

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเห็ด ได้แก่ มีดพก พลาสติก ถุงกระดาษ ถุงพลาสติก และขวดแก้วเก็บตัวอย่าง

1.2 กล้องถ่ายภาพแบบ digital

1.3 อุปกรณ์บันทึกข้อมูล ได้แก่ ปากกา สมุด ดินสอ ไม้บรรทัด

1.4 น้ำยาฟอร์มาลิน (formalin) ความเข้มข้น 10% ใช้สำหรับดองตัวอย่างเห็ด

1.5 อุปกรณ์ทำรอยพิมพ์สปอร์ (spore print) ได้แก่ ใบมิดโคน กระดาษครึ่งหนึ่งเป็นสีขาว อีกครึ่งหนึ่งเป็นสีดำ ถ้วยหรือแก้ว ใช้สำหรับครอบหมวกเห็ด

1.6 กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope

1.7 สารเคมีที่ใช้ย้อมสีเส้นใยและสปอร์ของรา ได้แก่ Lactophenol cotton blue

1.8 แผ่นกระจกสไลด์ แผ่นปิดสไลด์ และน้ำยาทาเล็บชนิดไม่มีสี

2. วิธีการ

2.1 ศึกษาและรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาเห็ดกินได้ เห็ดมีพิษและเห็ดที่ใช้ประโยชน์ในทางยา

2.2 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเห็ดจากพื้นที่ตามเส้นทางศึกษาธรรมชาติ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าซับลังกา โดยแบ่งเก็บเป็น 3 จุด คือฤดูหนาว (กลางเดือนต.ค.-กลางเดือน ก.พ.) ฤดูร้อน (กลางเดือน มี.ค.-กลางเดือน เม.ย.) และฤดูฝน (กลางเดือน มิ.ย.-กลางเดือน ส.ค.) และเก็บ 2 ครั้งต่อฤดูกาล โดยเก็บตัวอย่างทุกระยะการเจริญเติบโต ทั้งดอกอ่อนและดอกแก่เพื่อให้ทราบถึงการเจริญแต่ละระยะ รวมทั้งการสังเกตและบันทึกรายละเอียดต่างๆ ของลักษณะภายนอก พร้อมทั้งบันทึกภาพถ่ายเพื่อแสดงสภาพธรรมชาติที่เห็ดเจริญอยู่ รวมถึงลักษณะต่างๆ ของเห็ด และกรณีที่มีตัวอย่างมากพอจะแบ่งตัดเนื้อเยื่อสดของครีบและหมวกเก็บรักษาในน้ำยาฟอร์มาลิน 10% เพื่อใช้ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในห้องปฏิบัติการ และตัวอย่างที่เหลือนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 40-45 องศาเซลเซียสหรือผึ่งแดดให้แห้งโดยเร็วเพื่อเก็บรวบรวมไว้ศึกษาต่อไป (อนงศ์, 2529; ชีรวัดน์และ คณะ, 2547; มณฑกานติ, 2521)

2.3 การตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ทำพิมพ์สปอร์ (spore print) ตัดเนื้อเชื้อที่ดองไว้ในน้ำยาเพื่อตรวจดูโครงสร้างลักษณะภายใน เช่น ที่กำเนิดสปอร์ รูปร่างลักษณะ ขนาด และสีของสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อใช้ในการจัดจำแนกต่อไป (ธีรวัฒน์และคณะ, 2547; Bassett, 2008)

2.4 การจำแนกชนิดของเห็ด ใช้ข้อมูลที่บันทึกได้จากภาคสนาม ภาพพิมพ์สปอร์ และเนื้อเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำไปจำแนกเปรียบเทียบกับลักษณะใน Key จากเอกสารอ้างอิง รายงาน รวมทั้งงานวิจัยต่างๆ หรือหนังสือประกอบ ได้แก่ เกษม (2537), ประเมศ รัชยาวงษ์ (2544) พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์ และอุทัยวรรณ แสงวณิช (2552) และ อนงค์ จันทร์ศรีกุลและคณะ (2551) เป็นต้น รวมทั้งให้ผู้เชี่ยวชาญด้านการจัดจำแนกชนิดของเห็ดตรวจวิเคราะห์ ก่อนนำผลที่ได้สรุปจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์ รวมทั้งจัดทำคู่มือการเรียนรู้เกี่ยวกับเห็ด การจัดจำแนกชนิดและวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษของเห็ดเบื้องต้น เพื่อเผยแพร่ความรู้แก่ผู้ที่สนใจ

3. สถานที่ทำการศึกษา

ภาคสนาม เส้นทางศึกษาธรรมชาติ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าซับลังกา อำเภอลำสนธิ จังหวัดลพบุรีและห้องปฏิบัติการชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี จังหวัดลพบุรี

4. ระยะเวลาในการศึกษา

เดือนตุลาคม 2551–กันยายน 2552