

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูล

สัตว์ทดลองและวิธีดำเนินการทดลอง

ไก่พื้นเมืองไทยเพศผู้และเพศเมียพันธุ์ประดู่หางดำอายุ 16-18 สัปดาห์ซึ่งทำการซื้อจากฟาร์มไก่พื้นเมืองเอกชน โดยไก่ทั้งหมดถูกนำมาเลี้ยงไว้ในโรงเรือนที่มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง และมีมืด 12 ชั่วโมง (12 hours of light and 12 hours of darkness, 12L: 12D) เพื่อให้ไก่ได้ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ จัดอาหารและน้ำให้ไก่ได้กินอย่างเสรี (*ad libitum*) ไก่ทุกตัวจะมีเบอร์ติดปีกไก่ (wing band) เพื่อบอกหมายเลขของไก่ เมื่อไก่อายุ 22 สัปดาห์ จะถูกนำไปใช้ในการทดลอง โดยการแยกเลี้ยงตามการทดลอง ดังนี้

การศึกษาระดับ steroid hormones ในแต่ละระยะของวงจรการสืบพันธุ์ในไก่พื้นเมืองไทยเพศเมีย

ไก่พื้นเมืองไทยเพศเมีย 32 ตัว เพศผู้ 4 ตัว จะถูกนำมาเลี้ยงรวมกันในโรงเรือน โดยแบ่งเป็น 4 เล้า (เพศเมีย 8 ตัวต่อเพศผู้ 1 ตัว) ภายใต้ช่วงแสง 12L: 12D ทำการสังเกตระยะการสืบพันธุ์ของแม่ไก่พื้นเมืองจากพฤติกรรมที่เกิดขึ้นใน 3 ระยะการสืบพันธุ์ ดังนี้

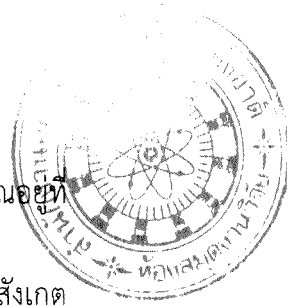
- ระยะไม่ออกไข่ (non-laying; NL) นับตั้งแต่เริ่มต้นทดลองจนกระทั่งแม่ไก่พื้นเมืองเริ่มออกไข่ฟองแรก
- ระยะการออกไข่ (laying; L) เป็นระยะที่แม่ไก่พื้นเมืองมีการออกไข่ทุกวันหรือวันเว้นวัน นับตั้งแต่แม่ไก่มีการออกไข่ฟองแรกจนถึงฟองสุดท้าย
- ระยะฟักไข่ (incubating; INC) ในระยะนี้แม่ไก่พื้นเมืองจะหยุดออกไข่และมีพฤติกรรมการนั่งรังเพื่อทำการฟักไข่
- ระยะเลี้ยงลูก (rearing; R)

ในระหว่างการทดลองแม่ไก่พื้นเมืองจำนวน 8 ตัวต่อระยะการสืบพันธุ์จะถูกเก็บตัวอย่างเลือดนำไปปั่นแยกพลาสมา เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาฮอร์โมน estrogen, progesterone และ testosterone โดยวิธี enzyme-link immunosorbent assay (ELISA)

การศึกษามลของช่วงแสงต่อระดับ steroid hormones ในไก่พื้นเมืองไทยเพศเมีย

ไก่พื้นเมืองไทยเพศเมีย 60 ตัว เพศผู้ 4 ตัว โดยการแยกเข้าไปเลี้ยงในโรงเรือนปิด (evaporative cooling system) ที่ควบคุมช่วงแสงตามกลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 16 ตัว (เพศเมีย 15 ตัวต่อเพศผู้ 1 ตัว) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 ช่วงวันยาว (long day; LD) เลี้ยงในโรงเรือนปิดที่ควบคุมโปรแกรมแสงสว่างในโรงเรือนให้อยู่ที่ แสงสว่าง 16 ชั่วโมงและมีมืด 8 ชั่วโมง (16L: 8D)
- กลุ่มที่ 2 ช่วงวันสั้น (short day; SD) เลี้ยงในโรงเรือนปิดที่ควบคุมโปรแกรมแสงสว่างในโรงเรือนให้อยู่ที่ แสงสว่าง 8 ชั่วโมงและมีมืด 16 ชั่วโมง (8L: 16D)
- กลุ่มที่ 3 ช่วงวันปกติ (normal day; ND) เลี้ยงในโรงเรือนปิดที่ควบคุมโปรแกรมแสงสว่างในโรงเรือนให้อยู่ที่ แสงสว่าง 12 ชั่วโมงและมีมืด 12 ชั่วโมง (12L: 12D)



กลุ่มที่ 4 กลุ่มควบคุม เลี้ยงในโรงเรือนเปิดภายใต้ช่วงแสงตามธรรมชาติ (โดยประมาณอยู่ที่แสงสว่าง 12 ชั่วโมง และมีมืด 12 ชั่วโมง (12L: 12D)

ไก่จะถูกเลี้ยงภายใต้ช่วงแสงที่ต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตลอดช่วงการทดลองทำการสังเกตและบันทึกพฤติกรรมของไก่พื้นเมือง เก็บเลือดไก่แต่ละตัวสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ตลอดช่วงการทดลอง เพื่อนำไปปั่นแยกพลาสมา ก่อนนำไปวิเคราะห์หาฮอร์โมน estrogen, progesterone และ testosterone โดยวิธี ELISA

สถานที่ดำเนินการทดลอง

ส่วนงานสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป็นสถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง อาคารเครื่องมือ 1 (F1) ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เป็นสถานที่เก็บตัวอย่าง และ Department of Animal Science, The Hebrew University of Jerusalem ประเทศอิสราเอล เป็นสถานที่วิเคราะห์ steroid hormones โดยวิธี ELISA

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดไก่ถูกเก็บจากเส้นเลือดดำที่ปีก (wing vein) ปริมาณตัวละ 3 ลบ.ซม. โดยเก็บใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด คือ heparin

การเก็บตัวอย่างพลาสมา

โดยการนำเลือดไก่มาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อแยกเอาพลาสมาออกจากเม็ดเลือด พลาสมาที่ได้จะถูกเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำไปทำการวิเคราะห์ฮอร์โมน

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์

ฮอร์โมน estrogen, progesterone และ testosterone ในพลาสมาถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA ตามวิธีการของ Rozenboim และคณะ (2007)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทั้งหมดจะใช้ SPSS สำหรับ windows software (version 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมน estrogen, progesterone และ testosterone ในพลาสมาของแต่ละระยะการสืบพันธุ์ และของแต่ละกลุ่มการทดลองวิเคราะห์โดยใช้ one way analysis of variance (ANOVA) ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละระยะสืบพันธุ์และแต่ละกลุ่มการทดลองโดยใช้ Tukey's Studentized Test โดยค่า P ที่น้อยกว่า 0.05 จะถือว่ามีความสำคัญทางสถิติ