บทที่ 3

วิธีการศึกษาวิจัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัสดุอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในภาคสนาม

1.1 สายวัดและเสาสำหรับปักอาณาเขต

1.2 เชือก

1.3 ถุงพลาสติกและหนังยาง

1.4 ถุงตาข่ายไนลอน

1.5 พลั่วมือ

1.6 ปากคีบ

1.8 quadrat ขนาด 1x1 เมตร และขนาด 25x25 เซนติเมตร

1.9 เครื่องชั่งสปริง

1.10 กล้องถ่ายรูป

1.11 thermometer

1.12 thermohygrometer

1.13 soil tester

1.14 aicohol 70 %

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการชีวภาพ

2.1 ตะแกรงร่อนดินขนาด 2 มิลลิเมตร และขนาด 0.5 มิลลิเมตร

2.2 ครกบดดิน

2.3 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ

2.4 Tullgren funnel หรือ Berlese'funnel

2.5 ขวดสำหรับรองรับสัตว์ที่สกัดได้

2.6 หลอดสำหรับดองสัตว์ในดินขนาดใหญ่

2.7 Salt's filter funnel

2.8 กระดาษ Whatman เบอร์ 42

2.9 ปากกา label

2.10 กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา

2.11 ปากคีบ

2.12 พู่กัน

2.13 เครื่องชั่งไฟฟ้า

2.14 petridish

2.15 เข็มหมุด

2.16 กล้องถ่ายรูป

3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์เคมี

3.1 soil hydrometer ASTM (E 100 152 M)

3.2 pH meter (La Motte Model HA CODE 1906)

3.3 Semimicro-Kjeldahl-Method Apparatus

3.4 Spectrophotometer (spectronic 21)

3.5 Flame photometer (corning 4000)

3.6 Vacuum pump

3.7 Bucher suction

วิธีการดำเนินการศึกษา

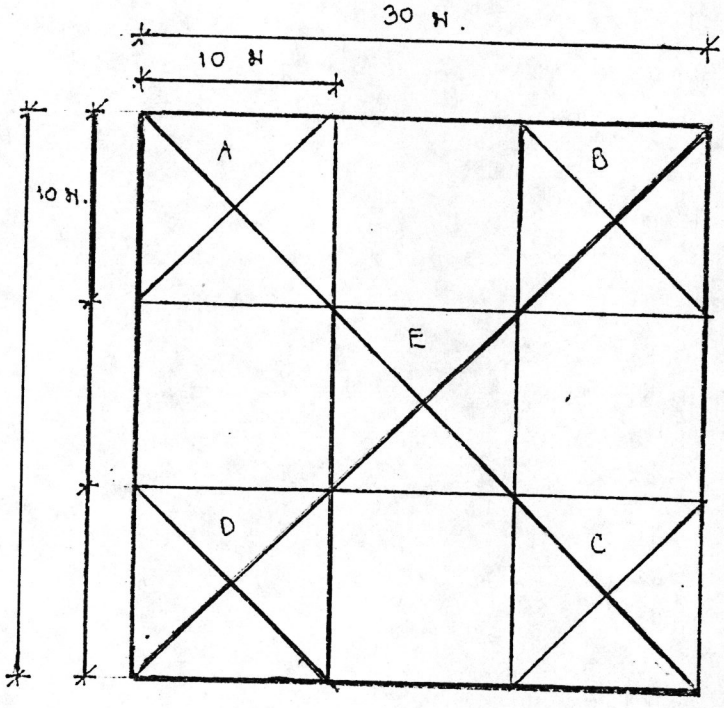
1. สถานที่ตั้ง

พื้นที่ที่ใช้ในการศึกษาเป็นสวนป่าสัก (Tectona grandis Linn.f)

ซึ่งเป็นป่าปลูก ตั้งอยู่ริมถนนทางหลวงหมายเลข 12 สายพิษณุโลก-หล่มสัก ใกล้บริเวณวัดอรัญวาศรีคีรีบรรพต หมู่ที่ 9 บ้านแก่งซอง ตำบลแก่งโสภา อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก

2. ลักษณะพื้นที่ทำการศึกษา

เป็นสวนป่าสัก ซึ่งปลูกโดยข้าราชการและประชาชนในจังหวัดพิษณุโลก เมื่อปี พ.ศ. 2509 สวนป่าสักนี้มีอายุ 26 ปี เมื่อเริ่มทำการศึกษาวิจัย มีการกระจายของต้นสักค่อนข้างสม่ำเสมอ ไม่ถูกรบกวนโดยมนุษย์ บริเวณข้างเคียงของสวนป่านี้เป็นบริเวณพื้นที่ของวัด ด้านหลังติดป่าละเมาะเชิงเขา สวนป่าสักนี้มีระยะการปลูก 4 x 4 เมตร ขนาดพื้นที่ที่ใช้ในการศึกษา 30 x 30 เมตร แบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 10 x 10 เมตร แล้วกำหนดแปลงย่อยเป็นบริเวณสำหรับสุ่มตัวอย่าง (A,B,C,D,E) ดังแสดงในรูปที่ 3.1 สำหรับดินบริเวณที่ทำการศึกษาวิจัย มีดินชั้นบนเป็นดินร่วนปนทราย ดินชั้นล่างเป็นดินเหนียวปนทราย (กรมพัฒนาที่ดิน, 2534)



รูปที่ 3.1 แสดงวิธีการกำหนดพื้นที่ ที่ใช้ในการศึกษาสวนป่าสัก จ.พิษณุโลก

รูปที่ 3.2 Salt's filter funnel

รูปที่ 3.3 พื้นที่ สวนป่าสัก อ.วังทอง จ. พิษณุโลก เมื่อเริ่มทำการศึกษา ในเดือน มิถุนายน 2535

3. ระยะเวลาในการเก็บรวบรวมข้อมูลภาคสนาม

เริ่มเก็บตัวอย่าง เดือนมิถุนายน 2535 - พฤษภาคม 2536 ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ เดือนเป็นเวลา 1 ปี โดยจะแบ่งเป็นช่วงฤดูกาลต่าง ๆ ดังนี้

- ฤดูฝน เริ่มเดือนพฤษภาคม - ตุลาคม เป็นระยะเวลา 6 เดือน
- ฤดูหนาว เริ่มเดือนพฤศจิกายน - มกราคม เป็นระยะเวลา 3 เดือน
- ฤดูร้อน เริ่มเดือนกุมภาพันธ์ - เมษายน เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. การรวบรวมข้อมูลภาคสนาม

1.1 ทำการวัดอุณหภูมิดิน ใช้ thermometer ปักลงไปในดินลึกประมาณ 10-15 ซม. ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วอ่านอุณหภูมิ

1.2 วัดอุณหภูมิผิวดิน วาง thermohygrometer บนผิวดินบริเวณที่ไม่มีแสงส่องลงมาโดยตรง ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วอ่านอุณหภูมิ

1.3 วัดอุณหภูมิเหนือผิวดิน 1 เมตร แขวน thermohygrometer กับต้นไม้สูงจากผิวดิน 1 เมตร ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วอ่านอุณหภูมิ

1.4 วัดความชื้นสัมพัทธ์ที่ผิวดิน โดยใช้ thermohygrometer วางไว้บนผิวดินทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วอ่านค่าความชื้นสัมพัทธ์

1.5 วัดความชื้นสัมพัทธ์เหนือผิวดิน 1 เมตร โดยแขวน thermohygrometer กับต้นไม้สูงจากผิวดิน 1 เมตร ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีแล้วอ่านค่าความชื้นสัมพัทธ์

1.6 การหาค่าความชื้นในดิน เก็บตัวอย่างดินจาก 5 แปลงย่อยที่กำหนดไว้รวมใส่หนึ่งถุง ชั่งน้ำหนักในขณะนั้น เป็นน้ำหนักสด แล้วนำกลับมาอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกมาชั่งเป็นน้ำหนักแห้ง แล้วจึงคำนวณหาเปอร์เซนต์ความชื้นในดิน

1.7 การหาค่าความชื้นในลิตเตอร์ เก็บตัวอย่างลิตเตอร์จาก 5 แปลงย่อยที่กำหนดไว้รวมใส่ในหนึ่งถุง แล้วดำเนินงานต่อเหมือนหาค่าความชื้นในดิน

รูปที่ 3.4 การวัดอุณหภูมิดินโดยใช้ thermometer และการวัด pH ของดินโดยใช้ soil tester

รูปที่ 3.5 การวัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศโดยใช้ thermohygrometer

1.8 การหาปริมาณของลิตเตอร์สะสม โดยเก็บลิตเตอร์ที่ปกคลุมผิวดินในพื้นที่ 1 x 1 เมตร ของแต่ละแปลงย่อยที่กำหนดแล้วทำการชั่งน้ำหนัก เป็นน้ำหนักสด แล้วจึงนำไปคิดหาน้ำหนักแห้งจากค่าความชื้นในลิตเตอร์

