บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะจำเพาะของแหนแดง

แหนแดง (*Azolla*) เป็นพืชที่พบอยู่ทั่วไป มีหลายชนิด (species) เช่น *Azolla caroliniana*, *A. filiculoides*, *A. microphylla*, *A. mexicana*, *A. nilotica*, *A. pinnata* และ *A. rubra* ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา แอฟริกา และเอเชีย (ประยูร สวัสดี และ บรรหาญ แดงฉ่ำ, 2524) โดยแหนแดงจะอาศัยอยู่ในน้ำนิ่งและนาข้าวทั่วไป และสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ซึ่งความสามารถนี้เนื่องมาจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *(Anabaena azollae)* ที่อาศัยอยู่ในกาบใบของ แหนแดงแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (Symbiosis) (Watanabe and Van Hove, 1996) แหนแดงเป็นพืชลอยน้ำ ลำต้นทอดราบไปตามผิวน้ำ ใบมีขนาดเล็กเรียงแบบสลับอยู่ตามกิ่งก้าน มีลักษณะคล้ายเกล็ด ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ใบอ่อนมีสีเขียว ใบแก่เปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีน้ำตาลเข้ม ขยายพันธุ์โดยการแตกหักของใบแยกเป็นต้นใหม่ และแบบใช้สปอร์ แหนแดง ประกอบด้วยส่วนต่างๆ คือ ลำต้น ราก และใบ มีกิ่งแยกจากลำต้น ใบเกิดตามกิ่งเรียงสลับกันไป แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ใบบน (dorsal leaf) และใบล่าง (ventral leaf) ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกัน รากของแหนแดงจะห้อยลงไปในน้ำตามแนวดิ่งและอาจฝังลงไปในดินโคลนได้ นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบในรูปของแอมโมเนียมให้แหนแดงใช้ประโยชน์ได้ ทำให้แหนแดงเจริญเติบโตได้เร็วและมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูง การที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูงทำให้แหนแดงสลายตัวได้ง่ายและปลดปล่อยไนโตรเจนและธาตุอาหารอื่นๆ ออกมาอย่างรวดเร็ว

การจำแนกชนิดของแหนแดง

แหนแดงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Azolla spp.* คำว่า Azolla มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ Azo หมายถึง แห้ง และ Ollyo หมายถึงตาย เมื่อมารวมกันแล้วจะหมายความว่าตาย เมื่อถึงฤดูแล้งมีชื่อเรียกภาษาอังกฤษว่า water velvet การจำแนกชนิดของแหนแดงนั้น Lamark เป็นผู้ริเริ่มศึกษาเป็นคนแรก (ประยูร สวัสดี และคณะ, 2527) ซึ่งสามารถจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ได้ดังนี้

แหนแดงจัดอยู่ใน Division Pteridophyta

Class Filicopsida

Order Salviniales

Family Azollaceae

Genus Azolla

1. **การจำแนกโดยใช้จำนวนของทุ่นลอย** โดยทุ่นลอยของแหนแดงจะมีลักษณะกลมๆ อยู่บริเวณส่วนหัว ของ megaspore แบ่งเป็น

1.1 Section Euazolla จะมีทุ่นลอย 3 ทุ่น ประกอบด้วยแหนแดง 5 ชนิด คือ

1.1.1 *A. filiculoides* มีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ของอเมริกาใต้ ถึงตะวันตกและตอนเหนือของอเมริกาเหนือ รวมทั้ง อลาสก้า ซึ่งปัจจุบันมีการแพร่กระจายในยุโรป เอเชีย และออสเตรเลีย

1.1.2 *A. caroliniana* มีถิ่นกำเนิดทางด้านตะวันออกของอเมริกาเหนือ ฝั่งทะเลแคริบเบียนรวมทั้งแม็กซิโกต่อมาได้แพร่เข้ามาในยุโรป และอเมริกาใต้

1.1.3 *A. mexicana* มีถิ่นกำเนิดบริเวณตอนเหนือของอเมริกาใต้ถึงบริเวณตะวันตกของอเมริกาเหนือรวมทั้งแม็กซิโกและอเมริกากลาง

1.1.4 *A. microphylla* พบในเขตร้อนของอเมริกาตั้งแต่ด้านทิศตะวันตกและทิศเหนือของอเมริกาใต้ และแถบเอเชีย

1.1.5 *A. rubra* พบในประเทศญี่ปุ่น เกาหลี ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์

1.2 Section Rhizosperma มีทุ่นลอยน้ำ 9 ทุ่น ประกอบด้วย

1.2.1 *A. pinnata* ต้นมีลักษณะเป็นรูปเหลี่ยม มีถิ่นกำเนิดกระจายอยู่บริเวณกว้าง ตั้งแต่ฝั่งทะเลเขตร้อนของแอฟริกา เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน อินเดีย และออสเตรเลีย

1.2.2 *A. nilotica* เป็นแหนแดงที่มีขนาดใหญ่ มีถิ่นกำเนิดในลุ่มแม่น้ำไนล์จนถึงประเทศซูดาน

2. **การแบ่งชนิดของแหนแดงโดยใช้ลักษณะของสปอร์** การจำแนกชนิดของแหนแดงโดยใช้ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ในการแบ่งชนิดของแหนแดงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถแยกชนิดของแหนแดงได้อย่างชัดเจน เพราะลักษณะของลำต้นแหนแดง โดยเฉพาะพวก Euazolla นั้นในบางช่วงอายุจะมีลักษณะเหมือนกันมากไม่สามารถแยกออกได้ โครงสร้างสปอร์โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนบนสุดเป็นส่วนของทุ่นลอย ตรง

กลางเป็นส่วนที่เรียกว่า collar ส่วนล่างเป็นส่วนของ perine ในส่วนของ perine เมื่อตัดตามขวางดูจะแบ่งออกเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นนอก ชั้นกลาง ชั้นใน ซึ่งสามารถใช้ในการแบ่งชนิดของแหนแดงได้โดยแบ่งได้ดังนี้

2.1 *A. nilotica* ส่วนของ collar แยกไม่ค่อยชัด ผิวของ perine มีลักษณะเรียบมีรูคล้ายรังผึ้งมีขนาดสม่ำเสมอส่วนล่างของ perine มีหนามมนยื่นออกมา

2.2 *A. pinnata* ทุ่นลอยมี 9 ทุ่น แบ่งเป็น 2 ชั้น อยู่เหนือ collar ซึ่งคลุมด้วยเส้นใยหนา ปกติ perine จะไม่มีเส้นใยคลุม นอกจากด้านข้างผิวของ perine จะมีเส้นใยที่เกิดจาก collar คลุมอยู่บ้าง

2.3 *A. caroliniana* ส่วนของ collar และ perine คลุมด้วยเส้นใยหนาแน่น ส่วนของ perine แบ่งเป็น 3 ชั้น ชั้นในเป็นเม็ดละเอียดสม่ำเสมอ ชั้นกลางมีลักษณะคล้ายรังผึ้งเป็นที่เกิดของเส้นใย ชั้นนอกประกอบด้วยเส้นใยเกาะกันอย่างหลวมๆ

2.4 *A. filiculoides* ทุ่นลอยอยู่ติดกับ collar ด้านบน collar แยกออกชัดเจน perine มีเส้นใยเป็นกลุ่มๆ คลุมอยู่ ส่วนของ perine เมื่อขยายใหญ่จะเห็นเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมเชื่อมต่อกันด้วยเส้นเล็กๆ มีกลุ่มขนคลุมอยู่ ชั้นในมีลักษณะเป็นถุง ชั้นนอกมีลักษณะเป็นชั้นแน่นและหนา

2.5 *A. rubra* ลักษณะของสปอร์แตกต่างไปจาก *A. filiculoides* ตรงส่วนของ collar มีขนปกคลุมอยู่ขณะที่สปอร์ของ *A. filiculoides* ลักษณะเรียบไม่มีขน ส่วนชั้นกลางและชั้นนอกมีลักษณะคล้ายกับ *A. filiculoides* ส่วนชั้นในเป็นชั้นมีถุงยาว อยู่ระหว่างสันบางๆ

2.6 *A. mexicana* มีเส้นใยลักษณะเป็นขนเล็กๆ คลุมอยู่บนส่วนของ perine ต่อลงมาจากส่วนของ collar ซึ่งมีลักษณะเรียบค่อนข้างกว้าง ถ้าขยายดูจะเห็นส่วนของ perine เป็นรูพรุน ชั้นในเป็นเม็ดละเอียด ชั้นกลางเป็นท่อกลมสูงขึ้นมาที่สานกันเป็นตาข่ายของชั้นนอก

2.7 *A. microphylla* มีลักษณะเรียบสม่ำเสมอคลุมเส้นใยที่เกิดอยู่บน perine ส่วนของ perine มีลักษณะนูนเป็นสันเล็กๆ มีรูพรุนอยู่ทั่วไปมีขนโผล่ขึ้นจากรูพรุนนี้ ชั้นในเป็นเม็ดละเอียด ชั้นกลางประกอบด้วยแท่งกลมๆ ซึ่งจะรวมกันเป็นชั้นใน

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแหนแดง

1. ธาตุอาหาร

แหนแดงต้องการธาตุอาหารเพื่อการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับพืชสีเขียวอื่นๆ (Becking,1979) โดยใช้รากดูดอาหารจากน้ำ ยกเว้นธาตุไนโตรเจน ซึ่งส่วนใหญ่แหนแดงได้จากการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ แหนแดงมักจะแสดงอาการขาดธาตุฟอสฟอรัส เนื่องจากธาตุฟอสฟอรัสจะตรึงอยู่ในดิน และจะละลายในน้ำได้ในปริมาณต่ำ (คณาจารย์ภาควิชา ปฐพีวิทยา,

2523) ธาตุฟอสฟอรัสจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแหนแดงมาก เพราะเป็นองค์ประกอบของ nucleoprotein ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการสร้างองค์ประกอบของการแบ่งเซลล์ และการตรึงไนโตรเจน

2. **น้ำ**

น้ำเป็นสิ่งจำเป็นขั้นพื้นฐานของแหนแดงซึ่งแหนแดงจะเจริญเติบโตได้ในน้ำลึกหรือในแหล่งน้ำนิ่งทั่วไป แต่ก็อาจเจริญเติบโตได้ในลำคลองที่น้ำไหลช้าๆ (Becking,1979) การไหลวนการกระแทกขึ้นลงของคลื่นมีผลให้การเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนลดลง แหนแดงจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในแหล่งน้ำขนาดใหญ่เกินไป ที่มีลมพัดแรงพอให้เกิดคลื่น เมื่อลมแรงเกินไปจะพัดให้แหนแดงไปรวมกันที่ข้างใดข้างหนึ่งของแหล่งน้ำ เมื่อเจริญเติบโตในน้ำลึกที่รากหยั่งไม่ถึงพื้น แหนแดงสามารถดูดธาตุอาหารที่ต้องการทั้งหมดจากน้ำ ในน้ำตื้นที่รากหยั่งถึงพื้นก็เจริญเติบโตได้ และเจริญเติบโตได้แม้บนผิวของโคลนที่เปียกแฉะพอ

3. **อุณหภูมิ**

แหนแดงแต่ละชนิดจะเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับแหล่งต้นกำเนิดของแหนแดงชนิดนั้นๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแหนแดงจะอยู่ในช่วง 16-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำหรือสูงกว่านี้จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตและตรึงไนโตรเจนลดลง (Anonymous, 1976; Brotonegero and Abdulkadir, 1976)

4. **ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH)**

การเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดมีความต้องการสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันโดยค่า pH ของน้ำที่แหนแดงสามารถเจริญเติบโตได้จากรายงานของ Nickell (1961) และ Aston (1974) รายงานว่า แหนแดงสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วง pH 3.5-10 แต่ระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต จะอยู่ที่ช่วง pH 4.5-7

5. **แสงแดด**

แสงแดดเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์แสงและกระบวนการตรึงไนโตรเจนของแหนแดง ซึ่งต้องใช้พลังงานจากการสังเคราะห์แสง (Holst, 1977) แต่เมื่อได้รับแสงแดดที่จัดในช่วงกลางวันติดต่อกันหลายวัน ใบแหนแดงจะมีสีแดงปนเขียว ซึ่งเกิดจากการปรับตัวของแหนแดงเพื่อป้องกันความเข้มแสงที่สูงเกินไป แต่แหนแดงจะแสดงอาการนี้ได้เมื่อขาดธาตุฟอสฟอรัส

6. **ความชื้นสัมพัทธ์**

อิทธิพลของความชื้นสัมพัทธ์จะปรากฏเด่นชัดในแหนแดงโดยเฉพาะในเขตร้อนซึ่งแสงแดด และอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่เหมาะสมสำหรับแหนแดงจะอยู่ในช่วง 85-99% (Becking,1979)

การขยายพันธุ์ของแหนแดง

แหนแดงที่เห็นในธรรมชาติเป็นระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น เมื่อมีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมแหนแดงจะเปลี่ยนระบบการขยายพันธุ์จากการเจริญเติบโตทางลำต้น เป็นการสร้างสปอร์ทั้งเพศผู้และเพศเมียในต้นเดียวกัน สปอร์เพศผู้ (microsporocarp) มีขนาดใหญ่แต่มีสปอร์เล็กๆ ภายในมากมาย ส่วนสปอร์เพศเมีย (macrosporocarp) มีขนาดเล็ก แต่ภายในมีไข่อยู่ใบเดียว เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม สปอร์เพศผู้ และ สปอร์เพศเมีย จะผสมพันธุ์เกิดเป็นตัวอ่อนที่เรียกว่า zygote ซึ่ง zygote นี้จะเจริญเติบโต เป็นต้นแหนแดงต่อไป (Rai, et al., 2000) แหนแดงจะเพิ่มปริมาณเป็น 2 เท่า ได้ในเวลา 2-4 วัน และสามารถตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดถึง 5% ของน้ำหนักแห้ง (Brotonegero, 1976) ถ้าหากมีการจัดการที่ดีแล้วพื้นที่เลี้ยงแหนแดง 6.25 ไร่ สามารถผลิตแหนแดงเป็นอาหารสุกรได้ถึง 150-550 ตัว จนถึงส่งตลาด (Chu, 1979; Tuan and Thuyet, 1979) แหนแดงมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณ 2-3% ของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมคือ ในฤดูหนาวมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณ 2% ในฤดูใบไม้ผลิตัวเลขขึ้นสูงถึง 3.3-3.6% แต่เมื่ออากาศร้อนเกินไปในฤดูร้อนเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนลดลงเหลือเพียง 2.2-2.9% ในประเทศไทย การวิเคราะห์ตัวอย่างแหนแดง 82 ตัวอย่าง จากภาคกลางและภาคเหนือ พบว่าแหนแดงมีวัตถุแห้งเฉลี่ย 4.8% ของน้ำหนักสดและในวัตถุแห้งมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบระหว่าง 2.06-5.87% (ประยูร สวัสดี และ บรรหาญ แตงฉ่ำ, 2524)

ปริมาณผลผลิตของแหนแดง

แหนแดงเป็นพืชที่สามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วโดยเราจะพบเห็นแหนแดงอยู่ตามแหล่งน้ำต่างๆ ดังรายงานของ ประยูร สวัสดี และคณะ (2527) รายงานว่า เมื่อเริ่มเลี้ยงโดยใช้เชื้อพันธุ์ 50 กิโลกรัม/ไร่ แหนแดงพันธุ์ดีจะขยายตัวเต็มพื้นที่หนึ่งไร่ภายในเวลา 21 วัน ซึ่งมีน้ำหนักสดประมาณ 3,000 กิโลกรัม/ไร่ และตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 3 กิโลกรัม/ไร่ แต่เมื่อเลี้ยงโดยใช้เชื้อพันธุ์ 100 กิโลกรัม/ไร่ แหนแดงจะโตเต็มพื้นที่ภายใน 15 วัน บรรหาญ แตงฉ่ำ และ วิศิษฐ์ โชลิตกุล (2521) รายงานว่า ผลการคัดเลือกพันธุ์แหนแดงใน ภาคกลาง ภาคเหนือ และตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่าแหนแดงสามารถให้น้ำหนักสดสูงสุดได้ภายใน 3-4 สัปดาห์ มีน้ำหนักสดระหว่าง 2,000–3,500 กิโลกรัม/ไร่ และตรึงไนโตรเจนได้ระหว่าง 3.5-7.5 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ โดยแหนแดงจากภาคกลางมีน้ำหนักสด และปริมาณไนโตรเจนต่ำสุด ส่วนภาคเหนือมีปริมาณไนโตรเจนสูงสุด

องค์ประกอบทางเคมีของแหนแดง

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญโดยเฉพาะโปรตีนและกรดอะมิโนที่มีในแหนแดง ทำให้มีการศึกษาเกี่ยวกับแหนแดงมากขึ้นโดยจากรายงานการวิจัยต่างๆ ได้รายงานว่า แหนแดงมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 21.4-28.5 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง (ตาราง 1) และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับสัตว์ (ตาราง 2)

ตาราง 1 ตัวอย่างการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแหนแดง

	วัตถุแห้ง (%)	โปรตีน (%)	เยื่อใย (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)	NDF (%)	ADF (%)	แคลเซียม (%)	ฟอสฟอรัส (%)
Basak et. al., 2002	90.8	25.78	15.71	3.47	15.76	NA		NA	NA
Khatun et. al., 1999	90.5	28.5	12.3	NA	16.9	44.5	33.4	NA	NA
Alalade and Lyayi 2006	NA	21.4	12.7	2.7	16.2	36.8	47.08	1.16	1.29
Tamang and Samanta 1993	90.2	23.4	12.7	2.7	NA	NA	NA	NA	NA

ที่มา: Basak, et. al., 2002

Khatun, et. al., 1999

Alalade and Lyayi, 2006

Tamang and Samanta, 1993

NA = Data not available

NDF = netural detergent fibre

ADF = Acid detergent fibre

ตาราง 2 ตัวอย่างการศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนของแหนแดง

กรดอะมิโน	เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง	
	Alalade and Lyayi, 2006	Basak, et al., 2002
Lysine	0.98	1.7
Methionine	0.34	1.1
Threonine	0.87	1.3
Tryptophan	0.39	1.5

ที่มา: Alalade and Lyayi, 2006

Basak, et al., 2002

ประโยชน์ของแหนแดง

ในประเทศไทยมีแหนแดงอยู่ในบ่อ สระ หนอง คลอง บึง ทั่วๆ ไปมาช้านานแล้ว แต่ก็ไม่ปรากฏว่ามีการใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง จนกระทั่งเกิดวิกฤตการณ์ทางด้านพลังงาน ทำให้ปุ๋ยมีราคาแพง แหนแดงจึงได้รับความสนใจจากนักวิชาการเกษตรทั่วโลก

1. **การใช้ประโยชน์ของแหนแดงเพื่อเป็นปุ๋ย**

เนื่องจากแหนแดงเป็นพืชที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้จึงทำให้แหนแดงมีปริมาณไนโตรเจนที่สูงซึ่งเหมาะแก่การนำมาเป็นปุ๋ยโดย กองปฐพีวิทยา (2527) ได้เริ่มทดลองเลี้ยงแหนแดงเพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสดในนาข้าวเมื่อประมาณ พ.ศ. 2520 ผลการทดลองปรากฏว่าได้ผลดี ปุ๋ยพืชสดจากแหนแดงทำให้ประหยัดค่าปุ๋ยเคมีไนโตรเจนได้ 100-200 บาท/ไร่ และทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 10-20 ถัง/ไร่ โดยแนะนำวิธีเลี้ยงแหนแดงเพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสดในนาข้าวไว้ดังนี้ เริ่มโดยนำกล้าแหนแดงประมาณ 50-100 กิโลกรัม/ไร่ มาเลี้ยงในนาข้าว ใช้ไม้รวกช่วยกั้นบริเวณในวงจำกัดไว้ก่อนเพื่อให้แหนแดงตั้งตัวและไม่ถูกลมพัดไปติดตามคันนา ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3 สัปดาห์ แหนแดงก็จะเจริญเติบโตเต็มพื้นที่ ไถกลบเป็นปุ๋ยพืชสดในนาข้าวได้ ซึ่งจะช่วยให้ข้าวมีผลผลิตสูงขึ้นเท่ากับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 6 กิโลกรัม/ไร่ การใช้แหนแดงเป็นปุ๋ยพืชสดในนาข้าวอาจทำได้ 3 วิธี คือ

1.1 เลี้ยงขยายแหนแดงก่อนปักดำแล้วไถกลบเมื่อแหนแดงโตเต็มที่ ซึ่งจะใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 3 สัปดาห์

1.2 เลี้ยงขยายแหนแดงเมื่อหลังจากปักดำแล้ว ปล่อยให้แหนแดงเจริญเติบโตร่วมกับข้าวโดยไม่ต้องไถกลบ คือ มีแหนแดงอยู่ในนาตลอดไป จนกระทั่งเก็บเกี่ยวข้าว

1.3 เลี้ยงขยายแหนแดงก่อนปักดำแล้วไถกลบ โดยทิ้งบางส่วนไว้ให้ขยายพันธุ์เจริญเติบโตอยู่ในนาต่อไป จนกระทั่งเก็บเกี่ยว

วิธีการที่ 3 เป็นวิธีการที่ทำให้ได้ผลผลิตข้าวสูงสุด โดยวิธีที่ 1 ได้ผลรองลงมา แต่ทั้ง 3 วิธีการให้ผลผลิตสูงกว่าการปลูกข้าวโดยไม่ใส่ปุ๋ย การเพาะเลี้ยงแหนแดงแล้วไถกลบ นอกจากทำให้ดินได้รับไนโตรเจนเพิ่มขึ้นแล้ว แหนแดงยังให้อินทรีย์วัตถุแก่ดินอีกด้วย ซึ่งมีผลให้ดินมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ดีขึ้น แม้ว่าจะมีข้อมูลจากการทดลองยืนยันว่าการเพาะเลี้ยงและไถกลบแหนแดงสามารถทดแทนการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าวได้ แต่การส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากแหนแดงก็มีปัญหาหลายประการ ปัญหาประการสำคัญที่สุดคือ การขาดน้ำและแหล่งน้ำในการเพาะแหนแดงในฤดูแล้ง เพื่อใช้เป็นเชื้อพันธุ์เมื่อต้นฤดูฝน เกษตรกรที่จะใช้ประโยชน์จากแหนแดงในนาข้าวได้มากที่สุดคือ เกษตรกรที่อยู่ในเขตชลประทานและทำนาปีละ 2 ครั้ง (ปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งคือปุ๋ยเดี่ยวฟอสฟอรัสในตลาดบ้านเราไม่แพร่หลายและมีราคาแพง เมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยนาสูตร 16-20-0)

2. การใช้แหนแดงเป็นอาหารสัตว์

แหนแดง พันธุ์ *Azolla microphylla* เป็นพันธุ์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน โดยมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย จึงเหมาะแก่การเพาะเลี้ยงในประเทศไทยอีกทั้งแหนแดงพันธุ์นี้ยังมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และให้ปริมาณโปรตีนที่สูงจึงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์

2.1 การใช้ประโยชน์ของแหนแดงเป็นอาหารสัตว์ปีก

ในสัตว์ปีกมีการนำแหนแดงมาเป็นวัตถุดิบเพื่อผสมในอาหารเพราะว่าแหนแดงมีปริมาณโปรตีนที่ดี และสามารถใช้ในสัตว์ปีกได้สูงถึง 15% ดังรายงานของ Basak,et al. (2002) ได้รายงานการใช้แหนแดง (*A. pinnata*) เพื่อทดแทนโปรตีนในสูตรอาหารไก่เนื้อ ในระดับ 0 5 10 และ 15 % ในสูตรอาหาร เป็นระยะเวลานาน 7 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักตัวของไก่เนื้อที่ได้รับแหนแดงในสูตรอาหารในสัปดาห์ที่ 1-4 ไม่แตกต่างกับสูตรควบคุม แต่น้ำหนักตัวของไก่เนื้อที่ได้รับแหนแดงในสูตรอาหารในสัปดาห์ที่ 5-7 มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีแนวโน้มว่าเมื่อเพิ่มปริมาณแหนแดงในสูตรอาหารมากขึ้นจะทำให้น้ำหนักของไก่เนื้อลดลง

