



ผลของการประยุกต์ใช้พลาสมาเย็นต่อลักษณะประสิทธิภาพการผลิต และการแสดงออก  
ของยีนที่เกี่ยวข้องในไก่พื้นเมืองลูกผสม



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนครสวรรค์  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาสัตวศาสตร์  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนครสวรรค์

ผลของการประยุกต์ใช้พลาสติกใช้พลาสติกมาเย็บต่อลักษณะประสิทธิภาพการผลิต และการแสดงออก  
ของยีนที่เกี่ยวข้องในไก่พื้นเมืองลูกผสม



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาสัตวศาสตร์  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "ผลของการประยุกต์ใช้พลาสมาเย็นต่อลักษณะประสิทธิภาพการผลิต และการ  
แสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในไก่พื้นเมืองลูกผสม"

ของ ศิริภัสสร ถิ่นปา

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

### คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ถิรนนท์ ศรีภักษ์ชัย)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เจริญสุข)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สนธยา นุ่มท้วม)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรศักดิ์ แก้วก่อง)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาคภูมิ ทรัพย์สุนทร)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี อินญาวิเลิศ)

อนุมัติ

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรรองกาญจน์ ชูทิพย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



<b>ชื่อเรื่อง</b>	ผลของการประยุกต์ใช้พลาสมาเย็นต่อลักษณะประสิทธิภาพการผลิตและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในไก่พื้นเมืองลูกผสม
<b>ผู้วิจัย</b>	ศิริภัสสร ถิ่นปา
<b>ประธานที่ปรึกษา</b>	รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เจริญสุข
<b>กรรมการที่ปรึกษา</b>	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สนธยา นุ่มท้วม รองศาสตราจารย์ ดร.วรศักดิ์ แก้วก่อง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาคภูมิ ทรัพย์สุนทร
<b>ประเภทสารนิพนธ์</b>	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สัตวศาสตร์, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2566
<b>คำสำคัญ</b>	พลาสมาเย็น, ไก่พื้นเมืองลูกผสมประดู่หางดำ, ประสิทธิภาพการผลิต, การแสดงออกของยีน, กระบวนการตีเอ็นเอเมทิลเลชัน

### บทคัดย่อ

ไก่พื้นเมืองไทยเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมสูงในปัจจุบัน เนื่องจากให้เนื้อที่แน่น มีรสชาติดี เหมาะกับอาหารไทยหลากหลายชนิด และจัดเป็นอาหารสุขภาพเนื่องจากมีปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าไก่น้ำสายพันธุ์ทางการค้า ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภค และส่งผลให้ราคาเนื้อไก่พื้นเมืองสูงกว่าไก่น้ำทั่วไป 2-3 เท่า แต่อย่างไรก็ตาม ไก่พื้นเมืองไทยมีข้อด้อยอยู่ที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ และใช้เวลาในการเลี้ยงนานกว่า 9-11 สัปดาห์ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับไก่น้ำสายพันธุ์ทางการค้าที่เลี้ยงในรูปแบบอุตสาหกรรมจะใช้เวลาเพียงแค่ 4-6 สัปดาห์ แม้การเพิ่มระดับโปรตีนในอาหารให้สูงกว่าร้อยละ 20 ไม่ได้ช่วยให้ไก่พื้นเมืองโตเร็วขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมไว้ จึงทำให้การเลี้ยงไก่พื้นเมืองในระดับอุตสาหกรรมมีต้นทุนการเลี้ยงที่สูง และให้ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ด้วยเหตุนี้หากมีการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่ที่ปลอดภัย ที่สามารถช่วยให้ไก่พื้นเมืองมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้น มีประสิทธิภาพการผลิตด้านต่างๆ ดีขึ้น มาประยุกต์ใช้ จะเป็นวิธีที่สามารถลดช่วยต้นทุนในการเลี้ยงและเพิ่มการผลิตเนื้อไก่พื้นเมืองได้อย่างมีคุณภาพ โดยไม่มีสารตกค้างและไม่ส่งผลเสียต่อผู้บริโภค

ซึ่งเทคโนโลยีดังกล่าวก็คือเทคโนโลยีพลาสมาเย็น โดยพลาสมาจัดได้ว่าเป็นสถานะที่ 4 ของสสาร เนื่องจากมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างไปจากสถานะอื่นอย่างชัดเจน พลาสมาประกอบด้วยอนุภาคที่มีทั้งประจุบวกและลบ ในสัดส่วนที่ทำให้ประจุสุทธิเป็นศูนย์ การอยู่ร่วมกันของอนุภาคเหล่านี้มีสภาพเป็นกลาง (Quasineutral) พลาสมาสามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยแหล่งพลังงานหลายรูปแบบ เช่น แหล่งกำเนิดไฟฟ้าแบบกระแสตรง พลังงานจากคลื่นไมโครเวฟหรือคลื่นความถี่วิทยุ

และรังสียูวี เป็นต้น ซึ่งการปล่อยพลังงานเหล่านี้ในปริมาณที่มากสู่ก๊าซที่มีสถานะเป็นกลางจนแตกตัวเป็นไอออน (Ions) อิเล็กตรอน (Electron) โฟตอน (Photon) และอนุมูลอิสระ (Free radicals) ภายใต้สภาวะปกติ ไอออนและอิเล็กตรอนเหล่านี้จะมารวมตัวกันใหม่ได้อย่างรวดเร็ว แต่ในสภาวะที่มีการจ่ายพลังงานจะทำให้อนุภาคในพลาสมาไม่เสถียรโดยเฉพาะอิเล็กตรอนที่มีพลังงานจลน์สูง และสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ ส่งผลให้เกิดการชนกันระหว่างอิเล็กตรอนกับอนุภาคต่างๆ ที่อยู่รอบข้าง เช่น อะตอม ซึ่งในระหว่างการชนจะทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกมาจากอะตอม เมื่ออิเล็กตรอนหลุดออกมาเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมากจะทำให้ก๊าซแตกตัว และกลายเป็นพลาสมาในที่สุด พลาสมาเย็นสามารถผลิตได้โดยวิธีพลาสมาเจ็ตที่ความดันบรรยากาศ (Atmospheric pressure plasma jet) การดีสชาร์จเหนือผิวของเหลว ดีสชาร์จในของเหลว และดีสชาร์จไอของเหลว โดยวิธีการดีสชาร์จข้ามฉนวน (Dielectric Barrier Discharge; DBD)

โดยการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้พลาสมาเย็นแบบไดอิเล็กทริกแบร์เรียร์ดีสชาร์จต่อประสิทธิภาพการผลิตและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในไก่พื้นเมืองลูกผสม การทดลองนี้ทำโดยใช้ไข่ฟักของไก่พื้นเมืองลูกผสม ที่ถูกกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นที่อายุไข่ฟักวันที่ 4 ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมที่มีการเริ่มพัฒนาของตัวอ่อน โดยใช้พลาสมาเย็น 3 ระดับ คือ 10 20 และ 30 วินาที เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น จากนั้นวางแผนการทดลองแบบ  $4 \times 2$  Factorial in CRD โดยมี 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาของการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น และเพศ แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 8 ซ้ำ เพศผู้และเมียอย่างละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 13 ตัวรวมเป็น 104 ตัว/ทรีทเมนต์ โดยไก่ทุกตัวจะได้รับน้ำ และอาหารอย่างเต็มที่ (ad libitum) ทำการเลี้ยง 63 วัน และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับเมื่อไก่ฟักออก และที่อายุ 63 วัน กลุ่มละ 8 ตัว ทั้ง 2 ครั้งรวมเป็น 64 ตัว เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน นอกจากนี้ชั่งน้ำหนักไก่และอาหารทุกสัปดาห์ เพื่อศึกษาลักษณะประสิทธิภาพการผลิต

จากการศึกษาพบว่าช่วงอายุ 0 – 42 วัน พบว่าน้ำหนักตัวที่ 42 วัน และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 และ 20 วินาที มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและปริมาณการกินได้ของเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 20 วินาที มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ช่วงอายุ 0 – 63 วัน พบว่าน้ำหนักตัวที่ 63 วัน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 และ 20 วินาที มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนเพศเมียในกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับพลาสมาเย็นไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

การศึกษากการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตพบว่า ที่อายุ 63 เมื่อ

วิเคราะห์แบบแยกเพศ พบว่าการแสดงออกของยีน *GH* ในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 และ 30 วินาที และเพศเมียที่ได้รับพลาสมา 20 วินาที การแสดงออกของยีน *IGF1* ในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 20 และ 30 วินาที และการแสดงออกของยีน *IGF1R* ในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 20 วินาที มีระดับการแสดงออกที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมไม่ได้รับพลาสมา ( $P < 0.05$ ) และเมื่อวิเคราะห์แบบไม่แยกเพศแล้วพบว่าการแสดงออกของยีน *GH* และ *IGF1* ในกลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 20 และ 30 วินาที มีระดับการแสดงออกที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่รับพลาสมา ( $P < 0.05$ )

ส่วนการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน คือ *DNMT1*, *DNMT3a* และ *DNMT3b* พบว่ากลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น ที่ระดับ 10 20 และ 30 วินาที มีการแสดงออกของยีน *DNMT3b* ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.0014$ ,  $P < 0.0001$ ,  $P = 0.003$  ตามลำดับ) การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าพลาสมาเย็นมีผลต่อลักษณะประสิทธิภาพการ โดยเกี่ยวข้องกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน โดยเป็นการเติมหมู่เมทิลที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 5 ของเบส ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA methyltransferase (DNMT) ซึ่งดีเอ็นเอเมทิลเลชันมักเกิดกับไซโทซีนที่ตามด้วยกวานีน (guanine; G) หรือที่เรียกว่า CpG dinucleotides ส่งผลต่อการทำงานของ transcription factor ต่างๆ แล้วยับยั้งการแสดงออกของยีนเป้าหมายนั้น ซึ่งทั้งนี้อาจมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตได้



<b>Title</b>	THE EFFECT OF COLD PLASMA APPLICATION ON PRODUCTIVE PERFORMANCES AND ASSOCIATED GENE EXPRESSION IN CROSSBRED THAI NATIVE CHICKEN
<b>Author</b>	Siripatsorn Thinpa
<b>Advisor</b>	Associate Professor Rangsun Charoensook, Ph.D.
<b>Co-Advisor</b>	Assistant Professor Sonthaya Numthuam, Ph.D. Associate Professor Worasak Kaewkong, Ph.D. Assistant Professor Pakpoom Subsoontorn, Ph.D.
<b>Academic Paper</b>	M.S. Thesis in Animal Science - (Type A2), Naresuan University, 2023
<b>Keywords</b>	Clod plasma, Crossbred Thai native chicken, Productivity performance, Gene expression, DNA methylation

### ABSTRACT

At present, Thai native chickens are the most popular economic animals due to their firm texture and good taste, making them, suitable for various Thai dishes. They are classified as healthy food due to their lower fat content than commercial breeds of broilers. For this reason, they are in demand in the consumer market and their meat prices are 2-3 times higher than that of general broilers as a result. The disadvantages of Thai native chickens are that they have low growth rates. It takes 9-11 weeks longer than commercial broiler breeds compared to industrial broiler breeds, which take only 4-6 weeks. Even when increasing the protein level in the feed above 20%, it does not significantly help native chickens to grow faster. This is due to the influence of controlled genetic traits. Therefore, raising native chickens at the industrial level has high costs and insufficient production to meet the market demand. For this reason, the introduction of safe modern technology that can help native chickens have a faster growth rate can improve production efficiency in various fields. Technology can be applied as a way to reduce the cost of raising native chicken and increase local chicken meat production with



quality without residues or adverse effects on consumers.

The proposed technology is cold plasma. Plasma is the fourth state of matter due to its distinctive characteristics that are conspicuously different from other states. Plasma consists of particles that are both positively and negatively charged in proportion to zero net charges. The coexistence of these particles is neutral. Plasma can be formed using a variety of energy sources, such as a direct current source. Energy from microwaves or radio frequencies and UV radiation, releases this energy in large quantities into neutral gases until they are ionized, electrons, photons, and free radicals under normal conditions, these ions and electrons will reunite quickly but under energized conditions. Plasma particles are unstable, mainly electrons with high kinetic energy, and can move freely. This results in collisions between electrons and the surrounding particles, such as atoms, which knock electrons out of the atoms during collisions. When the electrons are released, the number of electrons is greatly increased, causing the gas to break down. and eventually, become plasma. Cold plasma can be produced by the atmospheric pressure plasma jet method and discharged in the liquid and liquid vapor by the cross-insulating discharge method (Dielectric Barrier Discharge; DBD).

The purpose of this study was to determine the effect of cold plasma on productive performance and associated gene expression in crossbred Thai native chickens. The experiment was conducted using the hatching eggs of a hybrid native chicken. The egg were stimulated by cold plasma on the 4th day of incubation, which is the optimal stage for the onset of embryo development. Three levels of cold plasma were used at, 10, 20, and 30 sec compared with the unstimulated group that used cold plasma. Subsequently, the 4 x 2 Factorial in the CRD experiment was planned with 2 factors, namely cold plasma stimulation duration, and sex, divided into 4 experimental groups with, 13 males and 13 females each and 8 repeats each. With 104 characters/treatment, all chickens received water and were fully fed (ad libitum) for 63 days. Liver tissue samples were collected at hatching and 63 days of age from, 8 chicks per group, both times for a total of 64 chicks assessed for gene

expression studies. Also, the chickens were fed and weighed weekly. to study the characteristics of production efficiency.

The study found that between the ages of 0 – 42 days, body weight at 42 days, and ADG in males of the 10 and 20 sec of cold plasma group was higher than in the other groups. The weight gain and feed intake of the males in the 20-sec of cold plasma group was higher than in the other groups statistically significant ( $P<0.05$ ) between 0 and 63 days of body weight at 63 days, body weight gain and mean daily growth rate were found in males in the 10 and 20 s cold plasma group. higher than other groups There was no statistically significant difference ( $P<0.05$ ). Females in the cold plasma treated and non-treated groups were not statistically different ( $P>0.05$ ).

At 63 days, expression of *GH* in the cold plasma-treated males was found at 10 and 30 sec and the plasma-treated females at 20 sec, *IGF1* in the cold plasma-treated males at 10, 20, and 30 sec, and *IGF1R* in the 20-sec cold plasma-treated males showed lower levels than the non-plasma treated control group ( $P<0.05$ ). *IGF1* in the cold plasma treated group 10, 20, and 30 sec showed lower expression levels than the plasma untreated control group ( $P<0.05$ ).

This study showed that cold plasma influences efficiency characteristics, in which DNA methylation adds a methyl group to the 5th carbon position of the base, which is mediated by the enzyme DNA methyltransferase (DNMT), affects the work of various transcription factors, and then inhibits the expression of the target gene. This may affect the expression of genes involved in growth.

## ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ เจริญสุข ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่ามาเป็นทีปรึกษา พร้อมทั้งให้ทั้งคำแนะนำ ตลอดจนระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการวิทยานิพนธ์อัน ประกอบไปด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ถิรนนท์ ศรีภักษ์ชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สนทยา นุ่มท้วม รองศาสตราจารย์ ดร.วรศักดิ์ แก้วก่อง อาจารย์ ดร.ภาคภูมิ ทรัพย์สุนทร ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ถ่ายทอดความรู้ แนวคิด และวิธีการตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิ และผู้เชี่ยวชาญทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำทำให้วิทยานิพนธ์นี้ ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบ พระคุณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และอุทยานวิทยาศาสตร์ภาคเหนือ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Science and Technology Park, Chiang Mai University) สถาบันการจัดการปัญญาภิวัฒน์ และบริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด มหาชน และศูนย์วิจัยและนวัตกรรม อาหารสัตว์ ซีพีเอฟ ที่ช่วยเหลือ สนับสนุน ให้ความอนุเคราะห์ และอำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูล การทำวิจัยนี้ ซึ่งโครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยและ นวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (เลขที่สัญญา N41B650190)

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ของผู้วิจัยที่ให้การสนับสนุน และให้กำลังใจ ในทุกๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา

ขอขอบคุณนางสาวธิติมา เพ็ชรคง นางสาวรุ่งทิวา ใจมาศรี นายวัชรินทร์ อัมทองกลาง นางสาวอรปรียา โชติ นายนิทัศน์ วิชาสีทธิ์ นางสาวรณิกา เกลี้ยงทิพย์ นางสาวเอื้องพร สังคต พี ๑ เพื่อนและน้องนิสิตสาขาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำและส่งเสริมกำลังใจ นอกจากนี้ยังมีผู้ให้ความช่วยเหลืออีกหลายท่าน ซึ่งผู้วิจัยไม่สามารถกล่าวนามได้หมดในที่นี้ได้ จึงขอขอบทุกท่านเหล่านั้นไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

คุณค่าทั้งหลายที่ได้รับจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุก ๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะมีประโยชน์ต่อการพัฒนาการเลี้ยงไก่พื้นเมืองไม่มากนักน้อย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
ประกาศคุณูปการ .....	ฌ
สารบัญ .....	ญ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ฒ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	3
สมมุติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารอ้างอิงและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ประวัติความเป็นมาของไก่พื้นเมืองไทย.....	4
เทคโนโลยีพลาสติก.....	5
1. ประเภทของพลาสติก.....	6
2. การเกิดพลาสติก.....	7
การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีพลาสติกทางการเกษตร.....	9
1. การทำลายแบคทีเรีย เชื้อรา และจุลินทรีย์.....	9

2. การงอกและเจริญเติบโตของเมล็ด .....	11
3. การผลิตปุ๋ยสัตว์ .....	12
ยีนและการแสดงออกของยีน (Gene and Gene Expression).....	13
1. การถอดรหัส (Transcription) .....	14
2. การแปลรหัส (Translation).....	15
กลไกการควบคุมการแสดงออกของยีน.....	15
กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน .....	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย .....	18
อุปกรณ์และเครื่องมือ .....	18
สารเคมีและเอนไซม์.....	19
สารละลาย.....	19
การศึกษาผลของพลาสมาเย็นต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต .....	20
1. สัตว์ทดลองและการวางแผนการทดลอง .....	20
2. การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต.....	22
3. การศึกษาลักษณะซาก .....	22
การศึกษาผลของพลาสมาเย็นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต และ กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันด้วยเทคนิค Quantitative Real-Time PCR .....	23
1. การสกัด RNA จากตัวอย่างเนื้อเยื่อ .....	23
2. การสังเคราะห์ cDNA.....	24
3. การศึกษาระดับการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค End-point PCR.....	24
4. การแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real – Time PCR .....	24
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ .....	26

สถานที่ทำการวิจัย และรวบรวมข้อมูล.....	26
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย.....	26
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	27
ผลการศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองลูกผสมประดู่หางดำ.....	27
ผลการศึกษาลักษณะซาก.....	38
ผลการศึกษาการแสดงออกของยีน.....	40
1. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต.....	40
2. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตีเอ็นเอเมทิลเลชัน.....	50
เปรียบเทียบผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ.....	64
บทที่ 5 บทสรุป.....	66
สรุปผลการวิจัย.....	66
ข้อเสนอแนะ.....	66
บรรณานุกรม.....	68
ภาคผนวก.....	70
ประวัติผู้วิจัย.....	109



## สารบัญตาราง

	หน้า
Table 1 Non-Thermal plasma machine features .....	21
Table 2 Primer sequences for Real-time PCR.....	25
Table 3 Effect of cold plasma on growth performance at 0-21 days .....	35
Table 4 Effect of cold plasma on growth performance at 0-42 days .....	36
Table 5 Effect of cold plasma on growth performance at 0-63 days .....	37
Table 6 Effect of cold plasma on carcass trait.....	39
Table 7 Effect of cold plasma on growth relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old (male-female).....	41
Table 8 Effect of cold plasma on growth relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old.....	42
Table 9 Effect of cold plasma on DNA methylation relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old (male-female).....	53
Table 10 Effect of cold plasma on DNA methylation relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old.....	54
Table 11 Return over feed cost in male and female Thai native chicken at 63 day-old .....	65
Table 12 Return over feed cost in Thai native chicken at 63 day-old.....	65
Table 13 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 0 วัน แยกเพศ.....	94
Table 14 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 0 วัน ไม่แยกเพศ.....	96



Table 15 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 63 วัน แยกเพศ.....	97
Table 16 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 63 วัน ไม่แยกเพศ.....	99
Table 17 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 0 วัน แยกเพศ.....	100
Table 18 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 0 วัน ไม่แยกเพศ.....	102
Table 19 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 63 วัน แยกเพศ.....	104
Table 20 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 63 วัน ไม่แยกเพศ.....	106

## สารบัญภาพ

	หน้า
Figure 1 The four main states of matter.....	6
Figure 2 Structure of Dielectric barrier discharge.....	8
Figure 3 Plasma mechanism (left) and phospholipid structure of bacterial cell membrane (right).....	10
Figure 4 Central dogma.....	14
Figure 5 DNA methylation.....	16
Figure 6 The composition of the cold plasma machine stimulates the incubation of eggs.....	20
Figure 7 Experimental execution diagram.....	21
Figure 8 21-day-old chickens, control group.....	27
Figure 9 21-day-old chickens, treat-plasma 10 second.....	28
Figure 10 21-day-old chickens, treat-plasma 20 second.....	28
Figure 11 21-day-old chickens, treat-plasma 30 second.....	29
Figure 12 42 day-old chickens, control group.....	29
Figure 13 42 day-old chickens, treat-plasma 10 second.....	30
Figure 14 42-day-old chickens, treat-plasma 20 second.....	30
Figure 15 42-day-old chickens, treat-plasma 30 second.....	31
Figure 16 63 day-old chickens, control group.....	31
Figure 17 63 day-old chickens, treat-plasma 10 second.....	32
Figure 18 63 day-old chickens, treat-plasma 20 second.....	32

Figure 19 63 day-old chickens, treat-plasma 30 second.....33

Figure 20 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher’s least significant difference (LSD) test .....43

Figure 21 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher’s least significant difference (LSD) test .....44

Figure 22 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher’s least significant difference (LSD) test.....45

Figure 23 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 63 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher’s least significant difference (LSD) test .....46

Figure 24 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 63 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents

an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test .....47

Figure 25 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test.....48

Figure 26 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 0 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test .....55

Figure 27 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 0 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test.....56

Figure 28 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 0 day-old in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test.....57

Figure 29 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 63 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test .....58

Figure 30 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 63 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test .....59

Figure 31 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 63 day-old in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test .....60

Figure 32 End-point PCR study (A) is GH expression in liver tissue on 63 day-old, (B) IGF1 expression in liver tissue on 63 day-old and (C) DNMT3b expression in liver tissue on 0 day-old .....60

Figure 33 The hypothesis of Non-thermal plasma technology on DNA methylation. ● represent methylated cytosine, and ○ represent unmethylated cytosine.....61

Figure 34 ภาพรวมผลการทดลองใช้เทคโนโลยีพลาสมาเย็นต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก และการแสดงออกของยีนในไก่พื้นเมืองลูกผสม .....63

Figure 35 ทำความสะอาดโรงเรือน .....90

Figure 36 เตรียมน้ำและอาหารช่วง 0-4 วันแรก และคัดเพศลูกไก่ก่อนนำไปใส่ห้องทดลอง .....90

Figure 37 การให้น้ำและอาหารในช่วงกกไก่.....91

Figure 38 การให้น้ำและอาหารในช่วง 4 – 14 วัน .....91

Figure 39 การตัดแต่งซากไก่.....92

Figure 40 การเก็บตัวอย่าง.....92

# บทที่ 1

## บทนำ

### ที่มาและปัญหา

ไก่พื้นเมืองไทยเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมสูงในปัจจุบัน เนื่องจากให้เนื้อที่แน่น มีรสชาติดี เหมาะกับอาหารไทยหลากหลายชนิด และจัดเป็นอาหารสุขภาพเนื่องจากมีปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า (Jaturasitha et al., 2008) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภค และส่งผลให้ราคาเนื้อไก่พื้นเมืองสูงกว่าไก่เนื้อทั่วไป 2-3 เท่า โดยเฉพาะในช่วงเทศกาลสำคัญ อาทิเช่น ปีใหม่และตรุษจีน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ไก่พื้นเมืองไทยมีข้อด้อยอยู่ที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ และใช้เวลาในการเลี้ยงนานกว่า 9-11 สัปดาห์ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้าที่เลี้ยงในรูปแบบอุตสาหกรรมจะใช้เวลาเพียงแค่ 4-6 สัปดาห์ แม้การเพิ่มระดับโปรตีนในอาหารให้สูงกว่าร้อยละ 20 ไม่ได้ช่วยให้ไก่พื้นเมืองโตเร็วขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมไว้ (อิติมา เพ็ชรคง, 2560) จึงทำให้การเลี้ยงไก่พื้นเมืองในระดับอุตสาหกรรมมีต้นทุนการเลี้ยงที่สูง และให้ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ด้วยเหตุนี้หากมีการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่ที่ปลอดภัย ที่สามารถช่วยให้ไก่พื้นเมืองมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้น มีประสิทธิภาพการผลิตด้านต่าง ๆ ดีขึ้น มาประยุกต์ใช้ จะเป็นวิธีที่สามารถลดช่วยต้นทุนในการเลี้ยง และเพิ่มการผลิตเนื้อไก่พื้นเมืองได้อย่างมีคุณภาพ โดยไม่มีสารตกค้างและไม่ส่งผลเสียต่อผู้บริโภค

ซึ่งเทคโนโลยีดังกล่าวก็คือเทคโนโลยีพลาสมาเย็น โดยพลาสมาจัดได้ว่าเป็นสถานะที่ 4 ของสสาร เนื่องจากมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างไปจากสถานะอื่นอย่างชัดเจน พลาสมาประกอบด้วยอนุภาคที่มีทั้งประจุบวกและลบ ในสัดส่วนที่ทำให้ประจุสุทธิเป็นศูนย์ การอยู่ร่วมกันของอนุภาคเหล่านี้มีสภาพเป็นกลาง (Quasineutral) พลาสมาสามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยแหล่งพลังงานหลายรูปแบบ เช่น แหล่งกำเนิดไฟฟ้าแบบกระแสตรง พลังงานจากคลื่นไมโครเวฟหรือคลื่นความถี่วิทยุ และรังสียูวี เป็นต้น ซึ่งการปล่อยพลังงานเหล่านี้ในปริมาณที่มากสู่ก๊าซที่มีสถานะเป็นกลางจนแตกตัวเป็นไอออน (Ions) อิเล็กตรอน (Electron) โฟตอน (Photon) และอนุมูลอิสระ (Free radicals) ภายใต้สภาวะปกติ ไอออนและอิเล็กตรอนเหล่านี้จะมารวมตัวกันใหม่ได้อย่างรวดเร็ว แต่ในสภาวะที่มีการจ่ายพลังงานจะทำให้อนุภาคในพลาสมาไม่เสถียรโดยเฉพาะอิเล็กตรอนที่มีพลังงานจลน์สูง และสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เกิดการชนกันระหว่างอิเล็กตรอนกับอนุภาคต่าง ๆ ที่อยู่รอบข้าง เช่น อะตอม ซึ่งในระหว่างการชนจะทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกมาจากอะตอม เมื่ออิเล็กตรอน







### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้เทคโนโลยีพลาสติกชีวภาพในไข่ฟักของไก่พื้นเมืองลูกผสมต่อลักษณะประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก
2. เพื่อศึกษาผลของการใช้เทคโนโลยีพลาสติกชีวภาพในไข่ฟักของไก่พื้นเมืองลูกผสมต่อการแสดงออกของยีนที่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต และกระบวนการตีเอ็นเอเมธิลเลชัน

### ขอบเขตการวิจัย

ใช้ไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้งหมด 416 ตัว ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสติกชีวภาพในวันที่ 4 ของการฟัก ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 63 วัน โดยบันทึกน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารที่กิน ทุกสัปดาห์เพื่อคำนวณน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้ เก็บตัวอย่างซากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง นอกจากนี้เก็บตัวอย่างเมื่อแรกฟักและที่อายุ 63 วัน เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต และการเกิดตีเอ็นเอเมธิลเลชัน งานวิจัยในครั้งนี้ได้ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมอาหารสัตว์ บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด มหาชน และ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

### สมมุติฐานของการวิจัย

การใช้พลาสติกชีวภาพสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองลูกผสม ประคองน้ำหนักได้

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงข้อมูลพื้นฐานและระดับของเทคโนโลยีพลาสติกชีวภาพที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้งาน และเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและการนำเทคโนโลยีดังกล่าวไปประยุกต์ใช้เป็นเทคโนโลยีสีเขียวต่อไปในอนาคต

## บทที่ 2

### เอกสารอ้างอิงและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ประวัติความเป็นมาของไก่พื้นเมืองไทย

ไก่พื้นเมืองโดยทั่วไปมักเรียกว่า ไก่บ้าน มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Gallus domesticus* ซึ่งไก่พื้นเมืองจัดเป็นสัตว์ที่อยู่เคียงคู่กับวิถีชีวิตและความเป็นอยู่ของมนุษย์มาอย่างยาวนาน ในทางตอนใต้ของประเทศไทยมีการเลี้ยงไก่กันมาประมาณกว่า 3,000 ปี ซึ่งมีคนไทยอาศัยอยู่ด้วย เมื่อมีการอพยพลงใต้ก็นำพาไก่พื้นเมืองมาด้วย เพราะไก่พื้นเมืองมีคุณสมบัติที่ดี คือ มีขนาดตัวพอเหมาะในการบริโภคในครัวเรือน ขนย้ายง่าย ไก่พื้นเมืองนอกจากมีรสชาติเนื้ออร่อยยังเลี้ยงง่าย มีความทนทานต่อสภาพแร้นแค้นในชนบท สามารถผสมพันธุ์และฟักไข่ขยายพันธุ์ได้เองตามสภาพธรรมชาติ มีสัญชาตญาณรักษาตัวรอดจากศัตรูต่าง ๆ มีความต้านทานต่อโรคและพยาธิภายนอกต่าง ๆ ดีกว่าไก่ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, และมนต์ชัย ดวงจินดา, 2555) แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงไก่กันอย่างจริงจังนั้นเริ่มมาเมื่อประมาณร้อยกว่าปีนี่เอง และสิ่งที่จะช่วยให้การเลี้ยงไก่แพร่หลายในอดีต คือ การชนไก่ ซึ่งเป็นได้ทั้งเกมกีฬาและการพนัน ที่นับว่าเป็นสิ่งจูงใจของนักเลี้ยงไก่ทั่วไป ต่อมามนุษย์มีความต้องการอาหารเพิ่มมากขึ้น เนื้อและไข่ของไก่ซึ่งมีรสชาติอร่อย ให้คุณค่าทางอาหารสูงจึงได้รับความนิยมเป็นอย่างยิ่ง ทำให้มีการพัฒนาสายพันธุ์ไก่เรื่อยมา จนกระทั่งมีการเลี้ยงขยายพันธุ์ไปทั่วโลก (รังสรรค์ เจริญสุข, 2562)

ไก่พื้นเมืองในชนบทหมู่บ้านต่าง ๆ มีหลากหลายพันธุ์ เช่น ไก่แจ้ ไก่กู่ ไก่ตะเภา ไก่เบตง และไก่ชน โดยทั่วไปส่วนใหญ่แล้ว ไก่พื้นเมืองในหมู่บ้านจะเป็นสายพันธุ์ไก่ชน สังเกตได้จากแม่ไก่จะมีขนสีดำ หน้าดำและแข้งดำ หงอนหิน แต่จะมีพันธุ์บางส่วนที่มีสีเทา สีทอง แต่หงอนก็ยังเป็นหงอนหิน ซึ่งก็เป็นลักษณะหงอนของไก่ชนอยู่ดี เหตุที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ไก่ชน เพราะว่าไก่ชนจะมีรูปร่างใหญ่และยาว เจริญเติบโตได้ดีและแม่พันธุ์ก็ไข่ดก เนื่องมาจากนักผสมพันธุ์ไก่ชนได้คัดเลือกลักษณะดีเด่นไว้อย่างต่อเนื่องนับร้อยปีมาแล้ว เกษตรกรเพื่อนบ้านจะขอซื้อ ขอยืมหรือขอไปขยายพันธุ์แบบเป็นคนรู้จักมันคุ้นกันและกัน ก็ทำให้สายพันธุ์ศาสตร์ พบว่าไก่พื้นเมืองในหมู่บ้านทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่เลี้ยงปล่อยตามธรรมชาติการเจริญเติบโตในระยะอายุ 4 เดือนแรก เฉลี่ยใกล้เคียงกันมาก คือ เติบโตวันละประมาณ 9-10 กรัมเท่านั้น แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองเหล่านี้เป็นสายพันธุ์ไก่ชนจาก 17 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่การปรับปรุงพันธุ์ไม่ได้เน้นในด้านกรชนเก่งแต่เน้นในด้านการเจริญเติบโต และไข่ดกเพื่อให้สามารถขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว สำหรับไก่ชนไทย

แท้สีขนแยกได้หลากหลายถึง 17 สีขน เช่น เหลืองหางขาว ประดู่หางดำ เหลืองเลา ประดู่เลา แสมดำ เป็นต้น

โดยไก่ประดู่หางดำถือเป็นไก่พื้นเมืองสายพันธุ์หนึ่งที่เป็นที่นิยมนำมาเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์เพื่อการบริโภคเนื้อ เพราะเป็นสายพันธุ์ไก่ที่มีปากสีดำ อุมใหญ่ โดยปากจะคล้ายปากนกแก้ว ปากบนมีร่องน้ำทั้งสองข้าง ระหว่างร่องน้ำจะเป็นสันราง ตา ตาสีประดู่ หรือแดง อมม่วง หรือตาออกสีดำ หรือสีแดง หงอน หงอนหินไม่มีจักเลย สร้อยคอ สร้อยคอ สีประดู่ยาวประป่า ปีกใหญ่ยาว สร้อยปีก สีเดียวกับสร้อยคอ สร้อยหลังสีประดู่ยาวระย้าประกัน ขน ขนลาตัวขนปีกและหางสีดำ กะลวยหางดำ โคนขาใหญ่ หน้าอก หน้าอกกว้าง และยาวเนื้อเต็มแน่น ขาแข็ง เล็บและเดือยสีดำ เพศเมียสีเดียวกับเพศผู้แต่ไม่มีสร้อย น้ำหนักตัวของไก่ประดู่หางดำ เพศผู้ที่อายุ 16 สัปดาห์ ในสภาพการเลี้ยงแบบหลังบ้าน ( $1,766 \pm 211.3$  กรัม) สูงกว่าน้ำหนักไก่เพศผู้ของสายพันธุ์อื่น ๆ เล็กน้อย ในขณะทำการเจริญเติบโตเมื่อเลี้ยงในโรงเรือนและให้อาหารเต็มที่ เมื่ออายุ 16 สัปดาห์ มีน้ำหนักมากกว่าการเลี้ยงแบบหลังบ้าน โดยไก่พื้นเมืองเพศผู้และเพศเมียมีน้ำหนักตัว 1,678–1,868 กรัม และ 1,254–1,416 กรัม ตามลำดับ (อุดมศรี อินทรโชติ และคณะ, 2551)

### เทคโนโลยีพลาสมาเย็น

พลาสมา (Plasma) หมายถึง ก๊าซที่อยู่ในสภาพแตกตัวเป็นไอออน ซึ่งถือเป็นสถานะหนึ่งของสสาร (ภาพ 1) โดยมีจำนวนอิเล็กตรอนและไอออนบวกในจำนวนเกือบเท่ากัน รวมทั้งประกอบด้วยอนุภาคก๊าซที่เป็นกลาง ได้แก่ โมเลกุลหรืออะตอมที่อยู่ในสภาพถูกกระตุ้น ซึ่งโดยรวมแล้วจะมีสภาพเป็นกลางทางไฟฟ้า พลาสมาสามารถเกิดได้โดยการให้สนามไฟฟ้าปริมาณมากแก่ก๊าซที่เป็นกลาง เมื่อพลังงานส่งผ่านไปยังอิเล็กตรอนอิสระมากพอ จะทำให้อิเล็กตรอนอิสระชนกับอะตอมและทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอะตอม กระบวนการนี้เรียกว่ากระบวนการแตกตัวเป็นไอออน (ionization) ซึ่งจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้จำนวนอิเล็กตรอนที่หลุดออกมานี้เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมากซึ่งจะทำให้ก๊าซแตกตัว และกลายเป็นพลาสมาในที่สุด พลาสมามีความแตกต่างจากสถานะของแข็ง สถานะของเหลว และสถานะก๊าซ โดยมีเงื่อนไข 3 ประการ ในเรื่องดังต่อไปนี้ คือ ความยาวคลื่นเดอบาย จำนวนอนุภาค และความถี่พลาสมา ซึ่งทำให้พลาสมามีความจำเพาะเจาะจงที่แตกต่างจากสถานะอื่นออกไป

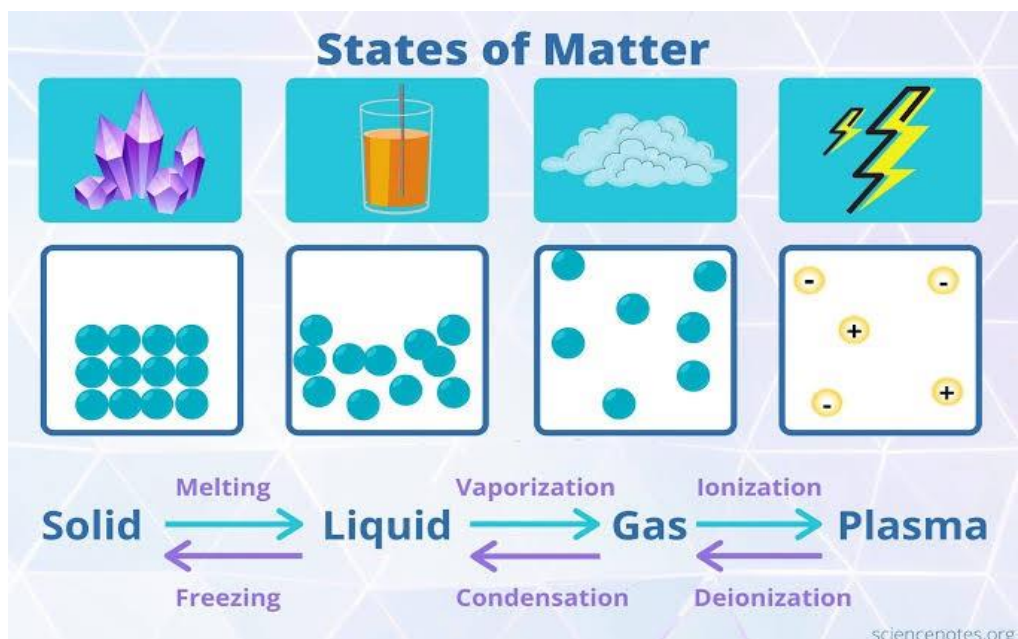


Figure 1 The four main states of matter

ที่มา: [www. https://sciencenotes.org/states-of-matter](https://sciencenotes.org/states-of-matter)

คำว่าพลาสมาในฟิสิกส์ หมายถึง ตัวกลางที่แตกตัวเป็นไอออนบางส่วนโดยปกติจะเป็นก๊าซที่สำคัญพลาสมาไม่เพียงแต่ผลิตอิเล็กทรอนิกส์และไอออนต่าง ๆ เท่านั้น แต่ยังรวมถึงอะตอมและโมเลกุลที่เป็นกลาง (ไม่มีประจุ) ด้วย เช่น อนุภาคลิเธียมที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา และอะตอมที่ถูกกระตุ้นด้วยอิเล็กตรอนอิสระซึ่งมีปฏิกิริยาทางเคมีสูง และมีความสามารถในการปล่อยรังสี UV อุลตราไวโอเล็ต และส่วนประกอบของก๊าซตลอดจนความแรง และระยะเวลาพัลส์ของสนามไฟฟ้ากำหนดองค์ประกอบที่แน่นอนของพลาสมา ในระบบที่มนุษย์สร้างขึ้นพลาสมามักจะถูกสร้างขึ้นโดยการปล่อยประจุไฟฟ้าและโดยทั่วไปสามารถจำแนกได้ตามอุณหภูมิของก๊าซ

### 1. ประเภทของพลาสมา

พลาสมาแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ พลาสมาร้อน (equilibrium plasma หรือ thermal plasma) โดยมีอุณหภูมิของก๊าซสูงกว่า 1,000 ถึง 10,000 เคลวิน หรือประมาณ 12,000 องศาเซลเซียส เรียกว่า “พลาสมาร้อน” (ศุภรัตน์ นาคสิทธิพันธ์, และสุลาวัลย์ ขาวผ่อง, 2555) ซึ่งส่วนใหญ่นิยมทำการทดลองในสภาวะความดัน บรรยากาศที่ต่ำมากอยู่ในช่วง 10 ทอร์ ถึง 1 ทอร์ (1 ทอร์ เท่ากับ 1 มิลลิเมตรปรอท, 1 ความดันบรรยากาศ เท่ากับ 760 ทอร์ (Hobbs et. al., 2006) โดยทั่วไปพลาสมาร้อนจะนำไปใช้ในการให้ความร้อนเป็นหลักเนื่องจากมีคุณลักษณะที่มีอุณหภูมิสูง



มาก เช่น การตัดโลหะ เป็นต้น และพลาสมาอีกหนึ่งชนิดคือ พลาสมาเย็น (Non-Thermal Plasma, Cold Plasma) ซึ่งพลาสมาเย็นมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีภายในวัสดุ แต่ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของผิววัสดุโดยมีอุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส มีคลื่นความร้อน รังสียูวี ต่ำ ไม่มีกระแสไหลผ่านผิว มีไอออนและอิเล็กตรอนในอัตราส่วนที่เท่ากัน และจะมีส่วนประกอบของปฏิกิริยาผสมของอิเล็กตรอน ไอออน อะตอม และโมเลกุล และ reactive species

## 2. การเกิดพลาสมาเย็น

พลาสมาเย็นสามารถเกิดได้โดยการให้พลังงานแก่อิเล็กตรอนของก๊าซ เมื่อให้พลังงานกับอะตอมของก๊าซมากพอเกินกว่าค่าศักย์ไฟฟ้าต่ำสุดที่ทำให้ก๊าซแตกตัว (Breakdown Voltage) จะทำให้อะตอมของก๊าซเคลื่อนที่ชนกันและทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอะตอม กระบวนการนี้เรียกว่า กระบวนการแตกตัวเป็นไอออน (Ionization) ซึ่งการเพิ่มพลังงานให้อิเล็กตรอนนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การให้พลังงานความร้อนแก่ระบบ เช่น ในการเผาไหม้ ปฏิกิริยาเคมีแบบคายความร้อนของโมเลกุลของสารที่ใช้เป็นเชื้อเพลิง การให้พลังงานกลแก่ระบบ เช่น อากาศที่ถูกอัดตัวอย่างรวดเร็ว โดยไม่มีการสูญเสียความร้อน (Adiabatic compression) จนทำให้แรงดันและความร้อนสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งมากพอต่อการเกิดพลาสมา การให้พลังงานกับแก๊สที่เป็นกลางโดยใช้ลำอนุภาค ซึ่งถูกเร่งให้มีพลังงานที่สูงขึ้นโดยใช้สนามไฟฟ้า ลำอนุภาคถูกใช้ในการสร้างพลาสมาครั้งแรกสำหรับให้พลังงานแก่พลาสมา ในอุปกรณ์สำหรับสร้างปฏิกิริยาฟิวชัน การใช้สนามไฟฟ้าเพื่อเร่งอนุภาคที่มีประจุซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดสำหรับสร้างพลาสมาที่อุณหภูมิต่ำภายในแก๊สที่ใช้สำหรับสร้างพลาสมาจะมีอิเล็กตรอนและไอออนบวกเป็นองค์ประกอบอยู่ซึ่งอิเล็กตรอนอิสระอาจเกิดจากรังสีคอสมิก (Cosmic ray) จากดวงอาทิตย์ หรือเกิดจากการแผ่รังสีของสารกัมมันตรังสีในธรรมชาติ อิเล็กตรอนจะถูกเร่งโดยสนามไฟฟ้า ให้มีพลังงานสูงขึ้นและเข้าชนกับอะตอมหรือโมเลกุลของก๊าซ ทำให้เกิดประจุอิสระอื่น ๆ ตามมาอีก เมื่ออัตราการเกิดประจุอิสระและอัตราการรวมตัวมีค่าเท่ากันก็จะทำให้เกิดพลาสมาเข้าสู่สภาวะคงตัว (Steady-state) (ศุภรัตน์ นาคสิทธิพันธ์, และสุลาวัลย์ ชาวผ่อง, 2555)

โดยการใช้สนามไฟฟ้าเพื่อเร่งอนุภาคที่มีประจุซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดสำหรับสร้างพลาสมาที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งใช้วิธีพลาสมาเจ็ตที่ความดันบรรยากาศ (Atmospheric pressure plasma jet) การดิสชาร์จเหนือผิวของเหลว ดิสชาร์จในของเหลว และดิสชาร์จไอของเหลว โดยวิธีการดิสชาร์จข้ามฉนวน (Dielectric Barrier Discharge; DBD) ซึ่งมีการศึกษาทดลองครั้งแรกในปี ค.ศ. 1857 โดย Werner Von Siemens วิศวกรไฟฟ้าชาวเยอรมัน โดยใช้หลักการสะสม (Charge) และคายประจุ (Discharge) บนไดอิเล็กทริกด้วยไฟฟ้ากระแสสลับที่ความต่างศักย์สูง โดยโครงสร้างหลักของเครื่องกำเนิดพลาสมาแบบไดอิเล็กทริกแบริเออร์ดิสชาร์จประกอบด้วยขั้ว อิเล็กโทรด แผ่นไดอิเล็กทริกและแหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสสลับความต่างศักย์สูง โดยนำ

ขั้วอิเล็กโทรดทั้งสองต่อเข้ากับแหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสสลับความต่างศักย์สูงและนำแผ่นไดอิเล็กทริกอย่างน้อยหนึ่งแผ่น วางคั่นระหว่างแผ่นอิเล็กโทรดทั้งสอง (Figure 2)

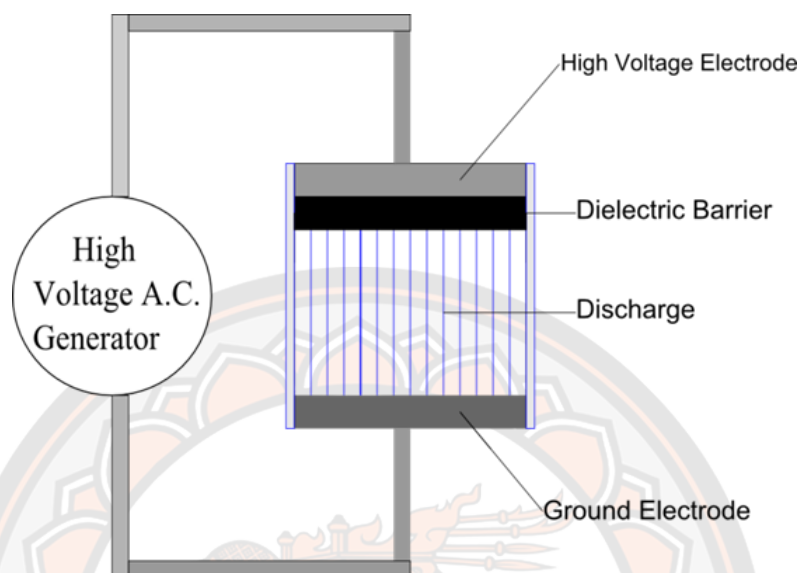


Figure 2 Structure of Dielectric barrier discharge

ที่มา: [https://en.wikipedia.org/wiki/Dielectric\\_barrier\\_discharge](https://en.wikipedia.org/wiki/Dielectric_barrier_discharge)

ชนิดของแผ่นไดอิเล็กทริกที่ใช้ ได้แก่ แก้ว คิวตซ์ เซรามิก หรือการเคลือบโพลีเมอร์ลงบนขั้วอิเล็กโทรด เป็นต้น ซึ่งเครื่องกำเนิดพลาสมาแบบไดอิเล็กทริกแบริเออร์ดิสชาร์จทำงานโดยให้ความต่างศักย์ไฟฟ้ากระแสสลับกับขั้วอิเล็กโทรดและปล่อยแก๊สตัวกลางผ่านตรงกลางระหว่างแผ่นไดอิเล็กทริกคู่ขนานทั้งสอง ซึ่งแผ่นไดอิเล็กทริกจะทำหน้าที่ส่งผ่านสนามไฟฟ้าระหว่างขั้วอิเล็กโทรดไปยังแก๊สตัวกลาง เมื่อความต่างศักย์ไฟฟ้าของช่องว่างระหว่างแผ่นคู่ขนานมากกว่าค่าศักย์ไฟฟ้าต่ำสุดที่ทำให้แก๊สตัวกลางแตกตัว (Breakdown voltage) ทำให้ประจุอิสระที่อยู่ระหว่างแผ่นไดอิเล็กทริกเคลื่อนที่ชนก๊าซตัวกลาง แล้วทำให้อิเล็กตรอนของก๊าซตัวกลางหลุดออกมา ซึ่งจะทำให้จำนวนอิเล็กตรอนอิสระทวีคูณไปเรื่อย ๆ และก๊าซตัวกลางกลายเป็นพลาสมาในที่สุด โดยมากแล้วการผลิตพลาสมาเย็นจะใช้ก๊าซทำงานหรือก๊าซที่ป้อน (working or feed gas) เป็นก๊าซฮีเลียม (He) อาร์กอน (Ar) ไนโตรเจน (N<sub>2</sub>) หรือก๊าซผสมระหว่างก๊าซเหล่านี้กับก๊าซออกซิเจน (O<sub>2</sub>) อากาศ หรือไอน้ำในปริมาณเพียงเล็กน้อย เพื่อให้ได้พลาสมาเย็นที่มีความหนาแน่นเพียงพอและมีอุณหภูมิต่ำ ลักษณะของการดิสชาร์จที่เกิดขึ้นอาจเป็นเส้น (Filament discharge) หรือเกิดแบบเรืองแสง (Glow

discharge) ขึ้นอยู่กับเงื่อนไขในการทดลอง เช่น ความต่างศักย์ไฟฟ้า ความถี่ ชนิดของแผ่นไดอิเล็กทริก ระยะห่างระหว่างแผ่นคู่ขนาน ชนิดของก๊าซ ความดัน เป็นต้น

การดีสชาร์จเหนือผิวของเหลวโดยวิธีดีสชาร์จข้ามฉนวน (Dielectric Barrier Discharge; DBD) จะผลิตอนุมูล อาทิเช่น อะตอมของออกซิเจน (O) ไฮดรอกซิล ( $\bullet\text{OH}$ ) โอโซน ( $\text{O}_3$ ) ไนโตรเจนออกไซด์ ( $\text{NO}_x$ ) ซึ่งหลัก ๆ จะผลิตไฮดรอกซิล ( $\bullet\text{OH}$ ) อนุมูลไฮดรอกซิล ( $\bullet\text{OH}$ ) คือรูปที่เป็นกลาง (neutral form) ของไฮดรอกไซด์ไอออน ( $\text{OH}^-$ ) โดยอนุมูลของไฮดรอกซิลมีความไวในการเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์สูงมาก (oxidation potential 2.8 V) สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น การสลายสารประกอบอินทรีย์ การกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งของพืชและสัตว์ ประโยชน์ในทางชีววิทยาศาสตร์หลายด้าน เช่น การบำบัดน้ำเสีย การทำให้พื้นผิวไร้จุลินทรีย์ การสลายโมเลกุลสารอินทรีย์ปนเปื้อน ข้อดีของการใช้ออนุมูลไฮดรอกซิล คือ หากทำปฏิกิริยากับสารพิษ ผลที่ได้จะเป็นโมเลกุลสารที่ไม่เป็นพิษ เช่น น้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน หรือออกซิเจน การสร้างสภาวะพลาสมาเย็นความดันบรรยากาศ (atmospheric cold plasma) ที่จะผลิตอนุมูลไนโตรเจนจากก๊าซก่อนจะละลาย (dissolve) ละลายเป็นของเหลวในเตรทเข้มข้น เรียกกระบวนการนี้ว่า การตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีพลาสมา (plasma-assisted nitrogen fixation) โดยที่อนุมูลไนโตรเจนในพลาสมาเย็นให้ผลลัพท์ที่ละลายอยู่ในของเหลว อาทิ ไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) และไนไตรท์ ( $\text{NO}_2^-$ ) ซึ่งมีผลต่อการงอกและเจริญเติบโตของเมล็ดพืช อนุมูลพลาสมาอากาศ แพร่ซึมผ่านเปลือกไข่ยังผลต่อชีวเคมีของเซลล์ภายในไข่ฟัก (ธีรวรรณ และหมุดตอเล็บ, 2562)

## การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีพลาสมาเย็นทางด้านการเกษตร

### 1. การทำลายแบคทีเรีย เชื้อรา และจุลินทรีย์

อนุมูลไฮดรอกซิลมีกลไกการทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ โดยการดึงอะตอมของไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลสารอินทรีย์ เกิดผลลัพท์เป็นโมเลกุลดังกล่าวข้างต้น หรือเป็นอนุมูลสารอินทรีย์ชนิดอื่น หากทำปฏิกิริยากับโมเลกุลนำไฟฟ้า กลายเป็นโมเลกุลที่มีพันธะไม่อิ่มตัว (unsaturated bond) กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของอนุมูลไฮดรอกซิล ได้ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการทำลายแบคทีเรียสแตปฟีโลคอคคัสออเรียสที่ต้านยาเมธิซิลลิน (MRSA) ด้วยวิธีต่าง ๆ อาทิ แห้สารละลายคลอเฮกซิดีนไดกลูโคเนต (chlorhexidine digluconate) เป่าลมร้อน เทียบกับวิธีพลาสมาเย็น ผลปรากฏว่าการแห้สารละลายคลอเฮกซิดีนไดกลูโคเนต ในระยะเวลาสั้น ๆ ไม่สามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ ลมร้อนหรือความร้อนสามารถลดได้แต่ต้องใช้เวลาานกว่า และความสามารถในการลดปริมาณแบคทีเรียของทุกวิธีล้วนต่ำกว่าการใช้พลาสมาเย็นอย่างชัดเจน



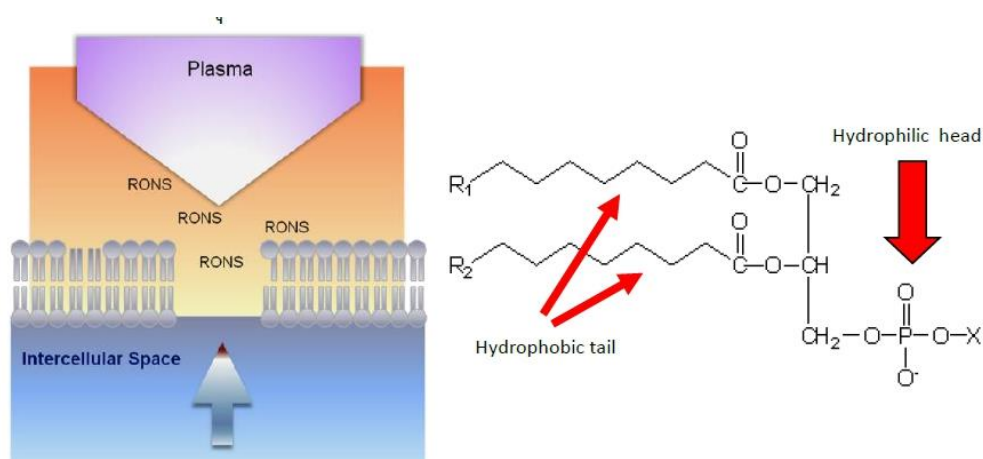


Figure 3 Plasma mechanism (left) and phospholipid structure of bacterial cell membrane (right)

ที่มา: <http://www.thaiphysoc.org/article/166/>

เทคโนโลยีพลาสมาในปัจจุบันถือว่ามีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแบคทีเรียโดยเฉพาะที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans* และ *Salmonella* จึงทำให้เทคโนโลยีนี้ได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้น โดยเทคโนโลยีโคลด์พลาสมาส่งผลต่อจุลินทรีย์และสารชีวโมเลกุลในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยกลไกการทำงานของพลาสมาเกิดขึ้นจากการที่พลาสมาก่อให้เกิดอนุมูลอิสระจำนวนมากโดยเฉพาะอนุมูลอิสระจากออกซิเจน (reactive oxygen species: ROS) ซึ่งทำให้เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มสารฟอสโฟลิปิดและโปรตีนที่แทรกอยู่ในผนังของเยื่อหุ้มเซลล์จนทำให้เกิดการแตกตัวของสารกลุ่มดังกล่าว ก่อให้เกิดรูภายในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ระบบออสโมติกในเซลล์ถูกทำลาย อีกทั้ง ROS ที่เกิดขึ้นยังไปทำลายเซลล์อื่น ๆ ที่อยู่ภายใน ได้แก่ นิวเคลียส และไมโทคอนเดรีย เป็นต้น รวมถึงเกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับ DNA จึงทำให้การเมตาบอลิซึมและกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ผิดปกตินำไปสู่การเสื่อมสภาพและตายไปของเซลล์ (Hati et al., 2018)

แบคทีเรียส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Anaerobic bacteria ถือว่าไวต่อ ROS มาก (Stoffels et al. 2008) ซึ่ง Joshi et al. (2011) รายงานว่าสปีชีส์เดี่ยวของออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีส่วนทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของเมมเบรน เนื่องจากสารกำจัด ROS ช่วยลดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ *Escherichia coli* ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการหยุดทำงานของ RNS สามารถกระตุ้นได้ด้วย ROS ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของ

การผสมผสานของออกซิเจนในก๊าซที่ใช้เป็นตัวกลางในการสร้างพลาสมา (Boxhammer et al., 2012)

ในอุตสาหกรรมอาหารสามารถนำพลาสมาเย็นมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายประเภท โดยนิยมใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่พื้นผิว เช่น ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวของเปลือกไข่ นอกจากนี้ นอกจากจะทำลายจุลินทรีย์แล้ว เทคโนโลยีนี้ยังส่งผลต่อคุณสมบัติของอาหารด้วย อาทิเช่น พบว่าการใช้เทคโนโลยี cold plasma กับถั่วดำ นอกจากจะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์แล้วยังพบว่าถั่วดำที่ผ่านการใช้เทคโนโลยีนี้ เมื่อนำมาปรุงให้สุกจะใช้ระยะเวลาสั้นลง รวมทั้งถั่วดำจะมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มลง และความสามารถดูดซับน้ำเมื่อนำถั่วดำมาแช่น้ำนาน 4 ชั่วโมง ส่วนในข้าวบาสมати (Basmati) พบว่าการใช้เทคโนโลยีนี้จะช่วยให้ความดูดซับน้ำได้มากขึ้นทำให้อุณหภูมิการเกิดเจลลิตีในซีเซชันต่ำลง

นอกจากจะทำให้จุลินทรีย์ลดลง และเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของอาหารแล้วยังพบว่า เทคโนโลยีนี้สามารถทำให้ยาฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในอาหารเกิดการแตกตัว เสื่อมสภาพทำให้ลดการเกิดอันตรายจากการปนเปื้อนของสารพิษจากยาฆ่าแมลง และนำไปใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์อาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ ไม่ว่าจะเป็นแง่ของความแข็งแรงของผลิตภัณฑ์ และความสามารถป้องกันการปนเปื้อนซ้ำของผลิตภัณฑ์อาหาร

## 2. การงอกและเจริญเติบโตของเมล็ด

การสร้างสภาวะพลาสมาเย็นความดันบรรยากาศ (atmospheric cold plasma) ที่จะผลิตอนุมูลไนโตรเจนจากก๊าซก่อนจะละลาย (dissolve) ละลายเป็นของเหลวไนเตรทเข้มข้น เรียกกระบวนการนี้ว่า การตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีพลาสมา (plasma-assisted nitrogen fixation) โดยที่อนุมูลไนโตรเจนในพลาสมาเย็น ให้ผลลัพธ์ที่ละลายอยู่ในของเหลว อาทิ ไนเตรท (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) และ ไนไตรท์ (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ซึ่งมีผลต่อการงอกและเจริญเติบโตของเมล็ดพืช

Li et al. (2014) ศึกษาความงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนถั่วเหลือง โดยเมล็ดถั่วเหลืองได้รับพลาสมาเย็นที่ระดับ 0, 60, 80, 100 และ 120 W เป็นเวลา 15 วินาที ก่อนนำไปเพาะเลี้ยง ผลการศึกษาพบว่าการใช้พลาสมาเย็นมีผลในเชิงบวกต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนถั่วเหลือง และการใช้พลาสมาที่ระดับ 80 วัตต์ มีผลกระตุ้นสูงสุด ดัชนีความงอกและความแข็งแรงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ 14.66% และ 63.33% ตามลำดับ การดูดซับน้ำของเมล็ดดีขึ้น 14.03% และค่ามุมสัมผัส (contact angle) ลดลง 26.19% ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นอ่อนถั่วเหลือง ได้แก่ ความยาวยอด น้ำหนักแห้งยอด ความยาวราก และน้ำหนักแห้งราก เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 13.77%, 21.95%, 21.42% และ 27.51% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ ปริมาณน้ำตาลและโปรตีนที่ละลายได้คือ 16.51% และ 25.08% สูงกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อเทียบกับน้ำหนักหน่อที่เพิ่มขึ้น 21.95% น้ำหนักรากเพิ่มขึ้น 27.51% หลังการได้รับพลาสมาเย็น ซึ่งบ่งชี้ว่าพลาสมาเย็นมีผลกระตุ้นรากพืชมากขึ้น ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าการใช้พลาสมา

แบบเย็นอาจส่งเสริมการเจริญเติบโตได้แม้กระทั่งผลผลิตของถั่วเหลือง เพื่อตรวจสอบอิทธิพลของพลาสมาเย็นที่มีต่อผลผลิตถั่วเหลือง รวมทั้งเพื่ออธิบายกลไกที่ส่งเสริมผลของการบำบัดด้วยพลาสมาเย็นต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองและอัตราการเติบโตของต้นกล้า

นอกจากนี้ Zhang et al. (2017) ศึกษาผลของพลาสมาเย็นต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง ในระดับต่าง ๆ และเวลาที่ต่างกัน พบว่าการใช้พลาสมาที่ 22.1 กิโลโวลต์ 12 วินาทีส่งผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของถั่วเหลือง เพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนที่ละลายน้ำได้ เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ และอะดีโนซีน ไตรฟอสเฟต (ATP) รวมถึงการเพิ่มการควบคุมการแสดงออกของยีน ATP a1, ATP a2, ATP b1 , ATP b2, ATP b3 , target of rapamycin (TOR), growth-regulating factor (GRF) 1–6, การแสดงออกของยีน ATP MI25 ลดลง และอาร์กอนพลาสมายังมีผลต่อกระบวนการ Methylation ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงการ transcription ของยีน ซึ่งเมื่อได้รับพลาสมาแล้วจะทำให้อยู่ในระดับ hypomethylation ซึ่งจะกระตุ้นยีนที่หยุดการแสดงออกกลับมาทำงานได้อีกครั้ง

### 3. การผลิตปุ๋ย

พลาสมาเย็นมีศักยภาพในการใช้งานทางชีวภาพที่หลากหลายในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต (Kalghatgi et al., 2011) โดย Zhang et al. (2017) ทำการทดลองใช้พลาสมาเย็นที่ผลิตจากเครื่องทำพลาสมาแบบ DBD โดยใช้พลาสมาในตัวอ่อนของไก่ที่กำลังพัฒนา Hamburger-Hamilton (HH) ระยะ 04 และ 20 ในระดับ 11.7, 16.4, 22.0 และ 27.6 กิโลโวลต์ เวลา 1 และ 4 นาทีในพลาสมาทุกระดับ ซึ่งพบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับพลาสมา 11.7 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 1 นาทีส่งเสริมการพัฒนาตัวอ่อนของไก่ ซึ่งเมื่อมีการใช้พลาสมาในระดับที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้เพิ่มการผลิต reactive oxygen species (ROS) และยับยั้งการทำงานของ nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยังส่งผลต่อระดับการผลิตอะดีโนซีนไตรฟอสเฟตและระดับการแสดงออกของยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตลดลง ทำให้เกิดการตายของตัวอ่อน

Zhang et al. (2018) ทำการทดลองใช้พลาสมาแบบ DBD ในสเปิร์มของไก่ ที่ระดับ 11.7, 16.4, 22.0 และ 27.6 กิโลโวลต์ ผลพบว่าการได้รับพลาสมาที่ 11.7 kV ภายใน 40 วินาทีส่งผลให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิเพิ่มขึ้น โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของตัวอสุจิ การอยู่รอด ความสมบูรณ์ของ acrosome ที่เป็นออร์แกเนลล์ที่อยู่บริเวณส่วนหัวของตัวอสุจิ (สเปิร์ม) ของสัตว์ส่วนใหญ่รวมถึงมนุษย์ มีรูปร่างคล้ายหมวก พัฒนามาจากกอลจิแอปพาราตัสในสัตว์ที่มีรกสมบูรณ์ และ DNA และภาวะเจริญพันธุ์โดยรวม และการได้รับพลาสมาที่ 11.7 kV เป็นเวลา 20 วินาทีจะรักษาระดับ ROS ที่ค่อนข้างต่ำและยับยั้งการทำงานของ MDA ซึ่งเป็นสื่อกลางโดยการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระของ SOD, CAT, GPx และ PRDX เพื่อป้องกัน

ความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและเพิ่มการอยู่รอดของตัวอสุจิ นอกจากนี้พบว่าการใช้พลาสมาในระดับที่เหมาะสมจะลดแสดงออกของ NOX4 ซึ่งจะช่วยยับยั้งการผลิต ROS เช่นกัน และจะเพิ่มระดับ NRF2 เพื่อรักษา ROS ให้อยู่ในระดับต่ำ โดยควบคุมระบบป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระ ปรับปรุงการเคลื่อนที่ของอสุจิของไก่ให้ดียิ่งขึ้น ในทางกลับกันการใช้ด้วยพลาสมาที่ไม่เหมาะสมทำให้คุณภาพของตัวอสุจิลดลง เป็นผลมาจากการสะสม ROS ที่มากเกินไป และทำให้ระบบการป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระบกพร่อง และยับยั้งการทำงานของ NRF2 ซึ่งเป็นเส้นทางการส่งสัญญาณของไปสู่การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ ระดับของดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับพลาสมาเย็น 11.7 kV เป็นเวลา 20 วินาที พบว่าเกิดการ demethylation คือการดึงหมู่เมทิลออก ทำให้ยีน NRF2, PRDX4, ATP5A1 และ mTOR อยู่ในระดับ hypomethylation มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น และจะทำให้ยีน KEAP1 และ AMPK $\alpha$ 2 อยู่ในระดับ hypermethylation ส่งผลให้การแสดงการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ Zhang et al. (2018) ได้ทำการใช้พลาสมาเย็นแบบ DBD โดยให้พลาสมาในไข่ฟักที่อายุ 4 วัน ในระดับเวลาที่แตกต่างกันคือ 11.7, 16.4, 22.0 และ 27.6 กิโลโวลต์ และเพศที่ต่างกัน ซึ่งพบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับพลาสมา 22 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 1 นาที แสดงให้เห็นว่ามีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) และความยาวของกระดูกแข้งเฉลี่ยที่ยาวที่สุดในช่วงเดือนแรก และที่อายุ 90 วัน พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับพลาสมา 11.7 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 2 นาที มีค่า ADG และความยาวหน้าแข้งสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น และไก่ตัวผู้มีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าตัวเมีย และระดับพลาสมาที่เหมาะสม คือ 11.7 กิโลโวลต์ เป็นเวลา 2 นาที ทั้งนี้เป็นเพราะพลาสมาเย็นมีผลต่อระดับของดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนทำให้ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตมีการแสดงออกมากขึ้น

### ยีนและการแสดงออกของยีน (Gene and Gene Expression)

ยีน คือ ส่วนของ DNA ที่บรรจุข้อมูลทางพันธุกรรม (genetic information) สำหรับการสังเคราะห์ RNA ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่ง DNA ทั้งหมดในเซลล์เรียกว่า จีโนม (genome) ในการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะมีลักษณะเหมือนกันที่ เรียกว่า central dogma ซึ่งเป็นแนวคิดอธิบายการควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม ยีนในสาย DNA จะเกิดกระบวนการถอดรหัส (Transcription) ส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรมในรูปของ RNA จากนั้น RNA จะเข้าสู่กระบวนการแปลรหัส (Translation) เพื่อสังเคราะห์เป็นโปรตีน จากนั้นโปรตีนจึงทำหน้าที่ให้เกิดลักษณะทางพันธุกรรมตามมาเรียกว่าการแสดงออกของยีน (Gene expression)



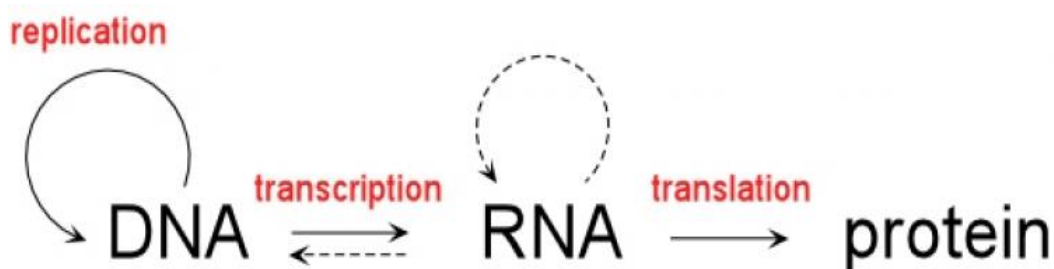


Figure 4 Central dogma

ที่มา: <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7132-2017-06-04-08-01-40>

การแสดงออกของยีน (Gene expression) หมายถึง การเปลี่ยนถ่ายข้อมูลพันธุกรรมที่เก็บไว้ในรูปของดีเอ็นเอ (หรืออาร์เอ็นเอ ในสิ่งมีชีวิตบางชนิด) เพื่อสร้างเป็นสารชีวโมเลกุลที่สามารถทำหน้าที่ และมีบทบาทต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต

การแสดงออกของยีน ประกอบด้วยกระบวนการสำคัญหลัก ๆ 2 กระบวนการได้แก่

### 1. การถอดรหัส (Transcription)

การถอดรหัสเป็นกระบวนการเปลี่ยนถ่ายข้อมูลพันธุกรรมที่เก็บในรูปของ ดีเอ็นเอ เกลียวคู่ไปอยู่ในรูปของอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวซึ่งมีลำดับเบสเป็นสายของคู่ประกอบ (Complementary chain) หรือ สายที่มีนิวคลีโอไทด์เข้าคู่กันได้ดีกับสายดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่แบบ โดยอาร์เอ็นเอที่สังเคราะห์จากกระบวนการ ถอดรหัส มีอยู่ 3 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

1.1 Messenger RNA (mRNA) เป็นอาร์เอ็นเอซึ่งได้จากการถอดรหัสของยีนสำหรับสังเคราะห์เป็น โปรตีนจำเพาะ ชนิดต่าง ๆ โดยอาร์เอ็นเอชนิดนี้ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการเปลี่ยนถ่ายข้อมูล พันธุกรรมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ ไปเป็นลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน

1.2 Transfer RNA (tRNA) เป็นอาร์เอ็นเอที่มีลักษณะเฉพาะ และทำหน้าที่เสมือนเป็นเครื่องมืออ่านข้อมูลพันธุกรรมหรือลำดับเบสบนสาย mRNA พร้อมกับนำกรดอะมิโนที่สอดคล้องกับรหัสพันธุกรรมมาต่อกันเป็นสายพอลิเพปไทด์ (Polypeptide)

1.3 Ribosomal RNA (rRNA) เป็นอาร์เอ็นเอซึ่งได้จากการถอดรหัสของยีนสำหรับสังเคราะห์ rRNA โดยอาร์เอ็นเอ ชนิดนี้จะรวมอยู่กับ Ribosomal protein ซึ่งประกอบกันเป็น ไรโบโซม (Ribosome) มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนชนิดต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต

นอกจากนี้ยังมีอาร์เอ็นเอชนิดอื่น ๆ อีก ที่ทำหน้าที่จำเพาะแตกต่างกันไป เช่น บางชนิดทำหน้าที่เสมือนเป็นเอนไซม์ จึงเรียกว่า ไรโบไซม์ (Ribozyme) เป็นต้น

กลไกการถอดรหัสหรือการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ จะคล้ายกับการถ่ายแบบดีเอ็นเอ ในแง่ของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น รวมทั้งทิศทางของการสังเคราะห์ และความต้องการ สายดีเอ็นเอสำหรับใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ แต่การถอดรหัสจะต่างไปจากการถ่ายแบบ ดีเอ็นเอ คือ การถอดรหัสไม่ต้องการ RNA primer แต่จะใช้สายดีเอ็นเอเพียงสายเดียวเท่านั้นเป็นแม่แบบ

## 2. การแปลรหัส (Translation)

การแปลรหัส คือ ขั้นตอนแรกในการสร้างโปรตีน และเป็นส่วนหนึ่งของการแสดงออกของยีน (gene expression) การแปลรหัส (Translation) เป็นการสร้างโปรตีนโดยอ่านรหัสจาก mRNA ที่ได้จากการถอดรหัส (transcription) โดยจะเกิดในบริเวณไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ซึ่งมีไรโบโซม (Ribosome) อยู่ โดยไรโบโซม (Ribosome) นั้นประกอบด้วยหน่วยย่อยขนาดใหญ่และหน่วยย่อยขนาดเล็ก โดยทั้ง 2 หน่วยย่อยจะมาประกบกันเมื่อมีการแปลรหัสจาก mRNA โดยการแปลรหัสนี้จะทำการสร้างสายโพลีเปปไทด์ (Polypeptide) จากการที่อ่านรหัสพันธุกรรมที่เป็นลำดับเบสบนสายของ mRNA ซึ่งรหัสพันธุกรรมนี้จะเป็นตัวกำหนดลำดับของกรดอะมิโน (amino acid) ในโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นมาจากการแปลรหัส

### กลไกการควบคุมการแสดงออกของยีน

การแสดงออกของยีนเพื่อสร้างโปรตีนแต่ละชนิดจะเกิดขึ้นในเวลาและปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับบทบาทและหน้าที่ของโปรตีนชนิดนั้น ๆ โปรตีนที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ จะมีการผลิตอยู่ตลอดเวลา ซึ่งการแสดงออกของยีนเพื่อสร้างหรือผลิตโปรตีนเหล่านี้จะเรียกว่า "constitutive gene expression" เช่น การแสดงออกของยีนเพื่อผลิตเอนไซม์ในวิถีไกลโคไลซิส และวัฏจักรเครปส์ และเรียกยีนของโปรตีนเหล่านี้ว่า "house keeping gene"

ส่วนโปรตีนอีกจำพวกหนึ่งจะถูกสังเคราะห์ขึ้นก็ต่อเมื่อเซลล์มีความจำเป็นต้องใช้ หรือถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นในบางสภาวะเท่านั้น เรียกโปรตีนเหล่านี้ว่า "inducible protein" เช่น กลุ่มเอนไซม์ที่ใช้ในการซ่อมแซม DNA จะถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นก็ต่อเมื่อ DNA ถูกทำลาย ในทำนองกลับกัน จะมีโปรตีนอีกจำพวกหนึ่งถูกสร้างน้อยลงเมื่อเซลล์ไม่จำเป็นต้องใช้ เช่น กลุ่มเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนทริปโตเฟนในแบคทีเรีย จะถูกลดการสร้างลงเมื่อเซลล์มีปริมาณทริปโตเฟนเพียงพอ เรียกโปรตีนเหล่านี้ว่า "repressible protein"

กระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการแสดงออกของยีน จะมีผลโดยตรงต่อปริมาณโปรตีนที่เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายทั้งสิ้น การควบคุมการแสดงออกของยีน จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการกระตุ้นหรือยับยั้งการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนของยีนนั้น ๆ (หากยีนนั้นมีไว้สำหรับสร้างโปรตีน) โดยอาศัยการเหนี่ยวนำให้เอนไซม์ทำงานด้วยตัวเหนี่ยวนำ (inducer) หรือยับยั้งการ

ทำงานของเอนไซม์ด้วยตัวกดต้น (repressor) ซึ่งสามารถควบคุมได้ในขั้นตอนการลอกแบบ (transcription) และการแปลรหัส (translation)

### กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน

กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (DNA methylation) เป็นกลไกสำคัญของการควบคุมการแสดงออกของยีนในระดับอีพิเจเนติกส์ (epigenetics) ที่ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ แต่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครมาติน โดยการเกิดดีเอ็นเอเมทิลเลชันจะเป็นการปรับเปลี่ยนเบส cytosine ให้อยู่ในรูปของ 5-methylcytosine (5mC) โดยการเติมหมู่เมทิลที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 5 ของเบส ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA methyltransferase (DNMT) ซึ่งดีเอ็นเอเมทิลเลชันมักเกิดกับไซ-โทซีนที่ตามด้วยกวานีน (guanine; G) หรือที่เรียกว่า CpG dinucleotides ส่งผลต่อการทำงานของ transcription factor ต่าง ๆ แล้วยับยั้งการแสดงออกของยีนเป้าหมายนั้น (Uysal et. al., 2017)

กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ การเติมหมู่เมทิลเพื่ออนุรักษ์รูปแบบของการเกิดดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่เรียกว่า Maintenance methylation โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA methyltransferase 1 (DNMT1) และอีกรูปแบบหนึ่ง คือ De novo methylation เป็นการเติมหมู่เมทิลที่สูญเสียไปในระหว่างการจำลองตัวของดีเอ็นเอ โดยมีเอนไซม์ DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3 a) และ DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาให้เกิดกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่เป็นตัวควบคุมที่สำคัญของการสร้างตัวอ่อนและการเจริญพัฒนาของเซลล์ (Beacon and Davie, 2020)

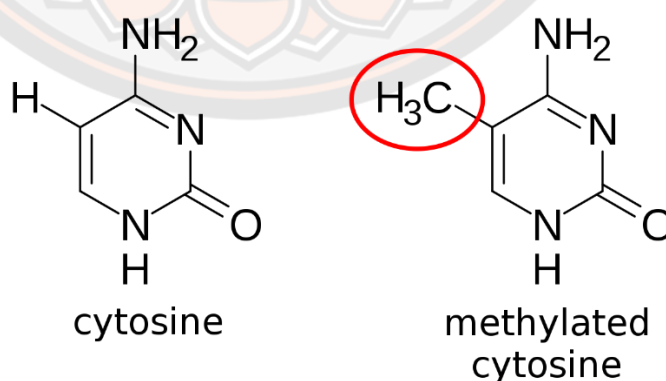


Figure 5 DNA methylation

ที่มา: [https://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_methylation](https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_methylation)



การเกิด DNA Hypermethylation เป็นการเติมหมู่เมทิลที่สูงกว่าระดับกว่าปกติ ซึ่งเกิดที่บริเวณโปรโมเตอร์ของยีนและส่งผลให้โครงสร้างของนิวคลีโอไทด์บริเวณนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ Transcription factor ต่าง ๆ ไม่สามารถเข้าจับกับโปรโมเตอร์เพื่อควบคุมการ transcription เป็นผลทำให้เกิด gene silencing ทำให้ไม่เกิดการสร้างโปรตีนหรือสร้างได้น้อยตามมา ในทางตรงกันข้ามการเกิด DNA Hypomethylation นั้นคือการเติมหมู่เมทิลที่ต่ำกว่าระดับกว่าปกตินั่นเอง



## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องพลาสมาเย็นต้นแบบ
2. Centrifuge (WiseSpin CF-10) \ Wisd, Korea
3. Electrophoresis system (The PowerPac™) HV power supply \ Bio-rad, USA
4. Eppendorf tubes rack \ Lab connection, Thailand
5. Gel Documentation (Vilber Lourmat) \ Lio lab international, Thailand
6. Gloves \ Sri Trang Agro-Industry, Thailand
7. Hinged Microcentrifuge Tube Freezer Racks \ Lab connection, Thailand
8. Incubator (WiseThermHB-48P) \ Wisd, Korea
9. Micropipette (0.1 - 2.5  $\mu$ l) \ SCILOGEX, USA
10. Micropipette (0.5 - 10  $\mu$ l) \ SCILOGEX, USA
11. Micropipette (2 - 20  $\mu$ l) \ SCILOGEX, USA
12. Micropipette (20 - 200  $\mu$ l) \ SCILOGEX, USA
13. Micropipette (100 - 1000  $\mu$ l) \ SCILOGEX, USA
14. Microwave oven \ Napatinter, Thailand
15. PCR tube \ Lab connection, Thailand
16. Roche LightCycler (LC-480 Real-Time PCR System) \ Roche Life Science, USA
17. Tip pipette \ Lab connection, Thailand
18. PCR Machine (T100™ Thermal Cycle) \ Bio-rad, USA
19. Spectrophotometer \ Nanodrop 2000 Thermo Science, USA
20. Vertex (CE-10) \ Wisd, Korea
21. 1.5 ml SNAPLOCK Microcentrifuge \ Lab connection, Thailand
22. 2<sup>n</sup> Carboard Cryovial Box with Dividers \ Lab connection, Thailand

### สารเคมีและเอนไซม์

1. Absolute Ethyl Alcohol \ RCI Labscan, Thailand
2. Agarose Powder \ Conda, Spain
3. Isopropanal \ RCI Labscan, Thailand
4. LightCycler® 480 SBYBR Green I Master \ Roche Life Science, U.S.
5. RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (20,000x)\iNtRON Biotechnology, Pacific Science, Thailand
6. ReverTra Ace® qPCR RT Master mix with gDNA remover \ TOYOBO, Japan
7. RiboZol™ RNA \ VWR Life science, USA
8. Primer \ Integrated DNA Technologies
9. 5x FIREPoL® \ Master Mix Ready to Load \ Solis BioDyne, Estonia
10. 100 bp DNA Ladder \ Solis BioDyne, Estonia

### สารละลาย

สารละลายทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เตรียมจากน้ำกลั่น Deionized & Demineralised (ddH<sub>2</sub>O หรือ Millipore water) และปรับ pH ทำโดยใช้ NaOH (conc.) กับ HCL (conc.)

1. Digestion Buffer
2. Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.4
3. TE Buffer
4. 1X TAE Buffer
5. 0.5 MEDTA pH 8.0
6. 3 M Sodium Acetate pH 5.2
7. 6 M Sodium Chloride
8. 9 % Sodium Chloride
9. 10 % Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)
10. 80 % Ethanol
11. Tris-Cl (1M)

## การศึกษาผลของพลาสมาเย็นต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

การศึกษานี้การทดลองได้รับการรับรองด้านจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองจาก Institutional Animal Care and Use Committee Feed Research and Innovation Center เลขที่ FRIC-ACUP-2008005

### 1. สัตว์ทดลองและการวางแผนการทดลอง

ไข่ฟักทั้งหมด 1,056 ฟอง แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น (Control) และกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น ซึ่งใช้เครื่องพลาสมาเย็น Transient plasma ที่มีกำลังไฟอยู่ที่ 6,000 – 10,000 โวลต์ หรือเท่ากับ 10 kV โดยประมาณ จะใช้ระยะเวลาที่ต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 10 20 และ 30 วินาที ทำการกระตุ้นพลาสมาเย็นเพียงครั้งเดียว ในวันที่ 4 ของการฟักไข่อ้างอิงตามการศึกษาของ Zhang et. al., 2018. ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมและตัวอ่อนเริ่มปรากฏระบบเส้นเลือดต่าง ๆ และพัฒนาอวัยวะได้อย่างชัดเจน โดยจะทำการวางไข่ฟักในลักษณะแนวนอนเพื่อให้อนุภาคพลาสมาสัมผัสสารชีวโมเลกุลในไข่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Figure 6) และเมื่อลูกไก่ฟักออกทั้งหมดทำการคัดคุณภาพลูกไก่ และแยกเป็นดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น)

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นที่ระยะเวลา 10 วินาที

กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นที่ระยะเวลา 20 วินาที

กลุ่มที่ 4 กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นที่ระยะเวลา 30 วินาที

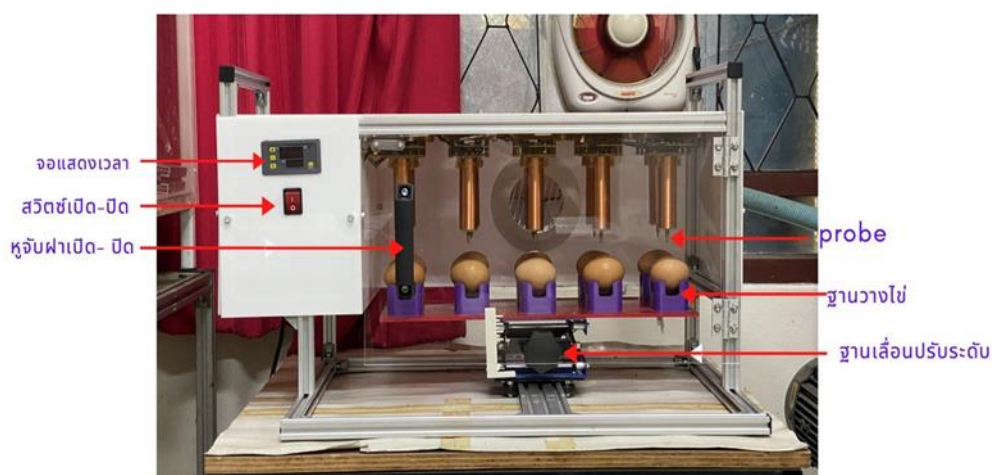


Figure 6 The composition of the cold plasma machine stimulates the incubation of eggs

จากนั้นวางแผนการทดลองแบบ 4 x 2 Factorial in CRD โดยมี 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาของการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น และเพศ แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 8 ซ้ำ เพศผู้ และเมียอย่างละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 13 ตัวรวมเป็น 104 ตัว/ทรีทเมนต์ โดยไก่ทุกตัวจะได้รับน้ำ และอาหาร อย่างเต็มที่ (ad libitum) และเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกันตลอดระยะเวลาการทดลอง 63 วัน หรือ 9 สัปดาห์

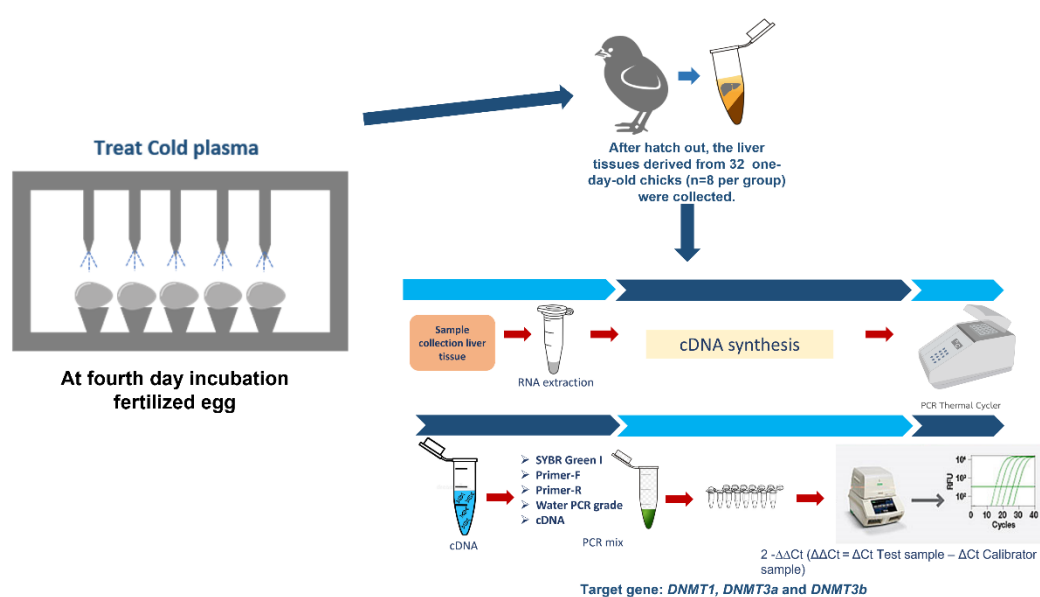


Figure 7 Experimental execution diagram

Table 1 Non-Thermal plasma machine features

รายการ	Non-Thermal plasma
Input power	AC 220 V 50 Hz
Power (Watts/Hour)	462
Machine size (cm: width X length X height))	70 X 30 X 4
Weight (kg)	-

## 2. การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต

บันทึกน้ำหนักไก่เมื่อเริ่มต้นการทดลองและชั่งน้ำหนักไก่ทุก ๆ สัปดาห์ จนถึงอายุ 9 สัปดาห์ ทำการชั่งอาหารที่เหลือทุกสัปดาห์ เพื่อคำนวณน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว

- 1) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักตัวสุดท้าย (กรัม) – น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กรัม)
- 2) อัตราการเจริญเติบโต/ตัว/วัน = 
$$\frac{\text{น้ำหนักตัวสุดท้าย (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{จำนวนวัน}}$$
- 3) ปริมาณอาหารที่กิน = ปริมาณอาหารที่ให้(กรัม) – ปริมาณอาหารที่เหลือ(กรัม)
- 4) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = 
$$\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

## 3. การศึกษาลักษณะซาก

ส่วนของการศึกษาลักษณะซากอ้างอิงจากวิทยานิพนธ์ของ จิตติมา (2560) โดยนำไก่ทั้งหมดเข้าการุณยฆาต 128 ตัว เพื่อศึกษาคุณภาพซาก โดยคำนวณหาร้อยละของซากอ่อน (Hot carcass percentage) ร้อยละของอวัยวะภายนอก (External organs percentage) ร้อยละของอวัยวะภายใน (visceral organs percentage) ร้อยละของชิ้นส่วนตัดแต่ง (retail cuts percentage) จากสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

- 1) ร้อยละของซากอ่อน = 
$$\left( \frac{\text{น้ำหนักซากอ่อน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักมีชีวิต (กรัม)}} \right) \times 100$$
- 2) ร้อยละของอวัยวะภายนอก = 
$$\left( \frac{\text{น้ำหนักอวัยวะภายนอก (กรัม)}}{\text{น้ำหนักซากอ่อน (กรัม)}} \right) \times 100$$
- 3) ร้อยละของอวัยวะภายใน = 
$$\left( \frac{\text{น้ำหนักอวัยวะภายใน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักซากอ่อน (กรัม)}} \right) \times 100$$



$$4) \text{ ร้อยละของชิ้นส่วนตัดแต่ง} = \left( \frac{\text{น้ำหนักชิ้นส่วนตัดแต่ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักซากอ่อน (กรัม)}} \right) \times 100$$

หมายเหตุ: น้ำหนักซากอ่อน หมายถึง น้ำหนักซากที่เอาเครื่องในออก รวมหัวและแข้ง

การศึกษาผลของพลาสมาเย็นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต และกระบวนการตีเอ็นเอเมทิลเลชันด้วยเทคนิค Quantitative Real-Time PCR

### 1. การสกัด RNA จากตัวอย่างเนื้อเยื่อ

ลูกไก่แรกฟัก และที่อายุ 63 วัน ถูกชั่งน้ำหนักไก่และเฉลี่ยน้ำหนักของไก่ให้มีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด จากนั้นสุ่มทริทเมนต์ละ 32 ตัว โดยแบ่งออกเป็น ผู้ 16 ตัว เมีย 16 ตัว จากนั้นทำการการุณยฆาตด้วยวิธีการฉีดยาสลบ Sodium thiopental ปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าที่เส้นเลือดดำบริเวณปีก เพื่อเก็บตัวอย่างตับ ขนาดประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ใส่ใน tube 1.5 มิลลิลิตร ที่มี RNA later และแช่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.1 เติม Trizol (Ribozol) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติม tissue lysis buffer 200 ไมโครลิตรและทำการ Homogenization ด้วยปิเปตตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

1.2 เติม Choroform ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าด้วยมือเบา ๆ กลับไป-กลับมา นำไป centrifuge 12,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (หรืออุณหภูมิห้อง) นาน 15 นาที

1.3 ดูดส่วนของเหลวใสด้านบน (supernatant) ประมาณ 500 ไมโครลิตร ใส่ tube ใหม่ ระวังอย่าให้ตะกอนส่วนล่างติดมาด้วย

1.4 เติม Isopropanol อัตราส่วน 1 : 1 (RNA : Isopropanol) นำไป centrifuge 12,000 rpm นาน 15 นาที จากนั้นเท Isopropanol ทิ้ง

1.5 เติม 75 % Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (1000 ไมโครลิตร) นำไป vortex และ centrifuge 7,500 rpm นาน 15 นาที เทสารละลายส่วนของเหลวใสทิ้ง (Ethanol) ออกให้หมด ระวังอย่าให้ตะกอน RNA บริเวณก้นหลอดตกหล่น

1.6 ปิดฝา tube ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาทีหรือจนกว่าตะกอนจะใส

1.7 เติม DEPC water (DNase/RNase free water) ปริมาตร 25 – 50 ไมโครลิตร

1.8 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าความเข้มข้นของ RNA ด้วยเครื่อง nano drop ที่มีความยาวคลื่น A260

## 2. การสังเคราะห์ cDNA

2.1 นำ RNA ที่ได้มาสังเคราะห์ cDNA ด้วยชุดน้ำยา ReverTra Ace® qPCR RT Master mix with gDNA remover (TOYOBO, Japan) ตามวิธีการที่บริษัทแนะนำ ดังนี้

2.2 นำ RNA ที่มีความเข้มข้นตั้งต้น 0.5 ไมโครกรัม ใส่ลงใน DNase 1 reaction ที่ประกอบด้วย 4x DNase master Mix และ Nuclease – free water

2.3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นเติม 5xRT Master Mix II

2.4 นำเข้าเครื่อง Thermal Cycle PCR รุ่น Bio Metra Tone 96G โดยตั้งอุณหภูมิ

ดังนี้

37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

58 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

2.5 จากนั้นนำเก็บที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน

ต่อไป

## 3. การศึกษาระดับการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค End-point PCR

นำ cDNA ไปเพิ่มปริมาณเพื่อการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและกระบวนการตีเอ็นเอเมทิลเลชัน โดยใส่ลงในส่วนผสมของ 5xFiREPol® Master Mix Ready to Load (Solis BioDyne, Estonia), 10 mM specific Primer (Table 2) ปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง PCR T100™ Thermal Cycle (Bio-Rad) โดยกำหนดสภาวะที่ประกอบไปด้วย 95 องศาเซลเซียส 3 นาที แล้วเพิ่มปริมาณ cDNA เป็นจำนวน 30 รอบ ด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 58 องศาเซลเซียส 40 วินาที, 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที ตามด้วย 72 องศาเซลเซียส 5 นาทีและสิ้นสุดสภาวะที่ 4 องศาเซลเซียส นำผลของปฏิกิริยาที่ได้มาทดสอบด้วย 1เปอร์เซ็นต์ agarose gel electrophoresis

## 4. การแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real – Time PCR

นำ cDNA เพิ่มปริมาณเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและกระบวนการเกิดตีเอ็นเอเมทิลเลชัน โดยเริ่มจากหาอุณหภูมิที่เหมาะสม และทำ End-Point PCR นำ PCR product ที่ได้มาตรวจสอบด้วย 2% agarose gel electrophoresis นำ Primer ที่ได้สภาวะที่เหมาะสมมาใช้ทำ Real-Time PCR ด้วยเครื่อง Roche LightCycler (LC-480 Real-Time PCR System; Roche Life Science, U.S.) โดยมีส่วนผสมของสารเรืองแสง LightCycler® 480 SYBR Green I Master (Roche Life Science, USA) และ นำค่า Cycle threshold (CT) ที่ได้มาคำนวณ เพื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยสมการ Relative normalized expression 2-

$\Delta\Delta Ct$  ( $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$  Test sample –  $\Delta Ct$  Calibrator sample) ที่ปริมาณสัมพันธ์กับระดับการแสดงออกของยีน  $\beta$ -Actin และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean)

Table 2 Primer sequences for Real-time PCR

Gene*	Sequence number	Sequence (5' to 3')	References
<i>GH</i>	NM_204359.2	F: TGTTTGCCAACGCTGTGCT	Zhang et al. (2018)
		R: TTCTGCTGGGCGTCATCCT	
<i>GHR</i>	NM_001001293.1	F: GTCACACAGTTGCTTGGGAG	Zhang et al. (2018)
		R: TATGCGGCTGTTGGGTATCT	
<i>IGF1</i>	NM_001004384.2	F: AGTTCGTATGTGGAGACAGAGGC	Zhang et al. (2018)
		R: CCAGCCTCCTCAGGTCACAAC	
<i>IGF1R</i>	NM_205032.1	F: TTGTGCTCCCCATTGCTTTC	Zhang et al. (2018)
		R: GGAACGTACACATCCGAAGC	
<i>IGFBP2</i>	NM_205359.1	F: TCACAACCACGAGGACTCAAAG	Zhang et al. (2018)
		R: GCTGCCCATTCACCGACAT	
<i>DNMT1</i>	NM_206952.1	F: ACAGCCTTCGCCGATTACA	Li et al. (2016)
		R: CTCTCCACCTGCTCCACCAC	
<i>DNMT3a</i>	NM_001024832.1	F: GGATAGCCAAGTTCAGCAAAG	Li et al. (2016)
		R: GGAAGCCAAACACCCTCT	
<i>DNMT3b</i>	NM_001024828.1	F: GTGCTGTGCCTTGAACATTG	Li et al. (2016)
		R: TTCGTAACCTTCGAAACCATT	
<i><math>\beta</math>-Actin</i>	NM_205518.1	F: GTGCGTGACATCAAGGAGAAGC	Zhang et al. (2018)
		R: CCACAGGACTCCATACCCAAGA	

**Note:** \**GH* = growth hormone, *GHR* = growth hormone receptor, *IGF1* = insulin-like growth factor 1, *IGF1R* = insulin-like growth factor 1 receptor, *IGF2* = Insulin-like growth factor 2, *IGFBP2* = insulin-like growth factor binding protein, *POU1F* = POU class 1 homeobox 1, *DNMT1* = DNA Methyltransferase 1, *DNMT3a* = DNA Methyltransferase 3 Alpha, *DNMT3b* = DNA Methyltransferase 3 Beta and  *$\beta$ -actin* = Beta actin

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและลักษณะซากที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (Mean) ด้วยวิธี Duncan's New Multiple-Range test (Kirk, 1995) ด้วยโปรแกรม SPSS (SPSS, 2019) และนำผลทดลองการแสดงออกของยีนมาวิเคราะห์แบบ One way ANOVA in LSD โดยใช้กลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็นเป็นตัวเปรียบเทียบ (Control)

### สถานที่ทำการวิจัย และรวบรวมข้อมูล

1. ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมอาหารสัตว์ 3 และ 4 บริษัท ซีพีเอฟ จำกัด มหาชน อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
2. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

### ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

ช่วงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2563 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2565

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### ผลการศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองลูกผสมประตูทางดำ

จากการทดลองใช้พลาสติกสามชั้นทั้ง 3 ระดับคือ 10 20 และ 30 วินาทีเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสติกสามชั้น โดยทำการเก็บข้อมูลทุกสัปดาห์ตั้งแต่อายุ 0 – 63 วัน เพื่อวิเคราะห์น้ำหนักตัว (Body weight; BW) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) ปริมาณการกินได้ (Feed Intake; FI) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Dairy Gain; ADG) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio; FCR) และอัตราการอยู่รอด (Survival rate) และแบ่งการวิเคราะห์เป็นช่วงอายุ 0 – 21 วัน 0 – 42 วัน และ 0 - 63 วัน

พบว่าในช่วงอายุ 0 – 21 วัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (Table 3) ซึ่งเป็นช่วงของการกกไข่ โดยจะมีอาหาร รูปแบบการให้อาหารและน้ำ และอุณหภูมิภายในเล้าที่ต้องให้ความสำคัญเพื่อให้ถูกต้องตามหลักซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโต ความแข็งแรง และความต้านทานโรคในลูกไก่ต่อไปทั้งนี้เนื่องจากเป็นช่วงของการปรับตัวจึงอาจส่งผลทำให้การกินได้ ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน

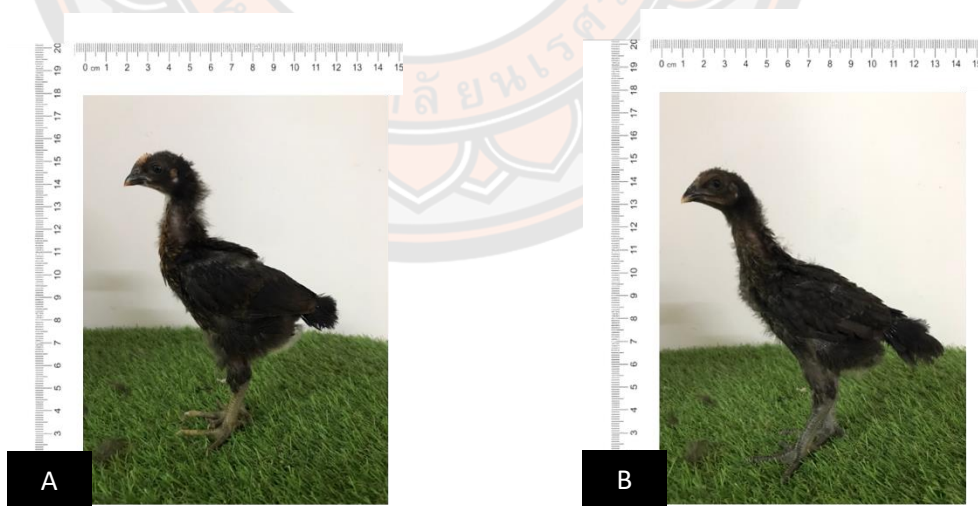


Figure 8 21-day-old chickens, control group

(A; Control-Male, B; Control-Female)



