

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย



อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

สัตว์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ไก่พื้นเมืองเทศเมีย สายพันธุ์ผสม วัยพร้อมผสมพันธุ์ อายุประมาณ 8 เดือน – 1 ปี น้ำหนักประมาณ 1.6 – 1.8 กิโลกรัม จำนวน 20 ตัว
2. ไก่พื้นเมืองเทศผู้ สายพันธุ์ผสม วัยพร้อมผสมพันธุ์ อายุประมาณ 1.5 ปี น้ำหนักประมาณ 2.5 กิโลกรัม จำนวน 6 ตัว

อุปกรณ์

- 1) สุ่มไก่
- 2) ภาชนะสำหรับใส่อาหารและน้ำแบบแขวน
- 3) กรงไก่ ขนาด กว้าง 3 เมตร ยาว 3 เมตร สูง 2.5 เมตร
- 4) กระบอกฉีดยา Syringes ขนาด 1 มิลลิลิตร
- 5) เข็มเจาะเลือด เบอร์ 22
- 6) สำลี
- 7) เทปขาว
- 8) กระดาษป้ายสติ๊กเกอร์
- 9) อุปกรณ์สำหรับทิ้งเข็มเจาะเลือด
- 10) ถังมือยาง
- 11) หลอดเก็บเลือด Serum tube ขนาด 0.5 มิลลิลิตร
- 12) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- 13) Automatic pipette ขนาด 0.10 มิลลิลิตร
- 14) Pipette tip

- 15) เครื่องชั่งละเอียด
- 16) กล่อง freezer box
- 17) กล่องเก็บหลอดเก็บเลือด
- 18) กระดาษทิชชู
- 19) ตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง
- 20) ตารางบันทึกผลพร้อมเครื่องเขียน

สารเคมี

- 1) แอลกอฮอล์ 95%
- 2) ACTH
- 3) PBS ph 5.7

สถานที่ดำเนินการวิจัย

ฟาร์มไก่ชน บางรักย์ฟาร์ม อำเภอแม่อน จังหวัดเชียงใหม่

วิธีดำเนินการวิจัย

การปรับสภาพสัตว์ ปรับสภาพสัตว์ทดลองก่อนเริ่มทำการทดลอง 1 สัปดาห์ โดยแยกไก่เพศเมียและเพศผู้ขังในสุม ๆ ละ 1 ตัว โดยได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (ad libitum) ตลอดระยะเวลาการทดลอง หลังจากเลี้ยงและปรับสภาพเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ดำเนินการแบ่งกลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) : เลี้ยงในสภาวะปกติ ใช้ไก่เพศเมียจำนวน 5 ตัว ขังแยกสุมละ 1 ตัว

กลุ่มที่ 2 : เลี้ยงในสภาวะปกติ ฉีด ACTH 50IU/ตัว ใช้ไก่เพศเมียจำนวน 5 ตัว ขังแยกสุมละ 1 ตัว

กลุ่มที่ 3 : เลี้ยงในสภาวะปกติ ทำการผสมพันธุ์แบบฝูงเล็ก คือ ไก่เพศผู้ 1 ตัว ผสมกับไก่เพศเมีย 5 ตัว

กลุ่มที่ 4 : เลี้ยงในสภาวะปกติ ทำการผสมพันธุ์แบบก้ำวหน้า โดยใช้ไก่เพศผู้ 5 ตัว และไก่เพศเมีย 5 ตัว เพื่อทำการผสมพันธุ์แบบหนึ่งต่อหนึ่ง เมื่อไก่เพศผู้และเพศเมียผสมพันธุ์เสร็จแล้วนำไก่เพศเมียมกลับมาขังไว้ที่เดิมทันที

การเก็บเลือดและการสกัดฮอร์โมนในเลือด หลังจากที่ได้เก็บเลือดด้วยเข็มฉีดยา ACTH (กลุ่มที่ 2) และผสมพันธุ์ (กลุ่ม 3 และ 4) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงเริ่มทำการเจาะเลือดปริมาณอย่างน้อย 0.5 มิลลิลิตร ทุก 1 ชั่วโมง จากบริเวณหลอดเลือดดำใต้ปีก รวมทั้งหมด 8 ชั่วโมง โดยเก็บไว้ในหลอดเก็บเลือด (Serum tube) นำไปปั่นแยกซีรัมออกจากเม็ดเลือดด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 1,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดเก็บสารส่วนที่อยู่ด้านบน (Serum) ใส่หลอดที่ 2 ขนาดอย่างน้อย 0.3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดเก็บเลือด (Serum Tube) และเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20°C จนกระทั่งนำมาตรวจหาปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลต่อไป

การตรวจสอบระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล วิเคราะห์หาปริมาณคอร์ติซอลที่ถูกขับออกมาโดยการนำซีรัมมาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Enzyme Immunoassay แบบ Competitive ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) โดยการส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมนในสัตว์ สวนสัตว์ เชียงใหม่ จากนั้นนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบระดับคอร์ติซอลที่ได้จากกลุ่มทดลองทั้ง 4 กลุ่ม

การเก็บข้อมูลไข่ เก็บข้อมูลไข่ โดยการเก็บแบบสุ่ม ตัวละ 10 ฟอง รวมทั้งหมด 50 ฟองต่อกลุ่มการทดลอง ได้แก่

1. สีของเปลือกไข่
2. ระยะเวลาที่แม่ไก่ใช้เวลาในการฟักไข่ฟักออกเป็นตัวโดยนับจากไข่ฟองแรกที่ลูกไก่เจาะเปลือกออกจากไข่
3. น้ำหนักโดยชั่งน้ำหนักของไข่ในวันแรกที่แม่ไก่ออกไข่ ใช้เครื่องชั่งแบบละเอียด
4. ไข่มีเชื้อและไข่ไม่มีเชื้อ โดยใช้วิธีการส่องไฟด้วยไฟฉาย

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลเลือดใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยผลการทดลองถูกแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และจากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี General Linear Model (GLM) Repeated Measures ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลไข่ เช่น t-test ใช้โปรแกรม R