2.2 การใช้ประโยชน์ของแหนแดงเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง

โดยทั่วไปแล้วสัตว์เคี้ยวเอื้องส่วนใหญ่กินหญ้าเป็นหลักจึงได้รับปริมาณโปรตีนที่ค่อนข้างต่ำจึงมีการนำแหนแดงซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าเข้ามาทดแทนหญ้าให้สัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งจากการศึกษาของ Hillman and Culley (1978) รายงานว่า โคนมที่ได้รับอาหารแหนแดง (*A. microphylla*) สดที่เก็บแล้วนำมาฉีดล้างทำความสะอาด เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารโคนม ที่มีการเสริมโปรตีนประมาณ 60% ของความต้องการปกติในแต่ละวัน พบว่า โคยอมรับอาหารที่มีแหนแดงสูงถึง 75% ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด โดยไม่เกิดการเจ็บป่วย และมีแนวโน้มว่าจะใช้แหนแดงได้ในสัดส่วนที่สูงขึ้นอีก 19% ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด ของอาหารที่กินได้ปกติในแต่ละวัน นอกจากนี้ ได้มีการใช้แหนแดงแห้งระดับ 25 50 75 และ 100 % ของน้ำหนักแห้ง ร่วมกับส่วนผสมของหญ้าแห้งและ Alfalfa hay 8-9 ปอนด์ เพื่อให้มีโปรตีนหยาบ 16% ของน้ำหนักแห้งรวม เป็นอาหารโคนมรุ่นอายุ 9-10 เดือน (น้ำหนักตัวเฉลี่ย 240 กิโลกรัม) นาน 15 สัปดาห์ พบว่าโคนมมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน และอาหารที่มีส่วนผสมแหนแดง ไม่ก่อให้เกิดอาการผิดปกติของระบบย่อยอาหาร หรือปัญหาต่อสุขภาพโคแต่อย่างใด

2.3 การใช้ประโยชน์ของแหนแดงเป็นอาหารสุกร

ความต้องการโปรตีนในอาหารสุกรจะอยู่ที่ประมาณ 16% ซึ่งการจะทำให้สูตรอาหารสุกรมีระดับโปรตีนที่ต้องการต้องใช้วัตถุดิบที่มีราคาสูง เช่น กากถั่วเหลือง จึงมีการศึกษาการใช้แหนแดงเพื่อลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ดังรายงานของ Leterme, et al., (2008) รายงานว่า มีการใช้แหนแดง *A. filiculoiddes* เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสุกรเล็ก 3 ระดับ คือ 0 12.5 และ 25 % ในสูตรอาหารมีผลทำให้การเจริญเติบโตของสุกรเล็กลดลง และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงเมื่อระดับแหนแดงในอาหารสูงขึ้น แหนแดงสามารถใช้เป็นอาหารสุกรได้ เนื่องจากมี พลังงาน และกรดอะมิโนที่สูง แต่มีข้อจำกัดเรื่องการย่อยได้ของสุกร ทำให้การนำมาใช้ในอาหารสุกรไม่ควรเกิน 10-15% จากรายงานดังกล่าว แหนแดงที่ใช้ในงานวิจัยเป็นพันธุ์ *A. filiculoiddes* ซึ่งมีการเจริญเติบโตช้า ทำให้ *A. filiculoiddes* มีการสะสมของสารที่ขัดขวางการใช้ประโยชน์ของโภชนะ เช่น เยื่อใย ลิกนิน

ใบกระถิน

กระถินเป็นพืชตระกูลถั่วอยู่ใน Family Leguminosae และมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Leucaena leucocephala* ซึ่งสามารถทนต่อสภาพอากาศแห้งแล้งได้ดี และได้รับการยกย่องให้เป็นไม้เอนกประสงค์ เนื่องจากนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิง ไม้ก่อสร้าง อาหาร ปุ๋ยพืชสด เป็นไม้ให้ร่มเงา ป้องกันการถูกทำลายของหน้าดิน เป็นแนวกันลม และไฟ อีกทั้ง

ยังเป็นอาหารสัตว์ได้ เพราะมีคุณค่าทางอาหารสูงใกล้เคียงกับถั่วอัลฟัลฟ่า ซึ่งเป็นพืชอาหารที่ให้โปรตีนสูง และเจริญเติบโตได้ดีในแถบที่มีอากาศหนาวเย็น (Shelton and Brewbaker, 1994) การนำกระถินมาปลูกในประเทศไทย สันนิษฐานว่า เข้ามาครั้งแรกก่อนสมัยอยุธยา โดยอาจมาจากอินเดียหรือเขมร (ชาญชัย มณีตุลย์, 2526)

องค์ประกอบทางเคมีของใบกระถิน

ใบกระถินเป็นพืชที่มีการใช้เป็นอาหารสัตว์มานานแล้วแต่มีข้อจำกัดเรื่องสารพิษในใบกระถินจึงทำให้ไม่สามารถผสมใบกระถินลงไปในสูตรอาหารสัตว์มากได้แต่การที่ใบกระถินมีปริมาณโปรตีนที่สูงจากรายงานการวิจัยต่างๆ รายงานว่า ใบกระถินมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 21-26 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 3) และมีปริมาณกรดอะมิโนโดยเฉพาะ ไลซีน ที่สูงเท่ากับ 1.10 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 4)

ตาราง 3 ตัวอย่างการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระถิน

	วัตถุแห้ง (%)	โปรตีน (%)	เยื่อใย (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)
Gohl, 1975	NA	21.0	18.1	6.5	8.4
Cheva-Isarakul, 1982	89.9	26.0	11.2	8.8	8.5
El hassan et al., 2000	90.8	NA	NA	NA	NA

