

ข้อสังเกตผลของการถอนวิตามินในอาหาร ต่อค่าภูมิคุ้มกันและสมรรถนะการผลิตในสุกรขุน

A Notice on Vitamin Withdrawal for the Immune Response and Performance in Fattening Pigs

รัตนา จิรารัตน์¹ จารึก เหลืองพุกษชาติ¹ และพันทิพา พงษ์เพียจันทร์¹

Rattana Jirarat¹ Jaruk Luangpruksachat¹ and Puntipa Pongpiachan¹

Abstract : An easy option for decreasing the cost of commercial swine production is to alter the pig feed. An experiment was carried out to test the effect of reducing vitamins in the diet of fattening pigs before marketing. This was began by dividing 40 swine, averaging 60 kg, into 2 pens consisting of 20 sows and 20 hogs. These groups were fed 59 days or average live weight of 100 kg with 4 diets : a control diet (T1); a diet from which 50% of the vitamins had been withdrawn from day 20-59 of the experiment (T2); a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 27-59 of the experiment (T3); and a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 33 of the experiment (T4). T1 and T2, T1 and T3, and T1 and T4 were compared regarding immune response to Sheep Red Blood Cells (SRBC). T2, T3, and T4 were stimulated after feeding their respective diets for day 13, 6 and at start respectively. Blood samples were collected after the first 7 days of stimulation. Then collected a 2nd and 3rd time after 10 and 20 days of stimulation. The results showed that all antibody titer response to SRBC were similar, except that T2 tended to be higher than T1 the 1st and 2nd time : 45.00, 18.00 and 29.50, 23.00 respectively. T3 and T4 tended to be high all 3 times, except that T3 and T4 were lower than the control : T1 was 18.00, 23.00 and 44.00; T2 was 45.00, 29.50 and 38.50; T3 was 14.85, 21.14 and 34.28; T4 was 18.28, 10.57 and 24.57 respectively. The average daily gain (ADG) of fattening pigs from 60 kg – market weight in T1, T2, T3 and T4 : 0.575, 0.564, 0.513 and 0.564 kg/day respectively was similar except that T3 was slightly lower. The results showed the feed conversion rate in T1, T2, T3 and T4 was also similar : 3.812, 3.898, 4.289 and 3.908 respectively, except that T3 tend to be higher than the other groups.

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Chaingmai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ : ในการผลิตสุกรเพื่อเป็นการค้า การพยายามลดต้นทุน โดยการปรับปรุงสูตรอาหารเป็นทางเลือกที่กระทำได้ง่าย จากการทดลองลดปริมาณวิตามินในสูตรอาหารสุกรขุนก่อนส่งตลาดเป็นช่วงๆ เริ่มจากสุกรน้ำหนักแต่ละกลุ่ม (40 ตัว) เฉลี่ยที่ 60 กิโลกรัม แยกคอกเพศผู้ 20 ตัว เพศเมีย 20 ตัวเลี้ยงด้วย สูตรอาหารดังนี้ คือ สูตรอาหารปกติ (T1) สูตรอาหารที่ลดวิตามินออก 50% ของสูตรปกติตั้งแต่วันที่ 20-59 ของการทดลอง (T2) สูตรอาหารที่ลดวิตามินออกทั้งหมดของสูตรปกติตั้งแต่วันที่ 27-59 ของการทดลอง (T3) และ สูตรอาหารที่ลดวิตามินออกทั้งหมด ของสูตรปกติตั้งแต่วันที่ 33 ของการเลี้ยง (T4) โดยเลี้ยงประมาณ 59 วัน หรือน้ำหนักโดยเฉลี่ย 100 กิโลกรัม ในด้านภูมิคุ้มกัน ทำการเปรียบเทียบระหว่าง T1 กับ T2, T1 กับ T3 และ T1 กับ T4 โดยวัดจากค่าการตอบสนองต่อเม็ดเลือดแดงแกะ (Sheep Red Blood Cell, SRBC) โดยที่ T2, T3 และ T4 จะถูกกระตุ้นด้วย SRBC หลังจากกินอาหารนั้นๆ ได้ 13, 6 และ 0 วันตามลำดับ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่ 1 หลังการกระตุ้นได้ 7 วัน และครั้งที่ 2 และ 3 ห่างจากครั้งแรก 10 และ 20 วันตามลำดับ พบว่าทุกการทดลองให้ผลค่าไตเตอร์ของการตอบสนองต่อ SRBC มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน แต่มีแนวโน้มว่า T2 จะให้ค่าไตเตอร์สูงกว่ากลุ่มควบคุม (T1) ในการวัดครั้งที่ 1 และ 2 คือ 45.00, 18.00 และ 29.50, 23.00 ตามลำดับ และ T3 และ T4 พบว่าค่าไตเตอร์จากการวัดทั้ง 3 ครั้งมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ยังคงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม คือ T1 : 18.00, 23.00 และ 44.00; T2 : 45.00, 29.50 และ 38.50; T3 : 14.85, 21.14 และ 34.28; T4 : 18.28, 10.57 และ 24.57 ตามลำดับ สำหรับอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) ของสุกรตั้งแต่เริ่มเลี้ยง-ส่งตลาดของ T1, T2, T3 และ T4 พบว่ามีแนวโน้มใกล้เคียงกัน คือ 0.575, 0.564, 0.513 และ 0.564 กก./วัน ตามลำดับ แต่ T3 มีแนวโน้มต่ำกว่าเล็กน้อย และอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของสุกรตั้งแต่เริ่มเลี้ยง-ส่งตลาดของ T1, T2, T3 และ T4 มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน คือ 3.812, 3.898, 4.289 และ 3.908 ตามลำดับ แต่ใน T3 มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มอื่น

Index words: สุกร วิตามิน การเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน

Pig, Vitamin, Growth, Hemagglutination

คำนำ

ในปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์เพื่อเป็นการค้าเน้น ที่การผลิตและสุขภาพสัตว์เป็นสำคัญ จึงมีการเสริม สารอาหาร เช่น วิตามิน แร่ธาตุ เอนไซม์ เพื่อช่วย ในการปรับปรุงอาหารฐานปรับปรุงประสิทธิภาพ การใช้อาหาร ช่วยลดการติดเชื้อ และมีความต้านทานต่อโรคสูงขึ้น ทั้งนี้เพราะสัตว์ต้องการสารอาหารเพื่อเข้าไปควบคุมกลไกการทำงานของขบวนการเมตาโบลิซึมในร่างกายวิตามินเป็นสารอาหารกลุ่มหนึ่งที่ร่างกายต้องการแต่ในปริมาณที่น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ สารอาหารกลุ่มอื่นๆ ดังนั้นการเสริมวิตามินในอาหารสัตว์อาจมาเกินความต้องการของร่างกายทำให้สัตว์มีการขับทิ้งออกจากร่างกายเช่น วิตามินที่ละลายน้ำได้ ถ้ามีมากเกินไปความ

ต้องการก็จะถูกขับออกมาทางปัสสาวะหรือทางมูล ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายอีกทั้งยังอาจเกิดการเป็นพิษจากการสะสมวิตามินในร่างกายอีกด้วย เช่น วิตามินที่ละลายในไขมัน (Pond and Church, 1995 ; McDonald *et al.*, 1995) พบว่าวิตามินซีมีผลต่อ ไชรอยด์โดยถ้าได้รับมากเกินไปมีผลกดขบวนการเมตาโบลิซึมไชรอยด์ (Brody, 1974) จากการศึกษาในหลาย ๆ งานทดลองพบว่าสัตว์สามารถขาดวิตามินหรือทนต่อการขาดได้ในระยะเวลาหนึ่งจึงแสดงอาการเจ็บป่วยออกมาให้เห็นหรือไม่จำเป็นต้องได้รับวิตามินครบทุกตัวเช่น ในหนู (rat) สามารถเลี้ยงด้วยอาหารที่ขาดวิตามินดีได้นานถึง 3 สัปดาห์จึงแสดงอาการขาดนอกจากนี้พบว่ามีเพียงสุนัข สุกรและไพรเมทบางกลุ่มที่การสร้างวิตามินซีนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดนิโคตินิกที่มีใน

อาหาร โดยที่หนู (rat) และไก่ สามารถสังเคราะห์ กรดนิโคตินิก ได้เอง แต่ก็มีวิตามินหลายตัวที่ต้องอาศัยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร เช่น โคไม่จำเป็นต้องได้รับ ไทอะมีนไรโบฟลาวิน ในอะซิน กรดแพนโทธิค ไพริดอกซิน วิตามินซี ในอาหารและบางครั้งรวม วิตามินเคด้วย จำนวนของวิตามินเปลี่ยนแปลงได้บ่อยถูกสร้างโดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของสัตว์ทุกชนิดแม้แต่ในคน ไบโอดีนิและวิตามิน เคปกติแล้วสร้างโดยแบคทีเรียภายในทางเดินอาหาร พอเพียงต่อความต้องการ แต่ถ้าได้รับยาฆ่าพยาธิ อาหารที่มีวิตามินเคจึงจำเป็นในหนู (rat, mouse) หนูตะเภา กระต่าย นกพิราบ ไก่ เป็ด ห่านและ นกขมิ้น และอาหารที่มีไบโอดีนิก็จำเป็นในไก่ และไก่วง บางครั้งวิตามินก็จำเป็นเฉพาะกับสัตว์นั้นๆ เช่น อาหารที่มีวิตามินซีพบว่าจำเป็นในพวกอาโทรฟิคและหนูตะเภาเพียงอย่างเดียว อาหารที่มีกรดนิโคตินิก ไม่จำเป็นในหนู (rat, mouse) และไก่แต่จำเป็นในสปีชีส์อื่นๆ อาหาร ที่มีวิตามินอีไม่จำเป็นในแพะและหมูแต่จำเป็นในหนู (rat, mouse) แฮมสเตอร์ หนูตะเภา กระต่าย ไก่ ไก่วง สุนัขและเป็ดอาหารที่มีโคลีน จำเป็นในหนู (rat) กระต่าย ไก่ ไก่วง สุนัข (Brody, 1974) Onodera and Kisara (1992) ทดลองในหนูเพศผู้สายพันธุ์ Wistar โดยให้อาหาร ที่ขาดไทอะมีนนานถึง 33 วัน พบว่าหนูเริ่มมี น้ำหนักลดลงอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 28 ของการ ทดลองพบว่าโคสามารถกินอาหารที่มีระดับ แคโรทีน ต่ำได้นานถึง 18 เดือน จึงแสดงอาการ ขาด (Booth *et al.*, 1999) ไก่เพศผู้สายพันธุ์ Lohmann เลี้ยงด้วยอาหารที่ขาดวิตามิน บี 6 เป็น ระยะเวลา 16 สัปดาห์ ไม่พบว่าระบบประสาทมีการทำหน้าที่ผิดปกติและอัตราการเจริญเติบโตก็พอๆกับกลุ่มควบคุม (Masses and Weiser, 1991) ฉะนั้นถ้าเรามีการจัดการอาหารที่ดีใช้วัตถุดิบอาหารที่มีคุณภาพสัตว์ก็สามารถได้รับสารอาหาร

เพียงพอแก่ความต้องการ ของร่างกายเพราะในวัตถุดิบอาหาร มีสารอาหารที่สัตว์ต้องการอยู่แล้ว ดังนั้นการถอนหรือลดปริมาณการใช้วิตามินในสูตรอาหารในช่วงระยะเวลาสั้นๆ น่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิต โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของสัตว์โดยทั่วไป

วิธีการทดลอง

สุกรพันธุ์ลูกผสมระหว่าง ลาร์จไวท์และ แลนด์เรซ (Large White X Landrace) จำนวน 160 ตัวเลี้ยงเป็นระยะเวลาประมาณ 59 วันที่ น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 60 กิโลกรัม ขังแยกเพศผู้และเพศเมียเพศละ 4 คอกๆละ 20 ตัว ใช้สูตรอาหารทั้งหมด 4 สูตรดังนี้

