

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เชื้อเห็ดโคนน้อย จากศูนย์เห็ดนานาชาติ เชียงเพือก อ.เมือง จ.เชียงใหม่
2. ก้อนเชื้อและดอกเห็ดโคนน้อย จากฟาร์มเห็ดโคนน้อยเจษฎา ถนนคันคลองชลประทาน อ.หางดง จ.เชียงใหม่
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) (ภาคผนวก ค)
4. เมล็ดข้าวฟ่าง (ภาคผนวก ง)
5. ฟางข้าวเหนียว
6. อาหารเสริม KAT 701
7. น้ำกลั่น
8. จานเพาะเชื้อ (petri-dish)
9. ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
10. ขวดแบน
11. ตะกร้าพลาสติก
12. เข็มเย็บ
13. ไบโอมิคอน
14. cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร
15. แอลกอฮอล์ 70 % และ 95 %
16. เทอร์โมมิเตอร์
17. ไม้บรรทัด
18. เครื่องวัดความเข้มแสง (Illuminance Meter Model 510 02)
19. เตาแก๊สและถังแก๊ส
20. หม้ออตุมิเนียม
21. เชือกไนลอน
22. ลำไย
23. ตู้ถ่ายเชื้อ

24. ตู้ปั๊มเชื้อ
25. กระดาษแก้วสีน้ำเงิน สีแดง สีเหลือง สีเขียว และสีใส
26. กล้องถ่ายภาพ Canon EOS 300n
27. ขาตั้งกล้องถ่ายภาพ
28. ฟิล์มสี
29. กล้องจุลทรรศน์
30. ถังพลาสติกและยางรัด
31. ถังดำ
32. กระดาษฟอลซ์
33. นาฬิกาจับเวลา
34. ตะเกียงแอลกอฮอล์
35. ไฟแช็ค
36. ขวดแก้วแบนและกลม
37. หม้อนึ่งฆ่าเชื้ออัตโนมัติ
38. โรงเรือนเพาะเห็ด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการวิจัย

1. การระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของเห็ดโคนน้อย

- 1.1 นำเชื้อเห็ดโคนน้อยที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง ภายในขวดแบน (ภาพ 11) เพาะลงบน ฟางข้าวหมัก (ภาคผนวก ค) ซึ่งบรรจุบนตะกร้าพลาสติก นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง สังเกต ผลทุกวันจนดอกเห็ดเจริญขึ้น
- 1.2 นำดอกเห็ดที่สมบูรณ์เต็มที่มาทำการศึกษาลักษณะต่างๆ ได้แก่ ขนาด รูปร่าง และ ส่วนประกอบต่างๆ ของดอกเห็ดโคนน้อย ด้วยตาเปล่า และภายใต้กล้องจุลทรรศน์
- 1.3 ระบุชื่อวิทยาศาสตร์ โดยนำลักษณะที่ได้มาใช้เป็นข้อมูล ในการระบุชื่อวิทยาศาสตร์
 - 1.3.1 เทียบกับรูปวิธาน ในหนังสือของ Moser (1978), Arora (1986) และ Ujje (2002)
 - 1.3.2 เทียบกับภาพและคำบรรยายในหนังสือของราชบัณฑิตยสถาน (2539), อนงค์ (2541) และเกษม (2537)

2. การทดสอบผลของแสงสีต่างๆ ต่อพัฒนาการของเห็ดโคนน้อย

2.1 การจัดการเจริญของเส้นใย

- 2.1.1 เพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยลงบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จนโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร
- 2.1.2 ใช้ cork borer ที่ปราศจากเชื้อ เจาะอาหารบริเวณขอบของโคโลนี ใช้เข็มเย็บย้ายชิ้นวุ้นวางคว่ำบนจานอาหาร PDA บริเวณกลางจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีน้ำเงิน แสงสีแดง แสงสีเขียว แสงสีเหลือง และแสงสีขาว โดยห่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยกระดาษแก้วสีน้ำเงิน สีแดง สีเขียว สีเหลือง และสีขาว เพื่อทดแทนสีต่างๆ แล้วนำมาวางตามจุดที่แสงแต่ละสีมีความเข้มแสงเท่ากับ 350 lux เท่ากันทุกแสงสี โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ทำการทดลองแสงสีละ 5 ชั่วโมง (ภาพ 12)
- 2.1.3 บันทึกและเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนน้อยที่บ่มภายใต้แสงสีต่างๆ โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดโคนน้อยทุกวัน

2.2 การจัดการสร้างดอกเห็ดโคนน้อย

- 2.2.1 เพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยลงบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จนโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร
- 2.2.2 ใช้ cork borer ที่ปราศจากเชื้อเจาะบริเวณขอบโคโลนี ใช้เข็มเย็บย้ายชิ้นวุ้นวางบนเมล็ดข้าวฟ่างภายในขวดรูปชมพู่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงสีต่างๆ ได้แก่ แสงสีแดง แสงสีน้ำเงิน แสงสีเขียว แสงสีเหลือง และแสงสีขาว โดยนำรูปชมพู่บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างที่เพาะเชื้อแล้วมาหุ้มด้วยกระดาษแก้วสีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง และสีขาว เพื่อทดแทนแสงสีต่างๆ แล้วนำมาวางตรงจุดที่แสงแต่ละสีมีความเข้มแสงเท่ากับ 350 lux เท่ากันทุกแสงสี โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ทำการทดลองแสงสีละ 5 ชั่วโมง
- 2.2.3 ศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของดอกเห็ดโคนน้อยโดยบันทึก
 - 2.2.3.1 ลักษณะของดอกเห็ดที่เกิดขึ้น
 - 2.2.3.2 จำนวนดอกเห็ดที่เกิดขึ้น
 - 2.2.3.3 บันทึกและเปรียบเทียบระยะเวลาในการให้ผลผลิตและการสลายตัวของดอกเห็ดทุกวัน

2.3 คัดเลือกแสงสีที่ให้ผลดีที่สุดต่อการพัฒนาการของเห็ดโคนน้อยเพื่อทดลองในขั้นต่อไป

3. การทดสอบผลของความเข้มแสงสีน้ำเงินต่อการพัฒนาการของเห็ดโคนน้อย

3.1 การวัดการเจริญของเส้นใย

3.1.1 เพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยลงบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จนโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร

3.1.2 ใช้ cork borer ที่ปราศจากเชื้อเพาะอาหารบริเวณขอบของโคโลนี ใช้เข็มเย็บย้ายชิ้นวุ้นวางคว่ำบนจานอาหาร PDA บริเวณกลางจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรงจุดที่แสงสีน้ำเงินมีความเข้มแสงต่างๆ กัน คือที่ความเข้มแสง 10, 100, 300 และ 600 lux โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่หุ้มด้วยกระดาษแก้วสีน้ำเงิน ทำการทดสอบความเข้มแสงละ 5 ชั่วโมง

3.1.3 บันทึกและเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนน้อยที่บ่มภายใต้ความเข้มแสงต่างๆ โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดโคนน้อยทุกวัน

3.2 การสร้างดอกเห็ดโคนน้อย

3.2.1 เพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยลงบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จนโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร

3.2.2 ใช้ cork borer ที่ปราศจากเชื้อเจาะบริเวณขอบโคโลนี ใช้เข็มเย็บย้ายชิ้นวุ้นวางบนแม่พิมพ์ข้าวฟ่างภายในขวดรูปชมพู่ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำไปวางตรงจุดที่มีความเข้มแสงต่างๆ กันคือที่ 10, 100, 300 และ 600 lux โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่หุ้มด้วยกระดาษแก้วสีน้ำเงิน ทำการทดสอบความเข้มแสงละ 5 ชั่วโมง

3.2.3 ศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของดอกเห็ดโดยบันทึก

3.2.3.1 ลักษณะของดอกเห็ดที่เกิดขึ้น

3.2.3.2 จำนวนดอกเห็ดที่เกิดขึ้น

3.2.3.3 บันทึกและเปรียบเทียบระยะเวลาในการให้ผลผลิตและการสลายตัวของดอกเห็ดทุกวัน

3.3 คัดเลือกความเข้มแสงสีน้ำเงินที่ให้ผลดีที่สุดต่อการพัฒนาการของเห็ดโคนน้อยเพื่อทดลองในขั้นต่อไป

