การใช้ขนเป็นแหล่งดีเอนเอสำหรับศึกษาพันธุกรรมของสัตว์ปีก

Use a feather as a source of DNA for bird genetic studies

อุคเดช บุญประกอบ ปิยะนันท์ ลีแก้ว
Ukadej Boonyaprakob Piyanan Leekaew

Abstract

เทคโนโลยีด้านดีเอนเอ (DNA technology) มีบทบาทอย่างมากต่อความก้าวหน้าทางความรู้ด้านวิวัฒนาการและพันธุศาสตร์ประชากรของสัตว์ปีก เทคนิคสมัยใหม่ เช่น ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction หรือ PCR) สามารถเพิ่มจำนวนชิ้นของดีเอนเอที่ต้องการในหลอดทดลองได้อย่างรวดเร็วและมีปริมาณพอเพียงสำหรับนำไปวิเคราะห์หาการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ในชิ้นดีเอนเอดังกล่าวด้วยเครื่องอัตโนมัติ (automated sequencing) จึงทำให้สามารถจัดจำแนกกลุ่มประชากรของสัตว์ปีกโดยการเปรียบเทียบความเหมือนหรือแตกต่างของจำนวน ชนิด และการเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ที่เป็นลักษณะจำเพาะของดีเอนเอของสัตว์แต่ละตัวหรือแต่ละกลุ่มได้ เช่น Hebert และคณะ (2004) ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะดีเอนเอจากนกในทวีปอเมริกาเหนือ จำนวน 260 ชนิด และรายงานว่าชิ้นดีเอนเอจากไมโตคอนเดรีย ยาว 648 นิวคลีโอไทด์ที่มีตำแหน่งอยู่ในบริเวณของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ cytochrome C oxidase I สามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอนเอ (DNA marker) เพื่อจำแนกชนิดของนกได้ และยังรายงานว่าการใช้เครื่องหมายดีเอนเอดังกล่าวสามารถค้นพบนกชนิดใหม่อีก 4 ชนิดที่แต่เดิมไม่สามารถจำแนกออกจากนกชนิดอื่นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ ดังนั้น การเปรียบเทียบลักษณะของการจัดเรียงตัวภายในสายนิวคลีโอไทด์ของดีเอนเอจึงเป็นที่ยอมรับและนิยมใช้ในปัจจุบันสำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสัตว์ปีก

ชนิดของดีเอนเอที่นำมาใช้ในการศึกษาแบ่งเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ ดีเอนเอจากนิวเคลียส (nuclear

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนพหลโยธิน บางเขน กรุงเทพมหานคร 10900
Department of Physiology, The Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Paholyothin Rd. Bangkhen, Bangkok, 10900

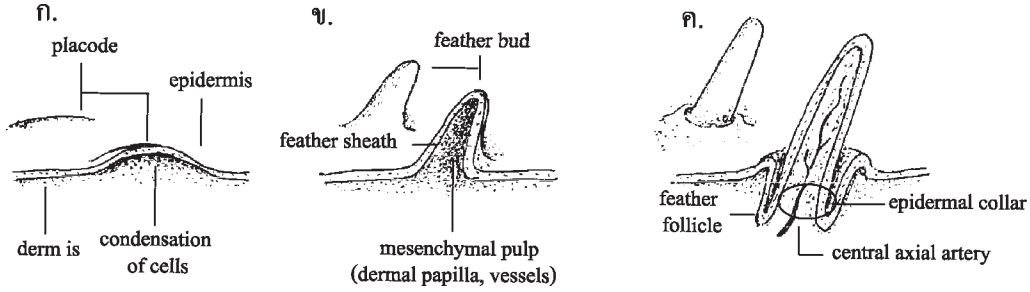
DNA) และดีเอนเอจากไมโตคอนเดรีย (mitochondrial DNA) ตัวอย่างดีเอนเอจากสัตว์ปีกอาจได้มาจากเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ เช่น กล้ามเนื้อ ตับ ไขมัน เลือด หรือขน ทั้งนี้ อาจกล่าวได้ว่าขน (feathers) เป็นตัวอย่างจากสัตว์ปีกที่ยังมีชีวิต และได้รับความนิยมมาก เพราะ การเก็บขนที่หลุดร่วงออกมาแล้วจากตัวสัตว์ ถือว่าเป็นเทคนิคที่ไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวด (non-invasive) และการเก็บขนด้วยวิธีถอนออกมาจากตัวสัตว์โดยตรง ก่อให้เกิดความเจ็บปวดและความเครียดน้อยกว่าวิธีการได้ตัวอย่างในรูปแบบอื่นมา (Marsden and May, 1984; Morin, 1994) ดังนั้น ความเข้าใจเกี่ยวกับลักษณะทางกายวิภาคและชนิดขนของสัตว์ปีก ตลอดจนวิธีการเก็บและรักษาตัวอย่างขน จึงเป็นประโยชน์ต่อการได้ตัวอย่างขนมาสำหรับการสกัดดีเอนเอที่มีคุณภาพและปริมาณพอเพียงต่อการศึกษาพันธุกรรมของสัตว์ปีกด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ชิ้นดีเอนเอดังกล่าว

การเกิดสัณฐานของขนนก (Feather Morphogenesis)

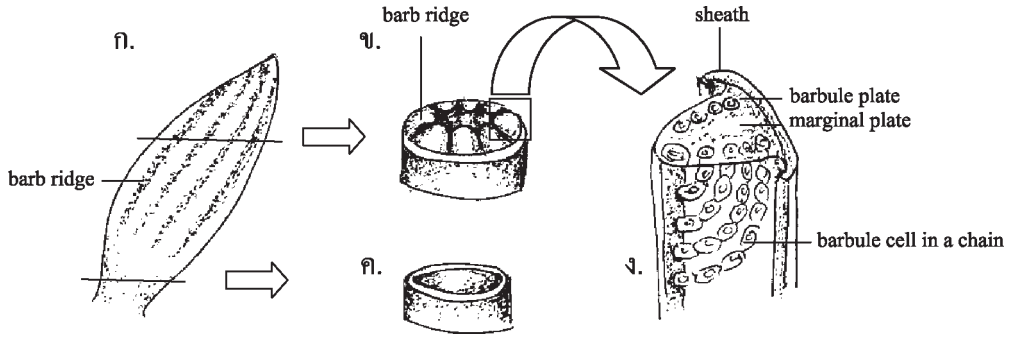
พัฒนาการของการเกิดขนนกเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับปฏิสัมพันธ์ระหว่างเนื้อเยื่อชั้น ectoderm (หนังกำพร้า หรือ epidermis) และ mesoderm (หนังแท้ หรือ dermis) และมีเอกสารหลายฉบับ (Prum and Brush, 2003; Widelitz et al., 2003; Yu et al., 2004) รายงานถึงขั้นตอนและกระบวนการเกิดสัณฐานของขนนกไว้แล้ว สรุปโดยย่อ เริ่มจากเซลล์ในชั้นหนังแท้เกิดการรวมกลุ่มและส่งสัญญาณเหนี่ยวนำให้เซลล์ในชั้นหนังกำพร้าเกิดการแบ่งเซลล์หนาตัวขึ้น เรียกว่า placode (ภาพที่ 1 ก.) และเจริญเป็นตุ่มขน (feather bud) ทรงโคน โดยมีชั้นหนังแท้ ที่เรียกว่า dermal papilla เป็นแกนอยู่ภายใน และชั้นหนังกำพร้าหุ้มอยู่ภายนอก (ภาพที่ 1 ข.) ชั้นหนังกำพร้ายังแบ่งย่อย ออกเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นนอกสุด (feather sheath) ต่อมาสลายไปเพื่อให้ขนงอกแตกแขนงออกมาได้ ชั้นกลาง (intermediate layer) และชั้นในสุด (basal layer) ต่อมาเจริญเป็นแขนงขน ตุ่มขนเจริญยาวขึ้นจากการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของชั้นหนังกำพร้าบริเวณฐานขนรอบ ๆ dermal papilla ที่เรียกว่า epidermal collar ร่วมกับการเจริญของเนื่อเยื่อ mesenchymal pulp อันประกอบด้วย dermal papilla (เซลล์ fibroblasts และ extracellular matrix เช่น fibronectin และ laminin) เส้นเลือด central axial artery และเส้นเลือดฝอยตามเข้าไปในชั้นใต้หนังกำพร้า เมื่อเข้าสู่ ระยะ long-bud stage เซลล์ในชั้นหนังกำพร้ารอบฐานขนแบ่งตัวเพิ่มขึ้น แทรกลงสู่ชั้นหนังแท้ และสร้างเป็นผนังฟอลลิเคิลของขน (feather follicle) (ภาพที่ 1 ค.) การเจริญลึกลงไปของถุงฟอลลิเคิลทำให้เกิดขุมขนและปกป้องเซลล์ต้นกำเนิดของขน (feather stem cells) ไว้ใต้ผิวหนัง ทำให้สามารถสร้างขนใหม่ทดแทนระหว่างการผลัดขน (molting) ได้ เมื่อขนเจริญเต็มที่ mesenchymal pulp และเซลล์รอบ ๆ เช่น pulp epithelium รวมถึง axial artery ฝ่อสลายไปเหลือไว้เพียงช่องกลวง

กระบวนการแตกแขนงของขนเริ่มขึ้นเมื่อเซลล์ชั้นในสุด (basal layer) ของหนังกำพร้าบริเวณส่วนปลายขนเจริญแทรกตัวตามยาวกลับเข้ามาภายในและรวมกลุ่มกันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า barb ridges (ภาพที่ 2) เซลล์ของ barb ridge แต่ละอันมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างก่อให้เกิดเป็น marginal plate และ barbule plates จากนั้น เซลล์ใน barb plates จัดเรียงตัวกันเป็น 2 แถวเบียดชิดติดกัน เรียกว่า

barbule cells ต่อมาเซลล์เหล่านี้ยืดออกตามแนวยาวของขน เมื่อเซลล์เหล่านี้เกิดการ keratinize ทำให้สูญเสียนิวเคลียสและเข้ารวมยึดติดกับเซลล์ด้านบนและล่าง แต่ไม่ยึดติดกับเซลล์อื่นอีก 4 ด้าน เกิดเป็นสาย barbule chain และพัฒนาเป็น barbules ขึ้น ดังนั้น เมื่อ barb ridge แต่ละอันเจริญยาวขึ้นจนลงมาบรรจบใกล้กับ pulp เซลล์ของ barb plate เกิดการ keratinize เป็น barbs ขณะที่เซลล์ของ marginal plate ตายจากกระบวนการ programmed cell death ทำให้เกิดช่องว่างระหว่าง barb แต่ละเส้น นอกจากนั้น เซลล์ของ barb ridge ที่อยู่ลึกเข้าไปใกล้กับ pulp แบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้จำนวนของเซลล์ keratinocytes ใน barbule plate เพิ่มขึ้น กลุ่มเซลล์ดังกล่าวพัฒนาต่อเป็น ramus อยู่ที่โคนของ barb ridge แต่ละอัน จึงทำให้เกิด barb มีโครงสร้างประกอบด้วย barbules แทรกเข้าไปในแกน ramus



ภาพที่ 1 การเจริญของขนระยะแรกก่อนการแตกแขนง แสดงให้เห็นถึงการรวมกลุ่มของเซลล์และการหนาตัวของผิวหนังชั้น dermis และ epidermis เป็น placode (ก.) การเจริญเป็นตุ่มขน (ข.) และการเกิดฟอลลิเคิลของขน (ค.) – ภาพดัดแปลงจาก Prum and Brush, 2003



ภาพที่ 2 การแสดงลักษณะการเกิด barb (ก.) ภาพตุ่มขน แสดงการเจริญและรวมกลุ่มของเซลล์ชั้นในของหนังกำพร้าแทรกตัวตามยาวลงมาด้านในเกิดเป็น barb ridges (ข.) ภาพตัดขวางของตุ่มขนช่วงบน แสดงลักษณะของ barb ridge (ค.) ภาพตัดขวางของตุ่มขนช่วงล่าง แสดงบริเวณที่จะเจริญเป็นก้านขน (calamus) (ง.) ภาพขยายส่วนของ barb ridge อันหนึ่ง แสดงบริเวณของ marginal plate และ barbule plates และการเรียงตัวของ barbule cells เกิดเป็นสาย barbule chain ที่พัฒนาต่อมาเป็น barbules - ภาพดัดแปลงจาก Alibardi (2006)

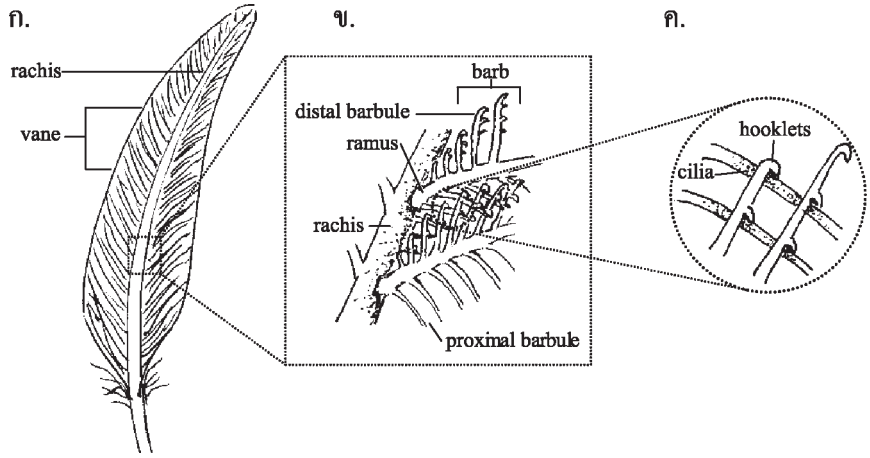
ต่อมากลุ่มของ ramus (rami) เจริญยาวขึ้น และส่วนต้นเข้ามารวมกันก่อนแทรกเข้าไปในบริเวณ rachidial ridges ที่เจริญต่อมาเป็น rachis (Alibardi, 2006)

ทั้งนี้ barb แต่ละเส้นมีแขนงย่อย barbules แยกออกมาจาก ramus ทั้งสองข้าง โดยทำมุม 45 องศากับ ramus แถวของ barbules ที่อยู่ใกล้กับก้าน rachis เรียกว่า distal barbules หรือ anterior barbules และที่อยู่ห่างมากกว่า เรียกว่า proximal barbules หรือ posterior barbules (ภาพที่ 3 ข.) Widelitz และคณะ (2003) รายงานว่าขนาดและลักษณะของ barbules ทั้งสองข้างกำหนดลักษณะของขน เช่น ขนชนิด plumulaceous feathers มีรูปร่างของ proximal และ distal barbules เหมือนกันและไม่เกี่ยวกัน ทำให้ขนฟูฟ่อง (fluffy structure) แต่ขนชนิด pennaceous feathers มีการเกี่ยวติดกันระหว่าง cilia ทางขอบด้านหน้าของ proximal barbules และ hooklets ทางขอบด้านหลังของ distal barbules ที่อยู่ติดกัน ทำให้ barbs ต่อเนื่องติดกันเกิดเป็น แพขน (vane) ดังภาพที่ 3 ก.และ 3 ค.

ดังนั้น ความแตกต่างของจำนวนเริ่มแรกของ barb ridges และกระบวนการพัฒนามีผลต่อลักษณะรูปร่างและหน้าที่การทำงานของขนแต่ละชนิด ซึ่งแบ่งเป็น 4 ลักษณะหลัก คือ

1. ขนปุย หรือ ขนดาวน์ (downy feathers) เป็นชนิดขนที่ barb ridges พัฒนาเป็น barbs โดยที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอย่างอื่น ทำให้มีลักษณะเหมือน barbs ทั้งหมดแยกออกมาจาก collar epithelium โดยไม่มีก้านขน (rachis) หรือ มีก้านขนขนาดสั้น และ barbs ทั้งหมดแยกออกมาจาก rachis (ภาพที่ 4 ก.) พบในลูกสัตว์ปีกวัยอ่อน และใต้ขนชนิด contour ของสัตว์ปีกที่โตเต็มวัย ทำหน้าที่รักษาความอบอุ่นของร่างกาย

2. ขนคอนทัวร์ (contour feathers) เป็นชนิดขนที่ barb ridges พัฒนาเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหลายขั้นตอน การพัฒนาที่เห็นชัดเจน คือ ปลาย



ภาพที่ 3 โครงสร้างขนชนิด pennaceous (ก.) การแตกแขนงของ barb ออกจากก้านขน (rachis) เป็นลักษณะที่มีการเกี่ยวกันอย่างต่อเนื่องเกิดแพขน (ข.) ภาพขยายส่วนของ barb แสดงโครงสร้างของ rami และ barbules (ค.) ภาพขยายส่วนของ barb แสดงการเกี่ยวกันระหว่าง cilia และ hooklets ของ barbules ที่อยู่ติดกัน - ภาพดัดแปลงจาก Aspinall และ O'Reilly (2004)

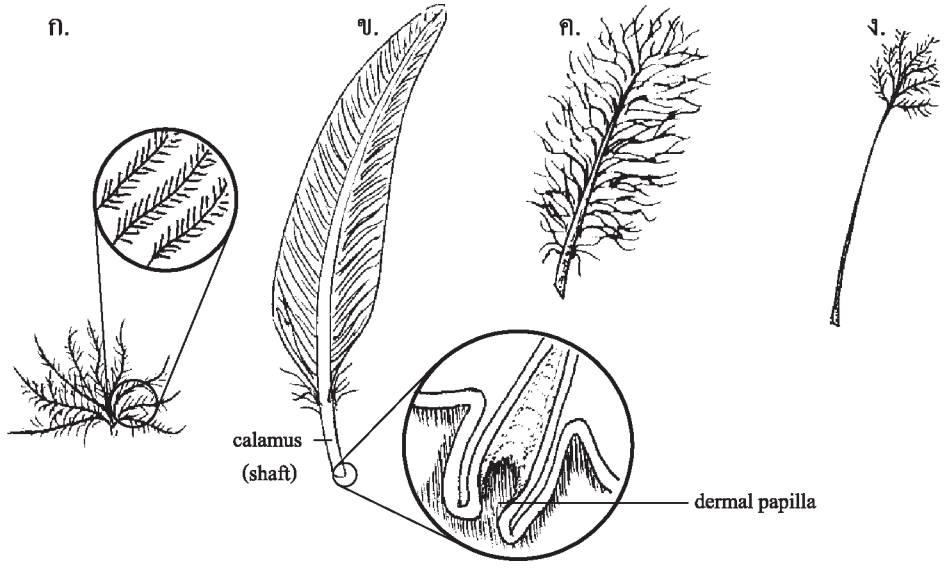
ด้านในใกล้ฐานของ barb ridges ยึดติดกันแน่น เกิดเป็นก้านขนที่ไม่มีแขนง เรียกว่า calamus ขณะที่ปลายด้านนอก barb ridges ม้วนเข้ามารวมกันเกิดเป็น rachidial ridge และเจริญเป็นก้านขน (rachis) ที่มีแขนงของ barbs ประกอบด้วย ramus และ barbules (ภาพที่ 4 ข.)

3. ขนเซมิพลูม (semiplume feathers) เป็นชนิดขนที่มีลักษณะกึ่งกลางระหว่างขนดาวน์และคอนทัวร์ ประกอบด้วย rachis ขนาดใหญ่ที่มีแพนขนแบบดาวน์ (downy vanes) และแตกต่างจากขนดาวน์ตรงที่มี rachis ยาวกว่า barbs ที่ยาวที่สุด (ภาพที่ 4 ค.) ขนเซมิพลูมมีขนาดเล็ก มีสีขาว และพบอยู่ใต้ขนคอนทัวร์ ส่วนใหญ่มีหน้าที่ของเป็นห่อหุ้มร่างกายเพื่อรักษาความอบอุ่นและส่วนที่พบบริเวณฐานปีกช่วยผ่อนปรนการเคลื่อนไหว

4. ขนไฟโลพลูม (filoplume feathers) เป็นชนิดขนที่มีลักษณะคล้ายเส้นผม ประกอบด้วย rachis ขนาดเล็ก เรียวยาว และมีแขนง barbs สั้น ๆ 2-3 อัน ที่มี barbules อยู่ตรงปลาย (ภาพที่ 4 ง.) ขนไฟโลพลูมส่วนใหญ่มีขนาดเล็กกว่าขนเซมิพลูม และพบอยู่ติดกับขนชนิดอื่นเสมอ โดยเฉพาะพบขึ้นเป็นวงอยู่รอบฐานขนคอนทัวร์หรือขนดาวน์ เข้าใจว่ามีหน้าที่ช่วยปลายประสาทรับความรู้สึกที่อยู่ในฟอลลิเคิลเพื่อควบคุมการจัดเรียงขนคอนทัวร์ให้อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมในระหว่างการทำงาน

ชนิดของขนที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวอย่างเพื่อสกัดดีเอนเอ

ความสำเร็จของการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอด้วยเทคนิค PCR ขึ้นอยู่คุณภาพและปริมาณของตัวอย่างดีเอนเอเป็นสำคัญ สุรินทร์ (2545) กล่าวว่าคุณภาพของตัวอย่างเนื้อเยื่อที่เลือกใช้มีความสำคัญต่อคุณภาพและปริมาณของดีเอนเอที่สกัดได้

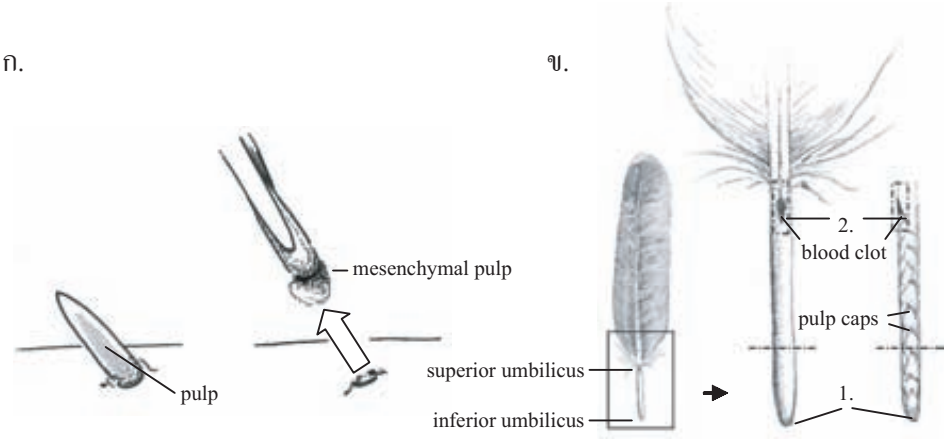


ภาพที่ 4 การแสดงลักษณะของขนชนิดต่าง ๆ (ก.) ขนคอนทัวร์ (contour feathers) (ข.) ขนปุย หรือ ขนดาวน์ (downy feathers) (ค.) ขนเซมิพลูม (semiplume feathers) (ง.) ขนไฟโลพลูม (filoplume feathers) – ภาพดัดแปลงจาก Dyce and others (2002) และ Aspinall และ O'Reilly (2004)

ดีเอนเอที่สกัดได้จากขนนกมีปริมาณน้อยกว่าดีเอนเอที่สกัดได้จากเลือด หรือเนื้อเยื่ออื่น (Gilbert et al., 2004) แต่ดีเอนเอที่สกัดได้จากขนเพียงหนึ่งเส้นนั้นพอเพียงต่อการเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอนเอด้วยเทคนิค PCR (Morin, 1994; Taberlet and Bouvet, 1991) การเก็บตัวอย่างขนยังกระทำได้ง่ายและไม่ก่อให้เกิดอันตราย จึงเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาพันธุกรรมของสัตว์ปีก โดยเฉพาะนกป่า นกที่หายาก หรือใกล้สูญพันธุ์

การเก็บตัวอย่างขน กระทำได้ 2 วิธี คือ

ก. ถอนขน (plucked feather) ออกมาจากตัวสัตว์โดยตรง Taberlet และ Bouvet (1991) แนะนำให้ใช้ขนที่เพิ่งงอกขึ้นใหม่ (ภาพที่ 5 ก.) เพราะเป็นระยะที่ขนยังมีเนื้อเยื่อส่วน mesoderm (เซลล์ของ pulp จำนวนมาก) และเส้นเลือด axial artery และ vein ยื่นเข้าไปภายใน calamus จึงสกัดดีเอนเอได้ในปริมาณมาก ขณะที่เมื่อขนเจริญเต็มที่แล้ว (ภาพที่ 5 ข.) เซลล์ของ pulp จะตาย เนื้อเยื่อถูกดูดซึมและเส้นเลือดหดมาทางปลายของ calamus ที่มีช่องเปิดเรียกว่า inferior umbilicus ทำให้เหลือส่วน calamus มีลักษณะเป็นท่อกลวงที่มีการแบ่งกั้นเป็นห้องเรียกว่า pulp caps และมี dermal papilla ขนาดเล็กยื่นเข้าไปใต้ฐานของ calamus เพียงเล็กน้อย (Hodges, 1974) นอกจากนี้ Gillbert และคณะ (2004) รายงานว่ากรดนิวคลีอิกถูกทำลายระหว่างกระบวนการ keratinization ของขน จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ขนแก่มีจำนวนเซลล์สำหรับใช้ในการสกัดดีเอนเอลดลงอย่างมาก ดังนั้น ข้อแนะนำสำหรับการถอนขนจากสัตว์ปีกเพื่อสกัดดีเอนเอ คือ เลือกขนชนิด contour ขนาดใหญ่ที่ขึ้นปกคลุมอยู่บริเวณลำตัว โดยเฉพาะบริเวณอกและท้อง โดยเลือกเก็บขนที่เพิ่งขึ้นใหม่ ก่อนเก็บควรสวมถุงมือใช้แอลกอฮอร์ 70 เปอร์เซ็นต์เช็ดทำความสะอาดบริเวณผิวหนังรอบโคนขนที่จะถอน แล้วใช้ปากคีบที่สะอาดคีบโคนขนและดึงออกมาตรง ๆ ตามแนวการงอกของขน (ภาพที่ 5 ก.) โดยระวังไม่ให้มีการแตกหัก เพราะการหักของขนและเหลือเศษค้างอยู่ก่อให้เกิดการติดเชื้อและยับยั้งไม่ให้



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะขนและตำแหน่งของแหล่งดีเอนเอ (ก.) ขนงอกใหม่มีส่วนของ pulp เศษเซลล์ของผิวหนัง และเลือดอยู่ภายในเส้นขน (ข.) ขนแก่ชนิด contour มีแหล่งดีเอนเอ คือ 1. ส่วน basal tip ของ calamus และ 2. blood clot บริเวณ superior umbilicus – ดัดแปลงจาก Horrath et al. (2005)

ขนใหม่งอกออกมา นอกจากนี้ ไม่แนะนำให้ถอนขนปีกและขนหางที่เรียกว่า flight feathers ขนาดใหญ่ ที่เจริญเต็มที่แล้ว เพราะขนชนิดดังกล่าวยึดติดกับผิวหนังแน่น ถอนให้หลุดออกยาก และทำให้สัตว์เจ็บมาก ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับเก็บตัวอย่างขนงอกใหม่อยู่ระหว่างการผลัดขน (molting)ของสัตว์ปีกซึ่งส่วนใหญ่เกิดขึ้นหลังจากฤดูผสมพันธุ์ ทั้งนี้ อาจใช้การเหนี่ยวนำให้เกิดการงอกของขนใหม่เพื่อการเก็บตัวอย่างได้ โดยการดึงขนเก่าที่เจริญเต็มที่แล้วออก และรอประมาณ 11-14 วันเพื่อให้ขนผลัดใหม่งอกออกมา (Mingden และ Stock, 1976) อย่างไรก็ดี วิธีถอนขนยังทำให้สัตว์เกิดความเจ็บอยู่ ดังนั้น วิธีเก็บขนที่หลุดร่วงออกมาจากตัวแล้วจึงถือว่าเป็นวิธี non-invasive ที่ดีที่สุด

ข. เก็บขนที่หลุดร่วง (shed หรือ moulted feather) ออกมาจากตัวสัตว์เป็นวิธีที่นิยมใช้สำหรับการศึกษาดีเอนเอของสัตว์ปีกที่หายากหรือใกล้สูญพันธุ์ เพราะเก็บได้ง่ายและไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวด การเก็บขนที่หลุดร่วงออกมา อาจเก็บได้จากรัง พื้นดิน และสิ่งแวดล้อม แต่การเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอด้วยเทคนิค PCR ส่วนใหญ่ประสบความสำเร็จเฉพาะเมื่อใช้เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอของไมโตคอนเดรีย (Morin et al., 1994; Srikwan and Woodruff 1998, Petersen et al., 2003) ขณะที่การเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอจากนิวเคลียส (Segelbacher 2002) ไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร Horvath และคณะ (2005) รายงานว่าการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอจากไมโตคอนเดรียประสบความสำเร็จมากกว่าการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอจากนิวเคลียส และดีเอนเอที่สกัดได้จากโคนของขนที่หลุดร่วงนั้นมีปริมาณจำกัดและด้อยคุณภาพ ทั้งนี้ Taberlet และ Bouvet (1991) รายงานว่าขนหนึ่งเส้นที่มี rachis ขนาดไม่เกิน 0.2 มิลลิเมตร อาจมี pulp cells จำนวนประมาณ 200-300 เซลล์ เซลล์หนึ่งมีสายดีเอนเอจากนิวเคลียสเพียง 2 ชุด จึงประมาณได้ว่ามีดีเอนเอจากนิวเคลียสทั้งหมด 400-600 ชุด ขณะที่เซลล์จำนวนดังกล่าวมีดีเอนเอจากไมโตคอนเดรียจำนวน 10^5-10^6 เส้น และมากกว่าดีเอนเอจากนิวเคลียสหลายหมื่นเท่า ด้วยเหตุนี้ การเพิ่มปริมาณดีเอนเอด้วยเทคนิค PCR จากดีเอนเอของไมโตคอนเดรียจึงเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าดีเอนเอจากนิวเคลียส นอกจากนี้ Horvath และคณะ (2005) แสดงให้เห็นว่านอกจากโคนขนแล้ว บริเวณ superior umbilicus ของก้านขนที่หลุดร่วงยังมีลิ่มเลือดค้างอยู่ (ภาพที่ 5 ข.) ซึ่งเป็นส่วนที่เหลืออยู่หลังจากหลอดเลือด axial artery สลายไปและรายงานว่าดีเอนเอที่สกัดได้จากบริเวณ superior umbilicus ที่มีลิ่มเลือดมีปริมาณและคุณภาพดีกว่าดีเอนเอที่สกัดได้จากโคนขน ดังนั้น การเก็บตัวอย่างขนที่หลุดร่วงออกมา ควรพิจารณาเลือกขนที่มีขนาดใหญ่และมีลิ่มเลือดค้างอยู่เพื่อให้ได้จำนวนเนื้อเยื่อที่พอเพียงสำหรับการสกัดดีเอนเอ และทำการตัดเก็บขนมาทั้งส่วน basal tip และส่วน blood clot ด้วย (Horrath et al., 2005)

