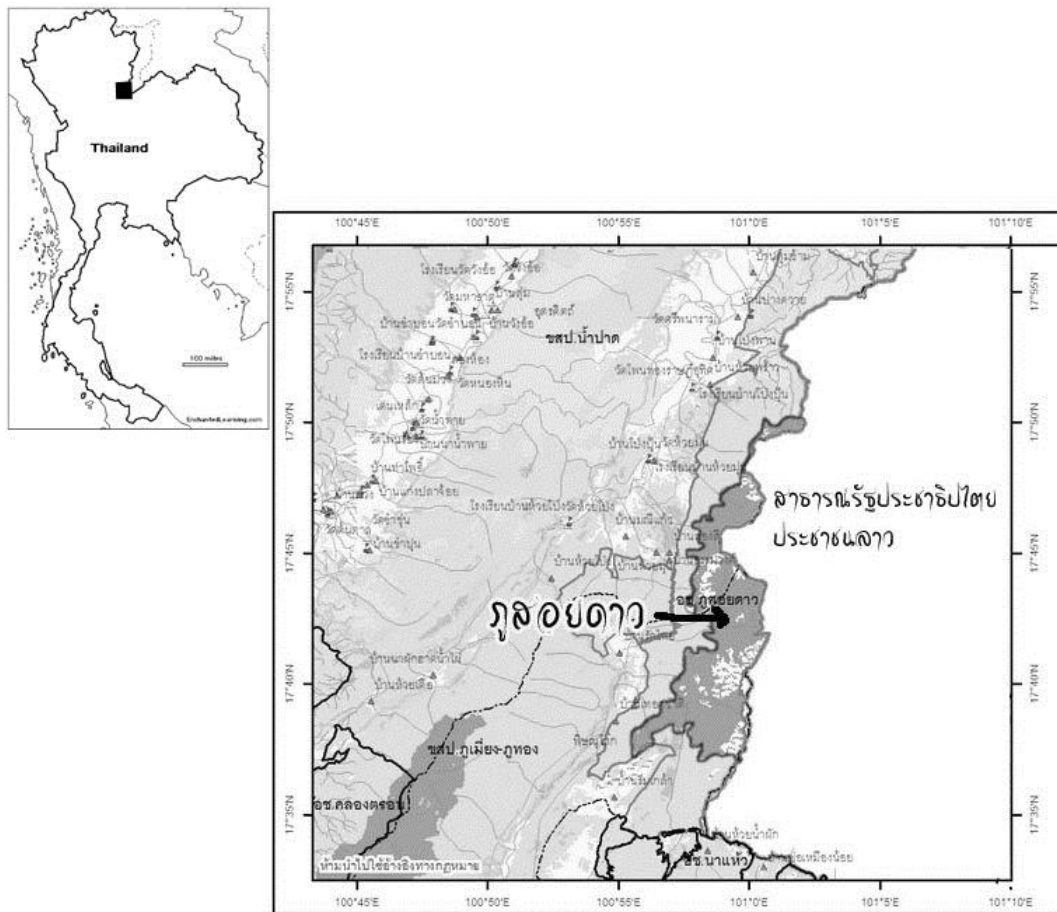


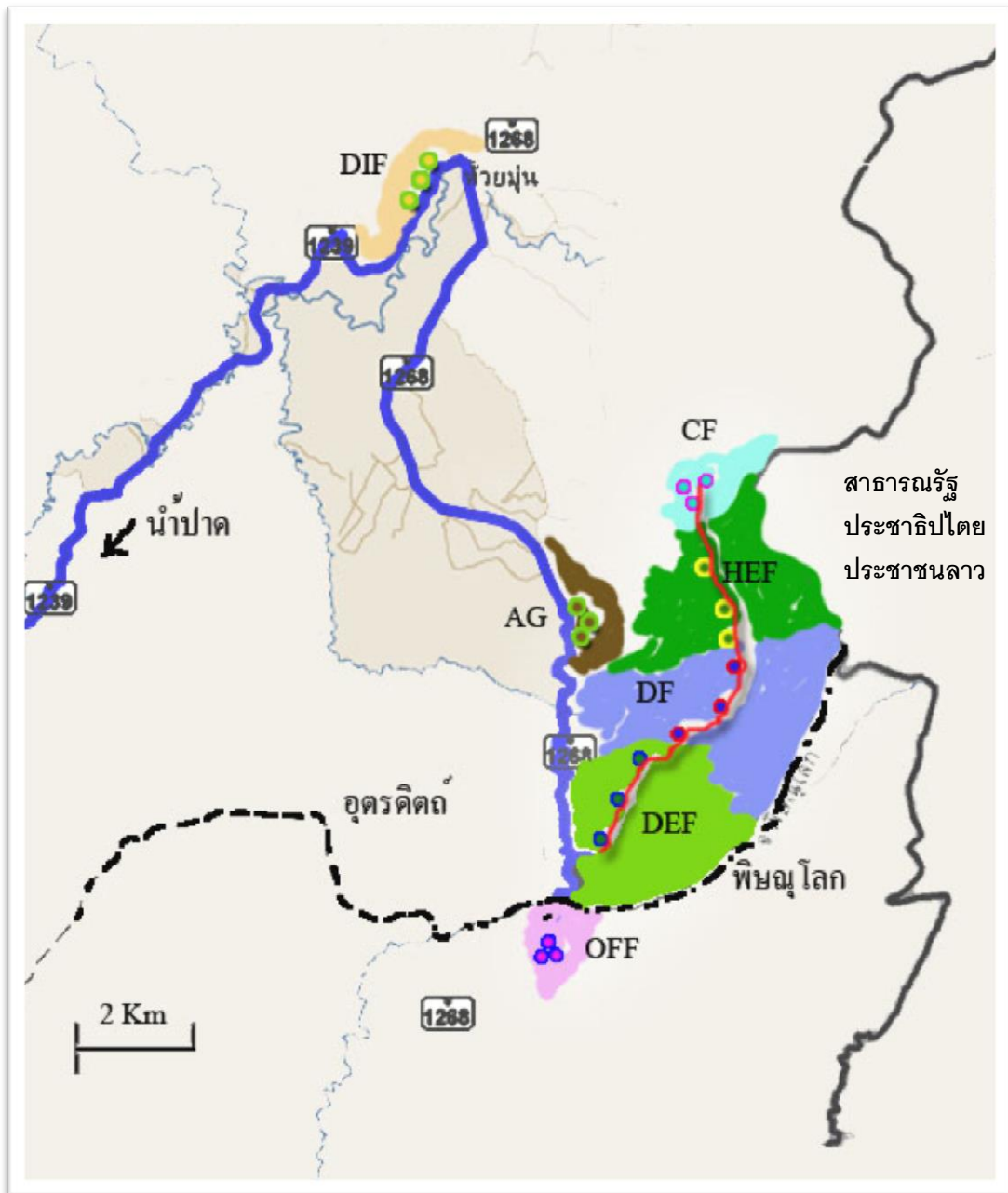
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างไม้เดือน

เพื่อให้ตัวอย่างไม้เดือนที่ได้เป็นตัวแทนของพื้นที่มากที่สุดจึงกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างตามสภาพการใช้ประโยชน์จากที่ดินและประเภทของป่า ตามจุดเก็บตัวอย่าง (ภาพที่ 3.2) ดังนี้



ภาพที่ 3.1 แสดงพื้นที่ที่ตั้งอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว



ภาพที่3.2 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่าง

● =ตำแหน่งเก็บตัวอย่าง ■ =ถนนทางหลวง ■ =เส้นทางเดินเท้าเก็บตัวอย่าง

DIF (Dry dipterocarp forest)=ป่าเต็งรัง, AG (Agricultural area)= พื้นที่เกษตรกรรม OFF (Office) = พื้นที่สำนักงานที่ทำการอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว DEF (Dry evergreen forest)= ป่าดิบแล้ง DF (Deciduous forest)= ป่าเบญจพรรณ HEF (Hill ever green forest)= ป่าดิบเขา และ CF (Coniferous forest)= ป่าสนเขา

3.2 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาคความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงของประชากรไส้เดือนดินในเขตอุทยานแห่งชาติภูสอยดาวและพื้นที่ใกล้เคียง ประกอบด้วยพื้นที่ ป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง และป่าเบญจพรรณ ป่าดิบเขา ป่าสนเขา พื้นที่เกษตรกรรม และพื้นที่สำนักงานที่ทำการอุทยานแห่งชาติภูสอยดาว โดยทำการเก็บข้อมูล ในช่วงฤดูฝนปี พ.ศ.2553 เริ่มตั้งแต่เดือนสิงหาคม เดือนกันยายน และเดือนตุลาคม เก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 3 จุด

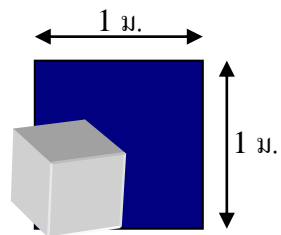
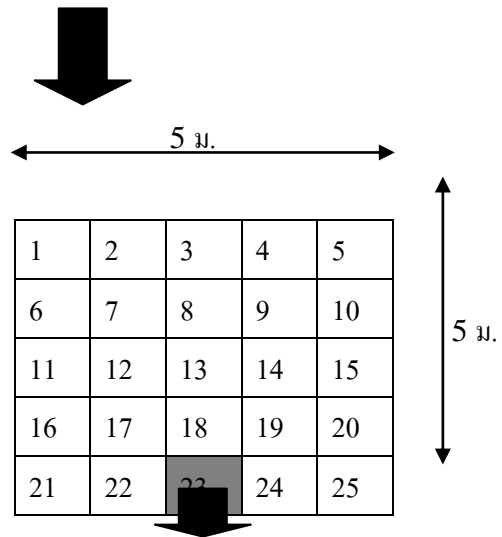
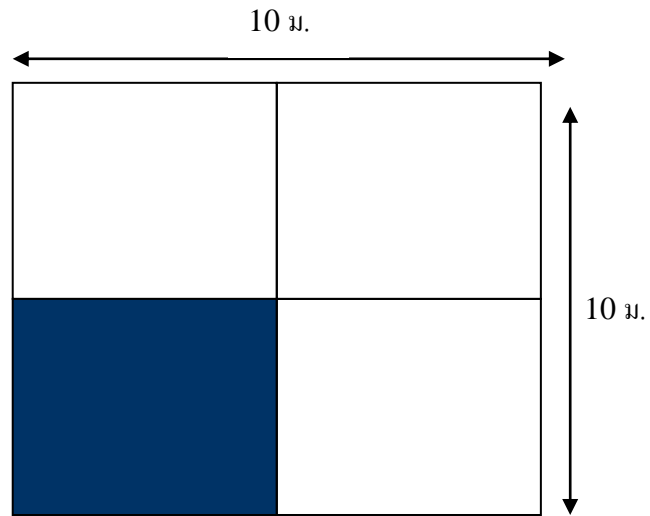
3.3 วิธีการเก็บตัวอย่าง

3.3.1 วิธีการเก็บตัวอย่างไส้เดือน

ทำการสำรวจและเลือกพื้นที่ที่เหมาะสมในการอาศัยของไส้เดือน เช่น สังเกตความชื้นของดิน เศษกิ่งไม้ใบไม้(litter) เป็นต้น จากนั้นวางแปลงเก็บตัวอย่าง ขนาด 10x10 ม. แล้วแบ่งแปลงย่อยขนาด 5 x 5 ม. จำนวน 4 แปลง สุ่มเลือกมา 1 แปลง แล้วแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 1x1 ม. จำนวน 25 แปลง สุ่ม เลือกพื้นที่ ขนาด 1x1 เมตร เลือกจุดขนาดพื้นที่ 50x50 เซนติเมตร เพื่อทำการเก็บตัวอย่าง(ภาพที่ 3.3) พื้นที่ป่าละ 3 ซ้ำ

อุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการเก็บตัวอย่างภาคสนาม ได้แก่ จอบ เสียม มีด ถู่มือ ขวด สีเมจิก ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่างดินและเศษไม้ น้ำสะอาด แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ GPS และกล้องถ่ายรูป เป็นต้น

การขุดเก็บตัวอย่าง เมื่อกำหนดพื้นที่เรียบร้อยแล้ว ในสภาพป่าธรรมชาติ จะมีสิ่งกีดขวางเช่นต้นไม้ รากไม้ ก้อนหิน หรือสิ่งอื่นๆ ทำการขยับพื้นที่เก็บตัวอย่างเพื่อให้เหมาะสม จากนั้นใช้เสียมค่อยๆ แซะรอบนอกของขอบเขตขนาดพื้นที่(กว้างxยาว =50x50 เซนติเมตร) โดยให้เกิดการรบกวนหรือมีการสั่นสะเทือนน้อยที่สุด เพราะไส้เดือนบางชนิดสามารถเคลื่อนที่ออกนอกเขตพื้นที่ที่กำหนดได้ ทำการขุดให้มีความลึกประมาณ 25-30 เซนติเมตร จากนั้นจึงใช้มือค่อยๆ กะดินที่ต้องการออกมาตรวจนับไส้เดือน อย่างละเอียด ทุกตัว ทุกขนาด นำมาใส่ภาชนะบรรจุน้ำสะอาดเพื่อล้างไส้เดือน ทำการเก็บตัวอย่างจนกว่าจะหมดทั้งกองดิน



ภาพที่ 3.3 แสดงการสุ่มพื้นที่เก็บตัวอย่าง

การเก็บรักษาตัวอย่าง

เพื่อการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้น ควรทำให้ไส้เดือนไร้ความรู้สึกก่อน (narcotize) ที่จะทำให้อยู่ในสภาพคงตัว (fixation) วิธีการเตรียมตัวอย่างไส้เดือน เมื่อเก็บตัวอย่างไส้เดือนแล้วนำมาล้างด้วยน้ำจืดไส้เดือนจะถ่ายดินในลำไส้ออกมา จากนั้นนำไปใส่ลงในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อฆ่าไส้เดือนก่อน (ไส้เดือนจะอและบิดม้วน) จากนั้นนำออกมาวางบนกระดาษซับคลิ่งให้ไส้เดือนอยู่ในสภาพตรง จากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ในภาชนะในสารละลายฟอร์มาลิน 4-10 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาไว้ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทำฉลาก (ชื่อสถานที่เก็บ/ผู้เก็บ/ตำแหน่งและรายละเอียดอื่นๆที่จำเป็น) การเคลื่อนย้ายไส้เดือนที่เก็บรักษาไว้แล้วไปห้องปฏิบัติการ อาจปฏิบัติดังนี้

1. ซุปสำลีในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำตัวอย่างไส้เดือนมาห่อไว้
2. ทำหมายเลขไว้ถ้าหากมีหลายชนิด
3. นำห่อตัวอย่างไส้เดือนใส่ในถุงพลาสติก มัดหรือซีลปากถุงเพื่อไม่ให้ตัวอย่างแห้ง
4. จากนั้นนำไปห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจจำแนกชนิดต่อไป

เนื่องจากไส้เดือนหลายชนิดมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกันมาก เพื่อความสมบูรณ์ของการจัดจำแนกจึงมีการตรวจสอบ ตำแหน่งอวัยวะภายใน ดังนั้นหลังจากการบันทึกลักษณะภายนอกเรียบร้อยแล้ว จึงจำเป็นต้องมีการผ่าตัวอย่างไส้เดือน มีหลักการดังนี้

อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ปากคีบ กรรไกร ผ่าตัดขนาดเล็กหรือมีดผ่าตัด เข็มหมุดขนาดเล็กหรือเข็มปักแมลงเบอร์ 0-3 ภาชนะผ่าตัด ขนาดเล็กกลมหรือเหลี่ยมก็ได้ ถุงมือ และหน้ากากปิดปาก น้ำสะอาด แอลกอฮอล์ ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่าง แบบฟอร์มการจำแนก กระดาษเขียนป้าย สเกลวัดขนาด และกล้องถ่ายรูป เป็นต้น ขั้นตอนและวิธีการผ่าไส้เดือน

1. นำตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้แล้วมาวางบนภาชนะผ่าตัด โดยวางด้านท้องคว่ำลงตามธรรมชาติ แล้วใช้เข็มปักหัว และบริเวณด้านหลัง (ตามความเหมาะสม)
2. ใช้กรรไกรหรือมีดผ่าตัด ตัดตามขวางบริเวณปล้องที่ 2 หรือ 3 ประมาณ $\frac{1}{4}$ ของลำตัว จากนั้น
3. ตัดตามยาวบริเวณกลางหลัง ค่อยไปทางด้านใดด้านหนึ่งของลำตัว ไม่จำเป็นต้องเป็นบริเวณกลางหลังพอดี ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการตัดถูกอวัยวะสำคัญ

โดยเฉพาะเส้นเลือดใหญ่และ รุกกลางหลัง นอกจากนี้จะช่วยให้การสังเกตนับปล้องได้ง่ายขึ้น

4. สอดไปมิดหรือกรรไกรอย่างระมัดระวังแล้วตัดเฉพาะส่วนของผิวหนังของไส้เดือนส่วนบนเท่านั้นและตัดยาวต่อเนื่องตลอดไปจนถึงประมาณข้อที่ 30 เพราะอวัยวะส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในตำแหน่งนี้

5. ใช้ปากคีบดึงหนังที่ตัดแล้วแผ่ออกและใช้เข็มปักยึดไว้เพื่อสะดวกในการสังเกตอวัยวะต่างๆได้ง่าย ทั้งนี้จะปักเข็มมากน้อยขึ้นอยู่กับตัวอย่างและการสังเกตอวัยวะต่างๆได้ยากง่ายแตกต่างกันไป

6. สังเกตอวัยวะต่างๆ นับตำแหน่งปล้องบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึก

7. ถ่ายภาพ วาดภาพ อธิบายลักษณะเด่น

8. นำแบบบันทึกข้อมูลไปตรวจระบุชนิดตามหลักการของ Gates (1972) และ Sims and Eastons (1972) และเอกสารอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

หมายเหตุ: ไส้เดือนตัวเต็มวัยเท่านั้นที่สามารถระบุชนิดได้ ส่วน Juvenile และ sub adult ไม่นำมาวิเคราะห์ด้ขนี้ความหลากหลาย

3.3.2 วิธีการเก็บตัวอย่างดิน (soil sampling)

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างไส้เดือน ประมาณ 100 กรัม นำมาหาความชื้นดิน ค่า pH (ดินชื้น) และหาปริมาณธาตุอาหารพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม อินทรีย์วัตถุ และปริมาณอินทรีย์คาร์บอน

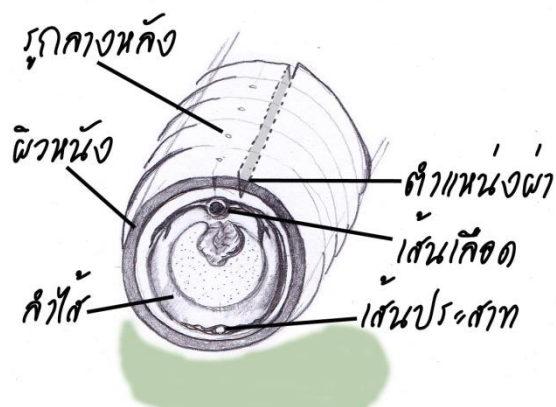
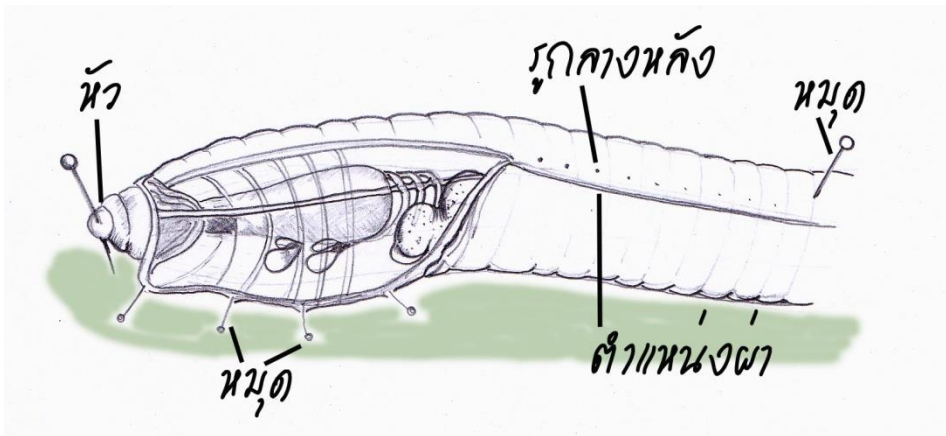
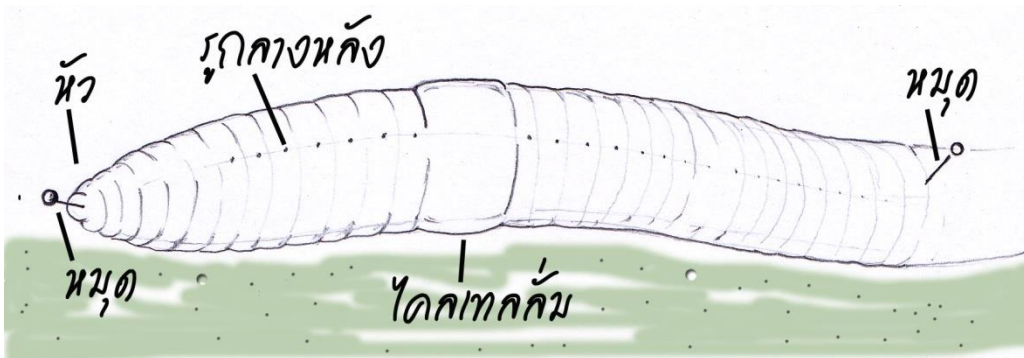
ค่า pH นำตัวอย่างดินชื้น มาละลายน้ำกลั่นในอัตรา ตัวอย่างดินต่อน้ำ 2 ต่อ 5 ละลายทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที วัด pH โดยใช้ pH meter อ่านค่าบันทึกผล

อุณหภูมิดิน วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ชนิดเข็มปักลงดินในบริเวณพื้นที่ทำการเก็บตัวอย่าง ความลึกประมาณ 10 เซนติเมตร อ่านค่า บันทึกผล(หน่วยเป็นองศาเซลเซียส)

ความชื้นดิน เก็บตัวอย่างดินมาชั่งประมาณ 25 กรัม นำมาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือ จนกว่าน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง อ่านค่าบันทึกผลและคำนวณค่า ดังสูตร

$$\text{ความชื้นดิน(\%)} = \frac{(\text{นน.ดินก่อนอบ} - \text{นน.ดินหลังอบ})}{\text{นน.ดินก่อนอบ}} \times 100$$

นน. ดินหลังอบ



ภาพที่ 3.4 แสดงขั้นตอนการผ่าตัดไส้เดือน

การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดของใช้วิธีการ Kjeldahl
การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ใช้วิธี Bray II พัฒนาสีด้วย
molybdenum blue ตามวิธีการของ Murphy-Riley แล้วอ่านค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer
การวิเคราะห์โพแทสเซียมที่ละลายน้ำได้ โดยสกัดด้วย 1N NH_4OAc และ
ตรวจวัดโดยใช้ atomic absorption spectrophotometer
การวิเคราะห์ค่าอินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุ(เปอร์เซ็นต์) โดยวิธีการของ
Walkley and Black

3.4 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูล จำนวนได้เดือนดิน ความหนาแน่น ธาตุอาหารในดิน มาวิเคราะห์ข้อมูลทาง
สถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์