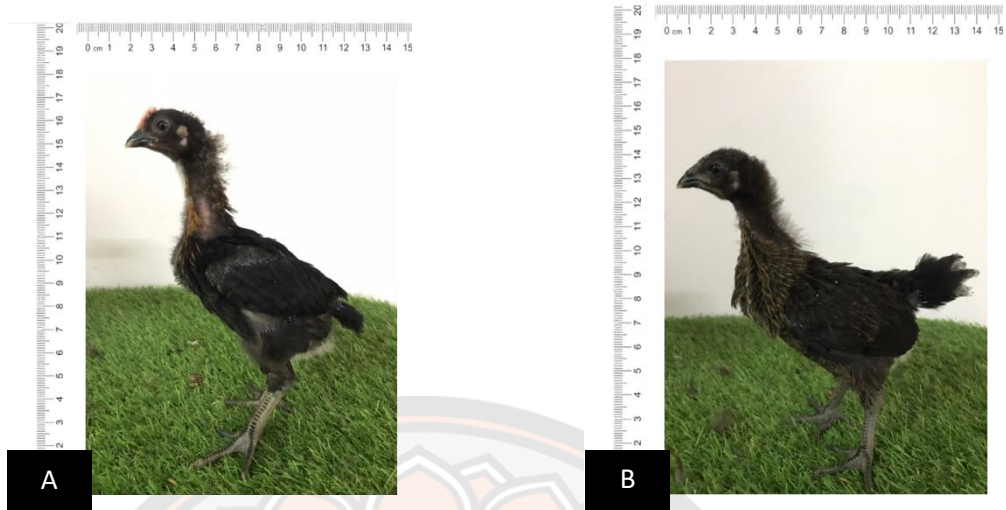


Figure 9 21-day-old chickens, treat-plasma 10 second  
(A; P10-Male, B; P10-Female)

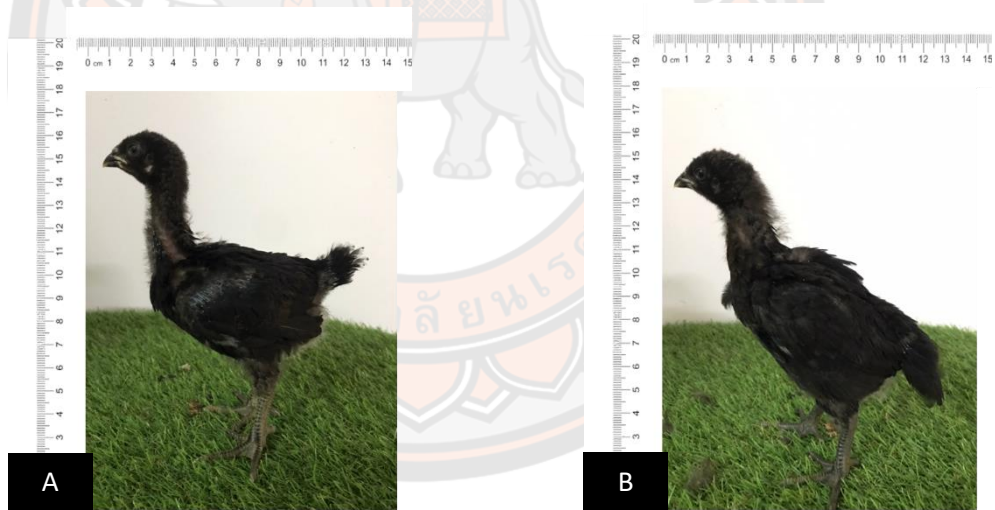


Figure 10 21-day-old chickens, treat-plasma 20 second  
(A; P20-Male, B; P20-Female)



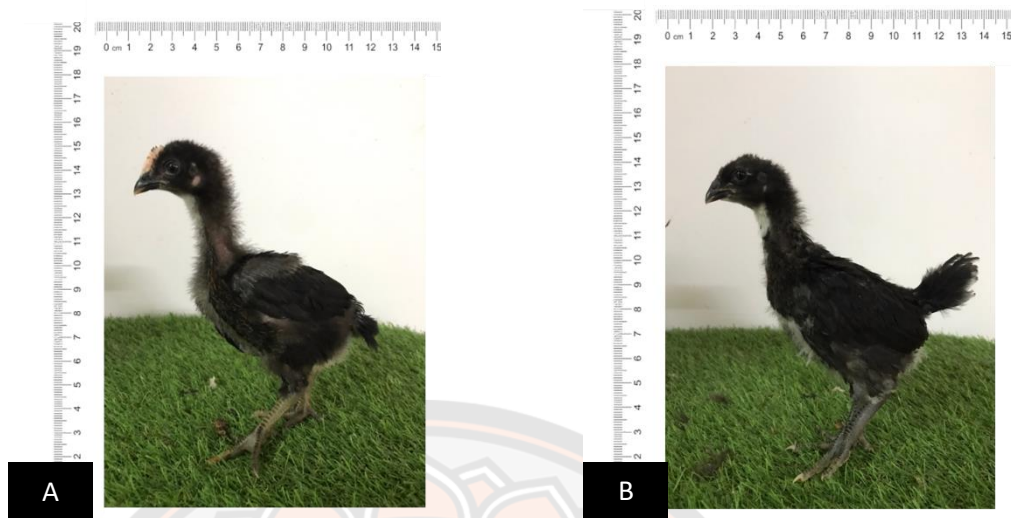


Figure 11 21-day-old chickens, treat-plasma 30 second  
(A; P30-Male, B; P30-Female)

โดยช่วงอายุ 0 – 42 วัน พบว่าน้ำหนักตัวที่ 42 วัน และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 และ 20 วินาที มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและปริมาณการกินได้ของเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 20 วินาที มีค่าสูงที่กว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (Table 4)



Figure 12 42 day-old chickens, control group  
(A; Control-Male, B; Control-Female)



Figure 13 42 day-old chickens, treat-plasma 10 second  
(A; P10-Male, B; P10-Female)



Figure 14 42-day-old chickens, treat-plasma 20 second  
(A; P20-Male, B; P20-Female)



Figure 15 42-day-old chickens, treat-plasma 30 second  
(A; P30-Male, B; P30-Female)

ช่วงอายุ 0 – 63 วัน พบว่าน้ำหนักตัวที่ 63 วัน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 และ 20 วินาที มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองอายุตั้งแต่ 4 ถึง 24 สัปดาห์พบว่าเพศผู้จะมีน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่าเพศเมีย (อำนวย และคณะ, 2540) ส่วนเพศเมียในกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับพลาสมาเย็นไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (Table 5)

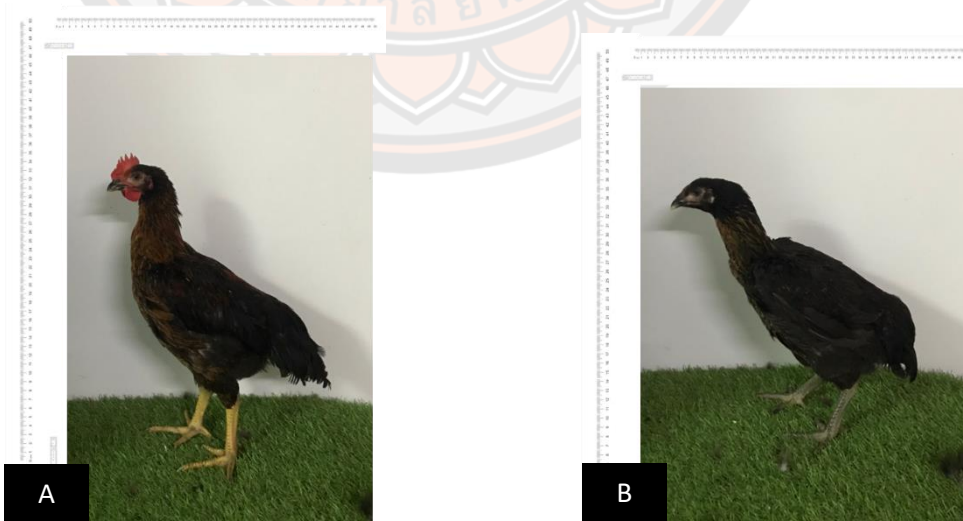


Figure 16 63 day-old chickens, control group  
(A; Control-Male, B; Control-Female)

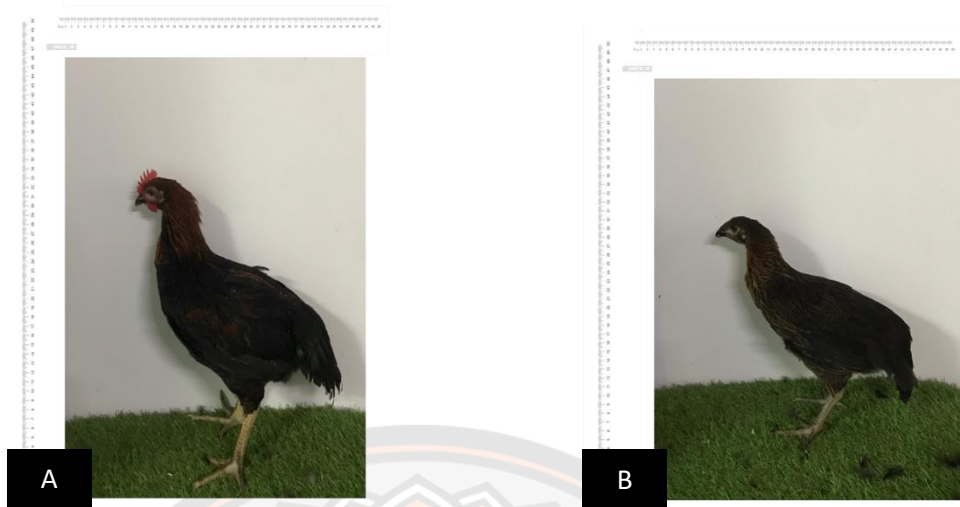


Figure 17 63 day-old chickens, treat-plasma 10 second  
(A; P10-Male, B; P10-Female)



Figure 18 63 day-old chickens, treat-plasma 20 second  
(A; P20-Male, B; P20-Female)





Figure 19 63 day-old chickens, treat-plasma 30 second  
(A; P30-Male, B; P30-Female)

โดยเทคโนโลยีพลาสมาเย็นถือว่าเป็นเทคโนโลยีที่มีการนำมาปรับและประยุกต์ใช้ในหลาย ๆ ด้าน ทั้งการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ทางการแพทย์ และยังมีผลช่วยเพิ่มการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช ซึ่งกลไกการงอกของเมล็ดที่เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับพลาสมาเย็นเป็นอิทธิพลจากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเปลือกที่หุ้มเมล็ดหรือพื้นผิว ส่งผลต่อความสามารถในการดูดซึมน้ำที่มากขึ้น ซึ่งจำเป็นสำหรับการงอกของเมล็ด พลาสมาเย็นสร้างปฏิกิริยาออกซิเจนและไนโตรเจน (Reactive Oxygen and Nitrogen Species; RONS) ที่หลากหลาย แต่ขึ้นอยู่กับก๊าซตัวป้อนที่เป็นตัวกลางของการทำปฏิกิริยาเป็นพลาสมา โดย RONS เช่น ไนตริกออกไซด์ สามารถทำลายการพักตัวของเมล็ดและนำไปสู่การงอกเร็วขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาและระดับของการใช้ที่เหมาะสม ( Adhikari et al., 2020)

สำหรับในสัตว์ปีกนั้นการแพร่กระจายของอนุภาคของพลาสมาเย็นจะแพร่ซึ่มผ่านรูขนาดเล็กรอบ ๆ เปลือกไข่ โดยอนุภาคของพลาสมาเย็นจะสร้างปฏิกิริยาออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) เมื่อสัมผัสกับพื้นผิว (Kuchenbecker et al., 2009) ซึ่งการแพร่กระจายของ ROS ที่เกิดจากพลาสมาเย็นหรือการที่เกิดจากการสะสมของ ROS ภายในเซลล์ที่กระตุ้นด้วยพลาสมาเย็น (Lin, et al., 2017) จะช่วยควบคุมการเพิ่มจำนวนและการแยกเซลล์ (Kalghatgi et al., 2010, Steinbeck, et al., 2013) และ ROS ยังมีผลต่อกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันอีกด้วย นอกจากนี้พบว่า ROS ที่เกิดจากพลาสมาเย็นช่วยเพิ่มความแตกต่างของเซลล์โครงสร้าง และการพัฒนาแขนขาของหนูผ่านการเปิดใช้งานและการขยายเส้นทางการส่งสัญญาณที่ไวต่อ ROS ภายในเซลล์ (Charentes, et al., 2013)



ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang et al., 2018 ที่ทำการทดลองใช้พลาสมาเย็นที่ระดับต่างกันคือ 11.7 16.4 22.0 และ 22.7 kV. ที่เวลา 30 วินาที 1 และ 2 นาทีในทุกระดับพลาสมา โดยใช้พลาสมาเย็นเพียง 1 ครั้งในไขฟักอายุ 4 วัน ของไก่พื้นเมืองเกาหลี และทดลองเลี้ยงแบบแยกเพศ พบว่าเพศผู้ที่ได้รับพลาสมาเย็น 11.7 kV เป็นเวลา 2 นาที มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และไก่เพศผู้ที่ได้รับพลาสมามีอัตราการเติบโตที่เร็วกว่าตัวเมียอย่างเห็นได้ชัด โดยปกติแล้วไก่เพศผู้จะมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ดีกว่าไก่เพศเมียโดยพื้นฐานของลักษณะทางพันธุกรรม การศึกษาของ Sakulthai et al. (2023) ยังตรวจพบระดับของสาร somatotropin ซึ่งเป็นเปปไทด์ฮอร์โมนที่กระตุ้นการเจริญเติบโต โดยพบว่าในไก่เพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมามีระดับของสารดังกล่าวสูงกว่าเพศเมียและกลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมาแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) นอกจากนี้ยังเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microbiome) ที่ส่งผลต่อการย่อย การดูดซึมอาหาร และเมแทบอลิซึมของสารอาหารในร่างกายของสัตว์ (Turnbaugh et al., 2006; Rinttilä, & Apajalahti, 2013) ซึ่งมีการศึกษาของ Cui et al, 2021 ทำการศึกษาความแตกต่างระหว่างเพศในการเจริญเติบโตที่มีความสัมพันธ์กับ cecal microbiota ในไก่ ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียสกุล *Bacteroides* และ *Megamonas* อยู่ในลำไส้ใหญ่ของไก่ตัวผู้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ แบคทีเรียดังกล่าวเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของไกลแคนที่เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์จำนวนมากที่ได้รับมาจากอาหารที่ร่างกายรับเข้าไป ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อร่างกายสามารถเปลี่ยนสารอาหารที่ได้รับให้เป็นพลังงานได้เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตก็จะดีขึ้น

Table 3 Effect of cold plasma on growth performance at 0-21 days

Traits	Male					Female					SEM	P-value
	SEM					P-value						
	0 sec	10 sec	20 sec	30 sec	30 sec	0 sec	10 sec	20 sec	30 sec	30 sec		
At 0-21 day old												
Initial weight (g)	37.00	37.17	36.84	36.33	0.15	0.27	36.17	36.34	35.68	36.15	0.86	0.09
BW at 21 days of age, g/bird	304.92	313.46	319.62	314.42	2.41	0.24	247.23	276.15	277.99	272.69	3.41	0.95
Weight gain at 0-21 days, g/bird	267.92	276.29	282.78	276.27	2.50	0.25	238.07	239.82	242.32	236.54	3.44	0.94
FI, g/bird	512.71	509.62	517.31	502.12	9.68	0.95	429.62	491.15	478.66	444.81	10.93	0.22
ADG(g)	14.52	14.93	15.22	14.97	0.11	0.24	13.06	13.15	13.28	12.99	0.16	0.95
FCR adj.	1.66	1.63	1.62	1.60	0.03	0.86	1.57	1.79	1.73	1.63	0.05	0.4
Mortality rate	98.07	100.00	100.00	100.00	0.48	0.42	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	-

**Note:** Body weight = BW, Feed Intake = FI, Average Daily Gain = ADG, Feed Conversion Ratio = FCR

Table 4 Effect of cold plasma on growth performance at 0-42 days

Traits	Male				Female				P-value	
	0 sec	10 sec	20 sec	30 sec	0 sec	10 sec	20 sec	30 sec		
At 0-42 day old										
Body weight at 42 days of age, g/bird	786.71 <sup>b</sup>	831.92 <sup>a</sup>	850.38 <sup>a</sup>	815.19 <sup>ab</sup>	689.23	717.88	701.54	682.31	8.61	0.51
Weight gain, g/bird	749.70 <sup>b</sup>	794.75 <sup>ab</sup>	813.55 <sup>a</sup>	788.86 <sup>ab</sup>	653.06	681.55	665.86	646.15	8.61	0.51
Feed Intake, g/bird	1632.37 <sup>b</sup>	1692.5 <sup>b</sup>	1724.62 <sup>a</sup>	1647.88 <sup>b</sup>	1396.54	1483.08	1451.15	1410.00	16.82	0.3
ADG(g)	18.73 <sup>b</sup>	19.81 <sup>a</sup>	20.25 <sup>a</sup>	19.41 <sup>ab</sup>	2.03	2.07	2.07	2.07	0.20	0.51
FCR adj.	2.07	2.04	2.03	2.02	16.41	17.09	16.70	16.25	0.01	0.6
Mortality rate	98.08	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	-

**Note:** Body weight = BW, Feed Intake = FI, Average Dairy Gain = ADG, Feed Conversion Ratio = FCR

Table 5 Effect of cold plasma on growth performance at 0-63 days

Traits	Male			Female			SEM	P-value		
	0 sec	10 sec	20 sec	30 sec	0 sec	10 sec			20 sec	30 sec
At 0-63 day old										
Body weight at 63 days of age, g/bird	1319.97 <sup>b</sup>	1409.47 <sup>a</sup>	1459.04 <sup>a</sup>	1380.96 <sup>ab</sup>	1127.16	1160.76	1153.07	1134.80	9.83	0.61
Weight gain at 0-63 days, g/bird	1282.96 <sup>b</sup>	1372.1 <sup>a</sup>	1422.2 <sup>a</sup>	1344.63 <sup>ab</sup>	1090.95	1124.44	1117.40	1098.68	9.86	0.61
Feed Intake, g/bird	3393.25	3490.37	3507.50	3344.62	2857.69	2883.46	2848.08	2812.89	32.54	0.89
ADG(g)	20.95 <sup>b</sup>	22.37 <sup>a</sup>	23.16 <sup>a</sup>	21.92 <sup>ab</sup>	17.89	18.43	18.30	18.01	0.15	0.61
FCR adj.	2.53	2.44	2.40	2.42	2.54	2.48	2.47	2.48	0.02	0.57
Mortality rate	96.15	98.08	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	-

**Note:** Body weight = BW, Feed Intake = FI , Average Dairy Gain = ADG ,Feed Conversion Ratio = FCR

### ผลการศึกษาลักษณะซาก

จากการทดลองใช้พลาสมาเย็นทั้ง 3 ระดับคือ 10 20 และ 30 วินาที เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็น โดยที่อายุ 63 วัน ทำการการุณยฆาตไก่ทั้งหมด 128 ตัว เพื่อศึกษาคุณภาพซาก โดยคำนวณหาร้อยละของซากอ่อน (Hot carcass percentage) ร้อยละของอวัยวะภายนอก (External organs percentage) ร้อยละของอวัยวะภายใน (visceral organs percentage) ร้อยละของชิ้นส่วนตัดแต่ง (retail cuts percentage) ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักปีก และน้ำหนักของเพศผู้ในกลุ่มที่ได้รับพลาสมา 10 วินาที มีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang et al., 2018 ที่ทำการทดลองใช้พลาสมาเย็นที่ระดับต่างกันคือ 11.7 16.4 22.0 และ 22.7 kV. ที่เวลา 30 วินาที 1 และ 2 นาทีในทุกระดับพลาสมา โดยใช้พลาสมาเย็นเพียง 1 ครั้งในไขฟักอายุ 4 วัน ของไก่พื้นเมืองเกาหลี และทดลองเลี้ยงแบบแยกเพศ พบว่าเพศผู้ที่ได้รับพลาสมาเย็น 11.7 kV เป็นเวลา 2 นาที มีความยาวหน้าแข้งที่สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ

ทั้งนี้ไก่พื้นเมืองจะมีเปอร์เซ็นต์ซากที่ต่ำกว่าไก่เนื้อ ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพซากประกอบไปด้วย ปัจจัยอันเนื่องมาจากตัวสัตว์โดยเฉพาะ ลักษณะทางพันธุกรรมและลักษณะเฉพาะตัวของสัตว์ เช่น เพศ อายุ ตำแหน่งของเนื้อ รวมถึงการดูแลและการจัดการ (สัญญาชัย จตุรสิทธา, 2550) อายุเข้าฆ่า พันธุ์ และระดับอัตราพันธุกรรมก็อาจส่งผลต่อลักษณะซากเช่นกัน (ชลธิ แก้วคุด และคณะ, 2561)



Table 6 Effect of cold plasma on carcass trait

Carcass traits	Male			Female			P-value	SEM				
	0 sec	10 sec	20 sec	30 sec	0 sec	10 sec			20 sec	30 sec		
Live weight (g)	1422.50	1417.94	1426.81	1416.50	8.60	0.97	1135.37	1166.31	1148.12	1149.25	6.86	0.47
Hot carcass weight% of BW	79.23	78.66	78.76	78.72	0.15	0.51	78.27	77.85	78.68	77.73	0.22	0.43
Breast yield% of BW	15.72	15.54	15.83	16.04	0.10	0.39	16.65	16.92	16.40	16.50	0.15	0.60
Thigh yield% of BW	15.41	15.38	16.80	15.33	0.24	0.10	15.21	15.46	15.52	15.26	0.26	0.97
Visceral organs weight	10.51	10.76	10.88	10.86	0.11	0.63	11.33	11.47	10.87	11.73	0.12	0.09
Fillet	3.81	3.73	3.75	3.83	0.03	0.71	4.12	4.24	4.12	3.93	0.04	0.12
Drumstick	13.24	13.32	13.24	12.68	0.21	0.67	12.61	12.68	12.43	12.71	0.05	0.21
Wing	11.71 <sup>bc</sup>	12.07 <sup>a</sup>	11.55 <sup>c</sup>	11.97 <sup>ab</sup>	0.06	0.01	12.10	11.95	11.93	12.03	0.05	0.67
Shank	5.68 <sup>b</sup>	5.94 <sup>a</sup>	5.71 <sup>ab</sup>	5.65 <sup>b</sup>	0.09	0.05	5.32	5.24	5.15	5.54	0.71	0.09
Skeletal	20.64	20.08	20.08	20.20	0.14	0.46	20.55	20.19	20.01	20.05	0.20	0.77

**Note:** Live weight = น้ำหนักมีชีวิต, Hot carcass weight% of BW = %ซากอุ่น/น้ำหนักตัว, Breast yield% of BW = %อกไก่/น้ำหนักตัว,

Thigh yield% of BW = %สะโพก/น้ำหนักตัว, Visceral organs weight = น้ำหนักเครื่องใน, Fillet = สันใน, Drumstick = น่อง,

Wing = ปีก, Shank = หน้าแข้ง and Skeletal = โครง

### ผลการศึกษากการแสดงออกของยีน

ทดลองใช้พลาสมาเย็นทั้ง 3 ระดับคือ 10 20 และ 30 วินาที เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็น ที่อายุแรกฟัก และ 63 วัน ทำการการุณยฆาตไก่โดยแยกเป็นเพศผู้ 4 ตัว/ทรีทเมนต์ และเพศเมีย 4 ตัว/ทรีทเมนต์ รวมทั้งหมด 32 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างตบไปทำการศึกษากการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต และยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตีเอ็นเอเมทิลเลชัน

#### 1. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต

จากการศึกษากการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต คือ Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1R) และ Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) จากเนื้อเยื่อตับที่อายุ 0 วัน วิเคราะห์แบบแยกเพศ และไม่แยกเพศพบว่ากลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็นทั้ง 3 ระดับ และกลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็นไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (Figure 20, 21 and 22)



Table 7 Effect of cold plasma on growth relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old (male-female)

Genes	Treatments									
	Male					Female				
	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s		
<b>0 day</b>										
<i>GH</i>	1.00 ± 1.08	0.38 ± 0.48	0.32 ± 0.24	0.58 ± 0.30	1.00 ± 0.85	1.37 ± 0.83	1.83 ± 1.39	1.14 ± 0.32		
<i>IGF1</i>	1.00 ± 0.51	1.34 ± 0.75	0.82 ± 0.21	0.90 ± 0.45	1.00 ± 0.38	1.48 ± 0.56	1.78 ± 1.08	1.12 ± 0.47		
<i>GHR</i>	1.00 ± 0.65	1.28 ± 0.94	0.95 ± 0.71	0.64 ± 0.43	1.00 ± 0.31	1.12 ± 0.69	1.23 ± 0.65	1.22 ± 0.75		
<i>IGF1R</i>	1.00 ± 1.74	0.43 ± 0.56	0.84 ± 1.46	1.13 ± 2.09	1.00 ± 0.93	1.09 ± 0.96	1.12 ± 1.02	0.46 ± 0.34		
<i>IGFBP2</i>	1.00 ± 0.72	0.98 ± 0.30	0.99 ± 0.20	0.82 ± 0.42	1.00 ± 0.84	0.97 ± 0.86	1.33 ± 1.63	1.57 ± 1.24		
<b>63 day</b>										
<i>GH</i>	1.00 ± 0.48 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.24 <sup>b</sup>	0.54 ± 0.66	0.28 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.00 ± 0.61 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.25	0.37 ± 0.16 <sup>b</sup>	1.02 ± 0.33		
<i>IGF1</i>	1.00 ± 0.70 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.29 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.20 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.00 ± 0.43	0.42 ± 0.32	0.55 ± 0.25	0.62 ± 0.37		
<i>GHR</i>	1.00 ± 0.37	1.68 ± 0.93	0.84 ± 0.36	0.38 ± 0.14	1.00 ± 0.61	0.72 ± 0.43	0.82 ± 1.41	1.96 ± 1.69		
<i>IGF1R</i>	1.00 ± 0.50 <sup>b</sup>	1.85 ± 1.03 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.41	0.27 ± 0.12	1.00 ± 0.35	0.90 ± 0.46	1.06 ± 0.20	1.63 ± 0.84		
<i>IGFBP2</i>	1.00 ± 0.67	1.67 ± 1.14	0.72 ± 0.53	0.45 ± 0.38	1.00 ± 1.01	0.95 ± 0.51	1.37 ± 1.48	1.16 ± 0.90		

**Note:** The data in the table represent the mean ± standard deviation (SD). Different English letters in the same row showed a statistically significant difference at  $p < 0.05$ .

**Table 8 Effect of cold plasma on growth relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old**

Genes	Treatments			
	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s
<b>0 day</b>				
<i>GH</i>	1.00 ± 1.16	0.65 ± 0.56	0.74 ± 0.64	0.75 ± 0.34
<i>IGF1</i>	1.00 ± 0.52	1.39 ± 0.73	1.18 ± 0.59	1.00 ± 0.47
<i>GHR</i>	1.00 ± 0.45	1.19 ± 0.74	1.11 ± 0.70	0.91 ± 0.70
<i>IGF1R</i>	1.00 ± 1.52	0.68 ± 0.68	0.95 ± 1.31	0.96 ± 1.95
<i>IGFBP2</i>	1.00 ± 0.73	0.97 ± 0.55	1.14 ± 0.93	1.11 ± 0.73
<b>63 day</b>				
<i>GH</i>	1.00 ± 0.58 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.24 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.61 <sup>b</sup>	0.51 ± 0.28 <sup>b</sup>
<i>IGF1</i>	1.00 ± 0.94 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.35 ± 0.23 <sup>b</sup>	0.30 ± 0.11 <sup>b</sup>
<i>GHR</i>	1.00 ± 0.87	1.54 ± 1.76	0.83 ± 0.80	0.61 ± 0.33
<i>IGF1R</i>	1.00 ± 0.80	1.65 ± 1.72	0.89 ± 0.63	0.54 ± 0.28
<i>IGFBP2</i>	1.00 ± 1.04	1.54 ± 1.81	0.83 ± 0.77	0.60 ± 0.52

**Note:** The data in the table represent the mean ± standard deviation (SD). Different English letters in the same row showed a statistically significant difference at  $p < 0.05$ .

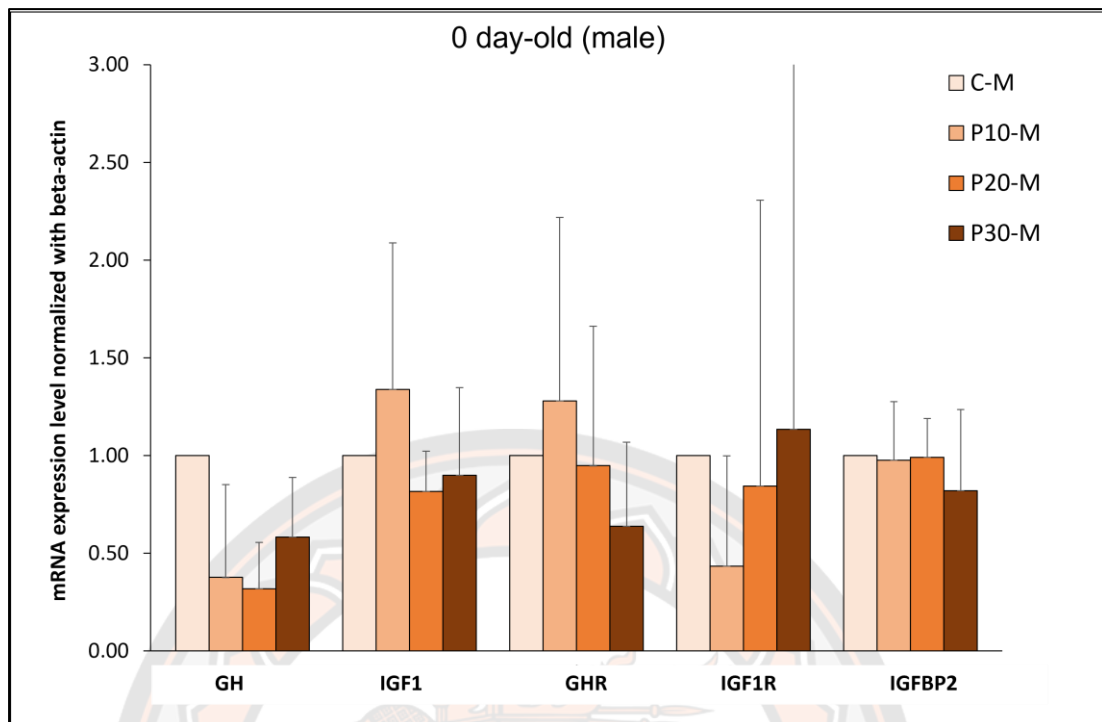


Figure 20 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

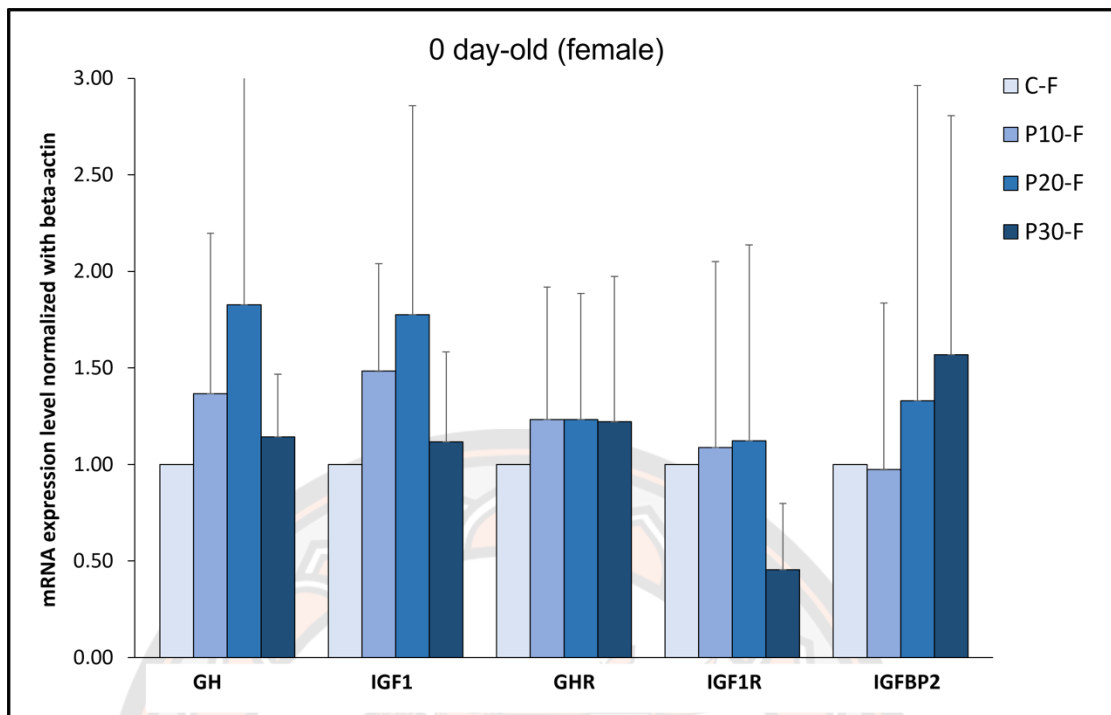


Figure 21 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test



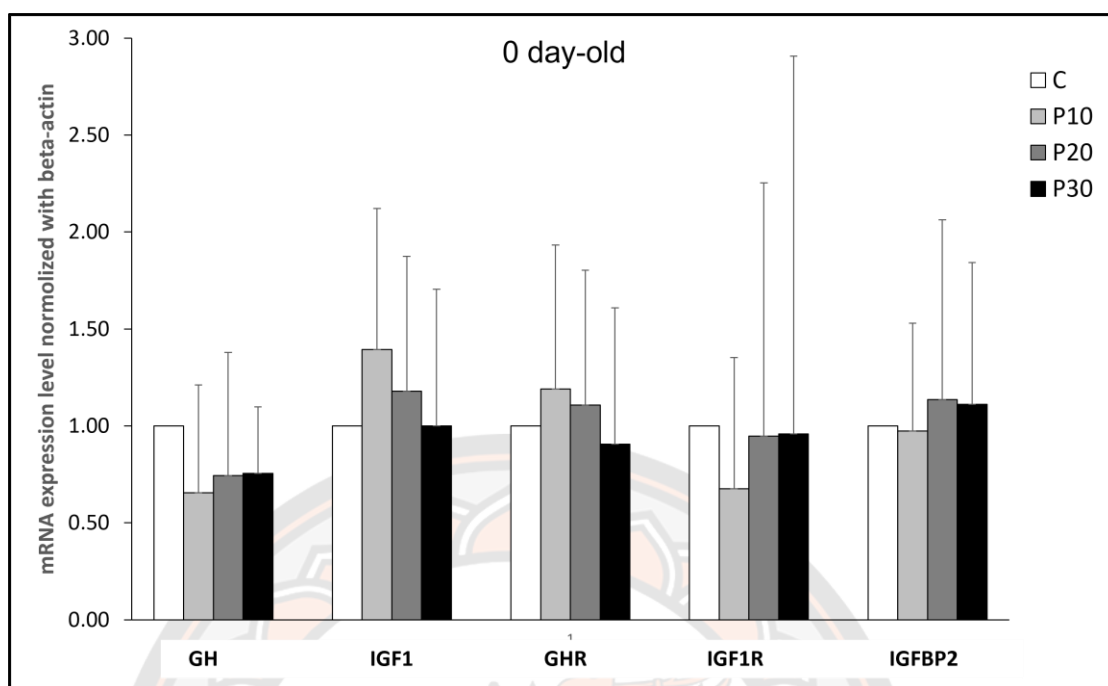


Figure 22 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

ที่อายุ 63 เมื่อวิเคราะห์แบบแยกเพศ พบว่าเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 และ 30 วินาที และเพศเมียที่ได้รับพลาสมา 20 วินาที มีระดับการแสดงออกของยีน *GH* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) เพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 20 และ 30 วินาที มีการแสดงออกของยีน *IGF1* ( $P > 0.05$ ) และในเพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 20 วินาที มีระดับการแสดงออกของยีน *IGF1R* ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมไม่ได้รับพลาสมา ( $P < 0.05$ ) (Figure 23 and 24) และเมื่อวิเคราะห์แบบไม่แยกเพศแล้วพบว่าผลการแสดงออกของยีน *GH* และ *IGF1* ในกลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 10 20 และ 30 วินาที มีระดับการแสดงออกที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับพลาสมา ( $P < 0.05$ ) (Figure 25)

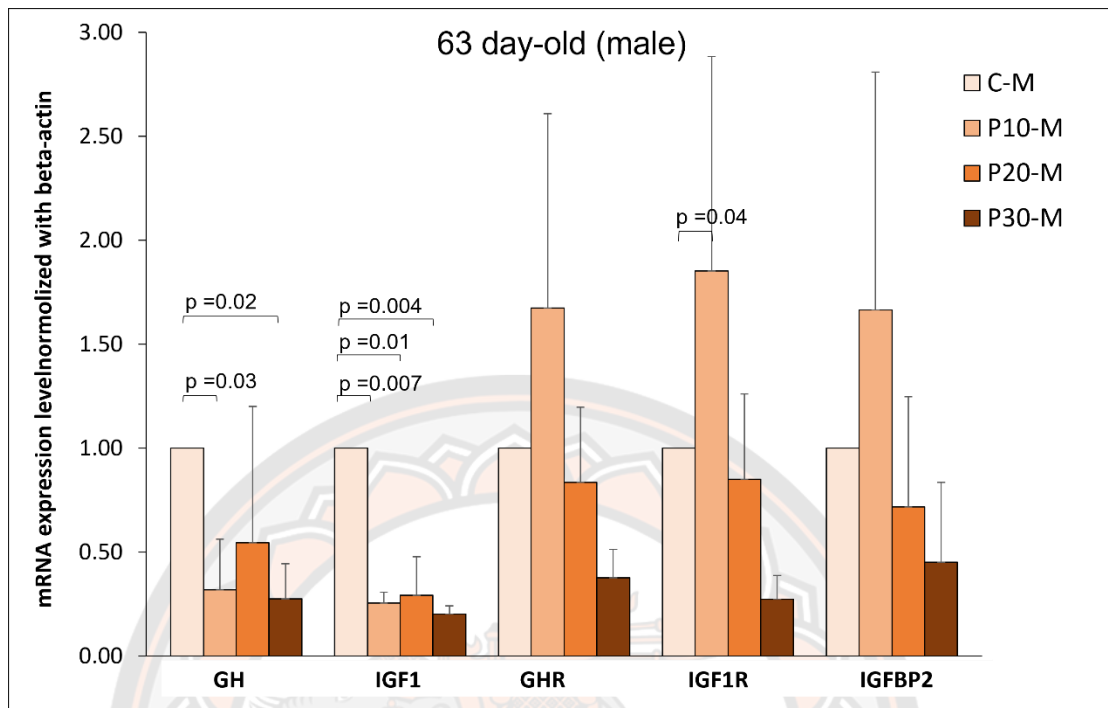


Figure 23 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 63 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

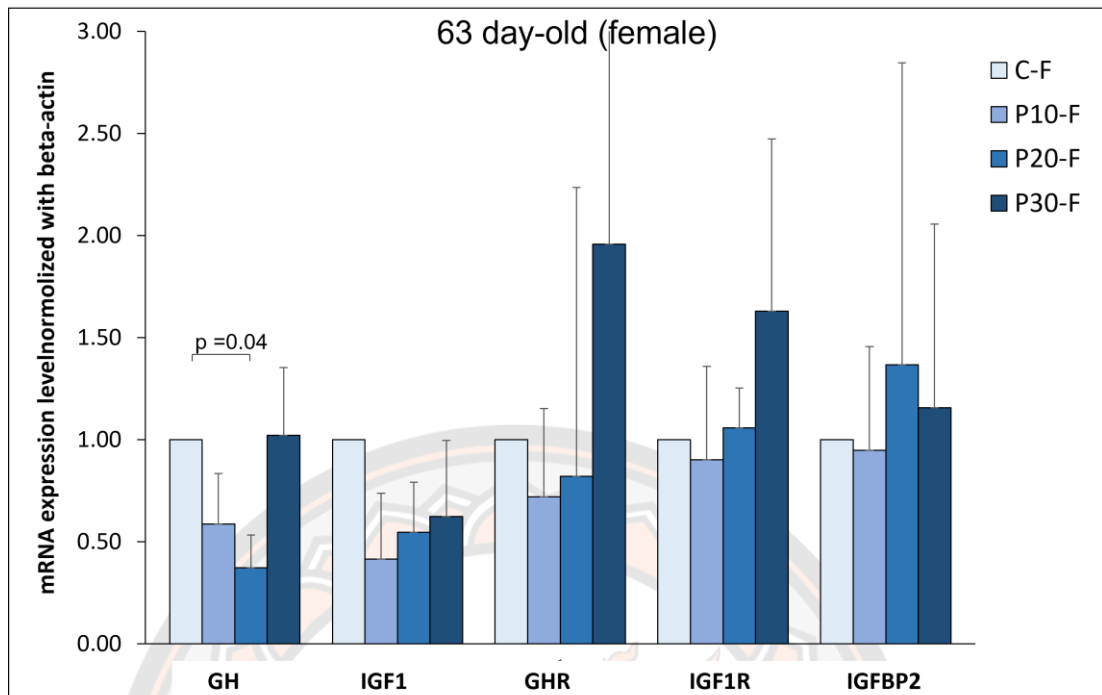


Figure 24 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 63 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

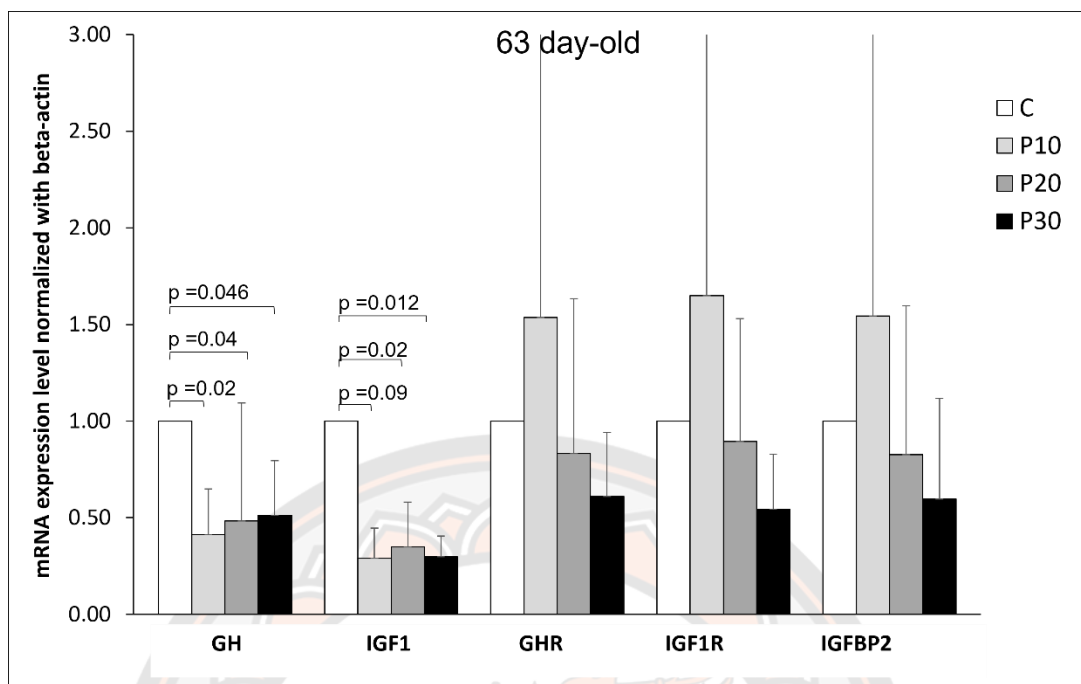


Figure 25 Relative mRNA levels of Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Growth Hormone Receptor (GHR), Insulin-like growth factor 1 Receptor (IGF-1) and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2 (IGFBP2) in liver tissues of 0 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

โดย Growth hormone (GH) ถือว่าเป็นกุญแจสำคัญที่ในการเจริญเติบโต การพัฒนา และการเผาผลาญของสัตว์ (Wang, X. et. al., 2014) เป็นเปปไทด์ฮอร์โมนที่จะออกฤทธิ์ผ่านโซมาโตมีดี (somatomedin) หรือที่เรียกว่า ตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตที่มีโครงสร้างคล้ายอินซูลิน (insulin-like growth factor 1; IGF1) โดยโกรทฮอร์โมนจะกระตุ้นให้มีการสร้าง IGF1 ซึ่งส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ตับ จากนั้น IGF1 จะไปออกฤทธิ์ที่อวัยวะเป้าหมายต่าง ๆ ส่วน Insulin Like Growth Factor Binding Protein 2 หรือ *IGFBP2* นั้นจะทำหน้าที่เป็นตัวจับกับ *IGF1* เพื่อช่วยปกป้องให้ *IGF1* มีอายุการทำงานที่ยาวนานขึ้นและส่งผลให้ *IGF1* สามารถที่จะไปจับกับ Growth hormone I receptor หรือ *IGF1R* ที่อยู่ที่เซลล์เป้าหมายทำให้การทำงานของฮอร์โมนเป็นไปอย่างเต็มประสิทธิภาพ (Eddy and Johan, 2005) โดยการศึกษาของ Ip et al. (2001) และ Nie et al. (2005) ได้อธิบายว่า *GH* และ *IGF1* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโต การเจริญเติบโตของกระดูกในไก่ และด้วย

การทำงานของ *GH* และ *IGF1* มีความสอดคล้องและเชื่อมโยงกัน เมื่อระดับการแสดงออก *GH* ที่ลดลงจึงส่งผลทำให้การทำงานของ *IGF1* ที่ลดลงตามไปด้วยเช่นกัน

ทั้งนี้จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 63 วัน หรือ 9 สัปดาห์นั้น พบว่าเมื่อมีการใช้พลาสมาเย็นแล้วระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ทั้ง *GH* และ *IGF1* มีการแสดงออกที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องการศึกษาของ Lu et al. (2010) ที่ทำการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *IGF1* ที่อายุแรกฟักจนถึง 18 สัปดาห์ในไก่ Arbor Acres พบว่าเมื่อไก่อายุ 2 สัปดาห์ระดับการแสดงออกของ *IGF1* เริ่มสูงขึ้น และเริ่มลดการทำงานลง เมื่ออายุเข้าสู่ 6 สัปดาห์ นอกจากนี้พรทิวา (2016) ทำการศึกษาระดับการแสดงออกของ *GH* และ *IGF1* ในไก่พื้นเมืองโคราช ที่อายุ 0, 4, 6, 8 และ 10 สัปดาห์ พบว่าที่อายุ 2 สัปดาห์ มีระดับการแสดงออกของ *IGF1* สูงสุดซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า *IGF1* มีการทำงานได้ดีในช่วงต้นของการเจริญเติบโตหลังจากออกจากไข่ฟัก สอดคล้องกับการศึกษาของ Richards et al. (2005) ทำการศึกษาระดับการแสดงออกของ *IGF1* ที่อายุก่อนฟัก 14-28 วันถึงหลังฟัก 3 สัปดาห์ในไก่วง ผลการทดลองพบว่าระดับการแสดงออกของ *IGF1* ที่อายุ 3 สัปดาห์ในไก่วงสูงกว่าก่อนฟัก 14-28 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตร่วมกับประสิทธิภาพการเจริญเติบโตนั้นพบว่าไก่พื้นเมืองที่ได้รับพลาสมาเย็นมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมา แต่การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ทั้ง *GH* และ *IGF1* มีการแสดงออกที่ลดลง ซึ่งไก่ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วจะมีการแสดงออกของ *IGF1* ที่ต่ำกว่าไก่ที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้า (Scanes et al., 1989) จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าไก่ที่ได้รับพลาสมาเย็นและเลี้ยงในระยะเวลาที่เลี้ยงเพียง 63 วันหรือ 9 สัปดาห์ นั้นทำให้ไก่เพศผู้มีน้ำหนักตัวสูงถึง 1,422.2 กรัม ซึ่งโดยปกติแล้วไก่พื้นเมืองนั้นมีอัตราการเจริญเติบโตช้า และต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงค่อนข้างนานเพื่อให้ได้น้ำหนักตามเกณฑ์เหตุผลเนื่องด้วยปัจจัยของลักษณะทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง และจะใช้เวลามากถึง 16 สัปดาห์เพื่อให้ได้น้ำหนัก 1,400 – 1,600 กรัม ทั้งนี้การศึกษาของ ธีรนนท์ ศรีภักษ์ชัย (2549) ที่ศึกษาผลของพันธุ์ไก่ต่อปริมาณและขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่าไก่พื้นเมืองมีปริมาณของเส้นใยกล้ามเนื้อแดงสูงกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อสีขาวจึงทำให้กล้ามเนื้อไก่พื้นเมืองมีความแน่นและรสชาติดีกว่าไก่สายพันธุ์ทางการค้า ทั้งนี้จึงอาจเป็นไปได้ว่าระดับการแสดงออกของยีน *IGF1* ที่ต่ำมีผลกับการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแดงที่สูงขึ้นในไก่พื้นเมือง ซึ่งนอกจากยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในการศึกษานี้ ยังมียีนที่เกี่ยวข้องกับการกล้ามเนื้อ น้ำหนักตัว และกระดูก เช่น Transforming growth factor  $\beta$  หรือ *TGF- $\beta$ 3* และ Pituitary-Specific transcription factor (*PIT1* หรือ *GHF1* หรือ *POU1F1*) ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่ง Li et al. (2003) รายงาน มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่อายุ 6 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์

น้ำหนักไขมันช่องท้องของไก่ น้ำหนักปีก เพอร์เซ็นต์ซากและน้ำหนักของโครงไก่เนื้อ โดยผลจากการศึกษาในครั้งนี่ยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนเกี่ยวกับการแสดงออกของยีน *GH* และ *IGF1* ที่ลดลงแต่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในกลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็นเพิ่มขึ้น และเพื่ออธิบายกลไกที่เกิดขึ้นควรต่อยอดการศึกษาในยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในกลุ่มอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต

## 2. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน

ผลการศึกษาพบว่าก่อนที่จะนำพลาสมาเย็นมาใช้ นั่น ยีนจะถูกควบคุมการทรานสคริปชัน ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน หรือ Hypermethylation ส่งผลให้การทรานสเลชันและสังเคราะห์โปรตีนที่เป็นกระบวนการที่ต่อจากการทรานสคริปชันนั้นถูกควบคุมตามไปด้วย โดยอนุภาคของพลาสมาเย็นจะมีอนุมูลอิสระในกลุ่มของ Reactive oxygen species (ROS) เหนียวนำไปเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อสารชีวโมเลกุล เช่น การเกิดลิปิดเปอร์ออกไซด์ และโปรตีนคาร์บอนิล (Davies, 1995) เมื่อเกิดความไม่สมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระ จะนำไปสู่การเกิด Oxidative stress ซึ่งส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปโดยที่ไม่มีเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของดีเอ็นเอ เรียกว่าการเปลี่ยนแปลงของเอพิเจเนติกส์ โดยกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันถือเป็นหนึ่งในเอพิเจเนติกส์เช่นกัน (Goldberg et al. 1997; Cerda, & Weitzman, 2007) เมื่อนำพลาสมาเย็นมาใช้ในไข่ฟักที่อายุ 4 วัน แล้วพบว่าอนุมูลพลาสมาเย็นมีผลทำให้หมู่เมทิลที่มากเกาะบนลำดับเบสของดีเอ็นเอนั้นหลุดออกไปหรือเรียกว่า demethylation ส่งผลให้ยีนที่ถูกควบคุมการทรานสคริปชันนั้นสามารถทำงานได้ (hypomethylation) และเกิดกระบวนการทรานสเลชันและการสังเคราะห์โปรตีนตามมา

ซึ่งการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน คือ DNA methyltransferase 1 (*DNMT1*), DNA methyltransferase 3 alpha (*DNMT3a*) และ DNA methyltransferase 3 beta (*DNMT3b*) โดย *DNMT* ทั้ง 3 ตัวมีความสำคัญในระหว่างการกำเนิดตัวอ่อนและกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน โดย *DNMT1* ถือว่าเป็นเมทิลทรานสเฟอเรสในการบำรุงรักษาที่สำคัญที่สุดในสัตว์มีกระดูกสันหลัง มีหน้าที่ในการรักษาสถานะของเมทิลเลชันในสายดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่ในรุ่นลูก (Li et al. 2016) และมีบทบาทสำคัญในการสร้างความแตกต่างของเซลล์ตลอดจนถึงการแบ่งเซลล์ (Egger et al. 2006; Moore et al. 2012) ส่วน *DNMT3a* และ *DNMT3b* เมื่อมีการแสดงออกจะสามารถทำให้เกิดการเติมหมู่เมทิลทั้ง DNA สายเดิม และ DNA สายที่สังเคราะห์ใหม่ (Okano et al., 1999) ด้วยเหตุผลนี้ *DNMT3a* และ *DNMT3b* จึงถูกเรียกว่าเป็น *de novo* methylation (Ge et al. 2004; Riggs, & Xiong, 2004) ซึ่งการแสดงออกของยีน *DNMT3a* จะมีการแสดงออกค่อนข้างมาก ซึ่งจำเป็นตลอดการเจริญและการพัฒนาของเซลล์ ส่วนการแสดงออกของ *DNMT3b* มีความเกี่ยวข้องอย่างมากในระหว่างการพัฒนาในช่วงต้น (Takeshima et al., 2006; Yen et al., 1992; Xie et al., 1999) ซึ่งมีการศึกษาของ Fernandez et al. (2020)



ทำการศึกษาสถานะของเมทิลเลชันในเอ็มบริโอต่อการอยู่รอดของเซลล์ในไก่พบว่าการแสดงออกของยีน *DNMT3b* ที่มากขึ้นไปมีความสำคัญอย่างยิ่งกับการควบคุมการแสดงออกของยีน *Sox9* และ *Scleraxis* ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างความแตกต่างของเซลล์ และมีผลต่อการแสดงออกของยีน *Bak1* ที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ โดยไก่จะมีลักษณะเฉพาะของการพัฒนาตัวอ่อน ซึ่งการแบ่งตัวของเซลล์ในระยะแรก การเจริญเติบโต และการแยกออกเป็นเนื้อเยื่อเฉพาะจะเกิดขึ้นได้แม้ในไข่ที่ปฏิสนธิแต่ยังไม่ฟักไข่ (Patten, 1898) เมื่อเริ่มฟักตัวการพัฒนาของตัวอ่อนจะดำเนินต่อไป ตัวอ่อนประกอบด้วยอวัยวะทั้งหมดที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตหลังจากการฟักไข่ (Zusman, & Ornoy, 1990; Kavlock, & Daston 1997; Hu et al. 1993) เมื่อ *DNMT3b* มีการแสดงออกมากขึ้นไปจะส่งผลเสียต่อการพัฒนาของตัวอ่อน ทำให้ตัวอ่อนแคระแกรนและตายได้ (Li, 2002; Jin et al., 2011) มีการศึกษาของ Li et al. 2016 ทำการศึกษาแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันในไก่พบว่าเกิดการเกิดเมทิลเลชันมีระดับของการเกิดเพิ่มมากขึ้นในระยะของการพัฒนาของตัวอ่อนที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งในระยะต่าง ๆ ของการพัฒนาของตัวอ่อนเพื่อจะดำเนินไปเป็นอวัยวะต่าง ๆ นั้นสำคัญอย่างมาก หากเกิดการเกิดเมทิลเลชันขึ้นจะไปยับยั้งการ transcription และนำไปสู่การขัดขวางการพัฒนาของตัวอ่อนได้

โดยจากการศึกษาของ Zhang et al. (2018) พบว่ากระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันก่อนได้รับพลาสมาเย็นจะอยู่ในระดับสูง หรือ Hypermethylation ซึ่งมีผลทำให้การแสดงออกของยีนอยู่ในระดับที่ต่ำ (Jin, & Robertson, 2011) และเมื่อมีการนำพลาสมาเย็นมาใช้ในไข่ฟักวันที่ 4 เป็นระยะที่ตัวอ่อนกำลังพัฒนา ทำให้กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันอยู่ในระดับที่ลดลง และส่งผลให้เกิดเมทิลเลชันอยู่ในรูปแบบของ global hypomethylation ซึ่งเป็นการลดการเติมหมู่เมทิลลง โดยทั่วไปในจีโนม ประกอบกับผลการศึกษาพบว่าการแสดงออกของยีน *DNMT1* และ *DNMT3b* ที่เป็นเอนไซม์ในการเกิดกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันมีการแสดงออกที่ลดลง อาจส่งผลทำให้กระบวนการเกิดเมทิลเลชันลดลงด้วย ซึ่งการเกิด hypomethylation จะกระตุ้นการ transcription ของยีน (Baylin et al., 2001) และในการศึกษาของ Zhang et al. (2018) ยังพบว่าการใช้พลาสมาเย็นมีผลกับการแสดงออกของยีน *TG*, *TPO* และ *THRs* ที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการผลิตพลังงานและการสังเคราะห์โปรตีนภายในร่างกายมีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น โดยการควบคุมผ่านระดับ demethylation ที่เป็นการกำจัดหมู่เมทิลออกจากโมเลกุล ก่อนหน้านี้นี้มีการศึกษาการใช้พลาสมาเย็นในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต (Kalghatgi et al., 2010; Kalghatgi et al., 2011; Kaushik et al., 2014) และมีการศึกษาของ Zhang et al. (2018) ทำการทดสอบการใช้พลาสมาเย็นแบบ Dielectric Barrier Discharge (DBD) ในสเปิร์มของไก่ โดยพบว่ากระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันมีผลต่อคุณภาพจำนวน และการเคลื่อนของสเปิร์ม (Montjean et al., 2012; Montjean et al., 2015) รูปแบบของการเกิดเมทิลเลชันในสเปิร์มส่งผลต่อความสมบูรณ์ของโครมาตินและการแสดงออกของยีน (Stuppia

et al., 2015; Pacchierotti, & Spanò, 2015) จากศึกษาพบว่าระดับของการเกิดเมทิลเลชันเกิดขึ้นในระดับต่ำ (hypomethylation) (Hammoud et al. 2009) ส่งผลทำให้ระดับของ ATP ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างสเปิร์ม การเคลื่อนที่ของสเปิร์มและความสามารถในการปฏิสนธิ (Misro, & Ramya, 2012; Kamali et al., 2017; Khan, 2011) ถูกควบคุมผ่านระดับ demethylation ทำให้มีการสังเคราะห์ ATP มากขึ้นและส่งผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนไหวของสเปิร์มที่เพิ่มขึ้นตามมา

ทั้งนี้เมื่อพิจารณาผลการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันร่วมกับผลประสิทธิภาพการเจริญเติบโตแล้วก็มีแนวโน้มเป็นไปได้ในทิศทางเดียวกันว่าการใช้พลาสมาเย็นในไขฟักวันที่ 4 ที่กำลังมีการพัฒนาของตัวอ่อน อาจส่งผลให้เกิดการ demethylation และทำให้การเกิดเมทิลเลชันอยู่ในระดับ hypomethylation และมีผลทำให้ตัวอ่อนในไขฟักที่ได้รับพลาสมาเย็นสามารถพัฒนาได้มากขึ้น และส่งผลให้มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็น (Figure 26, 27 and 28)



Table 9 Effect of cold plasma on DNA methylation relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old (male-female)

Genes	Treatments												
	Male						Female						
	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s	
<b>0 day</b>													
<i>DNMT1</i>	1.00 ± 0.14	1.22 ± 0.92	0.66 ± 0.32	1.01 ± 0.26	1.00 ± 0.36	1.00 ± 0.36	1.03 ± 0.44	0.96 ± 0.10	1.00 ± 0.36	1.00 ± 0.36	1.03 ± 0.44	0.96 ± 0.10	
<i>DNMT3α</i>	1.00 ± 0.19	1.25 ± 1.03	1.25 ± 0.46	1.02 ± 0.26	1.00 ± 0.39	1.20 ± 0.99	1.02 ± 0.45	1.23 ± 0.79	1.00 ± 0.39	1.20 ± 0.99	1.02 ± 0.45	1.23 ± 0.79	
<i>DNMT3β</i>	1.00 ± 0.92	1.05 ± 1.04	0.97 ± 0.58	0.58 ± 0.19	1.00 ± 1.17 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.68 <sup>b</sup>	0.43 ± 0.23 <sup>b</sup>	0.43 ± 0.19 <sup>b</sup>	1.00 ± 1.17 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.68 <sup>b</sup>	0.43 ± 0.23 <sup>b</sup>	0.43 ± 0.19 <sup>b</sup>	
<b>63 day</b>													
<i>DNMT1</i>	1.00 ± 0.28	0.98 ± 0.18	1.02 ± 0.38	1.10 ± 0.73	1.00 ± 0.49	0.96 ± 0.33	0.95 ± 0.29	0.84 ± 0.48	1.00 ± 0.49	0.96 ± 0.33	0.95 ± 0.29	0.84 ± 0.48	
<i>DNMT3α</i>	1.00 ± 0.20	1.02 ± 0.29	1.01 ± 0.25	1.16 ± 0.79	1.00 ± 0.05	1.01 ± 0.20	1.05 ± 0.32	0.83 ± 0.14	1.00 ± 0.05	1.01 ± 0.20	1.05 ± 0.32	0.83 ± 0.14	
<i>DNMT3β</i>	1.00 ± 1.60	0.80 ± 1.24	1.14 ± 1.96	0.43 ± 0.30	1.00 ± 1.01	0.65 ± 0.46	0.70 ± 0.61	0.41 ± 0.61	1.00 ± 1.01	0.65 ± 0.46	0.70 ± 0.61	0.41 ± 0.61	

**Note:** The data in the table represent the mean ± standard deviation (SD). Different English letters in the same row showed a statistically significant difference at  $p < 0.05$

Table 10 Effect of cold plasma on DNA methylation relative gene expression in liver tissues of 0 and 63 day-old

Genes	Treatments			
	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s
<b>0 day</b>				
<i>DNMT1</i>	1.00 ± 0.38	1.08 ± 0.72	1.01 ± 0.45	0.94 ± 0.18
<i>DNMT3<math>\alpha</math></i>	1.00 ± 0.31	1.25 ± 1.01	1.03 ± 0.39	1.09 ± 0.43
<i>DNMT3<math>\beta</math></i>	1.00 ± 1.84 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.50 <sup>b</sup>	0.24 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.16 <sup>b</sup>
<b>63 day</b>				
<i>DNMT1</i>	1.00 ± 0.38	1.00 ± 0.37	1.16 ± 0.82	1.10 ± 0.59
<i>DNMT3<math>\alpha</math></i>	1.00 ± 0.15	1.03 ± 0.30	1.03 ± 0.28	1.05 ± 0.49
<i>DNMT3<math>\beta</math></i>	1.00 ± 1.62	0.91 ± 1.71	0.80 ± 1.03	0.41 ± 1.48

**Note:** The data in the table represent the mean ± standard deviation (SD). Different English letters in the same row showed a statistically significant difference at  $p < 0.05$

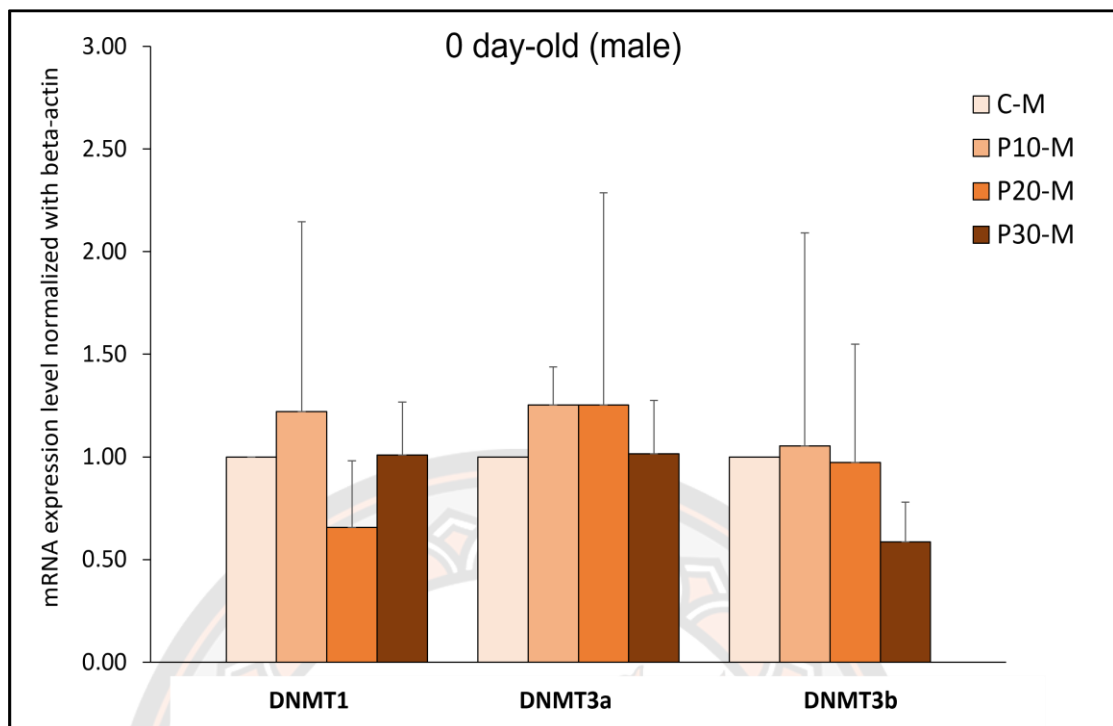


Figure 26 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 0 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

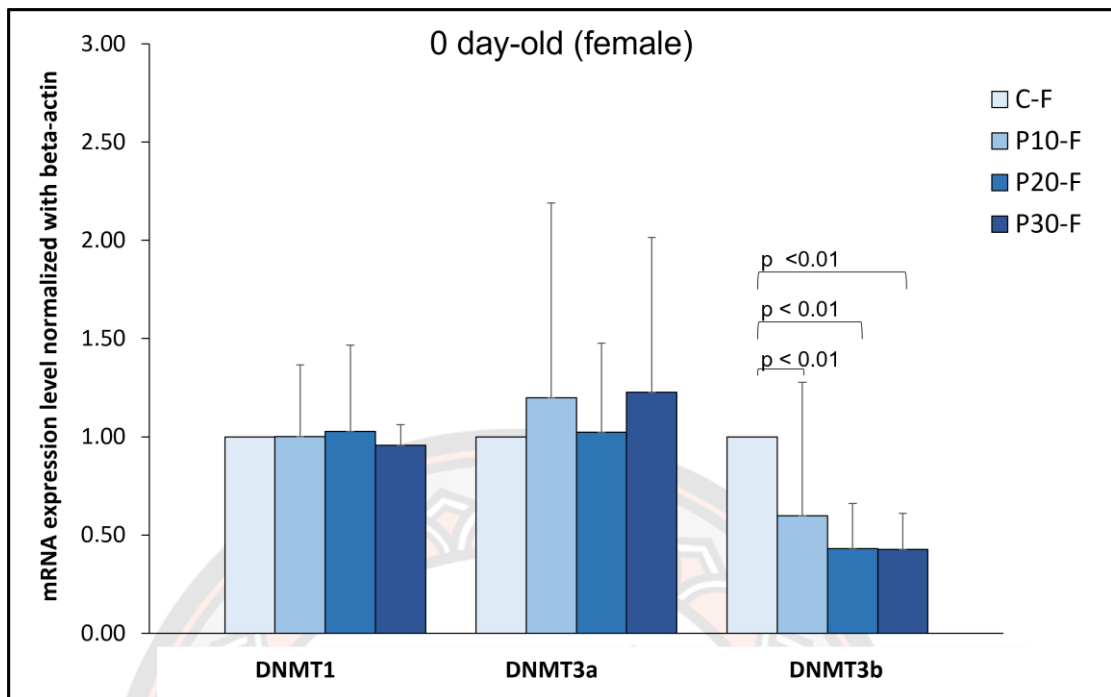


Figure 27 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 0 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test



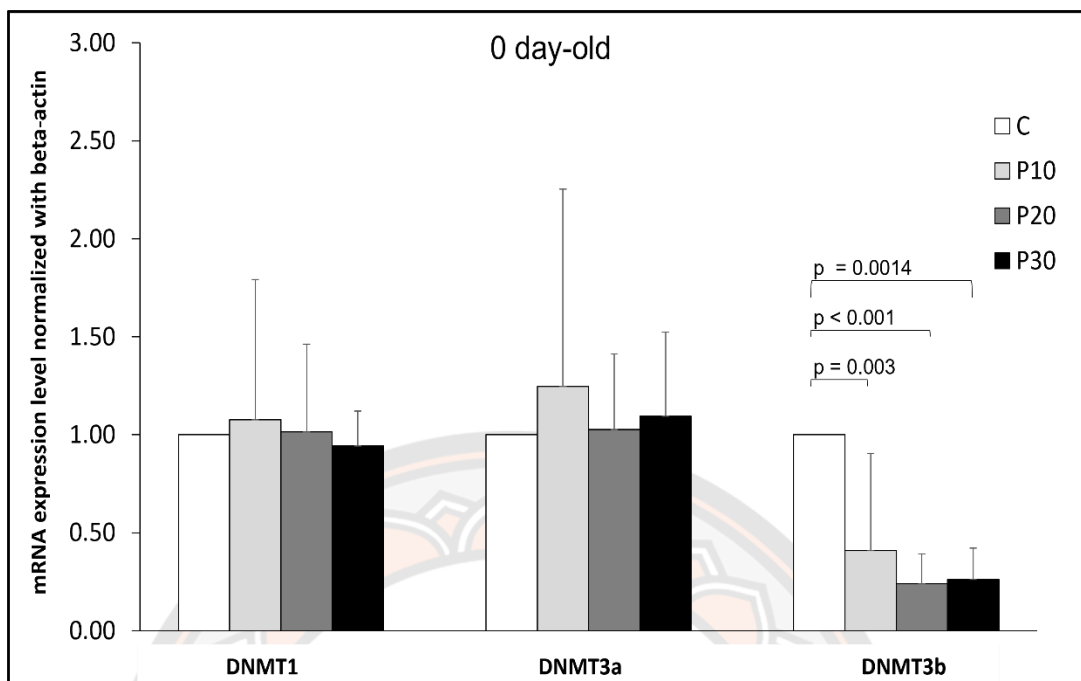


Figure 28 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 0 day-old in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

แต่ที่อายุ 63 วันพบว่าการแสดงออกของยีน DNMT ทั้ง 3 ตัว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งในการวิเคราะห์แบบไม่แยกเพศและวิเคราะห์แบบแยกเพศ ซึ่งทั้งนี้เป็ผลเพราะการทำงานของยีนดังกล่าวจะอยู่ในช่วงต้นของการพัฒนาของเซลล์ในช่วงต้นเป็นหลัก ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนดังกล่าวที่อายุ 63 วันจึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Figure 29, 30 and 31)

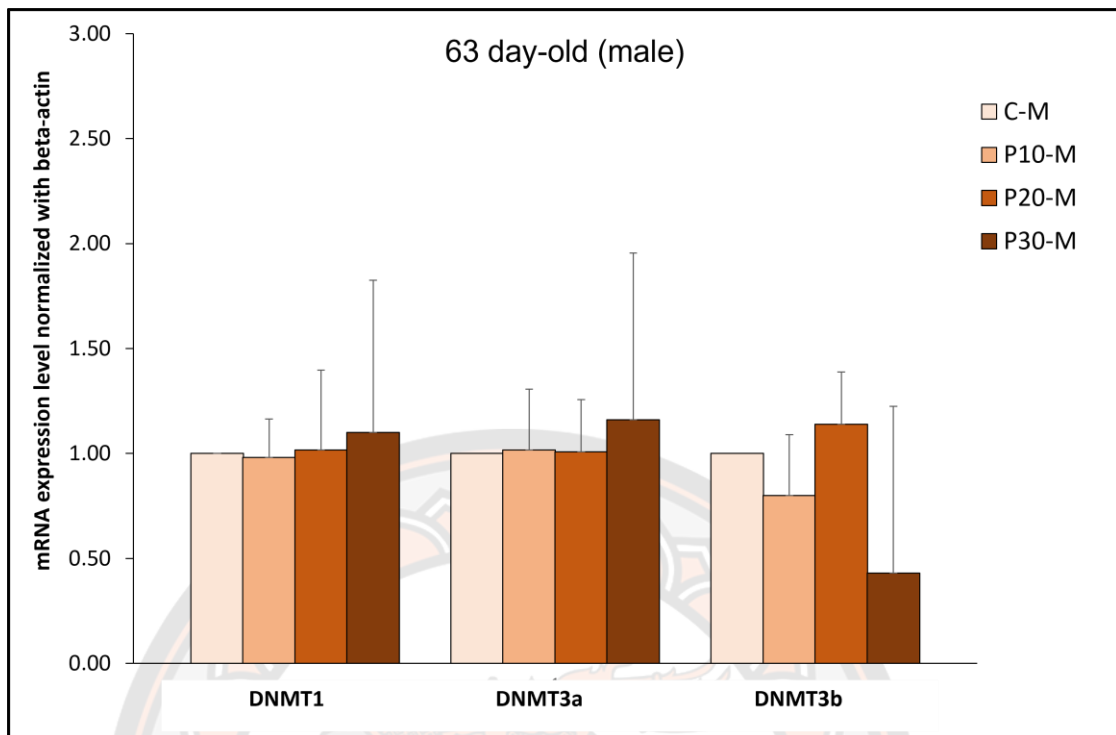


Figure 29 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 63 day-old (male) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual male Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

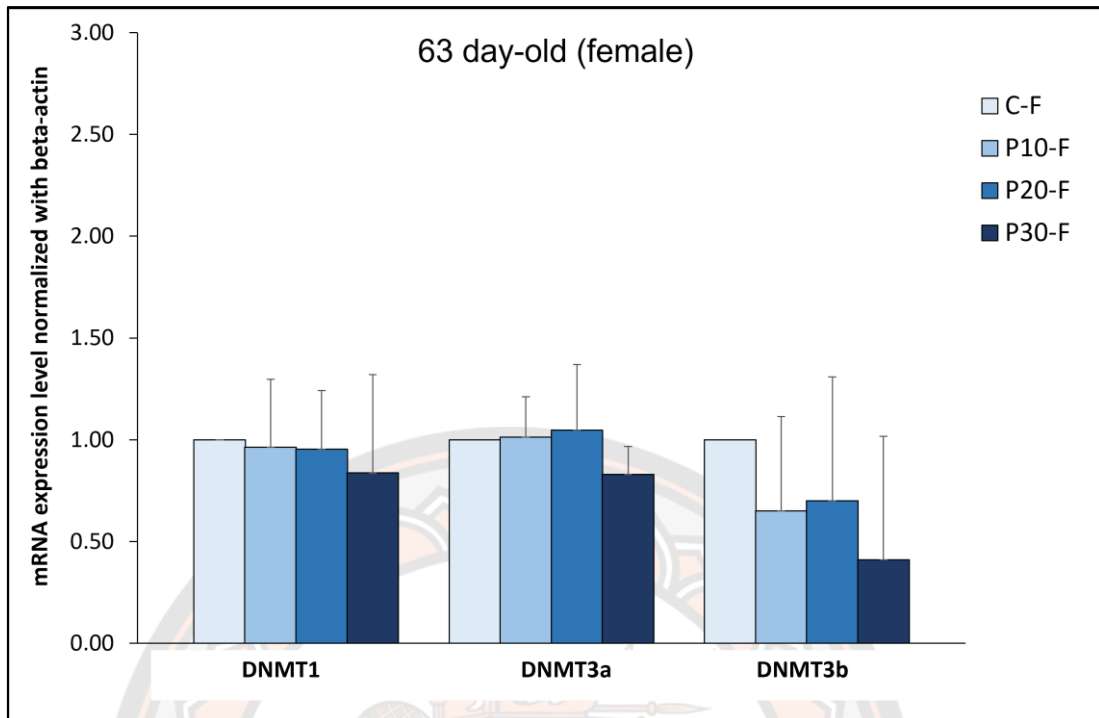


Figure 30 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 63 day-old (female) in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=4); n represents an individual female Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

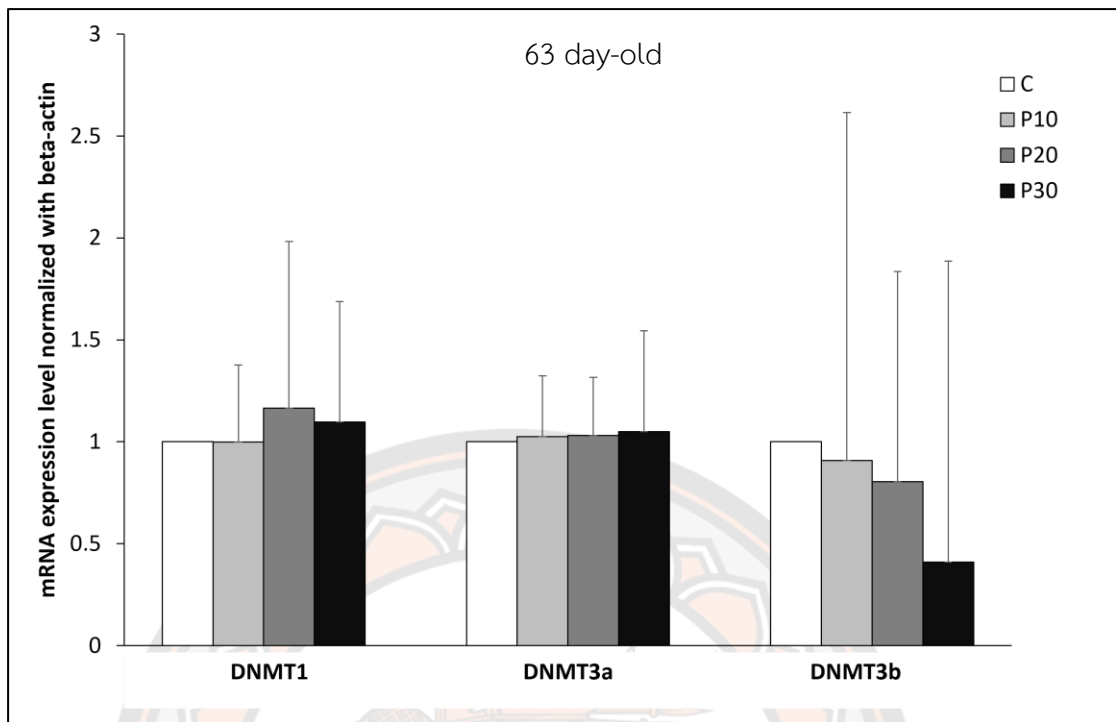


Figure 31 Relative mRNA levels of DNA methyltransferase 1 (DNMT1), DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3a) and DNA methyltransferase 3 beta (DNMT3b) in liver tissues of 63 day-old in Thai native chicken. Data are presented as mean  $\pm$  SD (n=8); n represents an individual Thai native chicken according to the One way ANOVA with a Fisher's least significant difference (LSD) test

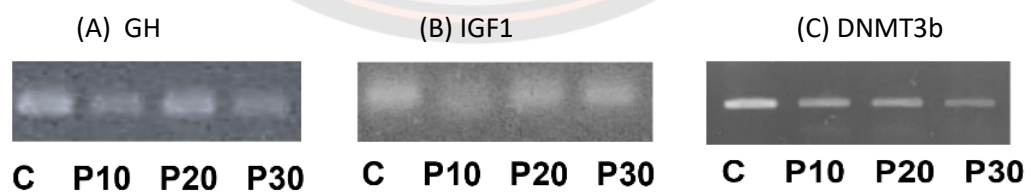


Figure 32 End-point PCR study (A) is GH expression in liver tissue on 63 day-old, (B) IGF1 expression in liver tissue on 63 day-old and (C) DNMT3b expression in liver tissue on 0 day-old

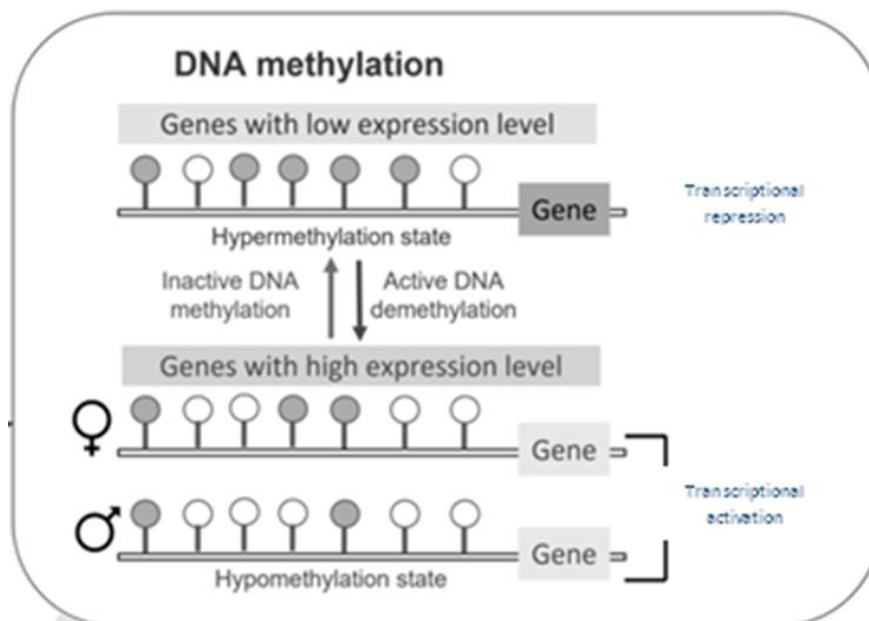


Figure 33 The hypothesis of Non-thermal plasma technology on DNA methylation. ● represent methylated cytosine, and ○ represent unmethylated cytosine

จากผลการศึกษาการใช้พลาสมาเย็นต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในไก่พื้นเมืองลูกผสม ส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่เกิดขึ้นอยู่แล้วตามธรรมชาติของร่างกาย ซึ่งจากข้อมูลการตรวจเอกสารเบื้องต้นกระบวนการดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนและกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ต่างกัน (Figure 18) และยังมีบทบาทสำคัญในการทำงานและการพัฒนาของสิ่งมีชีวิต

โดยโครโมโซมเพศของสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศผู้จะมีโครโมโซมเพศเป็น heterogametic คือ XY ส่วนเพศเมียจะเป็น homogametic คือ XX แต่ในสัตว์ปีกนั้นเพศผู้จะเป็น homogametic คือ ZZ ส่วนเพศเมียจะเป็น heterogametic คือ ZW ซึ่งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศเมียมีแนวโน้มเกิดการเมทิลเลชันได้มากกว่าเพศผู้ทั้งในโครโมโซมเพศ (Allosomes) และโครโมโซมร่างกาย (Autosomes) ซึ่งการเกิดเมทิลเลชันใน autosome ของเพศเมียมีมากถึง 21 ที่จาก 36 ตำแหน่งที่ศึกษา (Liu et al., 2010) แต่ทั้งนี้โครโมโซมของไก่จะเป็น ZZ (เพศผู้) และ ZW (เพศเมีย) ซึ่งมีการศึกษาเกี่ยวกับบริเวณ male hypermethylated หรือ MHM จะซึ่งมีการเกิด methylated หรือการเติมหมู่เมทิลบนโครโมโซม Z ทั้ง 2 ตัวในเพศผู้ แต่มีการเกิด



methylated น้อยกว่าบนโครโมโซม Z ตัวเดียวของเพศเมีย (Teranishi et al., 2001) ทั้งนี้จากข้อมูลเบื้องต้นอาจเป็นไปได้ว่าระดับของการเกิดเมทิลเลชันจะเกิดได้ในโกเพศผู้ได้มากกว่าโกเพศเมีย

เมื่อมีการนำเทคโนโลยีพลาสมาเย็นมาใช้กับตัวอ่อนของไก่ที่กำลังอยู่ในระยะของการพัฒนา ส่งผลทำอนุภาคของพลาสมาเย็นที่มีปฏิกิริยาออกซิเจนและไนโตรเจนไปขัดขวางการเติมหมู่เมทิลบนสายดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง CpG nucleotide ซึ่งเป็นบริเวณ transcription promoter ของ DNA ทำให้ไม่เกิดการ methylation ขึ้น และส่งผลทำให้ transcription ของ promoter นั้น ๆ สามารถกลับมาทำงานได้นำไปสู่การแสดงออกของยีนและการทำงานต่าง ๆ ในร่างกาย ซึ่งจากภาพ (Figure 20) จะเห็นได้ว่าระดับของการเกิดเมทิลเลชันเมื่อได้รับพลาสมาเย็นแล้ว ในเพศผู้จะเกิดน้อยกว่าเพศเมีย ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าเพศผู้จึงมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ดีกว่าเพศเมีย



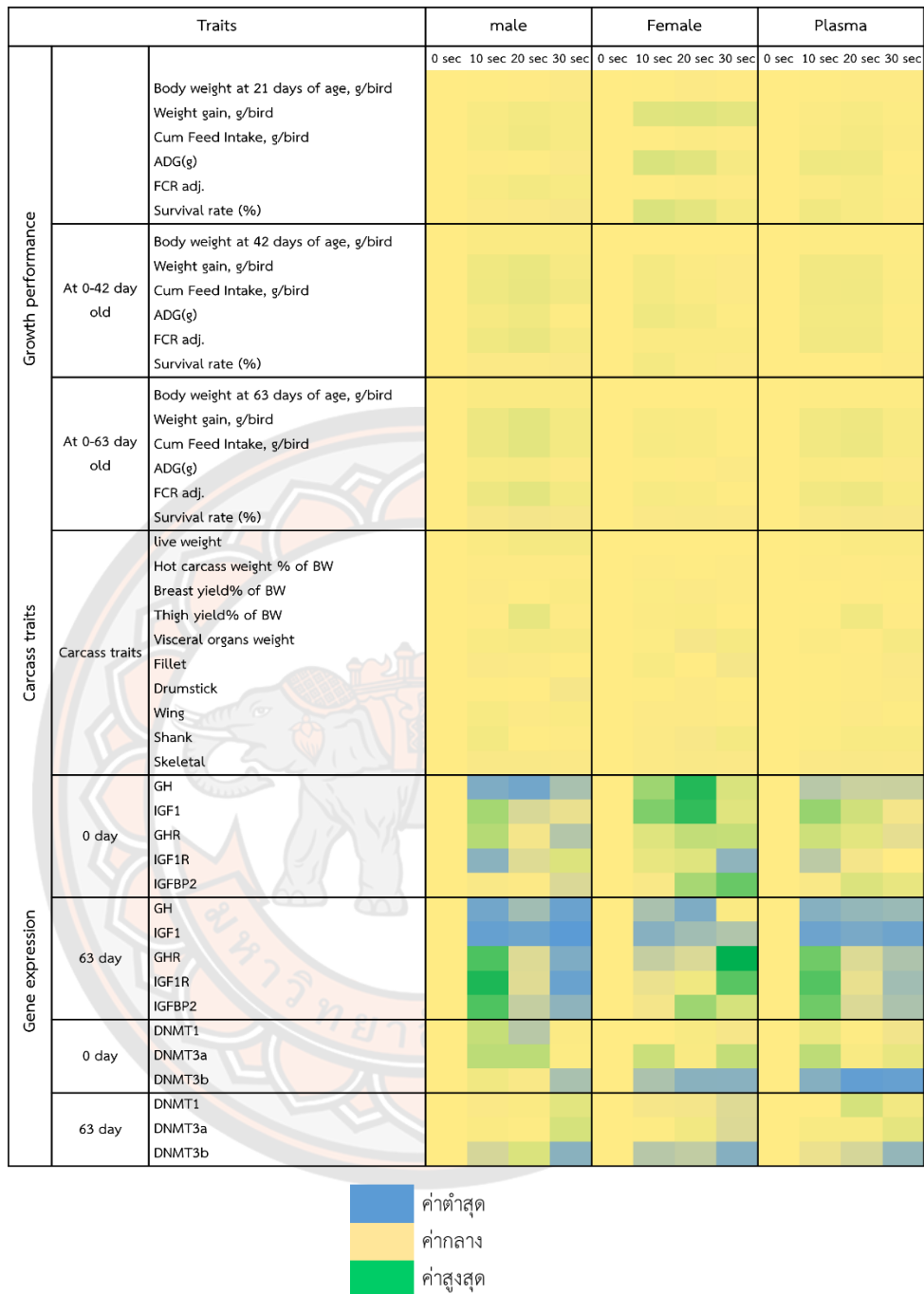


Figure 34 ภาพรวมผลการทดลองใช้เทคโนโลยีพลาสมาเย็นต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก และการแสดงออกของยีนในไก่พื้นเมืองลูกผสม

### เปรียบเทียบผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ต้นทุนการผลิตปศุสัตว์นั้นมีทั้งต้นทุนคงที่และต้นทุนผันแปร ซึ่งต้นทุนค่าอาหารถือว่าเป็นต้นทุนผันแปรที่มีความสำคัญมากต่อการผลิตและเป็นต้นทุนการผลิตที่ถือว่าสิ่งสำคัญในการคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ โดยการเลี้ยงปศุสัตว์ในเมืองนั้นโดยปกติจะเลี้ยงในรูปแบบหลังบ้าน ไม่ได้มีการจัดการด้านอาหาร และสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งในรูปแบบนี้จะใช้อาจจะไม่ได้มีผลต่อต้นทุนค่าอาหารที่สูงแต่จะใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานเพื่อให้ได้น้ำหนักที่สามารถจำหน่ายได้ ซึ่งตลาดของไก่พื้นเมืองยังคงเปิดกว้างอยู่ เนื่องจากเนื้อไก่พื้นเมืองมีเนื้อแน่น ปริมาณไขมันน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับไก่สายพันธุ์ทางการค้า โดยปกติราคาขายไก่พื้นเมือง มีชีวิต อยู่ที่กิโลกรัมละ 75 – 80 บาท ชายที่อายุ 105 วันหรือ ประมาณ 15 สัปดาห์และมีน้ำหนักอยู่ที่ 1.3 – 1.5 กิโลกรัม/ตัว ซึ่งในการทดลองครั้งนี้เป็นการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในรูปแบบอุตสาหกรรม

โดยศึกษาในไก่ประดู่หางดำลูกผสมและใช้อาหารไก่เนื้อสำเร็จรูปทางการค้าทั้งหมด 3 ระยะคือ 0 – 21 วัน 22 – 42 วัน และ 43 – 63 วัน และชายไก่มีชีวิตที่อายุ 63 วัน คิดราคาขายไก่ในช่วงอายุนี้คือ 60 บาท/กิโลกรัม โดยคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากค่าอาหารสัตว์จากสูตร น้ำหนักไก่(กก.) x ราคาขายไก่/กก.) - (ราคาอาหารบาท/ตัว) ผลการทดลองพบว่า เพศผู้กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็น 20 วินาที มีค่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากค่าอาหารสัตว์ คือ 47.40 บาท/ตัว สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตตั้งที่รายงานไปข้างต้น ทั้งนี้ในปัจจุบันเรื่องของสวัสดิภาพสัตว์ถือว่าเป็นเรื่องที่สำคัญอย่างมากโดยการตอนไก่พื้นเมืองเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงนั้นถือว่าเป็นการกระทำที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดทรมานซึ่งค่อนข้างขัดกับสวัสดิภาพของสัตว์ประกอบกับขั้นตอนและวิธีการในการตอนนั้นต้องใช้ผู้ที่มีประสบการณ์และความชำนาญในการปฏิบัติ หากปฏิบัติไม่ถูกหลักการจะส่งผลกระทบต่อปัญหาในการผลิต เช่น ปัญหาเรื่องขาและปัญหาถุงน้ำใต้ผิวหนังบริเวณหน้าอกได้ซึ่งจะทำให้ผิวหนังไม่สวยและคุณภาพซากลดลง นอกจากนี้การตอนสัตว์ยังมีค่าใช้จ่ายเรื่องอุปกรณ์และค่าแรงที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจากการทดลองใช้พลาสมาเย็นในไขฟักที่อายุ 4 วัน เพียงแค่ครั้งเดียวส่งผลให้ที่อายุ 63 วัน หรือ 9 สัปดาห์กลุ่มที่ได้รับพลาสมาเย็นมีน้ำหนักตัวอยู่ที่ 1,127.16 – 1,459.04 กก./ตัว สูงกว่าน้ำหนักไก่ที่อายุ 105 วัน ตามท้องตลาด ทั้งนี้หากคิดราคาขายไก่พื้นเมืองตามราคาท้องตลาดจะได้ค่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจที่ดีและยังช่วยลดระยะเวลาในการเลี้ยงไก่พื้นเมืองเพื่อให้ได้น้ำหนักตามท้องตลาดลงได้อีกด้วย

**Table 11 Return over feed cost in male and female Thai native chicken at 63 day-old**

Traits	Treatments							
	Male			Female				
	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s
<b>Return over feed cost (ROF)</b>								
	40.36 ± 2.77 <sup>b</sup>	44.61 ± 1.65 <sup>ab</sup>	47.40 ± 2.21 <sup>a</sup>	44.57 ± 3.82 <sup>ab</sup>	34.92 ± 1.68	36.60 ± 0.77	36.55 ± 1.75	35.87 ± 1.33

**Note:** The data in the table represent the mean ± standard deviation (SD). Different English letters in the same row showed a statistically significant difference at  $p < 0.05$

**Table 12 Return over feed cost in Thai native chicken at 63 day-old**

Traits	Treatments			
	Control	Plasma 10s	Plasma 20s	Plasma 30s
<b>Return over feed cost (ROF)</b>				
	37.64 ± 3.60	40.61 ± 4.44	41.97 ± 6.08	40.22 ± 5.35

**Note:** The data in the table represent the mean ± standard deviation (SD). Different English letters in the same row showed a statistically significant difference at  $p < 0.05$

## บทที่ 5

### บทสรุป

#### สรุปผลการวิจัย

1. ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองเพศผู้ที่ได้รับพลาสมาเย็น 20 วินาที ในช่วงอายุ 0-42 และ 0-63 วัน มีค่าของน้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ แต่การศึกษาลักษณะซากไม่พบความแตกต่างของกลุ่มทดลองที่ได้รับและไม่ได้รับพลาสมาเย็น
2. การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตพบว่า ระดับของการแสดงออกของยีน *GH* และ *IGF1* มีระดับการแสดงออกที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้ระดับการแสดงออกที่ลดลงมีผลเกี่ยวข้องกับอายุของสัตว์ทดลองที่เพิ่มขึ้นและอาจมีผลเกี่ยวข้องกับการสร้างกล้ามเนื้อแดงในไก่พื้นเมือง
3. การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันมีความสำคัญกับการพัฒนาและการอยู่รอดของตัวอ่อน เมื่อยีน *DNMT* มีระดับการแสดงออกที่ลดลงทำให้เกิดกระบวนการแสดงออกของยีนซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกาย และส่งเสริมให้ตัวอ่อนมีการพัฒนาได้ดีขึ้นทำให้ไก่พื้นเมืองลูกผสมที่รับการกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่า และเมื่อพิจารณาจากระดับการแสดงออกของยีนและแนวโน้มการเจริญเติบโตของลูกไก่แล้วพบว่า การกระตุ้นด้วยพลาสมาเย็นที่ 20 วินาทีส่งผลดีที่สุด
4. การศึกษาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจพบว่าไก่เพศผู้ที่ได้รับพลาสมาเย็นที่ระดับ 20 วินาที มีผลทำให้ค่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากค่าอาหารสัตว์ (Return over feed cost; ROFC) อยู่ที่ 47.40 บาท/ตัว สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาถึงก๊าซตัวกลางที่ใช้ผลิตพลาสมาเย็นของเครื่องพลาสมาที่นำมาใช้งานอย่างชัดเจนเพื่อประกอบการอภิปรายผล
2. ควรมีการเก็บข้อมูลถึงรุ่นพ่อแม่พันธุ์ และรุ่นลูกของไก่พื้นเมืองลูกผสมที่นำมาใช้ในการศึกษาเพื่อหาข้อสรุปถึงความเป็นไปได้ในการใช้งานเทคโนโลยีดังกล่าวว่ามีผลการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่เปลี่ยนแปลงไปและจะสามารถถ่ายทอดสู่ลูกหลานต่อไปได้หรือไม่

3. เพิ่มการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตของการใช้พลาสมาเย็นในไก่พื้นเมืองเทศผู้กับไก่พื้นเมืองเทศผู้ที่ไม่ได้รับพลาสมาเย็นแต่ได้รับการตอนเพื่อวัตถุประสงค์ทางเศรษฐกิจและความคุ้มทุน
4. เพิ่มการศึกษาในสัตว์ปีกอื่น ๆ เพิ่มเติมเพื่อเป็นข้อมูล ความรู้ และแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์
5. จากการศึกษาี้ควรเพิ่มเติมการศึกษาเชิงลึกมากขึ้น เช่น การศึกษาในระดับ Genome Wide เพื่อเข้าใจถึงผลของอนุภาคพลาสมาเย็นที่มีต่อประสิทธิภาพการผลิตของไก่พื้นเมืองลูกผสมประดู่หางดำ







บรรณานุกรม

มหาวิทยาลัยพระนคร

## บรรณานุกรม

- คู่มือประกอบการฝึกอบรมผู้รับผิดชอบด้านพลังงานอาวุโสไฟฟ้า กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและ  
อนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. *Plasma การประยุกต์ใช้พลาสมาในอุตสาหกรรม*  
ต่าง ๆ. (2558). สืบค้น 20 ธันวาคม 2563, จาก  
<https://ienergyguru.com/2015/10/plasma/>
- ชลธิ แก้วคต, เจษฎา เรืองสุริยะ, และสัญญา จตุรสิทธิ์ธา. (2561). คุณภาพซาก องค์ประกอบเคมี และ  
ค่าเสถียรภาพออกซิเดชันของเนื้อไก่ลูกผสมพื้นเมืองของไทยกับไก่ไข่ ไก่พื้นเมืองไทย ไก่ไข่  
และไก่กระทง. *วารสารเกษตร*, 34(2), 277 – 285.
- ถิรนนท์ ศรีภักษ์ชัย. (2549). ผลของสายพันธุ์ไก่ต่อปริมาณและขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ. เชียงใหม่:  
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- จิตติมา เพ็ชรคง. (2560). ความหลากหลายทางพันธุกรรม การแสดงออกของยีนสมรรถนาการผลิต  
และคุณภาพเนื้อของไก่พื้นเมืองที่ตอบสนองต่อระดับโปรตีน. *พิษณุโลก: คณะ  
เกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.*
- จิตติมา เพ็ชรคง, รังสรรค์ เจริญสุข, วรศักดิ์ แก้วก่อง, และถิรนนท์ ศรีภักษ์ชัย. (2560). การศึกษา  
เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีน IGF-1 และลักษณะการเจริญเติบโตไก่พื้นเมืองไทย  
พันธุ์ซีและไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า. *แก่นเกษตร*, 45.
- ธีรวรรณ บุญญวรรณ และหมุดตอเล็บ หนิสอ. (2562). *พลาสมาเย็น (ว่าที่) เทคโนโลยีเพื่อเกษตร  
สีเขียวและอาหารปลอดภัย*. สืบค้น 30 พฤศจิกายน 2563, จาก  
<http://www.thaiphysoc.org/article/166/>
- บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, และมนต์ชัย ดวงจินดา. (2555). ไก่พื้นเมืองไทย: อดีต ปัจจุบัน และอนาคต  
*แก่นเกษตร*, 40, 309-312.
- พรทิวา แก้วนาเคียน. (2559). การแสดงออกของยีน *Growth hormone* และยีน *Insulin-like  
growth factor-I* และการเกิด *Heterotic effect* ของลักษณะการเจริญเติบโตในไก่โคราช.  
*นครราชสีมา*. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- รังสรรค์ เจริญสุข. (2562). *หลักการปรับปรุงพันธุ์*. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและ  
สิ่งแวดล้อม: มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ศุภรัตน์ นาคสิทธิพันธ์, และสุภาวีย์ ชาวผ่อง. (2555). การสังเคราะห์ฟิล์มบางไทเทเนียมไดออกไซด์  
โดยวิธีโคล์พลาสมา (รายงานผลการวิจัย). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

- สวัสดี ธรรมบุตร, และเกรียงไกร โชษประการ. (2525). *อัตราการเจริญเติบโตและความต้องการโปรตีนของไก่พื้นเมืองที่ถูกเลี้ยงดูในสภาพชนบท*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สัญญาชัย จตุรสีทธา. (2550). *การจัดการเนื้อสัตว์* (พิมพ์ครั้งที่ 4). เชียงใหม่: โรงพิมพ์มิ่งเมือง.
- อุดมศรี อินทรโชติ, อำนวย เลี้ยวธารากุล, ชีระชัย ช่อไม้, ทวีศิลป์ จินตวง, และชูศักดิ์ ประชาสวัสดิ์. (2551). *โครงการการสร้างฝูงไก่พื้นเมือง จำนวน 4 พันธุ์* (รายงานผลการวิจัย).  
ม.ป.ท.: ม.ป.พ.
- อำนวย เลี้ยวธารากุล พชรินทร์ สนธิไพโรจน์, และศิริพันธ์ โมราถบ. (2540). การผสมพันธุ์ และคัดเลือกพันธุ์ไก่เนื้อพื้นเมืองสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์มหาสารคาม. สมรรถภาพการผลิตของไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงในสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35* (น. 55-63). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เต็มดวง ลิ้มไพบูลย์. (2554). *การควบคุมเนื้อพันธุกรรมของมะเร็ง: มะเร็งวิทยาระดับโมเลกุล*.  
ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์.
- Adhikari, B., Adhikari, M., & Park, G. (2020). The Effects of Plasma on Plant Growth, Development, and Sustainability. *Applied Sciences*, 10(17), 6045
- Balzer, J., Heuer, K., Demir, E., Hoffmanns, M., Baldus, A., Fuchs, S., C. P., Awakowicz, P., Suschek, C. V., & Opländer, C. (2015). Non-Thermal Dielectric Barrier Discharge (DBD) Effects on Proliferation and Differentiation of Human Fibroblasts Are Primary Mediated by Hydrogen Peroxide. *PLOS ONE*, 10(12)
- Beacon, T.H. and Davie, J. R. (2020). The chicken model organism for epigenomic research. *Genome*, 64(4), 476-489.
- Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16, 6-21.
- Boxhammer, V., Morfill, G. E., Jokipii, J. R., Shimizu, T., Klamp, T., Li, Y-F., Koritzer, J., Schlegel, J., & Zimmermann, J.L. (2012). Bactericidal action of cold atmospheric plasma in solution. *New Journal of Physics*, 14(2012) 113042.
- Cui, L., Zhang, X., Cheng, R., Ansari, A. R., Elokil, A. A., Hu, Y., & Liu, H. (2021). Sex differences in growth performance are related to cecal microbiota in chicken. *Microbial Pathogenesis*, 150, 104710.

- Incharoena, T., Charoensook, R., Onoda, S., Tatrakoon, W., Numthuam, S., & Pechkong, T. (2019). The effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 supplementation on growth performance, intestinal morphology, and immune-related gene expression in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *257*, 1-10.
- Ip, S. C., Zhang, X., & Leung, F. C. (2001). Genomic growth hormone gene polymorphisms in native Chinese chickens. *Experimental Biology and Medicine*, *226*(5), 458-462.
- Hati, S., Patel, M. and Yadav, D. (2018). Food bioprocessing by non-thermal plasma technology. *Current Opinion in Food Science*, *19*, 85-91.
- Hobbs, G., Edwards, R. and Manchester, R. (2006). TEMPO2, a new pulsar-timing package. *Journal compilation*, *369*, 655-672.
- Jaturasitha, S., Srikanchai, T., Kreuzer, M., & M. Wicke. (2008). Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (Black-boned and Thai native) and imported extensive breeds (Bresse and Rhode Island Red). *Poultry Science*, *87*, 160-169.
- Jiang, B., Zheng, J., Qiu, S. Wu, M., Zhang, Q., Yan, Z., & Xue, Q. (2014). Review on electrical discharge plasma technology for wastewater remediation. *Chemical Engineering Journal*, *236*, 348-368.
- Jin, B., Li, Y., & Robertson, K. (2011). DNA Methylation: Superior or Subordinate in the Epigenetic Hierarchy. *Genes Cancer*, *6*, 607-617.
- Joshi, A., Van, Y., & Michoel, T. (2011). Structural and functional organization of RNA regulons in the post-transcriptional regulatory network of yeast. *Nucleic Acids Res*, *39*(21), 9108-17.
- Kalghatgi, S., Kelly, C. M., Cerchar, E., Torabi, B., Alekseev, O., Fridman, A., Friedman, G., & Azizkhan-Clifford, J. (2011). Effects of Non-Thermal Plasma on Mammalian Cells. *PLOS ONE*, *6*, 1-11.
- Kuchenbecker, M., Bibinov, N., Kaemling A., Wandke D., Awakowicz P., & Viol, W. (2009). Characterization of DBD plasma source for biomedical applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, *42*.

- Li, H., Deeb, N., Zhou, H., Mitchell, A. D., Ashwell, C. M. and Lamont. S. J. (2003). Chicken quantitative trait loci for growth and bodycomposition associated with transforming growth factor beta genes. *Poultry Science*, *82*, 347–356.
- Lin, A., Truong, B., Patel, S., Kaushik, N., Choi, E., Fridman, G., Fridman, A., & Miller, V. (2017). Nanosecond-Pulsed DBD Plasma-Generated Reactive Oxygen Species Trigger Immunogenic Cell Death in A549 Lung Carcinoma Cells through Intracellular Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*, (5).
- Li S., Zhu Y., Zhi L., Han X., Shen J., Liu Y., Yao J., & Yang X. (2016). DNA Methylation Variation Trends during the Embryonic Development of Chicken. *PLoS One*, *11*(7).
- Ling, L., Jiafeng, J., Jiangang, L., Minchong, S., Xin, H., Hanliang, S., & Yuanhua, D. (2014). Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific Reports*, *4*(5859).
- Liu, J., Morgan, M., Hutchison, K., & Calhoun, V. D. (2010). A Study of the Influence of Sex on Genome Wide Methylation. *PLoS ONE*, *11*(7).
- Lu, F., Jiang, Z., Wang, X., Luo, Y., Li, X., & Liu, H. (2010). Role of the insulin-like growth factor system in epiphyseal cartilage on the development of Langshan and Arbor Acres chickens, *Gallus domesticus*. *Poultry Science*, *89*(5), 956-965.
- Nie, Q., Sun, B., Zhang, D., Luo, C., Ishag, N. A., Lei, M., Yang, G., & Zhang, X. (2005). High Diversity of the Chicken Growth Hormone Gene and Effects on Growth and Carcass Traits. *Journal of Heredity*, *96*(6), 698-703.
- Moore, L., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*, *38*, 23–38.
- Okano, K., Bell, D., Haber, D., & Li, E. (1999). DNA Methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b Are Essential for De Novo Methylation and Mammalian Development. *Cell.*, *99*(3), 247-257.

- Richards, M. P., Poch, S. M., & McMurtry, J. P. (2005). Expression of insulin-like growth factor system genes in liver and brain tissue during embryonic and post-hatch development of the turkey. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *141*(1), 76-86.
- Rinttilä, T., & Apajalahti, J. (2013). Intestinal microbiota and metabolites – Implications for broiler chicken health and performance. *J. Appl. Poult Res.* *22*, 647–658.
- Scanes, C. G., Dunnington, E. A., Buonomo, F. C., Donoghue, D. J., & Siegel, P. B. (1989). Plasma concentrations of insulin like growth factors (IGF-I) and IGF-II in dwarf and normal chickens of high and low weight selected lines. *Growth, Development and Aging*, *53*, 151-157.
- Steinbeck, M. J., Chernets, N., Zhang, J., Kurpad, D. S., Fridman, G., Fridman, A., & Freeman, T. A. (2013). Skeletal cell differentiation is enhanced by atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment. *PLoS ONE*, *11*(7).
- Strathdee, G., & Brown, R. (2022). Aberrant DNA methylation in cancer: potential clinical interventions. *Expert Rev Mol Med*, *4*, 1-17.
- Stoffels, E., Sakiyama, Y., & Graves, B. D., (2008). Cold Atmospheric Plasma: Charged Species and Their Interactions With Cells and Tissues. *IEEE Transactions on Plasma Science*, *36*(4), 1441 – 1457
- Szili, E. J., Hong, S. H., Oh, J. S., Gaur, N., & Short, R.D. (2018). Tracking the penetration of plasma reactive species in tissue models. *Trends Biotechnol*, *36*, 594–602.
- Teranishi, M., Shimada, Y., Hori, T., Nakabayashi, O., Kikuchi, T., Macleod, T., Pym, R., Sheldon, B., Solovej, I., & Macgregor, H., (2001). Transcripts of the MHM region on the chicken Z chromosome accumulate as non-coding RNA in the nucleus of female cells adjacent to the DMRT1 locus. *Chromosome Res*, *9*, 147–165.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, *444*, 1027–1031.
- Uysal, F., Ozturk, S., & Akkoyunlu, O. (2017). DNMT1, DNMT3A and DNMT3B proteins are differently expressed in mouse oocytes and early embryos. *Journal of Molecular Histology*, *48*, 417–426.



- Wang, X., Yang, L., Wang, H., Shao, F., Yu, F.J., Jiang, H., Han, Y., Gong, D., & Gu, Z. (2014). Growth Hormone-Regulated mRNAs and miRNAs in Chicken Hepatocytes. *PLoS One*, 9(11)
- Xie, S., Wang, Z., Okano, M., Nogami, M., Li, Y., He, W., Okumura, K., & Li, E. (1999). Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family. *Gene*, 236(1), 87-95.
- Zhang, J. J., Jo, J. O., Huynh, D. L., Ghosh, M., Kim, N., Lee, S. B., Lee, H. K., Mok, Y. S., Kwon, T., & Jeong, D. K. (2017). Lethality of inappropriate plasma exposure on chicken embryonic development. *Oncotarget*, 8(49), 85642–85654.
- Zhang, J. J., Jo, J. O., Huynh, D. L., Mongre, R. K., Ghosh, M., Singh, A. K., Lee, S. B., Mok, Y. S., Hyuk, P., & Jeong, D. K. (2017). Growth-inducing effects of argon plasma on soybean sprouts via the regulation of demethylation levels of energy metabolism-related genes. *Scientific Reports*, 7(1), 41917.
- Zhang, J. J., Do, H. L., Chandimali, N., Lee, S. B., Mok, Y. S., Kim, N., Kim, S. B., Kwon, T., & Jeong, D. K. (2018). Non-thermal plasma treatment improves chicken sperm motility via the regulation of demethylation levels. *Scientific Reports*, 8(1), 7576.
- Zhang, J. J., Wang, X. Z., Kwon, T., Huynh, D. L., Chandimali, N., Kim, N., Kang, T. Y., Ghosh, M., Gera, M., Lee, S. B., Lee, S. J., Lee, W. S., Kim, S. B., Mok, Y. S., & Jeong, D. K. (2018). Innovative Approach of Non-Thermal Plasma Application for Improving the Growth Rate in Chickens. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8).



ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก การเตรียมสาร

### 1. การเตรียม Ethanal ความเข้มข้นร้อยละ 75

ปิเปตเอทานอลเข้มข้นปริมาตร 75 มิลลิลิตร ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ

### 2. การเตรียมสารละลาย 1xTAE

ปิเปต TAE ความเข้มข้น 50x ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในขวดปริมาตร 1000 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ

### 3. การเตรียมสารละลาย Tissue lysis buffer

Tris-Cl (1 M, H 8.0-8.5)	2.0	ml
Nacl (5M)	0.8	ml
SDS (10% in sterile)	0.4	ml
EDTA (0.5M)	0.2	ml
Proteinase K	2.0	mg
ddH <sub>2</sub> O/DEPC water	14.6	ml
Total	20	ml

เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนใช้งาน

### 4. การเตรียมไพรเมอร์

ปิเปต 10 pmol primer ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ใน Tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และปิเปต ddH<sub>2</sub>O ปริมาตร 90 ไมโครลิตร

### 5. วิธีการเตรียม Agarose ความเข้มข้นร้อยละ 1

1. ชั่ง Agarose ปริมาตร 1 กรัม แล้วเทลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติม 1xTAE buffer ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีผง Agarose แล้วเขย่าให้เข้ากัน
3. นำไปเข้าเครื่องไมโครเวฟ ตั้งอุณหภูมิความร้อนสูงสุด ประมาณ 3 นาทีหรือจนกว่าผง Agarose จะละลายเป็นลักษณะเหลวใส

4. หยด Safe view ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ลงในขวดเขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน (ควรทำให้ Hood)
5. วาง Gel chamber บนโต๊ะ เลือก comb ที่เหมาะสม พร้อมปรับระดับให้เสมอกับพื้นโต๊ะ
6. นำ Agarose ไปเทลงใน gel chamber ให้ทั่วถาด รอให้เจลแข็งตัวประมาณ 15 นาที
7. เมื่อเจลแข็งตัวแล้ว ดึง comb ออก ยกถาดเจลออกจาก gel chamber

#### 6. การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมของไพรมเมอร์

การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณอาร์เอ็นเอ ด้วยวิธี RT-PCR เป็นการทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยการตั้งอุณหภูมิในช่วงใดขึ้นอยู่กับไพรมเมอร์นั้น ๆ เป็นเทคนิคใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดของ annealing (Optimal annealing temperature) สำหรับไพรมเมอร์โดยใช้ขั้นตอนน้อยที่สุด โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

1. Initial denature	95	องศาเซลเซียส 3 - 5 นาที
2. Denaturing	95	องศาเซลเซียส 20 - 40 วินาที
3. Annealing	58	องศาเซลเซียส 30 - 60 วินาที
4. Extension	72	องศาเซลเซียส 40 วินาที - 4 นาที
5. Final Extension	72	องศาเซลเซียส 5 - 10 นาที
6. Final Extension	4	องศาเซลเซียส $\infty$

ตรวจสอบและเปรียบเทียบความเข้มข้นของแถบอาร์เอ็นเอด้วย Agarose ความเข้มข้น 1% ด้วยเจลอิเล็กโตโฟเรซิสที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นคัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมกับไพรมเมอร์ โดยดูจากแถบแบนที่มีความเข้มข้นชัดเจนที่สุด

ภาคผนวก ข ภาพโปรไฟล์ของทุกยีนที่เปลี่ยนแปลงอายุ

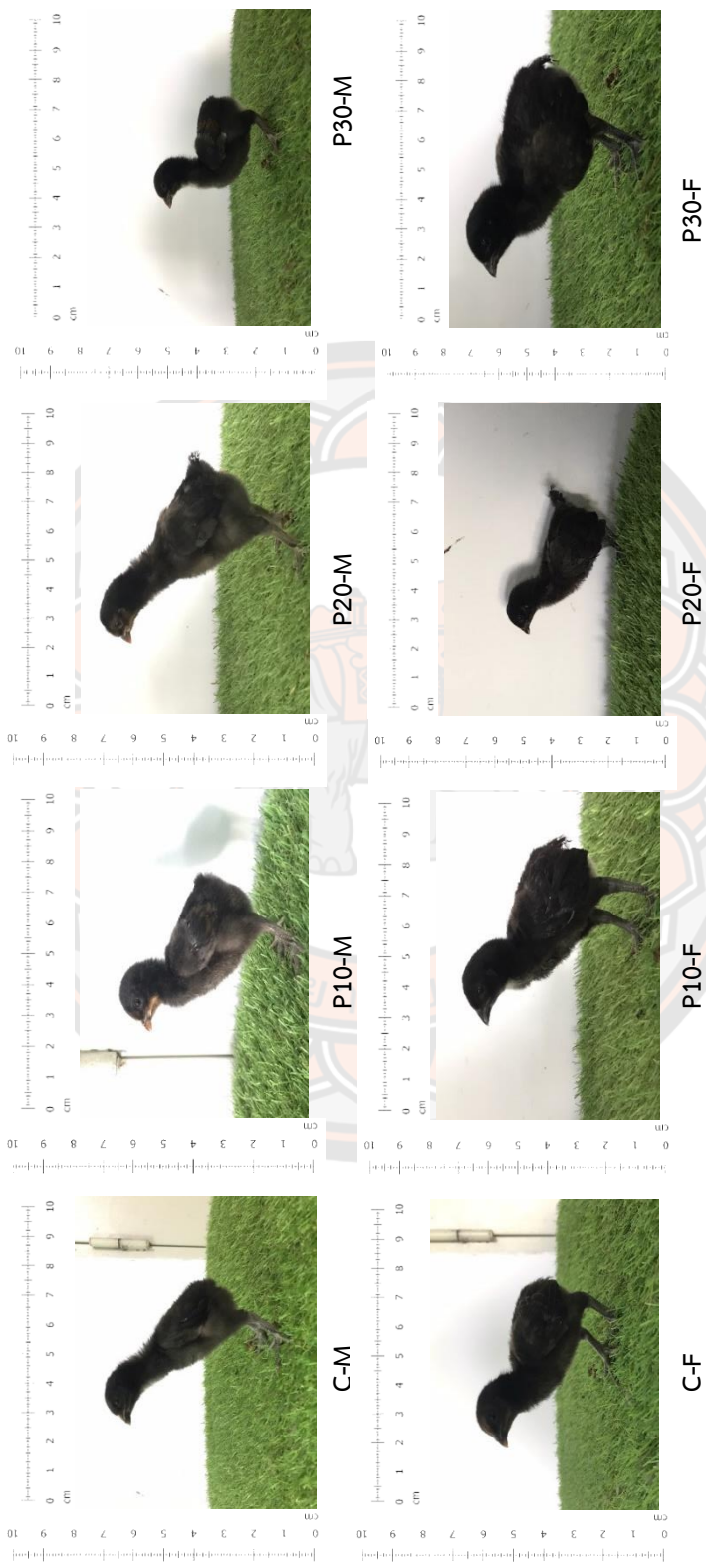
Treatment	Gene expression				Normalized			
	Beta-Actin	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	0.74	1.29	0.16
	2	21.31	29.64	29.87	35.80	1.52	1.14	4.87
	3	20.44	29.14	29.49	40.00	1.18	0.82	0.15
	4	18.47	27.22	27.28	36.06	1.14	0.96	0.57
	5	20.38	29.51	29.21	40.00	0.88	0.94	0.14
	6	21.45	31.05	30.18	37.92	0.63	1.02	1.24
	7	21.20	29.63	30.05	38.26	1.43	0.94	0.83
	8	18.84	28.84	27.75	40.00	0.48	0.89	0.05
	Average	20.14	29.18	28.90	38.31	1.07	1.02	1.14
T2	1	20.06	28.36	28.06	39.28	1.27	1.03	0.23
	2	20.14	28.54	27.54	38.41	1.19	1.56	0.45
	3	19.97	27.94	28.33	34.74	1.60	0.80	5.11
	4	20.22	28.82	27.85	38.76	1.04	1.33	0.38
	5	21.85	30.43	29.87	40.00	1.05	1.02	0.49
	6	18.30	28.12	26.87	38.39	0.44	0.69	0.13
	7	20.06	29.08	28.49	38.58	0.77	0.76	0.38
	8	19.37	28.65	27.39	40.00	0.65	1.02	0.09
	Average	20.00	28.74	28.05	38.52	1.00	1.03	0.91
T3	1	22.33	30.52	30.41	37.85	2.73	1.48	2.96
	2	17.93	27.19	26.38	38.91	1.30	1.15	0.07

Treatment	Gene expression				Normalized						
	Beta-Actin	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b							
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	DNMT1	0.74	DNMT3a	1.29	DNMT3b	0.16
	2	21.31	29.64	29.87	35.80		1.52	1.14	4.87		
	3	20.44	29.14	29.49	40.00		1.18	0.82	0.15		
	4	18.47	27.22	27.28	36.06		1.14	0.96	0.57		
	5	20.38	29.51	29.21	40.00		0.88	0.94	0.14		
	6	21.45	31.05	30.18	37.92		0.63	1.02	1.24		
	7	21.20	29.63	30.05	38.26		1.43	0.94	0.83		
	8	18.84	28.84	27.75	40.00		0.48	0.89	0.05		
	Average	20.14	29.18	28.90	38.31	Average	1.07	1.02	1.14		
		19.00	27.73	27.49	38.83		1.88	1.12	0.15		
T4	1	19.46	28.67	28.05	37.50	DNMT1	0.87	DNMT3a	0.86	DNMT3b	0.05
	2	18.86	28.57	28.56	37.28		0.62	0.40	0.04		
	3	20.28	28.19	27.65	36.44		2.14	2.02	0.19		
	4	19.07	28.56	27.77	35.51		0.72	0.80	0.16		
	5	21.22	30.94	29.42	36.37		0.61	1.13	0.38		
	6	18.51	27.97	26.38	27.66		0.74	1.43			
	7										
	Average	20.43	30.17	29.10	38.91	Average	1.16	1.03	0.80		
		21.89	33.16	30.41	39.17		0.32	1.09	0.88		
		21.52	32.16	31.17	37.84		0.50	0.50	1.70		
	21.21	31.63	29.82	40.00		0.58	1.03	0.31			



Treatment	Gene expression				Normalized			
	Beta-Actin	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	0.74	1.29	0.16
	2	21.31	29.64	29.87	35.80	1.52	1.14	4.87
	3	20.44	29.14	29.49	40.00	1.18	0.82	0.15
	4	18.47	27.22	27.28	36.06	1.14	0.96	0.57
	5	20.38	29.51	29.21	40.00	0.88	0.94	0.14
	6	21.45	31.05	30.18	37.92	0.63	1.02	1.24
	7	21.20	29.63	30.05	38.26	1.43	0.94	0.83
	8	18.84	28.84	27.75	40.00	0.48	0.89	0.05
Average	20.14	29.18	28.90	38.31	1.07	1.02	1.14	
8	20.02	28.28	28.34	32.73	1.68	1.05	2.06	
Average	19.63	28.74	28.02	34.78	1.05	1.10	0.48	

อายุ 7 วัน



อายุ 14 วัน



C-M



P10-M



P20-M



P30-M



C-F



P10-F



P20-F



P30-F

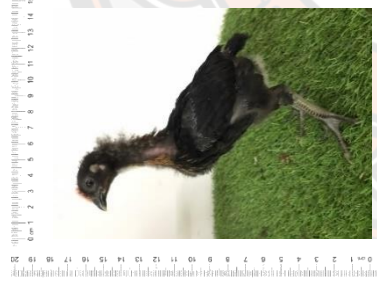
อายุ 21 วัน



C-M



C-F



P10-M



P10-F



P20-M



P20-F



P30-M



P30-F



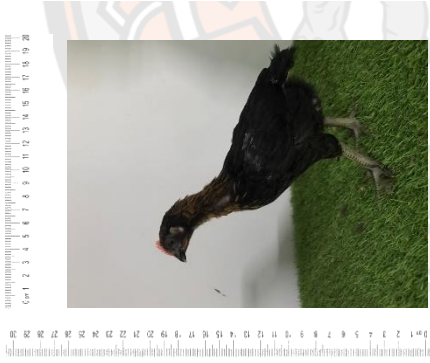
อายุ 28 วัน



C-M



C-F



P10-M



P10-F



P20-M



P20-F



P30-M



P30-F

อายุ 35 วัน



C-M



C-F



P10-M



P10-F



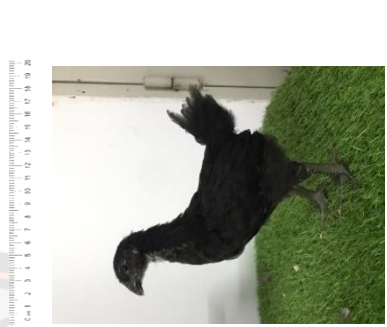
P20-M



P20-F



P30-M



P30-F



อายุ 42 วัน



C-M



P10-M



P20-M



P30-M



C-F



P10-F



P20-F



P30-F

อายุ 49 วัน



C-M



P10-M



P20-M



P30-M



C-F



P10-F



P20-F



P30-F

อายุ 56 วัน



C-M



C-F



P10-M



P10-F



P20-M



P20-F

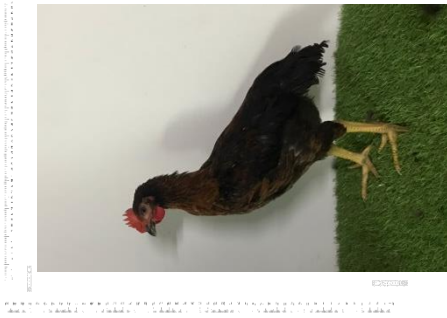


P30-M



P30-F

อายุ 63 วัน



C-M



P10-M



P20-M



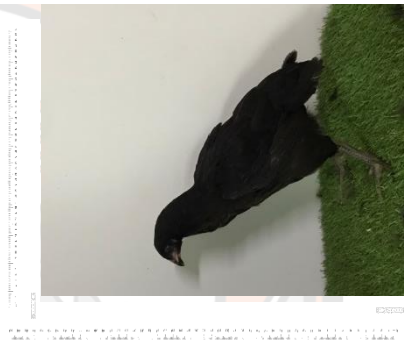
P30-M



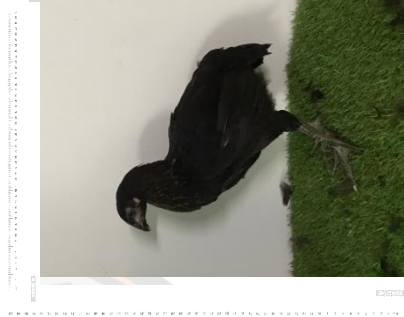
C-F



P10-F



P20-F



P30-F



ภาพรวม ัง การเตรียมโรงเรือน การรับลูกไก่ และการจัดการในแต่ละช่วงอายุ



Figure 35 ทำความสะอาดโรงเรือน



Figure 36 เตรียมน้ำและอาหารช่วง 0-4 วันแรก และคัดเพศลูกไก่ก่อนนำไปใส่ห้องทดลอง



Figure 37 การให้น้ำและอาหารในช่วงกกไข่



Figure 38 การให้น้ำและอาหารในช่วง 4 - 14 วัน

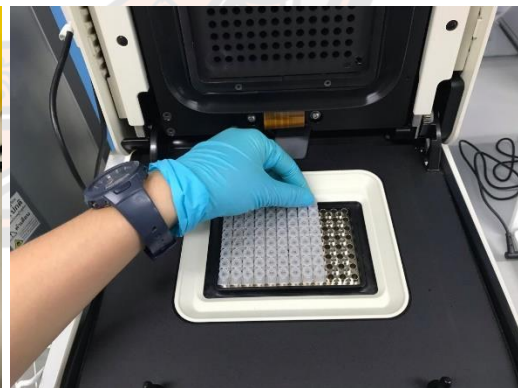
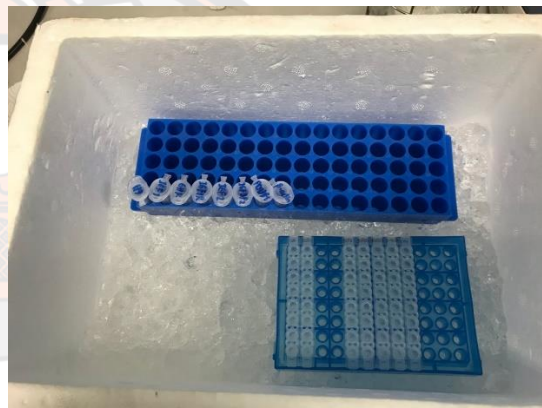




Figure 39 การตัดแต่งซากไก่



Figure 40 การเก็บตัวอย่าง



ภาคผนวก จ การแสดงออกของยีน

Table 13 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 0 วัน แยกเพศ

Treatment	Gene expression						Normalized					
	Beta-actin	GH	IGF1	GHR	IGF1R	IGFBP2	GH	IGF1	GHR	IGF1R	IGFBP2	
T1	1	19.47	27.49	28.57	21.32	26.14	27.05	0.297	0.745	1.474	0.128	0.086
	2	20.31	26.63	29.11	22.36	26.61	23.48	0.965	0.917	1.293	0.166	1.827
	3	23.25	28.18	31.13	30.32	25.11	27.46	2.535	1.735	0.040	3.609	0.894
	4	18.57	27.14	27.97	20.73	25.65	22.35	0.202	0.603	1.193	0.096	1.192
	Average male.	20.40	27.36	29.19	23.68	25.88	25.09	Average male.	1.000	1.000	1.000	1.000
T2	5	21.17	31.49	30.39	22.87	27.44	24.83	0.155	1.132	1.294	0.287	1.747
	6	20.54	27.24	29.99	22.98	26.88	24.23	1.903	0.958	0.774	0.273	1.710
	7	20.97	27.98	29.86	22.75	24.27	26.90	1.532	1.415	1.223	2.240	0.361
	8	19.77	28.68	30.17	22.33	23.97	26.69	0.410	0.495	0.709	1.200	0.182
	Average female	20.61	28.85	30.10	22.73	25.64	25.66	Average female	1.000	1.000	1.000	1.000
T3	1	19.73	25.89	28.17	21.04	25.97	23.77	1.085	1.180	2.153	0.174	1.004
	2	20.33	30.04	28.93	22.58	27.10	24.12	0.093	1.052	1.127	0.120	1.191
	3	19.20	28.65	28.39	27.04	22.55	24.13	0.111	0.702	0.023	1.279	0.542
	4	20.82	29.32	28.22	22.38	27.19	24.64	0.214	2.420	1.810	0.158	1.165
	Average male	20.02	28.47	28.43	23.26	25.70	24.17	Average male	0.375	1.339	1.278	0.433
T4	5	19.47	26.50	28.09	20.99	25.51	23.41	1.514	1.710	1.465	0.335	1.439
	6	22.45	28.93	30.95	23.65	29.22	25.94	2.214	1.846	1.828	0.202	1.957
	7	20.78	30.57	30.79	24.88	24.48	27.35	0.223	0.653	0.245	1.700	0.233
	8	21.27	28.29	29.87	23.41	24.65	27.65	1.517	1.722	0.953	2.115	0.264
	Average female	20.99	28.57	29.93	23.23	25.97	26.09	Average female	1.367	1.483	1.123	1.088
T5	1	19.00	28.65	28.25	20.57	25.47	23.47	0.096	0.672	1.802	0.147	0.746
	2	19.30	28.28	28.17	21.82	26.37	23.46	0.153	0.873	0.932	0.097	0.919
	3	19.41	26.41	28.74	25.98	21.52	23.30	0.606	0.634	0.056	3.038	1.114
	4	18.85	26.39	27.41	21.27	26.00	22.65	0.416	1.082	0.998	0.092	1.183
	Average male	19.14	27.43	28.14	22.41	24.84	23.22	Average male	0.318	0.815	0.947	0.844

Treatment	Gene expression						Normalized						
	<i>Beta-actin</i>	<i>GH</i>	<i>IGF1</i>	<i>GHR</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IGFBP2</i>	<i>GH</i>	<i>IGF1</i>	<i>GHR</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IGFBP2</i>		
T1	1	19.47	27.49	28.57	21.32	26.14	27.05	0.297	0.745	1.474	0.128	0.086	
	2	20.31	26.63	29.11	22.36	26.61	23.48	0.965	0.917	1.293	0.166	1.827	
	3	23.25	28.18	31.13	30.32	25.11	27.46	2.535	1.735	0.040	3.609	0.894	
	4	18.57	27.14	27.97	20.73	25.65	22.35	0.202	0.603	1.193	0.096	1.192	
	Average male.	20.40	27.36	29.19	23.68	25.88	25.09	Average male.	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	5	19.84	27.58	29.64	22.41	26.53	24.28	0.928	0.758	0.709	0.214	1.018	
	6	21.73	27.47	30.09	23.27	27.33	24.30	3.709	2.050	1.444	0.454	3.724	
	7	24.89	31.50	32.62	25.92	28.06	30.82	2.020	3.179	2.064	2.448	0.361	
8	18.73	26.97	27.96	21.29	22.74	25.37	0.654	1.118	0.713	1.372	0.220		
Average female	21.30	28.38	30.08	23.22	26.17	26.19	Average female	1.828	1.776	1.232	1.122	1.331	
T4	1	19.37	26.15	27.64	21.99	26.26	23.65	0.701	1.322	0.868	0.110	0.849	
	2	19.01	27.41	28.65	22.32	27.09	24.08	0.230	0.515	0.540	0.048	0.490	
	3	20.24	26.61	28.60	26.31	21.86	25.16	0.937	1.251	0.080	4.266	0.545	
	4	18.00	25.39	27.66	20.33	24.85	21.56	0.462	0.508	1.062	0.114	1.397	
	Average male	19.16	26.39	28.14	22.74	25.02	23.61	Average male	0.582	0.899	0.637	1.134	0.820
	5	20.72	28.54	29.39	21.75	26.93	23.93	0.871	1.645	2.058	0.298	2.382	
	6	20.56	28.11	30.04	22.63	27.20	23.90	1.058	0.941	1.006	0.221	2.180	
	7	19.08	26.11	28.85	21.89	23.78	26.33	1.501	0.766	0.598	0.847	0.144	
Average female	20.12	27.59	29.43	22.09	25.97	24.72	Average female	1.143	1.117	1.221	0.456	1.569	



Table 14 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 0 วัน ไม่แยกเพศ

Treatment	Gene expression						Normalized					
	<i>Beta-actin</i>	<i>GH</i>	<i>IGF1</i>	<i>GHR</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IGFBP2</i>	<i>GH</i>	<i>IGF1</i>	<i>GHR</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IGFBP2</i>	
T1	1	19.47	27.49	28.57	21.32	26.14	27.05	0.427	0.926	1.297	0.160	0.098
	2	20.31	26.63	29.11	22.36	26.61	23.48	1.387	1.140	1.138	0.209	2.089
	3	23.25	28.18	31.13	30.32	25.11	27.46	3.642	2.157	0.035	4.531	1.022
	4	18.57	27.14	27.97	20.73	25.65	22.35	0.291	0.749	1.050	0.121	1.363
	5	21.17	31.49	30.39	22.87	27.44	24.83	0.087	0.857	1.449	0.214	1.497
	6	20.54	27.24	29.99	22.98	26.88	24.23	1.072	0.726	0.867	0.203	1.465
	7	20.97	27.98	29.86	22.75	24.27	26.90	0.863	1.071	1.369	1.668	0.309
	8	19.77	28.68	30.17	22.33	23.97	26.69	0.231	0.375	0.794	0.893	0.156
Average	20.51	28.10	29.65	23.21	25.76	25.37	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
T2	1	19.73	25.89	28.17	21.04	25.97	23.77	1.559	1.466	1.895	0.218	1.148
	2	20.33	30.04	28.93	22.58	27.10	24.12	0.133	1.308	0.992	0.151	1.362
	3	19.20	28.65	28.39	27.04	22.55	24.13	0.159	0.873	0.021	1.605	0.619
	4	20.82	29.32	28.22	22.38	27.19	24.64	0.307	3.008	1.593	0.198	1.332
	5	19.47	26.50	28.09	20.99	25.51	23.41	0.853	1.295	1.641	0.250	1.233
	6	22.45	28.93	30.95	23.65	29.22	25.94	1.247	1.398	2.047	0.150	1.676
	7	20.78	30.57	30.79	24.88	24.48	27.35	0.126	0.495	0.274	1.266	0.199
	8	21.27	28.29	29.87	23.41	24.65	27.65	0.854	1.304	1.067	1.575	0.226
Average	20.51	28.52	29.18	23.24	25.83	25.13	0.655	1.393	1.191	0.677	0.974	
T3	1	19.00	28.65	28.25	20.57	25.47	23.47	0.138	0.835	1.586	0.185	0.852
	2	19.30	28.28	28.17	21.82	26.37	23.46	0.220	1.085	0.820	0.122	1.051
	3	19.41	26.41	28.74	25.98	21.52	23.30	0.871	0.788	0.050	3.814	1.273
	4	18.85	26.39	27.41	21.27	26.00	22.65	0.598	1.345	0.878	0.116	1.353
	5	19.84	27.58	29.64	22.41	26.53	24.28	0.523	0.573	0.794	0.159	0.872
	6	21.73	27.47	30.09	23.27	27.33	24.30	2.090	1.552	1.617	0.338	3.190
	7	24.89	31.50	32.62	25.92	28.06	30.82	1.138	2.407	2.311	1.823	0.309
	8	18.73	26.97	27.96	21.29	22.74	25.37	0.368	0.847	0.798	1.021	0.189
Average	20.22	27.90	29.11	22.81	25.50	24.71	0.743	1.179	1.107	0.947	1.136	
T4	1	19.37	26.15	27.64	21.99	26.26	23.65	1.008	1.643	0.764	0.138	0.970
	2	19.01	27.41	28.65	22.32	27.09	24.08	0.330	0.640	0.475	0.061	0.560
	3	20.24	26.61	28.60	26.31	21.86	25.16	1.346	1.555	0.070	5.355	0.623
	4	18.00	25.39	27.66	20.33	24.85	21.56	0.664	0.631	0.934	0.143	1.597
	5	20.72	28.54	29.39	21.75	26.93	23.93	0.491	1.245	2.305	0.222	2.041
	6	20.56	28.11	30.04	22.63	27.20	23.90	0.596	0.712	1.126	0.165	1.868
	7	19.08	26.11	28.85	21.89	23.78	26.33	0.845	0.580	0.670	0.631	0.124
	Average	19.57	26.90	28.69	22.46	25.42	24.09	0.739	0.949	0.880	1.002	1.089

Table 15 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 63 วัน แยกเพศ

Treatment	Gene expression						Normalized					
	Beta-actin	GH	IGF1	GHR	IGF1R	IGFBP2	GH	IGF1	GHR	IGF1R	IGFBP2	
T1	1	17.24	29.38	22.18	19.17	25.44	23.17	0.460	0.659	1.044	0.749	1.011
	2	18.99	29.31	22.89	21.20	26.17	24.00	1.620	1.354	0.856	1.513	1.910
	3	19.72	30.89	23.23	21.14	27.10	26.07	0.902	1.777	1.487	1.317	0.757
	4	16.66	27.66	23.25	19.36	25.69	24.25	1.018	0.210	0.613	0.421	0.321
	Average male	18.15	29.31	22.89	20.22	26.10	24.37	Average male	1.000	1.000	1.000	1.000
	5	17.94	30.35	23.61	21.66	27.05	24.87	0.700	1.393	1.778	1.454	2.482
	6	17.60	30.46	24.07	23.59	27.57	27.58	0.515	0.804	0.369	0.802	0.300
	7	18.45	29.44	25.65	23.51	28.72	28.01	1.878	0.482	0.704	0.652	0.400
	8	16.79	28.82	22.53	21.14	26.31	25.32	0.907	1.321	1.149	1.092	0.818
	Average female	17.69	29.77	23.96	22.47	27.41	26.45	Average female	1.000	1.000	1.000	1.000
T2	1	18.97	30.61	25.01	19.65	25.52	23.73	0.651	0.308	2.480	2.351	2.277
	2	18.04	31.58	24.45	18.92	24.75	23.75	0.175	0.237	2.153	2.091	1.180
	3	19.01	33.29	25.75	20.23	25.39	23.43	0.105	0.190	1.711	2.626	2.888
	4	16.77	29.34	22.93	20.25	26.10	24.38	0.341	0.282	0.357	0.341	0.316
	Average male	18.20	31.21	24.54	19.76	25.44	23.82	Average male	0.318	0.254	1.675	1.852
	5	18.02	30.03	24.52	22.17	27.24	25.58	0.930	0.788	1.320	1.349	1.609
	6	14.95	28.38	23.35	21.24	25.82	24.16	0.345	0.209	0.299	0.429	0.509
	7	16.39	29.25	23.33	21.47	26.78	25.39	0.516	0.577	0.694	0.601	0.593
	8	16.09	28.81	25.66	21.45	25.44	24.21	0.562	0.093	0.569	1.232	1.084
	Average female	16.36	29.12	24.22	21.58	26.32	24.83	Average female	0.588	0.417	0.720	0.903
T3	1	20.34	30.75	27.64	22.93	27.72	27.29	1.527	0.128	0.661	1.318	0.502
	2	16.77	30.34	23.14	18.37	24.49	22.24	0.171	0.245	1.316	1.042	1.392
	3	16.94	29.84	23.37	19.11	25.36	23.16	0.274	0.235	0.888	0.643	0.830
	4	18.05	31.35	23.23	21.11	27.16	26.83	0.207	0.559	0.476	0.399	0.141
	Average male	18.03	30.57	24.35	20.38	26.18	24.88	Average male	0.545	0.292	0.835	0.850
	5	16.72	30.03	23.20	19.71	26.40	23.44	0.374	0.792	2.944	0.975	2.856
	6	16.12	28.79	22.97	23.82	25.34	23.09	0.587	0.616	0.113	1.351	2.422
	7	16.39	30.63	23.35	24.22	26.10	27.83	0.198	0.569	0.103	0.959	0.109



Treatment	Gene expression						Normalized					
	<i>Beta-actin</i>	<i>GH</i>	<i>IGF1</i>	<i>GHR</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IGFBP2</i>	<i>GH</i>	<i>IGF1</i>	<i>GHR</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IGFBP2</i>	
T1	1	17.24	29.38	22.18	19.17	25.44	23.17	0.460	0.659	1.044	0.749	1.011
	2	18.99	29.31	22.89	21.20	26.17	24.00	1.620	1.354	0.856	1.513	1.910
	3	19.72	30.89	23.23	21.14	27.10	26.07	0.902	1.777	1.487	1.317	0.757
	4	16.66	27.66	23.25	19.36	25.69	24.25	1.018	0.210	0.613	0.421	0.321
	Average male	18.15	29.31	22.89	20.22	26.10	24.37	Average male	1.000	1.000	1.000	1.000
	5	17.94	30.35	23.61	21.66	27.05	24.87	0.700	1.393	1.778	1.454	2.482
	6	17.60	30.46	24.07	23.59	27.57	27.58	0.515	0.804	0.369	0.802	0.300
	7	18.45	29.44	25.65	23.51	28.72	28.01	1.878	0.482	0.704	0.652	0.400
	8	16.79	28.82	22.53	21.14	26.31	25.32	0.907	1.321	1.149	1.092	0.818
	Average female	17.69	29.77	23.96	22.47	27.41	26.45	Average female	1.000	1.000	1.000	1.000
	8	16.26	29.74	24.67	23.79	25.99	28.15	0.333	0.208	0.127	0.947	0.080
	Average female	16.37	29.80	23.55	22.88	25.96	25.63	Average female	0.373	0.546	0.822	1.058
T4	1	15.84	29.50	22.89	18.67	24.82	21.76	0.161	0.153	0.560	0.434	1.026
	2	16.85	29.07	23.24	20.29	26.50	24.58	0.436	0.241	0.366	0.274	0.292
	3	15.77	30.11	22.26	19.28	26.06	23.87	0.101	0.226	0.350	0.176	0.226
	4	15.92	28.25	22.67	20.06	25.98	23.80	0.404	0.189	0.226	0.206	0.263
	Average male	16.10	29.23	22.76	19.58	25.84	23.50	Average male	0.275	0.202	0.375	0.273
	5	18.03	29.46	24.15	24.23	28.29	27.15	1.380	1.016	0.319	0.657	0.544
	6	16.98	28.94	23.91	19.64	25.59	24.09	0.960	0.581	3.699	2.062	2.189
	7	22.21	29.49	24.60	22.62	27.27	28.25	0.726	0.275	1.854	2.169	0.741
	8	17.72	30.08	25.73	21.38	26.25	26.39	0.726	0.275	1.854	2.169	0.741
	Average female	18.74	29.49	24.60	21.97	26.85	26.47	Average female	1.022	0.624	1.957	1.629

Table 16 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่อายุ 63 วัน ไม่แยกเพศ

Treatment	Gene expression						Normalized					
	Beta-actin	GH	IGF1	GHR	IGF1 R	IGFBP 2	GH	IGF1	GHR	IGF1 R	IGFBP2	
T1	1	17.24	29.38	22.18	19.17	25.44	23.17	0.596	1.025	1.785	1.177	1.680
	2	18.99	29.31	22.89	21.20	26.17	24.00	2.097	2.106	1.464	2.377	3.173
	3	19.72	30.89	23.23	21.14	27.10	26.07	1.168	2.766	2.543	2.069	1.258
	4	16.66	27.66	23.25	19.36	25.69	24.25	1.318	0.328	1.049	0.662	0.534
	5	17.94	30.35	23.61	21.66	27.05	24.87	0.494	0.618	0.516	0.623	0.841
	6	17.60	30.46	24.07	23.59	27.57	27.58	0.363	0.357	0.107	0.344	0.102
	7	18.45	29.44	25.65	23.51	28.72	28.01	1.325	0.214	0.204	0.280	0.136
	8	16.79	28.82	22.53	21.14	26.31	25.32	0.640	0.586	0.333	0.468	0.277
	Average	17.92	29.54	23.43	21.34	26.76	25.41	Average	1.000	1.000	1.000	1.000
T2	1	18.97	30.61	25.01	19.65	25.52	23.73	0.842	0.480	4.241	3.694	3.783
	2	18.04	31.58	24.45	18.92	24.75	23.75	0.226	0.368	3.681	3.285	1.960
	3	19.01	33.29	25.75	20.23	25.39	23.43	0.136	0.295	2.925	4.126	4.797
	4	16.77	29.34	22.93	20.25	26.10	24.38	0.442	0.439	0.610	0.536	0.524
	5	18.02	30.03	24.52	22.17	27.24	25.58	0.656	0.350	0.383	0.579	0.546
	6	14.95	28.38	23.35	21.24	25.82	24.16	0.244	0.093	0.087	0.184	0.173
	7	16.39	29.25	23.33	21.47	26.78	25.39	0.364	0.256	0.201	0.258	0.201
	8	16.09	28.81	25.66	21.45	25.44	24.21	0.397	0.041	0.165	0.528	0.367
	Average	16.36	29.12	24.22	21.58	26.32	24.83	Average	0.413	0.290	1.537	1.649
T3	1	20.34	30.75	27.64	22.93	27.72	27.29	1.977	0.199	1.130	2.070	0.834
	2	16.77	30.34	23.14	18.37	24.49	22.24	0.222	0.381	2.250	1.638	2.313
	3	16.94	29.84	23.37	19.11	25.36	23.16	0.354	0.366	1.519	1.010	1.378
	4	18.05	31.35	23.23	21.11	27.16	26.83	0.268	0.870	0.814	0.626	0.234
	5	16.72	30.03	23.20	19.71	26.40	23.44	0.264	0.352	0.854	0.418	0.968
	6	16.12	28.79	22.97	23.82	25.34	23.09	0.414	0.273	0.033	0.579	0.821
	7	16.39	30.63	23.35	24.22	26.10	27.83	0.139	0.253	0.030	0.411	0.037
	8	16.26	29.74	24.67	23.79	25.99	28.15	0.235	0.092	0.037	0.406	0.027
	Average	16.37	29.80	23.55	22.88	25.96	25.63	Average	0.484	0.348	0.833	0.895
T4	1	15.84	29.50	22.89	18.67	24.82	21.76	0.209	0.238	0.957	0.682	1.704
	2	16.85	29.07	23.24	20.29	26.50	24.58	0.564	0.375	0.625	0.430	0.485
	3	15.77	30.11	22.26	19.28	26.06	23.87	0.131	0.351	0.599	0.277	0.375
	4	15.92	28.25	22.67	20.06	25.98	23.80	0.523	0.294	0.386	0.324	0.436
	5	18.03	29.46	24.15	24.23	28.29	27.15	0.974	0.451	0.093	0.282	0.184
	6	16.98	28.94	23.91	19.64	25.59	24.09	0.677	0.258	1.073	0.884	0.742
	7	22.21	29.49	24.60	22.62	27.27	28.25					
	8	17.72	30.08	25.73	21.38	26.25	26.39	0.512	0.122	0.538	0.930	0.251
	Average	18.74	29.49	24.60	21.97	26.85	26.47	Average	0.513	0.299	0.610	0.544

Table 17 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้อง  
กับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 0 วัน แยกเพศ

Treatment	Gene expression				Normalized				
	Beta-Actin	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b		
T 1	1	21.18	28.62	26.26	32.56	1.1311	0.8403	0.0816	
	2	20.94	28.42	26.02	27.64	1.1020	0.8414	2.0904	
	3	22.22	29.94	26.80	29.50	0.9354	1.1897	1.4060	
	4	21.93	29.82	26.58	30.94	0.8314	1.1286	0.4220	
	Average male	21.57	29.20	26.41	30.16	Average male	1.0000	1.0000	1.0000
	5	22.95	31.49	27.27	25.33	1.0375	1.1219	2.3052	
	6	20.72	29.00	25.03	28.05	0.6191	0.5661	0.0373	
	7	21.21	32.37	28.30	28.40	1.3435	1.3120	0.6575	
	Average female	22.29	30.95	26.87	27.26	Average female	1.0000	1.0000	1.0000
T 2	1	23.51	31.16	28.90	31.38	1.2216	0.5460	0.2219	
	2	23.98	30.58	27.05	28.54	2.5240	2.7231	2.1889	
	3	22.87	30.39	26.10	26.82	0.6654	1.2257	1.6777	
	4	22.44	31.45	27.89	31.13	0.4725	0.5210	0.1242	
	Average male	22.95	30.89	27.49	29.47	Average male	1.2209	1.2539	1.0532
	5	23.36	31.12	27.01	29.38	1.4128	2.6211	1.5987	
	6	21.17	29.99	26.82	30.51	0.6779	0.6548	0.1599	
	7	22.45	31.19	28.77	31.52	0.7132	0.4113	0.1931	
	Average female	21.84	30.17	26.97	29.92	Average female	1.0016	1.1995	0.5977
T 3	1	22.64	30.44	27.56	31.05	0.8856	0.9436	0.6403	
	2	21.13	30.13	26.16	28.47	0.3864	0.8711	1.3394	
	3	20.27	29.33	24.68	27.38	0.3681	1.3319	1.5693	
	4	20.25	27.89	24.17	29.57	0.9849	1.8683	0.3405	
	Average male	21.07	29.45	25.64	29.12	Average male	0.6563	1.2537	0.9724
5	22.11	30.63	26.14	28.97	0.9859	1.5406	0.4362		

Treatment	Gene expression				Normalized				
	<i>Beta-Actin</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>		
T 1	1	21.18	28.62	26.26	32.56	1.1311	0.8403	0.0816	
	2	20.94	28.42	26.02	27.64	1.1020	0.8414	2.0904	
	3	22.22	29.94	26.80	29.50	0.9354	1.1897	1.4060	
	4	21.93	29.82	26.58	30.94	0.8314	1.1286	0.4220	
	Average male	21.57	29.20	26.41	30.16	Average male	1.0000	1.0000	1.0000
	5	22.95	31.49	27.27	25.33	1.0375	1.1219	2.3052	
	6	20.72	29.00	25.03	28.05	0.6191	0.5661	0.0373	
	7	21.21	32.37	28.30	28.40	1.3435	1.3120	0.6575	
	8								
	Average female	22.29	30.95	26.87	27.26	Average female	1.0000	1.0000	1.0000
T 4	6	21.13	29.57	26.74	29.16	1.0385	0.5103	0.1918	
	7	21.87	29.70	26.22	27.96	1.5802	1.2300	0.7412	
	8	20.83	30.31	25.78	28.00	0.5077	0.8109	0.3495	
	Average female	21.49	30.05	26.22	28.52	Average female	1.0281	1.0229	0.4297
	1	19.45	27.78	23.34	26.38	1.2947	1.2354	0.5601	
	2	21.59	30.07	26.32	28.93	1.1729	0.6917	0.4228	
	3	20.17	29.13	24.08	26.48	0.8393	1.2160	0.8640	
	4	19.94	29.05	24.27	27.06	0.7606	0.9136	0.4948	
	Average male	20.29	29.01	24.50	27.21	Average male	1.0169	1.0142	0.5854
	5	22.05	30.57	26.20	32.03	1.0612	2.0150	0.2409	
6	22.36	31.19	28.70	31.00	0.8541	0.4394	0.6111		
Average female	22.20	30.88	27.45	31.51	Average female	0.9576	1.2272	0.4260	

Table 18 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้อง  
กับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 0 วัน ไม่แยกเพศ

Treatment	Gene expression				Normalized				
	Beta-Actin	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b		
T1	1	21.18	28.62	26.26	32.56	1.43	0.75	0.01	
	2	20.94	28.42	26.02	27.64	1.39	0.75	0.25	
	3	22.22	29.94	26.80	29.50	1.18	1.07	0.17	
	4	21.93	29.82	26.58	30.94	1.05	1.01	0.05	
	5	22.95	31.49	27.27	25.33	0.67	1.28	5.01	
	6	19.72	29.00	25.03	28.05	0.40	0.64	0.08	
	7	24.21	32.37	28.30	28.40	0.87	1.49	1.43	
	8								
	Average	21.88	29.95	26.61	28.92	Average	1.00	1.00	1.00
T2	1	23.51	31.16	28.90	31.38	1.30	0.65	0.13	
	2	23.98	30.58	27.05	28.54	2.69	3.25	1.33	
	3	21.87	30.39	26.10	26.82	0.71	1.46	1.02	
	4	22.44	31.45	27.89	31.13	0.50	0.62	0.08	
	5	23.36	31.12	27.01	29.38	1.20	2.18	0.48	
	6	21.17	29.99	26.82	30.51	0.58	0.54	0.05	
	7	22.45	31.19	28.77	31.52	0.61	0.34	0.06	
	8	20.38	28.37	25.27	28.27	1.02	0.92	0.13	
	Average	22.40	30.53	27.23	29.69	Average	1.08	1.25	0.41
T3	1	22.64	30.44	27.56	31.05	1.47	0.80	0.11	
	2	21.13	30.13	26.16	28.47	0.64	0.74	0.23	
	3	20.27	29.33	24.68	27.38	0.61	1.13	0.27	
	4	20.25	27.89	24.17	29.57	1.64	1.59	0.06	
	5	22.11	30.63	26.14	28.97	0.90	1.48	0.32	
	6	21.13	29.57	26.74	29.16	0.94	0.49	0.14	
	7	21.87	29.70	26.22	27.96	1.44	1.19	0.54	
	8	20.83	30.31	25.78	28.00	0.46	0.78	0.26	
	Average	21.28	29.75	25.93	28.82	Average	1.01	1.03	0.24
T4	1	19.45	27.78	23.34	26.38	1.19	1.53	0.34	
	2	21.59	30.07	26.32	28.93	1.08	0.85	0.26	
	3	20.17	29.13	24.08	26.48	0.77	1.50	0.53	
	4	19.94	29.05	24.27	27.06	0.70	1.13	0.30	
	5	22.05	30.57	26.20	32.03	1.05	1.28	0.04	

Treatment	Gene expression				Normalized				
	Beta-Actin	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b		
T1	1	21.18	28.62	26.26	32.56	1.43	0.75	0.01	
	2	20.94	28.42	26.02	27.64	1.39	0.75	0.25	
	3	22.22	29.94	26.80	29.50	1.18	1.07	0.17	
	4	21.93	29.82	26.58	30.94	1.05	1.01	0.05	
	5	22.95	31.49	27.27	25.33	0.67	1.28	5.01	
	6	19.72	29.00	25.03	28.05	0.40	0.64	0.08	
	7	24.21	32.37	28.30	28.40	0.87	1.49	1.43	
	8								
	Average	21.88	29.95	26.61	28.92	Average	1.00	1.00	1.00
	6	22.36	31.19	28.70	31.00	0.85	0.28	0.11	
	7								
	8								
	Average	20.93	29.63	25.48	28.65	Average	0.94	1.09	0.26

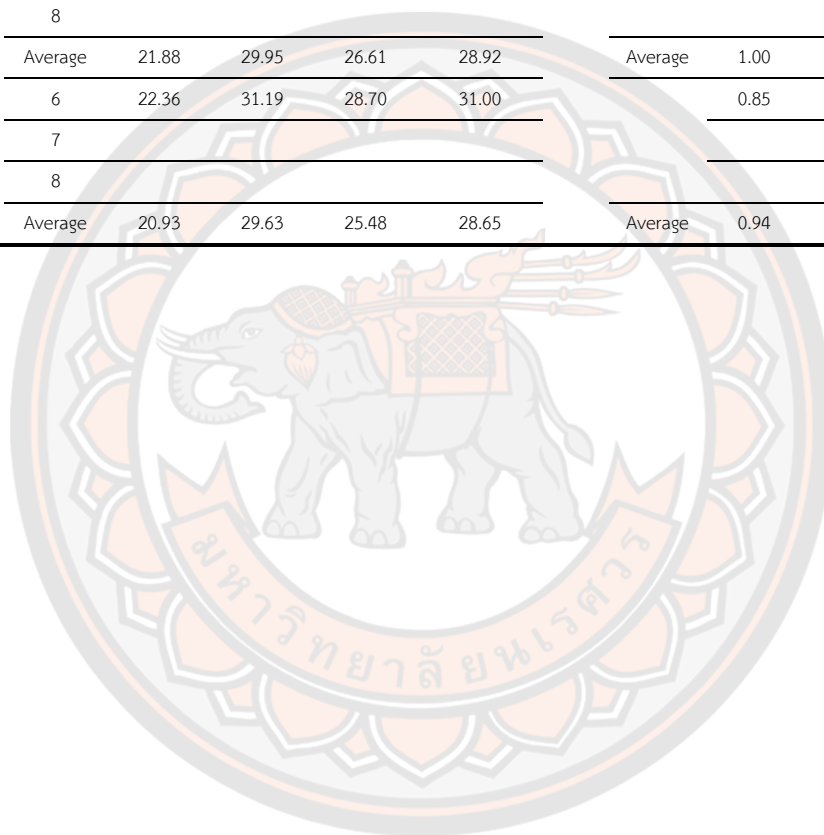




Table 19 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้อง  
กับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 63 วัน แยกเพศ

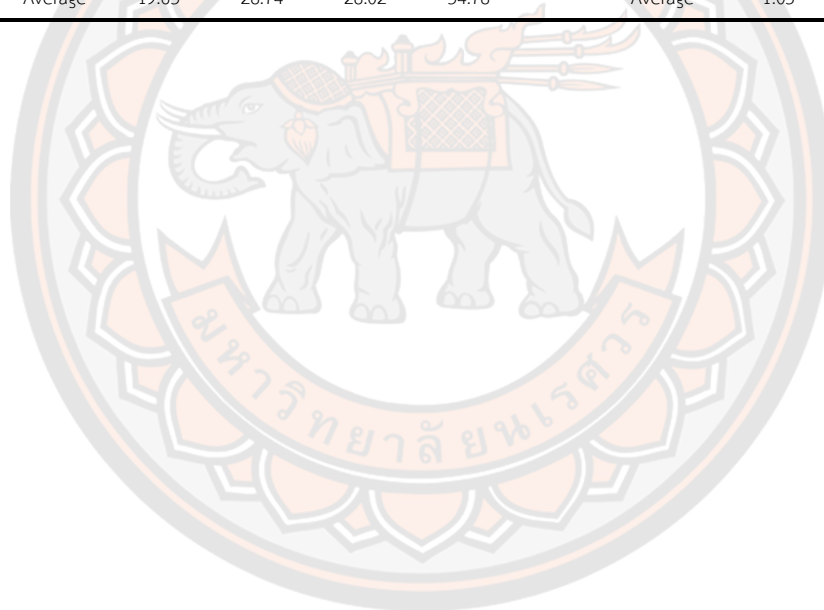
Treatment	Gene expression				Normalized			
	<i>Beta-Actin</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	0.65	1.23	0.11
	2	21.31	29.64	29.87	35.80	1.33	1.09	3.39
	3	20.44	29.14	29.49	40.00	1.03	0.78	0.10
	4	18.47	27.22	27.28	36.06	0.99	0.91	0.40
	Average male.	19.81	28.59	28.51	37.58	1.00	1.00	1.00
	5	20.38	29.51	29.21	40.00	1.03	1.00	0.25
	6	21.45	31.05	30.18	37.92	0.74	1.07	2.20
	7	21.20	29.63	30.05	38.26	1.67	0.99	1.47
	8	18.84	28.84	27.75	40.00	0.56	0.94	0.09
	Average female.	20.47	29.76	29.30	39.04	1.00	1.00	1.00
T2	1	20.06	28.36	28.06	39.28	0.98	0.89	0.12
	2	20.14	28.54	27.54	38.41	0.91	1.35	0.24
	3	19.97	27.94	28.33	34.74	1.23	0.69	2.66
	4	20.22	28.82	27.85	38.76	0.80	1.15	0.20
	Average male.	20.10	28.42	27.94	37.80	0.98	1.02	0.80
	5	21.85	30.43	29.87	40.00	1.39	1.18	1.17
	6	18.30	28.12	26.87	38.39	0.59	0.80	0.30
	7	20.06	29.08	28.49	38.58	1.02	0.89	0.91
	8	19.37	28.65	27.39	40.00	0.86	1.18	0.21
	Average female.	19.89	29.07	28.15	39.24	0.96	1.01	0.65
T3	1	22.33	30.52	30.41	37.85	1.54	1.32	4.07
	2	17.93	27.19	26.38	38.91	0.73	1.02	0.09
	3	19.00	27.73	27.49	38.83	1.06	0.99	0.21
	4	20.09	29.34	29.06	40.00	0.74	0.71	0.19
	Average male.	19.84	28.70	28.34	38.90	1.02	1.01	1.14
	5	19.49	29.64	28.03	38.70	1.27	1.22	0.21
	6	21.89	33.16	30.41	39.17	0.59	1.24	0.79
	7	21.52	32.16	31.17	37.84	0.90	0.57	1.52
	8	21.21	31.63	29.82	40.00	1.05	1.16	0.27

Treatment	Gene expression				Normalized				
	<i>Beta-Actin</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>		
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	0.65	1.23	0.11	
	2	21.31	29.64	29.87	35.80	1.33	1.09	3.39	
	3	20.44	29.14	29.49	40.00	1.03	0.78	0.10	
	4	18.47	27.22	27.28	36.06	0.99	0.91	0.40	
	Average male.	19.81	28.59	28.51	37.58	Average male.	1.00	1.00	1.00
	5	20.38	29.51	29.21	40.00	1.03	1.00	0.25	
	6	21.45	31.05	30.18	37.92	0.74	1.07	2.20	
	7	21.20	29.63	30.05	38.26	1.67	0.99	1.47	
	8	18.84	28.84	27.75	40.00	0.56	0.94	0.09	
	Average female.	20.47	29.76	29.30	39.04	Average female.	1.00	1.00	1.00
Average female.	21.029	31.648	29.859	38.927	Average female.	0.95	1.05	0.70	
T4	1	19.46	28.67	28.05	37.50	0.88	0.98	0.21	
	2	18.86	28.57	28.56	37.28	0.63	0.46	0.16	
	3	20.28	28.19	27.65	36.44	2.18	2.30	0.76	
	4	19.07	28.56	27.77	35.51	0.73	0.91	0.62	
	Average male.	19.42	28.50	28.01	36.68	Average male.	1.11	1.16	0.43
	5	21.22	30.94	29.42	36.37	0.51	0.78	0.02	
	6	18.51	27.97	26.38	27.66	0.61	0.98	1.10	
	7	23.11	31.13	30.11	27.15	1.39	0.72	0.09	
	8	20.02	28.28	28.34	32.73	0.84	0.83	0.41	
	Average female.	20.72	29.58	28.56	30.98	Average female.	0.84	0.83	0.41

Table 20 ค่าการแสดงออกของยีน (Gene expression) และค่า Normalized ยีนที่เกี่ยวข้อง  
กับกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่อายุ 63 วัน ไม่แยกเพศ

Treatment	Gene expression				Normalized			
	<i>Beta-Actin</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	0.74	1.29	0.16
	2	21.31	29.64	29.87	35.80	1.52	1.14	4.87
	3	20.44	29.14	29.49	40.00	1.18	0.82	0.15
	4	18.47	27.22	27.28	36.06	1.14	0.96	0.57
	5	20.38	29.51	29.21	40.00	0.88	0.94	0.14
	6	21.45	31.05	30.18	37.92	0.63	1.02	1.24
	7	21.20	29.63	30.05	38.26	1.43	0.94	0.83
	8	18.84	28.84	27.75	40.00	0.48	0.89	0.05
	Average	20.14	29.18	28.90	38.31	Average	1.07	1.02
T2	1	20.06	28.36	28.06	39.28	1.27	1.03	0.23
	2	20.14	28.54	27.54	38.41	1.19	1.56	0.45
	3	19.97	27.94	28.33	34.74	1.60	0.80	5.11
	4	20.22	28.82	27.85	38.76	1.04	1.33	0.38
	5	21.85	30.43	29.87	40.00	1.05	1.02	0.49
	6	18.30	28.12	26.87	38.39	0.44	0.69	0.13
	7	20.06	29.08	28.49	38.58	0.77	0.76	0.38
	8	19.37	28.65	27.39	40.00	0.65	1.02	0.09
	Average	20.00	28.74	28.05	38.52	Average	1.00	1.03
T3	1	22.33	30.52	30.41	37.85	2.73	1.48	2.96
	2	17.93	27.19	26.38	38.91	1.30	1.15	0.07
	3	19.00	27.73	27.49	38.83	1.88	1.12	0.15
	4	20.09	29.34	29.06	40.00	1.31	0.80	0.14
	5	19.49	29.64	28.03	38.70	0.70	1.08	0.23
	6	21.89	33.16	30.41	39.17	0.32	1.09	0.88
	7	21.52	32.16	31.17	37.84	0.50	0.50	1.70
	8	21.21	31.63	29.82	40.00	0.58	1.03	0.31
	Average	20.43	30.17	29.10	38.91	Average	1.16	1.03
T4	1	19.46	28.67	28.05	37.50	0.87	0.86	0.05
	2	18.86	28.57	28.56	37.28	0.62	0.40	0.04
	3	20.28	28.19	27.65	36.44	2.14	2.02	0.19
	4	19.07	28.56	27.77	35.51	0.72	0.80	0.16
	5	21.22	30.94	29.42	36.37	0.61	1.13	0.38

Treatment	Gene expression				Normalized				
	<i>Beta-Actin</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>	<i>DNMT1</i>	<i>DNMT3a</i>	<i>DNMT3b</i>		
T1	1	19.00	28.37	27.39	38.44	0.74	1.29	0.16	
	2	21.31	29.64	29.87	35.80	1.52	1.14	4.87	
	3	20.44	29.14	29.49	40.00	1.18	0.82	0.15	
	4	18.47	27.22	27.28	36.06	1.14	0.96	0.57	
	5	20.38	29.51	29.21	40.00	0.88	0.94	0.14	
	6	21.45	31.05	30.18	37.92	0.63	1.02	1.24	
	7	21.20	29.63	30.05	38.26	1.43	0.94	0.83	
	8	18.84	28.84	27.75	40.00	0.48	0.89	0.05	
	Average	20.14	29.18	28.90	38.31	Average	1.07	1.02	1.14
	6	18.51	27.97	26.38	27.66	0.74	1.43		
7									
8	20.02	28.28	28.34	32.73	1.68	1.05	2.06		
Average	19.63	28.74	28.02	34.78	Average	1.05	1.10	0.48	





ประวัติผู้วิจัย

มหาวิทยาลัยพระนคร

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	ศิริภัสสร ถิ่นปา
วัน เดือน ปี เกิด	9 กันยายน 2540
ที่อยู่ปัจจุบัน	173/1 หมู่ที่ 4 ตำบลแดนชุมผล อำเภอสอง จังหวัดแพร่ 54120
ที่ทำงานปัจจุบัน	อุทยานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 155 หมู่ที่ 2 ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50100
ตำแหน่งหน้าที่ปัจจุบัน	พนักงานบริหารจัดการห้องปฏิบัติการนวัตกรรม
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2563 วท.บ. (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์) มหาวิทยาลัยแม่โจ้แพร่-เฉลิม พระเกียรติ
ผลงานตีพิมพ์	ศิริภัสสร ถิ่นปา, วรศักดิ์ แก้วก่อง, ภาคภูมิ ทรัพย์สุนทร, ชนม์เจริญ แสง รัตน์, อธิวรรณ บุญญวรรณ, ถิรนนท์ ศรีภักษ์ชัย, อภิขญา สกุลไทย, ไพรัตน์ ศรีชนะ, อธิมา เพ็ชรคง, รังสรรค์ เจริญสุข. (2566). ผลของพลาสมาเย็นต่อ การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตีเอ็นเอเมทิลเลชันในลูกไก่ ประดู่หางดำลูกผสม. วารสารแก่นเกษตร, 51(5), 856-866.