วิธีการศึกษาวิจัย

1. การเปลี่ยนแปลงอินทรียวัตถุและธาตุอาหารหลักของพืชในดินระหว่างดินรอบ ๆ รากพืชและบริเวณที่ว่างระหว่างไม้ยืนต้นภายหลังมีการปลูกไม้ยืนต้นหลากชนิด

เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร จาก 3 ขอบเขตพื้นที่ศึกษาตามความลาดเอียงของพื้นที่(ขอบเขตพื้นที่ศึกษาที่ II,III และ IV) (ภาพที่ 2) จาก 3 ตำแหน่ง คือ 1) บริเวณโคนต้นมะขามเทศ 2) บริเวณโคนต้นสนทะเล และ 3) บริเวณพื้นที่ว่างระหว่างต้นไม้ เก็บตัวอย่างดินในฤดูแล้ง (ต้นเดือนมีนาคม 2553) และฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม 2553) ในโดยการเจาะดินด้วยเครื่องมือเจาะเก็บตัวอย่างดิน (soil auger) นำมาตรวจวิเคราะห์ค่าการนำกระแสไฟฟ้าของดิน (1:5 ดิน:น้ำ) ค่าปฏิกิริยาดิน(1:2.5 ดิน:น้ำ) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน ปริมาณความจุในการแลกเปลี่ยนแคทไอออนของดิน และปริมาณธาตุอาหารหลัก (N, P, K) ในดิน

2. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตในดินภายหลังมีการปลูกไม้ยืนต้นหลากชนิด

2.1) การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในดินก่อนการปลูกไม้ยืนต้นหลากชนิด

การสำรวจสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินขนาดใหญ่ (macro–soil invertebrates) และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินขนาดกลาง (meso– soil invertebrates) ในพื้นที่ศึกษา โดยกำหนดบริเวณที่ใช้ทำการศึกษาพื้นที่ละ 30 ตารางเมตร ในแต่ละบริเวณแบ่งเป็นแปลงทดลองชั่วคราว (quadrat samples) จำนวน 3 แปลงๆ ละ 1 ตารางเมตร สำหรับเก็บรวบรวมจำนวนและชนิดของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินขนาดใหญ่ ที่พบบนพื้นดิน ตามซากใบพืช และที่ระดับผิวดินลึก 5 – 10 เซนติเมตร ส่วนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในดินขนาดกลางทำการเก็บตัวอย่างที่อยู่ในดิน โดยเก็บตัวอย่างดินลึก 10 – 15 เซนติเมตร จากพื้นที่ขนาด 20 ตารางเซนติเมตร ที่อยู่ติดกับแปลงทดลองชั่วคราว แล้วนำตัวอย่างดินมาสกัดแยกชนิดด้วยอุปกรณ์ Berlese –Tullgren Funnel ในห้องปฏิบัติการ

พร้อมทั้งทำการศึกษากิจกรรมของจุลินทรีย์ดินที่เกี่ยวข้องกับอัตราการย่อยสลายและกิจกรรมในดิน

การวิเคราะห์ข้อมูล

1) เปรียบเทียบชนิดและจำนวนของสิ่งมีชีวิตในดินในพื้นที่ที่ศึกษา
2) เปรียบเทียบกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินและอัตราการย่อยสลายอินทรียวัตถุในพื้นที่ที่ศึกษา
3) แสดงดัชนีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในดิน (Index of species diversity)

จากสูตร Shannon - Wiener Diversity Index (H') ดังนี้

$$H' = -\sum_{n=1-i}^{n} P_1 \log P_1$$

เมื่อ $P_1 = n_1 / N$

n_1 = จำนวนตัวของสิ่งมีในดินแต่ละชนิด

N = จำนวนตัวของสิ่งมีชีวิตในดินทุกชนิดรวมกัน

2.2) การศึกษากิจกรรมของสิ่งมีชีวิตในดิน จุลินทรีย์ดิน

2.2.1) การวิเคราะห์การหายใจของจุลินทรีย์ดิน (soil respiration) ศึกษาโดยการวัดอัตราการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จากการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ (basal respiration) กระทำโดยการเก็บตัวอย่างดินประมาณ 200 กรัม ลงในขวดดหลขนาด 500 ml และนำขวดแก้วเล็กขนาด 30 ml ซึ่งภายในบรรจุ 1 M NaOH 20 ml วางลงในขวดโหลเพื่อจับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากดิน ทิ้งไว้จนครบ 24 ชั่วโมง จึงนำ NaOH ออกมาเติม 1 M $BaCl_2$ 5 ml เพื่อให้ NaOH ที่จับกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเกิดการตกตะกอน สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่น หยด phenolphthalein indicator ไตรเตรต NaOH ที่เหลือด้วย 0.5 M HCl เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาวขุ่นอีกครั้ง นำปริมาณ HCl ที่ใช้ในการไตเตรตไปคำนวณหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น(Anderson, 1982)

2.2.2) การวิเคราะห์มวลชีวภาพจุลินทรีย์ (microbial biomass) ใช้วิธีรมด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วตามด้วยการสกัด (chloroform fumigation - extraction technique) (Vance et al., 1987; Amato and Ladd, 1988) ดังนั้นปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์จึงเป็นผลต่างระหว่างดินที่ผ่านการรมคลอโรฟอร์มกับไม่รมคลอโรฟอร์ม ซึ่งการหามวลชีวภาพจุลินทรีย์ประกอบด้วยการหามวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอนและมวลชีวภาพ จุลินทรีย์ไนโตรเจน ส่วนในการคำนวณปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอนใช้ค่า Kc = 0.33 (Tate et al., 1988) และมวลชีวภาพจุลินทรีย์ไนโตรเจนใช้ค่า Kn = 3.1 (Amato and Ladd, 1988: Sparling, 1991)

2.2.3) มวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอน (microbial biomass carbon: MBC) ชั่งดิน 10 g ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml สกัดด้วย 0.5 M K_2SO_4 จำนวน 50 ml เขย่านาน 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 จากนั้นนำสารละลายที่ได้จำนวน 5 ml ไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอน โดยวิธีสันดาปเปียก (wet oxidation) โดยเติม 0.07 N $K_2Cr_2O_7$ 5 ml เพื่อเกิดการออกซิไดซ์ และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 ml เพื่อให้เกิดความร้อนและเป็นการเร่งปฏิกิริยา ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาสักครู่ แล้วเติมกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) 5 ml โดยทำในตู้ดูดควัน ไตเตรตสารละลายที่ได้ด้วย 0.01 N $FeSO_4$ (หาความเข้มข้นที่แน่นอนของ 0.01 N $FeSO_4$ โดยสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ 0.07 N $K_2Cr_2O_7$) โดยมีสารละลายที่ผสมกันระหว่าง N-phenylanthranilic acid 0.1002 g กับ Na_2CO_3 0.107 g ในน้ำกลั่น 100 ml เป็นอินดิเคเตอร์ ซึ่งจุดยุติจะเกิดขึ้นเมื่อสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็น สีเขียว แล้วนำปริมาตรและความเข้มข้นที่แน่นอนของ $FeSO_4$ ที่ใช้ในการไตเตรตคำนวณหาปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอน

2.2.4) มวลชีวภาพจุลินทรีย์ไนโตรเจน (microbial biomass nitrogen) ชั่งดินจำนวน 10 g ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml สกัดด้วย 1 M KCl จำนวน 50 ml เขย่านาน 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 นำสารละลายที่สกัดได้มา 2 ml เติม ninhydrin 2 ml และ 0.07% ascorbic acid 2 ml ลงในหลอดทดลองขนาด 20-25 ml เขย่าเพื่อให้ส่วนผสมเข้ากัน ต้มใน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 85-90 °C เป็นเวลา 15 นาที สารละลายในหลอดทดลองจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงทิ้งให้เย็นแล้วเทียบสีกับสารละลายมาตรฐานโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 nm นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์ไนโตรเจน

การวิเคราะห์ทางสถิติในการศึกษาครั้งนี้ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยสถิติเชิงซ้อน Least – Significant Difference (LSD) ในโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 10.00 for Windows ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

