

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 วัสดุ – อุปกรณ์

- 1) ตะกร้ามีหูหิ้ว
- 2) กระดาษใบ
- 3) กระดาษไนต์
- 4) กรรไกร
- 5) ถังพลาสติกใส
- 6) ขางรด
- 7) ไม้บรรทัด
- 8) หลอดหยดสาร
- 9) มีด
- 10) คีมคีบ
- 11) เข็มเย็บ
- 12) สไลด์และกระจกปิดสไลด์
- 13) กระดาษขาว-ดำ
- 14) ปีกเกอร์
- 15) ตระแกรงเหล็ก
- 16) กระบอกน้ำกลั่น
- 17) น้ำกลั่น

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- 2) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3) ตู้อบลมร้อนหรือตู้อบสุญญากาศ
- 4) กล้องจุลทรรศน์ 3 มิติ
- 5) กล้องถ่ายภาพดิจิทัล

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 เก็บข้อมูลด้านเอกสาร

3.2.1.1 ศึกษาพื้นที่ของอำเภอแม่ริม และอำเภอแม่แตง

3.2.1.2 เก็บรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่วิจัย

3.2.1.3 กำหนดพื้นที่โดยให้ครอบคลุมเขตพื้นที่ เส้นทางสำรวจเส้นทางหลักที่ชาวบ้านใช้ในการหาของป่า หมู่บ้านเอืยก ตำบลสันป่ายาง อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และหมู่บ้านพระบาทสี่รอย ตำบลสะลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

3.2.2 การสำรวจเห็ดป่าในบริเวณที่ศึกษา

3.2.2.1 ออกสำรวจเห็ดป่าในพื้นที่ โดยการเลือกเก็บตัวอย่าง พื้นที่หมู่บ้านเอืยก ตำบลสันป่ายาง อำเภอแม่แตง และในเขตพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสี่รอย ตำบลสะลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยจะออกสำรวจพื้นที่ดังกล่าว ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2552

3.2.2.2 กำหนดพื้นที่ศึกษา โดยใช้เส้นทางเดินหาของป่าของชาวบ้านในพื้นที่ของชุมชน เพื่อสำรวจความหลากหลายของเห็ดป่าในพื้นที่หมู่บ้านเอืยก ตำบลสันป่ายาง อำเภอแม่แตง และในพื้นที่หมู่บ้านพระบาทสี่รอย ตำบลสะลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยให้กระจายและครอบคลุมทั่วทั้งพื้นที่สำรวจ

3.2.2.3 ติดต่อผู้นำทางที่มีความรู้เกี่ยวกับเส้นทางในบริเวณที่ศึกษาเป็นอย่างดี

3.2.2.4 สำรวจและเก็บตัวอย่างเห็ดป่าได้ทุกชนิดที่พบ ลักษณะทางกายภาพ รูปทรง ดอกเห็ด และรอยพิมพ์สปอร์ พร้อมบันทึกภาพประกอบ พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างเห็ดป่าไม่ทราบชื่อมาจำแนก

ชนิดโดยใช้หนังสือรูปวิธาน (key) ภาพประกอบคำบรรยายในหนังสือ อนงค์และคณะ (2551), ราชบัณฑิตยสถาน (2539)

3.2.2.5 บันทึกภาพและเก็บตัวอย่างเห็ด รวบรวมตัวอย่างเห็ดในบริเวณที่กำหนดโดยมีขั้นตอนดังนี้

- 1) เก็บเห็ดในฤดูฝน โดยเฉพาะตอนต้นฤดูฝนช่วงเดือนเมษายน หรือภายหลังจากที่มีฝนตกลงมาแล้ว 3-4 วัน และมีแสงส่องจนถึงพื้นดินอบอู่ในบริเวณนั้น
- 2) สำรวจลักษณะของแต่ละบริเวณที่มีการเจริญของดอกเห็ดว่ามีการเจริญบริเวณหรือใกล้สิ่งมีชีวิตใด
- 3) เก็บดอกเห็ดในหลายๆ ขั้นตอนของการเจริญเติบโตของเห็ด คือ เก็บตั้งแต่ดอกเห็ดอ่อนจนถึงดอกแก่
- 4) เก็บดอกเห็ดที่มีส่วนประกอบต่างๆ ที่สมบูรณ์เพื่อจะได้แน่ใจว่าเป็นชนิดที่ถูกต้อง แยกสิ่งสกปรก เช่น เศษหญ้า ดินและซากพืชที่ติดมาออกให้หมดโดยใช้มีดขนาดเล็กเหมือน
- 5) เก็บดอกเห็ดแต่ละชนิดใส่ในถุงกระดาษใบแล้วห่อแยกกัน การเก็บรวบรวมอาจเกิดการปนเปื้อนของสปอร์หรือระยะวัยในการเก็บ
- 6) ในการเก็บดอกเห็ดไม่ควรใช้ถุงพลาสติกใส่เห็ด เพราะภายในถุงพลาสติกมีอุณหภูมิและความชื้นสูง เป็นสาเหตุให้เห็ดเน่าเร็วขึ้น ภาชนะที่เก็บควรเก็บรักษาความชื้นของดอกไว้ได้ เพราะถ้าดอกแห้งเกินไปสีของดอกอาจเปลี่ยนไป
- 7) เมื่อทำการแยกเห็ดแล้ว ควรใช้ตะกร้าที่มีก้นแบน ปากกว้าง มีความลึกพอสมควร และมีหูหิ้วที่แข็งแรง เพื่อเป็นการป้องกันการกดทับกันของเห็ดดอกเห็ดและเพื่อเป็นการรักษาสภาพของดอกเห็ด
- 8) ขณะที่เก็บต้องสังเกตและจดบันทึกลักษณะที่อยู่ไม่คงทน การติดของแผ่นเส้นใยหรือสะเก็ดบนหมวกหรือที่ขอบหมวก แผ่นเส้นใยบางๆ บนก้าน หยอดของเหลวบนครีบบนหรือเกล็ดสีขาวที่ขอบครีบบน และการเปลี่ยนสีของดอกเห็ดเมื่อถูกสัมผัสหรือเกิดรอยขีด
- 9) จดบันทึกสภาพที่ดอกเห็ดเจริญเติบโตอยู่ เช่น ดอกเห็ดขึ้นอยู่บนสิ่งใด ต้นไม้ที่อยู่ใกล้เคียงคือต้นไม้ใด ชนิดของป่าที่สำรวจเป็นป่าชนิดใด ดอกเห็ดเกิดเดี่ยวๆ หรือ กระจายอยู่ห่างๆ

กัน หรือเกิดเป็นกลุ่มอยู่ใกล้ๆกัน หรือเป็นกระจุก และวิธีที่ดีที่สุดในการสำรวจคือการถ่ายรูปไว้เป็นหลักฐาน

10) อธิบายลักษณะภายนอกของดอกเห็ด และทำรอยพิมพ์สปอร์ (spore print) ในขณะที่ดอกเห็ดยังสดอยู่ เมื่อบันทึกลักษณะภายนอกเรียบร้อยแล้ว ถ้าสามารถวินิจฉัยชื่อดอกเห็ดได้ถึงระดับสกุล (genus) และชนิด (species) การที่จะทำให้เสร็จ แต่ถ้าไม่สามารถทำได้ ควรเก็บดอกเห็ดไว้ในที่ที่เย็นหรือแห้ง เช่น ในตู้เย็นช่องธรรมดา หรือนำดอกเห็ด ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งดีแล้ว นำออกมาเก็บในถุงพลาสติกและปิดปากถุงให้สนิท

11) การสำรวจแต่ละครั้งจะต้องบันทึกลักษณะของเห็ดสด เช่น รูปร่าง ขนาด สี ลักษณะของหมวกดอก ก้าน สภาพที่ดอกเห็ดเจริญอยู่ และชนิดของป่า

3.2.3 การทำรอยพิมพ์สปอร์และศึกษาลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2.3.1 เลือกดอกเห็ดที่โตเต็มที่และยังสดอยู่มา 1 ดอก ใช้ใบมีดที่คมตัดส่วนหมวกเห็ดออกจากก้าน แล้วคว่ำหมวกเห็ดลงบนกึ่งกลางของแผ่นกระดาษรอยพิมพ์สปอร์ (ข้างหนึ่งมีสีขาวอีกข้างหนึ่งมีสีดำ) จากนั้นนำจานแก้วหรือถ้วยมาครอบบริเวณหมวกเห็ด ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือถ้าหากว่ายังไม่เห็นรอยสปอร์ก็ทิ้งไว้อีกหลายๆชั่วโมงอาจข้ามคืนเพื่อที่จะได้เห็นรอยพิมพ์สปอร์ที่ตกลงบนแผ่นกระดาษได้ชัดเจน และยิ่งจะทราบรายละเอียดของการเรียงตัวของก้านเห็ดด้วยสีของสปอร์ที่สามารถมองเห็นได้ จะเห็นได้ว่าสปอร์ของเห็ดที่มีสีขาวจะเห็นได้ชัดเจนบนกระดาษสีดำ และสปอร์ที่เป็นสีเทา สีน้ำตาล มองเห็นได้ชัดเจนบนกระดาษสีขาว ภายใต้แสงสีของสปอร์แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มสีขาวหรือกลุ่มสีอ่อน ได้แก่ สีขาว สีครีม สีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลืองและสีเขียวอ่อน กลุ่มสีชมพูอ่อนจนถึงสีชมพูแก่และน้ำตาลอมชมพู กลุ่มสีน้ำตาลปนเหลืองจนถึงสีน้ำตาลปนแดงหรือสีส้มเหลือง กลุ่มสีน้ำตาลปนม่วงจนถึงสีน้ำตาลปนสีช็อคโกแลต และกลุ่มสีเทापนดำจนถึงสีดำ

3.2.3.2 ทำการศึกษาโครงสร้างสปอร์ของเห็ด โดยการส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบเพื่อดูลักษณะของสปอร์

3.2.3.3 จัดจำแนกตามหลักอนุกรมวิธานโดยคุณลักษณะและคุณสมบัติที่กล่าวมาต้องนำมาเปรียบเทียบตรวจสอบตามขั้นตอนโดยอ้างอิงกับหนังสือคู่มือเรื่องเห็ดและเอกสารต่างๆที่ใช้เป็นหลักในการจัดจำแนก

3.2.4 เก็บตัวอย่างเห็ดป่า

นำเห็ดป่าจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างไปทำการอบแห้งเพื่อเก็บไว้เป็นตัวอย่างแห้ง โดยบันทึกข้อมูลของแหล่งที่เก็บตัวอย่าง และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด

3.2.5 คำนวณค่าดัชนีความหลากหลาย (Diversity Index) และค่าดัชนีความเท่าเทียม (Evenness Index) (ธีรพงษ์ และ กิตติ ,2542 ; Anonymouse, 2002)

1. ค่าดัชนีความหลากหลาย (Diversity Index) ค่าดังกล่าวเป็นดัชนีบ่งชี้ให้เห็นว่าในพื้นที่ที่ศึกษานั้นมีความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดของเห็ดป่าและปริมาณของเห็ดป่าแต่ละชนิดที่กระจายอยู่ในพื้นที่นั้นๆ มากน้อยเพียงใด นั่นคือ การแสดงถึงความหลากหลายนั่นเอง ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

สูตร

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left[\left(\frac{n_i}{N} \right) \ln \left(\frac{n_i}{N} \right) \right]$$

เมื่อ

H' = Shannon – Wiener's index
 n_i = จำนวนเห็ดป่าแต่ละชนิด
 N = จำนวนเห็ดป่าทั้งหมดในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

2. ค่าดัชนีความเท่าเทียม (Evenness Index) ค่าดังกล่าวเป็นดัชนีบ่งชี้ให้เห็นว่าพื้นที่ที่ศึกษานั้นมีเห็ดป่าแต่ละชนิดกระจายอยู่อย่างสม่ำเสมอมากน้อยเพียงใด ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตรของ Pielou คือ

สูตร

$$E_1 = \frac{H'}{\ln(S)}$$

เมื่อ

H' = Diversity Index of Shannon

S = จำนวนชนิดเห็ดทั้งหมด (Krebs, 1989)

3.2.6 ประมวลผลการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลจากการวิจัยและสรุปผลการวิจัย โดยการวิเคราะห์ผลทางสถิติ คือค่าดัชนีความหลากหลาย (Diversity Index) และค่าดัชนีความเท่าเทียม (Evenness Index) และโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS