

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	น
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฐ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	8
1.2 ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษา	8
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	9
2.1 ลักษณะทั่วไปของสัตว์ปีก	9
2.2 การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์	10
2.3 พันธุ์ไก่ไข่	10
2.3.1 ไก่พันธุ์แท้	10
2.3.2 ไก่ลูกผสม	12
2.3.3 ไก่ไฮ-บริด	13
2.4 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับเพศในสัตว์ปีก	15
2.5 ลักษณะ Sex-linked ในสัตว์ปีก	16
2.6 ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ปีก (Poultry immune system)	17
2.6.1 ระบบภูมิคุ้มกันปฐมภูมิ	18
2.6.2 ระบบภูมิคุ้มกันทุติยภูมิ	19
2.7 แอนติเจน (Antigen)	20
2.8 แอนติบอดี (Antibody)	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9 ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system)	21
2.9.1 Classical pathway	22
2.9.2 Alternative pathway	22
2.9.3 Lectin pathway	23
2.10 ปฏิกิริยาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxic reaction)	24
2.11 ฮอร์โมนกับการกำหนดเพศ	27
บทที่ 3 อุปกรณและวิธีการทดลอง	31
3.1 อุปกรณ์การทดลอง	31
3.1.1 สารเคมี	31
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	32
3.2 สัตว์ทดลองและการจัดการ	32
3.2.1 สัตว์ทดลอง	32
3.2.2 การจัดการด้านอาหารและน้ำ	33
3.2.3 ขนาดกรง	33
3.2.4 การชั่งน้ำหนักตัวไก่	33
3.2.5 การจัดการด้านวัคซีน	33
3.3 วิธีการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อ Male-specific antigen (MSA) ในสัตว์ทดลอง	34
3.4 การเก็บตัวอย่างซีรัม	36
3.5 การหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของเซลล์ม้าม ไก่เพศผู้, เซลล์ม้ามไก่เพศเมียและแอนติบอดีต่อ Male-specific antigen (MSA)	37
3.6 การวัดระดับแอนติบอดีต่อ Male-specific antigen (MSA) ด้วยวิธี Indirect ELISA	37
3.7 การเก็บไข่และการจัดการฟักไข่ไก่	40
3.7.1 การเก็บไข่	40
3.7.2 การจัดการฟักไข่ไก่	40

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.7.3 การคัดเพศลูกไก่	43
3.8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	44
บทที่ 4 ผลการทดลอง	45
4.1 ผลการชั่งน้ำหนักตัวไก่	45
4.2 ผลการชั่งน้ำหนักไข่ไก่	47
4.3 ผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยแอนติเจนที่จำเพาะต่อเพศผู้ (Male-specific antigen : MSA)	50
4.4 การตรวจวัดระดับความเข้มข้นของแอนติบอดีต่อ MSA ที่จำเพาะ ต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศในซีรัมของไก่แม่พันธุ์ที่เกิดจาก การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ด้วยวิธี Indirect ELISA	56
4.5 การจัดการฟักไข่ไก่	60
4.6 สัดส่วนลูกไก่เพศเมียที่เกิดขึ้นระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่ม กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA	64
บทที่ 5 วิจัยผลการทดลอง	70
5.1 สรุปผลการทดลอง	81
5.2 ข้อเสนอแนะ	83
เอกสารอ้างอิง	86
ภาคผนวก	92
ประวัติผู้เขียน	94

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1	3
ตารางที่ 1.2	4
ตารางที่ 1.3	5
ตารางที่ 1.4	6
ตารางที่ 1.5	6
ตารางที่ 3.1	34
ตารางที่ 3.2	35
ตารางที่ 3.3	40
ตารางที่ 3.4	41
ตารางที่ 4.1	46
ตารางที่ 4.2	49
ตารางที่ 4.3	51
ตารางที่ 4.4	52
ตารางที่ 4.5	53

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4.6 ผลการเปรียบเทียบอัตราการตายโคมที่เกิดขึ้นระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA	62
ตารางที่ 4.7 ผลการเปรียบเทียบอัตราการฟักออกของลูกไก่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ของการเข้าฟักทั้งหมด	63
ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบสัดส่วนลูกไก่เพศเมียที่เกิดขึ้นในกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ของการเข้าฟักทั้งหมด	66
ตารางที่ 4.9 เปรียบเทียบสัดส่วนเพศของลูกไก่ที่เกิดขึ้นในกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในแต่ละช่วงอายุของการเข้าฟัก	66
ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบสัดส่วนลูกไก่เพศเมียที่เกิดขึ้นในกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในแต่ละช่วงอายุของการเข้าฟัก	67

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1	ไก่ไข่พันธุ์โรดไอส์แลนด์แดง (Rhode Island Red) 11
ภาพที่ 2.2	ไก่ไข่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (Barred Plymouth Rock) 12
ภาพที่ 2.3	ไก่ไข่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวหงอนจักร 12
ภาพที่ 2.4	ต้นพันธุ์ (GGP) สาย C หรือไทยพลีมัทร็อค 13
ภาพที่ 2.5	แสดงโครโมโซมเพศสำหรับการกำหนดเพศในหมู่สัตว์ปีก (A) โครโมโซมเพศเมีย (B) โครโมโซมเพศผู้ 15
ภาพที่ 2.6	การผสมพันธุ์ไก่ Rhode Island Red กับ Barr Plymouth Rock เพื่อแสดงการถ่ายทอดลักษณะขนบาร์ซึ่งมีการควบคุมแบบ sex-linked 17
ภาพที่ 2.7	การกระตุ้นการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ 25
ภาพที่ 3.1	แสดงการต่อ 3 ทางกับกระบอกฉีดยาเพื่อไฮโมจิในระหว่างแอนติเจน กับ adjuvant และสิ่งที่ต้องใช้ในการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในไก่แม่พันธุ์ 35
ภาพที่ 3.2	แสดงการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในไก่แม่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (A) และไก่แม่พันธุ์ไทยพลีมัทร็อค (B) ในกลุ่มกระตุ้น 36
ภาพที่ 3.3	แสดงการเก็บตัวอย่างแอนติบอดีซีรัมหลังจากฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต่อ MSA ในแม่ไก่ 36
ภาพที่ 3.4	ขั้นตอนการวัดระดับแอนติบอดีต่อ MSA ที่จำเพาะเจาะจงต่อเพศผู้ด้วยวิธี Indirect ELISA 39
ภาพที่ 3.5	แสดงการเก็บไข่โดยเขียนเบอร์แม่ไก่ที่ให้ไข่และวันที่เก็บไข่ของทั้งสองกลุ่ม 41
ภาพที่ 3.6	แสดงการชั่งน้ำหนักไข่ไก่พร้อมทั้งจดบันทึกก่อนเข้าสู่ตู้ฟัก 41
ภาพที่ 3.7	ลูกไก่กลุ่มควบคุม (A) และลูกไก่กลุ่มกระตุ้น (B) 42
ภาพที่ 3.8	ลูกไก่ที่ได้จากไก่พ่อพันธุ์โรดไอส์แลนด์แดง (Rhode Island Red) ผสมกับ ไก่แม่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (Barred Plymouth Rock) เพศผู้ (A) เพศเมีย (B) 43
ภาพที่ 3.9	ลูกไก่ที่ได้จากไก่พ่อพันธุ์โรดไอส์แลนด์แดง (Rhode Island Red) ผสมกับ ไก่แม่พันธุ์ไทยพลีมัทร็อค (Thai Barred Plymouth Rock) หรือต้นพันธุ์ (GGP) สาย C เพศผู้ (A) เพศเมีย (B) 43

