

วิธีการวิจัย

1. สถานที่ทำการทดลอง

1.1 ที่ตั้งของพื้นที่ทำการศึกษา

พื้นที่ทำการศึกษายู่ในพื้นที่ส่วนหนึ่งของสถานีวิจัยและฝึกภาคสนามคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตั้งอยู่ที่บ้านคลองหอยโข่ง ตำบลคลองหอยโข่ง อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา ละติจูด (latitude) $6^{\circ} 5' N$ ลองจิจูด (longitude) $100^{\circ} 20' E$ สูงจากระดับน้ำทะเล 30 เมตร ห่างจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ประมาณ 26 กิโลเมตร

1.2 สภาพภูมิอากาศ

สภาพภูมิอากาศเป็นแบบมรสุมเขตร้อนชื้น การกระจายของฝนแบ่งเป็น 2 ช่วงเพราะอิทธิพลของมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ระหว่างเดือน พฤษภาคม - กันยายน และมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือน ตุลาคม - มกราคม (สุกัญญา, 2539) ซึ่งในช่วงการทดลองตั้งแต่การเตรียมแปลงหญ้าจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง คือ ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2543- มกราคม พ.ศ. 2545 มีปริมาณน้ำฝนรวม 2,742.7 มิลลิเมตร (ตารางภาคผนวก 1)

1.3 สภาพดินบริเวณสถานีวิจัยและฝึกภาคสนามคลองหอยโข่ง

ลักษณะดินของพื้นที่ที่ใช้ทำการทดลองเป็นชุดดินวิสัย ดินบนเป็นดินต้นการระบายน้ำดี มีเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทรายและอาจมีกรวดลูกรังปน ลึกจากผิวดินประมาณ 50-70 เซนติเมตร เนื้อดินชั้นล่างเป็นชั้นดินดานแข็งและไม่สามารถให้น้ำซึมผ่านได้ ดังนั้นพื้นที่บริเวณนี้จึงมักมีน้ำท่วมขัง หรือดินบนมีลักษณะอึดตัวด้วยน้ำเป็นระยะเวลายาวนานตลอดช่วงฤดูฝน ดินเป็นกรดจัดมากตลอดชั้นดิน มี pH ประมาณ 4.64 (สุมาลีและคณะ, 2535) ดินมีความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารพืชและความอุดมสมบูรณ์ต่ำมาก ซึ่งกรมพัฒนาที่ดิน (2530) ได้กำหนดให้พื้นที่ดังกล่าวเหมาะสำหรับทำทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ คุณสมบัติทางเคมีของดินจากสถานีวิจัยและฝึกภาคสนามคลองหอยโข่ง แสดงดังตารางภาคผนวก 2

2. การเตรียมแปลงหญ้า

แปลงหญ้าที่ใช้ทำการทดลองมีเนื้อที่ทั้งหมด 22.88 ไร่ เคยเป็นแปลงหญ้าที่ประกอบด้วยหญ้าพริแคทูลุ่มและได้ทำการปรับปรุงโดยการไถพรวน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ และทำการหว่านเมล็ดหญ้าพริแคทูลุ่มเพิ่มเติมในอัตรา 3 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากนั้นทำการแบ่งแปลงหญ้าออกเป็น 2 แปลงขนาดแปลงละ 10.40 และ 12.48 ไร่ แต่ละแปลงย่อยกันด้วยรั้วไฟฟ้า มีที่ให้อาหาร น้ำดื่มและที่เขavnแร่ธาตุก่อนทุกแปลง

3. การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้โคพื้นเมืองภาคใต้เพศเมีย อายุประมาณ $1 \frac{1}{2}$ ถึง 2 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 130.9 ± 16.7 กิโลกรัม จำนวน 16 ตัว นำมาทำการถ่ายพยาธิภายในและภายนอก ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาวรอบอก ความสูงถึงปุ่มหลัง ความยาวลำตัว และความห่างของปุ่มกระดูกสะโพก และทำการสุ่มแบ่งโคออกเป็น 2 กลุ่ม ก่อนปล่อย

โคลงทะเลียมในแปลงหญ้าแบบต่อเนื่องตลอดวัน ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยโค จำนวน 10 ตัว ปลอຍทะเลียมในแปลงหญ้าที่มีพื้นที่ 10.40 ไร่ หรือที่อัตราสัตว์ทะเลียม 1.04 ไร่ต่อตัว กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยโค จำนวน 6 ตัว ปลอຍทะเลียมในแปลงหญ้าที่มีพื้นที่ 12.48 ไร่ หรือที่อัตราสัตว์ทะเลียม 2.08 ไร่ต่อตัว โคแต่ละกลุ่มได้รับอาหารชั้น (ตารางภาคผนวกที่ 3) เสริมในเวลา 08.30 น. และ 16.30 น. ของทุกวัน ในอัตรา ครั้งละ 0.5 กิโลกรัม/ตัว โดยให้กินรวมกัน

4. การจัดการแปลงหญ้าและการจัดการสัตว์ในระหว่างการทดลอง

4.1 การจัดการแปลงหญ้าในระหว่างการทดลอง

ในระหว่างการทดลองมีการกำจัดวัชพืชในแปลงหญ้า พร้อมทั้งมีการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ ในวันที่ 11 เมษายน พ.ศ. 2544 ภายหลังจากการปลอຍโคลงทะเลียมในแปลงหญ้า 84 วัน

4.2 การจัดการสัตว์ในระหว่างการทดลอง

โคทดลองทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิภายในทุกๆ 3 เดือน โดยใช้ยาถ่ายพยาธิอัลเบนดาโซล (Valbazen[®]) ของบริษัท Better Pharma Co., Ltd.) ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักโค 10 กิโลกรัม

5. การเก็บข้อมูล

5.1 การวัดการเจริญเติบโตของโค

5.1.1 ทำการชั่งน้ำหนักโคก่อนให้อาหารชั้นในช่วงเช้าเวลาประมาณ 08.00-09.00 น. ทุก ๆ 4 สัปดาห์ จนถึงสิ้นสุดการทดลอง โดยใช้เครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์ รุ่น FX1 นำเข้าโดยบริษัทกิส์ มาร์เกตติ้ง จำกัด

5.1.2 ทำการวัดขนาดร่างกายโค ทุก ๆ 4 สัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการทดลอง คือ ความยาวรอบอกโดยใช้สายวัดน้ำหนักสัตว์ (weight band) ความสูงถึงปุ่มหลัง ความยาวลำตัว และความห่างของปุ่มกระดูกสะโพก โดยใช้เวอร์เนียสำหรับวัดขนาดร่างกายโคของบริษัท Fujiheikogyo ประเทศญี่ปุ่น โดยทำการวัดพร้อมกับการชั่งน้ำหนักโค

5.2 ลักษณะทางการสืบพันธุ์

5.2.1 ทำการสังเกตการเป็นสัดทุกวัน วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 08.30 และ 16.30 โดยสังเกตพฤติกรรมที่โคแสดงออกที่บ่งบอกถึงอาการเป็นสัด เช่น การส่งเสียงร้อง การปิ้นตัวอื่น ลักษณะของน้ำเมือกจากอวัยวะเพศ

5.2.2 ทำการบันทึกข้อมูลเมื่อโคแสดงอาการเป็นสัดครั้งแรก และทำการผสมเทียมเมื่อโคแสดงอาการเป็นสัดครั้งที่สี่โดยใช้น้ำเชื้อพ่อโคพื้นเมืองภาคใต้แข็งแรงของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสงขลา และทำการบันทึกข้อมูลลักษณะทางการสืบพันธุ์ ดังนี้ น้ำหนักเมื่อเริ่มเป็นสัดครั้งแรก น้ำหนักเมื่อผสมติด น้ำหนักเพิ่มในช่วงทดลองจนผสมติดและจำนวนครั้งในการผสมเทียม

5.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือดโคแต่ละตัวในวันที่เป็นสัด และในวันที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 21 ของวงรอบการเป็นสัด รวม 3 วงรอบการเป็นสัด และเมื่อผสมเทียมโคทำการเก็บตัวอย่างเลือดต่อไปจนกระทั่งมีการตรวจท้องหลังจากผสมเทียม 60 วัน ซึ่งหากโคตั้งท้องจะหยุดเก็บตัวอย่าง การเก็บตัวอย่างเลือดทำการ

เก็บจากเส้นเลือดดำที่คอ หรือที่ทาง ประมาณ 10 มิลลิลิตร โดยใช้หลอดสุญญากาศเคลือบด้วยโซเดียม เฮปาริน (sodium heparin) ทำการปั่นแยกพลาสมาเพื่อวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยเทคนิค ELISA (Kambegawa, 1997) โดยใช้เครื่อง Automated Microplate Reader รุ่น EL x 800 uv ของบริษัท Bio-Tik Instrument, INC.

5.3 การวัดผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาของพืชอาหารสัตว์

5.3.1 การวัดผลผลิตของพืชอาหารสัตว์

ทำการเก็บตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ก่อนการเพาะเลี้ยงและทุกๆ 2 สัปดาห์ ในระหว่างการเพาะเลี้ยงจนถึงสุดการทดลอง โดยใช้กรอบสี่เหลี่ยม (quadrat) ขนาด 1 x 1 ตารางเมตร วางลงในแปลงหญ้าแปลงละ 8 จุด ทำการตัดตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ให้สูงจากพื้นดินประมาณ 5 เซนติเมตร นำตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ที่ตัดได้ในแต่ละจุดมาชั่งน้ำหนักสด (wet weight) พร้อมทั้งสุ่มตัวอย่างประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ก่อนบรรจุใส่ถุงกระดาษนำเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่แล้วชั่งน้ำหนักแห้ง (dry weight) คำนวณหาปริมาณน้ำหนักแห้งต่อหน่วยพื้นที่

5.3.2 การหาสัดส่วนขององค์ประกอบทางพฤกษศาสตร์และคุณค่าทางโภชนาของพืชอาหารสัตว์

เก็บตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ก่อนการเพาะเลี้ยง และในระหว่างการเพาะเลี้ยง โดยในระหว่างเพาะเลี้ยงใช้กรงกันสัตว์ขนาด 1 x 1 ตารางเมตร วางลงในแปลงหญ้าแต่ละแปลง แปลงละ 4 จุด และทำการเก็บตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ในกรงกันสัตว์ทุกๆ 4 สัปดาห์ จนถึงสุดการทดลอง โดยตัดตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ให้สูงจากพื้นดินประมาณ 5 เซนติเมตร และทำการย้ายกรงทุกครั้งหลังจากเก็บตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ นำตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ที่ตัดได้ในแต่ละกรงมาชั่งน้ำหนักสด และทำการแยกตัวอย่างหญ้าพลิกเคทูลุ่ม ถั่ว วัชพืช และส่วนที่ตาย ก่อนสุ่มตัวอย่างประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์บรรจุใส่ถุงกระดาษนำเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่แล้วชั่งน้ำหนักแห้ง คำนวณหาปริมาณพืชอาหารสัตว์ต่อหน่วยพื้นที่ และสัดส่วนขององค์ประกอบทางพฤกษศาสตร์ของพืชอาหารสัตว์ พร้อมทั้งทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าพลิกเคทูลุ่มประมาณ 500 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์หา เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง โปรตีนรวม ไขมันรวม และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1984) ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1975)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลการเจริญเติบโต ลักษณะทางการสืบพันธุ์ และผลผลิตของพืชอาหารสัตว์ มาวิเคราะห์หาความแตกต่างโดยใช้ Student's t-test (Steel and Torrie, 1980) ส่วนคุณค่าทางโภชนาของพืชอาหารสัตว์ และระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดแสดงในรูปค่าเฉลี่ย

ตัวแบบสถิติที่ใช้ในการศึกษาหาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อลักษณะที่ศึกษา ประกอบด้วย

1. ตัวแบบสถิติทางด้านสัตว์

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

โดยที่ Y_{ij} = ค่าสังเกตของลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะทางการสืบพันธุ์ที่อิทธิพลที่ i และ j ตามลำดับตัวห้อย

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากร

T_i = อิทธิพลของอัตราสัตว์แทะเล็มที่ $i = 1.04$ และ 2.08 ไร่ต่อตัว

E_{ij} = ค่าความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากอิทธิพลแบบสุ่มที่ค่าสังเกตได้รับตามลำดับตัวห้อย โดยมี การแจกแจงแบบ NID $(0, \sigma^2)$

2. ตัวแบบสถิติทางด้านพืช .

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

โดยที่ Y_{ij} = ค่าสังเกตของผลผลิตพืชอาหารสัตว์ในแปลงหญ้าที่อิทธิพลที่ i และ j ตามลำดับตัวห้อย

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากร

T_i = อิทธิพลของอัตราสัตว์แทะเล็มที่ $i = 1.04$ และ 2.08 ไร่ต่อตัว

E_{ij} = ค่าความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากอิทธิพลแบบสุ่มที่ค่าสังเกตได้รับตามลำดับตัวห้อย โดยมี การแจกแจงแบบ NID $(0, \sigma^2)$