อาหารสูตรที่ 1 คือ อาหารสูตรปกติ (กลุ่มควบคุม, T1)

อาหารสูตรที่ 2 คือ อาหารที่ถอนวิตามินของอาหารสูตรปกติในวันที่ 20 ของการ เลี้ยง (T2)

อาหารสูตรที่ 3 คืออาหารที่ถอนวิตามินทั้งหมดจากอาหารสูตรปกติในวันที่ 27 ของการเลี้ยง (T3)

อาหารสูตรที่ 4 คืออาหารที่ถอนวิตามินทั้งหมดจากอาหารสูตรปกติในวันที่ 33 ของการเลี้ยง (T4)

โดยทำการเลี้ยงสุกรเป็นระยะเวลา 59 วัน หรือจนน้ำหนักเฉลี่ยถึง 100 กิโลกรัม ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงมีการจดบันทึกน้ำหนัก ตัวทุกๆ 10 วัน

ในด้านภูมิคุ้มกันทำได้โดยการกระตุ้น ด้วย เซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ (Sheep Red Blood Cell, SRBC) ในสุกร นำเซลล์มาล้างด้วยสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) 2 ครั้ง และนับเซลล์ให้ได้

ไม่ต่ำกว่า 10^9 เซลล์/มล. แล้วนำไปเจือจางให้ได้ 10%(v/v) ใน PBS จากนั้น นำไปฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณลำคอสุกร 2 ครั้ง ประมาณ 1 มล. ของ 10% เซลล์กิโกรัม ของน้ำหนักตัว โดยฉีดสุกร กลุ่มที่ 2,3 และ 4 ถูกกระตุ้นด้วย SRBC หลังจากกินอาหารเหล่านั้น ได้ 1,3,6 และ 0 วันตามลำดับและจากนั้นทำการ เก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่ 1 (Titer 1) หลังจากกระตุ้น ได้ 7 วันและครั้งที่ 2 (Titer 2) และ 3 (Titer 3) โดยห่างจากครั้งแรก 10 และ 20 วัน ตามลำดับ เพื่อนำมาหาค่าของแอนติบอดีไคเตอร์ (Heamagglutinating antibody titer) ตามวิธีของ Catty (1989)

ผลการทดลอง

จากผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง T1 กับ T2, T1 กับ T3 และ T1 กับ T4 พบว่าค่าไคเตอร์ของการตอบสนองต่อ SRBC มีแนวโน้ม

ใกล้เคียงกัน แต่มีแนวโน้มว่า T2 จะให้ค่าไคเตอร์สูงกว่ากลุ่มควบคุม (T1) ในการวัดครั้งที่ 1 และ 2 คือ 45.00, 18.00 และ 29.50, 23.00 ตามลำดับ ค่าไคเตอร์ของ T3 และ T4 ในการวัดทั้ง 3 ครั้งมีแนวโน้มสูงขึ้นแต่ยังต่ำกว่ากลุ่มควบคุมคือ T1:18.00, 23.00 และ 44.00; T2:45.00, 29.50 และ 38.50; T3:14.85, 21.14 และ 34.28; T4:18.28, 10.57 และ 24.57 ตามลำดับ และพบว่าค่าเฉลี่ย ของอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) ของสุกร ตั้งแต่เริ่มเลี้ยงส่งตลาด มีแนวโน้มใกล้เคียงกัน คือ 0.577, 0.564, 0.513, 0.564 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ แต่ใน T3 มีแนวโน้มต่ำกว่าเล็กน้อยและอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของสุกรตั้งแต่เริ่มเลี้ยงส่งตลาดมีแนวโน้มใกล้เคียงกัน คือ 3.812, 3.898, 4.289 และ 3.908 ตามลำดับ แต่ใน T3 ค่ามีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มอื่น

Table 1 Average heamagglutinating antibody titer on sheep red blood cell in fattening pigs.

Treatment	Titer 1	Titer 2	Titer 3
T1	18.00	23.00	44.00
T2	45.00	29.50	38.50
T3	14.85	21.14	34.28
T4	18.28	10.57	24.57

* Titer 1 ; after stimulated by SRBC for 7 days, Titer 2 ; after stimulated by SRBC for 17 days, Titer 3 ; after stimulated by SRBC for 27 days.

T1 = control diet

T2 = a diet from which 50% of the vitamins had been withdrawn from day 20-59 of the experiments

T3 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 27-59 of the experiments

T4 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 33 of the experiments

Table 2 Average daily gain (ADG) and feed conversion rate (FCR) in fattening pigs from 60 kg – market weight (59 days).

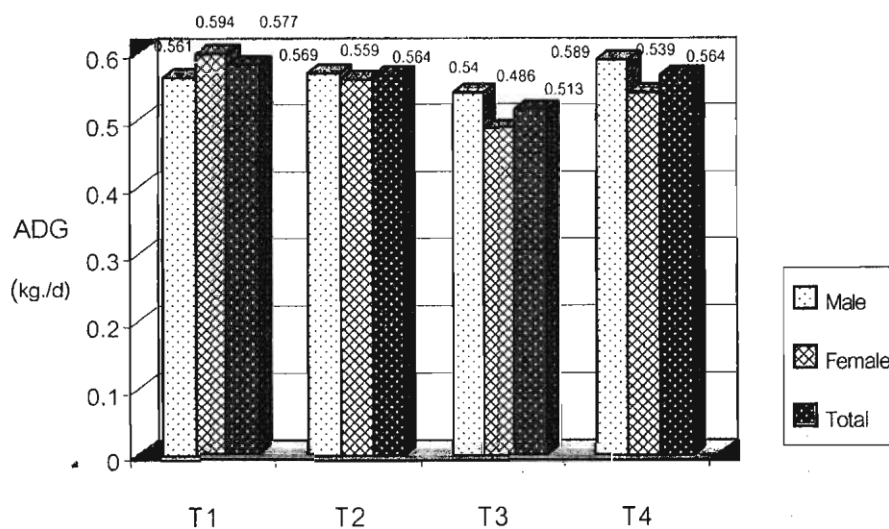
Average Treatment	ADG(kg.d)				FCR			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Male								
(20/pen)	0.561	0.569	0.54	0.589	3.921	3.864	4.056	3.735
Female								
(20/pen)	0.594	0.559	0.486	0.539	3.703	3.933	4.523	4.081
Total mean								
(40/pen)	0.577	0.564	0.513	0.564	3.812	3.898	4.289	3.908

T1 = control diet

T2 = a diet from which 50% of the vitamins had been withdrawn from day 20-59 of the experiments

T3 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 27-59 of the experiments

T4 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 33 of the experiments



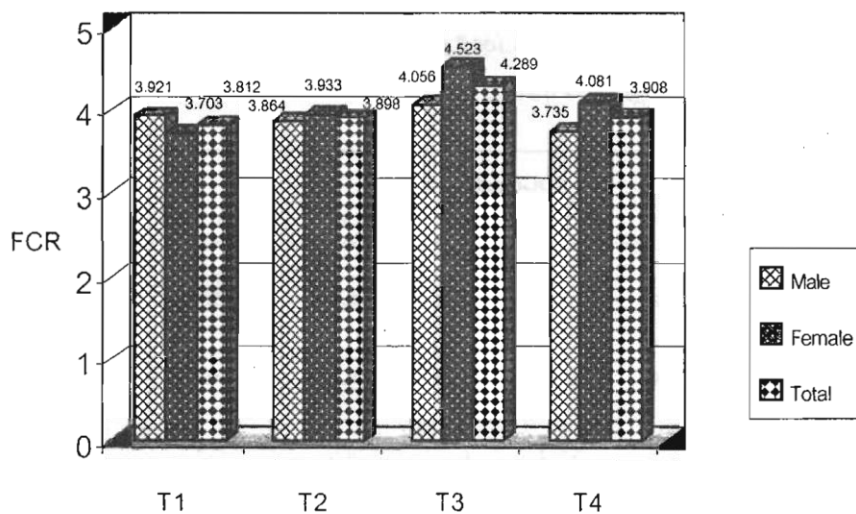
T1 = control diet

T2 = a diet from which 50% of the vitamins had been withdrawn from day 20-59 of the experiments

T3 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 27-59 of the experiments

T4 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 33 of the experiments

Figure 1 Average daily gain (ADG) in fattening pigs from 60 kg - market weight (59 days).



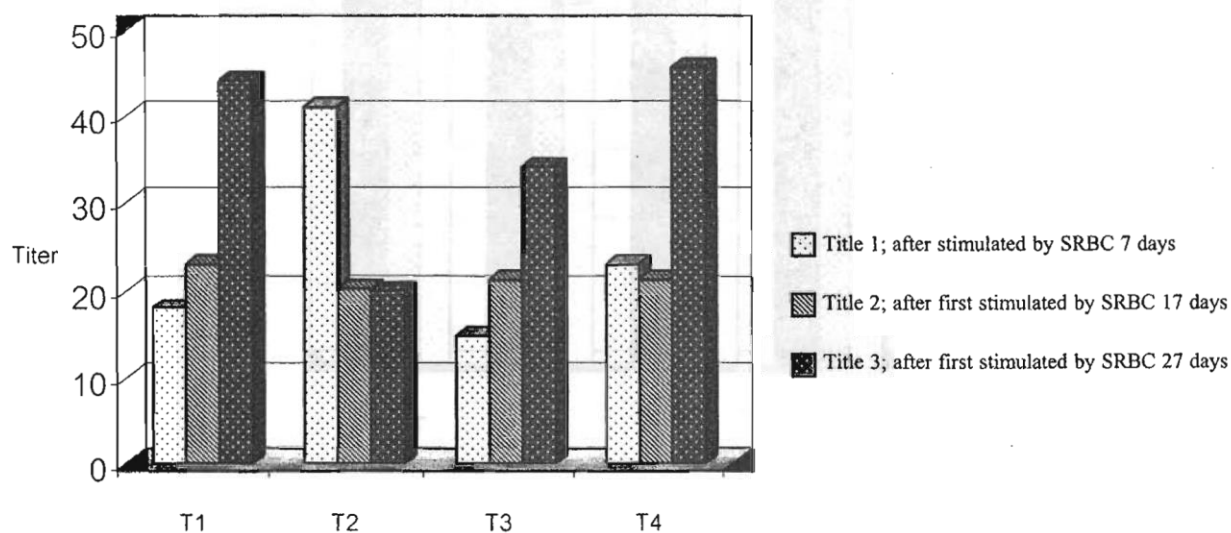
T1 = control diet

T2 = a diet from which 50% of the vitamins had been withdrawn from day 20-59 of the experiments

T3 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 27-59 of the experiments

T4 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 33 of the experiments

Figure 2 Average feed conversion rate (FCR) in fattening pigs from 60 kg market weight (59 days).



T1 = control diet

T2 = a diet from which 50% of the vitamins had been withdrawn from day 20-59 of the experiments

T3 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 27-59 of the experiments

T4 = a diet from which all vitamins had been withdrawn from day 33 of the experiments

Figure 3 Average heamagglutinating antibody titer on sheep red blood cell in fattening pigs (59 days).

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทางด้านภูมิคุ้มกันเมื่อเปรียบเทียบผลของการตอบสนองต่อ SRBC ในสุกรขุนระหว่าง T1 กับ T2, T1 กับ T3 และ T1 กับ T4 พบว่ามีแนวโน้มใกล้เคียงกัน แต่มีแนวโน้มว่า T2 จะให้ ค่าการตอบสนองต่อ SRBC สูงกว่ากลุ่มควบคุม (T1) ในการวัดครั้งที่ 1 และ 2 คือ 45.00, 18.00 และ 29.50, 23.00 ตามลำดับและค่าการตอบสนองต่อ SRBC ของ T3 และ T4 ในการวัดทั้ง 3 ครั้ง มีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ยังมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมคือ T1 : 18.00, 23.00 และ 44.00 ; T2 : 45.00, 29.50 และ 38.50 ; T3 : 14.85, 21.14 และ 34.28 ; T4 : 18.28, 10.57 และ 24.57 ตามลำดับ เมื่อดูอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) และอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของสุกร จะเห็นได้ว่าค่า ADG ในการชั่งน้ำหนักรวมตั้งแต่เริ่มเลี้ยง-ส่งตลาด มีแนวโน้มว่า $T1 > T2 = T4 > T3$ และค่า FCR พบว่า $T1 < T2 < T4 < T3$ โดย T2 และ T4 แนวโน้มมีค่าใกล้เคียงกันมากและมีค่าดีกว่า T3 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ถอนวิตามินเช่นเดียวกัน นอกจากนี้พบว่าเพศมีผลต่อค่า ADG และ FCR โดยสุกรเพศเมียมีความไวต่อการถอนวิตามินเนื่องจากมีค่า ADG และ FCR ต่ำกว่าสุกรเพศผู้ในกลุ่มที่ถอนวิตามินเช่นเดียวกัน ดังนั้นมีแนวโน้มว่าสามารถถอนวิตามินออกจากสูตรอาหารสุกรขุนได้ โดยทั้งสูตรที่ถอนวิตามินของอาหารสูตรปกติในวันที่ 20 ของการเลี้ยง (T2) และ สูตรอาหารที่ถอนวิตามินทั้งหมดจากอาหารสูตรปกติ ในวันที่ 33 ของการเลี้ยง (T4) แต่สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือต้นทุนค่าอาหาร โดยต้องดูว่าสูตรอาหารสูตรใด ประหยัดต้นทุนที่สุดและไม่ยุ่งยากในการจัดการและควรพิจารณาถึงสภาพแวดล้อมในขณะนั้น ด้วยว่าเป็นอย่างไร จึงจะเลือกใช้สูตรอาหารได้อย่างปลอดภัยและไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของสุกร

แนวทางในการพัฒนาต่อไปเมื่อทราบถึงระยะเวลาในการถอน โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสมรรถนะการผลิตคือเพิ่มความแม่นยำในเรื่องของสุขภาพสัตว์โดยใช้ค่าการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันเป็นเครื่องบ่งชี้และทำให้ทราบถึงระดับของภูมิคุ้มกันที่อยู่ในระยะปลอดภัยไม่ทำให้สัตว์เจ็บป่วยได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณ ทวี กัลยาณจารี (ผาแดง ฟาร์ม) ที่ให้ความอนุเคราะห์และสนับสนุนสถานที่สัตว์ทดลองและค่าอาหารในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Booth, A., M. Reid and T. Clark. 1987. Hypovitaminosis A in feedlot cattle. J Am. Vet. Med. Assoc. 190 (10): 1305-1308.
- Brody, S. 1974. Biogenetics and Growth with Special Reference to the Efficiency Complex in Domestic Animals. HAFNER PRESS, A Division of Macmillan Publishing Co., Inc. 1023p.
- Catty D. Antibodies Volume 1 A Practical Approach. Department of Immunology, University of Birmingham Medical School, Vincent Drive, Birmingham B15 2TJ, UK.
- McDonald, P., R.A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, and C.A. Morgan. 1995. Animal Nutrition. 5th ed. Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd. 607p.

Masse, P.G., J.P. Vuilleumier, and H. Weiser. 1991. Aspartate aminotranferase activity in experimentally induced asymptomatic vitamin B 6 deficiency in chicks. *Ann. Nutr. Metab* 3: 25-33.

Onodera, K. and K. Kisara, 1978. Persistent erection in thiamin deficient rats. *Nippon Yakurigaku Zasshi*. 74 (5) : 649-652. (Abstract).

Pond, W.G. Church and K.R. Pond. 1995. *Basic Animal Nutrition and Feeding*. 4th ed. John Wiley and Sons. New York. 615P.