

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ และอุปกรณ์

1. สัตว์ทดลองใช้แพะเพศเมียหลังหย่านมพันธุ์พื้นเมืองไทย จำนวน 23 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 7.7 ± 1.68 กิโลกรัม และแพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบียน 50 เปอร์เซนต์ จำนวน 24 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 8.9 ± 2.03 กิโลกรัม โดยแพะทั้ง 2 กลุ่ม มีอายุประมาณ 3-4 เดือน
2. แปลงหญ้าทดลองจำนวน 2 แปลง โดยแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 มีพื้นที่ 8.4 และ 9.6 ไร่ ตามลำดับ พร้อมอ่างน้ำแปลงละ 1 อ่าง
3. ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) โปแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) แอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0) และ หินฟอสเฟต (0-3-0)
4. โรงเรือนที่ได้รับการแบ่งย่อยพื้นที่ภายในออกเป็นคอกย่อยขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 1×1.2 เมตร จำนวน 47 คอกย่อย พร้อมรางอาหารคอกย่อยละ 1 ราง
5. วัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ ข้าวโพด กากถั่วเหลือง เกลือ และ ไคแคลเซียมฟอสเฟต โดยซื้อจากร้านขายวัตถุดิบอาหารสัตว์ใน อ. ทาดใหญ่ จ. สงขลา
6. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการสุ่มพืชอาหารสัตว์ ได้แก่ กรอบสุ่ม (quadrat) เคียว กรรไกร ถูพลาสติก และเครื่องชั่ง
7. อุปกรณ์สำหรับชั่งน้ำหนักแพะและอาหารชั้น ได้แก่ เครื่องชั่งแขวนขนาด 50 กิโลกรัม และเครื่องชั่งขนาด 1 กิโลกรัม
8. ยาถ่ายพยาธิไอเวอร์เม็กติน ยาถ่ายพยาธินิโคลซาไมด์ และอุปกรณ์สำหรับฉีดยา
9. ตู้อบและอุปกรณ์สำหรับบดตัวอย่างพืชอาหารสัตว์
10. สารเคมีเพื่อวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของพืชอาหารสัตว์
11. โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3)

วิธีการ

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 2 x 3 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2 x 3 factorial in completely randomized design) โดยมีปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ยีนไทย 2 ยีนไทย คือ แพะพันธุ์พื้นเมืองไทย และลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบีย 50 เปอร์เซ็นต์ และ วิธีการให้อาหาร 3 ระบบ คือ 1). เทะเล็มในแปลงหญ้าอย่างเดียว 2). เทะเล็มและเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนรวม 14 เปอร์เซ็นต์ และ 3). เทะเล็มและเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนรวม 18 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถจัดสัตว์ทดลองได้เป็น 6 ทริตเมนต์ คอมบิเนชัน (treatment combinations) คือ

1. แพะพันธุ์พื้นเมืองไทย ที่ปล่อยเทะเล็มในแปลงหญ้าอย่างเดียว
2. แพะพันธุ์พื้นเมืองไทย ที่ปล่อยเทะเล็มและเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนรวม 14 เปอร์เซ็นต์
3. แพะพันธุ์พื้นเมืองไทย ที่ปล่อยเทะเล็มและเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนรวม 18 เปอร์เซ็นต์
4. แพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบีย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ปล่อยเทะเล็มในแปลงหญ้าอย่างเดียว
5. แพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบีย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ปล่อยเทะเล็มและเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนรวม 14 เปอร์เซ็นต์
6. แพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบีย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ปล่อยเทะเล็มและเสริมอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนรวม 18 เปอร์เซ็นต์

2. การจัดสัตว์ทดลอง

แพะที่ใช้ทดลองเป็นแพะเพศเมียหลังหย่านม (อายุประมาณ 3 - 4 เดือน) พันธุ์พื้นเมืองไทย จำนวน 23 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 7.7 ± 1.68 กิโลกรัม และแพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบีย 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 24 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 8.9 ± 2.03 กิโลกรัม แบ่งแพะแต่ละยีนไทย ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว โดยให้ในแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ยใกล้เคียงกัน แพะพันธุ์พื้นเมืองไทย ทั้ง 3 กลุ่ม ได้รับการจัดเข้าทริตเมนต์ คอมบิเนชัน 1-3 โดยวิธีการสุ่ม ในทำนองเดียวกัน แพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบีย 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 3 กลุ่ม ได้รับการจัดเข้าทริตเมนต์ คอมบิเนชัน 4 - 6

โดยวิธีการสุ่ม ก่อนทำการทดลองแพะทุกตัวจะได้รับการถ่ายพยาธิด้วยยาถ่ายพยาธิไอเวอร์เม็กติน (ไอเดกติน, IDECTIN[®] ไม่ระบุบริษัทที่ผลิต) เพื่อควบคุมพยาธิตัวกลมและพยาธิภายนอก โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักสัตว์ 50 กิโลกรัม และยาถ่ายพยาธินิโคลซาไมด์ (โยเมซาน, Yomesan[®] บริษัท ไบเออร์ จำกัด) เพื่อควบคุมพยาธิตัวติด โดยการบดยาให้ละเอียด ผสมน้ำเล็กน้อย แล้วกรอกปากแพะในอัตราส่วน 2 เม็ดต่อตัว หลังจากนั้นปล่อยให้แพะแทะเล็มในแปลงหญ้าตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 เดือน

3. การจัดการแปลงหญ้า

ใช้แปลงหญ้าจำนวน 2 แปลง แต่ละแปลงมีพื้นที่ 8.4 และ 9.6 ไร่ โดย พืชอาหารสัตว์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยหญ้าพลิแคทูลัม (*Paspalum plicatulum*) ก่อนเริ่มทำการทดลอง 1 เดือน ทำการตัดหญ้าในแปลงแรก โดยใช้รถแทรกเตอร์ และตัดหญ้าสูงจากพื้นดินประมาณ 15 เซนติเมตร หลังจากตัดประมาณ 1 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยยูเรีย โปแทสเซียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต และหินฟอสเฟต ในอัตรา 16, 8, 8 และ 32 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ตามคำแนะนำของสุมาลี (2536) และเมื่อพืชอาหารสัตว์มีการงอกใหม่ (regrowth) ได้ 1 เดือน จึงปล่อยให้แพะเข้าแทะเล็ม ส่วนแปลงพืชอาหารสัตว์แปลงที่ 2 ทำในทำนองเดียวกันกับแปลงที่ 1 โดยทำการตัดหญ้า 1 เดือน ก่อนการแทะเล็ม และได้รับปุ๋ยเช่นเดียวกับแปลงที่ 1 และปล่อยให้แพะลงแทะเล็มในแปลงหญ้าทั้ง 2 แปลง แปลงละ 1 เดือน สลับกันไป ตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 เดือน โดยก่อนและหลังการแทะเล็ม มีการสุ่มตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ และหลังการแทะเล็มทุกครั้งทำการตัดหญ้า เพื่อให้หญ้ามีการงอกใหม่อย่างสม่ำเสมอ

4. การให้อาหารชั้น

อาหารชั้นในการทดลอง มี 2 สูตร ตามระดับโปรตีนรวม โดยสูตรแรกมีโปรตีนรวม 14 เปอร์เซ็นต์ และ สูตรที่ 2 มีโปรตีนรวม 18 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรตีนรวม 14 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับของโปรตีนในอาหารชั้นที่ให้อยู่ในฟาร์มของศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก ซึ่งเป็นระดับที่แนะนำโดย NRC (1981) และ Milton และคณะ (1987) ดังนั้นโปรตีนรวม 18 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นระดับที่สูงกว่าระดับที่แนะนำ สัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้ประกอบสูตรอาหารชั้นและส่วนประกอบทางเคมีแสดงไว้ในตารางที่ 1 แพะได้รับอาหารชั้นเต็มที โดยได้รับอาหารชั้นตอนเช้าเวลาประมาณ 09.00 น. โดยให้อาหารในคอกเดี่ยวแยกแต่ละตัว และให้แพะมีเวลากินอาหารชั้นประมาณ 4 ชั่วโมง จึงปล่อยให้แพะแทะเล็มในแปลงหญ้า บันทึกปริมาณอาหารที่แพะกินทุกตัวทุกวันตลอดระยะเวลาการทดลอง

ตารางที่ 1 สัดส่วนของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ประกอบสูตรอาหารชั้น (as fed basis) และส่วนประกอบทางเคมี (as dry matter basis)

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	อาหารชั้น (กิโลกรัม)	
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2
ข้าวโพด	78.43	66.97
กากถั่วเหลือง	18.07	29.53
เกลือ	2.00	2.00
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	1.50	1.50
รวม	100	100
ส่วนประกอบทางเคมีที่ได้จากการคำนวณ		
โปรตีนรวม (เปอร์เซ็นต์)	14.0	18.0
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	2,691	2,665
ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กิโลกรัม)	7.20	7.93

5. การเก็บข้อมูล

5.1 ชั่งน้ำหนักตัวของแพะทุกตัวทุก 2 สัปดาห์

5.2 การหาผลผลิต และสัดส่วนของพืชอาหารสัตว์ในแปลง

เก็บตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ก่อนและหลังแพะเล็มทุกครั้งที่เหมาะสมเวียนแปลงหญ้า โดยทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละแปลงประมาณ 0.13 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ เก็บตัวอย่างโดยวิธีการสุ่มอย่างเป็นระบบ (systematic sampling) (t Menette, 1978) โดยใช้กรอบสุ่ม (quadrat) ขนาด 40 x 40 เซนติเมตร (มีพื้นที่ 0.16 ตารางเมตร) ดังนั้นจึงมีการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 144 จุด ในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ การเก็บตัวอย่างในแต่ละจุด ใช้จุดตัดทุกระยะ 10 เมตร ของด้านกว้าง และด้านยาวของแปลง และเนื่องจากความกว้างของแปลงหญ้าทั้ง 2 แปลง เท่ากับ 160 เมตร ในแต่ละแถวจึงเก็บตัวอย่างได้ 16 จุด ตัดพืชอาหารสัตว์ในกรอบสุ่มให้สูงจากพื้นดินประมาณ 5 เซนติเมตร นำตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แต่ละจุดมาชั่งน้ำหนักสด หลังจากนั้นรวมตัวอย่างจากจุดที่ 1-5 ของแต่ละแถวมาทำ sub-sampling และเก็บตัวอย่างมาประมาณ 0.5 กิโลกรัม ใส่ถุงกระดาษนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับตัวอย่างของจุดที่ 6-10 และ 11-16 ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับตัวอย่างที่จากจุด 1-5 (แต่ละแถวของแต่ละแปลงจะมี 16 จุดเท่ากัน) เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำตัวอย่าง

ออกจากตู้อบ ทำการชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง นำตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แยกออกเป็นหญ้า พืชตระกูลถั่ว และวัชพืช คำนวณหาผลผลิตน้ำหนักแห้งต่อหน่วยพื้นที่ สัดส่วนของหญ้า พืชตระกูลถั่ว และวัชพืช และในส่วนของหญ้าแยกเป็นใบ และลำต้น

5.3 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของพืชอาหารสัตว์

เนื่องจากตัวอย่างหญ้าพลิกเคหตุลุ่มในการศึกษานี้ มีอายุการงอกใหม่เพียง 4 สัปดาห์ ทำให้มีส่วนของลำต้นน้อยมาก ดังนั้นจึงนำตัวอย่างใบไปวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี โดยนำตัวอย่างแห้งของใบหญ้าพลิกเคหตุลุ่ม ที่ได้จากการสุมตัวอย่างก่อนและหลังเพาะเล็ม ในแต่ละครั้งของแต่ละแปลง มาบดด้วยเครื่อง Willey Mill ที่มีรูตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร สุ่มตัวอย่างใบหญ้าที่บดไปวิเคราะห์หา วัตถุแห้ง (dry matter, DM), โปรตีนรวม (crude protein, CP), ไขมันรวม (crude fat หรือ ether extract, EE) และเถ้า (ash) โดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1984) และวิเคราะห์ผนังเซลล์ (cell wall หรือ neutral detergent fiber, NDF) ลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose หรือ acid detergent fiber, ADF) และ ลิกนิน (lignin) โดยวิธีของ Goering และ Van Soest (1975) นอกจากนี้ยังมีการคำนวณหา

อินทรีย์วัตถุ (organic matter, OM) โดยสมการ

$$OM (\%) = \% DM - \% ash$$

คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (non-structural carbohydrate, NSC) โดยใช้ สมการ

$$NSC (\%) = 100 - (\% CP + \% EE + \% NDF + \% ash) \text{ (Nocek and}$$

Russell, 1988)

5.4 การหาการกินได้ และการย่อยได้ของพืชอาหารสัตว์ และโภชนะต่าง ๆ

ประเมินปริมาณพืชอาหารสัตว์และโภชนะต่าง ๆ ที่แพะกินได้โดยใช้ลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) เป็นตัวบ่งชี้ภายใน (Merchen, 1988) และใช้โครมิกออกไซด์ (chromic oxide, Cr_2O_3) เป็นตัวบ่งชี้ภายนอก ตามวิธีการดังต่อไปนี้

5.4.1 บันทึกปริมาณอาหารชั้นที่แพะกินทุกวันตลอดการทดลอง

5.4.2 การประเมินปริมาณมูลแพะ (กรัม/ตัว/วัน)

ประเมินปริมาณมูลแพะโดยอาศัยตัวบ่งชี้ภายนอก ตามวิธีของ Kawas และคณะ (1999) และ Ferret และคณะ (1999) โดยทำการสุมแพะที่รีทเมนต์คอมบิเนชั่นละ 4 ตัว ทำการป้อน Cr_2O_3 ในช่วงสุดท้ายของการทดลองเป็นเวลา 11 วัน (ตารางที่ 2) โดยแพะทดลองได้รับการป้อน Cr_2O_3 ทางปากตัวละ 1 กรัม/วัน วันละ 2 เวลา (09.00 และ 17.00 น.) เป็นเวลา 11 วัน โดยบรรจุ Cr_2O_3 ลงในแคปซูล แคปซูลละ 0.5 กรัม และเริ่มเก็บมูลในวันที่ 7 ของการทดลอง เก็บโดยตรงจากทวารหนัก

ของแพะแต่ละตัวในช่วงเช้า (ประมาณ 08.00 นาฬิกา) ประมาณ 50 - 100 กรัม/ตัว/วัน บันทึกน้ำหนักมูลและเก็บในขวดชนิดฝาเกลียวอัดแน่นที่อุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำมูลแพะที่เก็บได้แต่ละตัวผสมรวมกัน และสุมตัวอย่างมาประมาณ 200 กรัม อบที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จนมูลแพะมีน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปบดผ่านตะแกรง 1 มิลลิเมตร นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี และวิเคราะห์ปริมาณ Cr โดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer รุ่น UV 310 Unicam

คำนวณปริมาณมูล (กรัม/ตัว/วัน) ของแพะในสภาพวัตถุแห้ง (dry matter, DM) โดยสมการของ Merchen (1988)

$$\text{ปริมาณมูลแพะในสภาพวัตถุแห้ง (กรัม/ตัว/วัน)} = \frac{\text{ปริมาณ Cr}_2\text{O}_3 \text{ ที่แพะกิน (กรัม/ตัว/วัน)}}{\text{ความเข้มข้นของ Cr}_2\text{O}_3 \text{ ในมูล (\%)}}$$

ตารางที่ 2 แผนการปฏิบัติงาน ในช่วงของการทดลองเพื่อประเมินปริมาณมูลแพะ

วันที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
กิจกรรม	ก	ก	ก	ก	ก	ก	ก,ข	ก,ข	ก,ข	ก,ข	ก,ข,ค

- หมายเหตุ :
- ก. ให้ Cr_2O_3 ปริมาณ 1 กรัม/วัน
 - ข. เก็บมูลโดยตรงจากทวารหนักวันละ 1 ครั้ง (ประมาณ 08.00 นาฬิกา)
 - ค. สิ้นสุดการทดลอง

5.4.3. ประเมินการกินได้ของพืชอาหารสัตว์ โดยสมการของ Ferret และคณะ (1999)

$$\text{Forage intake} = \frac{[(\text{Cr intake})(\text{Feces marker})] - [(\text{Conc intake})(\text{Conc marker})(\text{Cr feces})]}{(\text{Forage marker})(\text{Cr feces})}$$

หมายเหตุ :

Forage intake	หมายถึง พืชอาหารสัตว์ที่แพะกินได้ (กรัม/ตัว/วัน)
Cr intake	หมายถึง โครมิกออกไซด์ที่แพะได้รับ (กรัม/ตัว/วัน)
Feces marker	หมายถึง ตัวบ่งชี้ภายในในมูล (กรัม/กรัมของมูล)
Conc intake	หมายถึง ปริมาณอาหารชั้นที่แพะได้รับ (กรัม/ตัว/วัน)
Conc marker	หมายถึง ตัวบ่งชี้ภายในในอาหารชั้น (กรัม/กรัมของอาหารชั้น)
Cr feces	หมายถึง โครมิกออกไซด์ในมูล (กรัม/กรัมของมูล)
Forage marker	หมายถึง ตัวบ่งชี้ภายในในพืชอาหารสัตว์ (กรัม/กรัมของพืชอาหารสัตว์)

5.4.4. ประเมินการย่อยได้ของโภชนะต่างๆ โดยสมการของ บุญล้อม (2541)

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน} - \text{ปริมาณโภชนะในมูล}}{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน}} \times 100$$

5.5. คำนวณอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักรีด (ปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักเพิ่ม 1 หน่วย, Feed Conversion Ratio, FCR) โดยสมการ

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักรีด} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)}}{\text{น้ำหนักตัวเพิ่ม (กรัม/ตัว/วัน)}}$$

6. การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ

1. นำข้อมูลผลผลิตน้ำหนักรากแห้ง สัตส่วนของหญ้า ถั่ว และวัชพืช ก่อนและหลังการทะเล็มในแต่ละแปลง มาวิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างแปลงโดยใช้ T-test (Steel and Torrie, 1980) ส่วนประกอบทางเคมีของใบหญ้าพลิกแคทูลัม ในแต่ละแปลงก่อนและหลังการทะเล็ม แสดงเป็นค่าเฉลี่ย
2. นำข้อมูลการกินได้ สมประสิทธิ์การย่อยได้ของโคชนะ อัตราการเจริญเติบโตของแพะ และอัตราการเปลี่ยนเป็นน้ำหนักตัว มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และ หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ วิธี Duncan 's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980)

สถานที่ และระยะเวลาในการทำวิจัย

การวิจัยนี้ดำเนินการที่ฟาร์มเลี้ยงแพะทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตั้งอยู่ที่ อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยดำเนินการระหว่างเดือน กรกฎาคม 2544 - เดือน กันยายน 2545