เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2546. บทความ: การพัฒนาอาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ (ปศุสัตว์โคนม) กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมปศุสัตว์. 2550. บทความ: ความรู้ด้านอาหารสัตว์, ฟางข้าว. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. http://www.dld.go.th/nutrition/Nutrition_Knowlage/nutrition_1.html.

กรมปศุสัตว์. 2552. สถิติกระบือในประเทศไทย. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ, ศูนย์สารสนเทศกรมปศุสัตว์. http://www.dld.go.th/ ict/stat_web/yearly/yearly51/stat51/annex04.xls.

กรมวิชาการเกษตร. 2536. เอกสารแนะนำพันธุ์หม่อนไหมและสิ่งประดิษฐ์.สถาบันวิจัยหม่อนไหม. กรุงเทพฯ.

กองวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2548. ทิศทางการพัฒนาปศุสัตว์ในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 10 พ.ศ. 2550-2554. กองวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กังวาน ธรรมแสง. 2531. ความสัมพันธ์ระหว่างพลังงานและโปรตีนในกระบือรุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

เกียรติภูมิ พฤกษะวัน. 2530. ยูเรียและโมลาส. เวทเทอรินารีนิวส์. 8 (86).

เกรียงศักดิ์ สะอาดรักษ์. 2539. ผลของการเสริมอาหารเม็ดคุณภาพสูงต่อปริมาณการกินได้ รูปแบบกระบวนการหมักในรูเมน ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

เกษมศักดิ์ ตั้งมั่น. 2536. การเปรียบเทียบผลผลิตและกรดอะมิโนของหม่อนพันธุ์ต่างๆที่มีผลต่อคุณภาพและผลผลิตของไหม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

คณะกรรมการส่งเสริมสินค้าไหมไทย. 2525. เทคนิคการเลี้ยงไหมในเขตร้อน. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

จรัญ จันทลักขณา. 2526. การพัฒนาปศุสัตว์เพื่อชนบท. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

จรัล อินทรังษี. 2527. อ้อยกับการผลิตอาหารแห้งสำหรับปศุสัตว์. วารสารน้ำตาล. 20: 11.

จีระชัย กาญจนพฤฒิพงศ์ และบุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2529. การศึกษาการใช้ฟางข้าวหมักยูเรียกับฟางข้าวราดสารละลายยูเรีย-กากน้ำตาลเป็นอาหารหยาบสำหรับวัวนมเพศผู้. ใน รายงานการ ประชุมทางวิชาการ สาขาสัตว์ ครั้งที่ 24 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

ฉลอง วชิราภากร. 2541. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น

เฉลิมพล เยื้องกลาง. 2542. ผลของระดับการเสริมอาหารเม็ดคุณภาพสูงและระดับอาหารข้นต่อกระบวนการหมักในรูเมน ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนมในโคนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. ขอนแก่น.

ช่อลัดดา เที่ยงพุก. 2548. คุณค่าหม่อนนอกจากการเลี้ยงไหม. วารสารอาหาร. 35(3): 195-197.

ไชยวรรณ วัฒนจันทร์. 2532. การศึกษาเปรียบเทียบแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลยูโลสในกระเพาะหมักของกระบือปลักและโคที่ได้รับอาหารชนิดต่างๆ. ปัญหาพิเศษระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2531. คุณค่าทางอาหารของฟางข้าวสาลีธรรมดาและฟางข้าวสาลีหมักยูเรียในการวางแผนวิจัยและพัฒนาธัญพืชเมืองหนาว ปี 2531/2532. ลำปาง.

บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2541. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

บุญเสริม ชีวอิสระกุล และ บุญล้อม ชีวอิสระกุล. 2529. สมรรถภาพในการผลิตของโครุ่นที่ได้รับฟางข้าวเสริมกระถินและรำเปรียบเทียบกับฟางปรุงแต่งและรำ. วารสารเกษตร. 2(1):1-16. เชียงใหม่.

เมธา วรรณพัฒน์. 2528. ฟางข้าว:อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

เมธา วรรณพัฒน์. 2531. รายงานผลการวิจัยโครงการวิจัยการปรับปรุงสภาวะทางโภชนาการเพื่อเพิ่มสมรรถนะของกระบือในไร่นา. หจก. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ.

เมธา วรร์ณพัฒน์. 2533. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ฟันนี่พลับบลิชชิ่ง จำกัด. 473 น. กรุงเทพฯ.

เมธา วรรณพัฒน์. 2540. อาหารหยาบกับประสิทธิภาพการผลิตโคนม. เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษใน: the FAO Training Course on Dairy Cattle Feeding and Nutrition. 22 พฤศจิกายน-4 ธันวาคม 2540. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

เมธา วรรณพัฒน์. 2542. มันเฮย์:เคล็ด(ไม่ลับ) ในการเพิ่มผลผลิตและผลกำไรในการผลิตโคนม. เอกสารประกอบการบรรยายในวันเทศกาลโคนมแห่งชาติ วันที่ 20 มกราคม 2542 ณ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย. สระบุรี.

เมธา วรรณพัฒน์ และฉลอง วชิราภากร. 2533. เทคนิคการให้อาหารโคเนื้อและโคนม. หจก. ฟันนี่พับลิชชิ่ง : กรุงเทพฯ.

เมธา วรรณพัฒน์ กฤตพล สมมาตย์ พยุงศักดิ์ อาจศึก ฉลอง วชิราภากร และเวชสิทธิ์ โทบุราณ. 2535. อิทธิพลของการเสริมอาหารก้อนคุณภาพสูง (high quality feed block; HQFB) ต่อปริมาณการกินได้ รูปแบบของกระบวนการหมักในรูเมน และการย่อยสลายของวัตถุดิบอาหารสัตว์ในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลัก. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่30 บางเขน. กรุงเทพฯ.

เมธา วรรณพัฒน์ ฉลอง วชิราภากร กฤตพล สมมาตย์ สุทธพงษ์ อุริยพงสรรค์ โอภาส พิมพา และเวชสิทธิ์ โทบุราณ. 2538. การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

วรพงษ์ สุริยจันทราทอง, จินดา สุขสุโชศ, สุวิทย์ ผลลาภ, ฉายแสง สาระผล และอุทัย พิสณฑ์. 2516. การใช้ฟางข้าวของกระบือเมื่อเสริมด้วยยูเรียและกากน้ำตาล. รายงานประจำปี. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2540. เป้าหมายการผลิตสินค้าเกษตรกรรมที่สำคัญปี 2539/2540. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิโรจน์ แก้วเรือง. 2539. หม่อนพืชสารพัดประโยชน์และผลิตภัณฑ์จากผลหม่อน. สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

วลัยลักษณ์ แก้ววงษา. 2543. ผลของชนิดอาหารหยาบต่อปริมาณการกินได้ ความสามารถในการย่อยได้ กระบวนการหมัก และจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนของกระบือปลัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

ศิวพร วรอนุ. 2543. การศึกษาเปรียบเทียบระดับของอาหารหยาบและอาหารข้นที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก กระบวนการหมัก ผลผลิตสุดท้าย และปริมาณการกินได้ในโคและกระบือปลักที่เลี้ยงด้วยฟางหมักยูเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

สกล ไข่คำ. 2546. พืชอาหารสัตว์และการจัดการทุ่งหญ้า. เอกสารคำสอน ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

สุภชัย บทไธสง. 2551. ผลของการใช้ใบหม่อนอัดเม็ดเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารโครีดนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

สราวุธ เกาะขุนทด. 2545. ผลของมันสำปะหลังตากแห้งทั้งต้น(มันเฮย์)ในอาหารก้อนคุณภาพสูงต่อผลผลิตน้ำนมในโครีดนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.ขอนแก่น.

อาภัสสรา ชมิดท์. 2537. ชีวเคมี. สหมิตรออฟเซท. กรุงเทพฯ.

โอภาส พิมพา และทองสุข เจตนา. 2547. การประเมินจุลินทรีย์โปรตีนโดยใช้สารอนุพันธ์พิวรีนในปัสสาวะของสัตว์เคี้ยวเอื้อง. โฟกัสมาสเตอร์พรินต์. พิษณุโลก.

Aharoni, Y., H. Tagari, and R. C. Bosston. 1991. A new approaches to the quantitative estimation of nitrogen metabolic pathway in the rumen. Br. J. Nutr. 66:407.

Ahn, B. H. 1992. Effect of non-structural carbohydrate on ruminal ammonia concentration and microbial protein synthesis in ruminants. In: Proceeding of 6th AAAP Animal Science Congress Vol. 3: 67.

Akkada, A. R. A., and H. E. Sayed. 1967. The use of ruminal ammonia and blood urea as an index of the nutritive value of protein in some food-stuffs. J. Agric. Sci. 69(1): 25.

Aldrich, J. M., L.D. Muller, and G. A. Varga. 1993. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen Fermentation, nutrients flow, and performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 76:1091.

Ali, C. S., T. Khaliq, and M. Sarwar. 1997. Influence of various sources of non-protein nitrogenous sources on in vitro fermentation patterns of rumen microbes. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 10:357.

Al-Rabbat, M.F., R.L. Baldwin, and W.C. Weimer. 1971. Microbial growth dependence on ammonia nitrogen in the bovine rumen: a quantitative study. J. Dairy Sci. 54:1162.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal.Chem., Arlington, VA.

ARC (Agricultural Research Council), 1984. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock, Suppl. 1. Commonwealth Agricultural Bureaux, London, UK, p.351-360.

Asplund, J.M. 1994. Principle of Protein Nutrition of Ruminants. CRC Press., Inc, Florida.

Badurdeen, A.L., M. N. M. Ibrahim, and J. B. Sciere. 1994. Methods to improve utilization of rice straw. 2. Effects of different levels of feeding on intake and digestibility of untreated and urea ammonia treated rice straw. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 7:165.

Balcells, J., D. S. Parker, and C. J. Seal. 1992. Purine metabolite concentrations in portal and peripheral blood of steers, sheep and rats. Comp. Biochem. Physiol. 101B, 4: 633-636.

Baldwin, R.L., and S.C. Denham. 1979. Quantitative and dynamic aspects of nitrogen metabolism in the rumen A modeling analysis. J. Anim. Sci. 49: 1631.

Barry, T.N., and T.R. Manley. 1984. The role of condensed tannin in the nutritional value of Lotus pedunculatus for sheep. Quantitative digestion of carbohydrates and protein. Br. J. Nutr. 51:498.

Barry, T.N., and W.C. McNabb, 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. Br. J. Nutr., 81: 263-272.

Benavides, J.E. 2001. Utilization of mulberry in animal production system (part1/3). http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGAP/FRG/MULLBERRY/Benavid.tx.

Bhatia, S.K., K. Pradhau, and R. Singh. 1980. Ammonia anabolism enzymes in cattle and buffalo fed varied non-protein nitrogen and carbohydrates. J. Dairy Sci. 63: 1104.

Bodthaisong, S., M. Wanapat, P. Pakdee, and S. Wanapat. 2007. Effect of dried mulberry leaf as a protein source in replacement for soybean meal in concentrate ration on rumen ecology and milk yield in lactating dairy cow. In: Proceeding of The 4th Animal Science Conference, 31 January 2008, Khon Kaen University: Khon Kaen, Thailand. pp. 50-54.

Bremner, J. M., and Keeney, D. R. 1965. Steam distillation methods of determination of ammonium, nitrate and nitrite. Anal. Clin. Acta. 32: 485.

Briggs, M. H. 1967. Urea as a Protein Supplement. Pergamon Press: New York.

Brown, W. F. 1993. Canemolasses and cottonseed meal supplementation of ammoniated tropical grass hay for yearling cattle. J. Anim. Sci. 71: 3451.

Casper, D. P., D. J. Schingoethe, and W. A. Eisenbeiz. 1990. Reponse of early lactating dairy cows fed diets varying in source of non-structural carbohydrate and crude protein. J. Dairy Sci. 73: 1039.

Castillo, L.S. 1981. The nutrition of water buffalo In : Recent Advances in Buffalo Research and Development. M.H. Tetangco, Ed. FFTC Book Series No. 22. Taipei, Taiwan.

Chaiyabutr, N., S. Chanpongsang, and P. Loy Petjra. 1995. Renal regulation of urea excretion in swamp buffalo fed with high protein supplementation. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 8: 275.

Chanthai, S., M. Wanapat, and C. Wachirapakorn. 1987. Rumen ammonia-N and Volatile fatty acid concentration in cattle and buffalo give rice straw based diet. Paper presented at the International Works shop of the 7th Annual Meeting, Australian-Asian Fibrous Agricultural Residues Research Network, held at Chaingmai, Thailand June 2-6.

Chanthai, S., M. Wanapat, and C. Wachirapakorn. 1988. Rumen ammonia-N and Volatile fatty acid concentrate in cattle and buffaloes given rice straw evaluation. In: Proceeding of Ruminants Feeding System Utilizing Fibrous Agriculture Residue. Khan Kaen University.

Chanthakhoun, V., and M. Wanapat. 2009. Effect of Legume (*Phaseolus calcaratus*) supplementation on rumen parameters in swamp buffaloes. In: Proceeding of ANA-world Conference, 14-17 Feb 2009 New Delhi, India. pp. 227.

Chanthakhoun, V., M. Wanapat, and S. Wanapat. 2008. Effect of ridged-planting of *Phaseolus calcaratus* (Tua-mun) on yield and chemical composition. In: Proceeding of The 4th Animal Science Conference, 31 January 2008, Khon Kaen University: Khon Kaen, Thailand. pp. 1-4.

Chen, G., and J.B. Russel. 1988. Fermentation of prptides and amino acids by monensin sensitive ruminal peptostreptococcus spp. Appl. Environ. Microbiol. 54:2742.

Chen, X. B., F. D. Hovell, E. R. Ørskov, and D.S. Brown. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants : effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. Br. J. Nutr. 63:131-142.

Chen, X. B., D. J. Kyle, C. C. Whyte, F.D. Hovell, and E. R. Ørskov. 1989. Uric acid and allantoin in plasma and saliva of sheep. Prod. Nutr Sci. 48: 88A.

Chen, X. B., D. J. Kyle, and E. R. Ørskov. 1993. Measurement of allantoin in urine and plasma by high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization. J. Chromatography. 617:241.

Chen, X. B., A. T. Mejia, D. J. Kyle, and E. R. Ørskov. 1995. Evaluation of the Use of Purine Derivative: Creatinine Ratio in Spot Urine and Samples as an Index of Microbial Protein Supply in Ruminants: Studies in Sheep. J. Agric. Sci. 125: 137-143.

Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Minato, and J. W. Costerton, 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation with in the rumen. In: Tsuda, T., Y. Sasaki, and R. Kawashimal (eds.), Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminant, Academic Press, Toronto, ON. pp. 264-595.

Cheva-Isarakul, B., and N. Potikanond. 1986. Performance of bulls fed diets containing untreated rice straw and leucaena leaves compare to urea-treated rice straw. Thai J. Agric. Sci. 19:49-57.

Chiquette, J., K. J. Cheng, L. M. Rode, and Miligan. 1989. Effect of tannin on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus coniculatus, L.*) on feed digestibility and rumen fluid composition in sheep. Can. J. Anim. Sci. 69:1031.

Church, D. C. 1979. Digestive physiology and nutrition of ruminants. Vol. I. O&B Books Inc. Corvallis, Oregon, USA.

Coleman, G. S. 1975. Interrelationship between rumen ciliate protozoa and bacteria. In: Digestion and Metabolism in the Ruminant. In: McDonald, I.W. and A.C.I. Wamer. (Eds.), pp. 149-164. University of New England, Armidale, Australia.

Crocker, C. L. 1967. Rapid determination of urea-nitrogen in serum or plasma without deproteinization. Amer. J. Med. Tech. 33:361.

Czerkawski, J. W. 1986. An introduction to rumen studies. Pergamon Press In. New York, USA.

Dejajanegara, A., A. R. Ambar, and M. Rangkuti. 1983. Urea treatment during storage to increase utilization of rice straw. In: Pearce, G.R. (ed.), The Utilization of Fibrous Agricultural Residues, Waston Ferguson and Co., Brisbane. pp. 140-143.

Depeters and Ferguson. 1992. Non protein nitrogen and protein distribution in milk of cows. J. Dairy Sci. 75:3192.

Dung, N.T., N.T. Mui and I. Ledin, 2005. Effect of replacing a commercial concentrate with cassava hay (*Manihot esculenta* Crantz) on the performance of growing goats. Anim. Feed Sci. Technol., 119: 271-281.

Ernst, A. J., J. F. Limpus, and P.K. O'Rourke. 1975. Effect of supplements of molasses and urea on intake and digestibility of native pasture hay by steer. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Hus. 15: 451.

Fadel Elseed, A. M. A., J. Sekine, M. Hishinuma, and K. Hamana. 2003. Effects of ammonia, urea plus calcium hydroxide and animal urine treatments on chemical composition and *in sacco* degradability of rice straw. Asian-Aus. J. Anim. Sci 16:368–373.

Forbes, J. M., and J. France. 1993. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism Northamton, the university press, Cambridge. UK. 515 p.

Fox, I. H. 1978. Degradation of purine nucleotides. In: Uric acid, edited by Kelley, W. N. and Weiner, I.M., Sprimger-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York 93-123.

Garg, M. R. 1991. Urea molasses block feeding in India. Paper presented at the Regional Workshop on Increasing Livestock Production through Better Utilization of Available Feed Resource at Vietnam. 25-30 November, 1991. National Dairy Development Board ANAND-388001. INDIA.

Garg, M. R., and B. N. Gupta. 1992. Effect of supplementing urea molasses mineral block licks on bacteria production rate in the crossbred carves. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 5:533.

Giesecke, D., L. Ehrentreich, and M. Stangassinger. 1994. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. J. Dairy Sci. 77:2376–2381.

Goering, H. K., and Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagent, procedures and some application) Washington, D.C. Agric. Handbook No. 379, ARS, U.S.A. Department of Animal and Rang Science. New Mexico State University.

Grieve, D. C., C. E. Goppock, W. G. Merrill, and H. F. Tyrrd. 1973. Sulfer supplementation of urea-containing silage and concentrates. I: Feed intake and lactation performance. J. Dairy Sci. 56: 218.

Haig, P. A., T. Mutsvangwa, R. Spratt, and B. W. Mcbride. 2002. Effect of dietary protein solubility on nitrogen losses from lactating dairy cows and comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. J. Dairy Sci. 85 : 1208-1217.

Hart, F. J., and M. Wanapat. 1992. Physiology of digestion of urea-treated rice straw in swamp buffalo. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 5:617.

Hatch, C. F., and Beeson, W.M. 1972. Effect of different levels of cane molasses on nitrogen and energy utilization in urea ration for steer. J. Anim. Sci. 35: 854.

Henning, P. H., D. G. Steyn, and H. H. Meissner. 1993. Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. J. Anim. Sci. 71:2516.

Higginbotham, G. E., J. J. Huber, M. V. Wallentine, N. P. Johnston, and D. Andri. 1989. Influence of protein percentage and degradability on performance of lactating cows during moderate temperature. J. Dairy. Sci. 72:1818-1825.

Hino, T., and J. B. Russel. 1987. Relative contribution of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in *in vitro*. J. Anim. Sci. 64:261.

Hobson, P. N. 1969. Rumen bacteria. Meth Microbe. 3B:53.

Hoover, W. H., and S. R. Stokes. 1991. Balancing carbohydrate and proteins for optimum rumen microbial yield. J. Dairy Sci. 74 : 3630.

Hossain, K. B., N. R. Sarker, M. Saadullah, M. A. H Beg, and T. M. Khan. 1995. Effect of feeding straw supplementing with urea molasses block lick on the performance of sheep. AJAS. 8: 289.

Huber, J. T., and L. J. Kung. 1980 Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci. 44:321.

Huber, J. T., and L. J. Kung. 1981. Protein and non-protein nitrogen utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci. 64:1170.

Hue, K. T., D. T. T. Van, I. Ledin, E. Spörndly, and E. Wredle. 2010. Effect of feeding fresh, wilted and sun-dried foliage from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on the performance of lambs and their intake of hydrogen cyanide. Livest. Sci., 131: 155-161.

Hughes, J. M., and G. Peralta. 1981. Observations on the degradabilities of feedstuffs in situ in cattle on diet with or without molasses. Trop. Anim. Prod. 6: 174.

Hungate, R.E. 1966. The Rumen and Its Microbes. Academic Press. New York and London.

Hungate, R.E. 1969. A Roll Tube Method for Cultivation of strict Anaerobes. In: Methods in Microbiology. (Eds., J.R. Norris and D.W. Ribbons). New York. Academic. 313 p.

