad 8 (Mathsoft, 1998) มีรูปสมการดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\Delta G = \frac{I_{BS} + k * I_{CS} + (1-k) * I_{TB} + I_{CD} + I_{BD}}{L_{BS} + k * L_{CS} + (1-k) * L_{TB} + L_{CD} + L_{BD}}$$

เมื่อ

ΔG = ผลตอบสนองของลักษณะที่ต้องการศึกษาในแผนการผสมพันธุ์

I_{BS} = $i * h^2 * \sigma p$ ของพ่อของพ่อพันธุ์

I_{CS} = $i * h^2 * \sigma p$ ของพ่อของแม่พันธุ์

I_{TB} = $i * h^2 * \sigma p$ ของพ่อพันธุ์ทดสอบ

I_{CD} = $i * h^2 * \sigma p$ ของแม่ของแม่พันธุ์

I_{BD} = $i * h^2 * \sigma p$ ของแม่ของพ่อพันธุ์

L_{BS} = ช่วงของอายุ ของพ่อของพ่อพันธุ์

L_{CS} = ช่วงของอายุ ของพ่อของแม่พันธุ์

L_{TB} = ช่วงของอายุ ของพ่อพันธุ์ทดสอบ

L_{CD} = ช่วงของอายุ ของแม่ของแม่พันธุ์

L_{BD} = ช่วงของอายุ ของแม่ของพ่อพันธุ์

K = % ของแม่โคที่ถูกผสมด้วยพ่อพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบ

i = ความเข้มข้นของการคัดเลือก

h^2 = อัตราพันธุกรรม

σp = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานลักษณะปรากฏ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.10 สถานที่ดำเนินงานวิจัย

ฟาร์มเกษตรกรรายย่อย จำนวน 161 ฟาร์มในอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่

3.11 ระยะเวลาที่ดำเนินงานวิจัย

เริ่มดำเนินงานวิจัยตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 และสิ้นสุดการดำเนินงานวิจัย เดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 รวมระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยประมาณ 30 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved