รหัสโครงการ SUT1-104-47-12-56

รายงานการวิจัย

ผลของการเสริมกระเทียม (*Allium saltivum* Linn.) ในอาหารต่อลักษณะเพศผู้ในไก่เนื้อ

(Effects of Garlic (*Allium sativum* Linn.) Supplementation on Male Characteristics in Broiler Chickens)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

สพญ.ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาชีววิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2547

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กุมภาพันธ์ 2549

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2547 ผู้วิจัยขอขอบคุณแผนกสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่สำหรับเลี้ยงสัตว์ทดลอง และ ขอขอบคุณภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือสำหรับเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อ ทำให้การวิจัยในครั้งนี้ลุล่วงไปด้วยดี

สพญ.ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์

ตุลาคม 2548

บทคัดย่อภาษาไทย

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมกระเทียม *(Allium sativum*Linn.) ในอาหารต่อลักษณะเพศผู้ในไก่เนื้อ โดยศึกษาผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสร้างกล้ามเนื้อ การแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2 จำนวนของหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ที่สร้างอสุจิ ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ระดับโคเลสเตอรอลและ low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ในเลือด จากนั้นเปรียบเทียบผลที่ได้กับการฉีดฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone)

ในการศึกษาใช้ไก่เนื้ออาร์เบอร์ เอเคอร์ เพศผู้ อายุ 3 วัน จำนวน 200 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 2 ซ้ำ กลุ่มการทดลองประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุมและได้รับการฉีดน้ำมันมะกอก กลุ่มที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุมและได้รับการฉีดฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน กลุ่มที่ 3, 4 และ 5 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุมเสริมกระเทียม 6, 8, และ 10% ตามลำดับและได้รับการฉีดน้ำมันมะกอก ระยะเวลาในการทดลอง 45 วัน วันสุดท้ายของการทดลองทำการชั่งน้ำหนักตัว วัดขนาดหงอนเหนียง เก็บตัวอย่างเลือดและอวัยวะ เพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ขนาดอัณฑะ ขนาดหงอนและเหนียง ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ตรวจสอบลักษณะทางพยาวิทยาของกล้ามเนื้อและอัณฑะ วัดระดับโคเลสเตอรอลและ LDL-C ในเลือด

ผลการทดลองพบว่า การเสริมกระเทียมที่ระดับ 6, 8% และการฉีดฮอร์โมนไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตในขณะที่การเสริมที่ระดับ 10% ทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเสริมกระเทียมที่ 8% ให้กับไก่เนื้อสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ ($p<0.05$) การเสริมกระเทียมทุกระดับทำให้มัดกล้ามเนื้อมีขนาดเล็กลงแต่มีจำนวนมากขึ้น ($p<0.05$) ซึ่งแตกต่างจากฮอร์โมนที่ทำให้มัดกล้ามเนื้อใหญ่ขึ้นแต่มีจำนวนน้อยลง เมื่อทดสอบผลของการเสริมกระเทียมต่อการเพิ่มจำนวนของหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ที่สร้างอสุจิพบว่า การเสริมกระเทียมในอาหารที่ระดับ 6 และ 8% ให้ผลคล้ายกับการฉีดฮอร์โมน โดยการเสริมกระเทียมที่ระดับดังกล่าว ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของหลอดสร้างอสุจิ และก่อให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ที่สร้างอสุจิ แต่ไม่พบผลดังกล่าวเมื่อเพิ่มระดับกระเทียมในอาหารเป็น 10% เป็นที่น่าสนใจว่า การเสริมกระเทียมในอาหารทุกระดับ ไม่มีผลต่อการเพิ่มขนาดและน้ำหนักของอัณฑะ หงอน และเหนียง ซึ่งคล้ายคลึงกับผลที่ได้จากการฉีดฮอร์โมน เมื่อทดสอบผลของการเสริมกระเทียมต่อการสร้างเม็ดเลือดแดง พบว่ากระเทียมไม่มีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดแดง ซึ่งคล้ายคลึงกับการฉีดฮอร์โมนอีกเช่นกัน เป็นที่น่าสังเกตว่าการเสริมกระเทียมในอาหารที่ระดับ 10% มีผลลดระดับโคเลสเตอรอลและ LDL-C ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่เหลือ

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The aims of this study were to examine the effects of garlic (*Allium sativum* Linn.) supplementation on male characteristics in broiler chickens. Growth rate and feed efficiency, muscle growth, proliferation of seminiferous tubules and differentiation of spermatogonium, packed cell volume, and blood cholesterol and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels were determined and compared to the effects of testosterone administration.

Two hundred and three-day-old male Arbor Acres broiler chickens were equally divided into 5 groups, each with two replications. The first group or the control group had an olive oil injection and was fed without garlic supplementation. The second group had a testosterone injection and was fed without garlic supplementation. The third, fourth, and fifth group had an olive oil injection and was fed with 6, 8, and 10% garlic supplementation, respectively. The experiment had been conducted for 45 days. On the last day of the experiments, the chickens were weighted, comb and wattle size were measured, and blood sample and organ collected for the measurements of growth rate and feed efficiency, testicular and comb and wattle sizes, packed cell volume, testicular and muscular histology, and blood cholesterol and LDL-C level.

The results show that garlic supplementation at 6 and 8% including testosterone administration had no effect on growth rate whereas garlic supplementation at 10% decreased growth rate ($p<0.05$). An increase in feed efficiency can be found when boiler chickens were fed with 8% garlic supplementation ($p<0.05$), but not with 6 and 10% supplementation. Garlic supplementation at all levels caused a decrease in muscle bundle size resulting in an increase in muscle bundle numbers ($p<0.05$). This is in contrast to the administration of testosterone whereby the muscle size was increased resulting in decreases in muscle bundle numbers. As with testosterone, garlic supplementation at 6 and 8%, but not at 10%, induced proliferation of seminiferous tubules and differentiation of spermatogonium. Garlic supplementation at any level and testosterone administration did not cause increases in size of testes, comb, and wattle. Furthermore, when the effects on packed cell volume (PCV) were examined, the results show that garlic supplementation at any levels had also no effect on PCV. Interestingly, garlic supplementation at 10% produced a significant decrease ($p<0.05$) in blood cholesterol and LDL-C level compared to the other groups.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
ข้อตกลงเบื้องต้น	3
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
แหล่งที่มาของข้อมูล	4
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล	5
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	6
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล	8
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย	20
ข้อเสนอแนะ	22
บรรณานุกรม	23
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	26
ภาคผนวก ข	29
ประวัติผู้วิจัย	30

สารบัญตาราง

ตารางที่	เรื่อง	หน้า
1	ผลของกระเทียมต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร	8
2	ผลของกระเทียมต่อจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อ	9
3	ผลของกระเทียมต่อการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2	13
4	ผลของกระเทียมต่อจำนวนของหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์สร้างอสุจิ	14
5	ผลของกระเทียมต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น	18
6	ผลของกระเทียมต่อระดับโคเลสเตอรอลและ LDL-C ในเลือด	19

สารบัญภาพ

ภาพที่	เรื่อง	หน้า
1	ผลของกระเทียมต่อขนาดของเซลล์กล้ามเนื้อ	10
2	ผลของกระเทียมต่อการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์สร้างอสุจิ	16

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

กระเทียม (*Allium sativum* Linn.) เป็นพืชล้มลุก สูง 40-80 เซนติเมตร มีหัวใต้ดิน (bulb) ซึ่งแบ่งเป็นกลีบเล็กๆได้หลายอัน แต่ละกลีบมีกาบแห้งๆ หุ้มไว้ กระเทียมสามารถปลูกได้ทั้งภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สารสำคัญที่พบในกระเทียมมีหลายชนิด มีรายงานว่ากระเทียมกลีบเล็กพันธุ์จากจังหวัดศรีสะเกษมีสารสำคัญมากที่สุด (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ, 2545)

ส่วนหัวใต้ดินมีน้ำมันหอมระเหย 0.1-0.4% ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ allicin, ajoene, alliin, diallyl disulfide, allyl disulfide นอกจากนี้พบเอนไซม์ช่วยย่อยอาหารได้แก่ allinase, alliinlyase และ pectinesterase รวมทั้งวิตามินบีหนึ่งด้วย แพทย์แผนไทยใช้หัวกระเทียมรักษาอาการท้องอืดท้องเฟ้อ ซึ่งเป็นผลจากสารสำคัญต่างๆในน้ำมันหอมระเหย allicin และ diallyl disulfide ช่วยต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร โดยมีกลไกการออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับการสร้างสาร prostaglandin (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ, 2545) ตามธรรมชาติ allicin มีในหัวกระเทียมน้อยมาก ส่วนใหญ่อยู่ในรูป alliin เมื่อหั่นกระเทียม อากาศจะทำให้เอนไซม์ alliinase ย่อย alliin ให้เป็น allicin ซึ่งเป็นสารที่ไม่คงตัว สลายตัวได้ง่ายโดยเฉพาะเมื่อถูกความร้อน ดังนั้นกระเทียมเจียว กระเทียมดอง จะไม่ให้ผลเป็นยา (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ, 2545) นอกเหนือไปจากฤทธิ์ดังกล่าวไปแล้วข้างต้น มีรายงานว่าหัวกระเทียมมีสารที่ช่วยลดระดับของกลูโคสและไขมันในเลือด (hypoglycemia and hypolipidemic agents) (Aquel et al., 1991; Shoetan et al., 1984; Qureshi et al., 1983; Chang et al., 1980; Chi et al., 1980; Bordia et al., 1977; Sharma et al., 1976) และนอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดมะเร็งและเนื้องอก (anticarcinogenic and antitumorigenic properties) (Milner et al., 1996; Sundaram et al., 1996)

แม้ว่าตำราแพทย์แผนไทยได้ระบุสรรพคุณของหัวกระเทียมไว้จำนวนมาก และงานวิจัยในปัจจุบันได้ทำการศึกษาวิจัยหาเพื่อหาหลักฐานสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ และเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่ากระเทียมสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคในคนได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของกระเทียมในสัตว์ของไทยนั้นมีน้อย สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคามได้ทำการสำรวจเบื้องต้นเกี่ยวกับภูมิปัญญาพื้นบ้านอีสานในการดูแลรักษาสัตว์เลี้ยง (สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2545) พบว่าเกษตรกรได้ใช้กระเทียมในการเลี้ยงสัตว์เพื่อรักษาอาการตาแดงในวัว ในไก่ใช้เป็นยาบำรุงเลือด และรักษาขี้กลาก อย่างไรก็ตามการใช้สมุนไพรในสัตว์ยังขาด

หลักฐานสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ เป็นต้นว่าเหตุใดกระเทียมจึงสามารถบำรุงเลือดได้ ในต่างประเทศหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ระบุชัดว่ากระเทียมมีผลในสัตว์ เช่น ในไก่พอสรุปได้ว่ากระเทียมสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย (Sharman et al., 1977) รา (Prasad et al., 1980) และปรสิตบางชนิด (Birrenkot et al., 2000; Sreter et al., 1999) มีรายงานพบว่าการผสมกระเทียมลงในสารอาหารร่วมกับสารตะกั่ว (lead)สามารถที่จะลดความพิษของตะกั่ว (antagonized lead toxicity) ได้ (Hanafy et al., 1994) นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าการผสมกระเทียมในอาหารสามารถที่จะลดระดับไขมันในเลือดได้ทั้งในไก่เนื้อและไก่ไข่ (Chowdhury et al., 2002; Konjufca et al., 1997) ในไก่ไข่การให้กระเทียมผสมอาหารยังทำให้ปริมาณคลอเรสเตอรอล (cholesterol) ในไข่แดงลดลงด้วย (Konjufca et al., 1997)

เร็วๆ นี้มีรายงานว่ากระเทียมมีผลต่อระดับฮอร์โมน ในหนูทดลองพบว่าการให้กินกระเทียมผสมอาหารมีผลทำให้ระดับฮอร์โมนเพศเทสโทสเตอโรน (testosterone) ในอัณฑะสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมกระเทียมลงในอาหารแต่ให้อาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูง (Oi et al., 2001) นอกจากนี้ในการทดลองเดียวกันกระเทียมยังมีผลทำให้ระดับ corticosterone ในเลือดลดต่ำลง การเพิ่มของเทสโทสเตอโรน ซึ่งเป็น anabolic hormone และการลดลงของ corticosterone ซึ่งเป็น catabolic hormone ดังกล่าวจึงส่งผลให้การสร้างโปรตีน (protein anabolism) ในร่างกายเกิดมากขึ้น (Oi et al., 2001) ต่อมามีรายงานว่าการฉีดเทสโทสเตอโรน ในคนสามารถให้ผลเช่นเดียวกัน โดยจะทำให้มีการเพิ่มขนาดของเซลล์กล้ามเนื้อ (muscle size) (Sinha-hikim et al., 2002; Bhasin et al., 1996; Griggs et al., 1989) จากการพบว่ากระเทียมมีผลเกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับเทสโทสเตอโรนนี้ เป็นที่น่าสนใจว่ากระเทียมน่าจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเสริมอาหารเพื่อเพิ่มหรือเร่งอัตราการเจริญเติบโตในสัตว์เศรษฐกิจเช่น ไก่เนื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากเทสโทสเตอโรน เป็นฮอร์โมนเพศผู้ นอกจากจะมีผลต่อการสร้างโปรตีนของร่างกายแล้ว กระเทียมอาจจะมีผลต่อลักษณะของเพศผู้เช่นเดียวกับ testosterone เช่นมีความสำคัญในการสร้างเม็ดเลือด และมีผลต่อระบบสืบพันธุ์โดยตรงโดยจะทำให้เกิดการแสดงออกของลักษณะเพศผู้ขั้นที่ 2 และมีผลต่อขบวนการสร้างอสุจิ (spermatogenesis) โครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาผลของการเสริมกระเทียมในอาหารต่อลักษณะเพศผู้ของไก่เนื้อโดยจะเปรียบเทียบกับผลของการฉีดฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการเสริมกระเทียมในอาหารต่อลักษณะเพศผู้ในไก่เนื้อ โดยจะศึกษา

1) ผลของกระเทียมต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

2) ผลของกระเทียมต่อการสร้างกล้ามเนื้อ

3) ผลของกระเทียมต่อการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2 เช่น สีและขนาดของหงอน เหนียง และติ่งหู

4) ผลของกระเทียมต่อขนาดของอัณฑะ และผลต่อการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์สร้างอสุจิ

5) ผลของกระเทียมต่อการสร้างเม็ดเลือดแดง

6) ผลของกระเทียมต่อระดับคลอเรสเตอรอลและ low density lipoprotein (LDL-C) ในเลือด

7) เปรียบเทียบผลของกระเทียมกับการฉีดฮอร์โมนเพศเทสโทสเตอโรน

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาผลเบื้องต้นของกระเทียมต่อลักษณะเพศผู้ของไก่เนื้อ โดยเน้นการศึกษาผลทางสรีรวิทยา พยาธิวิทยาและโลหิตวิทยาเท่านั้น ไม่รวมผลทางเภสัชวิทยา

ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1) ได้ทราบผลของกระเทียมต่อลักษณะเพศผู้ของไก่เนื้อ

2) ได้ข้อมูลพื้นฐานที่จะทำการวิจัยต่อไปในอนาคต

3) ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปประกอบการนำกระเทียมไปใช้ในการเพิ่มผลผลิตในไก่ และสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่นๆ เพื่อลดการใช้ฮอร์โมนในการผลิตสัตว์

4) ได้ถ่ายทอดและบริการความรู้แก่ประชาชน เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูล

1) กระเทียม

1.1 **การเก็บตัวอย่างกระเทียม** ทำการสุ่มซื้อกระเทียม (หัวใต้ดิน) พันธุ์ศรีสะเกษจากหลายๆ แหล่งๆ (stratified random sampling) ผสมรวมกันเป็นตัวอย่างกลุ่มเดียว (pooled sample) หลังจากนั้นเก็บกระเทียมในที่แห้งเพื่อไว้ใช้ในการประกอบสูตรอาหาร

1.2 **การเตรียมกระเทียม** เตรียมสดตามวิธีของ Chowdhury และคณะ (2002) โดยทำการปอกเปลือกกระเทียมในแต่ละวันก่อนเวลาให้อาหาร จากนั้นหั่นให้มีขนาดเท่ากับขนาดของเม็ดอาหาร

1.3 **การประกอบสูตรอาหาร** ในการทดลองมีสูตรอาหารทั้งหมดจำนวน 4 สูตร การประกอบสูตรอาหารทำโดยผสมกระเทียมหั่นที่เตรียมไว้ (หัวข้อ 1.2) ลงในอาหารสำหรับลูกไก่เนื้อ (หัวข้อที่ 2) อย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ให้แต่ละสูตรมีส่วนผสมของกระเทียมที่หั่นไว้ดังนี้

สูตรที่ 1 กระเทียม 0%

สูตรที่ 2 กระเทียม 6%

สูตรที่ 3 กระเทียม 8%

สูตรที่ 4 กระเทียม 10%

2) **อาหารสัตว์** ไก่ทดลองในแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีโปรตีน 2 ระดับ แบ่งตามระยะอายุของไก่ทดลองดังนี้

ระยะที่ 1 ช่วงอายุ 1-21 วัน โปรตีน 23%

ระยะที่ 2 ช่วงอายุ 21-42 วัน โปรตีน 20%

3) สัตว์ทดลอง

3.1 **ชนิดของสัตว์ทดลอง** ในการศึกษาใช้ไก่เนื้ออาร์เบอร์ เอเคอร์ เพศผู้ อายุ 3 วัน จำนวน 200 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 ลูกไก่ถูกฉีดน้ำมันมะกอกเข้าใต้ผิวหนังบริเวณโคนปีกจำนวน 0.2 มล. ในวันแรกของการทดลอง

กลุ่มที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 ลูกไก่ถูกฉีดเทสโทสเตอโรน (100 mg/ml testosterone cypionate injection) ในรูปน้ำมันเข้าใต้ผิวหนังบริเวณโคนปีก จำนวน 0.2 มล. ในวันแรกของการทดลอง

กลุ่มที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 ลูกไก่ถูกฉีดน้ำมันมะกอกเข้าใต้ผิวหนังบริเวณโคนปีกจำนวน 0.2 มล. ในวันแรกของการทดลอง

กลุ่มที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 3 ลูกไก่ถูกฉีดน้ำมันมะกอกเข้าใต้ผิวหนังบริเวณโคนปีกจำนวน 0.2 มล. ในวันแรกของการทดลอง

กลุ่มที่ 5 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 4 ลูกไก่ถูกฉีดน้ำมันมะกอกเข้าใต้ผิวหนังบริเวณโคนปีกจำนวน 0.2 มล. ในวันแรกของการทดลอง

3.2 **โปรแกรมวัคซีน** ที่อายุ 7 และ 14 วัน ไก่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคลาสเซิลและกัมโบโร่ (กรมปศุสัตว์) ตามลำดับ

3.3 **การให้อาหาร** ไก่ทุกกลุ่มได้รับน้ำตลอดเวลา และได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ตลอดเวลาทดลอง 45 วัน โดยบันทึกน้ำหนักอาหารที่กินและอัตราการตายทุกวัน

4) **ระยะเวลาในการทดลอง**

45 วัน (มกราคม – มีนาคม 2548)

5) **สถานที่ดำเนินการทดลอง**

ดำเนินการทดลองในส่วนของการเลี้ยงไก่ ที่แผนกสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาเทคโนโลยีสุรนารี ดำเนินการทดลองในส่วนของห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจเลือดและค่าชีวเคมีของโลหิตที่อาคารปฏิบัติการเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับการการเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อ ดำเนินการที่ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

1) **การตรวจวัดลักษณะเพศผู้และเก็บตัวอย่าง** เมื่อทำการทดลองครบ 45 วันได้ดำเนินการตรวจวัดลักษณะเพศผู้และเก็บตัวอย่างตามลำดับดังนี้

1.1 ชั่งน้ำหนักไก่ทีละตัว บันทึกผล

1.2 ตรวจวัดลักษณะเพศผู้ขั้นที่ 2 โดยเปรียบเทียบสีของ หงอน เหนียง และติ่งหู แล้ววัดขนาดและบันทึกผล (*หมายเหตุ: ติ่งหูมีขนาดเล็กมากไม่สามารถวัดได้*)

1.3 สุ่มไก่ทดลองมากลุ่มละ 10 ตัว ชั่งน้ำหนักไก่ทดลองที่สุ่มไว้ บันทึกผล

1.4 เก็บตัวอย่างเลือดจำนวนตัวละ 3 ซีซี จากเส้นเลือดดำใต้ปีก (brachial vein) บรรจุในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA)

1.5 ทำให้ไก่ตายโดยสงบด้วยการทำให้กระดูกคอเคลื่อน (cervical dislocation)

1.6 ผ่าซาก เก็บกล้ามเนื้ออก (superficial pectoralis muscle) ขนาด 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยตำแหน่งที่เก็บอยู่ห่างจากจุดกึ่งกลางของกระดูกอกไปทางด้านซ้ายเป็นระยะทาง 2 มิลลิเมตร จากนั้นเก็บตัวอย่างอัณฑะทั้ง 2 ข้าง ชั่งน้ำหนักอัณฑะ แช่ตัวอย่างใน 10% buffered formalin เพื่อเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อ (Carson, 1997; รายละเอียดได้แสดงไว้ในภาคผนวก ก และ ข)

1.7 ทำให้ไก่ทดลองที่เหลือจากการสุ่ม ตายอย่างสงบด้วยการทำให้กระดูกคอเคลื่อน จากนั้นกำจัดซากโดยการเผาที่เตาเผาซากสัตว์ แผนกสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

1) **การตรวจลักษณะเพศผู้ขั้นที่ 2**

1.1 การตรวจสีของหงอนและเหนียง ดูจากความเข้มของสีโดยแบ่งเป็น 3 ระดับ ขาว ชมพู แดง

1.2 คำนวณหาพื้นที่ของหงอนและเหนียงโดยใช้สูตรคำนวณ: (ฐาน x สูง) / 2 จากนั้นเทียบค่าที่ได้ให้อยู่ในรูปของเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว

2) **การคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต** คำนวณจากสูตร: น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น/ระยะเวลา

3) **การคำนวณหาอัตราการแลกน้ำหนัก** คำนวณจากสูตร: Feed Conversion Ratio (FCR) = ปริมาณอาหารที่ไก่กิน/น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

4) **การวัดค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น** ตรวจวัดด้วยวิธี microhematocrit โดยบรรจุเลือดใน microhematocrit capillary tube แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็ว 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที (Campbell, 1995)

5) **การตรวจหาระดับโคเลสเตอรอลและ low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ในเลือด** ตรวจวัดระดับโคเลสเตอรอลโดยวิธี CHOD-PAP cholesterol method (Boehringer Mannheim) และ LDL-C ในเลือดโดยวิธี homogenous enzymatic in vitro assay for the direct quantitative determination of LDL-C ด้วย Roche automated clinical chemistry analyzers ขั้นตอนการวิเคราะห์ดำเนินการตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA)

6) **การตรวจลักษณะทางจุลกายวิภาคของอัณฑะ** (Bacha and Bacha, 2000)

6.1 **จำนวนของหลอดสร้างอสุจิ** (seminiferous tubules) ทำโดยนับจำนวนหลอดสร้างอสุจิที่พบทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 200 เท่า

6.2 **การพัฒนาของหลอดสร้างอสุจิ** ทำโดยนับจำนวนหลอดสร้างอสุจิที่พบทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 200 เท่า คำนวณจำนวนของหลอดสร้างอสุจิที่มีการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ spermatogonium (เซลล์ในหลอดมีการเรียงตัวมากกว่า 1 ชั้น) จากนั้นคำนวณจำนวนหลอดสร้างอสุจิที่มีการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ spermatogonium เป็นร้อยละ

6.3 **การพัฒนาของเซลล์ spermatogonium ในหลอดสร้างอสุจิ** ทำโดยนับจำนวนชั้นของเซลล์ที่พบในหลอดสร้างอสุจิภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า แบ่งการพัฒนาได้เป็น 5 ระดับ

ระดับที่ 1 ยังไม่มีการพัฒนาและแบ่งตัว พบเซลล์เพียงชั้นเดียวเรียงตัวติดผนังหลอดสร้างอสุจิ

ระดับที่ 2 พบเซลล์เรียงตัว 2 ชั้น เป็นระดับที่เซลล์ spermatogonium แบ่งตัวได้ primary spermatocyte

ระดับที่ 3 พบเซลล์เรียงตัว 3 ชั้น เป็นระดับที่เซลล์ primary spermatocyte แบ่งตัวได้ secondary spermatocyte

ระดับที่ 4 พบเซลล์เรียงตัว 4 ชั้น เป็นระดับที่เซลล์ secondary spermatocyte แบ่งตัวได้ spermatids

ระดับที่ 5 พบเซลล์เรียงตัว 4 ชั้น และพบ sperm ในส่วนของ lumen ของหลอดสร้างอสุจิ

7) **การตรวจลักษณะทางจุลกายวิภาคของกล้ามเนื้อ**

ขนาดของมัดกล้ามเนื้อ (muscle bundle) ทำโดยนับจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อลายที่พบทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 200 และ 1000 เท่า การพบจำนวนน้อยต่อบริเวณที่สังเกตได้จะหมายถึงเซลล์กล้ามเนื้อมีขนาดใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับที่พบจำนวนมากกว่าต่อบริเวณที่สังเกต (Bacha and Bacha, 2000)

8) **การวิเคราะห์ทางสถิติ** วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) ของข้อมูลที่ได้ หากผลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยการใช้ Duncan's new multiple-range test

บทที่ 3

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลของกระเทียมต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร

ผลทดสอบการเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่เนื้อ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่าการเสริมกระเทียมที่ระดับ 6 และ 8% ในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ($p>0.05$) แต่การเสริมที่ระดับ 10% มีผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน

เมื่อทดสอบผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารพบว่า อัตราแลกน้ำหนักสำหรับไก่เนื้อที่กินอาหารเสริมด้วยกระเทียม 6 และ 10% มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน ($p>0.05$) แต่การเสริมกระเทียมที่ระดับ 8% จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่เนื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้พบว่า การเสริมกระเทียมในอาหารทำให้อัตราการตายต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน

ตารางที่ 1: ผลของกระเทียมต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักตัวเพิ่ม (กิโลกรัม/ตัว)	อาหารที่กิน (กิโลกรัม/ตัว)	อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)	อัตราแลกน้ำหนัก	อัตราการตาย (%)
กลุ่มควบคุม	1.54^{a}	3.56^{a}	34^{a}	2.31^{a}	7.5
ฉีดฮอร์โมน	1.54^{a}	3.57^{a}	34^{a}	2.32^{a}	2.3
เสริมกระเทียม 6%	1.49^{a}	3.48^{a}	33^{a}	2.33^{a}	0.0
เสริมกระเทียม 8%	1.45^{ab}	3.23^{ab}	32^{ab}	2.23^{b}	5.0
เสริมกระเทียม 10%	1.38^{bc}	3.14^{bc}	30^{bc}	2.28^{a}	2.5

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลของกระเทียมต่อการสร้างกล้ามเนื้อ

ผลทดสอบการเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ระดับต่างๆ ต่อการสร้างกล้ามเนื้อรายงานผลเป็นจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่าการเสริมกระเทียมที่ระดับ 6, 8 และ 10% ในอาหาร มีแนวโน้มทำให้มัดกล้ามเนื้อมีขนาดเล็กลงแต่จำนวนเซลล์กล้ามเนื้อมีมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามค่าที่ได้นี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทางตรงกันข้าม การฉีดฮอร์โมนจะทำให้เซลล์กล้ามเนื้อมีจำนวนน้อยลงแต่มีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมกระเทียม

ตารางที่ 2: ผลของกระเทียมต่อจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อ

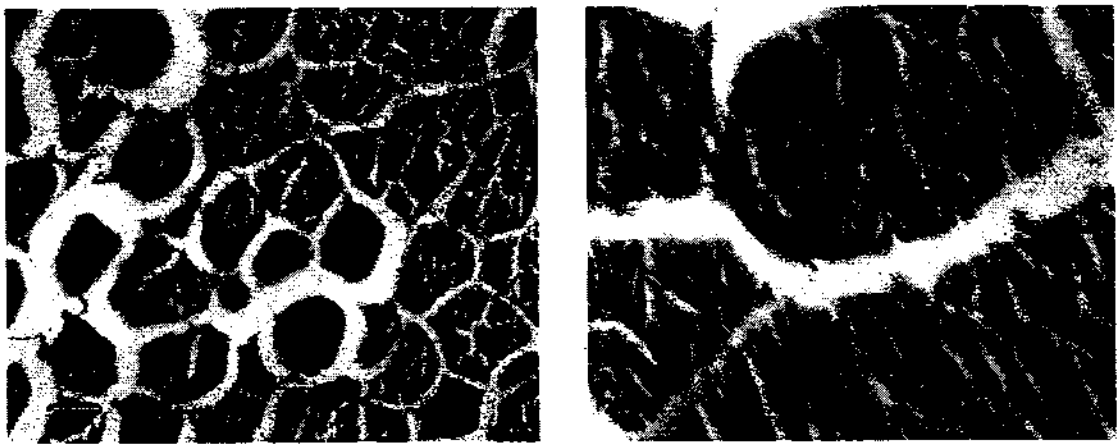
กลุ่มทดลอง	จำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อที่นับได้เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์	
	400 เท่า	1000 เท่า
กลุ่มควบคุม	24.0 ± 3.0^{a}	3.5 ± 0.4^{a}
ฉีดฮอร์โมน	19.0 ± 2.0^{b}	2.0 ± 0.5^{b}
เสริมกระเทียม 6%	28.0 ± 1.3^{a}	4.5 ± 0.6^{a}
เสริมกระเทียม 8%	27.7 ± 1.5^{a}	4.6 ± 0.4^{a}
เสริมกระเทียม 10%	28.5 ± 2.8^{a}	4.5 ± 0.5^{a}

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

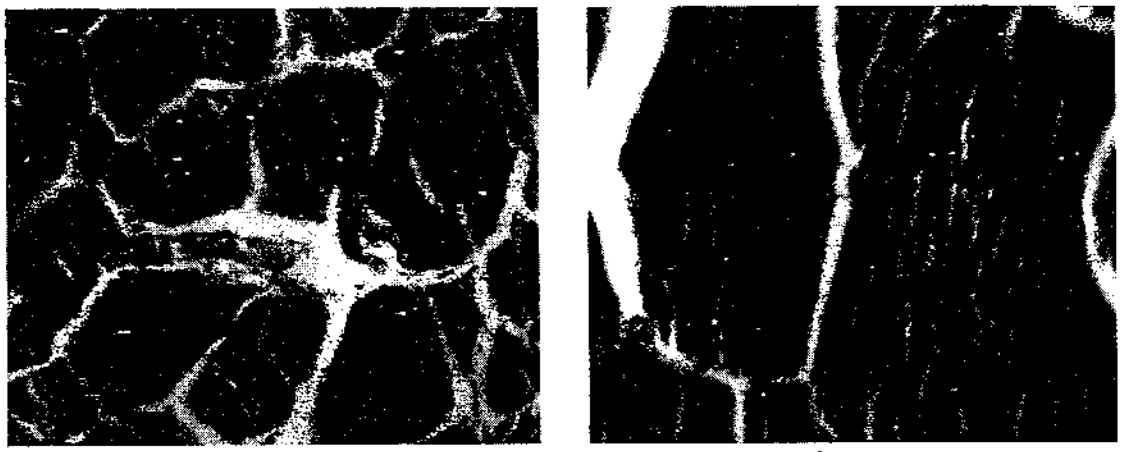
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคของกล้ามเนื้อในกลุ่มทดลองต่างๆ จะเห็นได้ว่าเซลล์กล้ามเนื้อของกลุ่มที่เสริมกระเทียมมีขนาดเล็กลง แต่มีจำนวนเซลล์มากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน

ภาพที่ 1: ผลของกระเทียมต่อขนาดของเซลล์กล้ามเนื้อ

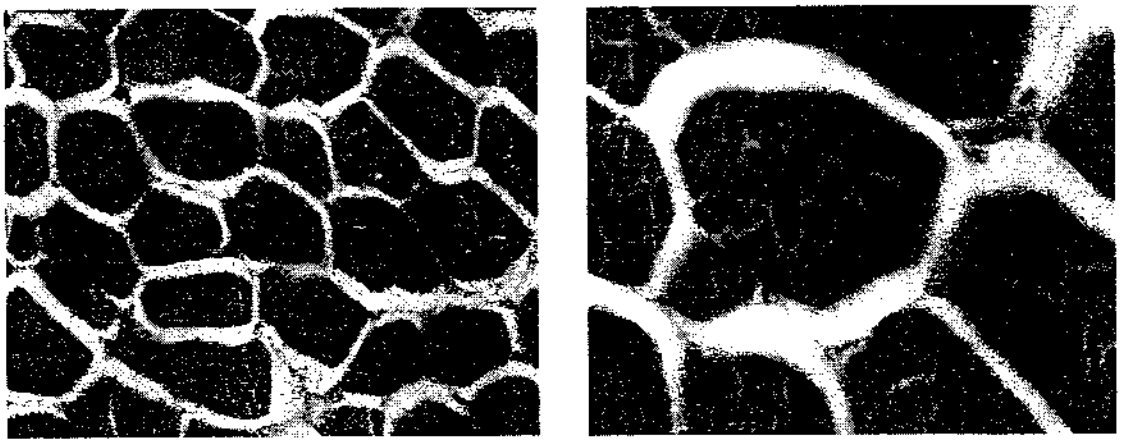
400 เท่า กลุ่มควบคุม 1000 เท่า



ฉีดฮอร์โมน



เสริมกระเทียม 6%

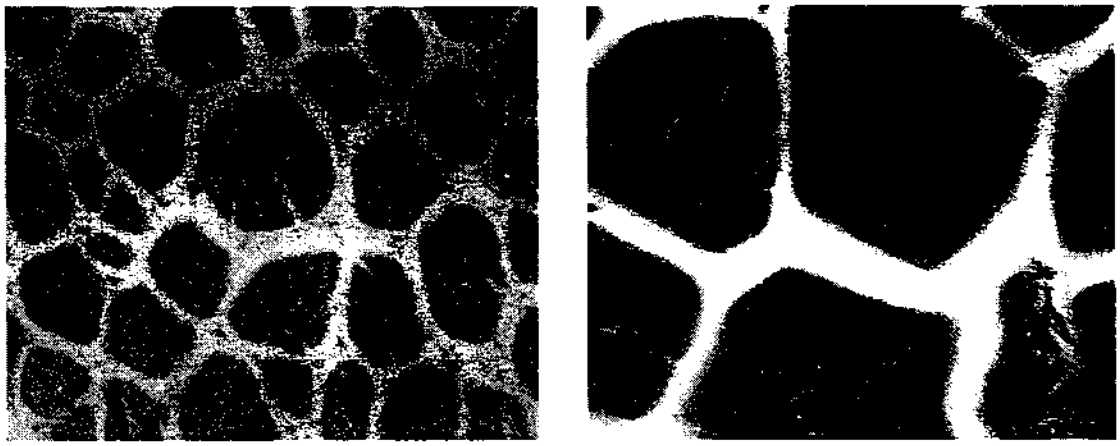


ภาพที่ 1: ผลของกระเทียมต่อขนาดของเซลล์กล้ามเนื้อ (ต่อ)

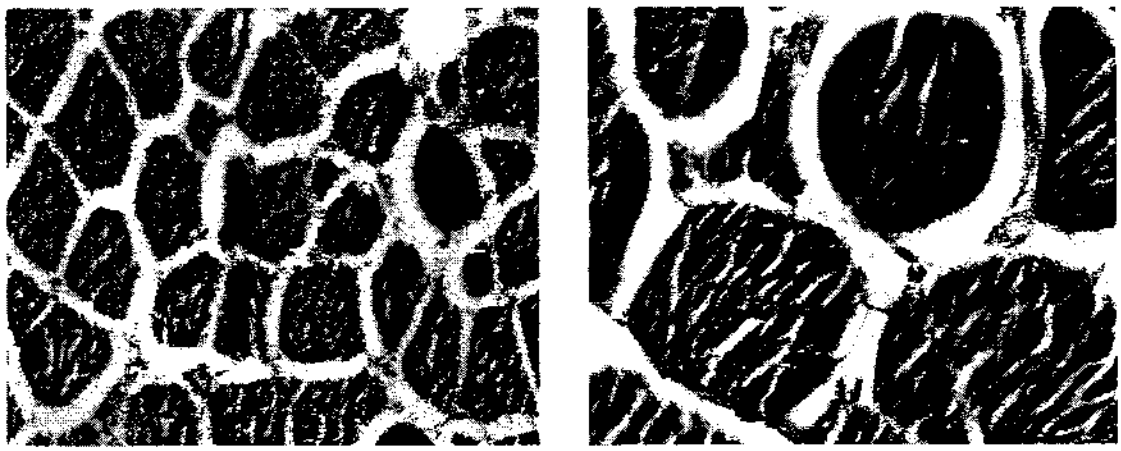
400 เท่า

1000 เท่า

เสริมกระเทียม 8%



เสริมกระเทียม 10%



ผลของกระเทียมต่อการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2

ตารางที่ 3 แสดงผลของการเส ริมกระเทียมสดต่อการแสดงออกของลักษณะเพศผู้ขั้นที่ 2 ได้แก่ ผลต่อสีและขนาด (พื้นที่) ของหงอนและเหนียง และผลต่อขนาด (น้ำหนัก) อัณฑะ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองพบว่า การเสริมกระเทียมที่ระดับต่างๆ ในอาหารไม่มีผลต่อสีของหงอนและเหนียง (ไม่แสดงผล) อย่างไรก็ตาม สังเกตพบว่าหงอนและเหนียงในกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนจะปรากฏเร็วกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ

เมื่อทดสอบผลของการเสริมกระเทียมต่อน้ำหนักอัณฑะพบว่า การเสริมกระเทียมที่ระดับ 6 และ 8% ในอาหารไม่มีผลต่อน้ำหนักอัณฑะเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน ($p>0.05$) แต่เป็นที่น่าสนใจว่า การเสริมกระเทียมที่ระดับ 10% มีผลทำให้ขนาดของอัณฑะเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งผลที่ได้นี้คล้ายคลึงกับการฉีดฮอร์โมน

เมื่อทดสอบผลของการเสริมกระเทียมต่อขนาดหงอน พบว่าการเสริมกระเทียมที่ทุกระดับไม่มีผลต่อขนาดหงอนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) นอกจากนี้พบว่า ขนาดของหงอนในกลุ่มที่เสริมกระเทียม 6 และ 8% ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน แต่พบว่าขนาดหงอนของกลุ่มที่เสริมกระเทียมที่ 10% มีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อทดสอบผลของการเสริมกระเทียมต่อขนาดของเหนียง พบว่าการเสริมกระเทียมที่ระดับ 6 และ 8% ไม่มีผลต่อขนาดของเหนียงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน ($p>0.05$) แต่การการเสริมกระเทียมที่ 10% ทำให้เหนียงใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่กลุ่มที่เสริมกระเทียม 10% นี้ มีน้ำหนักตัวที่น้อย เมื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์หงอนและเหนียงจึงทำให้ค่าที่ได้มากกว่ากลุ่มอื่นๆ

ตารางที่ 3: ผลของกระเทียมต่อการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักอัณฑะต่อน้ำหนักตัว x 100 (มิลลิกรัม)	พื้นที่ของหงอนต่อน้ำหนักตัว x 100 (ตารางเซนติเมตร)	พื้นที่ของเหนียงต่อน้ำหนักตัว x 100 (ตารางเซนติเมตร)
กลุ่มควบคุม	13,463±1,024.4^{a}	96±8.8^{ab}	82±7.2^{a}
ฉีดฮอร์โมน	9,891±1,218.9^{b}	91±7.3^{b}	79±7.5^{a}
เสริมกระเทียม 6%	11,196±1,132.6^{ab}	114±9.6^{ab}	90±7.5^{a}
เสริมกระเทียม 8%	11,414±1,620.8^{ab}	104±7.2^{ab}	93±7.2^{a}
เสริมกระเทียม 10%	9,525±870.2^{b}	117±9.3^{ac}	115±8.1^{b}

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลของกระเทียมต่อจำนวนหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ที่สร้างอสุจิ

ตารางที่ 4 แสดงผลของการเสริมกระเทียมสดในอาหารต่อจำนวนหลอดสร้างอสุจิ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง พบว่าการเสริมกระเทียมที่ 6, 8 และ 10% ในสูตรอาหารไก่เนื้อทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของหลอดสร้างอสุจิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน และพบว่าการเสริมกระเทียมที่ระดับ 6 และ 8% เท่านั้นที่จะมีผลทำให้เซลล์ที่สร้างอสุจิมีการการแบ่งตัวและพัฒนา ซึ่งผลของการเสริมกระเทียมระดับดังกล่าวนี้คล้ายคลึงกับการฉีดฮอร์โมน ($p>0.05$) เมื่อเสริมกระเทียมที่ระดับสูงขึ้นเป็น 10% พบว่าจำนวนของหลอดสร้างอสุจิที่เซลล์สร้างอสุจิมีการการแบ่งตัวและพัฒนามีค่าที่ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ($p>0.05$)

ตารางที่ 4: ผลของกระเทียมต่อจำนวนของหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของ

เซลล์สร้างอสุจิ

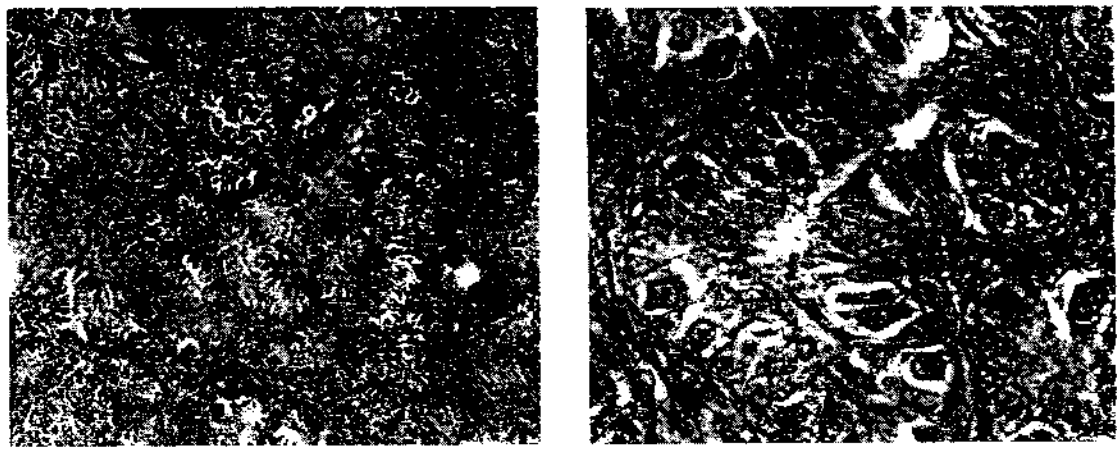
กลุ่มทดลอง	**จำนวนของหลอดสร้างอสุจิที่นับได้เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (200 เท่า)**	**% ของหลอดสร้างอสุจิที่มีการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์สร้างอสุจิเมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (200 เท่า)**
กลุ่มควบคุม	21 ± 2.7^{a}	20 ± 10.2^{a}
ฉีดฮอร์โมน	24 ± 1.9^{a}	39 ± 8.5^{b}
เสริมกระเทียม 6%	29 ± 3.9^{b}	45 ± 4.1^{b}
เสริมกระเทียม 8%	27 ± 4.1^{b}	39 ± 11.6^{b}
เสริมกระเทียม 10%	30 ± 1.4^{b}	17 ± 5.2^{a}

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

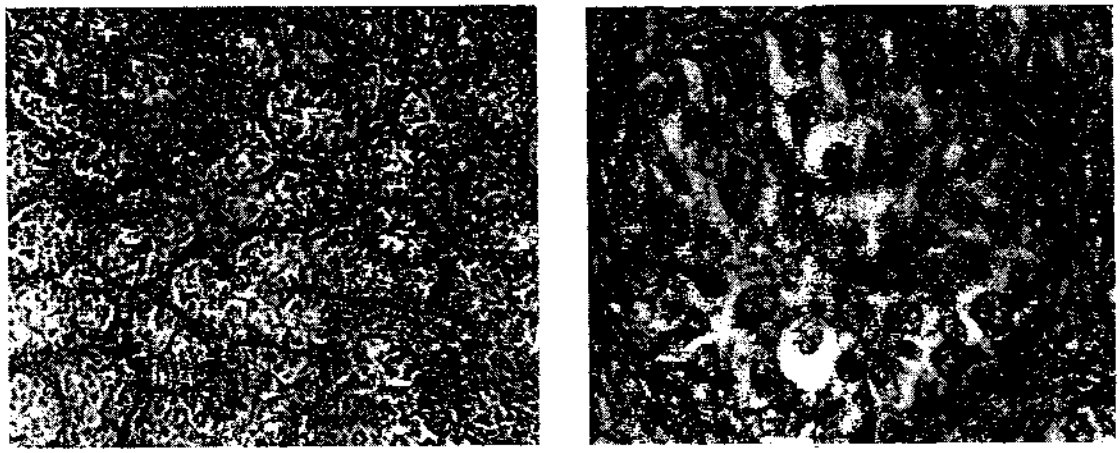
เมื่อตรวจดูลักษณะทางจุลกายวิภาค ของท่อสร้างอสุจิในอัณฑะของไก่แต่ละกลุ่มด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าการเสริมกระเทียมที่ 6 และ 8% ในสูตรอาหารไก่เนื้อทำให้เซลล์ spermatogonium มีการแบ่งตัวและพัฒนาอยู่ในระดับที่ 3 (ภายในท่อสร้างอสุจิมีเซลล์เรียงตัว 3 ชั้นซึ่งเป็นระดับที่เซลล์ primary spermatocyte แบ่งตัวได้ secondary spermatocyte) ผลที่ได้นี้คล้ายคลึงกับกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน ในขณะที่การแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ spermatogonium ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยกระเทียม 10% นั้นยังอยู่ในขั้นที่ 1 คือ เซลล์ดังกล่าวยังไม่มีการพัฒนาและแบ่งตัว พบเซลล์เพียงชั้นเดียวเรียงตัวติดผนังหลอดสร้างอสุจิ ดังแสดงในภาพที่ 2

ภาพที่ 2: ผลของกระเทียมต่อการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์สร้างอสุจิ

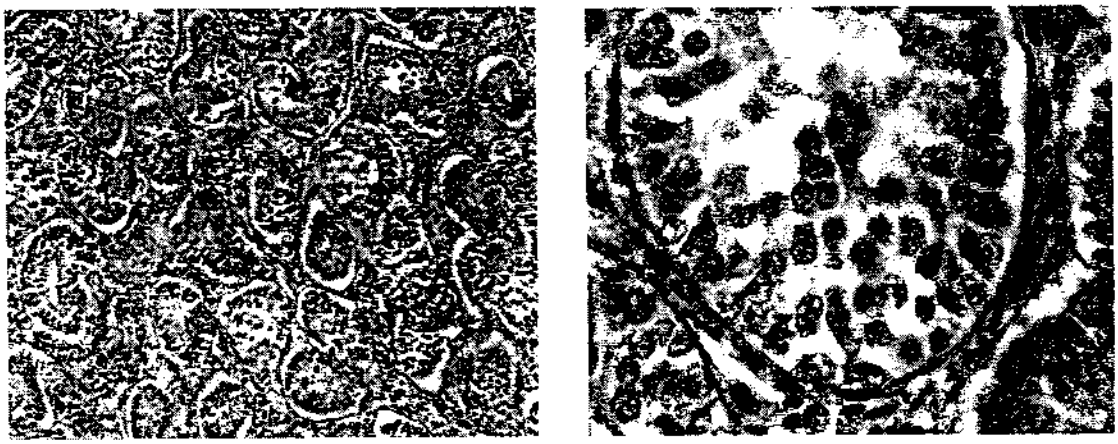
200 เท่า กลุ่มควบคุม 1000 เท่า



ฉีดฮอร์โมน

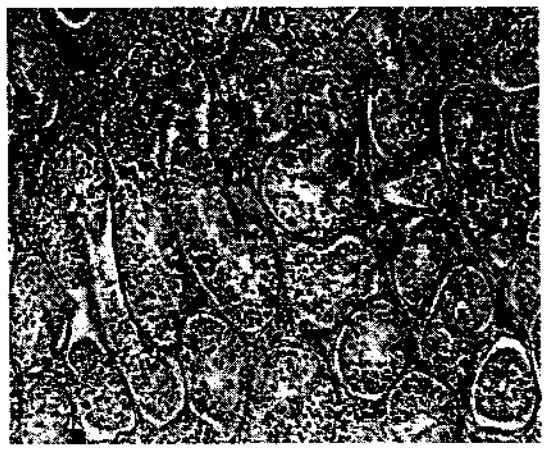


เสริมกระเทียม 6%

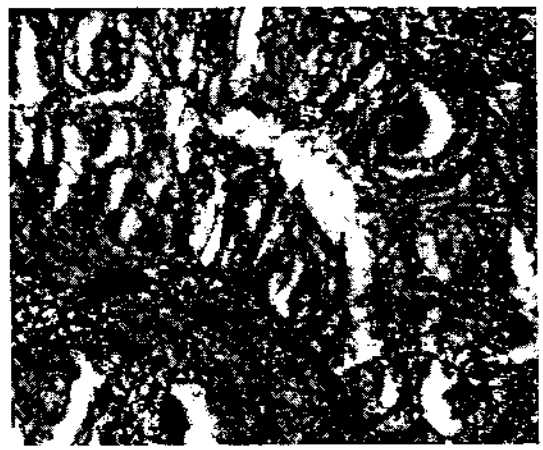


ภาพที่ 2: ผลของกระเทียมต่อการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์สร้างอสุจิ (ต่อ)

200 เท่า เสริมกระเทียม 8% 1000 เท่า



เสริมกระเทียม 10%



ผลของกระเทียมต่อการสร้างเม็ดเลือดแดง

ผลการทดสอบการเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับการฉีดฮอร์โมนต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงรายงานผลเป็นปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 พบว่าการเสริมกระเทียมในอาหารไม่มีผลต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน แม้ว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนจะมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมกระเทียม อย่างไรก็ตามพบว่า ค่าเฉลี่ยดังกล่าวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 5: ผลของกระเทียมต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

กลุ่มทดลอง	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)
กลุ่มควบคุม	32 ± 0.6^{a}
ฉีดฮอร์โมน	33 ± 1.4^{a}
เสริมกระเทียม 6%	31 ± 1.6^{a}
เสริมกระเทียม 8%	30 ± 1.6^{a}
เสริมกระเทียม 10%	30 ± 1.0^{a}

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลของกระเทียมต่อระดับโคเลสเตอรอลและ low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ในเลือด

ผลของการเสริมกระเทียมสดต่อระดับโคเลสเตอรอลและ LDL-C ในเลือดได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 เมื่อเสริมกระเทียมที่ระดับต่างๆ ลงในอาหารไก่เนื้อ แล้ววัดระดับโคเลสเตอรอล และ LDL-C ในเลือดพบว่า การเสริมกระเทียมที่ 6 และ 8% ไม่มีผลลดระดับโคเลสเตอรอลในกระแสเลือด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน แต่การเสริมกระเทียมที่ระดับ 10% จะทำให้ระดับโคเลสเตอรอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งผลที่ได้นี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผลต่อระดับ LDL-C ในกระแสเลือด

ตารางที่ 6: ผลของกระเทียมต่อระดับโคเลสเตอรอลและ LDL-C ในเลือด

กลุ่มทดลอง	ระดับโคเลสเตอรอล (mg/dl)	ระดับ LDL-C (mg/dl)
กลุ่มควบคุม	130 ± 6^{a}	33 ± 3^{a}
ฉีดฮอร์โมน	130 ± 4^{a}	29 ± 1^{a}
เสริมกระเทียม 6%	132 ± 5^{a}	33 ± 3^{a}
เสริมกระเทียม 8%	130 ± 6^{a}	29 ± 3^{a}
เสริมกระเทียม 10%	109 ± 6^{b}	26 ± 2^{b}

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรกำกับไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

บทที่ 4

บทสรุป

ผลของกระเทียมต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร

การเสริมกระเทียมสดที่ระดับ 6 และ 8% ในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต แต่การเสริมที่ระดับสูงขึ้นเป็น 10% มีผลลดอัตราการเจริญเติบโต ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลกระทบต่อการดูดซึม (นันทวัน บุญยะประภัศร, 2547) นอกจากนี้พบว่าระดับของกระเทียมสดที่เสริมมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่เนื้อแตกต่างกัน โดยการเสริมกระเทียมที่ระดับ 8% จะมีผลเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหารมากกว่าที่ระดับอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สาโรจ ค้าเจริญ และคณะ (2546) ที่รายงานว่า ระดับของการเสริมกระเทียม (ตากแห้ง) ให้ผลแตกต่างกันในแง่ของการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร ซึ่งการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหารของกระเทียมในไก่เนื้อนี้อาจเนื่องมาจากการที่กระเทียมมีส่วนประกอบเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยอาหารได้ ดังเช่นรายงานโดย รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ (2545)

การเสริมกระเทียมสดทุกระดับในอาหารช่วยลดอัตราการตายของไก่เนื้อ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สาโรจ ค้าเจริญ และคณะ (2546) ที่รายงานว่าการเสริมกระเทียมในอาหารทำให้ไก่เนื้อมีอัตราเลี้ยงรอดสูง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระเทียมมีสารออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ และป้องกันการอักเสบ (McCartney, 2002) ทำให้สามารถทนต่อการติดเชื้อโรคต่างๆ ได้ดี

เป็นที่น่าสังเกตว่าการฉีดฮอร์โมนให้กับไก่เนื้อ ไม่ได้ช่วยในแง่ของ การเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Scanes (2003) ที่รายงานว่าการให้ฮอร์โมนเพศไม่มีผลไปเพิ่มสมรรถนะการผลิตในสัตว์ปีก แต่ยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่ชัดว่าเหตุใดจึงเป็นเช่นนั้น

ผลของกระเทียมต่อการสร้างกล้ามเนื้อ

การเสริมกระเทียมสดในอาหารทุกระดับ ไม่ได้มีผลทำให้ขนาดของเซลล์กล้ามเนื้อใหญ่ขึ้นเช่นที่พบในกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมน แต่การเสริมกระเทียมจะทำให้เซลล์กล้ามมีขนาดเล็กลงและมีจำนวนมากขึ้น หรืออาจกล่าวได้ว่ามีปริมาณเนื้อมากขึ้น ผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ อุไร แสนคุณท้าว (2546) ซึ่งรายงานว่าการเสริมกระเทียมผงที่มีสารอัลลิซิน 150-200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมช่วยเพิ่มปริมาณเนื้อ และทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อเพิ่มมากขึ้น ลักษณะเส้นใยของเนื้อมีความยืดหยุ่นมากขึ้นเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค

ผลของกระเทียมต่อการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2

การเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ทุกระดับไม่มีผลเพิ่มหรือกระตุ้นการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2 สุจินต์ สิมารักษ์ (2532) รายงานว่าการแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2 ในสัตว์ปีกนั้น จะขึ้นกับอิทธิพลของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในระยะแรก แต่ในระยะหลัง การแสดงออกของลักษณะเพศขั้นที่ 2 จะขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อม เช่น อาหาร อุณหภูมิ และแสงสว่าง ดังจะเห็นได้จากการสังเกตในการวิจัยนี้ว่า การปรากฏของหงอนและเหนียงจะพบในกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนเป็นกลุ่มแรก แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันในแง่ของสีและขนาดของหงอนและเหนียงแต่อย่างใด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองทั้งหมด เช่นเดียวกับขนาดของหงอนและเหนียง จะเห็นได้ว่าการฉีดฮอร์โมนไม่ได้ทำให้ขนาดของอัณฑะต่อน้ำหนักตัวมากขึ้น ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้อัณฑะมีขนาดลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเทสโทสเตอโรนจะมีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ spermatogonium ในหลอดสร้างอสุจิ ให้มีการแบ่งตัว และพัฒนาไปเป็นอสุจิมากกว่าที่จะออกฤทธิ์ในการกระตุ้นให้อัณฑะมีขนาดต่อน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ดังจะได้กล่าวถึงในหัวข้อถัดไป

ผลของกระเทียมต่อจำนวนหลอดสร้างอสุจิและการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ที่สร้างอสุจิ

การเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ 6 และ 8% ในอาหารไก่เนื้อมีผลกระตุ้นการแบ่งตัวและพัฒนาของ spermatogonium ไปเป็นเซลล์อสุจิ ซึ่งให้ผลกระตุ้นคล้ายคลึงกับการฉีดฮอร์โมนเพศ อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำการตรวจวัดระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน แต่มีรายงานการวิจัยของ Oi และคณะ (2001) กล่าวว่าการให้หนูทดลองกินกระเทียมผสมอาหารมีผลทำให้ ระดับฮอร์โมนเพศเทสโทสเตอโรนในอัณฑะสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมกระเทียมลงในอาหาร อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้อีกประการหนึ่งที่สังเกตพบในการทดลองครั้งนี้ ที่จะสนับสนุนว่าสารในกระเทียมที่ให้มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเพศ นั่นคือ การลดลงหรือไม่พบการพัฒนาของเซลล์ spermatogonium เมื่อเพิ่มระดับกระเทียมที่เสริมในอาหารเป็น 10% อาจเป็นได้ว่าการเพิ่มระดับกระเทียมหรืออีกนัยหนึ่งเพิ่มฮอร์โมนเพศที่มากเกินไปทำให้เกิดการ desensitization หรือ down regulation (เฉื่อย) ระหว่างการจับของฮอร์โมนกับตัวรับสัญญาณบนผนังเซลล์ขึ้น

ผลของกระเทียมต่อการสร้างเม็ดเลือดแดง

การเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ทุกระดับไม่มีผลต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นโดยทั่วไปแล้วค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสามารถใช้บ่งบอกถึงสุขภาพของสัตว์ได้ นอกจากนี้มีรายงานว่ากระเทียมมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต (McCartney, 2002) จากการที่กระเทียมที่ระดับ 6-10% ไม่มีผลต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นนี้ เป็นการสนับสนุนว่าการเสริมกระเทียมใน

อาหารไม่มีผลต่อสุขภาพสัตว์ในแง่ลบ และกระเทียมไม่เป็นพิษต่อระบบไหลเวียนโลหิตและเมทาบอลิสมของเม็ดเลือดแดง

ผลของกระเทียมต่อระดับโคเลสเตอรอลและ low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ในเลือด

ผลของการเสริมกระเทียมที่ 10% ในอาหารสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลและ LDL-C ในพลาสมาลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Horton และคณะ (1991) ที่ศึกษาโดยใช้กระเทียมผง ทั้งนี้กระบวนการที่กระเทียมสามารถไปลดระดับโคเลสเตอรอลในพลาสมานั้น เนื่องมาจากสารประกอบที่ทำให้กระเทียมมีกลิ่นฉุนทำให้เอ็นไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMG-CoA reductase), cholesterol-7, α-hydroxylase และ fatty acid synthetase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลที่ตับลดลง (Qureshi et al., 1983)

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเสริมกระเทียมสดหั่นที่ระดับ 8% ในอาหารไก่เนื้อ น่าจะให้ประโยชน์ในแง่ของการผลิตและระบบสืบพันธุ์ในไก่มากที่สุด โดยพบว่าการเสริมกระเทียมที่ระดับนี้จะไปเพิ่มสมรรถนะการผลิต ลดอัตราการตาย เพิ่มจำนวนเซลล์กล้ามเนื้อโดยการลดขนาดลง เพิ่มจำนวนหลอดสร้างอสุจิและกระตุ้นการแบ่งตัวและพัฒนาของเซลล์ที่สร้างอสุจิ นอกจากนี้ยังไม่เป็นพิษต่อสัตว์ อย่างไรก็ตาม หากจะเลี้ยงไก่เนื้อให้ได้ไก่ที่มีระดับโคเลสเตอรอลต่ำ ซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ที่ต้องการหลีกเลี่ยงแหล่งโปรตีนที่มีโคเลสเตอรอลสูง การเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ระดับ 10% น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ผลิตและผู้บริโภคในอนาคต

บรรณานุกรม

นันทวัน บุญยะประภัศร. (2547). ปัญหาและข้อควรระวังในด้านการศึกษาวิจัยด้านสมุนไพรในสัตว์. ใน จรัส เรี่ยวเดชะ, คู่มือการวิจัยสมุนไพรในการผลิตสัตว์ 2. หน้า 9-13. ตรีรณสาร: กรุงเทพมหานคร.

รุ่งระวี เด็มศิริฤกษ์กุล และคณะ. (2545). สมุนไพรไทย: ยาที่ควรรู้. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศักดิโสภาการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร

สาโรจ ค้าเจริญ และคณะ. (2547). การศึกษาและพัฒนาการผลิตและการใช้สมุนไพรกระเทียม ฟ้าทะลายโจร และ ขมิ้นชันทดแทนสารต้านจุลชีพและสารสังเคราะห์เติมในอาหารไก่และสุกร. ใน จรัส เรี่ยวเดชะ, สมุนไพรไทย โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุสาหกรรมการผลิตสัตว์. หน้า 145-159. ตรีรณสาร: กรุงเทพมหานคร.

สุจินต์ สิมารักษ์. (2532). สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์ปีก. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. ภูมิปัญญาพื้นบ้านอีสานในการดูแลรักษาสัตว์เลี้ยง (Ethanoveterinay in Northeast of Thailand). ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ เรื่อง "สมุนไพรไทย โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุสาหกรรมการผลิตสัตว์" วันที่ 24-25 ตุลาคม 2545 ณ โรงแรมมารวยการ์เดนท์ (อัดสำเนา)

อุไร แสนคุณท้าว. (2547). ผลการเสริมกระเทียมผงในอาหารต่อคุณภาพซากของไก่เนื้อ. ใน จรัส เรี่ยวเดชะ, สมุนไพรไทย โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุสาหกรรมการผลิตสัตว์. หน้า 69-73. ตรีรณสาร: กรุงเทพมหานคร.

Aquel, M. B., Gharaibah, M. N. & Salhab, A. S. (1991). Direct relaxant effects of garlic juice on smooth and cardiac muscles. J Ethanopharmacol. 33.13-19.

Bacha, W. J. & Bacha, L. M. (2000). Color atlas of veterinary histology. Second edition. Lippincott Williams & Wilkins. USA.

Bhasin, S., Storer, T. W., Berman, N., Callegari, C., Clevenger, B., Phillips, J., Bunnell, T., Tricker, R., Shirazi, A. & Casaburi, R. (1996). The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. N. Eng. J. Med. 335. 1-7.

Birrenkott, G. P., Brockenfelt, G. E., Greer, J. A. & Owens, M. D. (2000). Topical application of garlic reduced north fowl mite infestation in laying hens. Poult. Sci. 79. 1575-1577.

Bordia, A., Bansal, H. C., Arora, S. K. & Singh, S. V. (1977). Effect of essential oil of onion and garlic on experimental atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis. 26. 379-386.

Campbell, T. W. (1995). Avian hematology and cytology. Ames Iowa State University Press. Iowa.

Carson, F.L. (1997). Histotechnology: A Self-Instruction text. ASCP Press. Hong Kong.

Chang, M. W. & Johnson, M. A. (1980). Effects of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. J. Nutr. 110. 931-936.

Chang, M. W. & Johnson, M. A. (1980). Effects of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. J. Nutr. 110. 931-936.

Chi, M. S., Koh, E. T. & Johnson, M. A. (1982). Effects of garlic on lipid metabolism in rat fed cholesterol or lard. J. Nutr. 112. 241-248.

Chowdhury, S. R., Chowdhury, S. D. & Smith, T. K. (2002). Effects of dietary garlic on cholesteral metabolism in laying hens. Poult. Sci. 81. 1856-1862.

Griggs, R. C., Kingston, W., Jozefowice, R. F., Herr, B. E., Forbes, G. & Halliday, D. (1989). Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. J. Appl. Physiol. 66. 498-503.

Hanafy, M. S., Shalaby, S. M., el-Fouly, M. A., Abd el-Aziz, M. I. & Soliman, F. A. (1994). Effect of garlic on lead contents in chicken tissues. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 101. 157-158.

Konjufca, V. H., Pesti, G. M. & Bakalli, R. I. (1997). Modulation of cholesterol levels in broiler meat by dietary garlic and copper. Poult. Sci. 76. 1264-1271.

Luna, L, G. (1968). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third edition. Mc Graw-Hill Book Company. New York.

McCartney, E. (2002). The natural empire strikes back. Poultry International. 41. 42-46.

Milner, J. R. (1996) Garlic: its anticarsinogenic and antitumerorigenic properties. Nutr. Rev. 54. S82-S86.

Prasad, G. & Sharma, V. L. (1980). Efficacy of garlic (*Allium sativum*) treatment against experimental candidiasis in chicks. Br. Vet. J. 136. 448-451.

Qureshi, A. A., Abuirmeileh, N., Din, Z. Z., Elson, C. E. & Burger, W. C. (1983). Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepathocytes by polar fractions of garlic. Lipids. 18. 343-348.

Oi, Y., Imafuku, M., Shishido, C., Kominato, Y., Nishimura, S. & Iwai, K. (2001). Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. J. Nutr. 131. 2150-2156.

Scanes, C. G. (2003). Biology of growth of domestic animals. Iowa State Press. Iowa.

Sharma, K. K., Sharma, A. L., Dwivedi, K. K. & Sharma, P. K. (1976). Effect of raw and boiled

garlic on blood choresterol in butter fat lipaemia. Ind. J. Nutr. Diet. 13. 7-10.

Shoetan, A., Augusti, K. T. & Joseph, P. K. (1984). Hypolipidemic effects of garlic oil in rats fed ethanol and a high lipid diet. Experimentia. 40. 261-263.

Sharman, V. D., Sethi, M. S., Kumar, A. & Rarotra, J. R. (1977). Antibacterial property of *Allium sativum* Linn. : *in vivo & in vitro* studies. Indian. J. Exp. Biol. 15. 466-468.

Sinha-hikim, I., Artaza, J., Woodhouse, L., Gonzalez-cadavid, N., Singh, A. B., Lee, M. I., Storer, T. W., Casaburi, R., Shen, R. & Bhasin, S. (2002). Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hyperthrophy. Am. J. Physiol. Endrocrino. Metab. 283. 154-164.

Sreter, T., Szell, Z. & Varga, I. (1999). Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in chickens, using diclazuril, toltrazuril, or garlic extract. J. Parasitol. 85. 989-991.

Sundaram, S. G. & Milner, J. A. (1996). Diallyl disulfide inhibits the proliferation of human tumor cells in culture. Biochem. Biophys. Acta. 1315.15-20.

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (Automatic tissue processor)

1) เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม

เครื่องมือ/สารเคมี	รุ่น	ยี่ห้อ/บริษัท	ประเทศ	หมายเหตุ
เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ	Citadel 2000	Shandon	England	-
เครื่องหยอดพาราฟิน	Histocentre 2	Shandon	England	-
Microtome	M2	Shandon	England	6 ไมโครเมตร
Ethyl alcohol	-	BDH	England	AR grade
Acetone	-	Merck	Germany	-
Xylene	-	J.T. Baker	U.S.A	-
Hematoxylene	-	Merck	Germany	-
Eosin	-	Fluka		-
Paraffin	Paraplast- plus	Sherwood Med.	U.S.A	-
Microtome knife	Feather S-35	-	Japan	-

2) การเตรียมประกอบด้วย 12 ขั้นตอน เวลาในการเตรียม 21 ชั่วโมง

ลำดับ	สารเคมี	เวลา (ชั่วโมง)
1	70% Ethyl alcohol	1
2	80 % Ethyl alcohol	1
3	95 % Ethyl alcohol I	1
4	95 % Ethyl alcohol II	1.5
5	100 % Ethyl alcohol I	1.5
6	100 % Ethyl alcohol II	1.5
7	Acetone	1.5
8	Xylene I	2
9	Xylene II	2
10	Xylene III	2
11	Paraffin I	3
12	Paraffin II	3

3) ขั้นตอนการย้อมสีฮีมาท็อกซิลิน และอีโอซิน

ลำดับ	สารเคมี	เวลา
1	Xylene I และ II	นานครั้งละ 5 นาที
2	100% Alcohol	2 นาที
3	95% Alcohol	2 นาที
4	70% Alcohol	2 นาที
5	ล้างน้ำประปาไหลผ่าน	1-2 นาที
6	ย้อมสีฮีมาท็อกซิลิน	5-6 นาที
7	ล้างน้ำประปาไหลผ่าน	1-2 นาที
8	ลง 1% แอซิดแอลกอฮอล์จุ่มเร็วๆ	1-2 ครั้ง
9	ล้างน้ำประปาไหลผ่าน	1 นาที
10	จุ่มในลิเทียมคาร์บอเนต ($LiCO_3$)	1 นาที
11	ล้างน้ำประปาไหลผ่าน	1 นาที
12	ย้อมสีอีโอซิน	2 นาที
13	จุ่มใน 70% Alcohol	30 วินาที - 1 นาที
14	95% Alcohol I และ II	ครั้งละ 2 นาที
15	100% Alcohol I และ II	ครั้งละ 2 นาที
16	Xylene I และ II	5 นาที
17	หยดเปอร์เมาต์ปิดกระจกสไลด์	-

ภาคผนวก ข

สูตรสีฮีมาท็อกซิลิน (Luma, 1968)

1)	ฮีมาท็อกซิลิน (hematoxylin crystal)	1	กรัม
2)	น้ำกลั่น	1, 000	มิลลิลิตร
3)	โซเดียมไอโอไดด (sodium iodate)	0.2	กรัม
4)	แอมโมเนียมอาลัม หรือโปแตสเซียมอาลัม (ammonium or potassium alum)	50	มิลลิลิตร
5)	กรดซิตริก (citric acid)	1	กรัม
6)	คลอรอลไฮเดรต (chloral hydrate)	50	กรัม

วิธีเตรียม ละลายอาลัม (alum) ในน้ำกลั่นโดยไม่ต้องใช้ความร้อน แล้วเติมฮีมาท็อกซิลิน คนให้ละลายในสารละลายนี้ จากนั้นเติมโซเดียมไอโอเดต กรดซิตริก และคลอรอลไฮเดรต ใช้แท่งแก้วคนจนส่วนประกอบเหล่านี้ละลายเข้ากันดีอย่างสมบูรณ์ สีในขั้นสุดท้ายจะเป็นสีม่วงแดง (reddish violet)

สูตรสีอีโอซิน (Luma, 1968)

1% สต๊อก แอลกอฮอลิกอีโอซิน

1)	อีโอซินวาย ละลายน้ำได้ (eosin Y, water soluble)	1	กรัม
2)	น้ำกลั่น ละลายเข้ากันแล้วจึงเติม	20	มิลลิลิตร
3)	แอลกอฮอล์ 95%	80	มิลลิลิตร

สารละลายเวอคกิงอีโอซิน (working solution)

1)	สารละลายอีโอซินสต๊อก (eosin stock solution)	1	ส่วน
2)	แอลกอฮอล์ 80%	3	ส่วน

ก่อนใช้ให้เติม 0.05 มิลลิลิตร ของกรดแอซิติกเข้มข้น ต่อ 100 มิลลิลิตร ของสีแล้วคนให้เข้ากัน

ประวัติผู้วิจัย

นางศจีรา คุปพิทยานันท์ ตำแหน่งอาจารย์ เกิดวันเสาร์ที่ 7 เดือนมีนาคม พุทธศักราช 2513 ที่อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิตเกียรตินิยม จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีพุทธศักราช 2537 จากนั้นได้รับทุนจากบริติสเคาน์ซิลและรัฐบาลไทยให้ไปศึกษาต่อระดับมหาบัณฑิตและดุษฎีบัณฑิตในสาขาสรีรวิทยาที่ มหาวิทยาลัยลิเวอร์พูล ประเทศอังกฤษ สำเร็จการศึกษาในปีพุทธศักราช 2546 ขณะกำลังศึกษา ณ สถานศึกษาดังกล่าว ได้รับทุนนักสรีรวิทยารุ่นเยาว์ (Young Physiologist) จากมหาวิทยาลัยฯ เพื่อนำเสนอผลงานวิจัย ปีละ 1,000 ปอนด์ตลอดระยะเวลาการศึกษา ปัจจุบันปฏิบัติงานที่ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ถนนมหาวิทยาลัย 1 ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา รหัสไปรษณีย์ 30000 มีประสบการณ์ในการวิจัยและผลงานทางวิชาการทางด้านสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์ที่ได้รับการตีพิมพ์ผลงานฉบับเต็มในวารสารนานาชาติจำนวน 10 เรื่อง วารสารไทยจำนวน 1 เรื่อง และบทคัดย่อในวารสารนานาชาติจำนวน 8 เรื่อง ในช่วงปี 2543 ถึง 2548