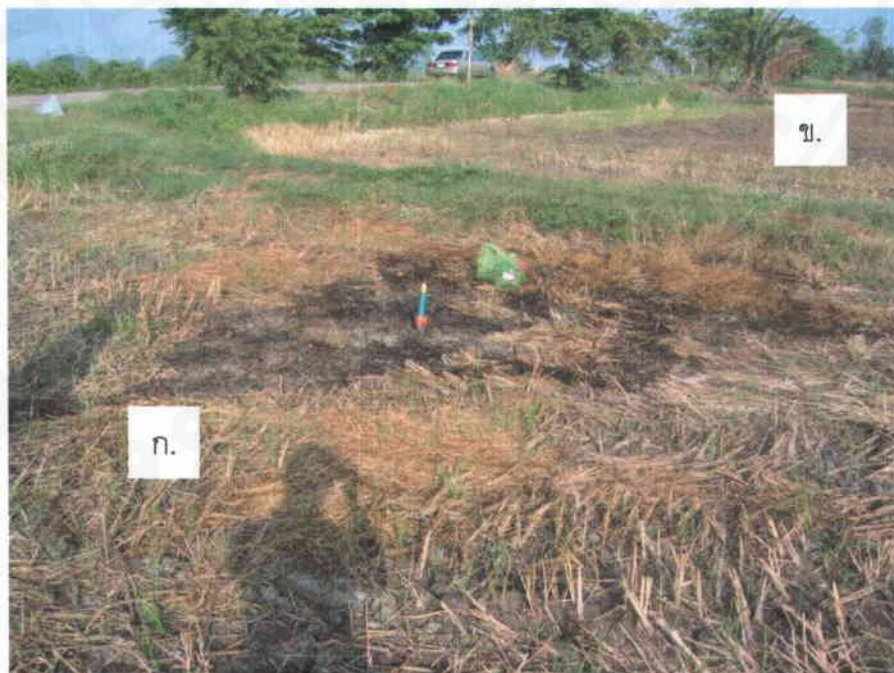


บทที่ 3

พื้นที่และวิธีการศึกษา

3.1 พื้นที่ศึกษา

ออกเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่นาข้าว 2 แปลงซึ่งตั้งอยู่ใน ตำบลบางหลวง อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานีในวันที่ 4 เดือนพฤษภาคม 2549 พื้นที่ดังกล่าวเป็นบริเวณที่มีการทำนากันอย่างกว้างขวางและทำนามาเป็นเวลาดำเนินนานกว่า 15 ปี (สอบถามปากเปล่า) พื้นที่นาทั้งสองแปลงนี้ตั้งอยู่ใกล้เคียงกันและมีระยะเวลาเริ่มทำนาและเก็บเกี่ยวเป็นเวลาใกล้เคียงกัน สาเหตุที่เลือกพื้นที่ใกล้เคียงกัน เพื่อลดปัญหาความแตกต่างของประชากรไช่ระยะพักซึ่งผลิตจากแพลงก์ตอนสัตว์ที่อาศัยอยู่ในนาข้าว และที่ถูกลบเข้ามาจากคลองส่งน้ำที่อยู่ข้างๆ พื้นที่นา (รูปที่ 3.1) โดยพื้นที่นาแปลงที่ 1 ไม่มีการเผาฟางข้าวหลังจากการเก็บเกี่ยว ส่วนพื้นที่นาแปลงที่ 2 มีการเผาฟางข้าวหลังการเก็บเกี่ยว



รูปที่ 3.1 พื้นที่นา 2 แปลงซึ่งตั้งอยู่ในตำบลบางหลวง อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี (ก: พื้นที่นาที่มีการเผาฟางข้าว และ ข: พื้นที่นาที่ไม่มีการเผาฟางข้าว)

3.2 วิธีการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่นาโดยใช้พลั่วสูมตักหน้าดินลึกประมาณ 1 เซนติเมตร (รูปที่ 3.2) ให้ทั่วพื้นที่นาจำนวนแปลงละประมาณ 2 กิโลกรัม จากนั้นนำตัวอย่างดินที่เก็บได้มาผึ่งลมให้แห้ง โดยใช้กระดาษคลุมดินไว้เพื่อป้องกันแสงแดดและแมลงต่างๆ เมื่อดินตัวอย่างแห้งแล้วนำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันพร้อมทั้งแยกเศษต้นข้าวและซากเปลือกหอยออกจากดิน (รูปที่ 3.3)



รูปที่ 3.2 ใช้พลั่วสูมตักหน้าดินลึกประมาณ 1 เซนติเมตร ให้ทั่วพื้นที่นา



รูปที่ 3.3 ตัวอย่างดินแห้งที่สูมเก็บจากนาข้าวทั้ง 2 แปลง (ก: แปลงที่ไม่มีการเผาฟางข้าว และ ข: แปลงที่มีการเผาฟางข้าว)

3.3 วิธีการศึกษา

3.3.1 สภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่าง

ในการทดลองครั้งนี้ได้กำหนดสภาวะที่ใช้ทดสอบความสามารถในการอยู่รอดของไข่ระยะพักทั้งสิ้น 3 สภาวะด้วยกันคือ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและไม่มีแสง อุณหภูมิปกติและมีแสง และอุณหภูมิปกติและไม่มีแสง

- สภาวะที่ 1 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและไม่มีแสง: นำตัวอย่างดินบรรจุไว้ในกล่องทึบแสงสีดำ (รูปที่ 3.4 และ 3.5) และนำไปวางไว้ในตู้เย็น เพื่อแทนสภาวะที่ได้รายงานโดยนักวิทยาศาสตร์หลายท่านว่าสามารถเก็บรักษาไข่ระยะพักไว้ได้ดีที่สุด
- สภาวะที่ 2 อุณหภูมิปกติและมีแสง: นำตัวอย่างดินบรรจุไว้ในกล่องใส (รูปที่ 3.4 และ 3.5) และนำไปวางไว้ในบริเวณลานกว้าง (รูปที่ 3.6) เพื่อแทนสภาวะจริงที่ไข่ระยะพักต้องเผชิญในพื้นที่นา
- สภาวะที่ 3 อุณหภูมิปกติและไม่มีแสง: นำตัวอย่างดินบรรจุไว้ในกล่องทึบแสงสีดำ (รูปที่ 3.4 และ 3.5) และนำไปวางไว้ในลานกว้าง (รูปที่ 3.6) เพื่อแทนสภาวะที่ไข่ระยะพักต้องเผชิญอุณหภูมิปกติในพื้นที่นา และถูกฝังอยู่ในดิน



รูปที่ 3.4 กล่องสำหรับใช้บรรจุตัวอย่างดิน กล่องใสแทนสภาวะมีแสง และกล่องใสฉีดยึดพันด้วยสีดำ และหุ้มด้วยเทปสีดำใช้แทนสภาวะไม่มีแสง ภายในกล่องแต่ละใบจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนเพื่อใช้เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่นาแต่ละแปลง และบริเวณด้านบนของกล่องทั้งสองช่องมีท่อสำหรับระบายอากาศเพื่อควบคุมอุณหภูมิในกล่องไม่ให้สูงกว่าอุณหภูมิภายนอก



รูปที่ 3.5 กล่องที่บรรจุตัวอย่างดินแล้ว เพื่อนำไปเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ

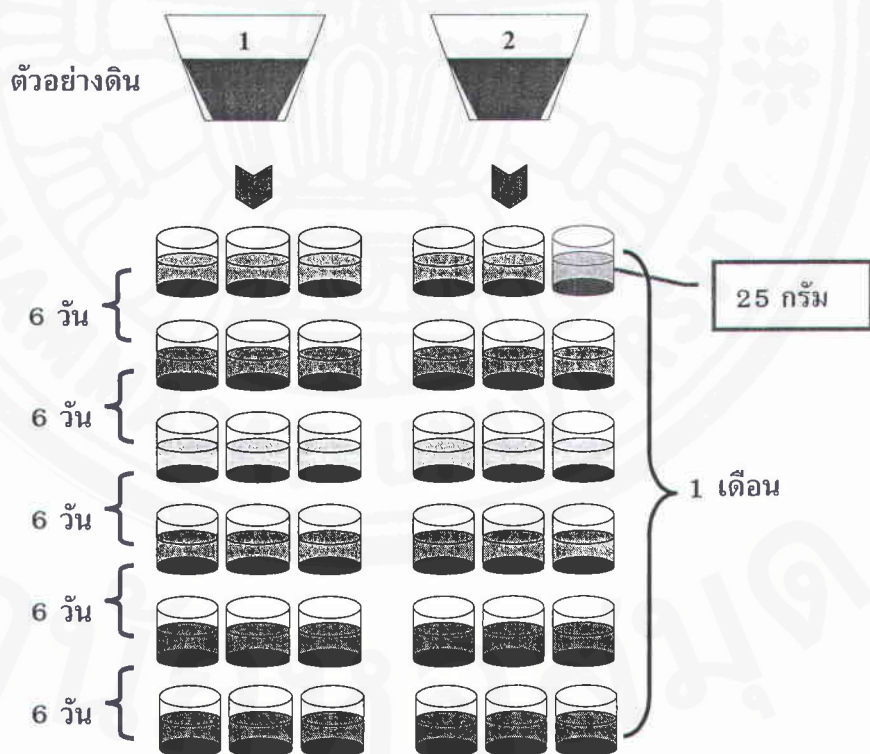


รูปที่ 3.6 กล่องใสและกล่องมืดถูกวางไว้ในสภาวะอุณหภูมิปกติบริเวณลานชั้น 4 อาคารบรรยาย
รวม 5 ด้านหน้าภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

3.3.2 ขั้นตอนการทดลอง

ตอนที่ 3.3.2.1 การทดสอบหาความสามารถในการอยู่รอดของไข่ระยะฟักเริ่มต้น (รูปที่ 3.7 และ 3.8)

นำตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากพื้นที่นาข้าวทั้งสองแปลงมาทดสอบหาความสามารถในการอยู่รอดของไข่ระยะฟักในช่วงต้น โดยชั่งตัวอย่างดินแห้งจากพื้นที่นาทั้งสองแปลงจำนวน 25 กรัมใส่ในบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร จำนวนพื้นที่นาละ 3 บีกเกอร์ จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์โดยใช้ฝาจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปวางไว้ในห้องปฏิบัติการที่มีแสงส่องถึงและมีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปตามรอบวัน จากนั้นเก็บตัวอย่างแมลงก้นดักที่ สามารถฟักออกจากไข่ระยะฟักทุก 6 วัน โดยเทน้ำในบีกเกอร์ทั้งหมดใส่ขวดพลาสติก แล้วเติมสารละลายฟอร์มาลินเข้มข้นลงในน้ำตัวอย่างทันทีให้ความเข้มข้นสุดท้าย 5 เปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งเติมน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ที่มีตัวอย่างดินอยู่อีกครั้ง ทำเช่นนี้เป็นเวลา 1 เดือน น้ำตัวอย่างที่ได้จะนำไปตรวจสอบหาชนิดและนับจำนวนแมลงก้นดักที่ฟักออกมาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบต่อไป



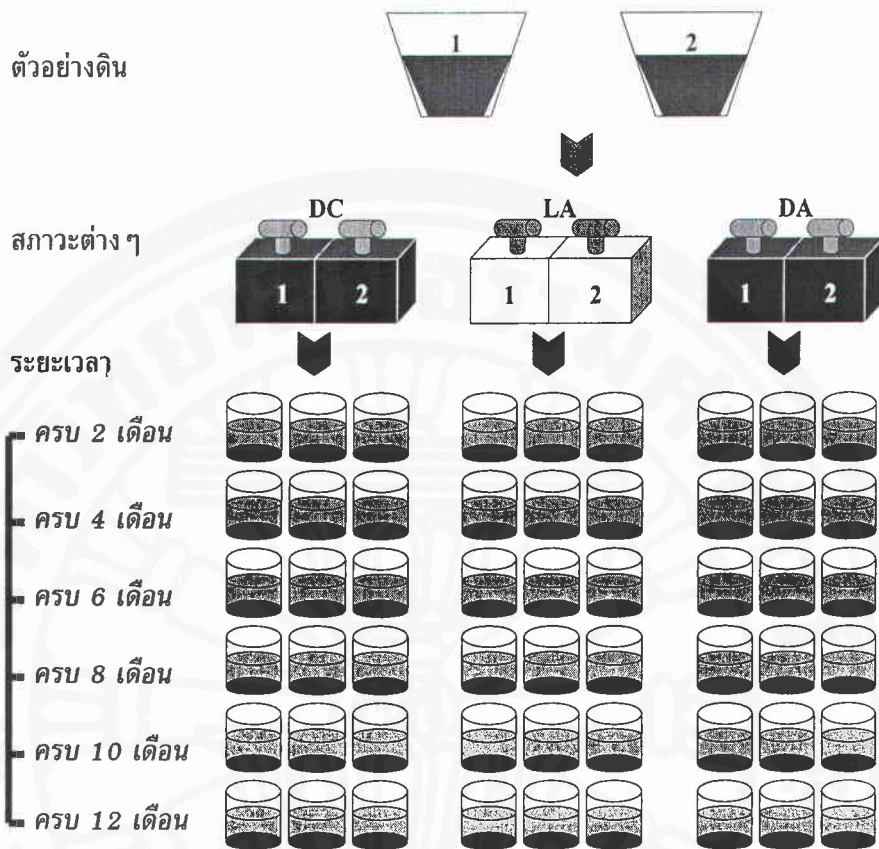
รูปที่ 3.7 การทดลองเพาะฟักไข่ระยะฟัก โดยเก็บตัวอย่างน้ำทุก 6 วันเป็นเวลา 1 เดือน



รูปที่ 3.8 การทดลองเพาะพืชไร่ระยะพักในห้องปฏิบัติการเปิดที่มีอุณหภูมิและแสงเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อมจริง

ตอนที่ 3.3.2.2 การทดสอบหาความสามารถในการอยู่รอดของไร่ระยะพักซึ่งเก็บรักษาภายใต้สภาวะแวดล้อม และระยะเวลาแตกต่างกัน (รูปที่ 3.9)

นำตัวอย่างดินแห้งที่สุ่มเก็บจากพื้นที่นาในแต่ละแปลงที่เหลือจากการทดลองตอนที่ 1 มาแบ่งออกเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กัน นำแต่ละส่วนไปบรรจุในกล่องที่ได้เตรียมเอาไว้แล้วข้างต้น 3 กล่องเพื่อเก็บรักษาไว้ในสภาวะที่แตกต่างกัน 3 สภาวะดังที่ได้กล่าวมา จากนั้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 เดือน นำตัวอย่างที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะแวดล้อมทั้ง 3 สภาวะมาทดสอบหาความสามารถในการอยู่รอดของไร่ระยะพักตามวิธีการทดลองในตอน
3.3.2.1



รูปที่ 3.9 การทดลองเพาะฟักไซโรระยะพัก โดยเก็บรักษาไว้ที่สภาวะที่แตกต่างกันและเป็นระยะเวลาที่แตกต่างกัน (DC: ไม่มีแสงและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส LA: มีแสงและอุณหภูมิปกติ DA: ไม่มีแสงและอุณหภูมิปกติ)

ตอนที่ 3.3.2.3 ตรวจสอบตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ที่ฟักออกจากไซโรระยะพัก

3.3.2.3.1 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างใส่ใน Sedgwick - Rafter Chamber แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3.2.3.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแพลงก์ตอนสัตว์ทั้ง 3 กลุ่ม (ไรติเฟอร์ คลาโดเซอรา และโคพีพอด) จากนั้นจำแนกชนิดและนับจำนวนของแพลงก์ตอนสัตว์ การจำแนกชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์ทำได้โดยใช้รูปวิธานของแพลงก์ตอนสัตว์ตามหนังสือดังนี้

- Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world 6 coordinating editor: H.J.F. Dumont, Rotifera Volume 2: The Lecanidae (Monogononta) by Hendrik segers (1995)

- Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world 3, Sididae & Holopediidae (Crustacea: Daphniiformes) by N.M. Korovchinsky (1992)

- Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world 8 coordinating editor: H.J.F. Dumont, Rotifera Volume 3: Notommatidae by Thomas Nogrady and Roger Pourriot (1995)

- Freshwater Zooplankton of Malaysia (Crustacea:Cladocera) by B.A.G. Idris (1983)

3.4 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลจำนวนชนิดและจำนวนตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ที่ฟักออกจากไข่ระยะพักที่ได้จากการทดลอง นำมาหาคำนวนหาค่าความหลากหลายโดยใช้ดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพของ Shannon Weiner index จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์หาความสามารถในการอยู่รอดของไข่ระยะพักตามระยะเวลาและสภาวะการเก็บรักษาโดยใช้สถิติ Repeated Measurement Analysis จากโปรแกรม SPSS

ชำนาญ หอสมุด