แบบแผนการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนโปรแลคตินและเอสตราไดโอลในไก่พื้นเมืองที่แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ

Changes in Patterns of Prolactin and Estradiol in Native Chicken Expressed Prolonged Incubation Behavior

นัดติยา ประกอบแสง* **และ วันทนีย์ พลวิเศษ**

Nattiya Prakobsaeng* and Wantanee Polviset

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม จ.มหาสารคาม 44000

Program in Animal Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

**Corresponding author: Email: nattiya06@hotmail.com*

(Received: 21 March 2017; Accepted: 25 September 2017)

Abstract: The objective of this study was to investigate changes in patterns of prolactin (PRL) and estradiol (E_2) in the native hen (Pradoohangdam breed) expressed prolonged incubation behavior. They were raised in floor pen under natural day light. Eighteen females and 2 males were divided into 2 groups (9 hens: 1 rooster). Group 1: the hens were allowed to laying eggs and incubated their eggs naturally. The eggs were removed on day 15 of incubation and replaced with the new 10 eggs. The incubation cycle were repeated until the hen abandoned their nest (ES). Group 2: the hens were allowed to laying eggs and incubated their eggs naturally. The new 10 eggs were introduced into nest after completed the normal clutch while the chicks were removed. The incubation cycle were repeated until the hen abandoned their nest (CS). Plasma PRL and E_2 levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The results of this study show that CS hens expressed prolonged incubation (65.8 ± 6.50 days) more than ES hens (51.6 ± 4.39 days) but no significant differences were observed (P>0.05). Plasma PRL levels of ES hens increased during incubation period (364.38 ± 45.26 ng/ml), slightly decreased during prolonged incubation is occurred, and lower as non-laying hen (23.50 ± 8.7 ng/ml) following by abandoned the nest (P<0.05). Plasma E_2 were high during laying period, declined during incubation period and did not differ during prolonged incubation is occurred (P<0.05). In CS hens, plasma PRL levels increased during incubation period and sharply decreased on day 21 of incubation or day of hatch and increased when the chicks were removed and replaced with new eggs. Plasma PRL levels tended to decrease depending on the increase of incubation cycle (P>0.05) but no significant differences were observed in plasma E_2 levels of each incubation cycle (P>0.05).

Keywords: Native chicken, incubation behavior, prolactin, estradiol

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแบบแผนการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนโปรแลคติน (prolactin; PRL) และ เอสตราไดโอล (estradiol; E_2) ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำเพศเมียที่แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ โดยใช้ไก่ทดลองเพศเมีย 18 ตัว เพศผู้ 2 ตัว เลี้ยงในโรงเรือนแบบปล่อยพื้น ภายใต้ช่วงแสงธรรมชาติ แบ่งการทดลองเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว (เพศเมีย 9: เพศผู้ 1) กลุ่มที่ 1 ปล่อยให้ไก่วางไข่และฟักไข่ตามธรรมชาติ เมื่อไก่ฟักไข่จนถึงวันที่ 15 ของการฟักไข่ นำไข่ชุดเดิมออกและแทนที่ด้วยไข่ชุดใหม่จำนวน 10 ฟอง เพื่อให้ไก่ฟักไข่ต่อไปจนกว่าไก่จะหยุดฟักไข่และทิ้งรัง (ES) กลุ่มที่ 2 ปล่อยให้ไก่วางไข่และฟักไข่ตามธรรมชาติ จนกระทั่งลูกไก่ฟักออกจากไข่ แยกลูกไก่ออกและนำไข่ชุดใหม่จำนวน 10 ฟอง เข้าไปแทนที่ลูกไก่ ให้แม่ไก่ฟักไข่ต่อไป จนกระทั่งลูกไก่ชุดใหม่ฟักออกมา แล้วนำลูกไก่ออกและแทนที่ด้วยไข่ชุดใหม่ จนกว่าแม่ไก่จะเลิกฟักไข่และทิ้งรังไป (CS) วิเคราะห์ระดับฮอร์โมน PRL และ E_2 ในพลาสมา โดยใช้วิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ผลการศึกษาพบว่าไก่พื้นเมืองกลุ่ม CS แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ (65.8 ± 6.50 วัน) มากกว่าไก่พื้นเมืองกลุ่ม ES (51.6 ± 4.39 วัน) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ส่วนระดับ PRL ของไก่กลุ่ม ES เพิ่มขึ้นในระยะฟักไข่ (364.38 ± 45.26 ng/ml) และลดลงอย่างต่อเนื่อง ตามระยะเวลาในการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ และลดต่ำลงเท่ากับช่วงที่แม่ไก่ไม่ให้ไข่ (23.50 ± 8.7 ng/ml) ก่อนแม่ไก่ทิ้งรังไป (P<0.05) ส่วน E_2 พบว่ามีระดับสูงสุดในช่วงที่ไก่กำลังออกไข่ เริ่มลดลงเมื่อไก่ฟักไข่ และมีระดับคงที่ไปตลอดช่วงเวลาที่ไก่ฟักไข่ยืดเยื้อ (P<0.05) ในไก่กลุ่ม CS ระดับ PRL เพิ่มสูงขึ้นในระยะฟักไข่และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 21 ของการฟักไข่ หรือวันที่ลูกไก่ฟักออก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อแยกลูกไก่ออกไปและแทนที่ด้วยไข่ฟองใหม่ และมีแนวโน้มลดลงตามวงรอบการฟักไข่ที่เพิ่มขึ้น (P>0.05) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ E_2 ในแต่ละวงรอบของการฟักไข่ (P>0.05)

คำสำคัญ: ไก่พื้นเมือง พฤติกรรมการฟักไข่ โปรแลคติน เอสตราไดโอล

คำนำ

ไก่พื้นเมืองเป็นสัตว์เลี้ยงที่อยู่คู่กับสังคมไทยมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะชาวบ้านที่อยู่ในชนบท เนื่องจากมีความต้านทานต่อโรคและสภาพอากาศร้อนได้ดี (วรพล และสุจินต์, 2546; Aengwanich, 2007) นอกจากนี้เนื้อของไก่พื้นเมืองยังมีคุณภาพดีนั่นคือ มีโปรตีนและคอลลาเจนสูงแต่มีไขมันต่ำกว่าเนื้อไก่กระทงและไก่ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (จันทร์พร และกันยา, 2549; Wattanachant *et al*., 2004; Jaturasitha *et al*., 2008) จึงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และเหมาะสำหรับการสร้างแรงจูงใจในการสานต่ออาชีพการเลี้ยงไก่พื้นเมืองของทายาทเกษตรกร (ศันสนีย์ และคณะ, 2559)

ไก่พื้นเมืองมีลักษณะเด่นที่สำคัญ คือ พฤติกรรมความเป็นแม่ (maternal behavior) ได้แก่ พฤติกรรมการฟักไข่ (incubation behavior) และพฤติกรรมการเลี้ยงลูก (rearing behavior) การเกิดพฤติกรรมเหล่านี้ส่งผลดีต่อเกษตรกรรายย่อยตามชนบททั่วไป เนื่องจากไม่ต้องดูแลเอาใจใส่มาก เพราะเมื่อแม่ไก่ไข่จนครบชุดแล้ว (4-17 ฟอง) ก็จะฟักไข่และเลี้ยงดูลูกไก่ไปอีกประมาณ 2 เดือน จึงจะให้ไข่อีกรอบ แต่ในแง่ของการผลิตเชิงการค้า การให้แม่ไก่ฟักไข่และเลี้ยงลูกเองจะทำให้ได้ผลผลิตไข่และลูกไก่ปริมาณน้อย เกษตรกรจึงอาจใช้วิธีการจัดการบังคับแม่ไก่ไม่ให้ฟักไข่ แม่ไก่จะเริ่มกลับมาให้ไข่ในรอบต่อไปได้เร็วขึ้น (สุชน และคณะ, 2547; อรอนงค์ และคณะ, 2547; อินทร์ และคณะ, 2549)

ฮอร์โมนเอสตราไดโอล (estradiol; E_2) เป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ของสัตว์ปีก (อินทร์ และคณะ, 2549) และยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการสร้างไข่แดงและมีผลต่อน้ำหนักของไข่ (Kang *et al.,* 2001; Palmer and Bahr, 1992) ส่วนฮอร์โมนโปรแลคติน (prolactin; PRL) เป็นฮอร์โมนที่มีส่วนสำคัญในการควบคุมพฤติกรรมการฟักไข่ โดยในช่วงที่ไก่กำลังฟักไข่นั้นพบว่ามีการฝ่อของรังไข่และท่อนำไข่ ในขณะที่ระดับฮอร์โมน PRL ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น (El Halawani and Rozenboim, 1993) โดยในระหว่างที่ไก่ยังไม่ให้ไข่ระดับฮอร์โมน PRL มีระดับต่ำมาก และจะค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นในช่วงของการให้ไข่ และเพิ่มสูงสุดในช่วงของการ

ฟักไข่ และจะลดระดับลงมาอีกครั้งหลังจากที่ลูกไก่ฟักออกมาจากไข่ (Zadworny *et al*., 1988; Kuwayama *et al*., 1992) จึงมีข้อสงสัยว่าในไก่ที่ฟักไข่ยืดเยื้อมีกลไกการควบคุมโดยระบบต่อมไร้ท่ออย่างไร เป็นไปได้หรือไม่ว่าในระหว่างที่แม่ไก่ฟักไข่อีกครั้งหลังจากที่ลูกไก่ชุดแรกฟักออกมาแล้ว ฮอร์โมน PRL จากที่ลดระดับลงไประหว่างที่ลูกไก่ฟักออกมาจะมีระดับเพิ่มสูงขึ้น และระดับฮอร์โมน E_2 ซึ่งลดลงในขณะที่ไก่ฟักไข่จะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามระดับของฮอร์โมน PRL หรือไม่

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน PRL และ E_2 เพื่อให้ทราบถึงกลไกการควบคุมพฤติกรรมการฟักไข่โดยระบบต่อมไร้ท่อของไก่พื้นเมืองไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

ไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ประดู่หางดำ เพศเมีย อายุ 24 สัปดาห์ จำนวน 18 ตัว และเพศผู้ อายุ 48 สัปดาห์ จำนวน 2 ตัว เลี้ยงแบบปล่อยพื้นในโรงเรือนระบบเปิด ภายใต้ช่วงแสงธรรมชาติ โดยให้อยู่ในกรงขนาด 2x3 เมตร กรงละ 10 ตัว (เพศเมีย 9: เพศผู้ 1) ภายในกรงมีตะกร้าสำหรับเป็นรังให้ไก่ขึ้นไปไข่ ไก่ทดลองแต่ละตัวจะมีการติดเบอร์ที่ปีก และให้กินน้ำและอาหารแบบเต็มที่ตามความต้องการ (*ad libitum*) สังเกตและจดบันทึกพฤติกรรมของไก่พื้นเมืองเวลา 7.00, 10.00, 13.00 และ 16.00 น. ทุกวัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 (ES) ปล่อยให้ไก่วางไข่และฟักไข่ตามธรรมชาติ เมื่อไก่ฟักไข่จนถึงวันที่ 15 ของการฟักไข่ นำไข่ชุดเดิมออก และแทนที่ด้วยไข่ชุดใหม่จำนวน 10 ฟอง และเริ่มต้นนับวันที่แทนที่ด้วยไข่ชุดใหม่เป็นวันที่ 1 ของการฟักไข่รอบที่สอง จนกระทั่งถึงวันที่ 15 ของการฟัก นำไข่ชุดที่ 2 ออก และแทนที่ด้วยไข่ชุดที่ 3 ทำซ้ำ ๆ กันแบบนี้จนกว่าไก่จะหยุดฟักไข่และทิ้งรังไป เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่ปีก (wing vein) ในระยะที่ไก่ไม่ให้ไข่ ระยะไก่ออกไข่ (วันที่ 7 ของการไข่) และระยะฟักไข่วันที่ 3, 6, 9, 12 และ 15 หรือทุก ๆ 3 วัน ของการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ

กลุ่มที่ 2 (CS) ปล่อยให้ไก่วางไข่และฟักไข่ตามธรรมชาติ จนกระทั่งลูกไก่ฟักออกจากไข่ จึงแยกลูกไก่ออกและนำไข่ชุดใหม่จำนวน 10 ฟอง เข้าไปแทนที่ลูกไก่ ให้แม่ไก่ฟักไข่ต่อไป จนกระทั่งลูกไก่ชุดใหม่ฟักออกมา แล้วนำลูกไก่ออกและแทนที่ด้วยไข่ชุดใหม่ จนกว่าแม่ไก่จะเลิกฟักไข่และทิ้งรังไป เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่ปีกในระยะที่ไก่ไม่ให้ไข่ ระยะไก่ไข่ (วันที่ 7 ของการไข่) ระยะฟักไข่วันที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 21 (หรือวันที่ลูกไก่ฟักออกจากไข่) และเก็บทุก ๆ 3 วันของการฟักไข่ชุดใหม่ที่นำเข้าไปแทนที่ลูกไก่

ตัวอย่างเลือดที่ได้จะถูกนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเก็บพลาสมา นำตัวอย่างพลาสมาที่ได้ไปเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ระดับของฮอร์โมน PRL และ E_2 ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ตามวิธีการของ Kosonsiriluk *et al*. (2008) และ Mobarkey *et al*. (2010) ตามลำดับ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบ duplicate in single assay ปริมาณฮอร์โมน PRL และ E_2 น้อยที่สุดที่ตรวจวัดได้ (sensitivity) คือ 3.9 ng/ml และ 0.78 pg/ml ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวน (coefficient of variation) ของ intra-assay ในการวิเคราะห์ฮอร์โมน PRL และ E_2 คือ 4.46% และ 6.67% ตามลำดับ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของระยะเวลาการฟักไข่ที่ยืดเยื้อของไก่ทั้ง 2 กลุ่มโดยการวิเคราะห์ t-test วิเคราะห์ระดับฮอร์โมนในแต่ละวงรอบการสืบพันธุ์โดย repeated measures ส่วนระดับฮอร์โมนในแต่ละช่วงเวลาใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย one-way analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มโดยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version 14 (SPSS Inc., 2005)

ผลการทดลอง

ระยะเวลาการฟักไข่

ไก่พื้นเมืองกลุ่มที่ถูกแยกลูกไก่ออกไปเมื่อฟักออกและแทนที่ด้วยไข่ฟองใหม่ (CS) แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อมากกว่าไก่พื้นเมืองกลุ่มที่ฟักไข่อย่าง

ต่อเนื่อง (ES) ที่ไม่ได้รับการกระตุ้นจากลูกไก่ โดยมีระยะเวลาในการฟักไข่ 65.8 ± 6.50 วัน และ 51.6 ± 4.39 วัน ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ระดับฮอร์โมน PRL

ระดับฮอร์โมน PRL ในกระแสเลือดของไก่พื้นเมืองกลุ่มที่ถูกแทนที่ด้วยไข่ฟองใหม่เพื่อไม่ให้ลูกไก่ฟักออก (ES) มีระดับต่ำในช่วงที่ไก่ยังไม่ออกไข่ (25.94 ± 3.00 ng/ml) เริ่มสูงขึ้นในช่วงที่ไก่กำลังออกไข่ (100.58 ± 70.31 ng/ml) และสูงที่สุดในช่วงที่ไก่กำลังฟักไข่ (วันที่ 15 ของการฟักไข่; 364.38 ± 45.26 ng/ml) เมื่อแทนที่ด้วยไข่ชุดใหม่เพื่อให้แม่ไก่ฟักไข่อย่างต่อเนื่องพบว่าระดับฮอร์โมน PRL ยังคงสูงต่อเนื่องไปจนถึงวันที่ 33 ของการฟัก (251.81 ± 41.51 ng/ml) หลังจากนั้นแม่ไก่แต่ละตัวจะเริ่มใช้ระยะเวลาในการฟักไข่ที่แตกต่างกัน แต่ในช่วงเวลาก่อนที่แม่ไก่จะหยุดฟักไข่และทิ้งรังไปพบว่าระดับฮอร์โมน PRL ลดลงจนมีระดับต่ำ (23.50 ± 8.7 ng/ml) เท่ากับช่วงที่ไก่ยังไม่ให้ไข่ (P<0.05; ตารางที่ 1) ส่วนไก่พื้นเมืองกลุ่มที่ถูกแยกลูกไก่ออกและแทนที่ด้วยไข่ฟองใหม่ (CS) พบว่าระดับฮอร์โมน PRL เพิ่มสูงขึ้นในระยะฟักไข่ และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 21 ของการฟักไข่ หรือวันที่ลูกไก่ฟักออก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อแยกลูกไก่ออกไปและแทนที่ด้วยไข่ฟองใหม่ และมีรูปแบบไม่แตกต่างกันในแต่ละวงรอบของการฟักไข่ที่ต่อเนื่องกัน (P>0.05) ยกเว้นวันที่ 3 ของการฟักไข่ในวงรอบที่ 3 พบว่าระดับของฮอร์โมน PRL มีระดับต่ำกว่า (39.72 ± 25.72 ng/ml) วงรอบที่ 2 (185.88 ± 90.67 ng/ml) และ 1 (211.79 ± 5.93 ng/ml) ตามลำดับ (P<0.05; ตารางที่ 2) นอกจากนี้ในวงรอบที่ 3 ระดับฮอร์โมน PRL ตลอดช่วงการฟักไข่ 21 วัน ยังมีแนวโน้มต่ำกว่าวงรอบที่ 2 และ 1 อีกด้วย

Table 1. Plasma PRL and E_2 levels of the native chicken expressed prolonged incubation behavior while replaced with new eggs at day 15 of incubation (ES)

Reproductive stage	Plasma PRL level (ng/ml)	Plasma E_2 level (pg/ml)
Non-egg laying	25.94 ± 3.00^{a}	709.52 ± 105.32^{bc}
Egg laying	100.58 ± 70.31^{ab}	975.08 ± 229.94^{c}
Day 3 of incubation	224.31 ± 61.89^{bc}	580.61 ± 76.70^{ab}
Day 6 of incubation	235.04 ± 40.17^{bc}	646.10 ± 70.43^{ab}
Day 9 of incubation	294.37 ± 51.15^{c}	524.47 ± 78.08^{ab}
Day 12 of incubation	338.97 ± 72.09^{c}	512.46 ± 53.70^{ab}
Day 15 of incubation	364.38 ± 45.26^{c}	328.85 ± 77.53^{a}
Day 18 of incubation	349.91 ± 79.69^{c}	423.08 ± 72.53^{ab}
Day 21 of incubation	332.95 ± 91.45^{c}	528.24 ± 85.45^{ab}
Day 24 of incubation	256.97 ± 107.7^{bc}	558.62 ± 60.18^{ab}
Day 27 of incubation	230.36 ± 46.52^{bc}	464.49 ± 69.65^{ab}
Day 30 of incubation	297.38 ± 48.31^{c}	404.41 ± 106.66^{ab}
Day 33 of incubation	251.81 ± 41.51^{bc}	489.71 ± 48.58^{ab}
6 days before abandon	100.43 ± 33.34^{ab}	418.80 ± 125.86^{ab}
3 days before abandon	26.13 ± 13.59^{a}	314.39 ± 31.12^{a}
1 day before abandon	23.50 ± 8.7^{a}	478.15 ± 129.66^{ab}
P-value	0.000	0.007

$^{a-c}$ Means ± SEM with different superscripted letters within the same column indicate significant difference (P<0.05)

ระดับฮอร์โมน E_2

ระดับฮอร์โมน E_2 ในกระแสเลือดของไก่พื้นเมืองกลุ่ม ES พบว่ามีระดับสูงในช่วงที่ไก่ยังไม่ออกไข่ (709.52 ± 105.32 pg/ml) และสูงสุดในช่วงที่ไก่กำลังออกไข่ (975.08 ± 229.94 pg/ml) เมื่อไก่เริ่มฟักไข่ระดับฮอร์โมน E_2 จะเริ่มลดลงและมีระดับคงที่ไปตลอดจนกระทั่งแม่ไก่หยุดฟักไข่และทิ้งรังไป (P<0.05; ตารางที่ 1) ส่วนระดับฮอร์โมน E_2 ของไก่กลุ่ม CS พบว่าในแต่ละวงรอบของการฟักไข่ ไก่พื้นเมืองมีระดับของฮอร์โมน E_2 ในกระแสเลือดไม่แตกต่างกัน (P>0.05; ตารางที่ 3)

Table 2. Plasma PRL levels of the native chicken expressed prolonged incubation behavior while replaced with new eggs at day of hatched (CS)

Day of incubation	Plasma PRL level (ng/ml)			*P*-value
	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	
3	211.79 ± 5.93[a]	185.88 ± 90.67[ab]	39.72 ± 25.72[c]	0.035
6	185.77 ± 63.38	220.18 ± 66.18	122.98 ± 80.79	0.818
9	147.95 ± 45.53	172.08 ± 62.23	132.94 ± 14.29	0.885
12	205.64 ± 35.20	199.70 ± 62.28	121.17 ± 62.97	0.081
15	171.47 ± 24.57	179.36 ± 66.15	109.34 ± 47.78	0.414
18	68.38 ± 29.38	196.12 ± 93.30	128.70 ± 39.80	0.715
21	62.56 ± 52.57	159.87 ± 55.71	149.43 ± 76.07	0.211
P-value	0.152	0.997	0.904	

[a-c] Means ± SEM with different superscripted letters within the same row indicate significant difference (P<0.05)

Table 3. Plasma E_2 levels of the native chicken expressed prolonged incubation behavior while replace with new eggs at day of hatched (CS)

Day of incubation	Plasma E_2 level (pg/ml)			*P*-value
	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	
3	1310.88 ± 365.39	838.65 ± 207.20	813.79 ± 247.74	0.203
6	874.11 ± 241.56	886.87 ± 204.22	682.45 ± 175.96	0.829
9	925.73 ± 173.33	622.20 ± 96.66	853.78 ± 218.14	0.371
12	674.26 ± 114.89	798.86 ± 324.13	756.33 ± 272.99	0.571
15	897.01 ± 192.16	548.87 ± 60.44	604.05 ± 176.69	0.158
18	463.62 ± 131.96	670.89 ± 173.78	394.04 ± 82.80	0.534
21	954.20 ± 114.83	830.18 ± 160.80	762.09 ± 117.25	0.291
P-value	0.285	0.887	0.802	

วิจารณ์

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าไก่พื้นเมืองมีการแสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วไก่จะฟักไข่ที่ 21 วัน หลังจากลูกไก่ฟักออกจากไข่ แม่ไก่จะเลี้ยงดูลูกไก่ให้เจริญเติบโตโดยการให้ความอบอุ่น ปกป้องลูกไก่ และพาลูกไก่หาอาหาร แต่เมื่อแยกลูกไก่ออกจากแม่ไก่และนำไข่ฟองใหม่เข้าไปแทนที่ แม่ไก่กลับแสดงพฤติกรรมการฟักไข่ โดยให้ความสนใจไข่ที่ใส่เข้าไปใหม่และกกไข่ดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง แม้ไข่ดังกล่าวจะไม่ใช่ไข่ของแม่ไก่ตัวนั้นเอง แสดงว่าสิ่งกระตุ้นจากภายนอกโดยเฉพาะไข่ มีความสำคัญต่อการแสดงพฤติกรรมการฟักไข่ และการปรากฏของลูกไก่ทำให้ไก่หยุดแสดงพฤติกรรมการฟักไข่และเปลี่ยนไปแสดงพฤติกรรมการเลี้ยงลูกแทน ดังจะเห็นได้จากการฟักไข่ของไก่โดยทั่วไป เมื่อลูกไก่ฟักออกเป็นตัวและแข็งแรงแล้ว แม่ไก่จะพาลูกไก่ออกจากรังและพาไปคุ้ยเขี่ยหาอาหารโดยไม่สนใจไข่ที่ยังฟักออกไม่หมด ซึ่งสอดคล้องกับ Holcomb (1979) ที่ได้รายงานไว้ว่ากลไกทางสรีรวิทยาที่อยู่ภายในและสิ่งกระตุ้นจากภายนอกอาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องต่อการแสดงออกของพฤติกรรมที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการแสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อของไก่พื้นเมืองนั้นเป็นเพราะไก่พื้นเมืองมีความเป็นแม่สูง จึงแสดงพฤติกรรมการฟักไข่ไปจนกว่าลูกไก่จะฟักออกมาจากไข่ เพราะโดยที่จริงแล้วช่วงระยะเวลาของการฟักไข่ควรจะใช้เวลาน้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ เพื่อไม่ให้สูญเสียพลังงานไประหว่างการฟักไข่ (Reid *et al*., 2002) และเพิ่มความเสี่ยงของการถูกล่าจากสัตว์ผู้ล่าในขณะที่กำลังฟักไข่อยู่ในรัง (Martin, 2002; Miller *et al*., 2007; Visser and Lessells, 2001; Weidinger, 2002) ซึ่งจากการศึกษาในนกกระทาป่าพบว่า มีการฟักไข่ที่ยืดเยื้อถึง 75 วัน จากช่วงการฟักไข่ปกติ คือ 23 วัน (Hernandez *et al*., 2006) ส่วนนกในกลุ่มที่ไม่ใช่นกเกาะคอนมีแนวโน้มที่จะฟักไข่ยืดเยื้อนานกว่ากลุ่มนกเกาะคอน (Holcomb, 1970) ซึ่งการฟักไข่ที่ยืดเยื้อนี้เชื่อว่าเป็นพฤติกรรมที่มีมาแต่กำเนิดของสัตว์เพื่อปกป้องไข่ซึ่งอาจจะใช้เวลามากกว่าไข่ฟองอื่น ๆ ในการฟักออก (Skutch, 1962)

จากรายงานของ Rozenboim *et al*. (1993) พบว่าฮอร์โมน PRL มีบทบาทในการยับยั้งการผลิตฮอร์โมน gonadotropin releasing hormone (GnRH) จากสมองส่วนไฮโปธาลามัส ทำให้การหลั่งฮอร์โมน luteinizing hormone (LH) จากต่อมใต้สมองลดลง สัตว์ปีกจึงหยุดออกไข่ และเริ่มแสดงพฤติกรรมการฟักไข่ (El Halawani *et al*., 1988; Sharp *et al*., 1988) การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน PRL จึงทำให้รังไข่หยุดการพัฒนา และยับยั้งการผลิตฮอร์โมนสเตอรอยด์จากถุงไข่ (follicle) ทำให้การผลิตฮอร์โมน E_2 จากถุงไข่ขนาดเล็กลดลง และส่งผลกระทบต่อการสะสมไข่แดงในถุงไข่ขนาดใหญ่ (Sockman and Schwabl, 1999) เนื่องจาก ฮอร์โมน E_2 มีส่วนในการสร้างโปรตีนไวเทลโลเจนิน (vitellogenin) และไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำมาก (very-low density lipoprotein) ที่ตับ ซึ่งเป็นองค์ประกอบตั้งต้นในการสร้างไข่แดง (Christians and Williams, 1999; Wallace, 1985) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าฮอร์โมนสเตอรอยด์ในไข่ของสัตว์ปีกเป็นสัญญาณที่ส่งผ่านจากแม่ไปสู่ลูกเพื่อให้ลูกที่เกิดมามีการพัฒนาและตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมโดยผ่านประสบการณ์ของแม่ (Arnold, 2002; Groothuis and Schwabl, 2008)

ระดับฮอร์โมน PRL ในกระแสเลือดของไก่พื้นเมือง มีระดับต่ำสุดในระยะที่ไก่ยังไม่ออกไข่ เพิ่มขึ้นเมื่อไก่ออกไข่ และเพิ่มสูงสุดเมื่อไก่เข้าสู่ระยะการฟักไข่ หลังจากนั้นระดับฮอร์โมน PRL จะลดลงอย่างต่อเนื่องตามจำนวนวันที่แม่ไก่ฟักไข่ต่อเนื่อง สอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ว่าระดับฮอร์โมน PRL จะต่ำเมื่อไก่ยังไม่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ เมื่อไก่เริ่มไข่ระดับฮอร์โมน PRL จะค่อย ๆ สูงขึ้น หลังจากหยุดออกไข่และเริ่มฟักไข่ระดับของฮอร์โมน PRL จะเพิ่มขึ้นสูงที่สุด และเมื่อลูกไก่ฟักออกจากไข่ระดับของฮอร์โมน PRL จะลดระดับลงมาอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับระยะออกไข่ (อินทร์ และคณะ, 2549; Kosonsiriluk *et al*., 2008) การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน PRL เป็นสาเหตุที่ทำให้หยุดการตกไข่ รังไข่ฝ่อ และเหนี่ยวนำให้เกิดพฤติกรรมการฟักไข่ (El Halawani *et al*., 1988) ซึ่งตรงข้ามกับระดับของฮอร์โมน LH ของแม่ไก่จะเริ่มเพิ่มขึ้นเมื่อลูกไก่ฟักออกจากไข่ (Kuwayama *et al*., 1992) หรือเมื่อลูกไก่ปรากฏตัว (Leboucher *et al*., 1990; 1993;

Richard-Yris *et al*., 1995) และระดับของฮอร์โมน PRL ในช่วงของการเลี้ยงลูกจะมีระดับต่ำกว่าช่วงการฟักไข่แต่ก็ยังสูงกว่าช่วงของการไม่ให้ไข่ (Boos *et al*., 2007) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมน PRL มีส่วนเกี่ยวข้องกับการดูแลลูกหลังจากฟักออกมาจากไข่ (Criscuolo *et al*., 2002) เมื่อมีการพรากลูกไก่จากแม่จึงทำให้ระดับของฮอร์โมน PRL ของแม่ไก่ลดลง (Chaiyachet *et al*., 2013) ส่วนระดับฮอร์โมน E_2 พบว่ามีระดับสูงสุดในช่วงที่ไก่กำลังออกไข่ เมื่อไก่เริ่มฟักไข่ระดับฮอร์โมน E_2 จะเริ่มลดลงและมีระดับคงที่ไปตลอดช่วงเวลาของการฟักไข่ สอดคล้องกับรายงานของ รัตนา และคณะ (2537) พบว่าระดับฮอร์โมน E_2 พื้นฐานมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของอายุและสภาพการให้ผลผลิตไข่ของไก่ และสามารถบอกถึงความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่ไก่ก่อนที่จะวางไข่ในรอบถัดไปได้ (อินทร์ และคณะ, 2549)

เมื่อปล่อยให้แม่ไก่ฟักไข่อย่างต่อเนื่องพบว่าระดับฮอร์โมน PRL จะลดลงอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการฟักไข่ที่ยืดเยื้อของไก่ จนกระทั่งแม่ไก่หยุดฟักไข่และทิ้งรังไปพร้อมกับระดับฮอร์โมน PRL ลดลงจนเท่าระยะก่อนการให้ผลผลิตไข่ สอดคล้องกับ Sharp *et al*. (1998) รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมน PRL ทำให้พฤติกรรมการฟักไข่ยังคงอยู่ แต่เมื่อปล่อยให้แม่ไก่ฟักไข่จนครบ 21 วัน พบว่าระดับฮอร์โมน PRL จะลดลงในวันที่ลูกไก่ฟักออกแต่ยังสูงกว่าในระยะก่อนการให้ผลผลิตไข่ และจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อพรากลูกไก่ออกจากรังและแทนที่ด้วยไข่ใหม่ให้แม่ไก่ฟัก เช่นเดียวกับการทดลองพรากแม่ไก่งวงและไก่พื้นเมืองออกจากรังทำให้ระดับของฮอร์โมน PRL ลดลง (El Halawani *et al*., 1980; Prakobsaeng *et al*., 2011; Proudman and Opel, 1981) ดังนั้นจะเห็นได้ชัดว่าฮอร์โมน PRL มีบทบาทที่สำคัญต่อการแสดงออกของพฤติกรรมการฟักไข่ของไก่พื้นเมือง อย่างไรก็ตามพบว่าระดับการแสดงออกของพฤติกรรมการฟักไข่และระดับของฮอร์โมน PRL ยังขึ้นอยู่กับสภาพของการเลี้ยงดู (Bedecarrats *et al*., 1997) ด้วย

จากการทดลองจะเห็นว่าพฤติกรรมการฟักไข่ของไก่พื้นเมืองไทยขึ้นกับสิ่งกระตุ้นภายใน ได้แก่ การควบคุมโดยระบบต่อมไร้ท่อ คือ ฮอร์โมน PRL และสิ่งกระตุ้นภายนอก ได้แก่ การปรากฏของไข่และลูกไก่

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ Prof. Dr. Israel Rozenboim, University of Jerusarem ประเทศอิสราเอล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมน PRL และ E_2 สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม สำหรับพื้นที่เลี้ยงไก่ทดลอง รศ.ดร.ยุพาพร ไชยสีหา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับการอำนวยความสะดวกในการส่งตัวอย่างพลาสมาไก่ และนายวุฒิภัทร ภิญโญศักดิ์ ที่ช่วยเลี้ยงไก่ทดลองและเก็บข้อมูลงานวิจัย ซึ่งทำให้การทดลองนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จันทร์พร เจ้าทรัพย์ และ กันยา ตันติวิสุทธิกุล. 2549. คุณภาพซาก สี และส่วนประกอบของเคมีของเนื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์พม่า ไก่กระทงและพื้นเมืองสายพันธุ์ไทย. หน้า 400-406. *ใน:* รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 วันที่ 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2549, กรุงเทพฯ.

