

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในภาคสนาม

1.1 สายวัด

1.2 ถุงตาข่ายไนล่อนใส่เศษซากใบไม้ ขนาด 50 x 50 เซนติเมตร

1.3 เครื่องชั่ง

1.4 ถุงเก็บตัวอย่างดิน ขนาด 10 x 18 เซนติเมตร

1.5 เครื่องเก็บตัวอย่างดิน (Cylindrical soil auger)

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 กระดาษกรอง วัตแมน เบอร์ 42

2.1.5 กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา

2.1.6 เครื่องนับจำนวน

2.1.7 จานเพาะเชื้อ

2.1.8 พู่กัน

2.1.9 ปากคีบ

2.1.10 เข็มหมุด

2.1.11 ตู้บสำหรับควบคุมอุณหภูมิ

2.1.12 เครื่องชั่งละเอียด

2.1.13 แอลกอฮอล์ 70%

2.2 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการเคมี

2.2.1 โกร่งบดดิน

2.2.2 กระบอกลพลาสติกใส่ตัวอย่างดิน

2.2.3 ตะแกรงร่อนดินขนาด 2 มิลลิเมตร และ ขนาด 0.5 มิลลิเมตร

2.2.4 กระดาษกรอง วัดแมน เบอร์ 4

2.2.5 กระดาษกรอง วัดแมน เบอร์ 5

2.2.6 กระดาษกรอง วัดแมน 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 Centrifuge; Beckman

3.6 เครื่องเขย่า : Vortex; Genies 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. ภาคสนาม

สถานที่ทำวิจัย คือ สวนป่าแม่เมาะ ตำบลบ้านคง อำเภอแม่เมาะ จังหวัดลำปาง ซึ่งเป็นสวนป่าขององค์การอุตสาหกรรมป่าไม้ มีแปลงทดลองปลูกพืชในระบบวนเกษตรที่มีความหลากหลายดังนี้

1. สักชนิดเดียว

2. สักและซ้อ

3. สักและมะขาม

4. สัก มะขาม และขนุน

5. สัก มะขาม ขนุน และมะม่วงหิมพานต์

โดยมีขั้นตอนดำเนินการดังต่อไปนี้

1.1 วางแผนศึกษาการย่อยสลายเศษซากใบไม้

เลือกบริเวณพื้นที่ว่างที่มีสภาพพื้นที่เป็นพื้นราบสม่ำเสมอ ที่อยู่ในแปลงทดลองระบบวนเกษตรที่มีความหลากหลาย เพื่อวางแผนศึกษาการย่อยสลาย โดยใช้วิธีการทดลองแบบแฟคตอเรียล (Factorial experimental design) ซึ่งได้ชุดการทดลอง ที่จะต้องทำการทดลอง 17 ชุดการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับแปลงทดลองระบบวนเกษตรที่มีความหลากหลายดังนี้

ชุดการทดลองจำนวนชนิดเศษซากใบไม้

1 ชนิด	2 ชนิด	3 ชนิด	4 ชนิด
1. สัก	1. สัก+ซ้อ	1. สัก+มะขาม+ขนุน	1. สัก+มะขาม+ขนุน+มะม่วงหิมพานต์
2. ซ้อ	2. สัก+มะขาม		
3. มะขาม	3. สัก+ขนุน		
4. ขนุน	4. สัก+มะม่วงหิมพานต์		
5. มะม่วงหิมพานต์	5. ซ้อ+มะขาม		
	6. ซ้อ+ขนุน		
	7. ซ้อ+มะม่วงหิมพานต์		
	8. มะขาม+ขนุน		
	9. มะขาม+มะม่วงหิมพานต์		
	10. ขนุน+มะม่วงหิมพานต์		

ในแต่ละชุดการทดลอง จะวางถุงใส่เศษซากใบไม้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) โดยแต่ละชุดการทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 x 5 ถุงเพื่อใช้สำหรับเก็บตัวอย่าง 5 ครั้ง ๆ ละ 4 ถุง (ซ้ำ) โดยให้ถุงใส่เศษซากใบไม้ห่างกัน 1 เมตร นำเศษซากใบไม้ที่เก็บได้จากแปลงระบบวนเกษตรที่มีความหลากหลายใส่ถุงในลอนขนาดรูตาข่าย (Mesh size) 2 มิลลิเมตร หนัก 120 กรัม ในกรณีที่มีเศษซากใบไม้หลายชนิดจะใช้สัดส่วนแต่ละชนิดเท่ากัน

หลังจากเย็บปิดปากถุงให้สนิทแล้ว จะนำไปฝังตามจุดที่กำหนด โดยฝังที่ระดับผิวดิน เกือบเศษซากใบไม้ภายในถุงให้กระจายออกไปให้เศษซากใบไม้ภายในถุงใกล้เคียงกับเศษซากใบไม้ที่หล่นทับถมบนพื้นดินตามธรรมชาติ

เริ่มฝังถุงเศษซากใบไม้เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2535

1.2 การเก็บถุงเศษซากใบไม้

ทุก ๆ 2 เดือน จะทำการเก็บถุงเศษซากใบไม้และดินลึกประมาณ 5 เซนติเมตร แต่ละชุดการทดลองจำนวน 5 ถุง โดยการสุ่มตัวอย่างอิสระจนหมดในครั้งที่ 4 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

1.3 การเก็บตัวอย่างดิน

1.3.1 ก่อนฝังถุงเศษซากใบไม้

ในบริเวณแปลงศึกษาการย่อยสลายในข้อ (1.1) ใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างดินที่ระดับ 0 - 45 เซนติเมตร โดยแต่ละทริทเมนต์ทำการเก็บตัวอย่างดิน 5 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 85 ตัวอย่าง

1.3.2 หลังฝังถุงเศษซากใบไม้

ทุก ๆ 2 เดือน ที่เก็บถุงเศษซากใบไม้ จะใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างดินในจุดที่เคยฝังถุงเศษซากใบไม้ที่ได้เก็บไปแล้วที่ระดับความลึก 0 - 45 เซนติเมตร โดยแต่ละทริทเมนต์จะเก็บตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง

1.4 ข้อมูลสภาวะทางกายภาพ

ทุก ๆ ช่วงเวลาที่ทำการเก็บลงเศษซากใบไม้ จะทำการวัดความชื้นที่ผิวดิน โดยเครื่องมือวัดความชื้น และปริมาณน้ำฝนแต่ละเดือนตลอดระยะเวลาศึกษา

2. ในห้องปฏิบัติการ

2.1 ห้องปฏิบัติการทางชีวภาพ

2.1.1 การศึกษาสัตว์ในดินขนาดกลาง (soil mesofauna) นำเศษซากพืชที่เก็บจากข้อ (1.2) มาใส่เครื่องแยกสกัดสัตว์ในดิน (Tullgren's funnel) โดยใช้หลอดไฟกลม 40 วัตต์ เพื่อสกัดสัตว์ในดินขนาดกลางออกจากเศษซากใบไม้และดิน โดยใช้ขวดที่มีแอลกอฮอล์รองรับ ในทางปฏิบัติถือว่าสัตว์ในดินพวกที่ลอดผ่านตะแกรงที่เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรของเครื่องมือ จัดเป็นสัตว์ในดินขนาดกลาง ใช้เวลาในการสกัดประมาณ 5 - 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำสัตว์ในดินขนาดกลางที่สกัดได้ในขวดที่ใส่แอลกอฮอล์ 70% มากรองโดยใช้เครื่องกรองสัตว์ในดิน (Salt's funnel filter) ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 แล้วจึงนำมาจำแนกชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์ 2 ตา และนับจำนวนของแต่ละชนิด