IAEA. 1997. Determination of purine derivative in urine. In: Proceeding of Estimation of the rumen microbial protein production from purine derivatives in rumen. Animal Production and Health Section. Vienna, Austria. 49p.

Jetana, T., N. Abdullah, R. A. Halim, S. Jadaludin, and Y. W. Ho. 2003a. Measurement Method of Microbial Nitrogen in Rumen of Sheep Supplemented with Energy and Protein: A Comparative of Microbial Nitrogen with Direct Measurement Method and Using Allantoin Excretion in the Urine. In: Proceeding of The 41th Kasetsart University Annual Conference, 3-7 Febuary, 2003, Bangkok, Thailand.

Jetana, T., W. Suthikrai, S. Urawang, S. Kijsamraj and S. Sophon. 2003b. The Use Urinary Purines for Prediction Microbial Protein Production in Rumen. Using Spot Sampling Times for Prediction Microbial Protein in the Rumen of Brahman Cattle. In: Proceeding of The 41th Kasetsart University Annual Conference, 3-7 Febuary, 2003, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok, Thailand pp. 82-95.

Joblin, K. N. 1981. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tube. Appl. Environ. Microbiol. 42:1119.

Jones,W. T., and J. L. Mangan. 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*, *Scop*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein and their reversal by polyethyleneglycol and pH. J. Sci. Food. Agric. 28:126.

Joomjantha, S., and M. Wanapat. 2007. Effect of intercropping on cassava cultivations. Tropical Feed Resources Research and Development Center, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

Kalmbacher, R. S, W. F. Brown, and F. M. Pate. 1994. Effect of molasses-based liquid supplements on digestibility of creeping blue stem and performance of mature coes on winter range. J. Anim. Sci. 73: 853.

Khampa S., P. Chaowarat, R. Singhalert, and M. Wanapat. 2009. Effects of Malate and Cassava Hay in High-Quality Feed Block on Ruminal Fermentation Efficiency and Digestibility of Nutrients in Dairy Heifer. Res. J. Dai. Sci. 3:8-12.

Kittiworawech, S., M. Wanapat, K. Sommart, D. S. Parker, P. Rowlinson, and W. Toburan. 1995. Effect of source and protein level on digestibility, ruminal fermentation and urinary purine excretion in swamp buffaloes. In: Proceedings of the international workshop on draft animal power to increase farming efficiency and sustainability. Khon Kaen University. Thailand.

KKU-IDRC. 1980. Annual Report KKU-IDRC : Cassava and Nutrition project in Thailand. Khon Kaen University. Khon Kaen.

Koakhunthod S., and M. Wanapat. 2000. Effect of high-quality feed block or extracted rice bran supplementation on feed intake, rumen fermentation and microbial population in beef cattle fed on urea-treated rice straw. In: Proceeding of the 9th Congress of Asian-Australasian Association of Animal Production Societies and 3rd Biennial Conference of the Australian Society of Animal Production. Vol. B. : 3-7 July 2000. University of New South Wales. Sydney, Australia. pp. 235

Koakhunthod S., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, N. Nontaso, P. Rowlinson, and N. Sornsungnern. 2001. Effect of cassava hay and high-quality feed block supplementation on milk production in lactating dairy cows. In: Proceedings of the International Workshop on Current Research and Development of Cassava as Animal Feed, 23-24 July 2001, Khon Kaen University: Khon Kaen, Thailand. pp. 21-25.

Kocherginskaya, S. A., R. I. Aminov, and B. A. White. 2001. Analysis of the rumen bacteria diversity under two different diet condition using denaturing gradient gel electrophoresis, random sequencing, and statistical ecology approaches. Anaerobe. 7: 119.

Kunju, P. J. G. 1986. Urea molasses block lick a feed supplement for ruminant. Rice Straw and Related Feeds in Ruminant Rations. In : Proceeding of An Internation Workshop, Kandy, Sri Langka.

Leng, R.A. and J.V. Nolan. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. J. Dairy Sci. 70: 1072.

Lewis, D. 1957. Blood-urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. J. Agri. Sci. 48:438.

Liu, Q., C. Wang, Y. X. Huang, K. H. Dong, W. Z. Yang, and H. Wang. 2008. Urinary purine derivatives. Effect of lanthanum on fermentation, urinary excretion of purine derivatives and digestibility in steers. Anim. Feed Sci. Technol. 142:121-132

Lowry, J. B., C. S. McSweeney, and B. Palmer. 1996. Changing perceptions of the effect of plant phenolics on nutrient supply in the ruminant. Aust. J. Agric. Res. 47:829.

Maeng, W. J., C. J. Van Nevel, R. L. Baldwin, and J. G. Morris. 1976. Rumen microbial growth rates and yields: effect of amino acids and protein. J. Dairy Sci. 59:68.

Makkar, H. P. S., and K. Becker. 1998. Do tannins in leaves of trees and shrubs from Africa and Himalayan regtons differ in level and activity. Agroforestry Systems. 40:59-68.

Makkar, H. P. S., B. Singh, and S. S. Negi. 1989. Relationship of rumen degradability with microbial colonization, cell wall constituents and tannin levels in some tree leaves. Anim. Prod. 49:299-303.

Makkar, H. P. S., M. Blummel, and K. Beckar. 1995. Effect of in vitro and interaction between tannins and saponins and take of tannins in rumen. J. Sci. Food. Agric. 69:481.

Mansfield, H. R., M. I. Endres, and M. D. Stern. 1994. Influence of Non-fibrous Carbohydrate and Degradable Intalte Protein on Fermentation by Ruminal Microorganisms in Continuous Culture. J. Anim. Sci. 1994. 72: 2464.

Mawuenyegah, P. O., L. Warlyt, T. Harumoto, and T. Fujiharat. 1997. Effect of ammonia treatment or protein supplementation on rumination behavior in sheep given barley straw. J. Anim. Sci. 64: 441.

McAllan, A. B. 1980. The degradation of nucleic acid in, and the removal of breakdown products from the small intestines of steers. Br. J. Nutr. 44:99-112.

McCarthy, R. D., T. H. Jr. Klusmeyer, J. L. Vicini., J. H. Clark, and D. R. Nellson. 1989. Effect of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. J. Dairy Sci. 72:2002.

McNabb, W. C., G. C. Waghorn, T. N. Barry, and I. D. Shelton. 1993 The effect of condensed tanninin Lotus pedunculatus on the digestion and metabolism of merhionine, cystine and inorganic sulphur in sheep. Br. J. Nutr. 70:674.

Mehrez, A.A., E.R. Orskov, and I. McDonald. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. Br. J. Nutr. 38:437.

Murdiati, T. B., C. S. McSweeney, and J. B. Lowry. 1992. Metabolismin sheep of gallic acid, tannic acid and hydrolysable tannin from Terminalia oblongata. Aust. J. Agric. Res. 43:1307.

Nakamura, K. and T. Fujihara. 1994. The effect of dietary energy levels on microbial yield in the rumen of sheep. Sustainable animal production and the environment. In: Proceeding of the 7th AAAP Animal Science Congress, Bali, Indonesia 3:57-58.

Nasir, A., and M. A. Fadel Elaseed. 2004. Performance of sheep offered ammonia, or urea-calcium hydroxide treated rice straw as an only feed. Animal Science Journal 75, 411-415.

National Research Council (NRC). 1988. Nutrient requirements of beef cattle. 6th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC., U.S.A.

National Research Council (NRC). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC., U.S.A.

Netpana, N., M. Wanapat, O. Poungchompu, and W. Toburan. 2001. Effect of condensed tannins in cassava hay on fecal parasitic egg counts in swamp buffaloes and cattle, pp. 41-43. Proceedings of "Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed". 23-24 July 2001. Khon Kaen University, Khon Kaen.

Ngarmsang, A., M. Wanapat, and C. Wachirapakorn. 2000. A comparative study of 2 and 5% urea-treated rice straw on ruminal ecology, digestibility and dry matter intake in swamp buffaloes. In: Proceeding of The 9th congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Society of Animal Production, University of New South Wales, Sydney, Australia, July 3-7. 13:544.

Nocek, J.E., and Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci. 71: 2070.

Norton, B. W. 1999. The significance of tannins in tropical animal production, In: Proceeding of Tannin in Livestock and Human Nutrition. 31 May-2 June 1999. Adelaide, Australia. pp. 14-23.

Ogimoto, K., S. Imai and T. Asada. 1983. Bacterial flora, Protozoal fauna and volatile fatty acid in the rumen of the water buffalo (*Bubalus bubalis*). South African. J. Anim Sci. 13:59.

Oldham, J. D. 1984. Protein-Energy Interrelationship in Dairy Cows. J. Dairy Sci. 67: 1090.

Onwuka, C. F.I. 1992. Tannin and saponin contents of some tropical browse species fed goats. Trop. Agric. 69:176.

Orpin, C. G. 1975. Studies on the rumen flagellate Neocallimastix frontalis. J Gen. Microbiol. 91:249.

Orpin, C. G. 1989. Ecology of rumen anaerobic fungi in relation to the nutrition of the host animal. In The Role of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion (OECD/UNE International Seminar), Edited by J.V. Nolan, R.A. Leng, and D.I. Demeyer. Armidale, New South Wales: Penambul. pp. 1-10.

Ørskov, E. R. 1992. Protein nutrition in ruminants. Acedamic press Inc. San Diego, California, U.S.A.

Owen, F. N., and R. Zinn. 1988. Protein metabolism of ruminant animals. In The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition. D.C. Church, ed. Waveland Press Inc., Prospect Heights, IL. p. 227-249.

Parker, D. S. 1995. The use of urinary purine excretion as a marker for microbial protein flow in buffaloes. In: Proceedings of the international workshop on draft animal power to increase farming efficiency and sustainability. Khon Kaen University. Thailand.

Pate, F. M., D. W. Sanson, and R. V. Machen, 1990. Value of molasses mixture containing natural protein as a supplement to blood cows offered low-quality forages. J. Anim. Sci. 68: 618.

Perdok, H. G., and R. A. Leng. 1990. Effect of supplementation with protein meal on the growth of cattle given a basal diet of untreated or ammoniated rice straw. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 3:269.

Perez, J. F., J. J. Balcells., H. L., Gonda, and C. Castrillo. 1996. Determination of rumen microbial-N production in sheep: A comparison of urinary purine excretion with method using 15-N and bases as markers of microbial-N entering the duodenum. Br. J. Nutr. 75:699-705.

Peterson, A. B. 2006. Estimation of rumen microbial protein production and ruminal protein degradation. Dissertation submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland-College Park in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy.

Phengvichith, V. and I. Ledin, 2007. Effect of a diet high in energy and protein on growth, carcass characteristics and parasite resistance in goats. Trop. Anim. Health Prod., 39: 59-70.

Pimpa, O. 2002. Urinary Purine derivatives Excretion as a method for estimation of rumen microbial protein production in swamp buffaloes and zebu cattle. PhD thesis, University Putra Malaysia, Malaysia.

Pimpa, O., J. B. Liang, J. Balcells, Z. A. Jelan and N. Abdullah. 2001. Recovery rate of plasma purine derivatives in the urine of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) with special references to differences with zebu cattle. In: Proceedings of the Second Symposium on Sustainable Utilization of Agricultural Byproducts for Animal Production, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 26-67 July 2001.

Pimpa, O., J. B. Liang, Z. A. Jelan, and N. Abdullah. 2003. Response of urinary purine derivatives excretion to feed intake in swamp buffaloes and zebu cattle. Chiang Mai J. Sci. 2003;30(1): 47-55.

Pimpa, O., M. Wanapat, K. Sommart, S. Uriyapongson, and Parker D. 1996. Effect of level of NH_3-N on straw intake, digestibility and microbial protein synthesis in swamp buffaloes. In: Proceedings of The 8th AAAP Animal Science Congress, October 13-18 1996, Tokyo, Japan.

Poungchompu, O., M. Wanapat, S. Joomjunta, R. Lunsin, J. Heebkaew, and A. Petlum. 2006. Study on growth and nutritive values of *Phaseolus calcaratus*. Tropical Feed Resources Research and Development Center, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

Preston, R. R., and R. A. Leng. 1987. Matching Ruminant Production System with Available Resources in the Tropic and Sub-tropics. Penabul Books: Armidale, New South Wales, Australia.

Rafiq, M., J. K. Jadoon, K. Mahmood, and M. K. Naqvi. 1995. Economic benefits of supplementing lambs with urea molasses blocks on ranges of Pakistan. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 9: 127.

Reed, J. D. 1995. Nutritional toxicology of tannin and related polyphenols in forage legumes. J. Ánim. Sci. 73:1516.

Reed, J. D., E. NcDowell, P. J. Van Soest, and P. J. Horvath. 1982. Condensed tannin : A factor limiting the use of cassava forage. J. Sci. Food Agric. 33:213.

Resines. J. A., M. J. Arin, and M. T. Diez. 1992. Determination of creatinine and purin derivatives in ruminant urine by reverse phase high performance liquid chromatography. J. Liquid. Chomato. 607:199.

Reynal, S. M., G. A. Broderick, and C. Bearzi. 2005. Comparison of four markers for quantifying microbial protein flow from the rumen of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 88: 4065–4082.

Rojas, H., and J. Benavides. 1994. Production de leche de cabras alimentadas con pasto suplementadas con altos nives de Morera (*Morus sp.*) In: Benavides, J.E. (ed.), Forrajeros en America Central, Informen technico CATIE No 236. Turrualba, Costa Rica; CATIE. Cited from Leng, R.A. 1997. Tree foliage in ruminant nutrition, FAO Anim. Prod. and Health. 139:305-320.

Saadullah, M., and M. Haque. 1983. Effect of chemical treatment of riv\ce straw supplemented with concentrate on feed intake and weight gain in growing calves. In: Pearce, G.R. (ed.), The Utilization of Fibrous Agricultural Residues, Waston Ferguson and Co., Brisbane. pp. 129-136.

Sahoo, A., U. B. Singh, U. R. Mehra, and A.V. Elongovan. 1992. Response of urea-molasses supplement on live weight gain and nutrient utilization in buffalo calves. Indian. J. Anim. Sci. 62: 1067.

Sammaraweera, L. 1995. A study on Purine Derivatives Excretion in Buffalo. Master Thesis. University of Aberdeen, United Kingdom.

Sammaraweera, L., E. R. Ørskov, and X. B. Chen. 1994. Plenary studies on purine derivative excretion in buffaloes. Buffalo production and its impact on small farm development. In: Proceedings of The 1st Asian Buffalo Association (ABA) Congress, Jan. 17-21. Khon Kaen University. Khon Kaen. pp. 244.

Samuel, M., S. Sagathewan, J. Thomas, and G. Mathen. 1997. An HPLC method for estimation of volatile fatty acids of ruminant fluid. Indian. J. Anim. Sci. 67:805.

SAS, User's Guide: Statistic, Version 5. Edition. 1996. SAS. Inst Cary, NC., U.S.A.

Satter, L.D., and L.L. Styler. 1974. Effect of ammonia concentration on ruminal microbial protein production in vitro. Br. J. Nutr. 32:199.

Schneider, B. H., and W. P. Flatt. 1975. The Evaluation of Feed through Digestibility Experiment. Athens. The University of Georgia Press., Georgia, U.S.A.

Shimizu, T., M. Yazawa, and N. Takeda. 1992. Aromatic amino acids in the leaves of Morus alba and their possible medicinal value. Sericology. 32:633-636.

Siddons, R. C. and J. Paradine. 1981. Effect of diet on protein-degrading activity in the sheep rumen. J. Sci. Food Agic. 32:973.

Singh, G. P., M. Mohini, and B. N. Gupta. 1995. Effect of partial replacement of concentrate with urea-molasses-mineral lick in growing animal ration on growth and economics of feeding. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 8:443.

Smith, R. H., and A. B. McAllan. 1970. Nucleic acid metabolism in the ruminant. Formation of microbial nucleic acids in the rumen in relation to the digestion of food nitrogen and the rate of dietary nucleic acids. Br. J. Nutr. 24:545-556.

Sniffen, G. J., J. D. O. Conner, P. J. Van Soest, D. G. Fox, and J. B. Russel. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Cerbohydrate and protein availability, J. Anim. Sci. 70:3562.

Sommart, K., M. Wanapat, P. Rowlinson, and D. S. Parker. 1996. The effect of nonstructural carbohydrate and dietary crude protein on feed intake, ruminal fermentation and performance in milking dairy cow. In: Proceeding of The 8th AAAP Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies, Chiba, Japan, VII : 142.

Song, M. K., and J. J. Kenelly. 1990. Ruminal Fermentation pattern, bacteria population and rumen degradation of feed ingredients as influenced by ruminal ammonia concentration. J. Anim. Sci. 68:1110.

Steel, R. G. D., and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedure of statistics. New York: McGraw Hill Book Co.

Stryer, L. 1995. Biosynthesis of nucleotides. Biochemistry 4th editions; W. H. freeman & Co., New York.

Sutton, J. D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. J. Dairy Sci. 68:3376.

Suwanlee, S., and M. Wanapat. 1994. Effect of ruminal urea on volatile fatty acid, bacteria population and digestibility in swamp buffaloes. Buffalo production and its impact on small farm development In : Proceeding of the First Asian Buffalo Association (ABA) Congress. Jan. 17-21. Khon Kaen : Khon Kaen University. P281.

Theodorou, M. K., S. E. Lowe, and A. P. J. Trinci. 1991. Anaerobic fungi and the rumen ecosystem. In: The Fungal Community, pp. 43-71. Edited by G. C. Carroll & D. T. Wicklow. New York: Marcel Dekker.

Tiwari, S. P., U. B., Singh, and U. R. Mehra. 1990. Urea-molasses mineral block as feed supplement. Effect on growth and nutrient utilization in buffalo calves. Anim. Feed Sci. and Tech. 29: 233.

Van Horn, H. H., D. R. Jacobson, and A. P. Graden. 1969. Influence of level and source of nitrogen on milk production and blood components. J. Dairy Sci. 52:1395.

Van Soest, P. J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. O&B Books, Inc. Corvallis, Oregon, U.S.A.

Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Second ed. Cornell University Press, Ithaca, NY. 476p.

Veen, W. A. G. 1986. The influence of slowly and rapidly degradable concentrate protein on a number rumen parameters in dairy cattle. Nether J. Agri. Sci. 34: 199.

Verbic, J., X. B. Chen, N. A. Macleod, and E. R. Ørskov. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. J. Agric. Sci. 144:243-248.

Viljoen, G. J., L. H. Nel, and J. R. Crowther. 2005. Molecular Diagnostic PCR Handbook. Springer publishing, Dordrecht, The Netherland.

Wachirapakorn, C. 1987. The effect of nutrition on baby condition prior to working in respect to voluntary feed intake digestibility and physiological aspects of draft buffalos. M.S. Thesis, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.

Waghorn, G. C., M. J. Ulyatt, A. John, and M. T. Fisher. 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acid and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus*, L. Br. J. Nutr. 57:115.

Waghorn, G., 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production progress and challenges. Anim. Feed Sci. Technol., 147: 116-139.

Wallace, R. J. 1979. Effects of ammonia concentration on the composition, hydrolytic activity and nitrogen metabolism of the microbial flora of the rumen. J. Appl. Bacteriol. 47:443.

Wallace, R. J. 1983. Digestion of rumen bacteria in vitro. Br. J. Nutr. 49:443.

Wallace, R. J. 1986. Catabolism of amino acids by Megashaera eksdebuu LC1. Appl Evviron. Microbiol. 51:1141.

Wallace, R. J. 1987. Protein degradation by ruminal microorganisms from sheep fed dietary supplements of urea, casein or albumin. Appl. Environ. Microbiol. 53:751.

Wallace, R. J. and C. A. McPherson. 1987. Factors affecting the rate of breakdown of bacteria protein in rumen fluid. Br. J. Nutr. 58:313.

Wallace, R. J. and N. McKian. 1989. Analysis of peptide metabolism by ruminal microorganism. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2372.

Wallace, R. J., N. McKian and C. J. Newbold. 1990. Metabolism of small peptides in rumen fluid. Accumulation of intermediates during hydrolysis of alanine oligomers and comparision of peptidolytic of bacteria and protozoa. J. Sci. Food Agric. 50:191.

Wanapat, M. 1983. Alkali treatments of crop residues in Norway. In: P. T. Doyle (Editor), The utilization of fibrous agricultural residues as animal feed. University of Melbourne Printing Services, Parkville.

Wanapat, M. 1985. Improving of rice straw quality as ruminant feed by urea-treated in Thailand. In: Wanapat, M., and C. Devendra (eds.), Relevance of Crop Residue as Animal Feed in Developing Country, Funny Press, Bangkok, Thailand. pp. 147-175.

Wanapat, M. 1990. Nutrition Aspects of Ruminant Production in Southeast Asia with Special References to Thailand. Dept. of Anim. Sci. Khon Kaen University, Khon Kaen.

Wanapat, M. 1994. Nutritional strategies to Increase swamp Buffalo Production Based on Crop Residues Paper Present at the International Symposium of Improving Draught Capacity of the Muti-purpose Kasetsart University, Thailand.

Wanapat, M. 1999. Feeding of ruminants in the tropics based on local feed resources. Khon Kaen Publ. Comp. Ltd., Khon Kaen, Thailand. 236 pp.

Wanapat, M. 2000. Nutritional control to reduce nitrogen excretion from cattle. Paper presented at the International Conference on Public Health Issues in Animal Production/Animal Products, organized by Cooperation, Beijing, China, October 15-19, 2000.

Wanapat, M. 2001. Role of cassava hay as animal feed in the tropics. In: Proceeding of Current Research and development on Use of Cassava as Animal Feed. 23-24 July 2001. Khon Kaen University, Khon Kaen. pp. 13-20

Wanapat, M. 2003.Manipulation of cassava cultivation and utilization to improve protein to energy biomass for livestock feeding in the tropics. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 16:463-472.

Wanapat, M. 2008. Potential uses of local feed resources for ruminants. Trop. Anim. Health Prod. http://www.springerlink.com/content/j2j105477641132w/

Wanapat, M., and O. Pimpa, 1999. Effect of ruminant NH_3-N levels on ruminal fermentation, purine derivertive, digestibility and rice straw intake in swam buffalo. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 12:904-907.

Wanapat, M., and S. Khampa. 2006. Effect of cassava hay in high-quality feed block as anthelmintics in steers grazing on ruzi grass. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 19:695-699.

Wanapat, M., A. Ngarmsang, S. Koakhunthod, N. Nontaso, C. Wachirapakorn, and P. Rowlinson. 2000a. A comparative study on the ruminal microbial population of cattle and swamp buffalo raised under traditional village condition in NE of Thailand. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 13:918-921.

Wanapat, M., A. Petlum, and O. Pimpa. 1999. Strategic supplementation with a high-quality feed block on roughage intake, milk yield and composition and economic return in lactating dairy cows. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 12:901.

Wanapat, M., A. Petlum, and O. Pimpa. 2000c. Supplementation of cassava hay to replace concentrate use in lactating Holstein Friesian crossbreds. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 13:600.

Wanapat, M., F. Sundstol, and T.M. Garmo. 1985. A comparison of alkali treatment methods to improve the nutritive value of straw. I. Digestibility and metabolizability. Anim. Feed Sci. Technol. 12:295.

Wanapat, M., K. Sommart, O. Pimpa, and S. Boonsorn. 1996. Supplementation of high quality feed pellet to increase milk productivity at small holder farmers level. In: Proceeding of The 8th AAAP Animal Science Congress, Japanese Society of Zoo technical Science, Tokyo, VII : 158.

Wanapat, M., O. Pimpa, A. Petlum, and U. Boontao, 1997. Cassava hay a new strategic feed for ruminant during the dry season, Better use of locally available feed resources in sustainable livestock based agricultural systems in South-East Asia, A regional seminar Workshop held on Phnom Penh, Cambodia.

Wanapat, M., O. Poungchompu, S. Joomjunta, R. Lunsin, R. Heebkaew, and A. Petlum. 2006. Study on growth and nutritive values of *Phaseolus calcaratus*. Tropical Feed Resources Research and Development Center, Khon Kaen University: Khon Kaen, Thailand.

Wanapat, M., S. Prasertsuk, and S. Chanthai. 1983. Improvement of rice straw utilization by ensiling with urea for cattle during the dry season. Thai J. Agric. Sci. 16:1627-1635.

Wanapat, M., S. Polyorach, K. Boonnop, C. Mapato, and A. Cherdthong. 2009. Effect of rice straw with urea or urea and calcium hydroxide upon intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield of dairy cows. J. Liv. Sci. 125:238-243.

Wanapat, M., S. Wora-anu, C. Yuangklang, P. Chauchula, and O. Poungchompu. 2005. Effect of dietary sources on rumen ecology of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). In: Conference on "Conference on Gastro-intestinal Function" held in Illinois, Chicago, USA., April 11-13, 2005.

Wanapat, M., T. Puramongkol, and W. Siphuak. 2000b. Feeding of cassava hay for in lactating dairy cows. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 13:478.

Wang, Y., G. C. Wagrhorn, T. N. Barry, and L. D. Shelton. 1994. The effect of condensed tannins in *Lotus coniculatus* on plasma methabolism of methionine, cystine and inorganic supply by sheep. Br. J. Nutr. 72:923.

Warly, L., T. Matsui, T. Harumoto, and T. Fujihara. 1992. The effect of protein and energy supplementation on the utilization of rice straw and rumination behaviour in sheep in Proc. 6th AAAP animal Science Congress. 3:243.

Waruiru, R. M. 2004. The Influence of Supplementation with Urea-Molasses Blocks on Weight Gain and Nematode Parasitism of Dairy Calves in Central Kenya. Vet. Res. Communi. 28: 307-315.

Wiedmeier, R. D., B. H. Tanner, J. R. Bair, H. T. Shenton, M. J. Arambel, and J. L. Walters. 1992. Effect of a new molasses by product concentrated separator by product, on nutrient digestibility and ruminal fermentation in cattle. J. Anim. Sci. 70:1936.

Woodward, A., and J. D. Reed. 1997. Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming *brevisspica* and *Sesbenia sesban*. J. Anim. Sci. 75:1130.

Yao, J. 2001. Effect of mulberry leaves to replace repseed meal on performance of sheep feeding on ammoniated rice straw diet. Small Ruminant Res. 39:131-136.

Yuangklang, C., S. Wora-anu, M. Wanapat, N. Nontaso, and C. Wachirapakorn. 2001. Effect of roughage source on rumen microbe, feed intake and digestibility in swamp buffaloes, pp.69-71. In: Proceeding of Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed. 23-24 July 2001. Khon Kaen University, Khon Kaen.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการทำฟางหมักยูเรีย-ลาม (Urea-lime)

วิธีการทำฟางหมักยูเรีย-ลาม (Wanapat et al., 2009)

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 ฟางข้าว

1.2 ปุ๋ยยูเรีย

1.3 ปูนขาว [$Ca(OH)_2$]

1.4 น้ำ

1.5 ถังน้ำ และบัวรดน้ำ

1.6 ตาชั่ง

1.7 พลาสติกคลุม

1.8 ที่สำหรับเก็บฟางหมัก เช่นโอ่งดิน หลุมดิน บ่อซีเมนต์ เป็นต้น และควรมีหลังคากันแดดและฝน เพื่อรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาฟางหมักไว้ได้นานขึ้น

2. ขั้นตอนในการทำฟางหมักยูเรีย-ลาม

2.1 เตรียมพื้นที่ที่จะทำฟางหมัก ปูผ้าพลาสติกรองที่พื้นโดยปล่อยให้มีส่วนของพลาสติกเหลือเพื่อที่จะคลุมกองฟางได้อย่างเพียงพอ

2.2 คำนวณว่าจะต้องใช้ฟางข้าวจำนวนเท่าใด เพื่อที่จะผสมน้ำ ยูเรีย และปูนขาวให้เพียงพอกับจำนวนฟางข้าวที่จะนำมาหมักโดยใช้สัดส่วนของฟางข้าว 100 กิโลกรัม ต่อน้ำ 100 กิโลกรัมต่อยูเรีย 2 กิโลกรัม ต่อ ปูนขาว 2 กิโลกรัม

2.3 จัดเรียงฟางเป็นชั้นๆ โดยเมื่อทำการเรียงฟางชั้นแรกเสร็จก็จะทำการราดด้วยน้ำผสมยูเรียและปูนขาวที่ละลายเข้ากันดีแล้ว ซึ่งจะต้องราดด้วยให้ทั่วถึงตลอดสัดส่วนตามจำนวนฟางในชั้นแรกให้ครบ

2.4 เมื่อราดน้ำทั่วชั้นแรกแล้ว ทำการจัดเรียงฟางชั้นที่สอง โดยทำเช่นเดียวกับชั้นแรก ไปเรื่อยๆ จนครบตามจำนวนที่ต้องการ

2.5 เมื่อได้ปริมาณตามต้องการแล้ว ทำการปิดกองฟางข้าวหมักด้วยผ้าพลาสติก โดยคลุมส่วนบน ส่วนหัว และส่วนท้ายของกางฟางหมักอย่างมิดชิด เพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากการหมัก

2.6 เมื่อครบ 10-14 วัน จึงสามารถเปิดกองฟางหมักเพื่อนำไปเลี้ยงสัตว์ได้ เมื่อใช้แล้วควรปิดให้สนิท เพื่อป้องกันการเกิดรา

2.7 ถ้าหากเกิดราขึ้น ควรนำไปผึ่งแดดให้แห้งก่อนนำไปเลี้ยงสัตว์

ลักษณะฟางข้าวหมักยูเรีย-ลามที่ดี

1. มีสีน้ำตาลเข้มกว่าปกติ
2. มีกลิ่นแอมโมเนีย
3. มีความชื้นประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์
4. เมื่อจับดูจะรู้สึกอ่อนนุ่ม
5. ไม่มีรา

การใช้ฟางข้าวหมักยูเรีย-ลามเลี้ยงสัตว์

ในช่วงแรกต้องปรับให้สัตว์กินฟางหมักทีละน้อย สัตว์จะกินได้เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ให้สัตว์ได้กินฟางข้าวหมักยูลามในช่วงตอนกลางคืนอย่างเต็มที่นอกเหนือจากการให้กินในตอนกลางวันปกติ และควงมีถังใส่น้ำให้กินในช่วงที่กินฟางหมัก การใช้ฟางหมักยูลามเลี้ยงสัตว์อาจให้ร่วมกับหญ้าสด ใบกระถินสดหรือแห้ง ใบมันสำปะหลังแห้ง ใบปอแห้ง หรือพวกพืชตระกูลถั่วอื่นๆ

ภาคผนวก ข

วิธีการผลิตอาหารก้อนคุณภาพสูง

วิธีการผลิตอาหารก้อนคุณภาพสูง

ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

1. วัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีน

1.1 เตรียมรำหยาบ เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารก้อนคุณภาพสูงสูตรที่1 โดยใช้เป็นสูตรควบคุม (สราวุธ, 2545) แล้วนำมาผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร ใส่ถุง ปิดอย่างมิดชิดเพื่อป้องกันความชื้น และกันหืน เตรียมไว้เพื่อนำไปผสมกับส่วนประกอบอื่นๆต่อไป

1.2 เตรียมมันเฮย์ โดยเก็บเกี่ยวต้นมันสำปะหลังซึ่งประกอบด้วยส่วนของต้น ก้าน และใบ หลังจากปลูกได้ 3-4 เดือน โดยหักสูงจากพื้นดิน 3-6 นิ้ว ต้นมันที่ได้นำไปสับให้ได้ขนาด 3-5 เซนติเมตร และตากแดดนาน 2-3 วัน กลับไป-มา จนแห้งสนิท จากนั้นนำไปบดผ่านเครื่องบดละเอียด แล้วนำมาผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร เพื่อให้ได้มันเฮย์ที่มีความละเอียด ใส่กระสอบเตรียมไว้เพื่อนำไปผสมกับส่วนประกอบอื่นๆต่อไป

1.3 เตรียมถั่วมันเฮย์ โดยเก็บเกี่ยวถั่วมันทั้งต้นที่อายุ ประมาณ 3 เดือนจากนั้นนำไปตากแดดเป็นเวลา 2 วัน จนแห้งสนิท จากนั้นนำไปบดผ่านเครื่องบดละเอียด แล้วนำมาผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร ใส่กระสอบเตรียมไว้เพื่อนำไปผสมกับส่วนประกอบอื่นๆต่อไป

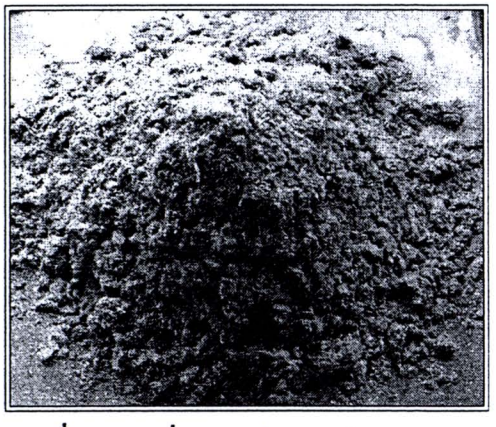
1.4 เตรียมหม่อนเฮย์ โดยเก็บเกี่ยวต้นหม่อนซึ่งประกอบด้วยส่วนของยอด ก้าน และใบ หลังจากปลูกได้ 2 เดือน จากนั้นนำไปสับด้วยเครื่องสับ แล้วนำมาตากแดดเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำไปบดผ่านเครื่องบดละเอียด แล้วนำมาผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร เพื่อให้ได้หม่อนเฮย์บดละเอียด ใส่กระสอบเตรียมไว้เพื่อนำไปผสมกับส่วนประกอบอื่นๆต่อไป

2. เตรียมวัตถุดิบอย่างอื่น ซึ่งประกอบด้วย กากน้ำตาล ยูเรีย ซีเมนต์ขาว กำมะถัน แร่ธาตุรวม เกลือ ไขสัตว์

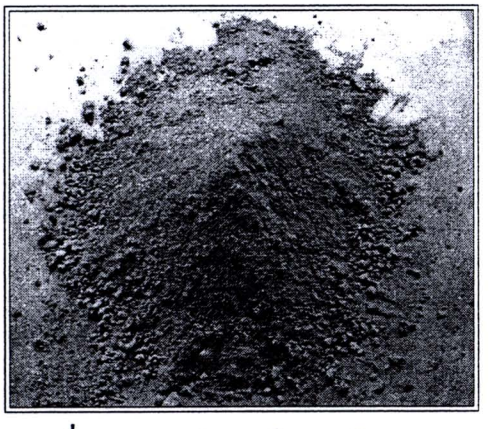
3. นำส่วนผสมทั้งหมดชั่งให้ได้ตามอัตราส่วนในแต่ละสูตร ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันในถังผสม โดยใช้กากน้ำตาล และซีเมนต์ขาวเป็นตัวประสานในช่วงสุดท้าย ถ้าส่วนผสมแห้งเกินไปอาจเติมน้ำได้เล็กน้อย หลังจากผสมเข้ากันดีแล้วนำเข้าอัดเป็นก้อนสี่เหลี่ยมในแม่พิมพ์ โดยใช้เครื่องอัดไฮโดรลิค (ใช้พลาสติกรองในแม่พิมพ์ก่อนอัดทุกครั้ง จะทำให้อาหารไม่ติดที่แม่พิมพ์) อาหารแต่ละก้อนจะหนักประมาณ 10 กิโลกรัม จากนั้นนำออกผึ่งแดดให้แห้งเป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อลดความชื้นแล้วป้องกันเชื้อรา เก็บไว้ใช้เพื่อเป็นอาหารเสริมให้กับสัตว์ โดยให้แบบเลียกิน ทั้งนี้อาหารก้อนมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 2-3 เดือน จึงไม่ควรเตรียมไว้คราวละมากๆ

ภาพที่ 1 แสดงรำหยาบ

ภาพที่ 2 แสดงมันเฮย์บดละเอียด

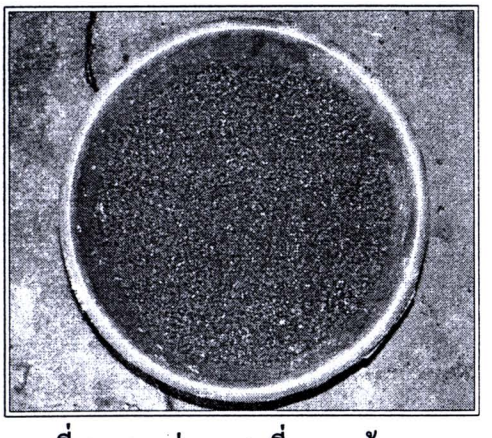


ภาพที่ 3 แสดงถั่วมันเฮย์บดละเอียด

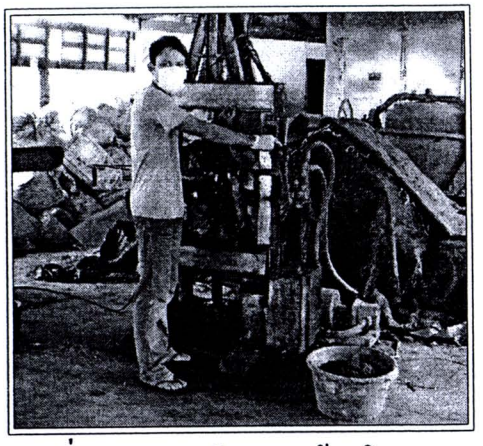


ภาพที่ 4 แสดงหม่อนเฮย์บดละเอียด

ภาพที่ 5 แสดงการคลุกเคล้าส่วนผสม
ทั้งหมดให้เข้ากัน

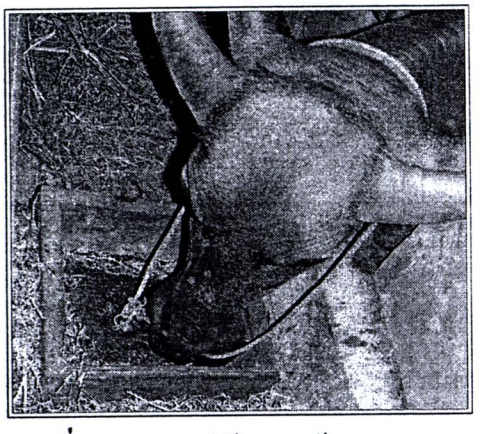


ภาพที่ 6 แสดงส่วนผสมที่คลุกเคล้า
เสร็จพร้อมอัดก้อน

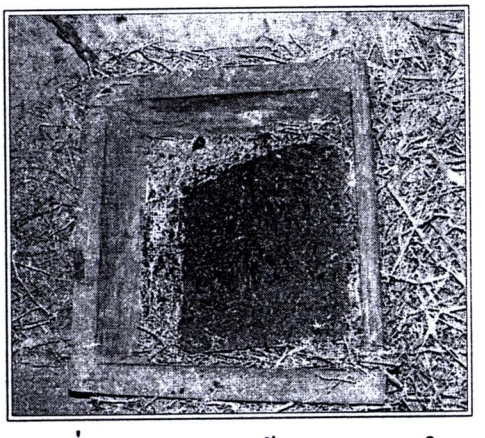


ภาพที่ 7 แสดงการอัดอาหารก้อนโดยใช้เครื่องอัดแบบไฮโดรลิก

ภาพที่ 8 แสดงการตากอาหารก้อนคุณภาพสูงหลังจากอัดเสร็จ



ภาพที่ 9 แสดงการให้อาหารก้อนคุณภาพสูงแก่กระบือ



ภาพที่ 10 แสดงอาหารก้อนคุณภาพสูงในกล่องไม้

ภาคผนวก ค

เทคนิคทางจุลชีววิทยาในการศึกษาจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

เทคนิคทางจุลชีววิทยาในการศึกษาจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน

1. การศึกษาเกี่ยวกับ Microscopic direct count (Galyean, 1989) ซึ่งได้แก่

Bacteria count

Protozoa count

Fungal zoospores count

1.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1.1.1 สารเคมี

- Normal saline (0.85% w/v)
- Formalin (10% v/v)
- น้ำกลั่น

1.1.2 อุปกรณ์

- Haemacytometer ขนาด กว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 มิลลิเมตร และลึก 0.1 มิลลิเมตร
- ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง ขนาด 30 มิลลิลิตร
- สไลด์พร้อม cover glass
- บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- กระดาษทิชชู
- หลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร
- ปิเปต
- กล้องจุลทรรศน์ (Model Olympus BX50)

1.2 การเตรียม formalin 10% in normal saline (fixing solution)

1.2.1 เตรียม normal saline ให้มีความเข้มข้น 0.85% (w/v)

1.2.2 เตรียม formalin ให้มีความเข้มข้น 10% (v/v) โดยใช้ normal saline (0.85%) เป็นตัวทำละลาย

1.3 การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษา

1.3.1 ทำการสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนในช่วงเวลาต่างๆ ที่กล่าวในบทที่ 3 (หัวข้อ 3.) โดยสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนมา 1 มิลลิลิตร แล้วเติม formalin 10% 9 มิลลิลิตร ทันที หลังจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ต่อไป

1.3.2 นำตัวอย่างที่เก็บได้มาทำการนับจำนวนของแบคทีเรีย, โปรโตซัว และเชื้อรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดังรายละเอียดดังนี้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

แบคทีเรีย (bacteria count)

1. ทำการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างอีกครั้ง จากเดิม 10 เท่า เป็น 100 เท่า โดยการดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (autoclave 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) 9 มิลลิลิตร

2. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจากหลอดหยดลงบน haematocytometer แล้วทำการนับโดยนับจำนวน 20 ช่องเล็ก ใช้กำลังขยาย 400 เท่า ในแนวทแยงมุม โดยนับจำนวน 2 ซ้ำ และคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรแบคทีเรีย โดยใช้สูตร

$$Y + X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรแบคทีเรีย

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4 x 106

โปรโตซัว (protozoa count)

ทำการนับจากตัวอย่างที่เก็บมาได้เลยโดยไม่ต้องทำการเจือจางอีก โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า โดยนับทั้งหมด 400 ช่องเล็ก (1 ช่องใหญ่) ทำการนับ 2 ซ้ำ หลังจากนั้นทำการคำนวณประชากรโปรโตซัวโดยใช้สูตร

$$Y + X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรโปรโตซัว

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1 x 104

เชื้อรา (fungal zoospores count)

ทำการนับเช่นเดียวกับโปรโตซัว แต่นับเพียง 25 ช่องกลาง ทำการนับ 2 ซ้ำ และคำนวณหาจำนวนประชากรเชื้อราดังนี้

$$Y + X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรเชื้อรา

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.5 x 105

2. การศึกษากลุ่มของแบคทีเรียที่สำคัญโดยวิธี Roll tube technique (Hungate, 1969)

กลุ่มของแบคทีเรียที่ศึกษามี 3 กลุ่มที่สำคัญ ได้แก่

Total viable bacteria

Cellulolytic bacteria

Proteolytic bacteria

Amylolytic bacteria

2.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

2.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Total viable medium
2. Cellulolytic medium
3. Proteolytic medium
4. Amylolytic medium
5. Anaerobic dilution solution
6. HCl 0.1 N
7. $NaHCO_3$ 0.1 N

2.1.2 เครื่องแก้ว

1. ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างฝาเกลียวขนาด 60 มิลลิลิตร
2. ขวดปริมาตร 30 มิลลิลิตร พร้อมจุกยาง
3. ขวดปริมาตร 10 มิลลิลิตร พร้อมจุกยาง
4. บิกเกอร์ขนาด 30 และ 50 มิลลิลิตร
5. Erlenmeyer flask ปริมาตร 1 และ 2 ลิตร
6. จุกยางเจาะรู 2 รู ใช้ท่อแก้วต่อสายยางยาวให้มีขนาดพอกับรู

2.1.3 อุปกรณ์

1. เข็มฉีดยาปลอดเชื้อขนาด 0.55 x 25 มิลลิลิตร, 24G x 1 นิ้ว
2. กระบอกฉีดยาปลอดเชื้อ ปริมาตร 1 และ 100 มิลลิลิตร
3. ถาดสำหรับใส่น้ำและน้ำแข็ง
4. ถาดสำหรับน้ำร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
5. กระดาษฟอล์ย
6. ยางรัดของ
7. rack วางขวด

8. ฟองน้ำเช็ดโต๊ะ พร้อมน้ำยาฆ่าเชื้อ

9. ผ้าเช็ดมือ

10. ตะกร้าวางขวด

2.1.4 เครื่องมือ

1. Autoclave

2. Incubator

3. Hot air oven

4. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

5. ถังก๊าซ CO_2 ขนาดบรรจุ 25 กิโลกรัม

6. Hot plate พร้อม magnetic stirrer และ magnetic bar

7. Colony counters พร้อม marking-counter pen

8. pH meter

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบ

2.2.1 Anaerobic dilution solution

mineral solution A	54.0 ml
mineral solution B	45.0 ml
cysteine hydrochloride	0.05 g
Na_2CO3	0.30 g
resazurin	0.0001 g
distilled water	65.0 ml

2.2.2 Cellulose medium (Hobson, 1969)

mineral solution A	15.0 ml
mineral solution B	15.0 ml
clarified rumen fluid	20.0 ml
agar	2.0 g
resazurin	0.0001 g
bacto casitone	1.0 g
cellulose powder	1.0 g
$NaHCO_3$	0.4 g
cysteine hydrochloride	0.05 g

distilled water	to 100 ml
pH	6.8-7.0

2.2.3 Proteolytic medium (Casein medium; Hobson, 1969)

mineral solution A	15.0 ml
mineral solution B	15.0 ml
clarified rumen fluid	20.0 ml
agar	2.5 g
resazurin	0.0001 g
tryptose	0.3 g
casein	0.5 g
cystein hydrochloride	0.05 g
$NaHCO_3$	0.5 g
distilled water	to 100 ml
pH	6.8-7.0

2.2.4 Amylolytic medium (Starch medium; Hobson, 1969)

mineral solution A	15.0 ml
mineral solution B	15.0 ml
clarified rumen fluid	20.0 ml
agar	2.5 g
resazurin	0.0001 g
bacto casitone	1.0 g
soluble starch	(0.5 g ละลายในน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร)
cystein hydrochloride	0.05 g
$NaHCO_3$	0.5 g
distilled water	to 100 ml
pH	6.8-7.0

2.2.5 Total viable count medium (complete medium; Hobson, 1969)

mineral solution A	15.0 ml
mineral solution B	15.0 ml
clarified rumen fluid	20.0 ml

agar	2.0 g
resazurin	0.0001 g
bacto casitone	1 g
yeast extract	0.25 g
cellobiose	0.5 g
glucose	0.5 g
sodium lactate	0.2 g
cysteine hydrochloride	0.05 g
$NaHCO_3$	0.4 g
distilled water	to 100 ml
pH	6.8-7.0

การเตรียม mineral solution A

K_2HPO_4	3 g
distilled water	1000 ml

การเตรียม mineral solution B

KH_2PO_4	3 g
$(NH_4)_2SO_4$	6 g
NaCl	6 g
$MgSO_4.7H_2O$	0.6 g
$CaCl_2.2H_2O$	0.2 g
distilled water	1000 ml

การเตรียม clarified rumen fluid (CRF)

นำของเหลวจากกระเพาะรูเมนประมาณ 1 ลิตร ทำการกรองด้วยผ้ากรอส 4 ชั้น และนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็ว 30100 x g นาน 30 นาที เก็บเอาเฉพาะส่วนที่เป็นของใส นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นาน 30 วัน เพื่อใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

หมายเหตุ: ควรมีการเตรียม CRF ของสัตว์ทุกตัวที่ได้รับอาหารแตกต่างกัน

2.3 การเตรียม anaerobic dilution solution

2.3.1 ต้มน้ำกลั่นจนเดือดเพื่อไล่อากาศ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเตรียม mineral solution A และ B ดังที่กล่าวไปแล้ว

2.3.2 นำ erlenmeyer flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร มาทำการตวงส่วนประกอบต่างๆ และเทลงใน flask ให้ครบตามหาปริมาตรที่เราต้องการเตรียม ยกเว้น cysteine HCl แล้วนำ flask ขึ้นตั้งบน hot plate ที่มี magnetic stirrer

2.3.3 ปิด flask ด้วยจุกยางที่มีท่อนำก๊าซ CO_2 เข้าและท่อนำสารละลายออก

2.3.4 เปิด hot plate ให้มีอุณหภูมิประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งเปิด สวิทซ์ magnetic stirrer ให้มีความเร็วรอบปานกลาง

2.3.5 ปล่อยก๊าซ CO_2 เข้าไปใน flask ที่บรรจุสารละลาย จนกระทั่งสีของ resazurin เปลี่ยนสีจากน้ำเงินเข้มเป็นสีชมพูอ่อนๆ จึงเติม cysteine HCl ลงไป

2.3.6 ปิดท่อระบายอากาศที่อยู่บน flask เพื่อให้สารละลายออกมาโดยที่ขณะนั้นยังผ่านก๊าซ CO_2 อยู่ นำบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร มารองรับสารละลายให้ได้ปริมาณ 30 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัด pH ด้วย pH meter เพื่อให้ได้ pH 6.8 โดยทำการปรับ pH ด้วย HCl 0.1 N และ/หรือ $NaHCO_3$ 0.1 N จากนั้นทำการคำนวณปริมาตร HCl หรือ $NaHCO_3$ ที่ต้องใช้ในการปรับ pH สารละลายทั้งหมด

2.3.7 เมื่อปรับค่า pH ของสารละลายได้ตามที่ต้องการแล้ว จำขวดปริมาตร 10 มิลลิลิตร มารองรับสารละลายจาก flask ให้มีปริมาตรเท่ากับ 4.5 มิลลิลิตร โดยเทียบกับระดับของน้ำที่ตวงไว้ในขวดตัวอย่าง

2.3.8 นำขวดที่บรรจุสารละลายแล้วมาผ่านก๊าซ CO_2 อีกครั้งจนสังเกตได้ว่าไม่มีสี จึงปิดด้วยจุกยาง และใช้กระดาษฟอล์ยหุ้มอีกครั้งแล้วรัดด้วยยางรัดของให้แน่น

2.3.9 นำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อนำไปใช้ในการ dilute ตัวอย่างต่อไป

2.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.4.1 ชั่งagarใส่ขวดที่มีปริมาตร 30 มิลลิลิตร ขวดละ 0.1 กรัม สำหรับ Cellulolytic และ Amylolytic medium และ 0.25 กรัม สำหรับ Total viable และ casein medium

2.4.2 ทำการชั่งสารและเตรียมสารละลายต่างๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะของแต่ละกลุ่มแล้วทำเช่นเดียวกับการเตรียม anaerobic dilution solution

2.4.3 เมื่อทำการปรับ pH ได้แล้วให้นำขวนที่มี agar บรรจุอยู่ มารองรับสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

2.4.4 ผ่านก๊าซ CO_2 เข้าไปในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละขวดนาน 1 นาที หลังจากนั้นปิดด้วยจุกยาง และใช้กระดาษฟอล์ยหุ้มอีกชั้นแล้วรัดด้วยยางรัดของให้แน่น

2.4.5 นำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2.4.6 นำขวดออกจาก autoclave ทำการเขย่าขวดเพื่อให้วุ้นที่ละลายกระจายไปทั่วขวด

2.4.7 นำขวดอาหารเลี้ยงเชื้อไปแช่ใน water bath ที่มีอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส โดยให้ระดับน้ำใน water bath มีระดับสูงกว่าระดับอาหารเลี้ยงเชื้อในขวด เพื่อรอการ inoculate เชื้อต่อไป (กรณีมีการเตรียมไว้ก่อนล่วงหน้า ก็ไม่ต้องทำในข้อ 2.4.7 ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ในที่ที่ปลอดเชื้อ เพื่อป้องกันการปลอมปนของเชื้อจากภายนอก)

2.5 การเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์จากกระเพาะรูเมน (rumen fluid)

2.5.1 ล้วงเก็บตัวอย่างผ่านท่อ fistular นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น และรีบบรรจุในขวดเก็บตัวอย่างฝาเกรียว ขนาด 60 มิลลิลิตร จนเต็ม

2.5.2 นำมาเก็บในน้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 39 องศาเซลเซียส เพื่อนำขึ้นมาที่ห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด เพื่อทำการเลี้ยงเชื้อต่อไป

2.5.3 นำตัวอย่างมาผ่านก๊าซ CO_2 ทันที และทำการเจือจางด้วย tween 80 ในสัดส่วน tween 80 4 ส่วน ต่อ rumen fluid 1 ส่วน จากนั้นทำการเขย่าแรงๆ ทั้งนี้เพื่อให้จุลินทรีย์ที่เกาะอยู่กับชิ้นอาหารหลุดออกมา

2.6 การเจือจาง rumen fluid

ทำการเจือจาง rumen fluid ให้มีความเจือจางลดลงระดับละ 10 ตามลำดับ ตั้งแต่ 100, 10^{-1}, 10^{-2} ไปจนถึง 10^{-7} โดยใช้เทคนิคของ Macy et al. (1972)

2.6.1 เขียนระดับความเจือจางลงบนขวด anaerobic dilution solution แต่ละขวด

2.6.2 ใช้เข็มฉีดยาพร้อมกระบอกฉีดยาปลอดเชื้อเสียบลงในขวด rumen fluid ที่ผสมกับ tween 80 ดูดสารละลายมา 0.5 มิลลิลิตร โดยทำการไล่อากาศและเช็ดทำความสะอาดเข็มด้วยสำลีปลอดเชื้อ

2.6.3 ในไปฉีดลงในขวด anaerobic dilution solution ที่ 1 ซึ่งเป็นระดับ dilution เป็น 10-1 จากนั้นคว่ำขวดลงในแนวดิ่งเพื่อดูดสารละลายล้างเข็ม 1 ครั้ง เป็นการล้างเอา rumen fluid ที่ติดอยู่กับผิวของกระบอกฉีดยา เขย่าขวดให้ rumen fluid กระจายให้ทั่วหลอด

2.6.4 นำกระบอกฉีดยาพร้อมเข็มอันใหม่มาดูดสารละลายจากขวด anaerobic dilution solution ที่ 1 มา 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดลงขวด anaerobic dilution solution ที่ 2 ทำเช่นเดียวกันกับรายละเอียดในข้อ 2.6.3 จนกระทั่งถึงระดับการเจือจางที่ 10^{-7} หรือขวด anaerobic dilution solution ที่ 7 (หากพบว่าสีของสารละลายในขวดมีการเปลี่ยนแปลงจากไม่มีสีเป็นสีชมพูหรือม่วง แสดงว่าภายในขวดมีก๊าซออกซิเจน ซึ่งจะมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ภายในขวดนั้นๆ ต้องทำการเตรียม anaerobic dilution solution ใหม่)

2.6.7 นำสารละลายไปทำการ inoculate ในอาหารเฉพาะ โดยใช้ roll-tube technique ตามวิธีการของ Hungate (1969)

2.7 การทำ roll tube technique (Hungate, 1969)

2.7.1 เลือกขวด dilution ที่เหมาะสมกับกลุ่มของแบคทีเรียที่ต้องการจะเลี้ยง เช่น total viable bacteria เลือกใช้ที่ระดับ 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} cellulolytic bacteria เลือกใช้ที่ระดับ 10^{-6} และ 10^{-7} proteolytic และ amylolytic bacteria เลือกใช้ที่ระดับ 10^{-5} และ 10^{-6}

2.7.2 นำขวดที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อกลุ่มต่างๆ มาเขียนระดับความเจือจาง และปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ โดยทุกกลุ่มแบคทีเรียจะใช้ปริมาตร 0.2 และ 0.5 มิลลิลิตร (ในการเลี้ยงเชื้อควรมีการเลี้ยงเชื้อทุก dilution และหลายปริมาตรก่อน เพราะงานทดลองแต่ละงานจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งจะทำให้ประชากรของแบคทีเรียแตกต่างกันไปด้วย)

2.7.3 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารลี้ยงเชื้อ ใช้กระบอกฉีดยาพร้อมเข็มฉีดยาปลอดเชื้อดูดสารละลายจากขวด dilution ที่เลือกไว้ ในปริมาตรที่เลือกไว้เช่นเดียวกัน (0.2 หรือ 0.5 มิลลิลิตร) แล้วนำไปฉีกลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละกลุ่ม โดยอาหารเลี้ยงเชื้อจะต้องต้มให้ละลายและรักษาอุณหภูมิที่ 50-55 องศาเซลเซียส ผสมตัวอย่างให้กระจายทั่วขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปกลิ้งขนถาดน้ำแข็งอย่างรวดเร็ว เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวกระจายรอบๆ ขวด ใช้ผ้าซับน้ำรอบๆ ขวดให้แห้ง แล้วนำไปวางไว้บนตะกร้า โดยคว่ำปากขวดลงด้านล่าง จากนั้นนำไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส โดยแบคทีเรียกลุ่ม total viable และ Proteolytic bacteria ทำการบ่มเป็นเวลา 5 วัน กลุ่ม amylolytic bacteria บ่มเป็นเวลา 3 วัน และกลุ่ม cellulolytic bacteria บ่มเป็นเวลา 21 วัน

2.8 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย (colony forming unit, CFU)

2.8.1 นำขวดอาหารเลี้ยงเชื้อไปวางในแนวนอนบน colony counter แล้วจึงนับจำนวนโคโลนีโดยมองผ่านแว่นขยาย เลือกนับเฉพาะระดับความเจือจางที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 20-50 โคโลนี โดยให้นับทุกซ้ำที่สามารถนับได้ แล้วจึงนำมาหาค่าเฉลี่ย โดยให้นับเฉพาะโคโลนีที่มีลักษณะดังนี้

total viable bacteria ให้นับทุกโคโลนี

cellulolytic และ Proteolytic bacteria ให้นับเฉพาะโคโลนีที่มี clear zone รอบๆ

amylolytic bacteria ให้ปิเปต 3% iodine solution ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดเลี้ยงเชื้อ แล้วกลิ้งขวดไปมาบนโต๊ะจน iodine solution ซึมเข้าไปในเนื้อวุ้น ทิ้งไว้สักครู่ iodine จะทำ

ปฏิกิริยากับแป้งที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อปรากฏเป็นสีน้ำเงิน ให้เลือกนับเฉพาะโคโลนีที่ไม่เกิดสีน้ำเงินรอบๆโคโลนี

2.8.2 การคำนวณ colony forming unit (CFU) ต่อ rumen fluid 1 มิลลิลิตรทำได้จาก CFU/ml = (1 x จำนวนโคโลนีที่นับได้) / (ปริมาตร x dilution factor)

2.8.3 คำนวณหาค่า standard error of the means (SEM)

2.8.4 บันทึกจำนวนแบคทีเรียในรูปค่าเฉลี่ย ± SEM

2.8.5 ทำการคำนวณแบคทีเรียทุกกลุ่มตามรายละเอียดในข้อ 2.8.2

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายสุบรรณ ฝอยกลาง เกิดเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม พ.ศ. 2524 ที่อยู่ 75 หมู่ 9 ตำบลเจริญศิลป์ อำเภอเจริญศิลป์ จังหวัดสกลนคร สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษาจากโรงเรียนบ้านกุดนาขาม มัธยมศึกษาตอนต้นและมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเจริญศิลป์ศึกษา (โพธิ์คำอนุสรณ์) หลังจากนั้นได้เข้ารับการศึกษาระดับอุดมศึกษาที่ ภาควิชาสัตวศาสตร์คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างศึกษาได้ทำกิจกรรมต่างๆ อาทิเช่น เป็นอุปนายกสโมสรนักศึกษาคณะเกษตรศาสตร์ เป็นประธานฝ่ายศิลปวัฒนธรรม องค์การนักศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียตินิยมอันดับสอง) เมื่อปี พ.ศ. 2548 หลังจากสำเร็จการศึกษาได้ไปทำงานที่บริษัทซันฟู้ด อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ในตำแหน่งเจ้าหน้าที่ส่งสริมไก่ประกัน เป็นเวลา 2 ปี 8 เดือน หลังจากนั้นได้กลับเข้ามาศึกษาต่อในระดับปริญญาโทในสาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2551 และมีความสนใจทางด้านโภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยมี ศาสตราจารย์ ดร. เมธา วรรณพัฒน์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา

ในระหว่างการศึกษาในระดับปริญญาตรีและปริญญาโท ได้รับทุนการศึกษาดังนี้

1. ทุนจากสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ ประจำปี พ.ศ. 2544- 2547
2. ทุนสนับสนุนบัณฑิตศึกษา จากศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อน ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2551-2552
3. ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี-มหาวิทยาลัยขอนแก่น จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ร่วมกับมหาวิทยาลัยขอนแก่น ภายใต้โครงการผลของอาหารก้อนคุณภาพสูงที่มีการใช้มันสำปะหลังตากแห้งทั้งต้น(มันเฮย์) ถั่วมันเฮย์ และใบหม่อนตากแห้ง (หม่อนเฮย์) เป็นองค์ประกอบ ต่อนิเวศวิทยาภายในกระเพาะรูเมน และความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะในกระบือปลัก ปีการศึกษา 2552