ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง Paternally Expressed Gene 1 (*PEG1*) กับการสูญเสียลูกในแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซและยอร์คเชียร์

Genetic Association between Paternally Expressed Gene 1 (*PEG1*) and Piglet Loss in Purebred Landrace and Yorkshire Sows

แพรว เที่ยงพิมล[1/] ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี[1/, 2/] และ ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ[1/]

Praew Thiengpimol[1/] Thanathip Suwanasopee[1/, 2/] and Skorn Koonawootrittriron[1/]

Abstract

This study was purposed to examine the effect of paternally expressed gene 1 (*PEG1*) and risk factors that influenced mummified (MM) and stillborn piglets (STB). Reproductive records and genetic information of *PEG1* gene from 193 Landrace and 157 Yorkshire sows were used to analyze the association between risk factors including the gene effect and piglet loss by using binary logistic regression. The results revealed that parity, number of piglet born and year-season at farrowing had some effect on the presence of MM and STB ($P < 0.05$). Breed group and allele of *PEG1* gene had no effect on STB, but the interaction between breed group and allele of *PEG1* gene had some effect on MM ($P < 0.05$). Yorkshire sows with expressed A allele had 1.94 times higher odds for MM than those of B allele, but the higher odds for MM were found in Landrace sows which expressed B allele. The results obviously revealed that *PEG1* gene relatively associated with MM in particular breed. Thus, to minimize the value of MM the breed of sows should be carefully considered.

Keywords: Swine, paternally expressed gene 1, mummified piglet, stillborn piglet

---

[1/] ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1/] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

รับเรื่อง : เมษายน 2554

[2/] Corresponding author: agrtts@ku.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบอิทธิพลของยีน paternally expressed gene 1 (*PEG1*) และปัจจัยเสี่ยงที่มีอิทธิพลต่อการเกิดลูกสุกรมัมมี่ (mummified piglets; MM) และลูกสุกรตายแรกคลอด (stillborn piglets; STB) ข้อมูลผลผลิตและข้อมูลทางพันธุกรรมของยีน *PEG1* จากแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ 193 ตัว และยอร์คเชียร์ 157 ตัว ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเสี่ยงต่างๆ รวมถึงอิทธิพลของยีน กับการสูญเสียลูกสุกรด้วยวิธี Binary Logistic Regression ผลการศึกษาพบว่า ลำดับครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอด และปี-ฤดูกาลที่คลอด มีอิทธิพลต่อการเกิด MM และ STB ($P < 0.05$) กลุ่มพันธุ์และอัลลีลของยีน *PEG1* ไม่มีอิทธิพลต่อการเกิด STB แต่พบอิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์และอัลลีลของยีน *PEG1* มีผลต่อการเกิด MM ($P < 0.05$) แม่สุกรพันธุ์ยอร์คเชียร์ที่แสดงอัลลีล A มีค่า odds ในการเกิด MM สูงกว่าอัลลีล B 1.94 เท่า แต่พบค่า odds สำหรับ MM ที่สูงกว่าในแม่สุกรพันธุ์แลนด์เรซที่แสดงอัลลีล B ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ยีน *PEG1* มีความสัมพันธ์กับ MM ที่เฉพาะต่อกลุ่มพันธุ์ ดังนั้น การคัดเลือกเพื่อลดการเกิด MM จึงควรพิจารณาพันธุ์ของแม่สุกรด้วย

คำนำ

การสูญเสียลูกสุกรในระหว่างการอุ้มท้องและการตายขณะคลอด เช่น ลูกสุกรมัมมี่ (mummified piglet; MM) และลูกสุกรตายแรกคลอด (stillborn piglet; STB) เป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลต่อกำไรที่เกษตรกรจะได้รับในแต่ละรอบการผลิต ดังนั้น การศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสูญเสียลูกสุกร จึงอาจเป็นแนวทางการพัฒนาศักยภาพการให้ผลผลิตของแม่สุกรเพื่อเพิ่มผลกำไรให้แก่เกษตรกรได้ แต่เนื่องจากลักษณะดังกล่าว เป็นลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ โดยมีค่าประมาณ 0.10 ถึง 0.12 สำหรับ MM (Johnson *et al*., 1999; Echeverri, 2004) และ 0.03 ถึง 0.08 สำหรับ STB (Echeverri, 2004; Imboonta *et al*., 2007) การพัฒนาศักยภาพทางพันธุกรรมที่พิจารณาเพียงข้อมูลการแสดงออก อาจใช้เวลานานและไม่มีความแม่นยำเพียงพอในการคัดเลือกแม่สุกรพันธุ์ ทดแทนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เทคนิคด้านชีววิทยาโมเลกุลจึงมักถูกนำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของแม่สุกร เพื่อเพิ่มความแม่นยำและลดระยะเวลาในการคัดเลือก ดังนั้น การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาในช่วงการพัฒนาของตัวอ่อน จึงอาจเป็นแนวทางการศึกษาอิทธิพลทางพันธุกรรมที่ส่งผลต่อการเกิด MM และ STB ได้ โดยยีน paternally expressed gene 1 (*PEG1*) ถือเป็นยีนหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเอมบริโอ และการพัฒนาของรกในระหว่างการอุ้มท้อง และมีความสัมพันธ์กับการแสดงพฤติกรรมความเป็นแม่ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Lefebvre *et al*.,1998; Xu *et al*., 2007) นอกจากนี้ อัลลีลของยีน *PEG1* ตำแหน่งเบสที่ 105 ในบริเวณ intron ที่ 11 ยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนไข่ที่ผสมติดและ MM (Isler, 2003) อีกด้วย อย่างไรก็ตาม การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสูญเสียลูกสุกรที่ถูกเลี้ยงดูในระบบโรงเรือนเปิดภายใต้สภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้นของประเทศไทยยังมีไม่มากนัก ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของยีน *PEG1* และปัจจัยเสี่ยงที่อาจส่งผลต่อการเกิด MM และ STB ของแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซและยอร์คเชียร์ในระบบการผลิตสุกรเชิงการค้าของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาการกระจายตัว ทางพันธุกรรมของยีน *PEG1* เป็นแม่สุกรที่ถูกเลี้ยงดูในระบบการผลิตสุกรพันธุ์เชิงการค้าของบริษัทเอกชนแห่งหนึ่งทางภาคเหนือของประเทศไทย(จังหวัดเชียงใหม่)ประกอบด้วยแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ จำนวน 193 ตัว และแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ จำนวน 157 ตัว โดยแม่สุกรทุกตัวถูกเลี้ยงดูในระบบโรงเรือนเปิด ได้รับอาหารและการจัดการเดียวกัน

ตลอดการศึกษาวิจัย โดยสุกรสาวและแม่สุกรที่ไม่ได้อยู่ในช่วงให้นมลูกจะได้รับอาหาร (โปรตีน 16% และพลังงาน 3,200 ถึง 3,500 กิโลแคลเลอรี่ต่อกิโลกรัม) ในปริมาณ 2.5 กิโลกรัม จำนวน 2 ครั้งต่อวัน และสำหรับแม่สุกรเลี้ยงลูกจะได้รับอาหาร (โปรตีน 17 ถึง 18% และพลังงาน 4,060 กิโลแคลเลอรี่ต่อกิโลกรัม) ในปริมาณ 5 ถึง 6 กิโลกรัม จำนวน 4 ครั้งต่อวัน แม่สุกรอุ้มท้องจะถูกย้ายไปคอกคลอดในช่วง 7 วันก่อนคลอด โดยที่แม่สุกรทุกตัวจะคลอดลูกเอง โดยไม่ได้รับสิ่งกระตุ้นหรือความช่วยเหลือขณะคลอด นอกจากนี้ไม่พบการระบาดของโรคที่อาจเสี่ยงต่อการสูญเสียลูกสุกรในช่วงการเก็บข้อมูลเพื่อศึกษาวิจัย

ข้อมูลการให้ผลผลิตและพันธุ์ประวัติของแม่สุกรถูกจัดเก็บในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2549 ถึง เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2553 ประกอบด้วย หมายเลขประจำตัวสัตว์ หมายเลขประจำตัวพ่อ-แม่พันธุ์ กลุ่มพันธุ์ ลำดับครอก วันเดือนปีที่แม่สุกรคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอด MM และ STB นอกจากนี้ ตัวอย่างเลือดของแม่สุกรถูกจัดเก็บในปริมาตร 5 มิลลิลิตรโดยสัตวแพทย์ประจำฟาร์ม แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด Master Pure™ DNA Purification Kit (Epicentre®, USA) จากนั้น จึงนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมตรงบริเวณ intron ที่ 11 ของยีน *PEG1* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้ forward primer 5'-ATTGGCACAGGTGAAGGG CTTTTTC-3' และ reverse primer 5'-AGGCTTCAC TCGATTAGGTCTGG-3' (Isler, 2003) ในขั้นตอนการทำ PCR ซึ่งมีองค์ประกอบในแต่ละ reaction ดังนี้ 10x buffer 1.3 µl, 2mM dNTPs 1.3 µl, 15mM $Mgcl_2$ 1.3 µl, primers (forward และ reverse) ที่ความเข้มข้น 25pmol อย่างละ 0.5 µl, dH_2O 7.6 µl, 5U Tag polymerase (Fermentus) 0.1 µl และตัวอย่างดีเอ็นเอ 2 µl ซึ่งมีวงรอบในการทำ PCR เริ่มที่ขั้นตอน initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 4 นาที แล้ว denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 45 วินาที primer annealing ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 1 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 1 นาที จำนวนทั้งสิ้น 30 รอบ จากนั้นสิ้นสุดที่ final extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 5 นาที

จากนั้น PCR product ที่มีความยาว 101 คู่เบส ได้ถูกนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Taq*I ซึ่งมีส่วนประกอบสำหรับ 1 reaction ในการตัดเอนไซม์ ดังนี้ 10X buffer Tango (Fermentus) 2 µl เอนไซม์ 1FDU *Taq*I (FastDigest™ TaqI, Fermentus) 1 µl dH_2O 17 µl และ PCR product 6 µl และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดยใช้ 60% Polyacrylamide gel ที่กระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที และย้อมเจลด้วยวิธี SYBR Green Gel ภายหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า ดีเอ็นเอของแม่สุกรที่มีจีโนไทป์ AA จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีความยาว 101 คู่เบส ขณะที่จีโนไทป์ BB จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีความยาว 78 คู่เบส และสำหรับแม่สุกรที่มีจีโนไทป์ AB จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีความยาว 78 และ 101 คู่เบส