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 4.1 แสดงค่าความแตกต่างของน้ำหนักแม่ไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในแต่ละสัปดาห์หลังการกระตุ้น	47
ภาพที่ 4.2 แสดงค่าความแตกต่างของน้ำหนักไข่ไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในแต่ละสัปดาห์หลังการกระตุ้น	50
ภาพที่ 4.3 วัดผลการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในไก่แม่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (IB) และไก่แม่พันธุ์ไทยพลีมัทร็อค (ITB) ทำปฏิกิริยากับเซลล์ม้ามไก่เพศผู้ที่วัดโดยวิธี ELISA	54
ภาพที่ 4.4 วัดผลการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในไก่แม่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (IB) และไก่แม่พันธุ์ไทยพลีมัทร็อค (ITB) ทำปฏิกิริยากับเซลล์ม้ามไก่เพศเมียที่วัดโดยวิธี ELISA	55
ภาพที่ 4.5 วัดผลความต่างระหว่างเพศผู้-เพศเมีย หลังการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ในไก่แม่พันธุ์บาร์พลีมัทร็อค (IB) และไก่แม่พันธุ์ไทยพลีมัทร็อค (ITB) ที่วัดโดยวิธี ELISA	56
ภาพที่ 4.6 แสดงผลการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศในซีรัมของไก่แม่พันธุ์ที่ไม่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA (วันที่ 0)	57
ภาพที่ 4.7 แสดงผลการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศในซีรัมของไก่แม่พันธุ์ที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ครั้งที่ 1 (สัปดาห์ที่ 2)	58
ภาพที่ 4.8 แสดงผลการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศในซีรัมของไก่แม่พันธุ์ที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 4)	59
ภาพที่ 4.9 แสดงผลการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนเพศในซีรัมของไก่แม่พันธุ์ที่เกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ครั้งที่ 3 (สัปดาห์ที่ 8)	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

- ภาพที่ 4.10 แสดงระยะเวลาในการฟักออกตรงกำหนด 21 วัน กลุ่มควบคุม และกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ของการเข้าฟักทั้งหมด เมื่อแกน Y คือเปอร์เซ็นต์ลูกไก่ที่เกิด และแกน X คือระยะเวลาที่ใช้ในการฟักออก ได้แก่ ระยะเวลาในการฟักออกตรงกำหนด 21 วัน, การฟักออกช้ากว่ากำหนดไป 1 วัน, การฟักออกช้ากว่ากำหนดไป 2 วัน, การฟักออกช้ากว่ากำหนดไป 3 วัน และการฟักออกช้ากว่ากำหนดไป 4 วัน 61
- ภาพที่ 4.11 แสดงค่าความแตกต่างของลูกไก่ที่ตายโคมกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ของการเข้าฟักทั้งหมด 62
- ภาพที่ 4.12 เปรียบเทียบอัตราการฟักออกของลูกไก่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ของการเข้าฟักทั้งหมด 64
- ภาพที่ 4.13 แสดงสัดส่วนเพศของลูกไก่เพศเมียที่เกิดจากกลุ่มควบคุม และกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกัน 68
- ภาพที่ 4.14 แสดงสัดส่วนเพศของลูกไก่เพศเมียระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เกิดหลังจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ทั้ง 3 ครั้ง โดยมีผลต่อสัดส่วนเพศเมียในช่วงของการเข้าฟัก ดังนี้ การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ครั้งที่ 1 (สัปดาห์ที่ 2) มีผลต่อสัดส่วนเพศเมียในช่วงของการเข้าฟักสัปดาห์ที่ 2 การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 4) มีผลต่อสัดส่วนเพศเมียในช่วงของการเข้าฟัก สัปดาห์ที่ 4 และ 6 และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ MSA ครั้งที่ 3 (สัปดาห์ที่ 8) มีผลต่อสัดส่วนเพศเมียในช่วงของการเข้าฟักสัปดาห์ที่ 8, 10, 12, 14, 16 และ 18 69

รายการอักษรย่อ

Ab	Antibody
Ag	Antigen
BSA	Bovine serum albumin
CMI	Cellular immunity หรือ Cell-mediated immunity
H-Y	Histocompatibility-Y antigen
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FCA	Freund's complete adjuvant
FIA	Freund's incomplete adjuvant
HMI	Humoral immunity หรือ antibody mediated immunity
Ig	Immunoglobulin
IgG	Immunoglobulin G
PBS	Phosphate buffer saline
PBS-T	Phosphate buffer saline containing 0.05% Tween 20
PCR	Polymerase chain reaction
MAb	Monoclonal antibody
NK-cell	Natural killer cell
Nm	nanometer
O.D.	optical density