

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งของข้อมูล (data source)

ข้อมูลที่นำมาใช้ในการศึกษานี้เป็นข้อมูลของลักษณะการเจริญเติบโตของสุกรพันธุ์แท้ที่มีการเก็บรวบรวมไว้ในระบบฐานข้อมูลของฟาร์มสุกรเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดนครราชสีมา ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2539-2544 สุกรพันธุ์แท้ในฟาร์มประกอบด้วยสุกรพันธุ์แลนด์เรซ สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ สุกรพันธุ์ยอร์กเชียร์ และสุกรพันธุ์ดรูออค การจัดการโดยทั่วไปสุกรพันธุ์เหล่านี้ถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิด

ข้อมูลจะได้มาจากการทดสอบสมรรถภาพการเจริญเติบโต (performance test) ที่มีการทดสอบเป็นประจำภายในฟาร์มโดยมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

1. ทำการคัดเลือกลูกสุกรหย่านมที่อายุประมาณ 21 วัน
2. นำไปเลี้ยงต่อที่คอกอนุบาลจนอายุได้ประมาณ 12 สัปดาห์
3. คัดเลือกเพื่อเข้าทดสอบตามเพศและพันธุ์ โดยดูจากลักษณะภายนอกของสุกร
4. ชั่งน้ำหนักเริ่มเข้าทดสอบเป็นรายตัว
5. สุกรเพศผู้จะถูกทดสอบเป็นรายตัว
6. สุกรเพศเมียจะถูกทดสอบเป็นกลุ่มๆ ละ 9 ตัว
7. สิ้นสุดการทดสอบเมื่อสุกรทดสอบมีน้ำหนักประมาณ 90 กิโลกรัม จะทำการชั่งน้ำหนักออกทดสอบเป็นรายตัว
8. วัดความหนาไขมันสันหลังของสุกรทดสอบทุกตัวด้วยเครื่องอัลตราซาวด์รุ่น Renco Preg-Alert Type 2 B Serial No. 13178 โดยตำแหน่งที่ทำการวัดความหนาไขมันสันหลังคือ บริเวณไหล่ 1 จุด และที่ตำแหน่งซี่โครงซี่ที่ 10-11 จำนวน 3 จุด ซึ่งแต่ละจุดจะห่างจากเส้นกลางสันหลังประมาณ 4 6 และ 8 เซนติเมตร
9. คำนวณน้ำหนักอาหารที่สุกรใช้ใน ช่วงทดสอบ

โครงสร้างของข้อมูล (data structure)

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแยกได้เป็น 2 แฟ้มข้อมูลดังนี้

1. แฟ้มข้อมูลพันธุ์ประวัติ (pedigree file) ประกอบด้วย
 - หมายเลขประจำตัวสุกรทดสอบ (animal ID)
 - หมายเลขพ่อพันธุ์
 - หมายเลขแม่พันธุ์
 - วัน เดือน ปี เกิดของสุกรทดสอบ
2. แฟ้มข้อมูลของลักษณะการเจริญเติบโตของสุกรทดสอบ
 - หมายเลขประจำตัวสุกรทดสอบ (animal ID)
 - พันธุ์
 - เพศ
 - เดือน เกิดของสุกรทดสอบ
 - ปี เกิดของสุกรทดสอบ
 - น้ำหนักเริ่มเข้าทดสอบ
 - น้ำหนักเมื่อออกทดสอบ
 - อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน
 - ความหนาไขมันสันหลัง
 - อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

การจัดเตรียมข้อมูล (data editing and manipulation)

การจัดการข้อมูลเบื้องต้น

โปรแกรมที่ฟาร์มแห่งนี้ใช้ในการจัดเก็บข้อมูลเพื่อเป็นระบบฐานข้อมูล โดยจะใช้โปรแกรม 2 โปรแกรมคือ โปรแกรมหมูยืม และโปรแกรม lth ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ทางฟาร์มเขียนให้เหมาะสำหรับการจัดการของฟาร์ม โปรแกรมหมูยืมจะเป็นโปรแกรมที่มีข้อมูลพันธุ์ประวัติ ข้อมูลผลผลิตของสุกรในช่วงต่างๆ ส่วนโปรแกรม lth จะเป็นโปรแกรมที่มีข้อมูลการทดสอบสุกรพันธุ์ในฟาร์มทั้งหมด ข้อมูลการทดสอบสุกรพันธุ์ที่ถูกเก็บในโปรแกรม lth ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์เป็นสุกรทดสอบที่เกิดขึ้นตั้งแต่ พ.ศ. 2539-2544 ทำการตรวจสอบพันธุ์ประวัติจากข้อมูลเริ่มต้นทั้งหมด 14,931 บันทึก โดยใช้โปรแกรม FoxBASE+ 2.10 ช่วยในการจัดการฐานข้อมูล (database) ของสุกรทดสอบเพศเมีย โดยการเชื่อมโยง (join) ระหว่างข้อมูลจากแฟ้มการคลอดของแม่พันธุ์ในโปรแกรมหมูยืมกับข้อมูลสุกรทดสอบในโปรแกรม lth ใช้วันเกิดของสุกรทดสอบเป็นตัวเชื่อมโยง

สำหรับสุกรทดสอบเพศผู้ ตรวจสอบโดยการเชื่อมโยงระหว่างข้อมูลจากแฟ้มประวัติพ่อพันธุ์ในโปรแกรมหมูยืมกับข้อมูลสุกรทดสอบในโปรแกรม Ith ใช้รหัสประจำตัวของสุกรทดสอบเป็นตัวเชื่อมโยง กรณีที่พบว่าพันธุ์ประวัติของสุกรทดสอบมีรหัสของสุกรที่เป็นพ่อพันธุ์มากกว่า 1 ตัว จะทำการลบพันธุ์ประวัติทางด้านพ่อพันธุ์ออก เนื่องจากไม่สามารถระบุพ่อพันธุ์ที่แท้จริงได้ และทำการตรวจสอบความถูกต้องของค่าต่างๆ ในแต่ละลักษณะให้อยู่ในขอบเขตของความเป็นไปได้ ข้อมูลของลักษณะความหนาไขมันสันหลังซึ่งใช้เครื่องอัลตราซาวด์วัดตั้งแต่วันที่ออกทดสอบที่ 30 ตุลาคม 2543 เป็นต้นไปจะถูกตัดข้อมูลออก เนื่องจากเครื่องอัลตราซาวด์ที่ใช้ชำรุด ดังนั้นหลังจากการจัดการฐานข้อมูลเบื้องต้นแล้วพบว่ามีข้อมูลลักษณะอัตราการเจริญเติบโตจำนวน 14,799 บันทึก ข้อมูลลักษณะความหนาไขมันสันหลังจำนวน 13,096 บันทึก และข้อมูลลักษณะอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อจำนวน 13,531 บันทึก ซึ่งข้อมูลสุกรทดสอบทั้งหมดเกิดจากพ่อพันธุ์จำนวน 423 ตัว และแม่พันธุ์จำนวน 1,671 ตัว มีจำนวนสัตว์ในแฟ้มข้อมูลพันธุ์ประวัติจำนวน 15,764 ตัว ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ค่าเฉลี่ย ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และจำนวนข้อมูลของลักษณะอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะความหนาไขมันสันหลัง และลักษณะอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ โดยแยกตามพันธุ์ของสุกร

ลักษณะ	พันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE	ต่ำสุด - สูงสุด	จำนวนข้อมูล (บันทึก)
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม)	แลนด์เรซ	0.791 (0.122)	0.434 - 1.292	5441
	ลาร์จไวท์	0.820 (0.129)	0.474 - 1.308	5254
	ยอร์กเชียร์	0.821 (0.130)	0.513 - 1.333	1769
	ดুরอค	0.835 (0.128)	0.413 - 1.271	2335
ความหนาไขมันสันหลัง (มิลลิเมตร)	แลนด์เรซ	14.51 (1.80)	7.00 - 25.00	4859
	ลาร์จไวท์	14.59 (1.83)	9.00 - 28.50	4658
	ยอร์กเชียร์	14.52 (1.76)	9.00 - 24.50	1538
	ดুরอค	16.16 (2.08)	9.50 - 26.50	2041
อัตราการเปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อ	แลนด์เรซ	2.37 (0.22)	1.44 - 3.52	5411
	ลาร์จไวท์	2.30 (0.22)	1.34 - 3.41	5244
	ยอร์กเชียร์	2.30 (0.22)	1.60 - 3.13	1767
	ดুরอค	2.45 (0.26)	1.69 - 3.67	1109

การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น (data analysis)

1. การจำแนกอิทธิพลของปัจจัยคงที่ ประกอบด้วย

1.1 อิทธิพลของเพศสุกรทดสอบ ข้อมูลการทดสอบพันธุ์สุกรพบว่าเป็นข้อมูลจากสุกรเพศผู้ และเพศเมีย

1.2 อิทธิพลของปีที่สุกรทดสอบเกิด ข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ครั้งนี้เป็นข้อมูลของสุกรทดสอบที่เกิดในปี พ.ศ. 2539 (1996) ถึงปี พ.ศ. 2544 (2001) รวมทั้งสิ้น 6 ปี

1.3 อิทธิพลของเดือนที่สุกรทดสอบเกิด 12 เดือน

2. การตรวจสอบการกระจายของข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาเป็นข้อมูลที่เก็บมาจากภาคสนาม สภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อลักษณะที่ทำการศึกษา เมื่อทำการทดสอบการกระจายของข้อมูลด้วย Proc Univariate โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System (SAS, 1998) พบว่าข้อมูลลักษณะอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะความหนาไขมันสันหลัง และลักษณะประสิทธิภาพการใช้อาหารของสุกรพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาค้นครั้งนี้เป็นตัวอย่างที่สุ่มมาจากประชากรที่มีการกระจายแบบปกติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 – 98 เปอร์เซ็นต์

โมเดลสำหรับการวิเคราะห์ (model analysis)

1. โมเดลสำหรับการทดสอบหาอิทธิพลที่มีผลกระทบต่อลักษณะที่ศึกษา

โดยกำหนดให้ทุกอิทธิพลเป็นอิทธิพลคงที่ (fixed effects) ยกเว้นอิทธิพลเนื่องมาจากตัวสัตว์ และค่าความคลาดเคลื่อนกำหนดให้เป็นอิทธิพลสุ่ม (random effects)

1.1 สำหรับการวิเคราะห์ของลักษณะอัตราการเจริญเติบโต

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + MY_j + bSW_{ijkl} + a_k + e_{ijkl} \quad \text{.....} \quad 3.1$$

1.2 สำหรับการวิเคราะห์ของลักษณะความหนาไขมันสันหลัง

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + MY_j + bEW_{ijkl} + a_k + e_{ijkl} \quad \text{.....} \quad 3.2$$

1.3 สำหรับการวิเคราะห์ของลักษณะอัตราการผลิตอาหารเป็นเนื้อ

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + MY_j + bSW_{ijkl} + a_k + e_{ijkl} \quad \dots\dots\dots 3.3$$

โดยที่

Y_{ijkl} = บันทึกของลักษณะที่ทำการศึกษา ประกอบด้วยลักษณะลักษณะ
อัตราการผลิตเนื้อสัตว์ ลักษณะความหนาไขมันสันหลัง และลักษณะ
อัตราการผลิตเนื้อสัตว์ของเพศที่ i ของสัตว์ตัวที่ k ที่ได้รับ

อิทธิพล

จากเพศที่ i ในเดือนปีที่ j

μ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะเป็นอิทธิพลร่วมซึ่งค่าสังเกตทุกค่าได้รับ

S_i = อิทธิพลคงที่ของเพศที่ i ($i = 1, 2$)

MY_j = อิทธิพลคงที่ของเดือน - ปีที่ j ($j = 1, 2, 3, \dots, 60$)

bEW_{ijkl} = สัมประสิทธิ์เชิงเส้นตรงของน้ำหนักออกทดสอบของสุกร

bSW_{ijkl} = สัมประสิทธิ์เชิงเส้นตรงของน้ำหนักเริ่มเข้าทดสอบของสุกร

a_k = อิทธิพลสุ่มเนื่องจากสัตว์ตัวที่ k โดยที่ $a_k \sim NID(0, \sigma_a^2)$

e_{ijkl} = อิทธิพลสุ่มอื่นๆ ที่ค่าสังเกตได้รับ โดยที่ $e_{ijkl} \sim NID(0, \sigma_e^2)$

2. โมเดลสำหรับการวิเคราะห์ทางพันธุกรรม

สำหรับการวิเคราะห์ของลักษณะอัตราการผลิตเนื้อสัตว์ ความหนาไขมันสันหลัง และลักษณะอัตราการผลิตเนื้อสัตว์ของสุกร จะใช้โมเดลที่ 3.1 3.2 และ 3.3 ตามลำดับ ซึ่งสามารถเขียนเป็นโมเดลในรูปทั่วไป (general form) ดังโมเดลที่ 3.4 และทำการวิเคราะห์โดยแยกตามพันธุ์ของสุกรคือสุกรพันธุ์แลนด์เรซ ลาร์จไวท์ ยอร์คเชียร์ และดูรอค

$$Y = Xb + Za + e \quad \dots\dots\dots 3.4$$

โดยที่ข้อกำหนดว่า

$$\begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix} \sim NID(0, V)$$

$$V = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 \\ 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

สามารถเขียน MME (Mixed Model Equation) ได้ดังนี้

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'Y \\ Z'Y \end{bmatrix} \quad \text{3.5}$$

เมื่อ $\alpha = \sigma_e^2 / \sigma_a^2$

โดยที่

- Y = เวกเตอร์ของค่าสังเกต
- X = เป็นเมตริกซ์ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสังเกตกับปัจจัยคงที่ (incidence matrix)
- Z = เป็นเมตริกซ์ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสังเกตกับปัจจัยสุ่ม (incidence matrix)
- b = เวกเตอร์ของปัจจัยคงที่ที่ไม่ทราบค่า
- a = เวกเตอร์ของปัจจัยสุ่ม โดยให้ $a \sim NID(0, A\sigma_a^2)$
- e = เวกเตอร์ของความคลาดเคลื่อน โดยให้ $e \sim NID(0, I\sigma_e^2)$
- A = เป็นเมตริกซ์ความสัมพันธ์ระหว่างสัตว์
- I = เป็น Identity matrix
- σ_a^2 = องค์ประกอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม
- σ_e^2 = องค์ประกอบความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน

วิธีการวิเคราะห์ (statistical and genetic analysis)

1. การวิเคราะห์เบื้องต้น

โดยวิเคราะห์เพื่อหาปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะอัตราการเจริญเติบโต ความหนาไขมันสันหลัง และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ซึ่งวิเคราะห์แบบ univariate analysis โดยใช้คำสั่ง Proc Mixed ของโปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System (SAS, 1998) ตามโมเดลในการวิเคราะห์ที่ 3.1 3.2 และ 3.3

2. การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (estimation of genetic parameters)

2.1 ค่าองค์ประกอบความแปรปรวน (variance)

วิเคราะห์หาองค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะที่ทำการศึกษา เพื่อนำไปประมาณค่าอัตราพันธุกรรม และใช้ในการประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์ (estimated breeding value) ต่อไป โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบความแปรปรวนด้วยวิธี Restricted maximum likelihood (REML) ซึ่งใช้ Expectation maximization (EM) algorithm มีกฎเกณฑ์สำหรับพิจารณาการคำนวณสิ้นสุดเมื่อค่าความแปรปรวนที่ได้จากการคำนวณแต่ละซ้ำต่างกันน้อยกว่า 10^{-9} และวิธี Gibbs sampling มีกฎเกณฑ์สำหรับการคำนวณคือ กำหนดรอบการสุ่มค่า 30,000 รอบ ข้อมูลที่ตัดทิ้ง (burn-in period หรือ warm-up period) เท่ากับ 1,000 รอบ สุ่มค่าทุกๆ 10 รอบ (drawn samples) และสุ่มตัวอย่างให้แต่ละครั้ง 5 ค่า (samples / batch) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-PCPAK (Misztal and Duangjinda, 2001) ตามโมเดลที่ 3.1 3.2 และ 3.3

2.2 ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability)

เป็นการนำค่าองค์ประกอบความแปรปรวนที่ได้จากวิธี REML และ Gibbs sampling ของลักษณะที่ทำการศึกษา ไปใช้ในการประมาณค่าอัตราพันธุกรรมจากสูตรการคำนวณดังนี้ (Falconer and Mackay, 1996)

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_e^2} \quad \text{.....} \quad 3.6$$

3. การประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์ (estimated breeding value)

ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนที่ได้จากวิธี REML และ Gibbs sampling ของลักษณะที่ทำการศึกษา นำมาใช้ประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์ โดยวิธี Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) จากโปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-PCPAK (Misztal and Duangjinda, 2001) โปรแกรมสำเร็จรูปโปรแกรมนี้สามารถวิเคราะห์ค่าความถูกต้องของคุณค่าการผสมพันธุ์ได้จากสูตร

$$\text{ค่าความถูกต้อง (accuracy)} = \sqrt{R^2} \quad \text{.....} \quad 3.7$$

$$R^2 = 1 - \frac{PEV}{\sigma_a^2} \quad \text{.....} \quad 3.8$$

$$PEV = \text{dia}\{Z'Z + \alpha A^{-1}\} * \sigma_e^2 \quad \text{.....} \quad 3.9$$

เมื่อ PEV = ค่า diaagonal ของ submatrix ที่ invert แล้ว (left hand site ของ $Z'Z$) บวกรวมกับค่า αA^{-1} แล้วคูณด้วย σ_e^2

$$\alpha = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_e^2}$$

4. ความสัมพันธ์ระหว่างคุณค่าการผสมพันธุ์จากค่าองค์ประกอบความแปรปรวนที่ได้จากวิธี REML และวิธี Gibbs sampling

นำคุณค่าการผสมพันธุ์ที่วิเคราะห์ได้จากค่าองค์ประกอบความแปรปรวนจากวิธี REML มาหาความสัมพันธ์กับคุณค่าการผสมพันธุ์ที่วิเคราะห์ได้จากค่าองค์ประกอบความแปรปรวนจากวิธี Gibbs sampling ของลักษณะอัตราการเจริญเติบโต ความหนาไขมันสันหลัง และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ด้วยชุดข้อมูลคุณค่าการผสมพันธุ์ทั้งหมด และชุดข้อมูลคุณค่าการผสมพันธุ์บางส่วน (20 อันดับแรกของแต่ละลักษณะ) โดยใช้ Spearman rank correlation coefficient

5. การประเมินแนวโน้มทางพันธุกรรม (genetic trend)

การประเมินแนวโน้มทางพันธุกรรมเป็นวิธีการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าเฉลี่ยคุณค่าการผสมพันธุ์จากสัตว์ที่ประเมินได้จากค่าองค์ประกอบความแปรปรวนที่ได้จากวิธี REML และ Gibbs sampling กับปีเกิดของตัวสัตว์ โดยใช้คำสั่ง Proc Reg ของโปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System (SAS, 1998)