รัตนา โชติสังกาศ สุภาพร อิสริโยดม และ นิรัตน์ กองรัตนานันท์. 2537. ระดับสเตอรอยด์ฮอร์โมนพื้นฐาน และพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของไก่พื้นเมืองและไก่ไข่ลูกผสมทางการค้าในสภาวะการให้ผลผลิตไข่ที่แตกต่างกัน. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 28(2): 200-209.

วรพล เองวานิช และ สุจินต์ สิมารักษ์. 2546. เปรียบเทียบความสามารถในการทนความร้อนระหว่างไก่พื้นเมืองและไก่กระทงภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนเป็นเวลานาน. สัตวแพทยสาร 54: 39-48.

ศันสนีย์ กระจ่างโฉม สุดารัตน์ อุทธารัตน์ ณัฐสิทธิ์ ศรีนุรักษ์ และ อุบลรัตน์ หยาใส. 2559. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับแรงจูงใจของทายาทเกษตรกรในการ

สานต่ออาชีพเกษตรในอาเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(1): 29-38.

สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล กัญญา ปัญญา ชาติรักษ์ สิริน ชะเอมเทศ สมควร ปัญญาวีร์ ผ่านฟ้า ณ เชียงใหม่ แสงธิฌา แสงดาวเรือง และ เบญจวรรณ ศิริศรีสวัสดิ์. 2547. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไก่พื้นเมือง: ระบบการผลิตในเชิงการค้า. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 247 หน้า.

อรอนงค์ เลี้ยวธารากุล ชาตรี ประทุม และ อำนวย เลี้ยวธารากุล. 2547. การเพิ่มจำนวนตับไข่ของแม่ไก่และการลดอัตราการตายของลูกไก่พื้นเมือง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 103 หน้า.

อินทร์ ศาลางาม นรินทร บุญพราหมณ์ รักเกียรติ แสนประเสริฐ ปิยะศักดิ์ สุวรรณี และ กนกวรรณ มะโนรมย์. 2549. วิธีการเพิ่มจำนวนลูกไก่พื้นเมืองสำหรับเกษตรกรและรูปแบบการหลั่งฮอร์โมน Progesterone, Prolactin, LH และ Estrogen ในวงรอบการสืบพันธุ์ของแม่ไก่พื้นเมือง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 92 หน้า.

Aengwanich, W. 2007. Comparative ability to tolerate heat between thai indigenous chickens, thai indigenous chickens crossbred and broilers by using heterophil/lymphocyte ratio. Pakistan Journal of Biological Sciences 10(11): 1840-1844.

Arnold, A.P. 2002. Concepts of genetic and hormonal induction of vertebrate sexual differentiation in the twentieth century, with special reference to the brain. pp. 105-135. *In:* D.W. Pfaff, A. Arnold, A. Etgen, S. Fahrbach and R. Rubin (eds.). Hormones, Brain, and Behavior. Academic Press, New York.

Bedecarrats, G., D. Guemene and M.A. Richard-Yris. 1997. Effects of environmental and social factors on incubation behavior, endocrinological parameters, and production traits in turkey hens (*Meleagris gallopavo*). Poultry Science 76(9): 1307-1314.

Boos, M., C. Zimmer, A. Carriere, J. P. Robin and O. Petit. 2007. Post-hatching parental care behaviour and hormonal status in a precocial bird. Behavioural Processes 76(3): 206-214.

Chaiyachet, O-A., D. Chokchaloemwong, N. Prakobsaeng, N. Sartsoongnoen, S. Kosonsiriluk, I. Rozenboim, M.E. El Halawani, T.E. Porter and Y. Chaiseha. 2013. Neuroendocrine regulation of rearing behavior in the native Thai hen. Acta Histochemica 115(3): 209-218.

Christians, J.K. and T.D. Williams. 1999. Effects of exogenous 17β-estradiol on the reproductive physiology and reproductive performance of European starlings (*Sturnus vulgaris*). The Journal of Experimental Biology 202: 2679-2685.

Criscuolo, F., O. Chastel, G.W. Gabrielsen, A. Lacroix and Y. Le Maho. 2002. Factors affecting plasma concentrations of prolactin in the common eider, *Somateria mollissima*. General and Comparative Endocrinology 125(3): 399-409.

El Halawani, M.E. and I. Rozenboim. 1993. The ontogeny and control of incubation behavior in turkeys. Poultry Science 72(5): 906-911.

El Halawani, M.E., W.H. Burke and P.T. Dennison. 1980. Effect of nest-deprivation on serum prolactin level in nesting female turkeys. Biology of Reproduction 23(1): 118-123.

El Halawani, M.E., S.C. Fehrer, B.M. Hargis and T.E. Porter. 1988. Incubation behavior in the domestic turkey: Physiological correlates. CRC Critical Reviews in Poultry Biology 1: 285-314.

Groothuis, T.G. and H. Schwabl. 2008. Hormone-mediated maternal effects in birds: Mechanisms matter but what do we know of them? Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 363(1497):1647-1661.

Hernandez, F., J.A. Arredondo, F. Hernandez, F.C. Bryant and L.A. Brennan. 2006. Abnormal eggs and incubation behavior in Northern Bobwhite. The Wilson Journal of Ornithology 118(1): 114-116.

Holcomb, L.C. 1970. Prolonged incubation behaviour of Red-Winged Blackbirds incubating several egg sizes. Behaviour 36(1/2): 74-83.

Holcomb, L.C. 1979. Response to foster nestlings by Red-Winged Blackbirds at different reproductive stages. The Wilson Bulletin 91(3): 434-440.

Jaturasitha, S., T. Srikanchai, M. Kreuzer and 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(1): 160-169.

Kang, W.J., J.S. Yun, D.S. Seo, K.C. Hong and Y. Ko. 2001. Relationship among egg productivity, steroid hormones (progesterone and estradiol) and ovary in Korean Ogol chicken. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 14(7): 922-928.

Kosonsiriluk, S., N. Sartsoongnoen, O-A. Chaiyachet, N. Prakobsaeng, T. Songserm, I. Rozenboim, M.E. El Halawani and Y. Chaiseha. 2008. Vasoactive intestinal peptide and its role in continuous and seasonal reproduction in birds. General and Comparative Endocrinology 159(1): 88-97.

Kuwayama, T., K. Shimada, N. Saito, T. Ohkubo, K. Sato, M. Wada and K. Ichinoe. 1992. Effects of removal of chicks from hens on concentrations of prolactin, luteinizing hormone and oestradiol in plasma of brooding Gifujidori hens. Journal of Reproduction and Fertility 95(2): 617-622.

Leboucher, G., M.A. Richard-Yris, D. Guemene and A. Chadwick. 1993. Respective effects of chicks and nest on behavior and hormonal concentrations of incubating domestic hens. Physiology & Behavior 54(1): 135-140.

Leboucher, G., M.A. Richard-Yris, J. Williams and A. Chadwick. 1990. Incubation and maternal behaviour in domestic hens: Influence of the presence of chicks on circulating luteinizing hormone, prolactin and oestradiol and on behaviour. British Poultry Science 31(4): 851-862.

Martin, T.E. 2002. A new view for avian life history evolution tested on an incubation paradox. Proceedings of the Royal Society B 269(1488): 309-316.

Miller, D.A., J.B. Grand, T.F. Fondell and R.M. Anthony. 2007. Optimizing nest survival and female survival: Consequences of nest site selection for Canada geese. Condor 109(4): 769-780.

Mobarkey, N., N. Avital, R. Heiblum and I. Rozenboim. 2010. The role of retinal and

extra-retinal photostimulation in reproductive activity in broiler breeder hens. Domestic Animal Endocrinology 38(4): 235-243.

Palmer, S.S. and J.M. Bahr. 1992. Follicle stimulating hormone increases serum oestradiol-17 beta concentrations, number of growing follicles and yolk deposition in ageing hens (*Gallus gallus domesticus*) with decreased egg production. British Poultry Science 33(2): 403-414.

Prakobsaeng, N., N. Sartsoongnoen, S. Kosonsiriluk, O-A. Chaiyachet, D. Chokchaloemwong, I. Rozenboim, M.E. El Halawani, T.E. Porter and Y. Chaiseha. 2011. Changes in vasoactive intestinal peptide and tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the brain of nest-deprived native Thai hen. General and Comparative Endocrinology 171(2): 189-196.

Proudman, J.A. and H. Opel. 1981. Turkey prolactin: Validation of a radioimmunoassay and measurement of changes associated with broodiness. Biology of Reproduction 25(3): 573-580.

Reid, J.M., P. Monaghan and R.G. Nager. 2002. Incubation and the costs of reproduction. pp. 314-325. *In:* D.C. Deeming (ed.). Avian Incubation: Behaviour, Environment, and Evolution. Oxford University Press, Oxford.

Richard-Yris, M.A., A. Chadwick, D. Guemene, H. Grillou-Schuelke and G. Leboucher. 1995. Influence of the presence of chicks on the ability to resume incubation behavior in domestic hens (*Gallus domesticus*). Hormones and Behavior 29(4): 425-441.

Rozenboim, I., C. Tabibzadeh, J.L. Silsby and M.E. El Halawani. 1993. Effect of ovine prolactin administration on hypothalamic vasoactive intestinal peptide (VIP), gonadotropin releasing hormone I and II content, and anterior pituitary VIP receptors in laying turkey hens. Biology of Reproduction 48(6): 1246-1250.

Sharp, P.J., A. Dawson and R.W. Lea. 1998. Control of luteinizing hormone and prolactin secretion in birds. Comparative Biochemistry and Physiology. Part C Pharmacology Toxicology & Endocrinology 119(3): 275-282.

Sharp, P.J., M.C. Macnamee, R.J. Sterling, R.W. Lea, and H.C. Pedersen. 1988. Relationships between prolactin, LH and broody behavior in bantam hens. The Journal of Endocrinology 118(2): 279-286.

Skutch, A.F. 1962. The constancy of incubation. The Wilson Bulletin 74(2): 115-151.

Sockman, K.W. and H. Schwabl. 1999. Daily estradiol and progesterone levels relative to laying and onset of incubation in Canaries. General and Comparative Endocrinology 114(2): 257–268.

SPSS Inc. 2005. SPSS Base 14.0 Users Guide. SPSS Inc., Chicago, Illinois.

Visser, M.E. and C.M. Lessells. 2001. The costs of egg production and incubation in Great Tits (*Parus major*). Proceedings of the Royal Society B 268(1473): 1271-1277.

Wallace, R.A. 1985. Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. pp. 127-177. *In:* L.W. Browder (ed). Developmental Biology. Plenum Press, New York.

Wattanachant, S., S. Benjakul and D.A. Ledward. 2004. Composition, color, and texture of Thai indigenous and broiler chicken muscles. Poultry Science 83(1): 123-128.

Weidinger, K. 2002. Interactive effects of concealment, parental behaviour and predators on the survival of open passerine nests. Journal of Animal Ecology 71(3): 424-437.

Zadworny, D., K. Shimada, H. Ishida, C. Sumi and K. Sato. 1988. Changes in plasma levels of prolactin and estradiol, nutrient intake, and time spent nesting during the incubation phase of broodiness in the Chabo hen (Japanese bantam). General and Comparative Endocrinology 71(3): 406-412.