ข้อมูลการให้ผลผลิตและข้อมูลทางพันธุกรรมของยีน *PEG1* ถูกนำมาตรวจสอบความถูกต้องและความเชื่อมโยงของข้อมูล พร้อมทั้งศึกษาโครงสร้างข้อมูลของประชากรในภาพรวม โดยใช้ชุดคำสั่ง proc univariate ในโปรแกรม SAS (2003) จากนั้น ชุดข้อมูลที่ผ่านการตรวจสอบ (1,879 ข้อมูล) ถูกนำไปวิเคราะห์การกระจายตัวทางพันธุกรรมของยีน *PEG1* โดยใช้ชุดคำสั่ง proc freq ในโปรแกรม SAS (2003) แต่เนื่องด้วยลักษณะ MM และ STB มีการกระจายตัวของข้อมูลแบบไม่ปกติ ดังนั้น ในการศึกษาปัจจัยเสี่ยง ที่มีอิทธิพลต่อการเกิดลักษณะดังกล่าว จึงพิจารณาจำแนกกลุ่มข้อมูลตามลักษณะการปรากฏของ MM และ STB ภายในครอกนั้นๆ ในการศึกษานี้จึงจำแนกข้อมูลการเกิด MM ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่ปรากฏ MM และกลุ่มที่มี MM ปรากฏอย่างน้อย 1 ตัวต่อครอก และใช้เกณฑ์ดังกล่าวในการจำแนกกลุ่มสำหรับ STB เช่นเดียวกัน ส่งผลให้ข้อมูลการสูญเสียลูกสุกรมีการกระจายตัวแบบ binomial ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ Binary Logistic Regression เพื่อประมาณค่า chi-square ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้ชุดคำสั่ง proc logistic ในโปรแกรม SAS (2003)

ปัจจัยเสี่ยงที่ศึกษา ได้แก่ กลุ่มพันธุ์ (พันธุ์แท้แลนด์เรซและยอร์คเชียร์) ลำดับครอก ซึ่งถูกจำแนกเป็น

3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 1 แม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 2 ถึง 5 (กลุ่มเปรียบเทียบ) และแม่สุกรที่มีลำดับครอกมากกว่า 5 จำนวนลูกสุกรแรกคลอด จำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแม่สุกรที่มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดน้อยกว่า 10 ตัว (กลุ่มเปรียบเทียบ) แม่สุกรที่มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอด 10 ถึง 12 ตัว และแม่สุกรที่มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมากกว่า 12 ตัวต่อครอก สำหรับฤดูกาลที่แม่สุกรคลอดลูกถูกจำแนกเป็น 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูหนาว เริ่มตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ (อุณหภูมิระหว่าง 13 ถึง 29°C และมีความชื้นสัมพัทธ์ 70%) ฤดูร้อน ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงเดือนมิถุนายน (อุณหภูมิระหว่าง 20 ถึง 34°C และมีความชื้นสัมพัทธ์ 68%) และฤดูฝน ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม (อุณหภูมิระหว่าง 23 ถึง 31°C และมีความชื้นสัมพัทธ์ 83%) ซึ่งจำแนกตามกลุ่มการจัดการที่ผันแปรไปตามปี-ฤดูกาลที่คลอดลูก (14 กลุ่ม) โดยเริ่มตั้งแต่ฤดูฝนของปี พ.ศ. 2549 จนถึงฤดูหนาวของปี พ.ศ. 2553

การที่ยีน *PEG1* มีการแสดงออกของยีนแบบ paternally expressed gene ซึ่งแสดงออกตามพันธุกรรมที่ได้รับจากพ่อเท่านั้น แต่ด้วยข้อจำกัดของข้อมูลที่ไม่ทราบจีโนไทป์ของพ่อ-แม่พันธุ์ของแม่สุกรที่ศึกษา ทำให้ไม่สามารถระบุได้ว่าอัลลีลใดที่ได้รับมาจากพ่อ ดังนั้น แม่สุกรที่มีจีโนไทป์แบบ AB จึงไม่ถูกนำมาวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้ โดยผู้วิจัยได้พิจารณาการแสดงออกของอัลลีลแทนการพิจารณาจากรูปแบบจีโนไทป์ ซึ่งจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แม่สุกรที่มีการแสดงออกของอัลลีล A (จีโนไทป์แบบ AA) และแม่สุกรที่มีการแสดงออกของอัลลีล B (จีโนไทป์แบบ BB) ส่งผลให้ชุดข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาเป็นชุดข้อมูลจากแม่สุกรจำนวน 173 ตัว (912 ข้อมูล) ซึ่งประกอบด้วย แม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ 107 ตัว (567 ข้อมูล) และแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ 66 ตัว (345 ข้อมูล) มีค่าเฉลี่ยสำหรับลักษณะ MM และ STB ประมาณ 0.53 (SD = 1.45) และ 1.12 (SD = 1.56) ตัว ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยสำหรับจำนวนลูกสุกรแรกคลอด เท่ากับ 11.92 (SD = 3.36) ตัว ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 30 ตัวต่อครอก และจากผลการทดสอบเบื้องต้น พบว่า กลุ่มพันธุ์และการแสดงออกของอัลลีลของยีน *PEG1* มีอิทธิพลร่วมกันในการส่งผลต่อการปรากฏของ MM (P = 0.0274) แต่ไม่มีอิทธิพลต่อการปรากฏของ STB (P = 0.2368) ดังนั้น การวิเคราะห์อิทธิพลของปัจจัยเสี่ยงของลักษณะที่ศึกษาจึงใช้หุ่นจำลองทางสถิติที่แตกต่างกัน โดยปัจจัยกำหนดที่ถูกทดสอบในการศึกษาสำหรับการปรากฏ MM ได้แก่ อิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์และการแสดงออกของอัลลีลของยีน *PEG1* ลำดับครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอด และปี-ฤดูกาลที่คลอด ในขณะที่ หุ่นจำลองทางสถิติสำหรับการศึกษาการปรากฏของ STB ประกอบด้วย กลุ่มพันธุ์ การแสดงออกของอัลลีลของยีน *PEG1* ลำดับครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอด และปี-ฤดูกาลที่คลอดลูกของแม่สุกร เป็นปัจจัยกำหนด

