

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### วัสดุอุปกรณ์

##### 1. อุปกรณ์ในภาคสนาม

- 1.1 สายวัด
- 1.2 ถุงพลาสติกเก็บเศษซากพืชขนาด 20x25 เซนติเมตร
- 1.3 ถุงถุงพลาสติกเก็บตัวอย่างดินขนาด 10x18 เซนติเมตร
- 1.4 อุปกรณ์เก็บเศษซากพืช (litter trap) เส้นผ่าศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร
- 1.5 ถุงตาข่ายไนล่อนใส่เศษซากพืช (litter bag) ขนาด 50x50 เซนติเมตร
- 1.6 เครื่องชั่ง
- 1.7 เครื่องมือเก็บตัวอย่างดิน (Cylindrical soil auger)
- 1.8 พลั่วมือ

##### 2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- 2.1 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการชีวภาพ
  - 2.1.1 เครื่องแยกสกัดสัตว์ในดิน (Tullgren's funnel)
  - 2.1.2 ขวดสำหรับรองรับสัตว์ในดินที่สกัดได้
  - 2.1.3 เครื่องกรองสัตว์ในดิน (Salt's funnel filter)
  - 2.1.4 กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา
  - 2.1.5 จานเพาะเชื้อ
  - 2.1.6 ปากคิบ
  - 2.1.7 แอลกอฮอล์ 70 %
  - 2.1.8 เข็มเย็บ
  - 2.1.9 ตู้อบความชื้น
  - 2.1.10 เครื่องชั่งละเอียด

## 2.2 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการเคมี

### 2.2.1 โกร่งบดดิน

### 2.2.2 ครอบอกพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน

### 2.2.3 ตะแกรงร่อนดิน ขนาด 0.2 มิลลิเมตรและขนาด 0.5 มิลลิเมตร

### 2.2.4 กระจายกรองวัดแมน เบอร์ 4

### 2.2.5 กระจายกรองวัดแมน เบอร์ 5

### 2.2.6 กระจายกรองวัดแมน เบอร์ 42

### 2.2.7 เครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์

### 2.2.8 สารเคมี

## 3.เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี

3.1 pH meter : Orion ; SA 520

3.2 เครื่องชั่งละเอียด : Sartorius ; 4050

3.3 Spectrophotometer : ultrospec ; 4050

3.4 Kjeldahl - Method Apparatus : Buchi ; 435

3.5 เครื่องเขย่า : Vortex ; Genies 2

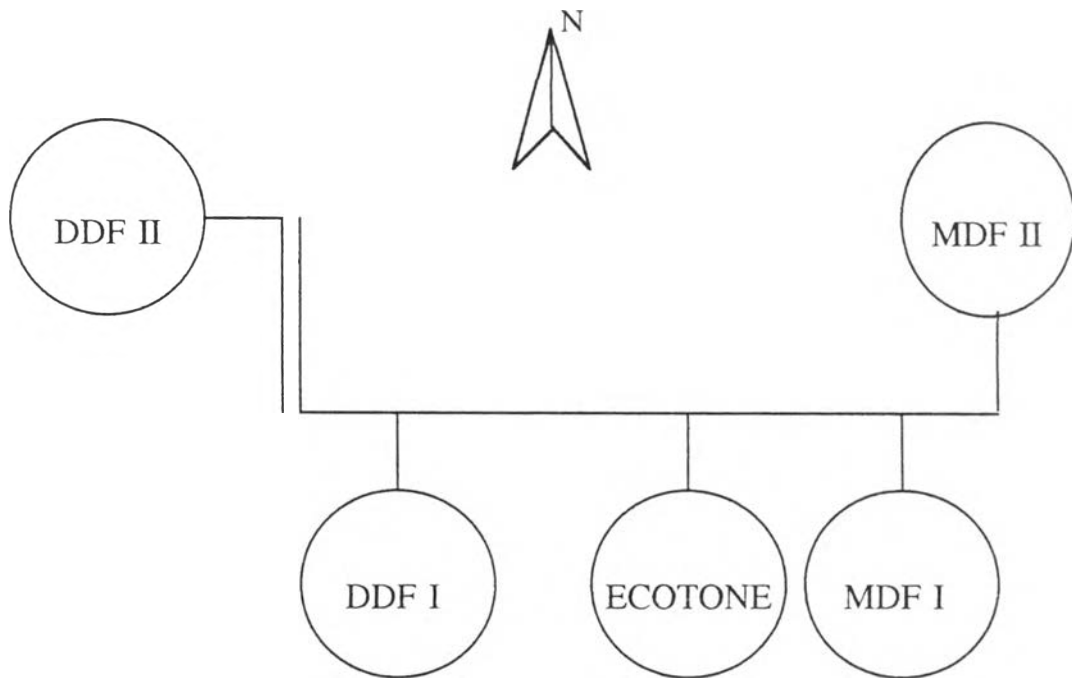
## วิธีการ

### 1.ภาคสนาม

สถานที่ทำวิจัย เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง อ่างเอกลานสัก จังหวัดอุทัยธานี โดยมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

#### 1.1 การสำรวจแปลงตัวอย่างสำหรับงานวิจัย

เลือกแปลงตัวอย่างในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง โดยหาลักษณะพื้นที่ที่เหมาะสม คือ บริเวณพื้นที่ป่าผลัดใบที่มีสภาพเป็นพื้นที่ราบสม่ำเสมอ มีลักษณะทางโครงสร้างและความหลากหลายของชนิดพันธุ์ที่แตกต่างกันจำนวน 5 แปลง โดยแต่ละแปลงตัวอย่างมีลักษณะเป็นวงกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เมตร ดังแสดงในแผนภูมิที่ 4



แผนภูมิที่ 4 แผนที่แปลงตัวอย่างในระบบนิเวศป่าผลัดใบ ในเขตรักษาพันธุ์ป่า  
ห้วยขาแข้ง จังหวัดอุทัยธานี

## โดยที่

DDF I คือ ระบบนิเวศป่าเต็งรัง แปลงที่ 1 ตั้งอยู่ที่เส้นรุ้งที่ 15 องศา 31 ลิปดา 47 ฟลิปดาเหนือ และเส้นแวงที่ 99 องศา 17 ลิปดา 60 ฟลิปดาตะวันออก

DDF II คือ ระบบนิเวศป่าเต็งรัง แปลงที่ 2 ตั้งอยู่ที่เส้นรุ้งที่ 15 องศา 31 ลิปดา 46 ฟลิปดาเหนือ และเส้นแวงที่ 99 องศา 17 ลิปดา 58 ฟลิปดาตะวันออก

ECOTONE คือ บริเวณรอยต่อระหว่างระบบนิเวศป่าเต็งรัง แปลงที่ 1 และระบบนิเวศป่าเบญจพรรณ แปลงที่ 1 ตั้งอยู่ที่เส้นรุ้งที่ 15 องศา 31 ลิปดา 51 ฟลิปดาเหนือ และเส้นแวงที่ 99 องศา 17 ลิปดา 63 ฟลิปดาตะวันออก

MDF I คือ ระบบนิเวศป่าเบญจพรรณ แปลงที่ 1 ตั้งอยู่ที่เส้นรุ้งที่ 15 องศา 31 ลิปดา 54 ฟลิปดาเหนือ และเส้นแวงที่ 99 องศา 17 ลิปดา 71 ฟลิปดาตะวันออก

MDF II คือ ระบบนิเวศป่าเบญจพรรณ แปลงที่ 2 ตั้งอยู่ที่เส้นรุ้งที่ 15 องศา 31 ลิปดา 45 ฟลิปดาเหนือ และเส้นแวงที่ 99 องศา 17 ลิปดา 96 ฟลิปดาตะวันออก

## 1.2 การวางเครื่องมือดักเก็บเศษซากพืช

ในแต่ละแปลงทดลองจะทำการติดตั้งเครื่องมือดักเก็บเศษซากพืช ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 เมตร ตั้งสูงจากพื้นดิน 0.5 เมตร จำนวน 20 ชุด โดยใช้วิธีการวางแบบสุ่มอย่างมีระบบ (Systematic random sampling) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 5 ทำการเก็บเศษซากพืชแล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาหาค่าหนักแห้ง ทุก 1 เดือน ตลอดฤดูกาลการผลัดใบเป็นเวลา 4 เดือน เริ่มตั้งแต่เดือน ธันวาคม พ.ศ.2538 สิ้นสุดเมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ.2539

## 1.3 การวางถุงเศษซากพืช

ในแต่ละแปลงทดลองจะทำการวางถุงเศษซากพืชจำนวน 20 ถุง โดยวิธีการวางแบบสุ่มอย่างมีระบบ (Systematic random sampling) เพื่อใช้สำหรับเก็บตัวอย่าง 4 ครั้ง ๆ ละ 5 ถุง โดยนำเศษซากพืชที่เก็บได้จากแปลงทดลอง ใส่ถุงในล่อนขนาดรูตาข่าย (mesh size) 2 มิลลิเมตร จำนวน ถุงละ 100 กรัม นำไปวางในจุดที่กำหนดในระดับผิวดิน เกลี่ยซากพืชภายในถุงให้กระจายออกไปใกล้เคียงกับเศษซาก พืชที่หล่นทับถมบนพื้นดินตามธรรมชาติ การเก็บถุงเศษซากพืชจะทำการเก็บทุก ๆ 2 เดือน โดยทำการเก็บถุงเศษซากพืชและดินที่อยู่ใต้ถุงเศษซากพืชลึก 5 เซนติเมตร โดยเริ่มเก็บถุงเศษซากพืชครั้งแรกเดือนมีนาคม พ.ศ. 2539 และทำการเก็บครั้งสุดท้ายเดือนกันยายน พ.ศ.2539

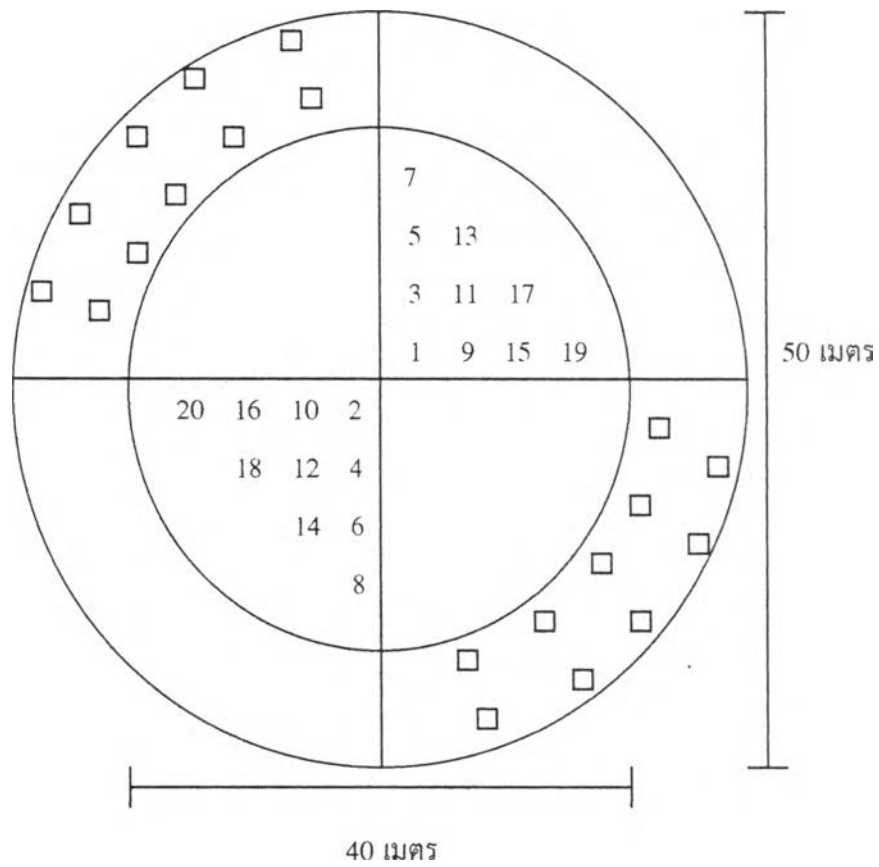
## 1.4 การเก็บตัวอย่างดิน

1.4.1 ก่อนวางถุงเศษซากพืชในแปลงทดลอง ใช้เครื่องเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร (top soil) และที่ระดับความลึก 20-40 เซนติเมตร (sub soil) โดยแต่ละแปลงทดลองจะทำการเก็บตัวอย่างดิน 5 ตัวอย่าง

1.4.2 หลังวางถุงเศษซากพืช ทุก ๆ 2 เดือน จะใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างดินใต้ถุงเศษซากพืชที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร และที่ระดับความลึก 20-40 เซนติเมตร

## 1.5 ข้อมูลสถานะทางกายภาพในพื้นที่ศึกษาทดลอง

ทำการวัดปริมาณความชื้น, ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ แต่ละเดือนตลอดเวลาที่ทำการศึกษา



แผนภูมิที่ 5 แผนที่การวางอุปกรณ์เก็บเศษซากพืชและถุงเศษซากพืช

**หมายเหตุ**

ตัวเลข หมายถึง อุปกรณ์เก็บเศษซากพืช

□ หมายถึง ถุงใส่เศษซากพืช

## 2. การศึกษาทางชีวภาพ

### 2.1 การวิเคราะห์ทางชีวภาพ

2.1.1 การศึกษาสัตว์ในดินขนาดกลาง (meso soilfauna) นำเศษซากพืชที่เก็บมาใส่เครื่องแยกสกัดสัตว์ในดิน (Tullgren's funnel) ที่มีตะแกรงเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร เพื่อสกัดสัตว์ในดินออกจากเศษซากพืชและดิน โดยใช้ขวดแอลกอฮอล์ 70 % รองรับ ใช้เวลาในการสกัด 5-7 วัน เมื่อครบกำหนดนำสัตว์ในดินที่สกัดได้มาจำแนกชนิดและนับประมาณความมากน้อย นำมาคำนวณหาค่าดัชนีความหลากหลายแซนนอน-เวียร์เนอร์ (Shannon-Wiener's Index) และค่าดัชนีความเหมือน (Index of Similarity) ระหว่างแปลง

2.1.2 การศึกษาการย่อยสลายของเศษซากพืช นำเศษซากพืชที่สกัดสัตว์ในดินออกแล้วไปล้างเอาเศษดินออกผ่านตะแกรงตาถึงขนาด 2 มิลลิเมตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง จะได้น้ำหนักของเศษซากพืชที่เหลือ แล้วนำไปหักออกจากน้ำหนักแห้งของเศษซากพืชที่ใส่ถุงตาข่ายก่อนนำไปฝัง น้ำหนักที่ได้จะเป็นน้ำหนักของเศษซากพืชที่ถูกย่อยสลายในช่วงเวลาที่กำหนด คำนวณหาอัตราการย่อยสลายเศษซากพืช ค่าคงที่การย่อยสลายเอ็กซ์โปเนนเชียล และช่วงระยะเวลาที่น้ำหนักเศษซากพืชหายไปครึ่งหนึ่ง

$$\text{จากสูตร} \quad \frac{X}{X_0} = e^{-kt}$$

$$\text{และ} \quad T_{1/2} = \frac{0.6931}{k}$$

- เมื่อ  $X_0$  = น้ำหนักของเศษซากพืชตอนเริ่มต้น  
 $X$  = น้ำหนักของเศษซากพืชเมื่อเวลาผ่านไป  $t$   
 $t$  = เวลาที่แตกต่างกันระหว่าง  $X$  และ  $X_0$   
 $T_{1/2}$  = ระยะเวลาที่เศษซากพืชถูกย่อยสลายไปครึ่ง  
 หนึ่ง  
 $k$  = ค่าคงที่การย่อยสลายเอ็กซ์โปเนนเชียล

## 2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

ดินตัวอย่างที่ปล่อยให้แห้งแล้วบดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร เพื่อนำมาวิเคราะห์

### 2.2.1 ปริมาณไนโตรเจนรวม

โดยวิธี Kjeldahl method (ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และคณะ , 2532)

### 2.2.2 ปริมาณฟอสฟอรัสรวม

โดยการสกัดด้วยสารละลาย Perchloric (SSSA , 1982)

### 2.2.3 ปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์

โดยวิธี Bray II (ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และคณะ , 2532)

### 2.2.4 ปริมาณอะลูมิเนียม

โดยวิธี Colorimetric method (ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และคณะ , 2532)

### 2.2.5 ความเป็นกรด - ด่าง (pH)

ใช้สัดส่วน ดิน : 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  เป็น 1 : 2

### 2.2.6 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ

โดยวิธี Walkley and Black (Jackson , 1958)



### 3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละชุดการทดลอง นำมาทดสอบความแตกต่างแต่ละชุดการทดลอง เพื่อทดสอบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกทางเดียว (One-Way Analysis of Variance) และการทดสอบค่าเฉลี่ยสำหรับสองกลุ่มตัวอย่าง (Testing Two Sample Mean) เพื่อสรุป

3.1 ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของอัตราการย่อยสลายระหว่างแปลง

3.2 ความแตกต่างของค่าคงที่การย่อยสลาย

3.3 ความแตกต่างของระยะเวลาครึ่งหนึ่งของการย่อยสลายเศษซากพืช

3.4 ความแตกต่างของปริมาณเศษซากพืชระหว่างแปลง

3.5 ความแตกต่างของความเป็นกรดเป็นด่าง, อะลูมินัม, อินทรีย์วัตถุ, ไนโตรเจนรวม, ฟอสฟอรัสรวม และฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

3.6 ความแตกต่างของดัชนีความหลากหลายของสัตว์ในดิน (Index of species diversity) โดยใช้ดัชนี แชนนอน-เวียเนอร์ (Shannon-Wiener 's Index) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$H = -\sum P_i \ln P_i$$

เมื่อ H = ดัชนีความหลากหลายแชนนอน-เวียเนอร์

$$P_i = \frac{n_i}{N}$$

$n_i$  = จำนวนตัวของสัตว์ในแต่ละชนิด

$N$  = จำนวนตัวของสัตว์ในดินทุกชนิดรวมกัน

3.7 ความแตกต่างของดัชนีความเหมือนระหว่างแปลง (Index of Similarity)  
โดยใช้ดัชนีของซอเรนเซ่น (Sorensen 's Index) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Sorensen 's Index (S)} = \frac{2 (C)}{A+B}$$

เมื่อ A = จำนวนชนิดที่พบในระบบนิเวศ A

B = จำนวนชนิดที่พบในระบบนิเวศ B

C = จำนวนชนิดที่พบร่วมกันระหว่างระบบนิเวศ A และระบบ  
นิเวศ B