ที่มา: Gohl, 1975

Cheva-Isarakul, 1982

El hassan et al., 2000

NA = Data not available

ตาราง 4 ปริมาณของกรดอะมิโนในใบกระถินจากการศึกษาวิจัยของ Ter Meulen, et al., 1979

Amino acid	%DM
Lysine	1.10
Methionine	0.28
Tryptophan	0.20
Threonine	0.80

ไมโมซีนในใบกระถิน

สารไมโมซีน (mimosine) พบได้ในพืชตระกูลถั่วเขตร้อนโดยเฉพาะถั่วยืนต้นสกุล *Leucaena* แต่ปริมาณจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น *L. leucocephala* มีสารชนิดนี้เกือบทุกส่วนของต้นพืช โดยปริมาณแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆ และอายุการเจริญเติบโต กระถินพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกกันในปัจจุบันจะมีปริมาณไมโมซีน อยู่ในระดับใกล้เคียงกันคือ 3-5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง

ตาราง 5 ปริมาณไมโมซีนที่พบในส่วนต่าง ๆของกระถิน

	ปริมาณไมโมซีน (%)
ใบอ่อนที่อยู่ปลายใบ	5
ใบแก่	2
ดอก	4
ฝักอ่อน	0.8
เมล็ด	4

ที่มา: วิเชียร เกรียงสุวรรณ, 2520

ปัญหาความเป็นพิษของสารไมโมซีนต่อสัตว์กระเพาะรวมมักเกิดขึ้นน้อย เนื่องจากเมื่อสัตว์เคี้ยวกระถิน เอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์จะถูกปลดปล่อยออกมา ทำให้การเปลี่ยนสารไมโมซีนไปเป็นสาร DHP (dihydroxypyrimidine) ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ของไมโมซีนที่กินเข้าไปมีการเปลี่ยนแปลงก่อนถึงกระเพาะรูเมน (Lowry, et al.,1983) เมื่อกระถินที่ถูกเคี้ยวผ่านมาถึงกระเพาะรูเมน ส่วนของไมโมซีนที่เหลือมีการเปลี่ยนไปเป็นสาร DHP จนหมดในช่วงเวลาสั้นๆ โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน แต่ถ้าสัตว์กินกระถินที่ตากแห้ง เอนไซม์ภายในเซลล์พืชจะถูกทำลาย ทำให้การเปลี่ยนไมโมซีนไปเป็น DHP เกิดภายในกระเพาะรูเมนเท่านั้น ดังนั้นจึงพบว่าสัตว์ที่กินใบกระถินแห้งมีการขับสารไมโมซีนออกมาทางปัสสาวะมากกว่าปกติ แต่ในกรณีที่สัตว์เคยได้กินกระถินสดหรือแห้งมาแล้วจะขับออกในรูปสาร DHP เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มที่เปลี่ยนสารไมโมซีนไปเป็นสาร DHP มีการเพิ่มจำนวนประชากรที่เพียงพอต่อการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าว ด้วยเหตุนี้จึงพบว่าสัตว์ที่กินกระถินครั้งแรกจะมีอาการขนหางร่วงเนื่องจากสารพิษไมโมซีน อาการของสัตว์ที่กินกระถินในปริมาณมากเป็นเวลานาน จะมีการหลั่งน้ำลายมากกว่าปกติ เกิดอาการคอพอก ระดับไทรอกซินในซีรัมต่ำลง เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวไม่เพิ่มหรืออาจลดลง เกิดแผลในกระเพาะอาหารและกระเพาะรูเมน มีแผลถลอกตามร่างกาย ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ลดลง ร่างกายอ่อนแอ ถ้าเป็นลูกโคจะมีน้ำหนักตัวเบากว่าปกติ และตายในที่สุด แต่อย่างไรก็ดี พบว่าสัตว์กระเพาะรวมที่แสดงอาการเป็นพิษเนื่องจากการกินกระถินมีน้อยมาก แต่มักมีระดับไทรอกซินต่ำ สาเหตุของอาการเหล่านี้เป็นผลมาจาก DHP ถูกดูดซึมเข้าทางกระแสเลือดซึ่งไปรบกวนการทำงานของต่อมไทรอยด์ โดยไปรบกวนการจับตัวของสารอินทรีย์กับไอโอดีนทำให้ไม่สามารถสร้างฮอร์โมนไทรอกซินได้ ต่อมไทรอยด์จึงถูกกระตุ้นให้สร้างฮอร์โมนไทรอกซินมากขึ้น ก่อให้เกิดอาการคอพอกและเนื่องจากสารไมโมซีน มีผลไปขัดขวางและยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกาย นอกจากนี้สัตว์กระเพาะเดี่ยวถ้ากินใบกระถินป่นมากกว่า 5-10 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหารจะทำให้มีการเจริญเติบโตช้าลง ขนร่วง อัมพาต และเป็นต้อกระจกได้ และถ้าได้รับปริมาณไมโมซีนมากเกินไปอาจทำให้สัตว์ตายได้

การใช้ใบกระถินเป็นอาหารสัตว์

1. **การใช้ใบกระถินในสัตว์ปีก**

การศึกษาการใช้ประโยชน์ของใบกระถินในไก่จะมีการใช้ใบกระถินผสมลงในอาหารประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการศึกษาของ Labadan (1969) รายงานว่า ไก่กระทงที่ได้รับใบกระถินป่นผสมอาหารในระดับ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การเจริญเติบโตลดลงประมาณ 10 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากความเป็นพิษของไมโมซีน ในใบกระถินทำให้การเจริญเติบโตชะงัก

ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารลดลง และจากการศึกษาของ Lopez, et al., (1979) ทดลองการใช้ใบกระถินในอาหารไก่ที่ระดับ 5 10 และ20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลผลิตไข่ได้เทียบเท่ากับอาหารที่ไม่มีใบกระถินป่นผสม ส่วนที่ระดับ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลผลิตไข่ลดลง ชูพงษ์ ศรีวัฒนรชัย (2532) ทดลองใช้ใบกระถินแช่น้ำเป็นอาหารไก่กระทง ที่ระดับ 0 5 10 15 และ20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารพบว่า เมื่อระดับใบกระถินแช่น้ำในสูตรอาหารสูงขึ้น มีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการทดลองที่ได้รายงานมานี้การใช้ใบกระถินที่สูงขึ้นในสูตรอาหารของไก่จะทำให้อัตราการเจริญเติบโต และการให้ไข่ลดลง

2. **การใช้ประโยชน์ของใบกระถินเป็นอาหารสุกร**

ในอาหารของสุกรที่มีใบกระถินเป็นส่วนผสมจะทำให้ช่วยลดต้นทุนค่าอาหารลงได้ เนื่องจากสามารถหาได้ง่ายแต่ก็ยังมีข้อจำกัดในการใช้จากการศึกษาของ อุทัย พิสนต์ (2518) รายงานว่า สุกรน้ำหนัก 34 กิโลกรัมขึ้นไป สามารถใช้กระถินได้ 5-10 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาของสินชัย เรืองไพบูรณ์ (2527) รายงานว่า สามารถใช้ใบกระถินแช่น้ำเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารสุกรระยะเจริญเติบโตได้ถึง 15 เปอร์เซ็นต์ โดยที่อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่าใช้กระถินแห้งธรรมดาในระดับเดียวกัน การศึกษาของ พิชญ์วัตน์ แสนไชยสุริยา. (2528) รายงานว่า การใช้ใบกระถินแช่น้ำเป็นอาหารสุกรรุ่น ในระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารยังสามารถให้ผลผลิตเป็นที่น่าพอใจ และแตกต่างจากสุกรที่กินอาหารไม่ผสมใบกระถินอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

3. **การใช้ประโยชน์ของใบกระถินเป็นอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง**

ในอดีตมีการใช้ใบกระถินเป็นอาหารสัตว์มานานแล้วเนื่องจากในใบกระถินมีปริมาณโปรตีนที่สูงและสัตว์กระเพาะรวมจะแสดงอาการเป็นพิษจากสารไมโมซีนที่ต่ำกว่าสัตว์กระเพาะเดี่ยว ซึ่งจากรายงานของ จินดา สนิทวงศ์ และคณะ (2527) รายงาน การเปรียบเทียบการใช้ยูเรียและใบกระถินสดเพื่อเสริมโปรตีนในฟางข้าวของโคพันธุ์ อเมริกันบราห์มัน ไม่พบอาการเป็นพิษจากการกินใบกระถินสดติดต่อกันเป็นเวลา 364 วัน โดยการเสริมใบกระถินให้กินตอนเย็น โคกินใบกระถินได้ 3.78 กิโลกรัม หรือประมาณ 21 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งที่กินทั้งหมด พบว่าน้ำหนักเพิ่มตัวละ 0.25 กิโลกรัม ส่วนกลุ่มที่กินฟางข้าว เสริมด้วยยูเรีย 3 เปอร์เซ็นต์ และกากน้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักเพิ่มเพียง 0.13 กิโลกรัม/ตัว/วัน โดยการทดลองนี้แนะนำสูตรที่ให้ผลดีในการขุนโคในระยะสั้นๆ คือ ฟางข้าว ใบกระถินสด และมันหยาบคลุกมันเส้น ในอัตราส่วน 30:30:40 โคจะมีอัตราการเจริญเติบโต 0.76 กิโลกรัม/ตัว/วัน 40:30:30 และ25:25:50 มีอัตราการเจริญเติบโต 0.56 และ 0.68 กิโลกรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ จากรายงานของจินดา สนิทวงศ์ และคณะ (2528) ได้ทดลองใช้ใบกระถินแห้งเป็นแหล่งเสริมโปรตีนในอาหารมันสำปะหลังสำหรับกระบือ โดย

กระบือได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหลักเสริมด้วยอาหารข้นวันละ 3 กิโลกรัม พบว่าสามารถใช้ใบกระถินในสูตรอาหารข้นเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนได้สูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ของสูตรอาหาร โดยที่สัตว์ไม่แสดงอาการเป็นพิษ จากรายงานของ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล (2532) รายงานว่า การเสริมรำละเอียด 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ให้กับโคที่ได้รับฟางข้าว เสริมใบกระถินแห้ง 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณฟางข้าวที่กินได้ของกลุ่มที่ได้รับฟางข้าวปรุงแต่งกินอาหารหยาบต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารธรรมดาเสริมใบกระถินแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.4 และ 1.8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว) ซึ่งอาจเนื่องมาจากใบกระถินช่วยให้โปรตีน พลังงาน แร่ธาตุ และวิตามินให้แก่จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ จึงช่วยให้การย่อยอาหารดีขึ้น ทำให้สัตว์กินอาหารได้เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณโปรตีน และการย่อยได้ กลุ่มที่ได้รับฟางข้าวธรรมดาเสริมใบกระถินแห้งจะสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับฟางข้าวปรุงแต่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดจนนำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง กล่าวคือ กลุ่มที่ได้รับใบกระถินมีการเพิ่มน้ำหนักตัว 0.30 กิโลกรัม/ตัว/วัน ส่วนกลุ่มที่ได้รับฟางข้าวปรุงแต่งมีการเพิ่มน้ำหนักตัวเพิ่ม 0.23 กิโลกรัม/ตัว/วัน ดังนั้นถ้าให้ฟางข้าวธรรมดาเสริมด้วยใบกระถินแห้ง 0.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว และรำละเอียดอีก 1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว ทำให้สมรรถภาพการผลิตของโครุ่นสูงขึ้น

การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์ในสุกร

การหาค่าการย่อยได้ มีการศึกษาการทดลองกับตัวสัตว์โดยตรง และวิธีในห้องปฏิบัติการซึ่งมีดังนี้

1. **การศึกษาในตัวสัตว์ทดลอง**

การหาค่าการย่อยได้ในสัตว์ทดลอง แบ่งออกเป็น 2 วิธี (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล, 2532) ที่นิยมทำคือ conventional method และ indicator หรือ indirect method ซึ่งหลักการโดยทั่วไปทั้ง 2 วิธี คล้ายคลึงกัน แตกต่างแต่เพียงว่า วิธี conventional method จำเป็นต้องทราบปริมาณที่แน่นอนของอาหารที่กินและมูลที่ขับถ่ายออกมา ส่วนวิธีการ indirect method ไม่จำเป็นต้องทราบน้ำหนักที่แน่นอนของอาหารที่กิน และมูลที่ขับออกมา เพียงแต่ทราบความเข้มข้นของ indicator ในอาหารและในตัวอย่างมูลของสัตว์แต่ละตัว ซึ่งสัดส่วนของความเข้มข้นจะบ่งบอกถึงการย่อยได้ เช่น ถ้าสัดส่วนความเข้มข้นของ indicator ในอาหารเท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ และในมูลเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าอาหารนั้นถูกย่อยได้ 50 เปอร์เซ็นต์ การหาค่าการย่อยได้ของโปรตีนอาศัยการเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนที่ได้รับและที่เหลือจากการย่อยได้ทั้งระบบทางเดินอาหาร ผลต่างคือส่วนที่สูญหายในระบบการย่อยได้ ซึ่งอนุมานว่าสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ วิธีการดังกล่าวนี้เรียกว่า การศึกษาการย่อยได้ทั้งระบบทางเดินอาหาร ซึ่งการย่อยได้

ของโปรตีนจากวิธีการนี้เป็นผลรวมของกรดอะมิโนที่มาจากอาหารที่กินและส่วนที่ร่างกายขับออกมา เช่น เอนไซม์ เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร เยื่อเมือก และเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งรวมเรียกว่า เอ็นโดรจีนัสซับแสตน (endogenus substance) ซึ่งถ้านำปริมาณเอ็นโดรจีนัส ซับแสตน ไปหักออกจากโปรตีนหรือกรดอะมิโนที่พบทั้งหมดที่ปลายลำไส้ใหญ่ วิธีการศึกษานี้เรียกว่า การย่อยได้แท้จริงทั้งระบบทางเดินอาหาร (true fecal digestibility) (Whittemore, 1993)

2. **การศึกษาในห้องปฏิบัติการ**

การประมาณคุณค่าวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่เดิมต้องอาศัยระยะเวลา สัตว์ทดลอง และสถานที่ในการทดลองเพื่อทำการหาค่าการย่อยได้หรือใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร ซึ่งเป็นงานที่สิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายมาก จึงได้มีความพยายามวัดค่าการย่อยได้ของอาหาร โดยใช้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในห้องทดลองโดยจำลองให้เหมือนกับสภาวะที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นวิธีการที่เรียกว่า in vitro technique ในระยะแรกๆ เทคนิคที่ใช้ในการหาคุณค่าของวัตถุดิบของอาหารสัตว์หรือการย่อยได้ในห้องทดลองจะใช้ของเหลวจากกระเพาะรูเมนสำหรับหาคุณค่าของวัตถุดิบสำหรับสัตว์กระเพาะรวม และได้มีการศึกษาและปรับปรุงการย่อยได้ในห้องทดลองเพื่อหาคุณค่าของวัตถุดิบอาหารสัตว์หรือการย่อยได้ของโปรตีนในสัตว์กระเพาะเดี่ยว หาโดยอาศัยส่วนประกอบของอาหารที่อยู่ในกระเพาะอาหารและส่วนต่างๆ ของลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ รวมทั้งการศึกษาโดยการใช้ intestinal fluid (Clunies and Leeson, 1984) โดยการบ่มด้วยน้ำย่อยที่ได้จากลำไส้เล็กส่วนต่างๆ และการบ่มด้วยมูล จากรายงานของ Graham, et al., (1985) ได้ศึกษาเทคนิคการย่อยได้โดยวิธีการใช้ถุงไนล่อน ใส่ลงไปในท่อที่เจาะติดฝังลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม (duodenum) และการย่อยได้ในห้องทดลองโดยการใช้น้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนไอเลี่ยม (ilium) บ่มเป็นเวลา 60 ชั่วโมง โดยใช้สุกรหนัก 150 กิโลกรัม พบว่า วิธีการทั้งสองสามารถใช้ทำนายค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ แต่ไม่สามารถใช้ทำนายค่าการย่อยได้ของโปรตีนเนื่องจากค่าการย่อยได้ของโปรตีนจากทั้งสองวิธีให้ค่าที่มีค่ามากกว่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ *(in vivo* apparent fecal digestability) จากรายงานของ Graham, et al., (1989) ศึกษาการเปรียบเทียบการย่อยได้ในห้องทดลองโดยการใช้น้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม ไอเลี่ยม และจากมูล กับการย่อยได้สิ้นสุดที่ปลายลำไส้เล็กและทั้งระบบ พบว่า การย่อยได้ของโปรตีน เถ้า แป้ง พลังงาน และวัตถุแห้งจากวิธีการในห้องทดลองโดยการใช้น้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม มีค่าความสัมพันธ์กับการย่อยได้สิ้นสุดที่ปลายลำไส้เล็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนค่าที่ได้จากวิธีการในห้องทดลองโดยน้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วน ไอเลี่ยม และจากมูล พบว่ามีความสัมพันธ์ กับค่าการย่อยได้ทั้งระบบ ในกรณีการย่อยได้ของเยื่อใย พลังงาน และวัตถุแห้ง ส่วนโปรตีน และเถ้าไม่พบความสัมพันธ์ ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของเอ็นโดรจีนัส ซับแสตน ของจุลินทรีย์ในลำไส้ซึ่งรวมอยู่

ในมูล จากรายงานของ Lowgren, et al., (1989) ศึกษาการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการถึงอิทธิพลของน้ำย่อย โดยใช้น้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนปลาย และมูล บ่มอาหารสุกร รำละเอียด และกากซูการ์บีทพัลพ์ (sugar beet pulp) บ่มเป็นเวลา 96 ชั่วโมง มีผลทำให้ค่าการสูญหายของส่วนประกอบต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกันทั้ง 3 ส่วน ยกเว้นค่าการสูญหายของโปรตีน ซึ่งการบ่มด้วยน้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนต้นมีค่ามากกว่าการบ่มด้วยน้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนปลายและจากมูล นอกจากนี้พบว่าการบ่มด้วยน้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนต้น 24 ชั่วโมง การบ่มด้วยน้ำย่อยจากลำไส้เล็กส่วนปลาย 48 ชั่วโมง และการบ่มด้วยมูล 48 ชั่วโมง มีผลทำให้การละลายของวัตถุแห้งเท่ากับ 87.60 83.60 และ 91.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