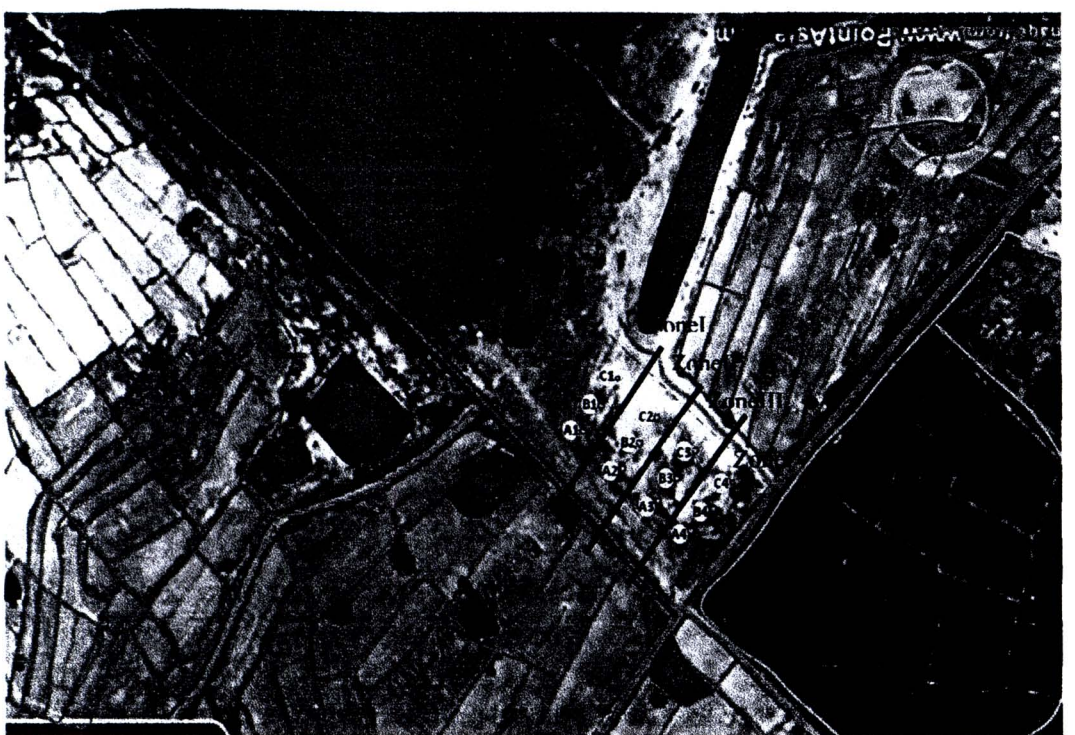
2.3) การย่อยสลายอินทรียวัตถุ โดยวิธี litter bag method

การย่อยสลายของอินทรียวัตถุโดยวิธี Litter Bag Method โดยใช้ถุงตาข่ายสองขนาดคือ ขนาด 10 X 10 ซม. และ 15 X 15 ซม. บรรจุใบมะขามเทศและใบสนทะเล ที่มีปริมาณน้ำหนักแห้ง 10 กรัม และ 20 กรัม ตามลำดับ นำไปฝังไว้ในจุดเก็บตัวอย่าง ที่บริเวณบริเวณโคนต้นมะขามเทศ 2) บริเวณโคนต้นสนทะเล และ 3) บริเวณพื้นที่ว่างระหว่างต้นไม้ เป็นระยะเวลา 4 เดือน จากนำนำมาคำนวณหาปริมาณน้ำหนักและอัตราการย่อยสลายของอินทรียวัตถุ

$$\text{อัตราการย่อยสลายอินทรียวัตถุ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักใบไม้แห้งที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักใบไม้แห้งเมื่อเริ่มต้น}}$$

3.ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำใต้ดินและความเค็มของน้ำใต้ดิน

ทำการศึกษาและเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดินนำมาวัดค่าการนำไฟฟ้า วัดระดับน้ำใต้ดินในเดือน มีนาคม 2552 ถึงเดือนกันยายน 2553 โดยจากท่อที่ฝังไว้ในขอบเขตพื้นที่ศึกษา (ภาพที่ 4) ขอบเขต (piezo meter) 3 ท่อ และทำการวัดระดับน้ำใต้ดิน และ เก็บตัวอย่างน้ำใต้ดินมาวัดความเค็มและค่าปริมาณโซเดียม ดังแผนผังที่แสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ภาพแสดงจุดที่วัดระดับน้ำใต้ดิน Zone I ถึง Zone IV