ดังนั้น จึงควรเลือกเก็บขนที่มีลักษณะเป็นขนใหม่ ขนาดใหญ่ และมีลิ่มเลือดค้างอยู่ใน superior umbilicus แต่ถ้าหากไม่สามารถเก็บขนลักษณะดังกล่าวได้ ควรเก็บและใช้ขนหลายเส้นในการสกัดดีเอนเอเพื่อให้ได้ปริมาณดีเอนเอมากพอเพียงต่อการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ต่อไป การเก็บควรสวมถุงมือและใช้ปากคีบที่สะอาดคีบขนใส่ถุงหรือหลอดพลาสติกที่สะอาด แล้วเก็บไว้ในที่มืดและแห้ง หรือตัดเก็บเฉพาะส่วนโคนขนยาวถึงบริเวณที่มีลิ่มเลือดแล้วแช่ในแอลกอฮอร์ 70 เปอร์เซ็นต์ (ขนที่เก็บไว้ในแอลกอฮอร์ควรล้างด้วย

1x PBS ก่อนใช้สกัดดีเอนเอ) ซึ่งอาจเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรืออุณหภูมิ 4° องศาเซนติเกรท แต่หากต้องการเก็บเป็นระยะเวลานานควรเก็บที่อุณหภูมิ -20 ถึง -80° องศาเซนติเกรท อย่างไรก็ตาม รายงานหลายฉบับ (Leeton and Christidis, 1993; Sefc et al., 2003) แสดงความสำเร็จของการเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอนเอที่สกัดได้จากขนของซากนกอายุ 30-120 ปีจากพิพิธภัณฑ์ จึงเป็นไปได้ว่าคุณภาพของดีเอนเออาจคงอยู่ได้เป็นเวลานานหลายปีในขนที่เก็บรักษาไว้ในสภาพแห้ง โดยไม่ต้องแช่เย็น

เอกสารอ้างอิง

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ น. 51

Alibardi, L. 2005. Cell structure of developing barbs and barbules in down feathers of the chick: central role of barb ridge morphogenesis for the evolution of feathers. J Submicrosc Cytol Pathol. 37: 19-41

Aspinall, V. and M. O'Reilly. 2004. Introduction to Veterinary Anatomy & Physiology. Edinburgh : Butterworth-Heinemann, p.163

Dyce, K. M., Sack, W. O. and C. J. G. Wensing. 2002. Textbook of Veterinary Anatomy. 3rd Ed. Philadelphia, Saunders. p. 801.

Gilbert, M.T., Wilson, A.S., Bunce, M., Hansen, A.J., Willerslev, E., Shapiro, B., Higham, T.F., Richards, M.P., O'Connell, T.C., Tobin, D.J., Janaway, R.C. and A. Cooper. 2004. Ancient mitochondrial DNA from hair. Curr Biol. 14: R463-4.

Hebert, P.D., Stoeckle, M.Y., Zemlak, T.S. and C.M. Francis. 2004. Identification of Birds through DNA Barcodes. Plos Biology. 2: 1657-1663.

Hodges, R.D. 1974. The histology of the fowl. Academic Press, London. Cited in Horváth, M.B., Martínez-Cruz, B., Negro, J.J., Kalmár, L. and J.A. Godoy. 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. Journal of Avian Biology. 36: 84-88.

Horváth, M.B., Martínez-Cruz, B., Negro, J.J., Kalmár, L. and J.A. Godoy. 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. Journal of Avian Biology. 36: 84-88.

Leeton, P.J. and L., Christidis. 1993. Feathers from museum bird skins - A good source of DNA for phylogenetic studies. Condor. 95: 465-466.

Marsden, J.E. and B. May. 1984. Feather Pulp: a Non-destructive Sampling Technique for Electrophoretic Studies of Birds. Short Communications. The Auk, Vol. 101: 173-175.

Mingden, G.A. and D. Stock. 1976. A preliminary report on the application of current cytological techniques to sexing birds. Intern. Zool. Yearbook 16: 136-141. Cited in Horváth, M.B., Martínez-Cruz, B., Negro, J.J., Kalmár, L. and J.A. Godoy. 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. Journal of Avian Biology. 36: 84-88.

Morin, P. A., Messier, J. and D. S. Woodruff. 1994. DNA extraction, amplification, and direct sequencing from hornbill feathers. J. Sci. Soc. Thailand 20: 31-41.

Petersen, J. L., Bischof, R., Krapu, G. L. and Szalanski, A. L. 2003. Genetic variation in the midcontinental population of sandhill cranes, Grus canadensis. Biochem. Gen. 41: 1 -11.

Prum, R.O. and A.H. Brush. 2003. Which came first, the feather or the bird? Sci Am. 288: 84-93.

Sefc, K.M., Payne, R.B. and M.D. Sorenson. 2003. Microsatellite amplification from museum feather samples: effects of fragment size and template concentration on genotyping errors. Auk. 120: 982-989.

Segelbacher, G. 2002. Noninvasive genetic analysis in birds: testing reliability of feather samples. Mol. Ecol. Notes 2: 367_/369.

Srikwan, S. and D. S. Woodruff. 1998. DNA sequence variation and hornbill conservation. / In: Poonswad, P. (ed.). The Asian hornbills: ecology and conservation. Thai studies in biodiversity No. 2. 336 pp. Cited in Horváth, M.B., Martínez-Cruz, B., Negro, J.J., Kalmár, L. and J.A. Godoy. 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. Journal of Avian Biology. 36: 84-88.

Taberlet, P. and J. Bouvet. 1991. A single plucked feather as a source of DNA for bird genetic studies. The Auk 108: 959–956.

Widelitz, R.B., Jiang, T.X., Yu, M., Shen, T., Shen, J.Y., Wu, P., Yu, Z. and C.M. Chuong. 2003. Molecular biology of feather morphogenesis: a testable model for evo-devo research. J Exp Zoolog B Mol Dev Evol. 298: 109-122.

Yu, M., Yue, Z., Wu, P., Wu, D.Y., Mayer, J.A., Medina, M., Widelitz, R.B., Jiang, T.X. and C.M. Chuong. 2004. The biology of feather follicles. Int J Dev Biol. 48: 181-91.

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารสัตวแพทย์ (Kasetsart Veterinarians) เป็นวาสารทางวิชาการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำหนดออกทุก 4 เดือน คือ เมษายน สิงหาคม และธันวาคม จัดทำขึ้นเพื่อเป็นการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการและผลงานวิจัยทางก้านสัตวแพทย์ และสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง เรื่องที่ จะพิจารณาลงพิมพ์ในวารสารสัตวแพทย์ จะต้องไม่เป็นเรื่องที่กำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาของวารสารอื่น หรือไม่เคยลงพิมพ์ในวารสารอื่น ยกเว้นตีพิมพ์ในลักษณะบทคัดย่อในการประชุมวิชาการ เรื่องที่ส่งมาจะได้รับการตรวจโดยคณะกองบรรณาธิการ หรือ คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ซึ่งบรรณาธิการพิจารณาและมอบหมายให้ดำเนินการตรวจแก้ไข สำหรับเรื่องที่ตรวจรับแล้ว จะลงตีพิมพ์ตามลำดับก่อนหลังของวันที่ได้รับการตรวจรับครั้งสุดท้าย

ลักษณะของเรื่อง

เรื่องที่จะส่งมาเพื่อพิจารณาจะต้องเป็นเรื่องทางวิชาการทางสาขาสัตวแพทย์และสาขาที่เกี่ยวข้อง ซึ่งอาจจะเป็น งานค้นคว้าวิจัย รายงานทางคลินิก บทความทางวิชาการ หรือ จดหมายถึงบรรณาธิการ

การส่งเรื่อง

เรื่องที่ส่งมาเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ ต้องประกอบด้วยต้นฉบับจำนวน 3 ชุดซึ่งพิมพ์บนกระดาษ 8.5 × 11 นิ้ว (A4) พิมพ์หน้าเดียว โดยระยะระหว่างบรรทัดเป็นแบบ double spaces รวมทั้งให้ใส่เลขหน้าที่มุมล่างด้านขวามือของกระดาษ เว้นช่องว่างขวามือ ซ้ายมือ บนล่างของกระดาษ อย่างละ 3 เซนติเมตร

ส่งเรื่องมาที่

บรรณาธิการวารสารสัตวแพทย์

คณะสัตวแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

(ส่วนการส่งแผ่นดิสเก็ต (diskette) จะส่งเมื่อแก้ไขต้นฉบับเป็นที่เรียบร้อยพร้อมส่งโรงพิมพ์)

การเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษก็ได้ ถ้าเป็นภาษาไทยจะต้องมีบทคัดย่อ (abstract) เป็นภาษาอังกฤษ หรือถ้าเป็นภาษาอังกฤษจะต้องมีบทคัดย่อเป็นภาษาไทย จำนวนหน้าที่จะพิมพ์ไม่ควรเกิน 10 หน้าตีพิมพ์ รวมรูปภาพและแผนภูมิ

2. ชื่อเรื่อง บอกทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรกะทัดรัดและตรงกับเนื้อเรื่อง ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษให้พิมพ์ด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ชื่อผู้เขียน ใช้ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ บอกชื่อเต็มและสถานที่ทำงาน

โดยระบุจังหวัดและรหัสไปรษณีย์ด้วยตัวอย่างการเขียนชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน

พาราทูเบอร์คูโลซีส :
I. การศึกษาทางซีรั่ม-ระบาดวิทยาของโรคพาราทูเบอร์คูโลซีสในโคนม
มนยา เอกทัตร์ ยอดยศ มีพืชน์ ดิลก เกสรสมบัติ ชิต ศิริวรรณ์ จตุพร สมิตานนท์
สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์แห่งชาติ กองวิชาการ กรมปศุสัตว์
เกษตรกลางบางเขน กรุงเทพฯ 10900

PARATUBERCULOSIS :
I. SERO-EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF PARATUBERCULOSIS
IN DAIRY CATTLE
Monya Ekgatat, Yodyot Meephues, Dilok Gesornsombat, Chit Sirivan,
and Jatuporn Smitanon
Notional Animal Health and Production Institute,
Veterinary Research Division,Department of Livestock Developmant,
Bangkhen,Bangkok 10900

3. บทคัดย่อ (ABSTRACT) ให้เขียนนำหน้าตัวเรื่องเป็นการสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการทดลอง ผลการทดลอง และ บทสรุป ไม้ควรเกิน 200คำ (3% ของตัวเรื่อง) และให้ระบุคำสำคัญ (Key words) ท้ายบทคัดย่อ จำนวนไม่เกิน 5 คำ

4. เนื้อหา (TEXT) ควรประกอบด้วยหัวข้อตามลำดับ ดังนี้

4.1 คำนำ (INTRODUCTION) เพื่ออธิบายถึงปัญหาและบ่งชี้ถึงวัตถุประสงค์ที่ชัดเจน และรวบรวมการตรวจเอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง (related references) การอ้างอิงเอกสารให้ใช้ระบบชื่อและปี (name and year system) เช่น พีระศักดิ์ (2536) สุพจน์ และคณะ (2536) หรือ (จินตนา และอารีย์, 2530) ในกรณี ภาษาอังกฤษ หรือภาษาอื่นที่เขียนด้วยภาษาอังกฤษให้ใช้ชื่อสกุลแล้วตามด้วย คศ. เช่น Backman (1984),Yoneyama et al.(1990) หรือ (Cochran and Cox, 1968) เป็นต้น

4.2 อุปกรณ์และวิธีการ (MATERIALS AND METHODS) ควรประกอบด้วย

4.2.1 คำอธิบายเกี่ยวกับอุปกรณ์หรือ ชนิดสัตว์ที่ใช้ในการทดลองอย่างชัดเจน

4.2.2 คำอธิบายถึงวิธีการทดลอง อย่างเหมาะสม เพื่อเป็นแนวทางให้นักวิจัยท่านอื่นได้ทำการศึกษาต่อได้ แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่ถือว่าเป็นแบบฉบับ ซึ่งเป็นที่เข้าใจกันดีโดยทั่วไปอยู่แล้ว แต่ให้อ้างถึงวิธีการนั้น ๆ โดยอาศัยการอ้างอิง เอกสาร

4.2.3 คำอธิบายถึงวิธีการทดสอบทางสถิติที่นำมาใช้ในการศึกษา รวมทั้งบอกชนิด

ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (computer software) ที่ใช้ในการทดสอบทางสถิติ

4.3 ผล (RESULTS) เป็นการเสนอผลการทดลอง ไม่ควรอธิบายการทดลอง ไม่ควรอธิบายเกินความจำเป็น ผลการทดลองควรเสนอตามลำดับที่เหมาะสมในลักษณะของการบรรยายเนื้อหา ตาราง และรูปภาพ โดยเน้นและรวบรวมเฉพาะผลการทดลองที่สำคัญ

4.3.1 หน่วยวัดภาษาไทยให้ใช้คำย่อทั้งหมด

4.3.2 ให้ใช้เครื่องหมายที่เป็นสากลนิยม เช่น 0C แทน องศาเซลเซียส และ % แทน เปอร์เซ็นต์ เป็นต้นไป

4.4 วิจารณ์ (DISCUSSION) เป็นการวิจารณ์การทดลองในด้านที่สำคัญไม่ควรเสนอข้อมูลที่กล่าวไปแล้วในทั้งในส่วนของบทนำ อุปกรณ์และวิธีการ และผลการทดลอง การวิจารณ์มีจุดประสงค์ดังนี้

4.4.1 เพื่อให้ผู้อ่านเห็นคล้อยถึงหลักการที่แสดงออกมาจากการทดลอง

4.4.2 เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านด้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน

4.4.3 เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลอง และการตีความหมายของผู้อื่น

4.4.4 สรุปสาระสำคัญ และประจักษ์พยานของผลการทดลอง ควรพยายามเน้นถึงปัญหาข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพ่อการวิจัยในอนาคต และลู่ทางที่จะนำผลการทดลองไปใช้ในอนาคต

4.5 คำขอบคุณ (ACKNOWLEDGMENTS) อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จด้วยดี แต่มิได้เป็นผู้ร่วมงาน

4.6 เอกสารอ้างอิง (REFERENCES)

4.6.1 การเรียงลำดับเอกสารไม่ต้องมีเลขที่กำกับ ให้เรียงลำดับชื่อผู้แต่งหรือผู้รายงานตามตัวอักษรเริ่มด้วยเอกสารภาษาไทยก่อน แล้วต่อด้วยเอกสารภาษาต่างประเทศ เอกสารอ้างอิงหลายเรื่องที่มีผู้แต่งผู้เดียว หรือชุดเดียวกัน ให้เรียงตามลำดับปีของเอกสาร ถ้ามีเอกสารอ้างอิงหลายเรื่องโดยผู้แต่งคนเดียวกัน หรือชุดเดียวกันภายในปีเดียวกัน ให้ใส่อักษร ก ข ในเอกสารภาษาไทย และ a, b ในเอกสารภาษาต่างประเทศไว้หลังปีของเอกสาร

4.6.2 การเขียนชื่อผู้เขียน กรณีเอกสารภาษาไทยให้ใช้ชื่อเต็ม โดยใช้ชื่อตัวนำหน้าตามด้วยชื่อสกุล ในกรณีที่ผู้แต่งไม่ได้เขียนชื่อเต็ม หรือไม่อาจหาชื่อเต็มของผู้แต่งอนุโลมให้ใช้ชื่อย่อได้ กรณีเอกสารภาษาต่างประเทศให้เอาชื่อสกุลขึ้นก่อน ตามด้วยชื่ออื่น ๆ สำหรับชื่อสกุลให้เขียนเต็ม ส่วนชื่ออื่น ๆ ให้เขียนเฉพาะอักษรตัวแรก ยกเว้นกรณีที่จำเป็นต้องเขียนเต็ม เช่น Van, de, der, von เป็นต้น

4.6.3 หลักเกณฑ์ที่สำคัญของการเขียนรายชื่อเกสารอ้างอิงมีดังนี้

(1) ชื่อเมือง ชื่อรัฐ และชื่อประเทศ ให้เขียนเต็ม

(2) การอ้างอิงหมายเลขหน้าของวารสารภาษาต่างประเทศ ถ้าอ้างเพียง 1 หน้า ใช้ p. หน้าตัวเลขถ้าอ้างหลายหน้าใช้ pp. หน้าตัวเลข สำหรับวารสารภาษาไทยให้ใช้ น. หน้าตัวเลข ทั้งกรณี

อ้างหน้าเดียว และหลายหน้า

(3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต ให้ใช้ตัวเอยหรือขีดเส้นใต้

(4) คำว่า in vitro, I vivo หรือคำอื่นที่คล้ายกัน ให้ใช้ตัวเอนหรือขีดเส้นใต้

(5) เอกสารที่มิใช่วารสาร ต้องบอกจำนวนหน้าด้วย โดยใช้ p. หลังตัวเลขแสดงจำนวนหน้า และให้ใช้ น. หลังตัวเลขสำหรับเอกสารภาษาไทย

(6) ชื่อ Journal ต้องเขียนด้วยคำย่อ ยกเว้นชื่อที่ย่อไม่ได้

(7) ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษที่เอกสารนั้นอ้างถึงอีกทอดหนึ่ง ทุกคำจะต้องขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ (capital leter) ยกเว้นคำที่เป็นคำนำหน้านาม (article) คำสันธาน (conjunction) และคำบุรพบท (preposition) ในบางกรณี เช่น ชื่อ species ซึ่งขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็กอยู่แล้วให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์เล็ก แต่หากคำเหล่านี้เป็นคำแรกของชื่อเรื่องให้ขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ ส่วนเอกสารที่ผู้เขียนอ้างถึง หากมิใช่หนังสือตำราให้พิมพ์เช่นเดียวกับเรื่องในวารสาร

(8) ชื่อ conference ให้เขียนเต็ม

4.6.4 ตัวอย่างการเขียนรายชื่อเอกสารอ้างอิง

จินตนา อุปดิสสกุล และ อารีย์ วรัญญวัฒก์. 2530. ปริมาณกรดไขมันในถั่วลิสงบางพันธุ์ของไทย. น. 657-660. ในรายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสงครั้งที่ 6, 18-20 มีนาคม 2530 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา และวนอุทยานแห่งชาติทะเลบัน สตูล.

ทิม พรรณศิริ. 2518. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับควายไทย. อ้างโดย จรัญ จันทลักขณา. ควายในระบบไร่นาไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 171 น.

ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ, กิจจา อุไรรงค์, ธวัชชัย ศักดิ์ภู่อร่าม และวรวิทย์ วัชชวัลคุ. 2538 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มสุกร 30 แห่ง: I. สภานภาพในการผลิต. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.). 28: 413-421.

Cochran, W.G.and G.M. Cox. 1968. Experimental Desings. 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 611p

Johnston, L.J. 1989. Influence of energy and protein intake during lactation on sow performance, p. 97-106. In Proc. Of Minnesota Swine Herd Health Programming Conference. St. Paul. Minnesota

Nelssen, J.L., A.J. Lewis and E.R. Peo Jr. 1985. Effect of dietary energy intake during lactation on performance of primiparous sows. J. Anim. Sci. 61: 1164-1171.

Reiemeyer,R. nd J.E.Henton. 1987. Observations on equine strongyle control in southern temperate USA. Equine Vet. J. 19: 505-508

5. ภาพประกอบ (FIGURES) ต้องมีเนื้อหาสาระและคำอธิบายที่เข้าใจและชัดเจน และให้ใช้ภาพ

ประกอบเท่าตามความเหมาะสมของผลการทดลอง

5.1 ภาพที่ถูกสร้างโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ขนาดตัวอักษร สัญลักษณ์ต่าง ๆ ควรมีมาตรฐานที่เหมาะสมอ่านง่าย เส้นโครงร่างต่าง ๆ ควรมีความเข้มข้นที่เพียงพอ

5.2 ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาว – ดำ **หากเป็นภาพสีผู้ส่งเรื่องจะเป็นผู้เสียค่าใช้จ่ายในการพิมพ์** ขนาดของภาพถ่ายอย่างต่ำควรเป็นขนาดโปสการ์ด (3.5 × 5 นิ้ว) หรือเท่าตัวจริงที่จะปรากฏในหนังสือผิวมันเรียบ เขียนคำอธิบายแยกไว้ต่างหาก อย่าเขียนลงบนรูป อย่าหนีบด้วยคลิป หรือกลัดด้วยเข็มหมุด

5.3 ภาพเขียน เขียนด้วยหมึกดำบนกระดาษอาร์ตหนาพอสมควร ตัวหนังสือเขียนด้วย lettering guide

6. ตาราง (TABLES) ต้องมีเนื้อหาและคำอธิบายที่เข้าใจและชัดเจน ถ้าเป็นไปได้ ตารางควรมีการจัดวางตามขวางของกระดาษ และให้ใช้เฉพาะเส้นตามแนวนอน (horizontal line) เท่าที่จำเป็น ห้ามใช้เส้นตามแนวดิ่ง (vertical line)

6.1 คำว่าหมายเหตุ ให้ใช้คำว่า note

6.2 คำอธิบายเพิ่มเติมความหมายส่วนใดส่วนหนึ่งของตารางให้ใช้การพิมพ์ด้วยตัวเลขแบบตัวยก (superscript)

6.3 หน่วยต่าง ๆ ในภาษาไทยให้ใช้คำย่อทั้งหมด เช่น มก./ล กม./ชม. ไม่ใช้ระบบยกกำลัง ยกเว้นในรายของสาขาวิชาเฉพาะที่จำเป็นเท่านั้น

การเขียนบทความประเภท รายงานสัตว์ป่วย (Case report) และ short communication

การเขียนให้ใช้แบบอย่างตามแบบการเขียนบทความเรื่องเต็ม ซึ่งควรที่จะมีบทคัดย่อ (Abstract) ที่มีความยาวไม่เกิน 150 คำ โดยแบ่งหัวข้อส่วนต่าง ๆ เป็นบทคัดย่อ กิตติกรรมประกาศ และหนังสืออ้างอิงควรจะเริ่มต้นด้วยประวัติ และอาการทางคลินิก ตามด้วยการพรรณนาถึงการตรวจร่างกายตามลำดับเวลาหรือขั้นตอนที่จำเป็น และจบลงด้วยการวิจารณ์อย่างกระชับ จำนวนหน้าที่จะตีพิมพ์ไม่ควรเกิน 4 หน้าตีพิมพ์ ไม่จำเป็นที่จะต้องแบ่งเป็นหัวข้อส่วนต่าง ๆ เช่น บทนำ (Introduction) อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ผลการทดลอง (Results) และวิจารณ์ผลการทดลอง (Discussion)

การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการฯ ขอสงวนสิทธิ์การตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาตีพิมพ์ทุกเรื่องตามแต่จะเห็นสมควร ในกรณีจำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิมหรือที่แก้ไขแล้วกลับคืนผู้เขียน เพื่อพิจารณาข้อเสนอของคณะกรรมการฯ อีกครั้งหนึ่ง

Instruction for Authors

The Kasetsart Veterinarians Journal, a peer-reviewed scientific journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, is published every four- month period and devoted to all aspects of veterinary medicine and other related fields.

Editorial Policy

By submission to the journal, the authors guarantee that they have authority to publish the work that the manuscript, or one with substantially the same content, was not published previously, is not being considered or published elsewhere with an exception of abstract published for a scientific meeting. The Kasetsart Veterinarians Journal dose not endorses activities related to redundant publication. It will male every effort to monitor, investigate, and report such activities through appropriate channels. The authors should provide a cover letter, which makes a full regarded as prior or duplicate publication of the same or very similar work. The accepted manuscript will be published in a timely manner.

Conflict of Interest Policy

The Editorial Board believes it is in the best interest of authors and reviewers to learn of any potential conflict of interest before initiating a review. Such information will not alter established editorial and review policies, but will assist the editorial staff in avoiding any potential conflicts that could give the appearance of a biased review.

Potential reviewers of all manuscripts submitted to the Kasetsart Veterinarians Journal are asked to thoughtfully consider any potential conflict of interest they may have in reviewing a manuscript.

Submission of Manuscripts

Manuscripts should be sent with a cover letter that clearly states the corresponding author's address, telephone and telefacsimile numbers, and E-mail address to Editor of Kasetsart Veterinarians Journal, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Jatujak, Bangkok 10900. Manuscripts must be letter quality submitted in triplicate, typewritten, and double-spaced (including references) on one side of 8.5 × 11 inch (A4) white paper with 3-centimeters margins on all sides (number each page at bottom right). A digital copy should accompany typewritten copies of manuscripts that have been accepted for publication. The preferred format for digital files is Microsoft Word. Files should be sent to the editor on 3.5 diskette.

Manuscript preparation

1. Original manuscripts written in Thai or English will be accepted. Manuscripts written in Thai should have abstract written in English and vice versa.

2. Title must be concise and pertinent with the content. English title should be written in capital letter.

Example:

PARATUBERCULOSIS :
I. SERO-EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF PARATUBERCULOSIS
IN DAIRY CATTLE

Monya Ekgatat,Yodyot Meephues, Dilok Gesornsombat, Chit Sirivan,
and Jatuporn Smitanon
Notional Animal Health and Production Institute,
Veterinary Research Division, Department of Livestock Development,
Bangkhen, Bangkok 10900

3. Each Full-Length paper must beginwith an informative, rather than descriptive, abstract of 200 words or les (3% of the content) that summarizes the essential data and is a concise, factual condensation of the article. Five or less key words are placed alphabetically after the Abstract.

4. Text is organized under the following headings:

4.1 **Introduction**: The Introduction should supply sufficient pertinent background information to allow readers to understand and interpret results. It must include the rationale for the study, the investigators' hypothesis, and a clear statement of the purpose of the study. It also includes related references, which are written as following. For example: Backman (1984), Yonyama *et al*. (1990) or (Cochran and Cox, 1968) etc.

4.2 **Materials and Methods**:

4.2.1 Should describe clearly about the instruments or species of the experimental animal.

4.2.2 Should describe and the experimental design in sufficient detail to allow others to reproduce the results.

4.2.3 Should describe and provide the detail of the statistical methods including computer software used to summarize data and test the hypothesis and the level of significance used for hypothesis testing.

4.3 **Results**: The Results section should provide data that are clearly and simply stated with out discussion or conclusions. Results can be expressed in descriptive form, table and illustrations.

4.3.1 Standard metric units expressed in Thai should be abbreviated.

4.3.2 Should use international symbols for standard units instead of spelling the whole

word; for example, °C instead of degree Celsius and % instead of percent etc.

4.4 **Discussion**: The Discussion section should provide an interpretation of the results in relation to previously published work and the experimental system at hand. It must not contain extensive repetition of the results section or reiteration of the introduction. The objectives of the discussion section are as following.

4.4.1 To convince the reader with the experimental design and results of the study.

4.4.2 To support or contradict with the previous reports.

4.4.3 To compare the results and interpretation of this experiment with the previous reports.

4.4.4 To conclude the essential findings, to emphasize the contradiction of the essential finding and to suggest what should have been studied in the future to answer the questions

4.5 **Acknowledgments**: The source of any financial support received for the work being published must be indicated in the Acknowledgment section. Recognition of personal assistance should be given as a separate paragraph. It will be assumed that the absence of such an acknowledgment is a statement by the authors that no support was received.

4.6 **References**: Authors bear primary responsibility for accuracy of all references. References to published work must be limited to what is necessary and must be cited in the text.

4.6.1 The sequential of the references should be in the order of the letter of the authors; names. There is no need to number the references. References, which have same author/authors, should be ordered according to the published year. If there are several same author references published in the same year, authors should used letter a, b... for English articles after the published year.

4.6.2 References should start with the full last name of the authors and follows by initial of the first name with an except for Van, de der, von.

4.6.3 The styles used for writing references as follows:

1. Name of the city, state and country should be written in full.

2. For English articles, page of references should use p. in case of one page reference or pp. in case of multiple page reference and follows by page number.

3. Scientific names of the living organisms should be written in italic or underlined.

4. Should underline or use italic for words in vitro, in vivo

5. Page number of English references, which are not articles in the journal, should use p. and follows by number of the page.

6. Name of the journal should be abbreviated with an exception of no abbreviated name.

7. Title of the English articles should be started with capital letter of each word with an exception of article, conjunction and preposition. Name of the species is usually start with small letter, however, it should be written in capital letter if it is the first word of the title. References, which are not textbooks, should be written in the same way as journal. 8 Name of the conferences should be written in full.

4.6.4 The following are the styles for references:

Cochran, W.G.and G.M. Cox. 1968. Experimental Desings. 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 611p

Johnston, L.J. 1989. Influence of energy and protein intake during lactation on sow performance, p. 97-106. In Proc. Of Minnesota Swine Herd Health Programming Conference. St. Paul. Minnesota

Nelssen, J.L., A.J. Lewis and E.R. Peo Jr. 1985. Effect of dietary energy intake during lactation on performance of primiparous sows. J. Anim. Sci. 61: 1164-1171.

Reiemeyer, R. nd J.E. Henton. 1987. Observations on equine strongyle control in southern temperate USA. Equine Vet. J. 19: 505-508.

5. **Figures** must accompany with a concise and pertinent legend.

5.1 Computer-generated graphics should used appropriate letter size for easy reading and line illustrations should be drawn with highest resolution as much as possible.

5.2 Photographs should be furnished as black-white glossy prints (no larger than 3.5 × 5 inches). The full cost for all color illustrations must be borne by the author. Figure legends must be submitted on a separate page at the end of the manuscript. The figure number, author's name, and top of picture should not be written on the back of the prints and should be written using lettering guide.

5.3 Line illustrations should be drawn on drafting paper or illustration board. Letter should be written using lettering guide.

6. **Tables** should be typed on separate pages and should be placed after the text in numerical/ order rather than incorporated into it. The heading or title of the table should be complete enough that the reader is able to understand the table without having to referto the text. All parts of a table must be double-spaced and in full-size type. Omit all vertical rules.

6.1 In case that authors wishing to explain more about certain specific information use note.

6.2 Explanatory about certain specific information should be written in superscript.

7. **Case reports and short communications** should have the same structure, including a concise 150 words abstract, as the full-length submissions, but in much shorter form. Sections heading are used only for the Abstract, Acknowledgments, and References. Short communications may be about any suitable subject that dose not warrant a full paper. Case reports begin with the signalment of the animal(s), followed by a chronological description of pertinent aspects of the diagnostic examination, and ends with a brief discussion. The length may not exceed 4 printed pages. It is not necessary to be divided into the Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

Peer review process: The Kasetsart Veterinarians Journal reserves the right to make any changes according to the scientific editor. Manuscripts that, in the reviewers' opinion, require major revisions will be send back to the author to respond to reviewer comments and make appropriate revision within 30 days. Manuscripts that pass peer review are accepted for publication provided that authors respond meaningfully to questions and concerns raised by the scientific editor.