



อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

ก. อุปกรณ์

กล่องพลาสติกขนาด 7 x 10 x 5 ลบ.ซม. และขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม.

ตะขாயน์ลอน ขนาดตา 1 ตร.มม.

กระดาษอลูมิเนียมฟอยล์

ตะแกรงลอนทรายขนาดตา 0.25 ตร.มม.

กล้องจุลทรรศน์

เครื่องชั่งของ Sartorius ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ตู้อบของ Memmert

ตู้ปรับอุณหภูมิ (Incubator)

Spectrophotometer (Pye Unicam SP 500 series Mark II)

เครื่องวัดความชื้นซึ่งประดิษฐ์ขึ้นเอง (ภาคผนวก)

ข. การเก็บรวบรวมสัตว์ทดลอง

กึ่งกึ่งตัวแบนที่ใช้ทดลอง เก็บรวบรวมจากบริเวณพื้นที่สวนผักเขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ สัตว์ทดลองถูกนำไปเลี้ยงไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม. (กว้าง x ยาว x สูง) และใช้วัสดุรองพื้นเป็นดินจากบริเวณที่สืบสัตว์ทดลอง และใช้ปุยหมักผสมซากใบไม้เป็นอาหาร แต่ละกล่องที่ใช้เลี้ยงมีจำนวนสัตว์ทดลอง 25 ตัว ทำการเลี้ยงสัตว์ทดลองไว้ที่อุณหภูมิ 25^oซ เป็นเวลา 1 อาทิตย์ เพื่อให้สัตว์ทดลองปรับตัวเข้ากับสภาพกล่องเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการทดลองต่อไป

ค. การศึกษาข้อมูลการสืบพันธุ์ และอัตราการเจริญเติบโต

นำสัตว์ทดลองแยกเป็นเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 30 คู่ นำแต่ละคู่ไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 7 x 10 x 5 ลบ.ซม. หลังจากนั้นสังเกตการสืบพันธุ์และการวางไข่ ไข่กล้องจุลทรรศน์นับจำนวนไข่ แล้วนำไข่ไปฟักในกล่องพลาสติกขนาด 7 x 10 x 5 ลบ.ซม.

ตรวจดูการฟักตัว และการเจริญเติบโตของกิ่งกือตัวแบนจนเข้าสู่ระยะเต็มวัย (adult)

ง. การทดลองอิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้น

1. การทดลองเพื่อหาช่วงความทนทานต่ออุณหภูมิ

1.1 ความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ

นำสัตว์ทดลองที่โตเต็มวัย เพศผู้ ขนาดความยาวเฉลี่ย 1.9 ซม. น้ำหนักเฉลี่ย 56 มก. เพศเมีย ขนาดความยาวเฉลี่ย 2.2 ซม. น้ำหนักเฉลี่ย 75 มก. ใส่ลงในกล่องพลาสติกขนาด 7 x 10 x 5 ลบ.ซม. จำนวน 20 กล่อง กล่องละ 20 ตัว ภายในกล่องมีถุงใส่วัสดุดูดความชื้น (silica gel) เพื่อป้องกันอิทธิพลของความชื้นมาเกี่ยวข้อง นำกล่องทดลองเข้าตู้ปรับอุณหภูมิที่ 25^oซ แล้วลดอุณหภูมิครั้งละ 2^oซ ทุกครึ่งชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะอาการและพฤติกรรมของกิ่งกือทุกระดับอุณหภูมิที่ลด การสังเกตใช้วิธีส่องออกมาทีละ 2 กล่อง ต่ำเนินการทดลองจนกว่าสัตว์ทดลองจะตายหมด ก็จะได้ช่วงจำกัดความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ

1.2 ความทนทานต่ออุณหภูมิสูง

ปฏิบัติการทดลองแบบข้อ 1.1 แต่ทำการปรับอุณหภูมิให้สูงขึ้นครั้งละ 2^oซ เป็นการหาช่วงจำกัดความทนทานต่ออุณหภูมิสูง

กำหนดเงื่อนไขในการสังเกตเป็นตัวเลข 5 ระดับ ดังนี้คือ

- ปกติ เคลื่อนที่ได้เร็ว แทนด้วยเลข 4
- เคลื่อนไหวน้อยลง หรือหยุดอยู่กับที่ แทนด้วยเลข 3
- เกาะกลุ่มม้วนตัว ตอบสนองเล็กน้อยเมื่อถูกกระตุ้น แทนด้วยเลข 2
- ล้ม ไม่ตอบสนองเมื่อถูกกระตุ้น และเมื่อนำมาไว้ที่อุณหภูมิห้องจะฟื้นได้ แทนด้วยเลข 1
- ตาย แทนด้วยเลข 0

2. การทดลองอิทธิพลความชื้น

2.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลองให้มีระดับความชื้นต่าง ๆ กัน

นำทรายขนาดอนุภาค 0.2-0.5 มม. อบแห้งที่ 105^oซ แล้วชั่งทรายให้ได้น้ำหนัก 100 กรัม จำนวน 6 ชุด แต่ละชุดใส่ภาตซึ่งทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยด์ขนาด 6 x 6 x 2 ลบ.ซม. จากนั้นฉีดละอองน้ำลงในทรายให้ได้ความชื้นในแต่ละภาตเท่ากับ 0, 1, 5, 8, 10 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์ความชื้นคิดจากน้ำหนักน้ำต่อน้ำหนัก

ทรายแห้ง 100 กรัม (ดูภาคผนวกประกอบ) นำถาดทรายที่มีความชื้นต่าง ๆ ตามที่กำหนดข้างต้นทั้ง 6 ชุด วางรวมกันในกล่องพลาสติกขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม. แล้วนำเข้าตู้ปรับอุณหภูมิที่ 25^oซ

2.2 การสังเกตอิทธิพลของความชื้นต่อสัตว์ทดลอง

นำกิ้งกือตัวแบนใส่ลงในกล่องทดลองที่เตรียมไว้แล้วในข้อ 2.1 กล่องละ 25 ตัว สังเกตพฤติกรรมและนับจำนวนกิ้งกือบนผิวทรายที่ระดับความชื้นต่าง ๆ กัน เมื่อเวลาผ่านไป 1, 3, 6, 9 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

3. การทดลองอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและความชื้น

อบทรายให้แห้งที่อุณหภูมิ 105^oซ ซึ่งทรายให้ได้น้ำหนัก 100 กรัม จำนวน 6 ชุด ทำการทดลองในลักษณะเดียวกับข้อ 2.1 และ 2.2 แต่เพิ่มเงื่อนไขการทดลอง คือ ปรับอุณหภูมิในช่วงที่สัตว์ทดลองทนได้ 5 ระดับ ควบคุมกันไปกับความชื้นที่ต่างกัน 3 ระดับ ระดับต่าง ๆ ของทั้งอุณหภูมิและความชื้นที่สัตว์ทดลองทนได้นี้ หาได้จากผลการทดลองของข้อ 1 และ 2 การควบคุมระดับความชื้นในทราย ใช้เครื่องตรวจวัดความชื้นซึ่งสร้างขึ้นใช้เอง โดยตัดแปลงจากเครื่องเตือนสำหรับต้นไม้ (นุฎล กระจาย, 2525) และเครื่องวัดความชื้น 5 ระดับ (เรื่อง สัมบัติดี, 2526) รายละเอียดการสร้าง และวิธีการใช้งานอยู่ในภาคผนวกก. ถ้าวัดความชื้นได้ต่ำกว่าระดับที่กำหนดไว้ ก็ลดลงจนน้ำลงไปเพิ่ม

จ. การทดลองการย่อยสลายเศษวัสดุอินทรีย์

1. การเตรียมวัสดุอินทรีย์

วัสดุอินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ ใบหูกวาง ใบจามจุรี และกระดาษชำระอบวัสดุทั้ง 3 ชนิดนี้ให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 80^oซ เป็นเวลา 2-5 วัน ซึ่งน้ำหนักวัสดุแต่ละชนิดหนัก 10 กรัม แล้วบรรจุไว้ในตะกร้าท้าวด้วยตะข่ายไนลอน ขนาด 10 x 10 x 2 ลบ.ซม. จำนวนทั้งหมด 42 ชุด นำไปแบ่งใส่ลงในกล่องพลาสติกขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม.

2. การทดลองการย่อยสลายแบบไม่มีทรายรองพื้นภาชนะ

เป็นการทดลองย่อยสลายเศษวัสดุอินทรีย์แบบไม่มีทรายรองที่พื้นก้นกล่องพลาสติกที่ทดลองนั้น โดยที่ชุดทดลองถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีจำนวน 21 ชุด เท่า ๆ กัน สัตว์ทดลองนำลงบนวัสดุทดลองให้น้ำหนักหน้าต่อน้ำหนักวัสดุเป็น 2:1 เพื่อให้ความชื้นเพียงพอที่สัตว์ทดลองอยู่ได้โดยไม่ทำให้วัสดุเปียกชื้นมากเกินไปจนเกิดสภาพน้ำท่วมขัง ชุดทดลองซึ่งได้แบ่งไว้

ล่องกลุ่มนั้น กลุ่มแรกไม่ใส่กึ่งกึ่งตัวแบน เรียกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่ล่องจะใส่กึ่งกึ่งตัวแบนลงไป
ในแต่ละกล่อง จำนวน 30 ตัว และเรียกว่ากลุ่มทดลอง เตรียมชุดการทดลองเช่นนี้สำหรับวัลดู
อินทรีย์แต่ละชนิด กล่องทดลองทั้งหมดจะถูกนำไปไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25^o ความชื้น
สัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ และฉีดละอองน้ำลงบนวัลดูอินทรีย์ เพื่อทดแทนส่วนที่ระเหยทุกวัน ซึ่ง
อัตราการระเหยของน้ำจากวัลดูอินทรีย์ในห้องปฏิบัติการคือน้ำหนักน้ำที่หายไปต่อน้ำหนักวัลดูอินทรีย์

3. การทดลองการย่อยสลายแบบมีทรายรองพื้นภายนอก

เป็นการทดลองการย่อยสลายเศษวัลดูอินทรีย์แบบมีทรายใส่รองที่พื้นกันกล่องพลาสติก
ด้วย เพื่อทดลองเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพดินบางประการ ซึ่งเกิดจากอิทธิพลของสัตว์ทดลอง
การเตรียมชุดทดลองเหมือนกับชุดทดลองแบบที่ 1 แต่เพิ่มเงื่อนไขการทดลองคือ ใส่ทรายขนาด
อนุภาค 0.2-0.6 มม. ปริมาณ 600 กรัม ลงในแต่ละกล่องชุดทดลอง และให้ทรายมีความชื้น
ในระดับที่เหมาะสมกับสัตว์ทดลองซึ่งได้จากการทดลองในข้อ ง.

4. การตรวจวัดผล

4.1 การชั่งน้ำหนักแห้งของวัลดูอินทรีย์ในชุดทดลองทั้งหมดต่อเนื่องกัน จำนวน
7 ครั้ง ในช่วงระยะเวลาดังนี้คือ สัปดาห์ที่ 1, 2, 3, 4, 5, 7 และ 9 ตามลำดับ

4.2 การวิเคราะห์หีสัมบัติทางเคมีของเศษวัลดูอินทรีย์ ได้แก่

4.2.1 เพอร์เซนต์คาร์บอน โดยวิธี Walkley-Black

4.2.2 เพอร์เซนต์ไนโตรเจน โดยวิธี Kjeldahl Method

4.2.3 เพอร์เซนต์ฟอสฟอรัส โดยวิธี Vanado-Molybdate colorimetric Method

4.2.4 เพอร์เซนต์โปตัสเซียม โดยวิธี Cobaltinitrite colorimetric Method

4.3 การวิเคราะห์หีสัมบัติทางเคมีของทราย ได้แก่

4.3.1 เพอร์เซนต์คาร์บอน โดยวิธี Walkley-Black

4.3.2 เพอร์เซนต์ไนโตรเจน โดยวิธี Jackson (1973, Modified Kjaldahl Method)

4.3.3 เพอร์เซนต์ฟอสฟอรัส โดยวิธี Bray-Kurtz

4.3.4 เพอร์เซนต์โปตัสเซียม โดยวิธี Cobaltinitrite colorimetric Method

(รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ก.)

จ. การทดสอบทางสถิติ

สำหรับค่าตัวแปรที่วัดเพื่อแสดงผลการเปลี่ยนแปลงในข้อ จ. นั้น ถ้าความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองไม่ชัดเจน และผลของค่าที่ตรวจลอบมีความแปรปรวนมาก จะทดสอบด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) แบบจำแนกทางเดียว เพื่อหาว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่

ขั้นตอนการทดสอบ

$$SST = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - T^2/nk$$

$$SSA = \sum_{i=1}^k T_i^2/n - T^2/nk$$

$$SSE = SST - SSA$$

Y_{ij} ค่าของข้อมูลแต่ละตัว

T ผลรวมของข้อมูลทั้งหมด

T_i ผลรวมของข้อมูลแต่ละกลุ่ม

n จำนวนข้อมูลในแต่ละกลุ่ม

k จำนวนลักษณะการทดลอง (treatment)

SST ผลรวมกำลังสองของทั้งหมด

SSA ผลรวมกำลังสองของการทดลอง

SSE ผลรวมกำลังสองของค่าความคลาดเคลื่อน

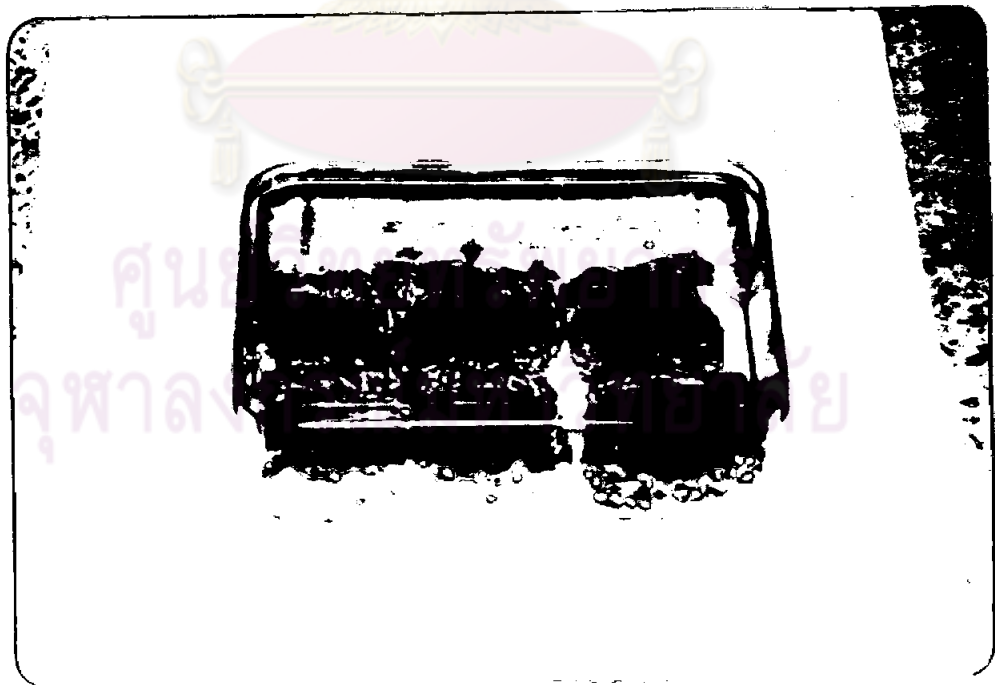
ผลรวมกำลังสอง	ชั้นแห่งความ เป็นอิสระ	ค่าเฉลี่ยผลรวม กำลังสอง	F
SSA	k-1	$S_1^2 = SSA/k-1$	$F = S_1^2/S_2^2$
SSE	n(k-1)	$S_2^2 = SSE/n(k-1)$	
SST	nk-1		



รูปที่ 2 ลักษณะของกิ่งกือตัวแบน ที่ทดลอง



รูปที่ 3 กล่องปิดผนึกด้วยฝาตะขอย้ายในลอน ใช้เสี้ยนกึ่งกึ่งตัวแบนขนาด 7 x 10 x 5 ลบ.ซม. บรรจุอยู่ในกล่องขนาด 10 x 20 x 7 ลบ.ซม.



รูปที่ 4 อุปกรณ์การทดลองอิทธิพลความชื้นในทรายต่อกึ่งกึ่งตัวแบน (กระถางทำด้วยกระดาษฟอยล์ขนาด 10 x 10 x 2 ลบ.ซม. พร้อมทราย 100 กรัม บรรจุในกล่องขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม.)



รูปที่ 5 อุปกรณ์การทดลองการย่อยสลายเค้กวาล์ดอินทรีย์แบบไม่มีทรายรองพื้นภาชนะ (ตะขாயในลอนขนาด 10 x 10 x 2 ลบ.ซม. บรรจุในกล่องขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม.)



รูปที่ 6 อุปกรณ์การทดลองการย่อยสลายเค้กวาล์ดอินทรีย์แบบมีทรายรองพื้นภาชนะ (ตะขாயในลอนขนาด 10 x 10 x 2 ลบ.ซม. และทรายปริมาณ 600 กรัม บรรจุในกล่องขนาด 15 x 20 x 7 ลบ.ซม.)



รูปที่ 7 เครื่องตรวจวัดความชื้นในดินซึ่งประดิษฐ์ขึ้นใช้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย