หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

3.1 ขั้นตอนการเตรียมการทดลอง

3.1.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

พืชที่ใช้ในการทดลองคือโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) อายุ 4 ปี ปลูกในสภาพเรือนทดลอง ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แสดงในภาพที่ 3.4 เรือนทดลองมุงด้วยแผ่นอะคริลิกที่ให้แสงอาทิตย์ผ่านได้ 98 % ปลูกในกระถางซีเมนต์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 76 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร โดยใช้ Penguard vanish และ Penguard hardener ของ Jotun ทาพื้นผิวภายในโดยทั่วเพื่อป้องกันน้ำซึม ใช้ทรายและเศษใบไม้หมักในอัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตรเป็นวัสดุปลูก ตามวิธีการปลูกของ Patanaponpaiboon (1989) การออกแบบการทดลองเป็นแบบ completely randomized design involved factorial (แบบ 3x3) ซึ่งประกอบด้วย

1. แหล่งของธาตุอาหารที่ทดลองมี 3กลุ่มคือ
   ก) กลุ่มทดลองที่ใช้น้ำทะเล
   ข) กลุ่มทดลองที่ใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง
   ค) กลุ่มทดลองที่ใช้ Hoagland Solution half strength ที่ผสมน้ำทะเล

2. โกงกางใบเล็กขนาดต่างๆ 3 ขนาด ซึ่งในแต่ละขนาดได้รับธาตุอาหารจากทั้ง 3 แหล่งธาตุอาหาร
   ก) มวลชีวภาพเริ่มต้น 160.3 กรัมต่อต้น หรือที่ปลูกที่ระดับความหนาแน่น 13 ต้นต่อตารางเมตร
   ข) มวลชีวภาพเริ่มต้น 122.4 กรัมต่อต้น หรือที่ปลูกที่ระดับความหนาแน่น 13 ต้นต่อตารางเมตร

ค) มวลชีวภาพเริ่มต้น 82.5 กรัมต่อต้น หรือที่ปลูกที่ระดับความหนาแน่น 13 ต้นต่อตารางเมตร

3.1.2 ขั้นตอนการเตรียมน้ำทะเล น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง และ Hoagland Solution

3.1.2.1 การเตรียมน้ำทะเล

เตรียมจากน้ำนาเกลือที่มีความเค็ม 100 ppt นำมาเจือจางด้วยน้ำประปาให้ได้ความเค็ม 15 ppt

3.1.2.2 การเตรียมน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง

น้ำที่ใช้ทดลองได้จากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ขนาดน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 5 กรัม โดยเริ่มต้นเลี้ยงที่ความหนาแน่น 80 ตัวต่อตารางเมตร เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 15 ppt ปริมาตร 700 ลิตร ในถังไฟเบอร์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 130 เซนติเมตร ความลึก 97 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 3.5 เปลี่ยนน้ำทุก 4-5 วัน ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปปริมาณ 5 % ของน้ำหนักตัวกุ้งทั้งหมด และให้อาหารวันละ 3 ครั้งคือเวลา 10.00 น., 14.00 น. และ 18.00 น. และน้ำที่ใช้ในการทดลองได้จากน้ำเลี้ยงกุ้งที่ถ่ายออกช่วง 4-5 วัน

3.1.2.3 การเตรียม Hoagland Solution ความเข้มข้น Half Strenght

เตรียมจาก Stock Hoagland Solution (วิธีเตรียมอยู่ในภาคผนวก ค ตารางที่ ผ13-ผ14) ผสมในน้ำทะเล

3.2 ขั้นตอนการทดลอง

3.2.1 วัดสถานะเริ่มต้นของระบบ

ดำเนินการเก็บและบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต คุณภาพดิน และน้ำดังนี้

- วัดความสูง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นของโกงกางใบเล็ก โดยทำเครื่องหมายจุดที่วัด ซึ่งความสูงของต้นวัดจาก root collar จนถึงฐานยอด ในกรณีที่มีรากค้ำจุนให้เริ่มวัดความสูงจากรากค้ำจุนขึ้นไปจนถึงฐานยอด ส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นวัดที่ระดับ root collar ในกรณีที่มีรากค้ำจุนให้วัดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ระดับ 2 เซนติเมตรเหนือรากค้ำจุน

- วัดคุณภาพดินในกระถางทดลอง โดยเก็บตัวอย่างดินที่ผิวดิน นำตัวอย่างดินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แล้วร่อนด้วยตะแกรง ขนาด 2.0 และ 0.25 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่อไป

- วัดคุณภาพน้ำในกระถางทดลอง โดยเก็บตัวอย่างน้ำที่ปล่อยออกทางด้านล่างของกระถาง โดยแยกเป็น 2 ส่วนคือ น้ำตัวอย่างที่ผ่านกระดาษกรอง GF/C และน้ำตัวอย่างที่ไม่ผ่านการกรอง

3.2.2 การเก็บตัวอย่างน้ำและวิธีการวิเคราะห์

- นำน้ำทะเล, น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง และ Hoagland Solution เติมในกระถางทดลอง กระถางละ 20 ลิตร ขังไว้เป็นเวลา 14 วัน ถ้าน้ำในกระถางทดลองแห้งจะเติมน้ำประปาเพื่อรักษาระดับ เมื่อครบกำหนดจะปล่อยน้ำออกทางด้านล่างของกระถาง ดังแสดงในภาพที่ 3.6 โดยปล่อยน้ำทิ้งประมาณ 2 ลิตร แล้วจึงเริ่มเก็บตัวอย่างน้ำ วัดคุณภาพน้ำในภาคสนามคือ pH และความเค็ม เก็บตัวอย่างน้ำที่ไม่กรองใส่ขวดพลาสติกเพื่อนำไปวิเคราะห์ COD และเก็บตัวอย่างน้ำผ่านกระดาษกรอง GF/C ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร เพื่อแยกธาตุอาหารส่วนที่ละลายน้ำออกจากส่วนแขวนลอย ใส่ขวดพลาสติก ดังแสดงในภาพที่ 3.7 และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสทันที จะสามารถเก็บไว้ได้นานหลายเดือน และจะนำน้ำนี้ไปวิเคราะห์ธาตุอาหารตามวิธีการในตารางที่ 3.3 และภาพที่ 3.8

- ปล่อยน้ำออกจนหมดกระถางทดลอง ให้ดินในกระถางทดลองได้สัมผัสอากาศประมาณ 12 ชั่วโมง ก่อนเติมน้ำทดลองครั้งต่อไป

ตารางที่ 3.3 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

พารามิเตอร์	วิธีการ
ความเค็ม	reflecto-salinometer
pH	pH meter
TSS	Standard Method (1992)
COD	Heat of Dilution (Ruttanagosrigit and Boyd,1989)
Total Nitrogen (TN)	Grasshoff (1983)
Total Phosphorus (TP)	Grasshoff (1983)

3.2.3 การเก็บตัวอย่างดินและวิธีการวิเคราะห์

การเก็บตัวอย่างดินจะทำการเก็บทุก 28 วัน ภายหลังจากปล่อยให้ดินได้สัมผัสอากาศแล้ว ก่อนเติมน้ำทดลองครั้งต่อไปจะทำการเก็บตัวอย่างดินในกระถางทดลองโดยการสุ่มกระจายโดยรอบกระถาง นำตัวอย่างดินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ดังแสดงในภาพที่ 3.9 แล้วร่อน

ด้วยตะแกรงขนาด 2.0 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์ pH และร่อนด้วยตะแกรงขนาด 0.25 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารและปริมาณอินทรีย์วัตถุตามวิธีการในตารางที่ 3.4 และภาพที่ 3.10 ส่วนขั้นตอนในการทดลอง และเก็บตัวอย่างแสดงไว้ในภาพที่ 3.3

ตารางที่ 3.4 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์คุณภาพดิน

พารามิเตอร์	วิธีการ
pH	ใช้อัตราส่วนดินต่อสารละลาย KCl 1 N 1:2 แล้ววัดด้วยเครื่อง pH meter
Organic matter	ตามวิธีการของ Walkley and Black Titration (1934)
Kjeldahl Nitrogen (KN)	Kjeldahl Method (Jackson, 1958)
Total Phosphorus (TP)	ย่อยด้วยกรดไนตริก(HNO_3)และกรดเปอร์-คลอริก ($HClO_4$) (O'Halloran, 1993)

