

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การจัดการสัตว์ทดลอง

กระป๋องปลั๊กเพศเมียอายุประมาณ 2 ปี จำนวน 18 ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 297.61 ± 16.51 กิโลกรัม ปล่อยแทะเล็มในแปลงหญ้ารูซี่ ขนาด ประมาณ 20 ไร่ โดยแบ่งออกเป็น 6 แปลงย่อย ๆ ละ 3 ไร่ สุ่มกระป๋องออกเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว โดยจัดให้กระป๋องแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกันมากที่สุด จากนั้นสุ่มให้ได้รับทริทเมนต์ดังนี้ (1) ปล่อยแทะเล็ม 24 ชั่วโมง (2) ปล่อยแทะเล็ม 12 ชั่วโมง เฉพาะช่วงกลางวัน (06.00-18.00 น.) และ (3) ปล่อยแทะเล็ม 12 ชั่วโมงเฉพาะช่วงกลางคืน (18.00-06.00 น.) ภายในแปลงหญ้าจะมีต้นไม้ขนาดใหญ่สำหรับใช้เป็นร่มเงาแก่สัตว์ขึ้นกระจายอยู่ทั่วแปลง มีน้ำสะอาดให้ดื่มและแร่ธาตุก้อนให้เลียตลอดเวลา

กระป๋องที่ได้รับทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 จะถูกขังไว้ในคอกพื้นคอนกรีต (195 ตารางเมตรต่อตัว) ในช่วงที่ไม่ปล่อยแทะเล็ม คิดเป็น ภายในคอกแบ่งออกเป็นส่วนที่มีหลังคาคลุม (33.75 ตารางเมตรต่อตัว) และพื้นโล่ง หลังคาทำด้วยกระเบื้อง รางอาหารและอ่างน้ำตั้งอยู่บริเวณพื้นโล่ง โดยกระป๋องทุกตัวสามารถเข้าใช้ได้พร้อมกัน กระป๋องจะได้รับการเสริมไบมันส์หลังแห้ง เฉลี่ยตัวละ 1.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว วันละ 1 ครั้ง โดยจะได้รับในเวลาประมาณ 18.20-19.00 น. และ 6.30-08.00 น. สำหรับกระป๋องที่ได้รับทริทเมนต์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ กระป๋องทุกตัวมีน้ำสะอาดให้ดื่มและแร่ธาตุก้อนให้เลียตลอดเวลา

การทดลองแบ่งเป็น 3 ช่วง ๆ ละ 40 วัน โดยมีระยะพักระหว่างช่วงที่ 1 และ 2 ของการทดลอง 20 วัน และระหว่างช่วงที่ 2 และ 3 ของการทดลอง 42 วัน (ตารางที่ 3.1) โดยในช่วงพักกระป๋องทุกตัวถูกเลี้ยงรวมไว้ในคอกเดียวกัน โดยได้รับหญ้ารูซี่หมักเฉลี่ย 3-5 กิโลกรัม น้ำหนักแห้งต่อตัวต่อวัน มีน้ำสะอาดให้ดื่มและแร่ธาตุก้อนให้เลียตลอดเวลา จากนั้นจะทำการสุ่มให้ได้รับทริทเมนต์ ๆ ละ 2 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3.1

การสู่มทรีทเมนต์ให้กับกระป๋องในแต่ละช่วงของการทดลอง

ช่วงเวลาที่ ^{1/}	กระป๋องกลุ่มที่					
	1	2	3	4	5	6
1 17 มี.ค.-25 เม.ย. 2551	N	D	DN	DN	N	D
-----ระยะพัก 20 วัน-----						
2 16 พ.ค.-24 มิ.ย. 2551	DN	N	D	N	D	DN
-----ระยะพัก 42 วัน-----						
3 5 ส.ค.-13 ก.ย. 2551	D	DN	N	D	DN	N

หมายเหตุ DN คือ ปล่อยเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง, D คือ ปล่อยเพาะเลี้ยงกลางวัน และ N คือ ปล่อยเพาะเลี้ยงกลางคืน

^{1/} ในแต่ละช่วงจะจัดกลุ่มให้กับกระป๋องแต่ละตัวใหม่ และจึงสู่มทรีทเมนต์ให้กับกระป๋องแต่ละกลุ่ม

การบันทึกการเจริญเติบโต

ชั่งน้ำหนักตัวกระป๋องในวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลองแต่ละช่วง โดยทำการอดน้ำและอาหารกระป๋องก่อนทำการชั่งน้ำหนัก 12 ชั่วโมง

การบันทึกพฤติกรรม

1. การจำแนกกระปือจะใช้สายพลาสติกสีคล้ำคล้องคอร่วมกับติดสติ๊กเกอร์สะท้อนแสงบริเวณเขา ใช้กล้องส่องทางไกลขนาด 8×40 เท่า ช่วยในการสังเกตพฤติกรรมในเวลากลางวันใช้ไฟฉายขนาด 3 โวลต์ และกล้องตรวจการณ์กลางคืนแบบตาเดียว (night vision monocular รุ่น PYGMY 2M, Newcon™ Optik, Canada) เพื่อช่วยสังเกตพฤติกรรมในช่วงกลางคืน สำหรับกระปือที่ปล่อยแพะเล็มเฉพาะกลางวันและกลางคืน จะเคลื่อนย้ายกระปือระหว่างคอกพักกับแปลงหญ้า ระหว่างเวลา 06.00-06.20 น. และ 18.00-18.20 น. ตามลำดับ ดังนั้นจึงไม่มีการบันทึกพฤติกรรมในช่วงเวลาดังกล่าว

2. สังเกตพฤติกรรม ทุก ๆ 1 นาที ตลอด 24 ชั่วโมง กระปือทุกตัวในทรีทเมนต์ที่ 1 (กลุ่มที่ 3) และ 3 (กลุ่มที่ 5) เฉพาะวันที่ 28 ของการทดลองในช่วงที่ 1 พฤติกรรมที่บันทึกได้แก่ แพะเล็ม เคี้ยวเอื้อง (ยืนหรือนอน) อยู่เฉย (ยืนหรือนอน) และการใช้ร่มเงา และบันทึกพฤติกรรมของกระปือทุก ๆ 5 นาที ตลอด 24 ชั่วโมง ในวันที่ 12, 13 และ 14 ของการทดลองทุกทรีทเมนต์ทั้ง 3 ช่วงการทดลอง พฤติกรรมที่บันทึกได้แก่ แพะเล็ม เคี้ยวเอื้อง (ยืนหรือนอน) อยู่เฉย (ยืนหรือนอน) อัตราการกัดพืชอาหารสัตว์ (biting rate) และอัตราการก้าวเดิน (step rate) ในขณะที่อัตราการกัดกินพืช และอัตราการก้าวเดินในขณะที่สัตว์แพะเล็ม จะเลือกทำในช่วงที่สัตว์กัมศีระชะลงเลือกกินส่วนของพืชอย่างประณีต โดยอัตราการกัดกินพืช จะบันทึกระยะเวลาที่สัตว์ใช้ในการกัดกินส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช (สังเกตจากเสียงหรือการกระตุกศีรษะขึ้นหรือลง) 50 ครั้งติดต่อกัน ส่วนอัตราการก้าวเดินจะบันทึกระยะเวลาที่สัตว์ใช้ในการเดิน 5 ก้าวติดต่อกัน ระยะเวลาดังกล่าวรวมถึงเวลาที่สัตว์ยกศีรษะขึ้นในระหว่างการแพะเล็มด้วย ยกเว้นถ้าสัตว์เดินอย่างน้อย 3 ก้าวติดต่อกันในขณะที่ยกศีรษะ หรือยืนยกศีรษะขึ้นโดยไม่เคี้ยวหญ้านานมากกว่า 3 วินาที การบันทึกในครั้งนั้นจะถูกยกเลิกทันที การบันทึกพฤติกรรมทั้งสองจะบันทึกโดยกระจายไปตลอดทั้งวัน อย่างน้อยช่วงเวลาละ 3 ครั้ง

มื้อ (meal) ของการแพะเล็ม คือ การที่กระปือ แพะเล็มพืชอาหารสัตว์อย่างต่อเนื่อง (Gibb, 1998) เป็นระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 12 นาที (พิพัฒน์ สมภาร, 2550b) และหากในช่วงเวลาถัด

มาสัตว์ตัวนั้นแสดงพฤติกรรมอื่น ๆ (เคี้ยวเอื้องหรืออยู่เฉย) เป็นระยะเวลาเท่ากับหรือมากกว่า 12 นาที จะจัดว่าเป็นระยะเวลาระหว่างมื้อ (inter-meal interval)

การวัดอุณหภูมิร่างกาย

เนื่องจากช่วงเดือนเมษายนเป็นช่วงที่ประเทศไทยมีอากาศร้อนมากที่สุด รวมทั้งมีอุปกรณ์ และแรงงานจำกัด ดังนั้นการบันทึกอุณหภูมิร่างกายจึงดำเนินการเฉพาะช่วงที่ 1 ของการทดลอง เฉพาะกระบือในทรินเมนต์ที่ 1 (กลุ่มที่ 3) และ 3 (กลุ่มที่ 5) ใช้อุณหภูมิใกล้เยื่อแก้วหู (tympanic membrane) เป็นตัวแทนของอุณหภูมิของร่างกาย การวัดทำโดยสอดกระบือ ทรินเมนต์ละ 2 ตัว เพื่อติดเครื่องบันทึกอุณหภูมิอัตโนมัติ (data logger) อุปกรณ์ดังกล่าวจะบรรจุอยู่ในกล่องพลาสติกกันน้ำและใส่ไว้ในกระบือหนึ่งทีติดไว้กับสายรัดที่บริเวณคอของกระบือ เครื่องบันทึกอุณหภูมิจะต่อเข้ากับสายเคเบิลที่ปลายอีกด้านหนึ่งเป็นเครื่องรับรู้ (sensor) สำหรับวัดอุณหภูมิ (thermister) โดยเครื่องบันทึกดังกล่าวจะถูกควบคุมการทำงานด้วยคอมพิวเตอร์ สายเคเบิลที่ใช้กับสัตว์จะมีการเคลือบด้วยยาปฏิชีวนะชนิดซีฟิ่งก่อนสอดเข้าไปในช่องหู สอดเข้าไปภายในช่องหู ให้ส่วนปลายของเครื่องรับรู้อยู่ใกล้กับเยื่อแก้วหูหรือลึกประมาณ 12-13 เซนติเมตร ตามวิธีการของ Wiersma และ Stott (1983) ทำการยึดสายเคเบิลไว้กับหูและเขาของกระบือด้วยผ้าพันแผลแบบรัดตัวเอง (3M™ Coban™, 3M, USA) ในวันที่ 26 ของการทดลอง กระบือจะถูกติดอุปกรณ์ โดยไม่มีการบันทึกข้อมูลเพื่อฝึกให้กระบือเคยชินกับอุปกรณ์ บันทึกข้อมูลจริงในวันที่ 28 ของการทดลอง โดยบันทึกอุณหภูมิทุก 2 นาที เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง

การวัดปริมาณอุจจาระ

ใช้วิธีวัดปริมาณอุจจาระ (faeces output) และการย่อยได้ของอาหาร (diet digestibility) (Penning, 2004) สมการที่ใช้ในการคำนวณการกินได้ (I) ซึ่งประมาณจากปริมาณอุจจาระ (FO) และการย่อยได้ (D) คือ

$$I = \frac{FO}{(1-D)}$$

โดยองค์ประกอบในสมการได้แก่ ปริมาณอุจจาระและการย่อยได้สามารถหาได้ ดังนี้

1. ปริมาณอุจจาระ

ดำเนินการในวันที่ 22, 23 และ 24 ของการทดลองแต่ละช่วง สุ่มกระบือที่รีทเมนต์ละ 2 ตัว ตีดึงเก็บอุจจาระไว้บริเวณทวารหนักของกระบือเพื่อเก็บอุจจาระทั้งหมดที่กระบือถ่ายออกมาในแต่ละวัน โดยก่อนที่จะวัดจริง จะตีดึงดังกล่าวไว้ 2-3 วัน เพื่อให้สัตว์คุ้นเคย ซึ่งน้ำหนักอุจจาระรวมทั้งวัน จากนั้นสุ่มตัวอย่างอุจจาระประมาณ 40-60 กรัม ไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง เพื่อหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งของอุจจาระ

2. การย่อยได้

การเก็บตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ที่สัตว์กิน จะทำการเลียนแบบการเลือกกินชิ้นส่วนของกระบือ (ทำเฉพาะช่วงที่ 1 และ 2 ของการทดลอง) โดยให้ผู้สังเกตเดินตามสัตว์ในระยะห่างที่สามารถมองเห็นสัตว์กัดกินส่วนของพืชได้ชัดเจน และเก็บส่วนของพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับที่สัตว์เลือกกิน (pluck sampling) โดยช่วงเวลาในการเก็บ จะทำกระจายไปตลอดวัน นำตัวอย่างที่เก็บได้ ไปอบแห้งจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาการย่อยได้ ด้วยวิธีเทคนิคดุงไนลอนตามวิธีของ Orskov et al. (1980)

การบันทึกข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยา

1. ข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยา ได้แก่ อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิจุดน้ำค้าง อุณหภูมิตุ้มดำ (black globe temperature) และรังสีอาทิตย์ บันทึกทุก 1 นาที ตลอดการทดลอง โดยใช้เครื่องบันทึกข้อมูลอัตโนมัติ (Onset Computer Corporation, USA) วางไว้ในตู้ Stevenson's Screen ซึ่งตั้งไว้ในบริเวณแปลงทดลอง ส่วนปริมาณน้ำฝนใช้ข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศสุรินทร์

2. คำนวณค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้น (THI) โดยใช้สมการสำหรับสัตว์เลี้ยง (Yousef, 1985) คือ $THI = T_{db} + 0.36T_{dp} + 41.2$

โดยที่ T_{db} คืออุณหภูมิกระเปาะแห้ง และ T_{dp} คือ อุณหภูมิจุดน้ำค้าง หน่วยวัดเป็นองศาเซลเซียส

การวัดผลผลิตของแปลงหญ้าและคุณค่าทางโภชนาของอาหาร

1. ในวันที่ 1 ของการทดลองในแต่ละช่วง สุ่มตัวอย่างหญ้าเพื่อวัดผลผลิตหญ้าในแปลง ด้วยกรอบสุ่มขนาด 0.25×0.25 ตารางเมตร ตัดหญ้าในระดับพื้นดินแปลงย่อยละ 10 ครั้ง ชั่งน้ำหนักสดและสุ่มตัวอย่างหญ้าที่ได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ เพื่อหาน้ำหนักแห้งของหญ้า คำนวณกลับเป็นผลผลิตหญ้าในแปลงเป็นกิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อไร่

2. ก่อนการสังเกตพฤติกรรมประมาณ 1-2 วัน ทำการวัดความสูงของทรงพุ่มแปลงหญ้า โดยใช้อุปกรณ์วัดความสูงของทรงพุ่มแบบจางอย่างง่าย (Sharrow, 1984) สุ่มวัดแปลงย่อยละ 30 ครั้ง

3. สุ่มตัวอย่างหญ้าแห้งจากข้อ 1 และตัวอย่างไขมันสำปะหลังแห้ง ไปวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนา ได้แก่ เยื่อใยที่สกัดด้วยสารละลายที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF), เยื่อใยที่สกัดด้วยสารละลายที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF), ลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) และโปรตีนหยาบ (crude protein, CP)

ต้นทุนการผลิต

บันทึกรายจ่ายที่เป็นตัวเงินและไม่เป็นตัวเงิน เช่น ค่าพันธุ์กระบือเริ่มต้นงานทดลอง ค่าไขมันสำปะหลัง ค่าแร่ธาตุก้อนและน้ำ ค่าแรง ค่าปุ๋ยคอก ค่าเมล็ดพันธุ์หญ้า และค่าเตรียมพื้นที่

การวิเคราะห์สถิติ

1. คำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเจริญเติบโตของกระบือ ได้แก่ น้ำหนักเริ่มต้น, น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองในแต่ละช่วงและน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ โดยการเปรียบเทียบระหว่าง (1) กระบือที่ปล่อยแทะเล็ม 24 ชั่วโมง (DN) กับกระบือที่ปล่อยแทะเล็มเฉพาะกลางวัน (D) และกลางคืน (N) และ (2) ระหว่างกระบือที่ปล่อยแทะเล็มเฉพาะกลางวันกับกระบือที่ปล่อยแทะเล็มเฉพาะกลางคืน ด้วยวิธีเปรียบเทียบต่างเชิงตั้งฉาก (orthogonal contrast)

2. คำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละกิจกรรม ได้แก่ ระยะเวลาในการแทะเล็ม การเคี้ยวเคี้ยว (ยืนหรือนอน) อัตราการก้าวเดิน และอัตราการกัดหญ้าของกระบือในแต่ละกลุ่ม วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธีทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด (least significant difference)

3. นำข้อมูลอุณหภูมิร่างกายกระบือมาคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอุณหภูมิร่างกายของกระบือในทรีทเมนต์ที่ 1 (กลุ่มที่ 3) และ 3 (กลุ่มที่ 5) ในช่วงที่ 1 ของการทดลอง โดยแบ่งออกเป็น 4 ช่วง ได้แก่ กลางวัน (06.00-18.00 น.) กลางคืน (18.00-6.00 น.) เช้า (06.00-12.00 น.) และบ่าย (12.00-18.00 น.) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ในแต่ละช่วงเวลา โดยใช้วิธีการทดสอบผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองประชากร (t-test)

4. นำข้อมูลอุณหภูมิร่างกายกระบือและข้อมูลทางอตุณิยมวิทยา มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิร่างกายและปัจจัยทางอตุณิยมวิทยา ได้แก่ อุณหภูมิอากาศ ดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้น อุณหภูมิตุ้มดำ และรังสีอาทิตย์ โดยใช้วิธีทดสอบหาค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (pearson correlation)

สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

1. ทำการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ ตำบลนาบัว อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์
2. ทำการทดลองวิเคราะห์คุณภาพอาหาร ณ ห้องวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต และภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และวิทยาเขตกำแพงแสน

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ช่วงเตรียมการทดลอง 1 พฤษภาคม 2550 ถึง 16 มีนาคม 2551

ช่วงที่ 1 ของการทดลอง เริ่ม 17 มีนาคม 2551 และสิ้นสุด 25 เมษายน 2551

ช่วงที่ 2 ของการทดลอง เริ่ม 16 พฤษภาคม 2551 และสิ้นสุด 24 มิถุนายน 2551

ช่วงที่ 3 ของการทดลอง เริ่ม 5 สิงหาคม 2551 และสิ้นสุด 13 กันยายน 2551