บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 แผนการทดลอง

ดำเนินการโดยจัดปัจจัยการทดลองแบบ 2 x 4 factorial ในแผนการทดลองแบบ replicated latin square

แผนผังการทดลอง

ช่วงเวลา \ กระบือ #	(1) (5)	(2) (6)	(3) (7)	(4) (8)
ช่วงที่ 1.1	AN	BN	CN	DN
ช่วงที่ 1				
ช่วงที่ 1.2	AW	BW	CW	DW
ช่วงที่ 2.1	DN	AN	BN	CN
ช่วงที่ 2				
ช่วงที่ 2.2	DW	AW	BW	CW
ช่วงที่ 3.1	CN	DN	AN	BN
ช่วงที่ 3				
ช่วงที่ 3.2	CW	DW	AW	BW
ช่วงที่ 4.1	BN	CN	DN	AN
ช่วงที่ 4				
ช่วงที่ 4.2	BW	CW	DW	AW

ปัจจัยที่ 1 คือ งาน แบ่งออกเป็น 2 ระดับ คือ

N = ไม่ทำงาน

W = ทำงาน

ปัจจัยที่ 2 คือ อาหาร แบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ

A = ฟางข้าว + หญ้าสด (RG)

B = ฟางหมักยูเรีย (5%) + หญ้าสด (UTRG)

C = ฟางข้าว + หญ้าสด + อาหารเสริม (RGS)

D = ฟางหมักยูเรีย (5%) + หญ้าสด + อาหารเสริม (UTRGS)

ปริมาณอาหารที่ให้

ฟาง	ให้กระบือกินเต็มที่ (Ad-lib.)
ฟางหมักยูเรีย (5%)	ให้กระบือกินเต็มที่ (Ad-lib.)
หญ้าสด (หญ้ารูซี่)	ให้กระบือกิน 10 กก./ตัว/วัน
อาหารเสริม	ให้กระบือกิน 3 กก./ตัว/วัน

คอกทดลองเป็นโรงเรือนที่มีช่องขังเดี่ยว มีร่างอาหาร อ่างน้ำและน้ำสะอาดสำหรับกระบือแต่ละตัว ตลอดจนมีแร่ธาตุก้อนสำหรับกระบือแต่ละตัวเลียกินอย่างอิสระ

การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ช่วงๆละ 40 วัน แต่ละช่วงมี 2 ตอนๆละ 20 วัน คือ ตอนไม่ทำงาน 20 วัน และตอนทำงาน 20 วัน กระบือได้รับอาหารทดลองในระดับต่างๆ 4 ระดับตามที่กำหนดไว้

3.2 สัตว์ทดลอง

กระบือปลักตอนเพศผู้อายุ 7 ปี จำนวน 8 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 563.3 $\pm$ 47.8 กิโลกรัม กระบือพวกนี้ได้ผ่านการฝึกงานจนสามารถทำงานได้เป็นอย่างดี ก่อนการทดลองได้ถ่ายพยาธิใบไม้ในตับ พยาธิตัวกลม และตัวแบน ตลอดจนฉีดไวตามิน AD$_3$E ก่อนเข้าการทดลองจริง 2 สัปดาห์ การจัดกระบือเข้ารับอาหารทดลองกระทำโดยการสุ่มเป็นคู่ๆ เข้าช่องขังเดี่ยวซึ่งจัดเตรียมไว้แต่ละตัว และดำเนินการสุ่มอาหารที่ใช้ในการทดลองในแต่ละช่วงเพื่อให้กระบือทดลองได้กินตามที่กำหนด

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

3.3.1 สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์

3.3.2 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.4 อาหารทดลอง

หญ้าสด เป็นหญ้ารูซี่ที่ตัดสดจากแปลงหญ้าของสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ โดยการเกี่ยวด้วยเคียวในแต่ละวันที่ใช้ในการทดลองตามปริมาณที่กำหนดให้

ฟางหมักยูเรีย โดยใช้ฟางข้าวหมักด้วยยูเรียเกรดปุ๋ย 46%N ในอัตราส่วน ฟางข้าว 100 กก. ยูเรีย 5 กก. และน้ำ 120 ลิตร หมักภายในหลุมหมักแบบหอสูงที่สามารถบรรจุได้ 1 ตัน ใช้เวลาในการหมัก 14 วันจึงเปิดหลุมนำออกมาใช้ในแต่ละวัน ให้กระบือกินตามแผนการทดลอง

อาหารเสริม เป็นอาหารข้นที่ผสมด้วยส่วนประกอบ ดังนี้

รำละเอียด	38.3 กก.
ข้าวโพดป่น	38.3 กก.
ปลายข้าว	15.0 กก.
กากถั่วเหลือง	4.7 กก.
ยูเรีย	2.0 กก.
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	0.5 กก.
ก้ามะถันผง	0.2 กก.
เกลือแกง	1.0 กก.
รวม	100 กก.

อาหารเสริมเป็นสูตรโดย เมธา และคณะ (2528) ในโครงการ UFARF เช่นเดียวกับ Wachirapakorn (1987)

3.5 การให้อาหาร

กระบือกลุ่มที่ได้รับอาหาร A ได้รับฟางข้าวเต็มที่ + หญ้าสด 10 กก./ตัว/วัน

กระบือกลุ่มที่ได้รับอาหาร B ได้รับฟางหมักยูเรียเต็มที่ + หญ้าสด 10 กก./ตัว/วัน

กระบือกลุ่มที่ได้รับอาหาร C ได้รับฟางข้าวเต็มที่ + หญ้าสด 10 กก./ตัว/วัน + อาหารเสริม 3 กก./ตัว/วัน

กระบือกลุ่มที่ได้รับอาหาร D ได้รับฟางหมักยูเรียเต็มที่ + หญ้าสด 10 กก./ตัว/วัน + อาหารเสริม 3 กก./ตัว/วัน

การให้อาหารเสริม ให้กระบือที่ได้รับกินวันละ 2 ครั้งๆละ 1.5 กก./ตัว ในเวลา 11.00 น. และ 16.30 น.

การให้หญ้าสด ในช่วง 20 วันแรก เป็นวันที่กระบือไม่ได้ทำงาน ให้หญ้าสดแก่กระบือในตอนเช้าเวลาประมาณ 8.30 น. เมื่อกระบือกินหญ้าสดหมดแล้วจึงให้ฟางแห้งหรือฟางหมักยูเรีย สำหรับใน 20 วันหลังเป็นวันที่กระบือต้องทำงาน ให้หญ้าสดแก่กระบือหลังจากเสร็จจากการทำงานในเวลาเช้า ซึ่งจะเป็นเวลาประมาณ 9.30 น. และให้ฟางแห้งหรือฟางหมักในเมื่อกระบือกินหญ้าสดหมดแล้ว

3.6 การทำงานของกระบือ

การทดลองได้จัดให้กระบือทำงานไถเป็นเวลา 4 ชั่วโมง/วัน โดยแบ่งเวลาทำงานออกเป็น 2 เวลา คือ เวลาเช้า 2 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 7.00-9.00 น. และเวลาบ่าย 2 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 14.00-16.00 น. กระบือทำงานทั้งสิ้น 20 วัน/ช่วงเวลาของการทดลอง ในการไถใช้คนควบคุมกระบือทดลอง 8 คน โดยหมุนเวียนสับเปลี่ยนคนกับกระบือทุกวันไม่ให้ซ้ำกัน สำหรับไถที่ใช้เป็นไถเหล็กที่มีขายในท้องตลาด ซึ่งเกษตรกรทั่วไปใช้ในการทำงาน

สภาพพื้นที่ในการทดลองการทำงานไถของกระบือ สภาพดินในพื้นที่เป็นดินร่วนปนทราย ซึ่งเป็นแปลงหญ้าและนาข้าวที่มีวัชพืชและหญ้าพื้นเมืองขึ้นปกคลุมทั่วไป พื้นที่ดังกล่าวเมื่อวัดความแน่นของดินด้วยเครื่อง Soil cone penetrometer ดินมีค่าความแน่นเฉลี่ย 193.3 $\pm$ 65.1 ปอนด์/ตารางนิ้ว

3.7 การเก็บข้อมูล

3.7.1 การชั่งน้ำหนักกระบือทดลอง

ชั่งน้ำหนักกระบือทดลองในวันแรกของแต่ละช่วงเวลาในเวลาเช้า ทั้งตอนไม่ทำงานและตอนทำงาน ก่อนการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.7.2 การชั่งน้ำหนักอาหาร

เก็บข้อมูลอาหารที่ให้กินทั้งหมดตั้งแต่ ฟางแห้ง ฟางหมักยูเรีย หญ้าสด และอาหารเสริม ตลอดจนอาหารที่กินเหลือ บันทึกในแต่ละวันเพื่อหาปริมาณการกินได้

3.7.3 การศึกษาเก็บข้อมูลทางสรีรวิทยาของกระบือใช้งาน

(1) **วัดอุณหภูมิของร่างกายกระบือ** โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิที่ทวารหนักของกระบือก่อนการทำงาน และทุกๆชั่วโมงของการทำงาน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของร่างกายขณะที่กระบือทำงาน

(2) **วัดอัตราการหายใจ** โดยใช้มือกดที่สวาป (Flank) เพื่อนับอัตราการหายใจเป็นจำนวนครั้ง/นาที ทั้งก่อนการทำงานและทุกๆชั่วโมงของการทำงาน

(3) **วัดอัตราการเต้นของหัวใจ (ชีพจร)** โดยการใช้เครื่องฟังหรือใช้มือกดหาเส้นเลือด cocygeal artery บริเวณใต้โคนหาง จะมีความรู้สึกของการสูบฉีดของเลือดตามจังหวะของการเต้นของหัวใจ นับเป็นจำนวนครั้ง/นาที ทั้งก่อนทำงานและทุกๆชั่วโมงของการทำงาน

(4) **บันทึกพฤติกรรมและลักษณะของการหอบขณะที่กระบือทำงาน**

3.7.4 การศึกษาข้อมูลสมรรถภาพการทำงานของกระบือ

(1) **วัดพื้นที่ของการไถในแต่ละช่วงเวลา** โดยการแบ่งแปลงสำหรับกระบือแต่ละตัว เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาของการทำงานในแต่ละครั้งวัดปริมาณพื้นที่ที่กระบือทำงานได้

(2) **วัดความลึกของร่องไถ** โดยการใช้แท่งเหล็กพาดในระดับดินเดิม เพื่อวัดความลึกของร่องไถในการทำงานของกระบือแต่ละตัว โดยการสุ่มวัดจำนวน 4 จุด ทุกๆชั่วโมงการทำงาน

(3) **วัดความกว้างของร่องไถ** โดยการใช้แท่งเหล็กปักจุดก่อนที่บริเวณริมร่องไถเดิม และรอจนกระบือไถผ่านปักเหล็กอีก 1 อันที่ริมร่องใหม่ ก็จะได้ความกว้างของร่องไถ โดยการสุ่มวัดจำนวน 4 จุดทุกๆชั่วโมงการทำงาน

(4) **วัดปริมาตรดินไถที่พลิกขึ้นมา** โดยการวัดพื้นที่ที่กระบือทำงานในแต่ละช่วงเวลา กับความลึกเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลา คำนวณหาปริมาตรดินเป็นลูกบาศก์เมตร

(5) **วัดอัตราความเร็วในการไถ** โดยการจับเวลาในการไถระยะทาง 100 เมตร ใช้เวลานานเท่าไร และคำนวณแปรค่าให้เป็นความเร็วหน่วยกิโลเมตร/ชั่วโมง การวัดทำการสุ่มวัด 2 ครั้งขณะเริ่มต้นการทำงานและก่อนสิ้นสุดชั่วโมงการทำงาน

3.7.5 วัดอุณหภูมิของอากาศและความชื้นสัมพัทธ์ตลอดการทดลอง

โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบแห้ง (dry) และเปียก (wet) วัดอุณหภูมิและความชื้นตลอดทั้งวัน ตั้งแต่เวลา 7.00 น. 9.00 น. 14.00 น. และ 16.00 น.

3.7.6 วัดความแน่นของดิน

ด้วยเครื่อง Soil cone penetrometer โดยการวัดสุ่มทั่วทั้งบริเวณแปลงที่กระบือทำงาน แปลงละ 8 จุด แล้วหาค่าเฉลี่ยความแน่นของดิน

3.7.7 วัดปริมาณน้ำที่กระบือกิน (water intake)

โดยวัดปริมาตรน้ำที่มีในอ่างน้ำกินกระบือ วัดปริมาณน้ำที่กระบือกินในแต่ละวันขณะทำการทดลอง

3.7.8 วัดปริมาณการเสียกินแร่ธาตุ

กระบือทุกตัวได้รับแร่ธาตุก้อน ชั่งน้ำหนักแร่ธาตุก้อนที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลองในแต่ละช่วงทั้งตอนไม่ได้ทำงานและตอนทำงาน

3.7.9 เก็บตัวอย่างอาหารและตัวอย่างมูล

การเก็บตัวอย่างอาหาร เก็บตัวอย่างฟางแห้ง ฟางหมักยูเรีย หญ้าสด และอาหารเสริม ในสัปดาห์ที่ 2 ของแต่ละช่วง โดยเก็บเป็นเวลา 5 วัน นำตัวอย่างอาหารที่เก็บ

ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60°C นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 0.1 มิลลิเมตร เก็บไว้วิเคราะห์หาส่วนประกอบต่างๆในห้องปฏิบัติการ โดยหา dry matter (DM), ash, crude protein (CP) โดยวิธีของ A.O.A.C. (1975) วิเคราะห์หา neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL) โดยวิธีของ Georing and Van Soest (1970) และวิเคราะห์หา acid insoluble ash (AIA) โดยวิธีของ Van Keulen and Young (1977) ซึ่งดัดแปลงโดย เมธา และ ศักดิ์สิทธิ์ (2528)

การเก็บตัวอย่างมูล จะเก็บในวันเวลาเดียวกับการเก็บอาหาร ซึ่งระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างอาหารและมูลนี้เรียกว่า collection period โดยจะเก็บในตอนเช้าเวลา 7.00 น. โดยการล้วงเอามูลจากทวารหนัก (rectal) ใส่ในภาชนะบรรจุ แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อแห้งดีแล้วจึงนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 0.1 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างที่บดไว้ในกระป๋องพลาสติกเพื่อนำไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบต่างๆเช่นเดียวกับอาหารในห้องปฏิบัติการ

3.8 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การคำนวณหาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ โดยวิธีการใช้ตัวบ่งชี้ภายใน คือ acid insoluble ash (AIA) ใน 2N HCl ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) โดยใช้สูตรการคำนวณตามวิธีการของ Schnieder and Flatt (1975) ดังนี้

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของสิ่งแห้ง (\%)} = 100 - 100 \times \frac{\text{\% AIA ในอาหาร}}{\text{\% AIA ในมูล}}$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (\%)} = 100 - 100 \times \frac{\text{\% AIA ในอาหาร}}{\text{\% AIA ในมูล}} \times \frac{\text{\% โภชนะในมูล}}{\text{\% โภชนะในอาหาร}}$$

3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติแบบ Latin square โดยใช้เครื่องคำนวณคอมพิวเตอร์ การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของคู่ต่างๆโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1960)

3.10 ระยะเวลาการทดลอง

เริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2530 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน 2530 รวมเวลาทั้งสิ้น 7 เดือน