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาการกระจายตัวทางพันธุกรรมของยีน *PEG1* ในภาพรวมทั้งประชากร พบว่า ประชากรที่ศึกษามีค่าความถี่จีโนไทป์แบบ AB สูงที่สุด (0.51) รองลงมา คือ จีโนไทป์แบบ BB (0.35) และ AA (0.14) ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาในแต่ละกลุ่มพันธุ์ พบว่า การกระจายตัวของรูปแบบทางพันธุกรรมสำหรับยีน *PEG1* มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มพันธุ์ (ตารางที่ 1) โดยแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซมีค่าความถี่จีโนไทป์แบบ BB สูงที่สุด ในขณะที่แม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์มีสัดส่วนของจีโนไทป์แบบ AB สูงที่สุด จากข้อจำกัดของชุดข้อมูลที่ไม่สามารถระบุแน่ชัดเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนแบบ paternally expressed gene ของแม่สุกรที่มีจีโนไทป์แบบ AB จึงทำให้ความถี่ของอัลลีลของชุดข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์จริง มีค่าแตกต่างจากความถี่ของอัลลีลในชุดข้อมูลทั้งหมด ของประชากรในภาพรวม แต่ยังเป็นไปในทิศทางเดิม โดยความถี่อัลลีล B ของชุดข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์จริงมีค่าสูงขึ้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.72 (124 ตัว) และความถี่อัลลีล A มีค่าเท่ากับ 0.28 (49 ตัว) โดยความถี่ของอัลลีล A ที่มีค่าลดลง อาจเนื่องมาจากอัลลีล A ส่วนใหญ่ปรากฏอยู่ในรูปแบบจีโนไทป์ที่เป็น heterozygous ซึ่งมีค่าความถี่สูงในประชากร เมื่อข้อมูลที่มีจีโนไทป์แบบ AB ถูกตัดออกจากชุดข้อมูล จึงส่งผลให้ความถี่อัลลีล A ลดลงตามไปด้วย

อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์จากผลการศึกษานี้ต้องพิจารณาการแสดงออกของยีน *PEG1* ผ่านการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างพ่อ-แม่ไปสู่ตัวลูก การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความแตกต่างทางพันธุกรรมเพื่อจำแนกรูปแบบจีโนไทป์ของพ่อพันธุ์ที่ใช้จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการศึกษาในอนาคต ที่อาจช่วยให้การใช้ประโยชน์จากชุดข้อมูลมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ผลการทดสอบปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ที่ส่งผลต่อการเกิดลักษณะ MM และ STB พบว่า ลำดับครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอดต่อครอก และปี-ฤดูกาลที่คลอดลูกของแม่สุกร ส่งผลต่อการเกิด MM และ STB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) ขณะที่ความแตกต่างระหว่างแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซและยอร์คเชียร์ ไม่มีอิทธิพลต่อการเกิด STB เช่นเดียวกับรูปแบบอัลลีลที่แสดงออกของยีน *PEG1* (P > 0.05) แต่การเกิด MM เป็นผลจากการได้รับอิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์กับอัลลีลของยีน *PEG1* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

เมื่อพิจารณาค่า Oods ratio (OR) ในแต่ละลำดับครอกของแม่สุกรสำหรับการเกิด MM และ STB พบว่า กลุ่มแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 1 และแม่สุกรที่มีลำดับครอกมากกว่า 5 มีความเสี่ยงในการสูญเสียลูกสุกรสูงกว่ากลุ่มแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 2 ถึง 5 (กลุ่มเปรียบเทียบ) ดังตารางที่ 2 โดยความเครียดที่เกิดจากการคลอดลูกครั้งแรกและขนาดของช่องคลอดที่มีขนาดเล็กในแม่สุกรสาว (กลุ่มแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 1) อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้มีความเสี่ยงในการสูญเสียลูกสุกรสูง (Pejsak *et al*., 1984) เมื่อเทียบกับแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 2 ถึง 5 ที่มีความสมบูรณ์พันธุ์เต็มที่ และผ่านประสบการณ์คลอดลูกมาแล้ว ทำให้สามารถปรับตัวและคลายความเครียดจากการคลอดลงได้ และสำหรับการสูญเสียที่เกิดขึ้นในแม่สุกรที่มีลำดับครอกสูง อาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางสรีรวิทยาและความสมบูรณ์พันธุ์ ที่ผันแปรไปตามอายุของแม่สุกรที่เพิ่มขึ้น (Leenhouwers *et al*., 1999) ซึ่งมีแนวโน้มเป็นไปตามวงจรชีวิตในการให้ผลผลิตของแม่สุกรที่มักมีอัตราการสูญเสียสูงในการคลอดลูกครั้งแรก แล้วลดลงในลำดับครอกถัดมา และกลับมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งเมื่อแม่สุกรมีอายุเพิ่มขึ้น หากพิจารณาเปรียบเทียบค่า OR ของทั้งสองลักษณะในแต่ละกลุ่มลำดับครอกพบว่า กลุ่มแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่มากกว่า 5 มีความเสี่ยงในการเกิด STB สูงกว่า MM ซึ่งอาจเป็นผลจากกล้ามเนื้อมดลูกที่หย่อนยาน และไร้ประสิทธิภาพของแม่สุกรที่มีอายุมาก และผ่านการคลอดลูกมาแล้วหลายครั้ง (Pejsak *et al*., 1984; Correa *et al*., 2007) ลักษณะเช่นนี้จึงส่งผลให้แม่สุกรใช้ระยะเวลานานในการคลอด ซึ่งถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเกิด STB (van Dijk *et al*., 2005) ผลการศึกษานี้ขัดแย้งกับรายงานวิจัยในประเทศบราซิลที่พบความแตกต่างของแนวโน้มการเกิด MM และ STB (Borges *et al*., 2005) ในแม่สุกรที่คลอดลูกครั้งแรกซึ่งมีความเสี่ยงในการเกิด STB ต่ำ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในลำดับครอกถัดมา (Lucia Jr. *et al*., 2002) ซึ่งอาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อมและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร ที่ส่งผลให้รูปแบบการให้ผลผลิตในแต่ละกลุ่มประชากรแตกต่างกัน

ตารางที่ 1 ความถี่จีโนไทป์และอัลลีลของยีน *PEG1* ของแม่สุกรในประชากรที่ศึกษา

กลุ่มพันธุ์	จำนวน	ความถี่จีโนไทป์			ความถี่อัลลีล	
		AA	AB	BB	A	B
แลนด์เรซ	193	0.07 (14)*	0.45 (86)	0.48 (93)	0.30	0.70
ยอร์คเชียร์	157	0.22 (35)	0.58 (91)	0.20 (31)	0.51	0.49
รวม	350	0.14 (49)	0.51 (177)	0.35 (124)	0.39	0.61

* จำนวนแม่สุกรในแต่ละรูปแบบจีโนไทป์

จำนวนลูกสุกรแรกคลอด เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับการสูญเสียลูกสุกร โดยแม่สุกรที่มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอด 10 ถึง 12 ตัว จะมีความเสี่ยงในการเกิด MM และ STB สูงกว่าแม่สุกรที่มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดน้อยกว่า 10 ตัวต่อครอก ประมาณ 1.55 และ 2.83 เท่าตามลำดับ และเมื่อแม่สุกรมีขนาดครอกที่ใหญ่ขึ้น จะส่งผลให้ความเสี่ยงในการสูญเสียลูกสุกรสูงขึ้น ตามจำนวนลูกสุกรต่อครอกที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Borges *et al.* (2005) ที่พบว่า แม่สุกรที่มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมากกว่า 10 ตัว ขึ้นไป จะมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิด MM และ STB รายงานผลการวิจัยนี้ยังแสดงค่า OR ที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับประชากรที่ศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งอาจเนื่องมาจากความแตกต่างของพื้นฐานทางพันธุกรรมที่เฉพาะตัวของแม่สุกรที่ศึกษา ความเสี่ยงของการเกิด STB ถูกพบมากกว่าการเกิด MM ในประชากรที่ศึกษาในแม่สุกรที่มีขนาดครอกใหญ่อาจเป็นผลจากระยะเวลาในการคลอดที่ยาวนานขึ้น จึงส่งผลให้เกิด STB เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าการเกิด MM ซึ่งเป็นลูกสุกรที่ตายในระหว่างการอุ้มท้อง ในขณะที่ STB คือลูกสุกรที่ตายในช่วงก่อนคลอดเล็กน้อยหรือระหว่างการคลอด ด้วยเหตุนี้ระยะเวลาการคลอดจึงไม่มีอิทธิพลต่อการเกิด MM นอกจากนี้ การเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกสุกรแรกคลอดต่อครอกที่สัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิด MM ที่เพิ่มขึ้นนั้น อาจอธิบายจากสรีระและความสมบูรณ์ของแม่สุกร โดยลูกสุกรแรกคลอดที่มีจำนวนมากต่อครอก แสดงให้เห็นถึงปริมาณของตัวอ่อนที่แออัดอยู่ภายในมดลูกในระหว่างการอุ้มท้อง อันเกิดจากความจำกัดของช่องว่างภายในมดลูกของตัวแม่สุกร ที่อาจมีพื้นที่ไม่เพียงพอสำหรับตัวอ่อนในการเจริญพัฒนาไปเป็นลูกสุกรที่สมบูรณ์ (Muirhead and Alexander, 1997) ทำให้ตัวอ่อนตายและกลายเป็น MM ซึ่งจะปรากฏให้เห็นเมื่อแม่สุกรคลอดลูก พร้อมกับลูกสุกรปกติ

จากภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่า การสูญเสียลูกสุกรในแต่ละกลุ่มการจัดการและสภาพแวดล้อมมีความผันแปรอย่างไม่มีรูปแบบที่ชัดเจน การเกิด MM มีความผกผันไปตามปี-ฤดูกาลที่คลอด ในขณะที่การเกิด STB มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไปตามช่วงเวลาที่ศึกษา

ตารางที่ 2 ค่า Oods ratio ของแต่ละปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อการเกิดลูกสุกรมัมมี่และลูกสุกรตายแรกคลอด

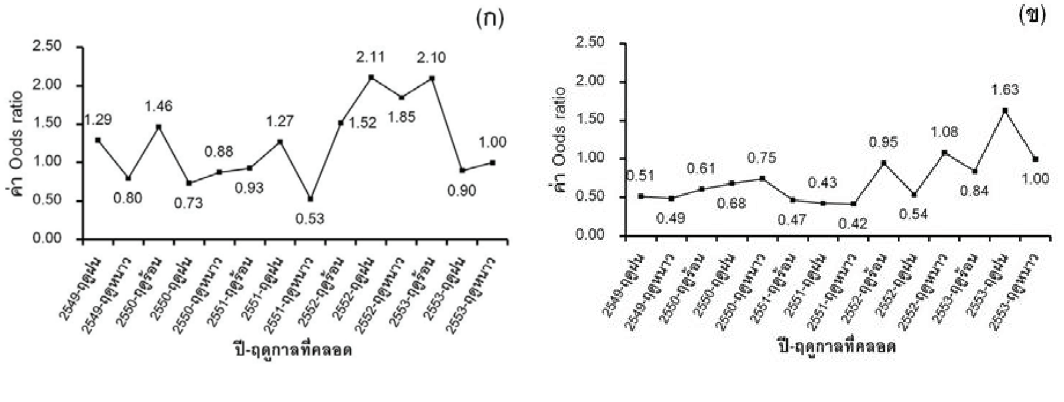
ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับ	ลูกสุกรมัมมี่			ลูกสุกรตายแรกคลอด		
		อัตราส่วนออดส์	ช่วงความเชื่อมั่นที่ระดับนัยสำคัญ 0.05	ค่า P-value	อัตราส่วนออดส์	ช่วงความเชื่อมั่นที่ระดับนัยสำคัญ 0.05	ค่า P-value
กลุ่มพันธุ์	แลนด์เรซ	-	-	-	0.93	0.67 - 1.29	0.67
	ยอร์คเชียร์*	-	-	-	1.00	-	-
ยีน *PEG1*	อัลลีล A	-	-	-	0.91	0.64 - 1.31	0.63
	อัลลีล B*	-	-	-	1.00	-	-
ลำดับครอก	1	1.35	0.84 - 2.19	0.98	1.28	0.86 - 1.90	0.62
	2 - 5*	1.00	-	-	1.00	-	-
	มากกว่า 5	1.82	1.19 - 2.76	0.05	2.04	1.33 - 3.13	0.01
ลูกสุกรแรกคลอด	น้อยกว่า 10*	1.00	-	-	1.00	-	-
(ตัวต่อครอก)	10 - 12	1.55	0.92 - 2.63	0.96	2.83	1.89 - 4.23	0.02
	มากกว่า 12	2.36	1.44 - 3.88	< 0.001	3.78	2.55 - 5.61	< 0.001

* กลุ่มเปรียบเทียบของแต่ละปัจจัย

โดยแม่สุกรที่คลอดลูกในช่วงฤดูฝนของปี พ.ศ. 2552 มีความเสี่ยงในการเกิด MM สูงที่สุด (OR = 2.11) และมีความเสี่ยงต่ำที่สุดสำหรับการเกิด MM ในช่วงฤดูหนาวของปี พ.ศ. 2551 (OR = 0.53) ขณะที่ค่า OR สำหรับการเกิด STB มีค่าอยู่ในช่วง 0.42 (ฤดูหนาวของปี พ.ศ. 2551) ถึง 1.63 (ฤดูฝนของปี พ.ศ. 2553) ทั้งยังพบว่า แม่สุกรที่คลอดลูกในฤดูหนาวของปี พ.ศ. 2551 จะมีความเสี่ยงในการสูญเสียลูกสุกรต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับปี-ฤดูกาลอื่นๆ ซึ่งอาจเป็นผลจาก 72.38% ของแม่สุกรที่คลอดลูกในฤดูหนาวของปี พ.ศ. 2551 เป็นแม่สุกรที่มีลำดับครอกที่ 2 ถึง 5 ซึ่งมีแนวโน้มในการสูญเสียต่ำ อีกทั้งความผันแปรของอุณหภูมิ และระบบการจัดการที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละปี อาจส่งผลให้แม่สุกรเครียด (Pejsak, 1984) และแสดงออกเป็นพฤติกรรมที่ก้าวร้าวทำให้แม่สุกรอยู่ในสภาวะคลอดยากที่สัมพันธ์กับอัตราการเกิด STB ที่เพิ่มขึ้น (Cozler *et al.*, 2002) ด้วยเหตุนี้ การควบคุมการจัดการฟาร์มในช่วงที่แม่สุกรอุ้มท้องจนกระทั่งคลอด โดยคำนึงถึงความต้องการด้านโภชนาการและสภาพแวดล้อมในคอกคลอดของแม่สุกร อาจช่วยลดความเครียดที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการอุ้มท้อง ซึ่งอาจส่งผลให้การสูญเสียลูกสุกรในประชากรลดลงได้

ค่า OR ที่ปรากฏในแต่ละกลุ่มพันธุ์สำหรับการเกิด STB มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) ซึ่งอาจเนื่องมาจากสุกรทั้งสองพันธุ์เป็นพันธุ์ที่นิยมใช้ในการผลิตสุกรสายแม่ที่มีศักยภาพใกล้เคียงกัน แต่อาจมีความโดดเด่นต่างกันไปในแต่ละด้าน ความแตกต่างด้านพันธุ์ของแม่สุกรจึงไม่มีบทบาทต่อความเสี่ยงในการเกิด STB นอกจากนี้ รูปแบบอัลลีลของยีน *PEG1* ยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ไม่ส่งผลต่อการเกิด STB เนื่องด้วยอิทธิพลของยีนดังกล่าวมีความสำคัญต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาในช่วงการพัฒนาของตัวอ่อนและรก ซึ่งเป็นระยะที่เสี่ยงต่อการเกิด MM จึงไม่ส่งผลต่อการเกิด STB ที่มักเกิดขึ้นในระหว่างการคลอดหรือก่อนคลอดเล็กน้อย จึงอาจกล่าวได้ว่า อิทธิพลทางพันธุกรรมไม่ส่งผลต่อการเกิด STB สำหรับการศึกษาในประชากรนี้

กลุ่มพันธุ์และรูปแบบอัลลีลของยีน *PEG1* มีอิทธิพลร่วมกัน ต่อการเกิด MM กล่าวคือ แม่สุกรที่ต่างกลุ่มพันธุ์กัน จะตอบสนองต่อการแสดงออกของอัลลีลที่แตกต่างกัน โดยแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซที่มีการแสดงออกของอัลลีล A จะมีความเสี่ยงในการเกิด MM ลดลงประมาณ 9.17% (ค่า OR = 0.91 ช่วงความเชื่อมั่น 1.15 ถึง 3.28) เมื่อเทียบกับแม่สุกรที่มีการแสดงออกของอัลลีล B ในกลุ่มพันธุ์เดียวกัน อย่างไรก็ตาม ค่า OR ที่มีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงให้เห็นว่า ความแตกต่างของรูปแบบอัลลีลไม่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มขึ้น หรือลดลงของความเสี่ยงในการเกิด MM มากนักในแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ แต่ให้ผลที่ต่างกันชัดเจนในแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ โดยแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ที่มีการแสดงออกของอัลลีล A จะมีความเสี่ยงในการเกิด MM สูงกว่าแม่สุกรที่มีการแสดงออกของอัลลีล B ประมาณ 1.94 เท่า (ช่วงความเชื่อมั่น 1.15 ถึง 3.28) ซึ่งผลการตอบสนองต่ออัลลีลที่ต่างกัน



ภาพที่ 1 ค่า Oods ratio ในแต่ละกลุ่มปี-ฤดูกาลที่คลอดของแม่สุกรสำหรับการเกิด MM (ก) และ STB (ข)

อาจเป็นผลจากพื้นฐานพันธุกรรมของพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา ที่มีแหล่งที่มาและกระบวนการคัดเลือกในการพัฒนาศักยภาพทางพันธุกรรมของแต่ละพันธุ์ที่ต่างกัน หรืออาจเป็นผลจากความสัมพันธ์ระหว่างอัลลีลบริเวณตำแหน่งที่ศึกษานี้กับตำแหน่งอื่นๆ ของยีน ที่อาจมีบทบาทต่อการเกิด MM นอกจากนี้ ขนาดของประชากรที่ศึกษาที่มีขนาดเล็ก และจำนวนข้อมูลที่ต่างกันของทั้งสองกลุ่มพันธุ์ อันเกิดจากข้อจำกัดของรูปแบบการแสดงออกของยีน อาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลให้แม่สุกรตอบสนองต่อการแสดงออกของอัลลีลได้แตกต่างกัน

บทบาทของยีน *PEG1* ที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์สุกร ยังไม่มีการรายงานที่ชัดเจน แต่จากการศึกษาของ Isler (2003) ในประชากรสุกรของประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่า แม่สุกรที่มีการแสดงออกของอัลลีล B บริเวณตำแหน่งเดียวกันนี้ มีจำนวนไข่ที่ผสมติดและ MM สูงกว่าแม่สุกรที่มีการแสดงออกของอัลลีล A ซึ่งอาจเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนไข่ผสมติด ที่ส่งผลให้ปริมาณพื้นที่ภายในมดลูกต่อตัวอ่อนหนึ่งตัวมีขนาดลดลง ทำให้เกิดสภาวะที่แออัดภายในมดลูก ซึ่งเอื้อต่อการเกิด MM (Muirhead and Alexander, 1997) ผลการศึกษาของ Isler (2003) สอดคล้องกับผลการศึกษาในประชากรสุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ แต่ให้ผลตรงกันข้ามในแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ อันเนื่องมาจากอิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์กับอัลลีลที่แสดงออกของยีน *PEG1* ที่พบในประชากรที่ศึกษา โดยความแตกต่างระหว่างประชากรที่เกิดขึ้น อาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อมและโครงสร้างประชากรที่ต่างกัน ดังนั้น การใช้ความแตกต่างของอัลลีลบริเวณตำแหน่งที่ศึกษานี้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาคัดเลือกแม่สุกรพันธุ์ทดแทน เพื่อลดความเสี่ยงในการสูญเสีย MM จึงควรคำนึงถึงกลุ่มพันธุ์ของแม่สุกรที่ตอบสนองต่อการแสดงออกของอัลลีลที่ต่างกันด้วย

อย่างไรก็ตาม จากความสัมพันธ์ระหว่างอัลลีล A กับความเสี่ยงในการเกิด MM ที่เพิ่มขึ้นในแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ สามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาคัดเลือกแม่สุกรพันธุ์ทดแทน เพื่อลดความเสี่ยงในการเกิด MM ได้ โดยการจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างพ่อพันธุ์ที่มีจีโนไทป์แบบ BB (อัลลีล B) กับแม่พันธุ์ที่มีจีโนไทป์แบบใดก็ได้ เพื่อผลิตแม่สุกรรุ่นลูกที่มีการแสดงออกตามอัลลีล B ที่ได้รับจากพ่อ ซึ่งมีความเสี่ยงในการเกิด MM ต่ำ นอกจากนี้ เกษตรกรอาจคัดเลือกสุกรเพศเมียภายในฟาร์มเพื่อนำมาใช้เป็นแม่พันธุ์ทดแทน โดยการคัดเลือกสุกรเพศเมียที่มีจีโนไทป์แบบ BB หรือ AB (ในกรณีที่ทราบว่าอัลลีล B นั้นได้รับมาจากพันธุกรรมของพ่อ)

อิทธิพลของลำดับครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอด และปี-ฤดูกาลที่แม่สุกรคลอดลูก ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดSTB และ MM ทำให้เกษตรกรสามารถนำผลการศึกษามาใช้กำหนดแนวทางปฏิบัติ สำหรับการปรับปรุงระบบการจัดการฟาร์ม เพื่อเพิ่มสมรรถภาพการให้ผลผลิตของแม่สุกรได้อย่างมีแบบแผนชัดเจน และสัมฤทธิ์ผลรวดเร็วยิ่งขึ้น นอกจากการดำเนินแผนงานตามที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้ว การจัดการทางพันธุกรรมยังเป็นอีกทางหนึ่งที่อาจช่วยลดความเสี่ยงในการเกิด MM โดยการใช้ประโยชน์จากความสัมพันธ์ระหว่างอัลลีลของยีน *PEG1* กับการเกิด MM ในการคัดเลือกแม่สุกรพันธุ์ทดแทนที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งเป็นแนวทางที่เพิ่มประสิทธิภาพและช่วยลดระยะเวลาในการคัดเลือกได้

สรุป

อิทธิพลของลำดับครอก จำนวนลูกสุกรแรกคลอดต่อครอก และปี-ฤดูกาลที่คลอดของแม่สุกร ส่งผลต่อการเกิด MM และ STB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ขณะที่ความแตกต่างของกลุ่มพันธุ์ และการแสดงออกของอัลลีลของยีน *PEG1* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด STB แต่อิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์และการแสดงออกของอัลลีลของยีน *PEG1* ส่งผลต่อการเกิด MM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยแม่สุกรพันธุ์แท้ยอร์คเชียร์ที่มีการแสดงออกของอัลลีล A มีความเสี่ยงในการเกิดลูกสุกรมัมมี่สูงกว่าอัลลีล B 1.94 เท่า แต่ในแม่สุกรพันธุ์แท้แลนด์เรซ อัลลีล A มีความเสี่ยงในการเกิดลูกสุกรมัมมี่ต่ำกว่าอัลลีล B ประมาณ 0.91 เท่า

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บริษัท โฟร์ที จำกัด สำหรับการอนุเคราะห์ข้อมูลและตัวอย่างเลือดของแม่สุกร ที่ใช้ในการศึกษา และห้องปฏิบัติการกลางคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน สำหรับเครื่องมือวิทยาศาสตร์ และสถานที่ในการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม

เอกสารอ้างอิง

Borges, V. F., M. L. Bernardi, F. P. Bortolozzo and I. Wentz. 2005. Risk factors for stillbirth and foetal mummification in four Brazilian swine herds. Prev. Vet. Med. 70: 165-176.

Correa, J. C. S., A. Alzina-Lopez and J. L. S. Rivera. 2007. Evaluation of three models and risk factors associated with stillborn piglets in Yucatan, Mexico. Tec. Pecu. Mex. 45(2): 227-236.

Cozler, Y. L., C. Guyomarc'h, X. Pichodo, P. Quinio and H. Pellois. 2002. Factors associated with stillborn and mummified piglets in high-prolific sows. Anim. Res. 51: 261-268.

Echeverri, H. M. 2004. Selection for placental efficiency in swine. D.Ph. Thesis, Missouri-Columbia University. 94 p.

Imboonta, N., L. Rydhmer and S. Tumwasorn. 2007. Genetic parameters for reproduction and production traits of Landrace sows in Thailand. J. Anim. Sci. 85: 53-59.

Isler, B. J. 2003. An investigation of the associations between several candidate genes and reproductive traits in swine. D.Ph. Thesis, Ohio State University. 250 p.

Johnson, R. K., M. K. Nielsen and D. S. Casey. 1999. Responses in ovulation rate embryonal survival and litter traits in swine to 14 generations of selection to increase litter size. J. Anim. Sci. 77: 541-557.

Leenhouwers, J. I., T. Van der Lende and E. F. Knoll. 1999. Analysis of stillbirth in different lines of pig. Liv. Prod. Sci. 57: 243-253.

Lefebvre, L., S. Viville, S. C. Barton, F. Ishino, E. B. Keverne and M. A. Surani. 1998. Abnormal maternal behavior and growth retardation associated with loss of the imprinted gene Mest. Nat Genet. 20: 163-169.

Lucia Jr., T., M. N. Correa, J. C. Deschamps, I. Bianchi, M. A. Donin, A. C. Machado, W. Meincke and J. E. M. Matheus. 2002. Risk factors for stillbirths in two swine farms in the south of Brazil. Prev. Vet. Med. 53: 285-292.

Muirhead, M. R. and T. J. L. Alexander. 1997. Managing Pig Health and the Treatment of Disease. 5M Enterprises, Sheffield. 608 p.

Pejsak, Z. 1984. Some pharmacological methods to reduce intrapartum death of piglets. Pig News Inf. 5: 35-37.

SAS, 2003. SAS OnlineDoc 9.1.3 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

van Dijk, A. J., B. T. T. M. van Rens, T. van der Lende and M. A. M. Taverne. 2005. Factors affecting duration of the expulsive stage of parturition and piglet birth intervals in sows with uncomplicated, spontaneous farrowings. Theriogenology 64: 1573-1590.

Xu, C., L. Su, Q. Zhou, C. Li and S. Zhao. 2007. Imprinting Analysis of the Porcine *MEST* gene in 75 and 90 day placentas and prenatal tissues. Biochemistry and Cell biology 39(8): 633-639.