4. การทดสอบผลของระยะเวลาในการให้แสงน้ำเงินต่อการพัฒนาการของเห็ดโคนน้อย

4.1 การเจริญของเส้นใย

- 4.1.1 เพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยลงบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จนโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร
- 4.1.2 ใช้ cork borer ที่ปราศจากเชื้อจะอาหารบริเวณขอบของโคโลนี ใช้เข็มเย็บย้าย ชิ้นวงวางคว่ำบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA กลางจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำไปวางตรงจุดที่แสงสีน้ำเงินมีความเข้มแสง 300 lux และให้แสง ในระยะเวลาต่างๆ กัน คือ 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน โดยใช้แสงจากหลอด ฟลูออเรสเซนต์ที่หุ้มด้วยกระดาษแก้วสีน้ำเงิน ทำการทดลองช่วงเวลาละ 5 ชั่วโมง
- 4.1.3 บันทึกและเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยภายใต้แสงสีต่างๆ โดยวัดขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดโคนน้อยทุกวัน

4.2 การสร้างดอกเห็ดโคนน้อย

- 4.2.1 เพาะเชื้อเห็ดโคนน้อยลงบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จนโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร
- 4.2.2 ใช้ cork borer ที่ปราศจากเชื้อจะอาหารบริเวณขอบโคโลนี ใช้เข็มเย็บย้าย ชิ้นวงวางบน เมล็ดข้าวฟ่างภายในขวดรูปชมพู่ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำไปวางตรง จุดที่แสงสีน้ำเงินมีความเข้มแสง 300 lux และให้แสงสว่างเป็นระยะเวลาต่างๆ กัน คือ 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน โดยใช้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่หุ้มด้วย กระดาษแก้วสีน้ำเงิน ทำการทดลองช่วงเวลาละ 5 ชั่วโมง
- 4.2.3 ศึกษาการเจริญเติบโต และพัฒนาการของเห็ดโดยบันทึก
 - 4.2.3.1 ลักษณะของดอกเห็ดที่เกิดขึ้น
 - 4.2.3.2 จำนวนดอกเห็ดที่เกิดขึ้น
 - 4.2.3.3 บันทึกและเปรียบเทียบระยะเวลาในการให้ผลผลิตและการสลายตัวของ ดอกเห็ดทุกครั้งเมื่อถึงเวลาให้แสงตามกำหนดเวลาคือ 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

4.3 คัดเลือกระยะเวลาการให้แสงที่ให้ผลดีที่สุดต่อการพัฒนาการของเห็ดโคนน้อยเพื่อทดลองใน ขั้นต่อไป

5. การทดสอบการให้ผลผลิตเห็ดโคนน้อยโดยใช้วิธีเพาะแบบมัดกอง

- 5.1 เตรียมก้อนเชื้อเห็ดโคนน้อย (ภาคผนวก จ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนเส้นใยเดินเต็มก้อนเชื้อเห็ด
- 5.2 เตรียมฟางข้าวตามวิธีของอานนท์ (2541) และโรยเชื้อเห็ดโคนน้อยบนฟางข้าว โดยใช้ก้อนเชื้อเห็ดโคนน้อย 1 ก้อน ต่อมัดฟางข้าว 1 ฟ่อน (ภาคผนวก ก)
- 5.3 นำกองฟางที่โรยเชื้อเห็ดแล้วไปบ่มภายในตูบ่มที่ทำการควบคุมสภาวะแสงที่ เหมาะสมกับเห็ดโคนน้อยโดยใช้ข้อมูลจากการทดลองข้อ 2, 3 และ 4 ทำการทดลองเปรียบเทียบกับกองฟางที่โรยเชื้อเห็ดแล้วนำไปบ่มภายในโรงเรือนเพาะเห็ดของ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ภาพ 13)
- 5.4 ตรวจผลในเวลา 11:00 น. ทุกวัน เป็นเวลา 30 วัน บันทึกผลการทดลองโดยศึกษาถึง
 - 5.4.1 นับจำนวนดอกเห็ดที่เจริญเติบโตขึ้นบนกองในแต่ละวัน
 - 5.4.2 เก็บดอกเห็ดที่เจริญสมบูรณ์ไปทำการชั่งน้ำหนักดอกเห็ดสด



ภาพ 11 เชื้อเห็ดโคนน้อยที่เส้นใยเดินเต็มมัดฟางข้าวภายในขวดแบน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส 7 วัน



ภาพ 12 การบ่มเชื้อภายในตู้บ่มเพื่อทดสอบอิทธิพลของแสงในลักษณะต่างๆ



ภาพ 13 โรงเรือนเพาะเห็ด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดโคนน้อยด้วยวิธีแบบมัดกองภายใต้แสงธรรมชาติ