

เนื้อหางานวิจัย - วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของน้ำกระชายคั่นต่อพฤติกรรมทางเพศในหนูขาวเพศผู้วัยก่อนและวัยเจริญพันธุ์
2. ศึกษาผลของน้ำกระชายคั่นต่อน้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ ความหนาแน่น รูปร่างและการเคลื่อนที่ของอสุจิ และระดับฮอร์โมน testosterone, androstenedione (ADD) และ estradiol ในหนูขาวเพศผู้วัยก่อนและวัยเจริญพันธุ์
3. ศึกษาผลของน้ำกระชายคั่นต่อลักษณะจุลกายวิภาคของอวัยวะในหนูขาวเพศผู้วัยก่อนเจริญพันธุ์และวัยเจริญพันธุ์
4. การศึกษาผลของน้ำกระชายคั่นต่อลักษณะจุลกายวิภาคของตับและไตในหนูขาวเพศผู้วัยก่อนและวัยเจริญพันธุ์
5. การศึกษาผลของน้ำกระชายคั่นต่อค่าโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดในหนูขาวเพศผู้วัยก่อนและวัยเจริญพันธุ์

เนื้อหางานวิจัย - วิธีการดำเนินงานวิจัย

การเตรียมสัตว์ทดลอง

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้หนูขาว *Rattus norvegicus* สายพันธุ์ Wistar ทั้งสองเพศ น้ำหนักประมาณ 90-110 และ 200-240 กรัม ในช่วงวัยก่อน อายุ 4 สัปดาห์ และวัยเจริญพันธุ์ อายุ 6 สัปดาห์ตามลำดับ จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา จังหวัดนครปฐม มาทำการทดลองและดูแลตามมาตรฐานที่ได้ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (No. 11/2551)

การเตรียมน้ำกระชายสด

นำหัวกระชายสด (*Boesenbergia rotunda*) จากจังหวัดเชียงใหม่มาปั่นด้วยเครื่องปั่น และคั้นน้ำ เพื่อนำมาป้อนสัตว์ทดลองตามขนาดที่ต้องการ

การแบ่งกลุ่มการทดลอง

เตรียมแบ่งหนูเพศผู้ออกเป็น 8 กลุ่มๆ ละ 8 ตัว โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 เป็นหนูเพศผู้ก่อนวัยเจริญพันธุ์ (Pre-mature male rat) จำนวน 32 ตัว แบ่งเป็น กลุ่มทดลอง 3 กลุ่มและกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม กลุ่มทดลองจะได้รับการป้อนน้ำกระชายสดที่มีขนาด 60, 120 และ 600 มก./กก. น้ำหนักตัว ส่วนกลุ่มควบคุมป้อนด้วยน้ำกลั่นวันละ 1 มล. เป็นเวลาต่อเนื่องกัน 30 วัน

ส่วนที่ 2 เป็นหนูเพศผู้วัยเจริญพันธุ์ (Mature male rat) จำนวน 32 ตัว ที่ได้มีการแบ่งกลุ่มและการทดลองเช่นเดียวกับส่วนที่ 1

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการประเมินพฤติกรรมทางเพศ น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ seminiferous tubule ความหนาแน่น รูปร่างและการเคลื่อนที่ของอสุจิ ระดับฮอร์โมน testosterone และ estradiol (Sudwan *et al.*, 2007a) ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะ ลักษณะจุลพยาธิวิทยาของตับและไต และค่าโลหิตวิทยาของเม็ดเลือด

การประเมินพฤติกรรมทางเพศ

เตรียมหนูเพศเมีย

โดยวิธีการทำ Vaginal Smear ในหนูเพศเมียทุกตัว (กลุ่มละ 20 ตัว) ในช่วงเวลา 08:00 – 09:00 น. คัดเลือกหนูที่อยู่ในระยะ estrous phase มาทดสอบพฤติกรรมทางเพศ

การทดสอบพฤติกรรมทางเพศ (Sexual behavior testing)

นำหนูเพศผู้มาใส่ในกรงที่ทำการทดสอบ ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เพื่อการปรับตัว แล้วจึงหย่อนหนูเพศเมียลงไปในกรง สังเกตและบันทึกพฤติกรรมทางเพศด้วยวีดิทัศน์เป็นเวลา 30 นาที

ระดับฮอร์โมนเพศ

สลับหนูและทำการผ่าตัดเพื่อนำเลือดจากหัวใจห้องล่างซ้าย เพื่อเตรียม serum และ นำมาศึกษาาระดับฮอร์โมน testosterone และ estradiol ด้วยวิธี electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) และระดับฮอร์โมน androstenedione (ADD) ด้วยวิธี radioimmunoassay (RIA)

การประเมิน น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ และความหนาแน่นของอสุจิ

ชำแหละอวัยวะสืบพันธุ์เพื่อนำมาชั่งน้ำหนัก และนำ epididymis 1 ข้างมาศึกษาความหนาแน่นของอสุจิตัว hemocytometer และศึกษารูปร่างและการเคลื่อนที่ของอสุจิ

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอัณฑะและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ seminiferous tubule

นำอัณฑะ 1 ข้างมาศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของอัณฑะเพื่อศึกษาลักษณะโดยทั่วไปและความชุกของระยะที่ VII-VIII เทียบกับระยะอื่นๆ ของ seminiferous tubule ด้วยเทคนิคที่ใช้ paraffin ที่นำมาย้อมด้วย hematoxylin and eosin (H&E) และ periodic acid-Schiff (PAS) และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ seminiferous tubule ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของตับและไต

นำตับและไตมาตัดเป็นชิ้นเล็ก เพื่อนำมาศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ด้วยเทคนิคพาราฟินและย้อมด้วย hematoxylin and eosin (H&E) และ periodic acid-Schiff (PAS) และแปลผลโดยพยาธิแพทย์

ระดับโลหิตวิทยาของเม็ดเลือด

นำเลือดที่ได้มาวัดและจำแนกค่าต่างๆ ของเลือดและเม็ดเลือด

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) และ least significant difference (LSD) ในกรณีที่ค่าความแปรปรวนไม่เท่ากันวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Kruskal-Wallis test และ Mann-Whitney test ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.0 และกำหนดค่าระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$

เนื้อหางานวิจัย - ผลการวิจัย

1. พฤติกรรมทางเพศ (การเกี้ยวพาราสี ความถี่ในการขี่คร่อม ช่วงเวลาในการขี่คร่อมครั้งแรก ความถี่ในการสอดใส่อวัยวะเพศ และช่วงเวลาในการสอดใส่อวัยวะเพศครั้งแรก)

ตลอดช่วงการสังเกต 30 นาทีในหนูขาวเพศผู้ กลุ่มวัยเจริญพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของพฤติกรรมทางเพศของหนูทุกค่าพารามิเตอร์ (ตาราง 1)

ตาราง 1 Sexual behavior parameters of mature male rats treated with *B. rotunda* juice (60, 120 and 600 mg/kg) and control groups. MF = mount frequency, IF = intromission frequency, ML = Mount latency.

Parameter (Mean±S.D.)	Groups (n=8 each)			
	Control	60 mg/kg	120 mg/kg	600 mg/kg
Courtship	652.00±160.04	795.88±87.41	773.38±113.93	846.50±69.87
MF	8.75±5.90	18.50±10.74	17.38±10.84	19.62±9.21
IF	1.88±4.22	6.62±14.40	2.38±4.24	2.34±5.61
ML	170.12±388.77	43.00±43.60	16.25±10.17	24.00±20.37
IL	1424.6±695.54	1354.9±784.59	1180.8±856.47	1402.5±736.20

There were no significant differences; one-way ANOVA.

Data expressed as mean and standard deviation (SD).

เมื่อมีการแบ่งช่วงเวลาในการศึกษาพฤติกรรมทางเพศเป็น 3 ช่วงๆ ละ 10 นาที หนูขาวเพศผู้ทุกกลุ่มมีพฤติกรรมเกี้ยวพาราสีและความถี่ในการขี่คร่อมในช่วง 10 นาทีแรกมากกว่าช่วง 10 นาทีที่ 2 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ขณะที่ความถี่ในการสอดใส่

อวัยวะเพศไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 ช่วงเวลา หนูขาวมีพฤติกรรมการเกี้ยวพาราสีที่ความเข้มข้น 600 มก./กก. น้ำหนักตัว ในช่วง 10 นาทีที่ 2 (ตาราง 2) และความถี่ในการขึ้นคร่อมที่ความเข้มข้น 60 มก./กก. น้ำหนักตัว ในช่วง 10 นาทีที่ 3 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังตารางที่ 3

ตาราง 2 Times of courtship behavior (seconds) of male rats receiving *B. rotunda* juice at different doses for 26-30 days, in three 10-min observations over a 30 min period;. 1st 10 min = 1st 10 min observation, 2nd 10 min = 2nd 10 min observation, 3rd 10 min = 3rd 10 min observation.

Groups (n=8 each)	Day 26-30		
	1 st 10 min	2 nd 10 min	3 rd 10 min
Control	342.12±82.44 ^a	163.62±64.89 ^b	146.25±47.27 ^b
60 mg/kg	363.75±54.83 ^a	204.00±66.29 ^{bc}	192.12±63.82 ^{bc}
120 mg/kg	342.88±26 ^a	226.12±27.45 ^{bc}	208.38±77.64 ^{bc}
600 mg/kg	396.00±42.05 ^a	239.88±35.43 ^c	210.62±35.20 ^{bc}

^{a,b,c} The mean differences are significant at the 0.05 level; Two-way ANOVA followed by one-way ANOVA and LSD.

ตาราง 3 MF (numbers) of mature male rats receiving *B. rotunda* juice at different doses for 26-30 days, in three 10 minute observations over a 30 min period;. 1st 10 min = 1st 10 min observation, 2nd 10 min = 2nd 10 min observation, 3rd 10 min = 3rd 10 min observation.

Groups (n=8 each)	Day 26-30		
	1 st 10 min	2 nd 10 min	3 rd 10 min
Control	7.25±5.12 ^a	0.88±0.99 ^{bc}	0.62±1.41 ^b
60 mg/kg	11.62±7.54 ^a	3.12±3.40 ^{bc}	3.75±2.77 ^c
120 mg/kg	14.62±9.94 ^a	2.00±2.07 ^{bc}	0.75±1.17 ^{bc}
600 mg/kg	15.25±7.29 ^a	2.12±1.25 ^{bc}	2.25±1.83 ^{bc}

^{a,b,c} The mean differences are significant at the 0.05 level; Two-way ANOVA followed by one-way ANOVA and LSD.

ในหนูเพศผู้วัยก่อนเจริญพันธุ์พบว่าในการสังเกตตลอดช่วง 30 นาทีพฤติกรรมทางเพศ ไม่มีความแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 4) มีหนูที่ได้รับน้ำกระชายคัน เพียง 2 ตัว (1 ตัวที่ความเข้มข้น 60 มก./กก. น้ำหนักตัว และ 1 ตัวที่ความเข้มข้น 600 มก./กก. น้ำหนักตัว ที่มีพฤติกรรมการสอดใส่อวัยวะเพศ

ตาราง 4 Sexual behavior parameters of premature male rats treated with *B. rotunda* juice (60, 120 and 600 mg/kg) and control groups. MF = mount frequency, IF = intromission frequency, ML = Mount latency.

Parameter (Mean±S.D.)	Groups (n=8 each)			
	Control	60 mg/kg	120 mg/kg	600 mg/kg
Courtship	600.50±164.59	611.12±164.20	699.88±149.65	627.00±157.57
MF	15.62±13.22	15.50±13.82	14.62±8.09	14.08±12.23
IF	0.00±0.00	0.38±1.06	0.00±0.00	0.50±1.41
ML	289.25±525.76	75.88±102.59	17.25±13.92	29.88±22.21

There were no significant differences; one-way ANOVA.

Data expressed as mean and standard deviation (SD).

อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการแบ่งช่วงเวลาในการสังเกตพฤติกรรมทางเพศเป็น 3 ช่วงๆ ละ 10 นาทีใน 30 นาที พบว่าหนูขาวเพศผู้วัยก่อนเจริญพันธุ์ทุกกลุ่มมีพฤติกรรมการเกี้ยวพาราสี (ตาราง 5) และความถี่ในการขี่คร่อมในช่วง 10 นาทีแรกมากกว่าช่วง 10 นาทีที่ 2 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ยกเว้นกลุ่มที่ป้อนด้วยน้ำกระชายสดคันที่ความเข้มข้น 600 มก./กก. น้ำหนักตัว มีพฤติกรรมการขี่คร่อม มีความถี่สูงสม่ำเสมอตลอดทั้ง 3 ช่วง ขณะที่กลุ่มอื่นมีความถี่สูงในการขี่คร่อมในช่วง 10 นาทีแรกมากกว่าช่วง 10 นาทีที่ 2 และ/หรือ 3 เท่านั้น (ตาราง 6)

ตาราง 5 Times of courtship behavior (seconds) of male rats receiving *B. rotunda* juice at different doses for 26-30 days, in three 10-min observations over a 30 min period;. 1st 10 min = 1st 10 min observation, 2nd 10 min = 2nd 10 min observation, 3rd 10 min = 3rd 10 min observation.

Groups (n=8 each)	Day 26-30		
	1 st 10 min	2 nd 10 min	3 rd 10 min
Control	313.12±72.13 ^a	160.88±70.74 ^b	128.50±55.46 ^b
60 mg/kg	318.88±61.86 ^a	162.12±63.33 ^b	130.12±62.67 ^b
120 mg/kg	359.38±113.88 ^a	163.38±58.04 ^b	147.25±55.88 ^b
600 mg/kg	315.62±43.78 ^a	168.50±75.40 ^b	142.88±60.14 ^b

^{a,b} The mean differences are significant at the 0.05 level; Two-way ANOVA followed by one-way ANOVA and LSD.

ตาราง 6 MF (numbers) of premature male rats receiving *B. rotunda* juice at different doses for 26-30 days, in three 10 minute observations over a 30 min period;. 1st 10 min = 1st 10 min observation, 2nd 10 min = 2nd 10 min observation, 3rd 10 min = 3rd 10 min observation.

Groups (n=8 each)	Day 26-30		
	1 st 10 min	2 nd 10 min	3 rd 10 min
Control	10.88±11.06 ^{ab}	2.00±1.85 ^c	2.75±2.19 ^{bde}
60 mg/kg	9.50±7.56 ^{ac}	2.12±2.10 ^{bc}	3.88±4.58 ^{bcd}
120 mg/kg	9.75±4.13 ^a	1.50±1.31 ^c	3.12±4.55 ^{bde}
600 mg/kg	7.25±5.70 ^{ad}	3.62±4.63 ^{bde}	3.50±4.50 ^{bde}

^{a,b,c,d,e} The mean differences are significant at the 0.05 level; Two-way ANOVA followed by one-way ANOVA and LSD.

- ความหนาแน่นของอสุจิ - หนูขาวเพศผู้วัยเจริญพันธุ์ที่กินน้ำกระชายสดคั้นระดับความเข้มข้น 600 มก./กก. น้ำหนักตัว มีความหนาแน่นของอสุจิเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูป 1) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในหนูวัยก่อนเจริญพันธุ์ (รูป 2)

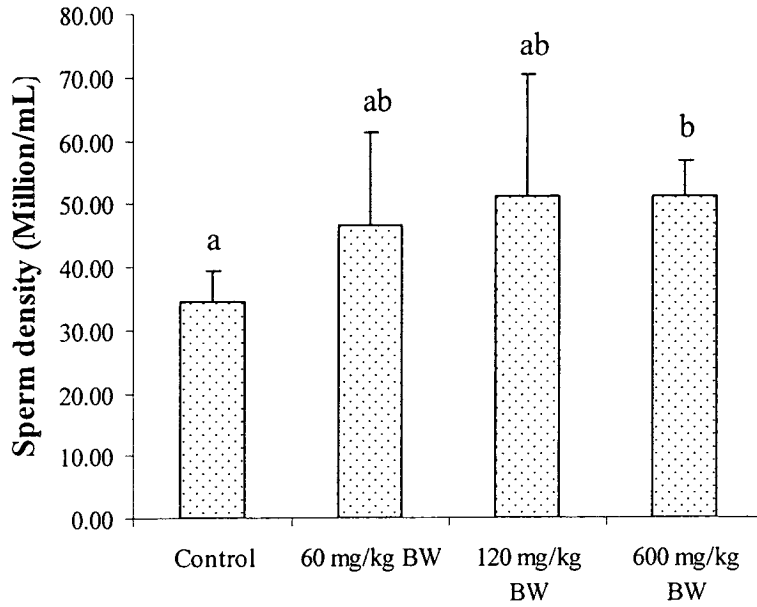


Figure 1 Sperm density of mature male rats treated with *B. rotunda* juice for 30 days (one-way ANOVA; there were no significant differences). The data were expressed as mean $\pm$ SD

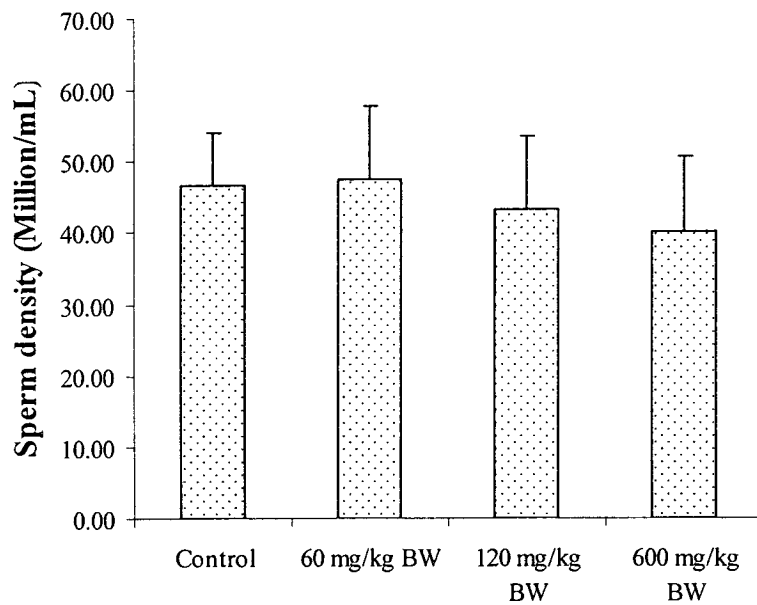
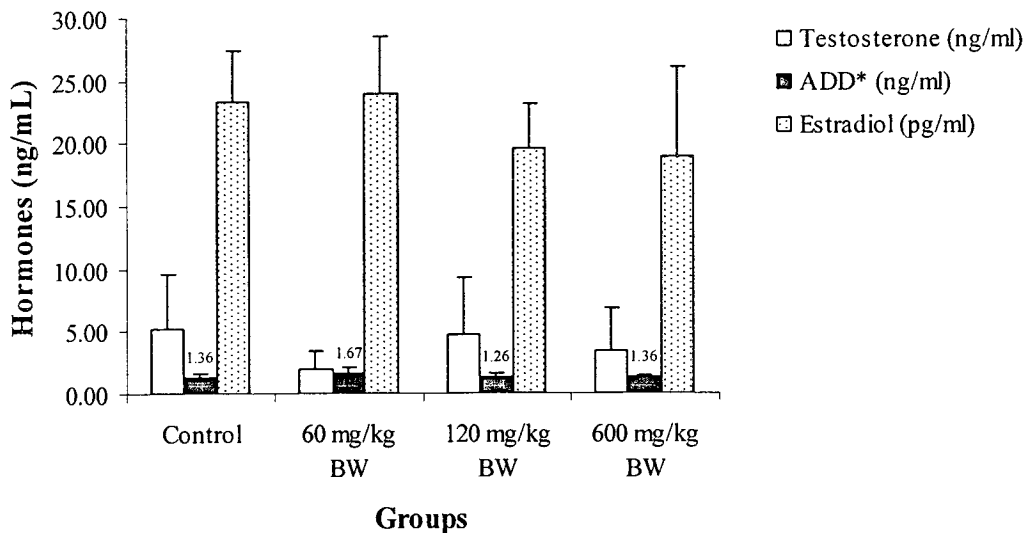
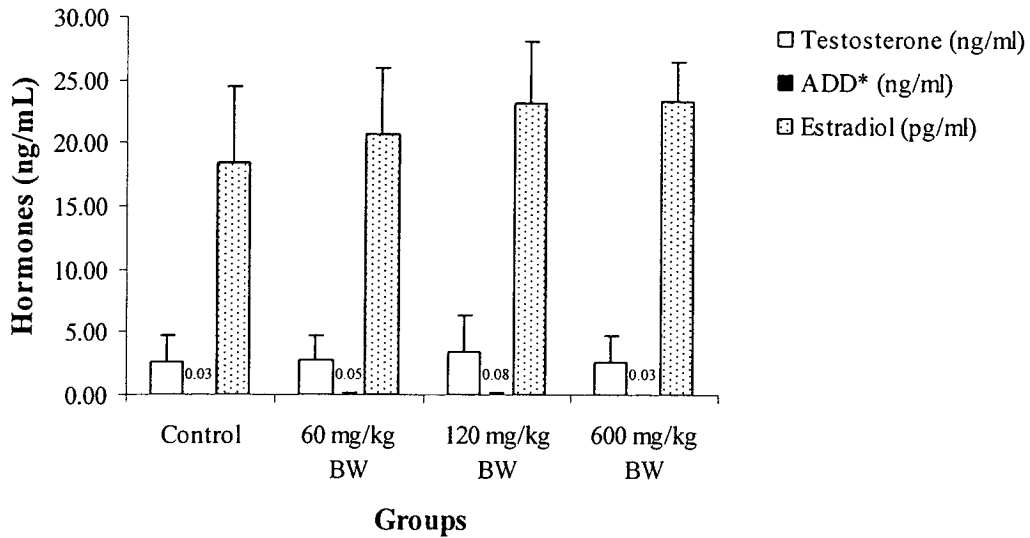


Figure 2. Sperm density of premature male rats treated with *B. rotunda* juice for 30 days (one-way ANOVA; there were no significant differences). The data were expressed as mean $\pm$ SD

3. คุณภาพของอสุจิ - หนูขาวเพศผู้วัยเจริญพันธุ์ที่กินน้ำกระชายสดคั้นระดับความเข้มข้น 60, 120 และ 600 มก./กก. น้ำหนักตัว มีคุณภาพอสุจิเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในหน่วยก่อนเจริญพันธุ์ (ภาคผนวก 1)
4. ระดับฮอร์โมนเพศ - หนูทั้งสองช่วงอายุไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน แอนโดรสติไนไดโอนและเอสตราไดออล ระหว่างกลุ่มที่กินน้ำกระชายสดคั้นกับกลุ่มควบคุม (รูป 3 และ 4)



รูป 3 Testosterone, androstenedione (ADD) and estradiol levels of mature male rats treated with *B. rotunda* extract for 30 days (one-way ANOVA and Kruskal-Wallis Test (*); there were no significant differences). The data were expressed as mean $\pm$ SD.



รูป 4 Testosterone, androstenedione (ADD) and estradiol levels of premature male rats treated with *B. rotunda* extract for 30 days (one-way ANOVA and Kruskal-Wallis Test (*); there were no significant differences). The data were expressed as mean $\pm$ SD.

5. น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ (อัณฑะ เอพิไดไมซิส ถุงน้ำเชื้อและต่อมลูกหมาก) - หนูทั้งสองช่วงอายุไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน แอนโดรสติไนไดโอนและเอสตราไดออล ระหว่างกลุ่มที่กินน้ำกระชายสดคั้นกับกลุ่มควบคุม (รูป 5 และ 6)

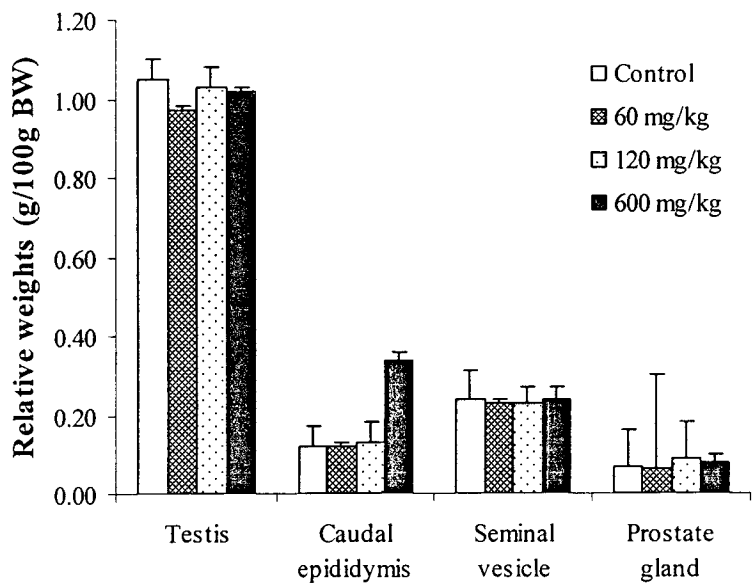


Figure 5 Relative reproductive organ weights (g/100 g body weight) of mature male rats treated with *B. rotunda* juice for 30 days (one-way ANOVA; there were no significant differences). The data were expressed as mean $\pm$ SD.

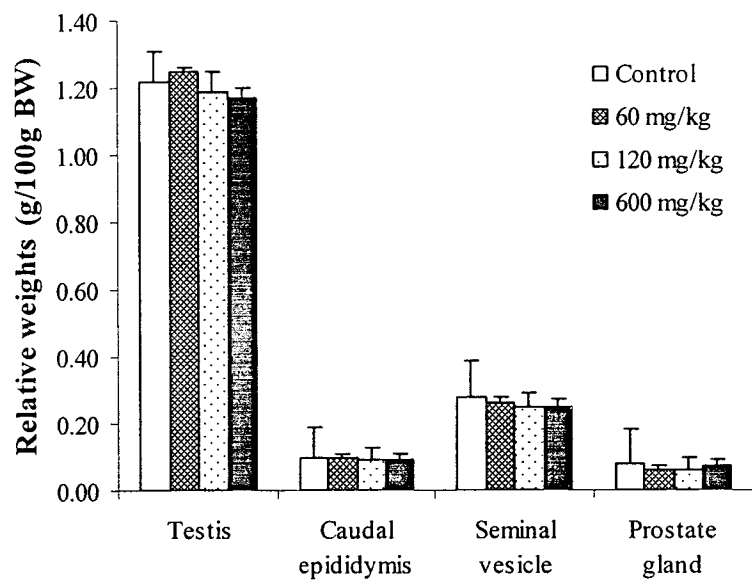
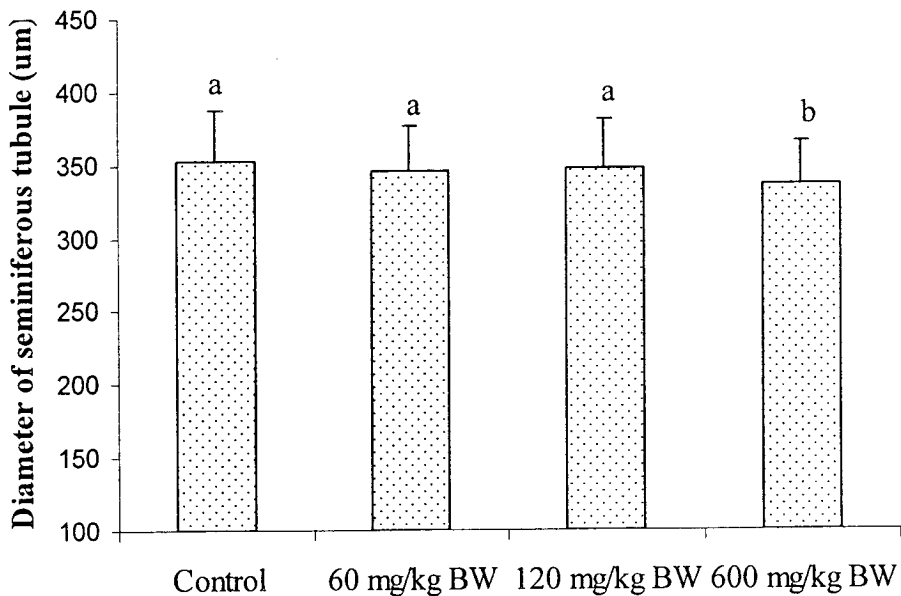
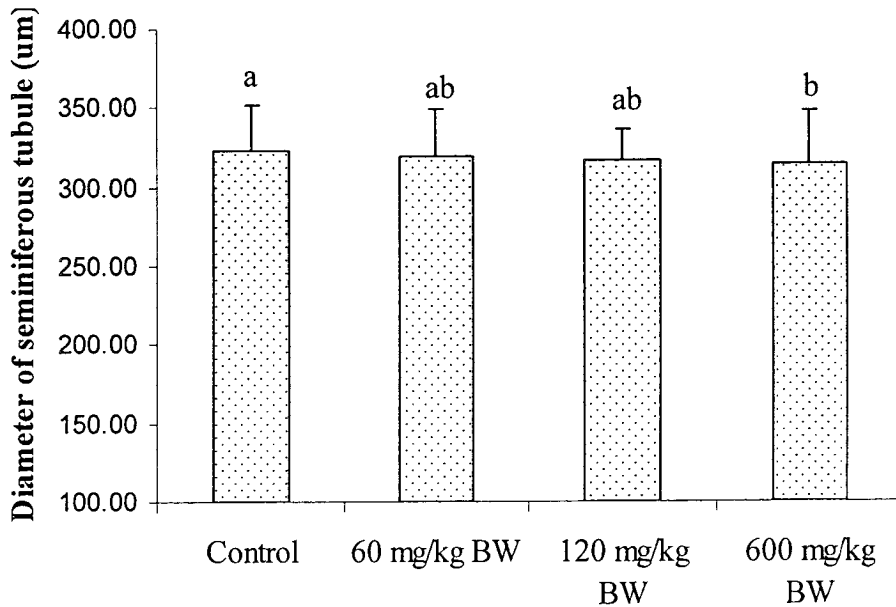


Figure 6 Relative reproductive organ weights (g/100 g body weight) of premature male rats treated with *B. rotunda* juice for 30 days (one-way ANOVA; there were no significant differences). The data were expressed as mean $\pm$ SD.

6. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอัณฑะ - หนูทั้งสองช่วงอายุมีลักษณะทางจุลกายวิภาคเป็นปกติเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มที่กินน้ำกระชายสดคั้นกับกลุ่มควบคุมของ seminiferous epithelium ที่ด้วยศึกษาด้วยเทคนิคพาราฟิน แต่หนูขาวเพศผู้วัยเจริญพันธุ์มีระยะที่ VII-VIII ของ seminiferous epithelium เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อกินน้ำกระชายสดคั้นทุกความเข้มข้น ซึ่งไม่พบการเปลี่ยนแปลงในหน่วยก่อนเจริญพันธุ์ (ภาคผนวก 1)
7. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ seminiferous tubule - หนูทั้งสองช่วงอายุที่กินน้ำกระชายสดคั้นที่ความเข้มข้น 600 มก./กก. น้ำหนักตัว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ seminiferous tubule น้ำหนักตัวเล็กกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูป 7 และ 8)



รูป 7 Diameter of seminiferous tubule of mature male rats treated with *B. rotunda* juice for 30 days (one-way ANOVA followed by LSD; $bP < 0.05$, compared with the control group). Cross-sections of seminiferous tubules were measured in each of 32 animals using a calibrated ocular micrometer under $40 \times$ objective lens (groups; $n = 160$ each)



รูป 8 Diameter of seminiferous tubule of premature male rats treated with *B. rotunda* juice for 30 days (one-way ANOVA followed by LSD; $bP < 0.05$, compared with the control group). Cross-sections of seminiferous tubules were measured in each of 32 animals using a calibrated ocular micrometer under $40 \times$ objective lens (groups; $n = 160$ each)

8. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของตับและไต - หนูทั้งสองช่วงอายุไม่พบลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของตับและไตที่ด้วยศึกษาด้วยเทคนิคพาราฟินเมื่อย้อมด้วย hematoxylin and eosin (H&E) และ periodic acid-Schiff (PAS) (ภาคผนวก 3)

9. หนูทั้งสองช่วงอายุมีระดับโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดเป็นปกติ

หนูทั้งวัยก่อน (ตาราง 5 และภาคผนวก 2) และวัยเจริญพันธุ์ (ตาราง 7) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนเม็ดเลือดขาวและการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวระหว่างกลุ่มที่กินน้ำกระชายสดคั้นกับกลุ่มควบคุม 8 และมีค่าฮีมาโทคริตอยู่ในเกณฑ์ปกติ

ตาราง 7. Hematological examinations of mature male rats treated with *B. rotunda* juice during 30 days compared with control. ANOVA followed by LSD ($P<0.05$) and Kruskal-Wallis Test (*). There were no significant differences.

Parameters	Group of male rats			
	Control (mean $\pm$ SD)	60 mg/kg (mean $\pm$ SD)	120 mg/kg (mean $\pm$ SD)	600 mg/kg (mean $\pm$ SD)
Hematocrit (%)	51.63 $\pm$ 3.02 ^a	49.50 $\pm$ 3.30 ^{ab}	49.50 $\pm$ 4.24 ^b	48.29 $\pm$ 3.53 ^{ab}
Total WBC (cu.mm)	4282.5 $\pm$ 1788.10	3610.0 $\pm$ 2319.11	4576.2 $\pm$ 1535.85	5428.6 $\pm$ 1668.97
Neutrophil (%)	15.77 $\pm$ 2.72	17.88 $\pm$ 6.22	15.75 $\pm$ 4.33	13.72 $\pm$ 3.31
Eosinophil* (%)	0.25 $\pm$ 0.47	0.38 $\pm$ 0.75	0.25 $\pm$ 0.47	0.43 $\pm$ 0.78
Basophil (%)	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Lymphocyte* (%)	80.98 $\pm$ 2.44	79.63 $\pm$ 7.59	80.37 $\pm$ 5.51	81.86 $\pm$ 3.98
Monocyte* (%)	3.00 $\pm$ 1.92	2.13 $\pm$ 1.36	3.63 $\pm$ 2.39	4.00 $\pm$ 2.94

ตาราง 8. Hematological examinations of premature male rats treated with *B. rotunda* juice during 30 days compared with control. ANOVA followed by LSD ($P<0.05$) and Kruskal-Wallis Test (*). There were no significant differences.

Parameters	Group of male rats			
	Control (mean $\pm$ SD)	60 mg/kg (mean $\pm$ SD)	120 mg/kg (mean $\pm$ SD)	600 mg/kg (mean $\pm$ SD)
Hematocrit (%)	47.60 $\pm$ 2.57	48.39 $\pm$ 1.77	48.96 $\pm$ 1.80	47.49 $\pm$ 1.66
Total WBC (cu.mm)	4679.06 $\pm$ 3000.61	2647.97 $\pm$ 2014.17	2254.22 $\pm$ 1856.67	4124.53 $\pm$ 1165.05
Neutrophil (%)	21.04 $\pm$ 5.39	19.96 $\pm$ 3.13	16.96 $\pm$ 3.47	17.96 $\pm$ 2.69
Eosinophil* (%)	1.04 $\pm$ 0.60	1.42 $\pm$ 0.77	1.00 $\pm$ 0.36	0.58 $\pm$ 0.39
Basophil (%)	0.75 $\pm$ 0.50	0.96 $\pm$ 0.58	0.46 $\pm$ 0.31	0.46 $\pm$ 0.08
Lymphocyte* (%)	75.00 $\pm$ 5.87	75.76 $\pm$ 3.85	78.54 $\pm$ 2.00	78.67 $\pm$ 2.38
Monocyte* (%)	2.08 $\pm$ 0.50	2.38 $\pm$ 0.58	3.12 $\pm$ 1.73	2.46 $\pm$ 0.25

10. หนูทั้งสองช่วงอายุมีน้ำหนักเพิ่มเป็นปกติและมีชีวิตรอดทุกตัวตลอดช่วง 30 วันในการป้อนน้ำกระชายคั้น

เนื้อหางานวิจัย - บทวิจารณ์

Results of the experiments indicate that all doses of *B. rotunda* juice produced no significant changes in the courtship behavior, MF, IF, ML and IL in the whole 30 min period of observation between treated and control groups. We found similar patterns of courtship behavior in three 10-min intervals over a 30 min period of all groups as in mature male rats treated with *K. parviflora* (Sudwan *et al*, 2006) and *B. rotunda* extracts (Sudwan *et al*, 2007a). Here, *B. rotunda* juice at the dose of 600 mg/kg bw affected the pre-mature male rats in MF by consistent behavior throughout the three 10-min periods, while that of control and other treated group was highest in the 1st 10-min observation, and *B. rotunda* juice at the dose of 600 mg/kg bw affected the mature male rats in courtship and the dose of 60 mg/kg bw affected the mature male rats in MF, being a sign of sexual potential of male, reflecting its ability to copulate the female. Because mount is one type of stereotyped copulatory responded (Phaus *et al*, 2006), it can be assumed that *B. rotunda* juice is necessary to maintain the time for copulation quality in the longer period.

The present study, *B. rotunda* juice could not promote the androgenic and estradiol hormones, reproductive organ weights. However, this research demonstrated that sperm density, sperm qualities, number of the stages VII to VIII of seminiferous epithelium, courtship and MF were facilitated by *B. rotunda* juice, it can be assumed to advantage in male reproductive system and its effect is age dependable. Moreover, the previous studies of the ethanolic extract of *B. rotunda* caused an increase in the sexual organ weights and seminiferous tubular diameter (Sudwan *et al*, 2007a), and secretory granules in Sertoli cell (Sudwan and Saenphet, 2007b).

Our results showed no significant difference between body weight of the male rats. All groups had a significant increase in body weight. There were no histopathological changes of liver and kidney or no significant difference of WBC or differential cell count in all rats as the works on mature rats (Saenphet *et al*, 2007). All values were at a normal level (Sharp and La Regina, 1998). Thus, continuous high concentration of *B. rotunda* juice could not harm pre-mature or mature male rats, which could support the use of *B. rotunda* as a traditional medicine for primary health care without toxicity (Hemhongsra, 1998; Chomchalow *et al*, 2006; Saenphet *et al*, 2007).

เนื้อหางานวิจัย - สรุปผลการวิจัย

น้ำกระชายคั้นสามารถเพิ่มภาวะเจริญพันธุ์ได้โดยการเพิ่มพฤติกรรมทางเพศในการเกี่ยวพาราสี และความถี่ในการช่ีคร่อม ความหนาแน่น รูปร่างและการเคลื่อนที่ของอสุจิ การเจริญระยะที่ VII-VIII ของ seminiferous epithelium ที่ขึ้นอยู่กัับวัยของหนูไม่มีผลต่อระดับฮอร์โมนเพศในซีรัม น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์เพศชาย และพบว่าน้ำกระชายสดคั้นความเข้มข้นสูง (600 มก./กก. น้ำหนักตัว) ที่กินต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน ไม่ได้เป็นพิษต่อหนูขาวเพศผู้ทั้งสองวัย