

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีวิจัย ได้ดำเนินการวิจัยเชิงปฏิบัติการโดยเน้นกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน (Participatory Action Research; PAR) ดังนี้

1) การสำรวจและรวบรวมข้อมูลความหลากหลายและการกระจายตัวของเห็ดท้องถิ่นในธรรมชาติ

(1) ศึกษาและรวบรวมองค์ความรู้เกี่ยวกับภูมิปัญญาในการจัดการและใช้ประโยชน์จากเห็ดท้องถิ่นในแต่ละภูมิสังคม และประเมินการใช้ประโยชน์และมูลค่าจากเห็ดท้องถิ่นและอาหารจากเห็ดในชุมชน โดยการสังเกต สัมภาษณ์ และแบบสอบถาม ในพื้นที่ใหม่ 3 แห่ง ได้แก่ โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงแม่ละออ จ.เชียงใหม่ โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงน้ำแบ่ง และโป่งคำ จ.น่าน

(2) สำรวจความหลากหลายและจำแนกชนิดเห็ดท้องถิ่นตามกลุ่มการใช้ประโยชน์ (เห็ดสำหรับบริโภคเป็นอาหาร เห็ดที่มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพร และเห็ดพิษ) โดยตรวจสอบลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อระบุชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้คู่มือรูปวิธานของเห็ดต่างๆ ตามระบบของ Ainsworth *et al.* (1973) และเทียบรูปและคำบรรยายจากหนังสือต่างๆ เช่น ศศิธรและอาศยา (2549) ราชบัณฑิตยสถาน (2550) และ อนงค์และคณะ (2551) เป็นต้น

(3) คัดเลือกชนิดเห็ดท้องถิ่น อย่างน้อย 3 ชนิด ที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์จากการตรวจเอกสาร และ/หรือ ข้อมูลภูมิปัญญาท้องถิ่น เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการความเป็นพิษ และปริมาณสารสำคัญ เช่น สารกลุ่ม Triterpenoid และ Polysaccharide เป็นต้น

(4) จัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายของเห็ดท้องถิ่น และจัดเก็บตัวอย่างทางอนุกรมวิธาน

2) การศึกษาและทดสอบวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดท้องถิ่นที่มีศักยภาพ สำหรับบริโภคและสร้างรายได้เสริมให้กับชุมชน

(1) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดขอนขาวที่เหมาะสมกับพื้นที่

1) พื้นที่ศึกษา: ดำเนินงานร่วมกับเกษตรกรในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงป่าเมี่ยง อ.ดอยสะเก็ด โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางมะโอ จ.เชียงใหม่ และโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงโป่งคำ จ.น่าน

2) ขั้นตอนดำเนินงาน

(1) เตรียมวัสดุและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบ

- คัดเลือกสายพันธุ์เห็ดขอนขาวในท้องถิ่น 3 สายพันธุ์ ที่นิยมบริโภคในชุมชนและสามารถให้ผลผลิตได้ดี

- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อาหารวุ้นพีดีเอ (PDA) และเมล็ดข้าวฟ่าง

- โรงเรือนเพาะเห็ด

(2) เตรียมเส้นใยเห็ดขอนขาวทั้ง 3 สายพันธุ์ บนอาหารวุ้นพีดีเอ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดเส้นใยบริสุทธิ์แต่ละสายพันธุ์ที่เจริญบนอาหารวุ้นพีดีเออายุ 5 วัน นำไปวางบนอาหารพีดีเอใหม่ในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญและบันทึกผล

(3) เตรียมเส้นใยเห็ดขอนขาวทั้ง 3 สายพันธุ์ ในอาหารเพาะหัวเชื้อขยาย โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดเส้นใยเห็ดแต่ละสายพันธุ์ที่ได้จากข้อ (2) ที่เจริญได้ 5 วัน นำไปใส่ในอาหารข้าวฟ่าง อาหารเหลวพีดีบี (PDB) และแท่งไม้ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญและบันทึกผล

3) วิธีการเพาะเห็ด

(1) ทดสอบการเพาะเห็ดขอนขาวในถุงพลาสติกเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ท้องถิ่น 3 สายพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ (1 ซ้ำ = 10 ก้อนเชื้อเห็ด)

(2) ใช้วิธีการเพาะเห็ดแบบเพาะในถุงพลาสติก โดยใช้สูตรอาหารเพาะดังนี้ ตารางที่ 3.1 สูตรส่วนผสมวัสดุเพาะเห็ด

ชนิดของส่วนผสม	ปริมาณส่วนผสม	หน่วยนับ
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา	100	กิโลกรัม
รำข้าวละเอียด (กก.)	8	กิโลกรัม
น้ำตาลทรายแดง (กก.)	1	กิโลกรัม
ปูนขาว (แคลเซียมคาร์บอเนต) (กก.)	1	กิโลกรัม
ยิปซั่ม (แคลเซียมซัลเฟต) (กก.)	1	กิโลกรัม
ดีเกลือ (แมกนีเซียมซัลเฟต) (กก.)	0.2	กิโลกรัม
น้ำ (ความชื้นประมาณ 65-70%)	50-60	ลิตร

(3) บันทึกการเจริญของเส้นใยทุกๆ 5 วัน จนกระทั่งเต็มถุง และบันทึกวันที่เริ่มออกดอก

4) การบันทึกข้อมูล

(1) บันทึกอุณหภูมิ ความเข้มแสง และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศทุกวัน โดยใช้ data logger

(2) บันทึกการเจริญของเส้นใยทุกๆ 5 วัน จนกระทั่งเต็มถุง และบันทึกวันที่เริ่มออกดอก

(3) บันทึกน้ำหนักผลผลิตต่อก้อน และน้ำหนักรวม

(2) ทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ดตับเต่าและเห็ดเผาะ (ไมคอร์ไรซา) ร่วมกับพืชอาศัย

1) พื้นที่ศึกษา: ดำเนินงานร่วมกับเกษตรกรในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงตีนตก อ.แม่เอน โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงปางมะโอ จ.เชียงใหม่ และโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงโป่งคำ จ.น่าน

2) ขั้นตอนดำเนินงาน

(1) การทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชอาศัยในโรงเรือนเพาะชำ

1) ศึกษาและรวบรวมข้อมูลพืชท้องถิ่น และทำการคัดเลือกพืช 4 ชนิด รวมทั้งจัดเตรียมกล้าไม้สำหรับการทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ดเหาะและเห็ดตับเต่า

2) เตรียมหัวเชื้อเห็ดในอาหารวันแข็ง อาหารเหลวพีดีบี และสปอร์เห็ด

3) ทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชอาศัยในโรงเรือนเพาะชำ โดยใช้พืช 4 ชนิด เช่น ต้นแค ต้นหว้า ไม้วงศ์ยาง และมะนาว เป็นต้น ใส่เชื้อเห็ดตับเต่าและเห็ดเหาะ 4 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ 1 ไม่ใส่เชื้อเห็ด รูปแบบที่ 2 ใส่เชื้อเห็ดตับเต่าเพียงอย่างเดียว รูปแบบที่ 3 ใส่เชื้อเห็ดเหาะเพียงอย่างเดียว รูปแบบที่ 4 ใส่เชื้อผสมระหว่างเห็ดเหาะและเห็ดตับเต่า โดยใช้วัสดุปลูก 2 แบบ คือ แบบที่ 1 ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แบบที่ 2 ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยออกแบบการทดลองแบบ factorial in CRD (4x4) จำนวน 5 ซ้ำ

(2) การทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชอาศัยในสภาพธรรมชาติ

1) ทำการคัดเลือกพื้นที่และกำหนดแปลงทดสอบขนาด 40 x 40 เมตร จำนวน 4 แปลง

2) คัดเลือกพืชอาศัย 2 ชนิดที่อยู่ภายในแปลงทดสอบ และจัดเตรียมกล้าไม้สำหรับการทดสอบการเพาะเห็ดเหาะและเห็ดตับเต่า

3) ทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชอาศัยในสภาพธรรมชาติ โดยการใส่เชื้อ 4 รูปแบบ คือ แปลงที่ 1 ไม่ใส่เชื้อเห็ด แปลงที่ 2 ใส่เชื้อเห็ดในกล้าไม้แล้วนำไปปลูก แปลงที่ 3 ใส่เชื้อเห็ดแบบเส้นใย แปลงที่ 4 ใส่เชื้อเห็ดในรูปของสปอร์ ในพืช 2 ชนิด โดยออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ

(3) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยและเห็ด รวมทั้งจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เทคนิคทางจุลชีววิทยา เช่น การย้อมสีรากพืชและเชื้อเพื่อดูการเข้าสู่ราก การแยกเชื้อและทดสอบความเป็นพิษ

(4) ศึกษาดูงานเกี่ยวกับการเพาะขยายพันธุ์เห็ดไมคอร์ไรซาในสภาพธรรมชาติ และการจัดการในการนำมาใช้ประโยชน์ เพื่อแลกเปลี่ยนเรียนรู้และนำมาปรับใช้ในชุมชน

3) การบันทึกข้อมูล

(1) การทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชอาศัยในโรงเรือนเพาะชำ

1) บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นแสง และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศทุกวัน โดยใช้ data logger

2) สังเกตการณ์เจริญเติบโตของพืชอาศัย และตรวจสอบการเข้าสู่รากพืชของเส้นใยเห็ดทุก 1 เดือน จนกระทั่งเห็ดออกดอก

(2) การทดสอบการอยู่ร่วมกันระหว่างเห็ดและพืชอาศัยในสภาพธรรมชาติ

1) บันทึกอุณหภูมิ ความเข้มแสง และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศทุกวัน โดยใช้ data logger

2) ตรวจสอบการเข้าสู่รากพืชของเส้นใยเห็ดทุก 1 เดือน จนกระทั่งเห็ดออกดอก

(3) การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยและเห็ด รวมทั้งจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชในห้องปฏิบัติการ

1) สังเกตการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารวุ้นและบันทึกข้อมูลทุกวัน

2) บันทึกร้อยละของการเข้าสู่รากพืช

3) บันทึกข้อมูลของจุลินทรีย์บริเวณรอบราก (rhizosphere) ที่พบ

(3) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดโคนในสภาพจำลองและในสภาพธรรมชาติ

1) พื้นที่ศึกษา: โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง 4 พื้นที่ ได้แก่ คลองลาน ห้วยเขย่ง โหล่งขอด แม่สลอง

2) ขั้นตอนดำเนินงาน

(1) การสำรวจและรวบรวมตัวอย่าง

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเห็ดโคนจากพื้นที่ศึกษา และระบุพิกัดที่พบเห็ดด้วย GPS

2) นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาแยกเชื้อ เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อแช่แข็งไว้สกัดสารพันธุกรรม (DNA) และทำแห้งตัวอย่าง

3) ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และระบุชนิด

(2) ทดสอบการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคนแต่ละชนิดที่ได้จากการรวบรวม ในอาหารวุ้น malt extract agar, Potato dextrose agar และอาหารสูตรดัดแปลง grain-malt extract agar, MMC agar

(3) ทดสอบการเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ โดยการใส่เชื้อในรังปลวก และระบุพิกัด

1) ใส่เชื้อในรังปลวกโดยตรง 2 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ 1 เส้นใยเห็ด รูปแบบที่ 2 สปอร์เห็ด

2) ใส่เชื้อ 2 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ 1 เส้นใยเห็ด รูปแบบที่ 2 สปอร์เห็ด ในเศษใบไม้อัดกอง

3) การบันทึกข้อมูล

(1) บันทึกการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้นและอาหารสูตรดัดแปลง โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางทุกวัน

(2) บันทึกการเปลี่ยนแปลงของรังปลวกที่ใส่เชื้อทุกเดือน จนกระทั่งเห็ดออกดอก

3) การสร้างเครือข่ายและพัฒนาแหล่งเรียนรู้การอนุรักษ์ ฟันฟู และการใช้ประโยชน์เห็ดท้องถิ่น โดยกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน

(1) การจัดทำแผนการดำเนินงานของกลุ่ม

กิจกรรม	ปีงบประมาณ พ.ศ.2560											
	ตค	พย	ธค	มค	กพ	มีค	เมย	พค	มิย	กค	สค	กย
1.1) ศึกษาและรวบรวมองค์ความรู้เกี่ยวกับภูมิปัญญาในการจัดการและใช้ประโยชน์จากเห็ดท้องถิ่นในแต่ละภูมิสังคม และประเมินการใช้ประโยชน์และมูลค่าจากเห็ดท้องถิ่นและอาหารจากเห็ดในชุมชน โดยการสังเกต สัมภาษณ์ และแบบสอบถาม		↔		↔		↔		↔				
1.2) สํารวจความหลากหลายและจำแนกชนิดเห็ดท้องถิ่นตามกลุ่มการใช้ประโยชน์ (เห็ดสำหรับบริโภคเป็นอาหาร เห็ดที่มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพร และเห็ดพิษ) โดยตรวจสอบลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อระบุชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้คู่มือรูปวิธานของเห็ดต่างๆ		↔		↔						↔		
1.3) คัดเลือกชนิดเห็ดท้องถิ่น อย่างน้อย 3 ชนิด ที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์จากการตรวจเอกสาร และ/หรือ ข้อมูลภูมิปัญญาท้องถิ่น เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ความเป็นพิษ และปริมาณสารสำคัญ						↔						
1.4) จัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายของเห็ดท้องถิ่น และจัดเก็บตัวอย่างทางอนุกรมวิธาน						↔						
2. การศึกษาและทดสอบวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดท้องถิ่นที่มีศักยภาพสำหรับบริโภคและสร้างรายได้เสริมให้กับชุมชน		↔		↔		↔		↔		↔		↔
2.1) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดของชาวที่เหมาะสมกับพื้นที่			↔			↔		↔				

กิจกรรม	ปีงบประมาณ พ.ศ.2560											
	ตค	พย	ธค	มค	กพ	มีค	เมย	พค	มิย	กค	สค	กย
2.2) ทดสอบการเพาะเลี้ยงเห็ด ตับเต่าและเห็ดเผาะ (ไมคอร์ไรซา) ร่วมกับพีชอคัย		←	→					←	→			
2.3) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดโคนใน สภาพจำลองและในสภาพธรรมชาติ			←	→				←	→			
2.4) ศึกษาดูงานเกี่ยวกับการเพาะ ขยายพันธุ์เห็ดไมคอร์ไรซาในสภาพ ธรรมชาติ และการจัดการในการ นำมาใช้ประโยชน์ เพื่อแลกเปลี่ยน เรียนรู้และนำมาปรับใช้ในชุมชน									↔			
3. การสร้างเครือข่ายและพัฒนา แหล่งเรียนรู้การอนุรักษ์ ป่าชุมชน และ การใช้ประโยชน์เห็ดท้องถิ่น โดย กระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน		←	→									→
3.1) จัดประชุมเพื่อรับฟังและ รวบรวมความคิดเห็นจากชุมชน เพื่อกำหนดแนวทางการดำเนินงาน ในด้านการจัดการทรัพยากรใน ชุมชน 1 ครั้ง จำนวน 20 คน ใน พื้นที่ โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบ โครงการหลวงปางมะโอ จ.เชียงใหม่			↔									
3.2) พัฒนารฐานการเรียนรู้ในชุมชน หรือหลักสูตรเพื่อเผยแพร่ความรู้ เกี่ยวกับเห็ดท้องถิ่นและการจัดการ				←	→							
3.3) จัดกิจกรรมด้านการฟื้นฟูเห็ด ท้องถิ่นและแหล่งอาศัย โดยอาศัย ชุมชนเป็นหลักในการถ่ายทอด 2 ครั้ง จำนวน60 คน									↔			↔
3.4) จัดอบรมเพื่อสร้างความรู้ความ เข้าใจเกี่ยวกับเห็ดในท้องถิ่นและ ความสำคัญของเห็ดในระบบนิเวศให้แก่								←	→			