3.2.4 การสร้างสมการแอลโลเมตรีเพื่อประมาณมวลชีวภาพของโกงกางใบเล็ก

เลือกต้นโกงกางใบเล็กที่มีขนาดต่างๆกันทำการขุดถอนต้นโกงกางใบเล็กทั้งต้น ดังแสดงในภาพที่ 3.11 นำรากไปล้างดินออกจนกระทั่งรากสะอาด บันทึกเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และความสูงแต่ละต้น จากนั้นแยกต้นโกงกางใบเล็กออกเป็นส่วนต่างๆ คือ ราก ลำต้นและใบ ชั่งหาน้ำหนักสด (fresh weight) ดังแสดงในภาพที่ 3.12 แล้วนำไปอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ เพื่อนำมาหาน้ำหนักแห้ง (dry weight) จากนั้นนำมวลชีวภาพ และผลคูณระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นยกกำลังสองกับความสูง (D^2L) ของแต่ละต้นมา plot ลงบน log-log scale เพื่อสร้างสมการความสัมพันธ์แบบ allometric

การประมาณหามวลชีวภาพและการเจริญเติบโตของพืชสามารถประมาณได้ด้วยสมการ allometric ของเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (D) ยกกำลังสอง และความสูงของพืช (L) ดังนี้คือ

$$W_T = a\,(D^2L)^b$$

เมื่อ W_T คือ น้ำหนักแห้งของพืชทั้งหมด (oven dry weight) (กรัม)

D คือ เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (เซนติเมตร)

L คือ ความสูงของต้น (เซนติเมตร)

a และ b คือค่าคงที่

ซึ่งความสัมพันธ์ของสมการ allometric ที่ใช้ในการประมาณมวลชีวภาพของโกงกางใบเล็กในแปลงทดลองพบว่า

$$W_T = 2.57 (D^2L)^{0.75} \qquad (R^2 = 0.87)$$

- สมการ allometric ที่ใช้ในการประมาณมวลชีวภาพของโกงกางใบเล็ก แสดงในภาพที่ 3.2

3.2.5 การวัดการเจริญเติบโตของโกงกางใบเล็ก

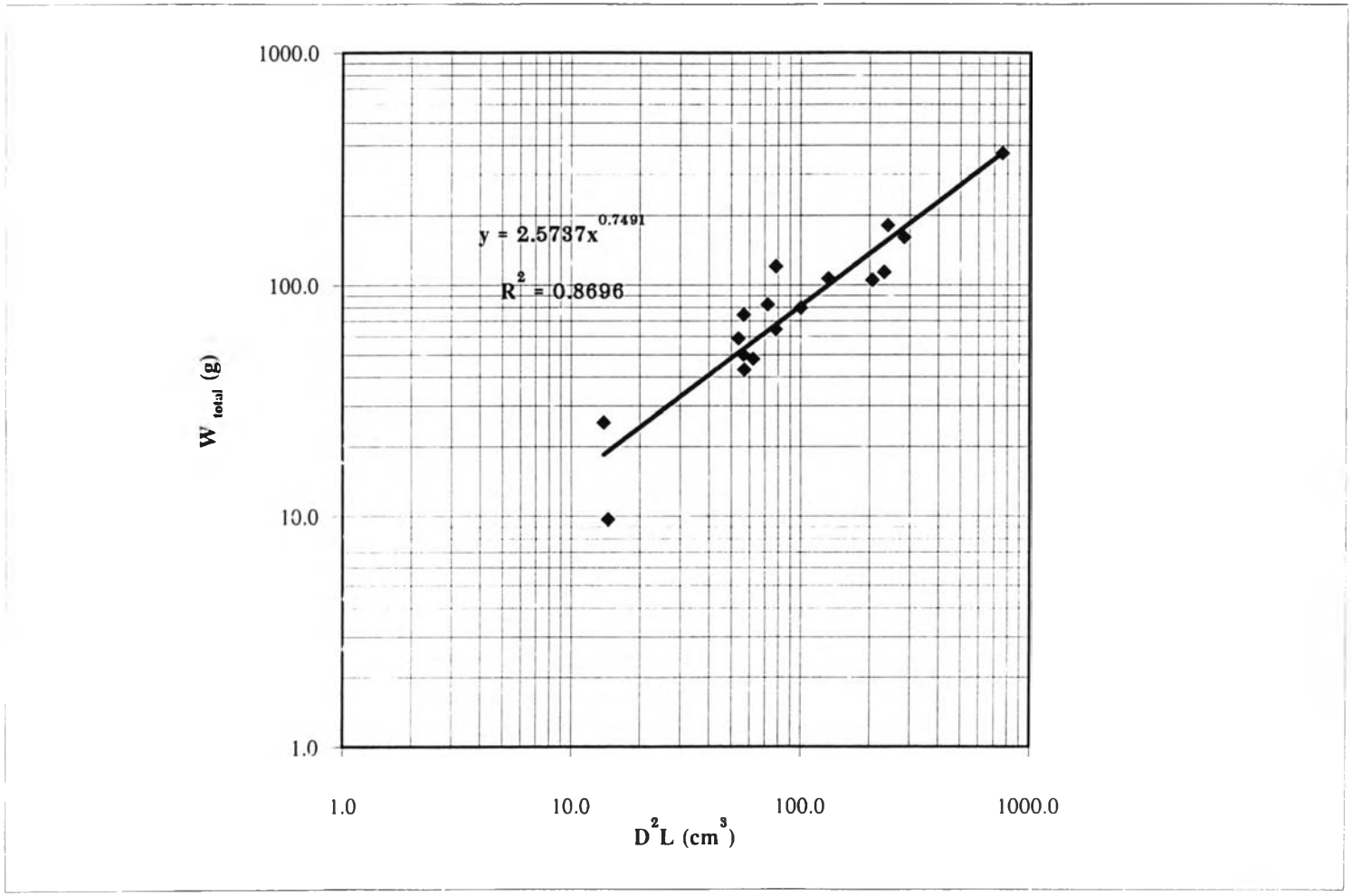
วัดความสูง และเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นของต้นโกงกางใบเล็กทุกต้นในแปลงศึกษา เหมือนข้อ 3.2.1 โดยทำการวัดทุก 28 วัน เพื่อนำมาคำนวณหามวลชีวภาพที่เพิ่มขึ้นจากสมการ allometric ในข้อ 3.2.4

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

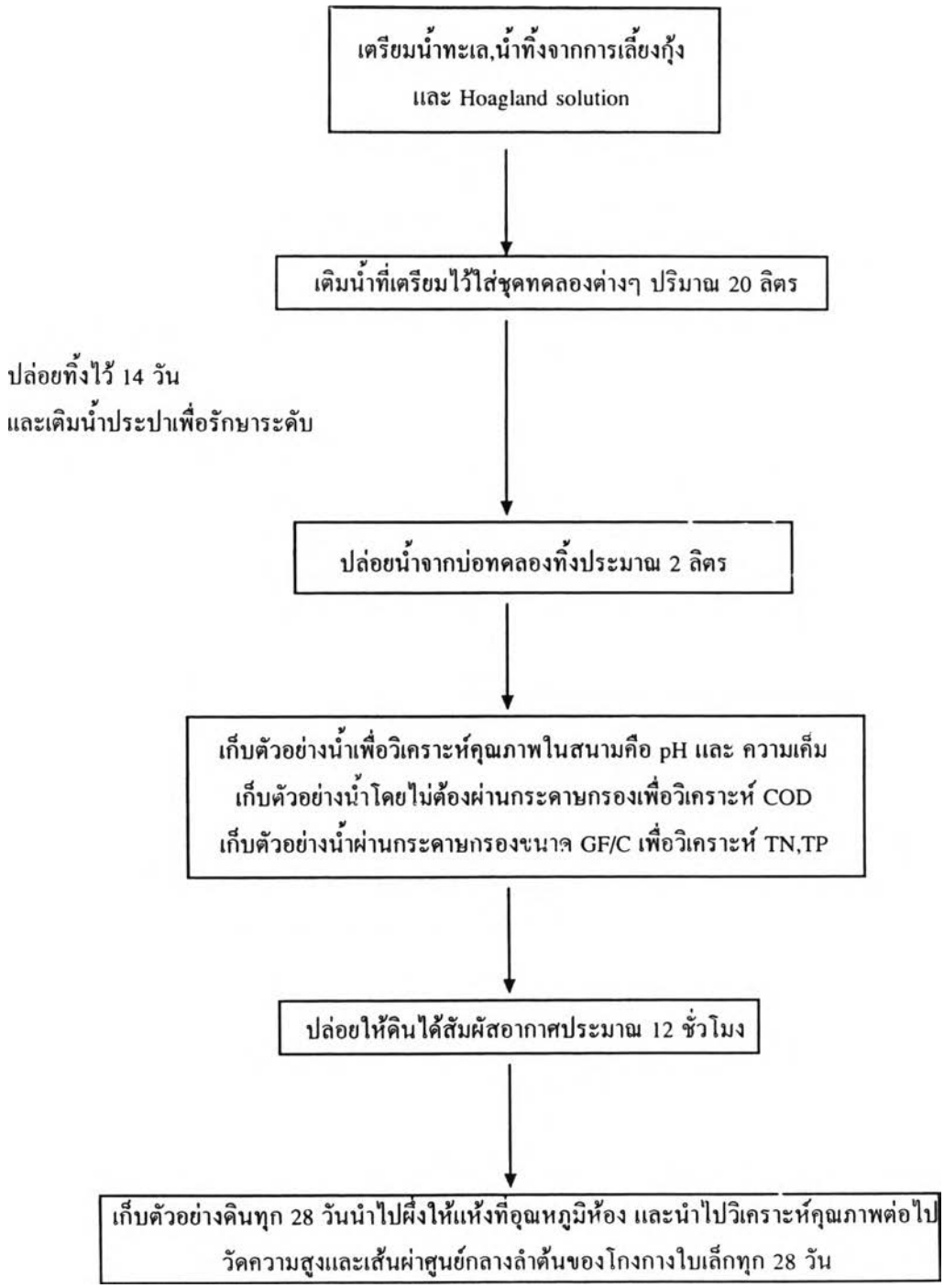
3.3.1 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ คือมวลชีวภาพ และธาตุอาหาร โดยใช้ Simple linear regression และหาค่า R^2 (Square multiple R) เพื่ออธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพของโกงกางใบเล็กที่เพิ่มขึ้น กับปริมาณธาตุอาหารที่หายไปจากระบบ

3.3.2 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของโกงกางใบเล็กที่ได้รับ น้ำทะเล น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง และ Hoagland solution โดยใช้ ANOVA และ Duncan's New Multiple range test

3.3.3 เปรียบเทียบการลดธาตุอาหารจากน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง และ Hoagland solution ของโกงกางใบเล็กโดยใช้ ANOVA และ Duncan's New Multiple range test



ภาพที่ 3.2 สมการแอลโลเมตรีที่ใช้ในการประมาณมวลชีวภาพทั้งหมดของโกงกางใบเล็ก



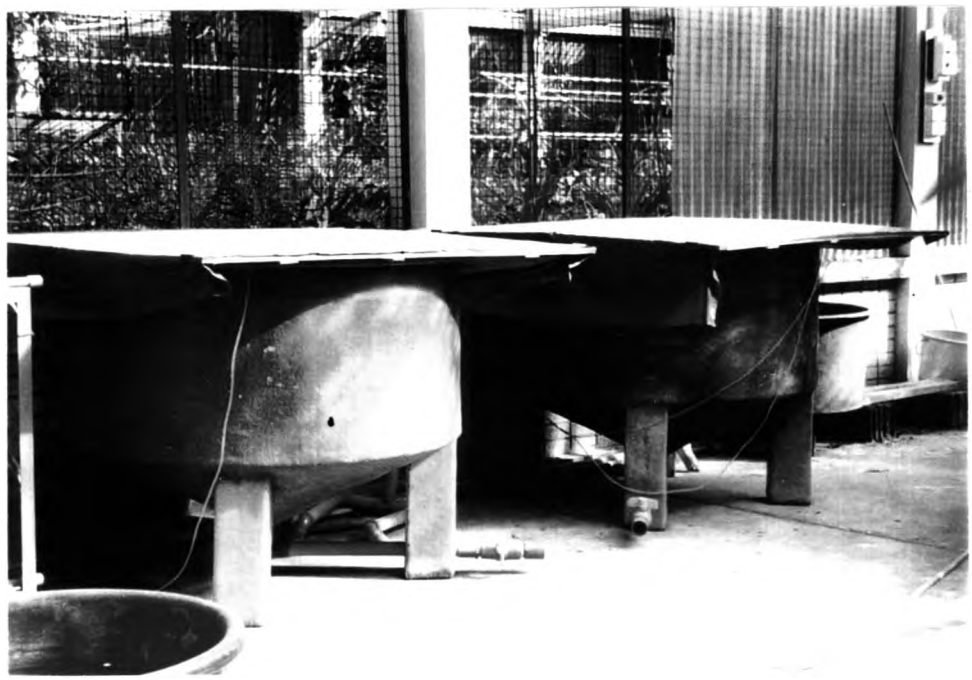
โดยเริ่มทำการทดลองเมื่อวันที่ 10 มิถุนายน พ.ศ. 2540 และสิ้นสุดการทดลองเมื่อวันที่ 19 มกราคม พ.ศ. 2541 รวมระยะเวลาในการศึกษา 224 วัน

ภาพที่ 3.3 แสดงขั้นตอนการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

(ก)

(ข)

ภาพที่ 3.4 แสดงพื้นที่ศึกษา บริเวณภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
(ก) สภาพเรือนทดลอง
(ข) ไม้โกงกางใบเล็กที่ใช้ในการศึกษา



(ก)

(ข)

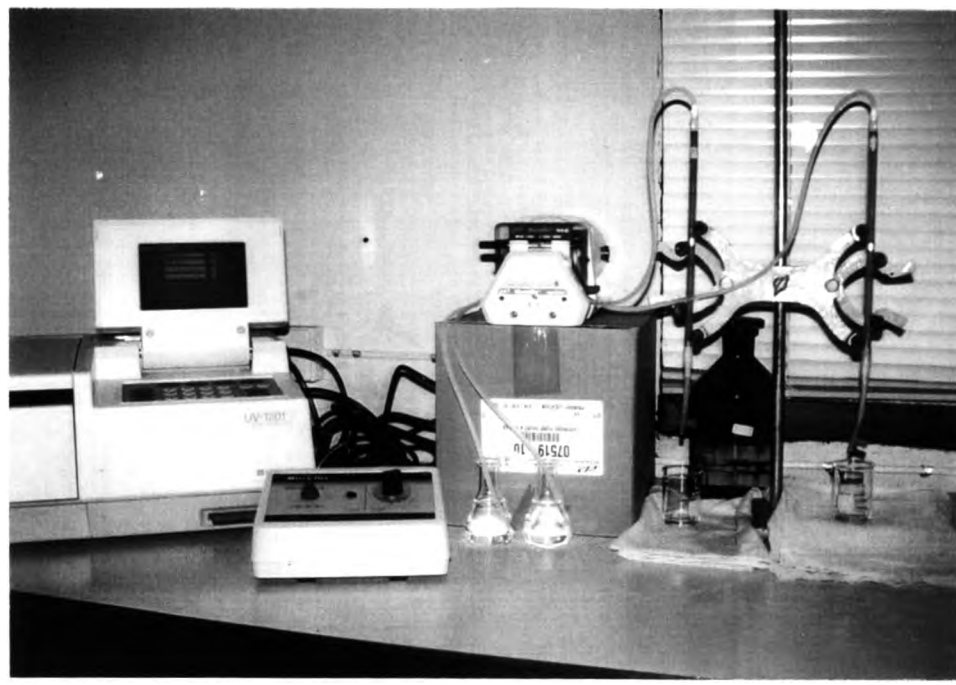
ภาพที่ 3.5 บริเวณที่เลี้ยงกุ้ง

(ก) บ่อเลี้ยงกุ้ง

(ข) ลักษณะน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

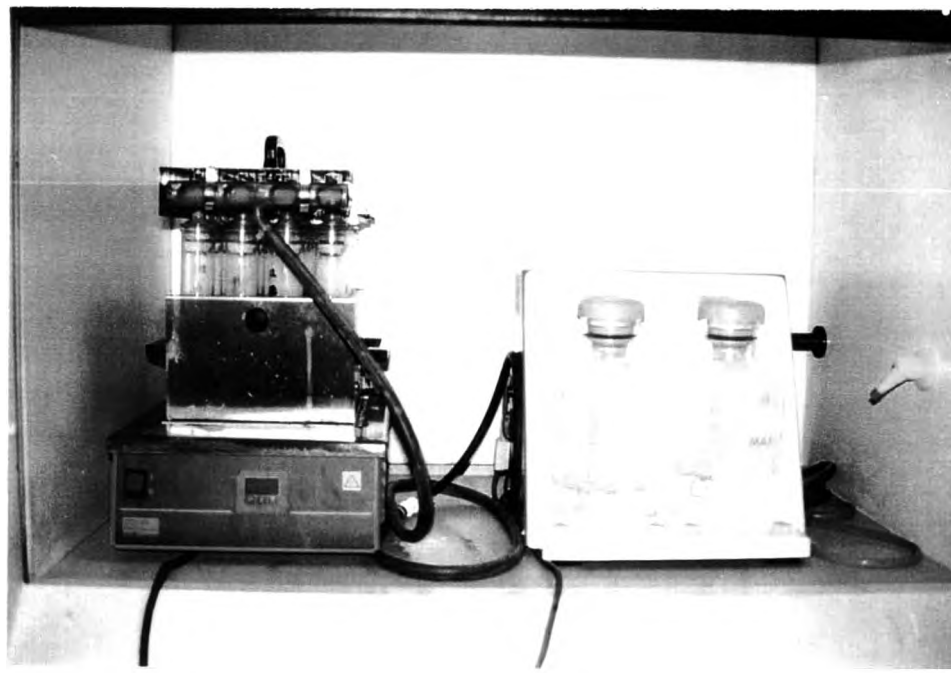
ภาพที่ 3.6 การเก็บตัวอย่างน้ำ

ภาพที่ 3.7 การกรองตัวอย่างน้ำเพื่อนำไปวิเคราะห์ธาตุอาหาร

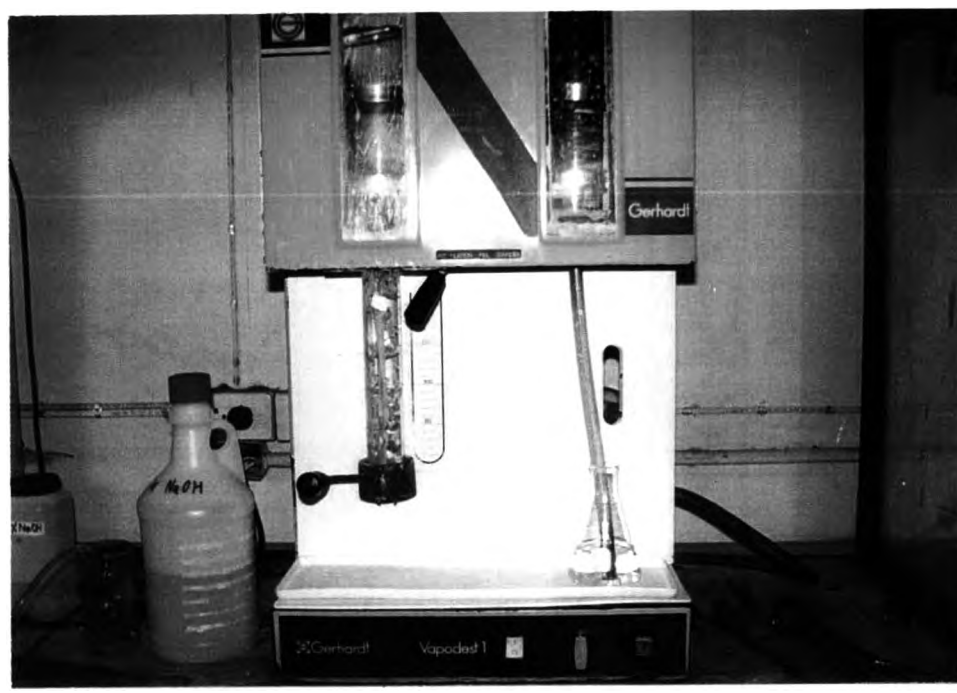


ภาพที่ 3.8 เครื่องมือการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

ภาพที่ 3.9 การเตรียมตัวอย่างดิน



(ก)



(ข)

ภาพที่ 3.10 เครื่องมือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน
(ก) การย่อยตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส
(ข) การกลั่นตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ไนโตรเจน

ภาพที่ 3.11 ตัวอย่างต้นโกงกางใบเล็กเพื่อหามวลชีวภาพ

ภาพที่ 3.12 การชั่งน้ำหนักหามวลชีวภาพของส่วนต่างๆ ของไม้โกงกางใบเล็ก

T1600017