

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บรวบรวมเชื้อรา

สำหรับการวิจัยนี้ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างของพืชชนิดต่าง ๆ ที่เป็นโรคราเขม่าดำ จำนวน ๖๔ ชนิด จากจังหวัดต่าง ๆ ที่ได้สำรวจในประเทศไทย ระหว่างเดือน สิงหาคม ๒๕๑๓ จนถึงเดือน ตุลาคม ๒๕๑๔ ได้แก่ เชียงใหม่ น่าน กรุงเทพมหานคร เพชรบุรี กระบี่ และ - สงขลา ตัวอย่างที่รวบรวมไว้ นำมาอัดแห้ง เพื่อเก็บไว้ศึกษารายละเอียดต่อไป

การเตรียมสไลด์เชื้อรา

เชื้อราที่นำมาศึกษา นำมาจากตัวอย่างพืชที่เก็บได้โดยตรง กรณีที่เป็นตัวอย่างสด ไม่ค่อยมีปัญหาเกี่ยวกับฟองอากาศจากกลุ่มเส้นใยของเชื้อราเมื่อเปิด cover glass - แต่กลายเป็นตัวอย่างที่อัดแห้ง มักมีปัญหา จึงต้องตัดตัวอย่างของพืชบริเวณที่มีเชื้อราเขม่าดำ เจริญอยู่ออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ ๕ + ๕ มิลลิเมตร มาต้มในฟอร์มาลิน ๑๐ % จนกระทั่งชิ้นส่วนของพืชจมอยู่ใต้อ่างละลาย ใช้เวลาประมาณ ๕ - ๑๐ นาที เพื่อไล่อากาศ ออก ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงนำมาแช่ หรือตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อรา

วิธีเตรียมสไลด์เชื้อราเพื่อใช้ในการวิจัยมี ๓ วิธี คือ

๑. เตรียมในน้ำกลั่น เนื่องจากส่วนประกอบต่าง ๆ ของเชื้อราพวกนี้มีสีเข้ม เห็นได้ ชัดเจนโดยไม่ต้องย้อมสี วิธีนี้เป็นวิธีการเตรียมสไลด์ชั่วคราว เพื่อวาทูลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อรา เช่น เส้นใย สปอร์ และ setae.

๒. เตรียมใน glycerine jelly เป็น semi - permanent mount ซึ่งเตรียมเก็บไว้ไครยะเวลาหนึ่ง เพื่อศึกษารายละเอียดของเชื้อรา เช่น การวัดขนาด ฯลฯ

๓. เตรียมใน Hoyer's fluid จัดเป็น permanent mount เก็บไว้เป็น หลักฐานในการศึกษาเชื้อรานี้เป็นเวลานานมี

การบันทึกภาพและการวัดขนาดของเชื้อรา

000985

ลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อราที่บันทึกภาพไว้ได้จากภาพที่วาดจากกล้อง Camera lucida (Leitz Wetzlar) โดยใช้ oil immersion objective มีกำลังขยาย ๑๒,๕๐๐ เท่า

สำหรับการวัดขนาด perithecium และ setae ใช้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus) -
 ที่มีกำลังขยาย ๑๖๐ เท่า ส่วนสปอร์, hyphopodia และเส้นใย ใช้กำลังขยาย ๖๔๐ เท่า
 ส่วนประกอบของ mounting media ที่ใช้ในการวิจัย

Glycerine jelly

Gelatin	๑.๐	gm.
Glycerine	๗.๐	gm.
Water	๖.๐	cc.
Phenol	๑ %	

Hoyer 's fluid

Distilled water	๕๐	cc.
Gum arabic	๓๐	gm.
Chloral hydrate	๒๐๐	gm.
Glycerine	๒๐	cc.