1.9 การเก็บรวบรวมสัตว์ในดินขนาดใหญ่ (macro-soilfauna) วาง quadrat ขนาด 1 x 1 เมตร ลงในแปลงย่อยที่กำหนดใช้ปากคีบและพลั่วมือคุ้ยหาสัตว์ทั้งในดินและในลิตเตอร์ ที่มองเห็นด้วยตาเปล่าจับดองด้วยแอลกอฮอล์ 70 % จนหมด ทำเหมือนกันทั้ง 5 แปลงย่อย

1.10 การเก็บรวบรวมสัตว์ในดินขนาดกลาง (meso-soilfauna) วาง quadrat ขนาด 25x25 เซนติเมตร ในแปลงย่อยที่กำหนดแล้วเก็บลิตเตอร์และดินลึกประมาณ 5 เซนติเมตร ใส่ถุงนำมาสกัดในห้องปฏิบัติการ

1.11 การทดลองการย่อยสลายลิตเตอร์ โดยใช้วิธี Litter - bag method นำใบสักที่ร่วงหล่นจากบริเวณที่ทำการศึกษา โดยเลือกใช้ใบสักที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์นำไปล้างให้สะอาดแล้วจึงนำไปผึ่งให้แห้ง ต่อมานำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำตาข่ายไนล่อนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของแต่ละช่อง 1 ซม. มาเย็บเป็นถุงขนาด 25 x 25 ซม. จำนวน 25 ถุง เตรียมไว้เพื่อบรรจุใบสักที่อบแห้งแล้วถุงละ 25 กรัม เพื่อนำไปฝังในแต่ละแปลงย่อย การฝังถุงลิตเตอร์โดยการนำถุงตาข่ายไนล่อนที่ภายในบรรจุลิตเตอร์สักถุงละ 25 กรัม เย็บปิดถุงให้สนิท นำไปฝังตามจุดที่กำหนดไว้ ในแต่ละแปลงย่อยทั้ง 5 แปลงโดยฝังที่ระดับผิวดิน เกลี่ยใบสักที่อบแล้วในถุงให้กระจายออกไป เพื่อให้มีลักษณะคล้ายใบสักแห้งที่ร่วงหล่นทับถมลงบนพื้นดินตามธรรมชาติ วิธีในการฝังถุงลิตเตอร์

แบบที่ 1 โดยการฝังถุงลิตเตอร์สักครั้งเดียวในตอนเริ่มต้น แล้วติดตามผลตลอดทั้งปี โดยฝังทั้ง 3 ชุด ชุดละ 5 ถุงซึ่งเป็นตัวแทนของการย่อยสลายในแต่ละฤดู โดยให้แต่ละชุดเป็นตัวแทนของการย่อยสลายในฤดูฝน ฤดูหนาว ฤดูร้อน ตามลำดับ โดยฝังพร้อมกันเมื่อเริ่มการทดลอง และจะเก็บแต่ละชุดเมื่อสิ้นสุดในแต่ละฤดูกาล

แบบที่ 2 โดยการฝังถุงลิตเตอร์สักแต่ละชุดเมื่อเริ่มต้นในแต่ละฤดูกาล

โดยฝังเมื่อเริ่มทำการศึกษาเพื่อเป็นตัวแทนของการย่อยสลายในฤดูฝนเป็นเวลา 4 เดือน จึงฝังอีก 1 ชุด เพื่อเป็นตัวแทนของการย่อยสลายในฤดูหนาวเป็นระยะเวลา 4 เดือน แล้วจึงฝังชุดสุดท้ายเพื่อเป็นตัวแทนการย่อยสลายของฤดูร้อนเป็นเวลา 4 เดือน

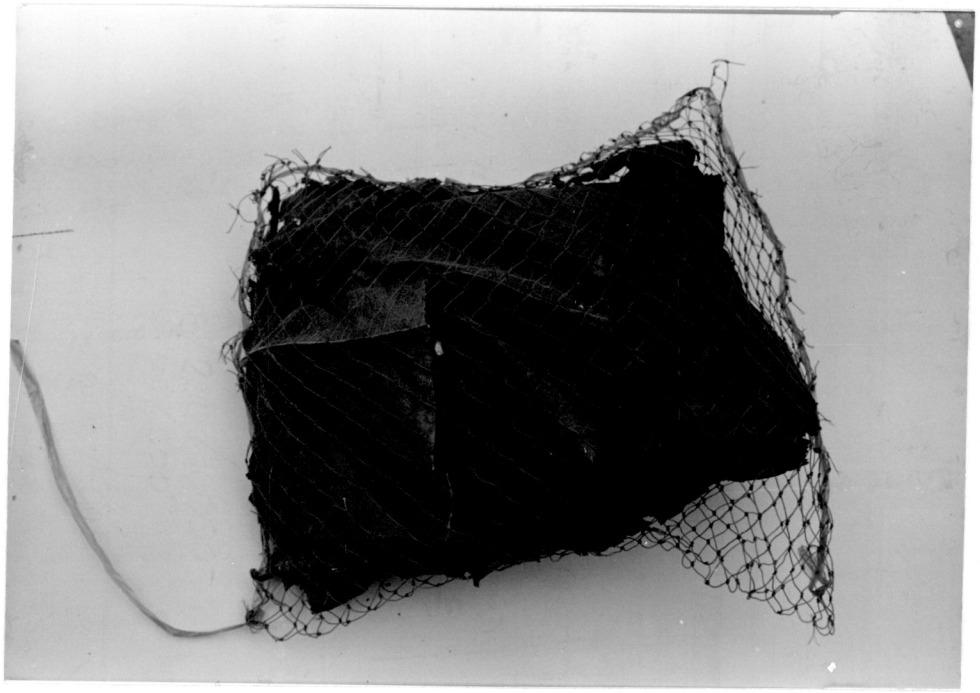
- ระยะเวลาที่ทำการฝัง เริ่มทำการฝังถุงลิตเตอร์ชุดแรก 15 ถุง ประมาณเดือนมิถุนายน พ.ศ.2535 โดยฝังตามจุดที่กำหนดในแต่ละแปลงย่อย ทั้ง 5 แปลง แปลงละ 3 ถุง โดยกำหนดให้ระยะเวลาในการฝังของแต่ละฤดูเป็นเวลา 4 เดือน

- การเก็บถุงลิตเตอร์ ทำการเก็บถุงลิตเตอร์ชุดแรกประมาณปลายเดือนกันยายน พ.ศ.2535 โดยใช้เป็นตัวแทนของการย่อยสลายในฤดูฝนของทั้ง 2 แบบ การเก็บถุงลิตเตอร์ขึ้นมาจากที่ฝัง จะใช้พลั่วค่อย ๆ ขุดขึ้นมาปัดเศษดินที่ปกคลุมออก นำถุงลิตเตอร์ใส่ถุงพลาสติกเพื่อไปสกัดสัตว์ในดินออกโดยใช้ Tullgren funnel เพื่อหาสัตว์ในดินในถุงลิตเตอร์ หลังจากนั้นนำมาหาอัตราการย่อยสลายลิตเตอร์ในห้องปฏิบัติการ เก็บถุงลิตเตอร์ชุดที่ 2 ประมาณปลายเดือน กุมภาพันธ์ 2536 เพื่อใช้เป็นตัวแทนของการย่อยสลายในฤดูหนาว และเก็บถุงลิตเตอร์ชุดสุดท้ายประมาณปลายเดือนพฤษภาคม 2536

2. การดำเนินการในห้องปฏิบัติการชีวภาพ

2.1 การศึกษาสัตว์ในดินขนาดใหญ่ (macro - soilfauna) นำตัวอย่างสัตว์ในดินขนาดใหญ่ที่เก็บจากภาคสนาม มาจำแนกชนิด นับจำนวน และนำไปอบเพื่อหาน้ำหนักแห้ง(มวลชีวภาพ)ของสัตว์ในดินขนาดใหญ่

2.2 การศึกษาสัตว์ในดินขนาดกลาง (meso - soilfauna) นำดินที่เก็บจาก quadrat ขนาด 25 x 25 เซนติเมตรจากแปลงย่อยที่กำหนดไว้ นำมาใส่เครื่อง Tullgren funnel โดยใช้ไฟ 40 Watt เพื่อสกัดสัตว์ในดินขนาดกลางออกจากดิน ในทางปฏิบัติถือว่าพวกที่ลอดตะแกรงที่เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มม. ของเครื่องมือจัด เป็นสัตว์ในดินขนาดกลาง ใช้เวลาในการสกัดประมาณ 5-7 วัน พอครบกำหนดนำสัตว์ในดินขนาดกลางที่สกัดได้ในขวดที่ใส่ alcohol 70% มากรองโดยใช้ Salt's filter funnel ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 แล้วจึงนำมา



รูปที่ 3.6 ถุงลิตเตอร์สีกก่อนนำไปฝัง

รูปที่ 3.7 การสกัดสัตว์ในดินขนาดกลางโดยใช้ Tullgren funnel

จำแนกชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์ 2 ตา และนับจำนวน

2.3 การศึกษาการย่อยสลายของลิตเตอร์ นำลิตเตอร์ที่สกัดสัตว์ในดินออกแล้ว (การสกัดหาสัตว์ในดินเหมือนในข้อ 2.2) ไปล้างน้ำเอาเศษดินออกโดยผ่านตะแกรงตาถี่ขนาด 2 มม. เพื่อป้องกันเศษเล็กๆของลิตเตอร์ร่วงหล่นไป นำลิตเตอร์ไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง จะได้น้ำหนักของลิตเตอร์ที่เหลือแล้วจึงนำไปหักออกจากน้ำหนักแห้งของลิตเตอร์ที่ใส่ถุงตาข่ายก่อนนำไปฝัง จะเป็นน้ำหนักของลิตเตอร์ที่ถูกย่อยสลายไปในช่วงเวลาที่กำหนด คำนวณหาอัตราการย่อยสลายลิตเตอร์เป็นร้อยละ

$$\text{อัตราการย่อยสลายของลิตเตอร์(\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของลิตเตอร์ที่หายไปในช่วงเวลาที่กำหนด} \times 100}{\text{น้ำหนักลิตเตอร์แห้งเมื่อเริ่มต้น}}$$

2.4 การหาค่าความชื้นของดิน (% water content of soil) เก็บดินตัวอย่างจากบริเวณที่ทำการศึกษามาชั่งน้ำหนักสดในห้องปฏิบัติการ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักแห้ง แล้วนำมาคำนวณ

$$\text{ค่าความชื้นของดิน} = \frac{(\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}) \times 100}{\text{น้ำหนักแห้ง}}$$

2.5 การหาค่าความชื้นของลิตเตอร์(%water content of litter) โดยหาน้ำหนักสดของลิตเตอร์ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อหาน้ำหนักแห้ง แล้วคำนวณหาค่าความชื้นของลิตเตอร์

3. การดำเนินงานในห้องปฏิบัติการเคมี

3.1 การหาสัดส่วนอนุภาคของดิน โดยวิธี Hydrometer method ASTM (E 100) 152H (Day,1950)

3.2 การวัด pH โดยใช้ 0.01 M.$CaCl_2$ เป็นตัวทำละลายแล้วนำไปวัด pH ด้วย pH meter(La Motte Model HA CODE 1906)(Mclean,1982

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การหาความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนบวกของดิน (cation exchange capacity) โดยใช้วิธี distillation for adsorbed ammonium (Rhoades,1982)

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณของอินทรียวัตถุ (organic matter) โดยวิธี wet oxidation ของ Walkley and Black (Nelson และ Sommers, 1982)

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) โดยวิธี semimicro Kjeldahl method (Bremer และ Mulvaney,1982)

3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส โดยวิธี phosphorus soluble in dilute hydrochloric acid and sulfuric acid วัดปริมาณด้วยเครื่อง spectrophotometer(spectronic 21) (Olsen และ Sommers,1982)

3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณของโปตัสเซียม โดยวิธีNCR-13 exchangeable potassium procedure ซึ่งวัดปริมาณโดยใช้ flame photometer (corning 4000) (Knudsen และคณะ ,1982)

3.8 การวิเคราะห์หาปริมาณของแคลเซียมและแมกนีเซียม โดยวิธี EDTA-tritration (Page และคณะ,1982)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

1. เปรียบเทียบสัตว์ในดิน ด้านจำนวน ชนิด และมวลชีวภาพในรอบ 1 ปี
2. เปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารพืชในดิน ในรอบ 1 ปี
3. แสดงอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลต่อความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์ในดิน และปริมาณธาตุอาหารพืชในดิน
4. แสดงอิทธิพลของสัตว์ในดินที่มีต่อการเพิ่มธาตุอาหารพืช
5. แสดงชนิดของสัตว์ในดินที่มีความเด่นในสวนป่าสัก

6.แสดงดัชนีความหลากหลายของชนิดสัตว์ในดิน (Index of species diversity)

ค่า Shannon - Wiener diversity index

$$\bar{H} = - \Sigma P_i \log P_i$$

เมื่อ $P_i = n_i/N$

n_i = จำนวนตัวหรือมวลชีวภาพของสัตว์ในดินแต่ละชนิด

N = จำนวนตัวหรือมวลชีวภาพของสัตว์ในดินทุกชนิดรวมกัน

7. เปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายลิตเตอร์ตามช่วงฤดูกาลต่าง ๆ ในรอบปี

8. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ของข้อมูลที่ได้จากก่อนการทดลอง และหลังการทดลองในช่วงฤดูกาลต่าง ๆ ในรอบปี