2.2.2 การศึกษาการย่อยสลายเศษซากใบไม้ นำเศษซากใบไม้ที่สกัดสัตว์ในดินออกแล้วไปล้างเอาเศษดินออกผ่านตะแกรงตาถี่ขนาด 2 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันกันเศษเล็ก ๆ ของเศษซากใบไม้ร่วงหล่นไป นำเศษซากใบไม้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้งจะได้น้ำหนักของเศษซากใบไม้ที่เหลือ แล้วจึงนำไปหักออกจากน้ำหนักแห้งของเศษซากใบไม้ที่ใส่ลงตาข่ายก่อนนำไปฝัง น้ำหนักที่ได้จะเป็นน้ำหนักของเศษซากใบไม้ที่ถูกย่อยสลายไปในช่วงเวลาที่กำหนด คำนวณหาอัตราการย่อยสลายเศษซากใบไม้ และค่าคงที่ของการย่อยสลายเอ็กโพเนนเชียล

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

เมื่อ	X_0	=	น้ำหนักของเศษซากใบไม้ในตอนเริ่มต้น
	X	=	น้ำหนักของเศษซากใบไม้เมื่อเวลาผ่านไป t
	t	=	เวลาที่แตกต่างกันระหว่าง X_0 และ X
	K	=	ค่าคงที่ของการย่อยสลายเล็กโพเนนเชียล

2.2 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเคมี

ดินตัวอย่างจาก (1.3.1) และ (1.3.2) ที่ได้จากการปล่อยทิ้งให้แห้งในอากาศบดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร เพื่อนำมาวิเคราะห์ดังนี้

2.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ใช้สัดส่วน ดิน : 0.01 M CaCl_2 เป็น 1 : 2

2.2.2 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ โดยวิธี Walkley and black (Jackson, 1958)

2.2.3 ปริมาณฟอสฟอรัสรวม โดยการสกัดด้วยสารละลาย Perchloric acid (SSSA, 1982)

2.2.4 ปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชสามารถจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยวิธี Bray II (Bray and Kurtz, 1945)

2.2.5 ปริมาณอลูมิเนียมที่สกัดได้ โดยวิธี Titration method (ทักษิณี อัดตะนันท์ และคณะ, 2532)

2.2.6 ค่าความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (Cation Exchang Capacity = CEC)

โดยใช้สารละลาย 1 N NH_4OAc pH 7.00

(ทักษิณี อัดตะนันท์ และคณะ, 2532)

2.2.7 ปริมาณไนโตรเจนรวม โดยวิธี Kjeldahl method (ทักษิณี อัดตะนันท์ และคณะ, 2532)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละชุดการทดลองทดสอบความแตกต่างแต่ละชุดการทดลองและความแตกต่างของชุดการทดลองที่เปลี่ยนแปลงไปตามช่วงเวลาโดยการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (Multiple comparisian range test) วิธีการของดันแคน (Duncan's test) โดยใช้โปรแกรม SPSS/PC⁺ เพื่อสรุป

- 3.1 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของอัตราการย่อยสลายในแต่ละชุดการทดลอง
- 3.2 ความแตกต่างของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้
- 3.3 ความแตกต่างของความเป็นกรดเป็นด่างและปริมาณอลูมิเนียมที่สกัดได้
- 3.4 ความแตกต่างของชนิดและความหนาแน่นของสัตว์ในดิน
- 3.5 ดัชนีความหลากหลายของชนิดสัตว์ในดิน (Index of species diversity)

โดยใช้ดัชนีแซนนอน-เวียเนอร์ (Shannon-Wiener diversity index)

ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

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

เมื่อ H = ดัชนีความหลากหลายแซนนอน-เวียเนอร์

$$P_i = n_i / N$$

n_i = จำนวนตัวของสัตว์ในดินแต่ละชนิด

N = จำนวนตัวของสัตว์ในดินทุกชนิดรวมกัน

3.6 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการย่อยสลายกับปริมาณชนิดและความหนาแน่นของสัตว์ในดิน

3.7 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ถดถอยพหุคูณ (multiple regression) ระหว่าง อัตราการย่อยสลายกับปริมาณฟอสฟอรัสรวมและฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

3.8 วิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กับปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

3.9 วิเคราะห์การถดถอยพหุคูณระหว่างปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กับปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง