

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางพันธุ์ V1 ในอาหารเหลว ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าเมื่อเลี้ยงเส้นใยที่ระยะเวลา 20 วัน จะให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยมากที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเส้นใยที่เลี้ยงที่ระยะเวลา 8 และ 14 วัน แต่ไม่แตกต่างกันกับเส้นใยที่เลี้ยงที่ระยะเวลา 26 วัน ในขณะที่งานทดลองของ Phutela และคณะ (1997) พบว่า น้ำหนักของเส้นใยจะมากที่สุดหลังจากเลี้ยงเส้นใยเป็นเวลา 8 วัน อาจเป็นเพราะปัจจัยบางประการที่ใช้ในการเลี้ยงแตกต่างกันเช่นอุณหภูมิ ในการทดลองครั้งนี้จะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องคือประมาณ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ซึ่งถ้าเลี้ยงที่อุณหภูมิสูงกว่านี้อาจทำให้เส้นใยมีการเจริญเร็วขึ้น เพราะเส้นใยจะเจริญดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (Chang, 1972)

สำหรับการเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางพันธุ์ V1 ที่ sub culture ครั้งต่าง ๆ กัน พบว่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยจะมากที่สุดเมื่อ sub culture ครั้งที่ 12 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นเพราะเส้นใยเห็ดฟางต้องการการปรับตัวให้เข้ากับสภาพอาหารที่ใช้เลี้ยง เมื่อตัดเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดมาเลี้ยงในอาหารวันครั้งแรก ๆ เส้นใยจึงมีการเจริญค่อนข้างช้า หลังจาก sub culture ไปเรื่อย ๆ เส้นใยปรับตัวได้ดีขึ้นทำให้มีการเจริญเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อทดสอบผลผลิตปรากฏว่าผลผลิตจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามจำนวนครั้งที่ sub culture โดยผลผลิตจะสูงสุดเมื่อ sub culture ครั้งที่ 8 หลังจากนั้นผลผลิตจะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Graham (1975) รายงานว่าหลังจากที่มีการ sub culture อย่างต่อเนื่องบนอาหารวันจะทำให้ผลผลิตลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเส้นใยเกิด mutant เมื่อมีการ sub culture จำนวนมากครั้ง และเนื่องจากเห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีจำนวนนิวเคลียสไม่แน่นอนในหนึ่งเซลล์ และนิวเคลียสสามารถเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างเซลล์ได้ ดังนั้นเมื่อ sub culture อย่างต่อเนื่อง เส้นใยที่ได้ อาจเต็มไปด้วยนิวเคลียสที่ไม่มีประสิทธิภาพ ทำให้ผลผลิตของเห็ดฟางลดลง

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของเส้นใยและผลผลิตของเห็ดฟางพันธุ์ V1 เมื่อ sub culture ครั้งต่าง ๆ กัน พบว่าน้ำหนักแห้งและผลผลิตไม่มีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือเส้นใยที่มีการเจริญเติบโตดี ไม่ได้ให้ผลผลิตสูงเสมอไป เนื่องจากเส้นใยที่มีการเจริญดีมาก ๆ นั้นอาจเป็นเส้นใยที่เป็นหมันก็ได้ ดังนั้นถ้าจะคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางจะดูแลการเจริญเติบโตเพียงอย่างเดียวไม่ได้ อย่างไรก็ตามจากงานทดลองของ Phutela และคณะ (1997) รายงานว่าเห็ดฟางสายพันธุ์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ cellulases สูงที่สุดจะให้น้ำหนักของเส้นใยและผลผลิตสูงที่สุดด้วย

ในการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งและผลผลิตของเห็ดฟางพันธุ์ V1 และ V6 พบว่าน้ำหนักแห้งของพันธุ์ V1 มากกว่าพันธุ์ V6 สำหรับผลผลิตของเห็ดฟางทั้งสองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน

จากการศึกษาการเจริญของสปอร์เดี่ยวของเห็ดฟางพันธุ์ V1 และ V6 ซึ่งแบ่งการเจริญออกเป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่มที่เส้นใยเจริญเร็วมาก (1) , เจริญปานกลาง (2) และ เจริญช้า (3) แล้วนำกลุ่มที่เจริญเร็วและเจริญช้าของ V1 ผสมกับกลุ่มที่เจริญเร็วและเจริญช้าของ V6 คัดเลือกลูกผสมที่สามารถเกิด chlamydo spores และ primodia ได้ เนื่องจากมีรายงานว่าผลผลิตที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับจำนวน chlamydo spores ที่มาก (Chang และ Yau 1970, 1971) จากการทดลองพบว่าลูกผสมที่คัดเลือกได้ทั้งหมด 18 สายพันธุ์นี้มาจากการจับคู่กันของเส้นใย V1 ที่เจริญเร็วกับ V6 ที่เจริญเร็ว 4 สายพันธุ์ เส้นใย V1 ที่เจริญเร็วกับ V6 ที่เจริญช้า 3 สายพันธุ์ เส้นใย V1 ที่เจริญช้ากับ V6 ที่เจริญเร็ว 10 สายพันธุ์ และเส้นใย V1 ที่เจริญช้ากับ V6 ที่เจริญช้า 1 สายพันธุ์ ซึ่งลูกผสมส่วนมากได้จากการจับคู่กันของเส้นใย V1 ที่มีการเจริญของเส้นใยช้าและ V6 ที่มีการเจริญของเส้นใยเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของสุวรรณิ (2540) ที่ผสมพันธุ์เห็ดนางรม โดยพบว่าพันธุ์ที่เกิดจากการผสมระหว่างเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวกลุ่มที่เจริญเร็วกับกลุ่มที่เจริญช้าสามารถเกิดดอกเห็ดได้เป็นส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Chang (1972) พบว่าเส้นใยสปอร์เดี่ยวที่เจริญช้าผิดปกติเป็นเส้นใยที่เป็นหมัน ไม่สามารถเกิดดอกเห็ดได้ ในขณะที่การจับคู่กันของเส้นใยสปอร์เดี่ยวที่มีการเจริญช้าผิดปกติสามารถเกิดดอกเห็ดได้ และการผสมพันธุ์เห็ดฟางไม่ควรทิ้งสายพันธุ์ที่มีการเจริญช้าไป เพราะถ้าจะผสมพันธุ์โดยเลือกแต่สายพันธุ์ที่เจริญเร็วผสมกับสายพันธุ์ที่เจริญเร็วอาจจะทำให้เราเสียโอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่ดี ซึ่งควรจะมีการทดลองที่มากกว่านี้เพื่อทดสอบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงเกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์ที่มีลักษณะการเจริญอย่างไร

เมื่อนำลูกผสมทั้ง 18 สายพันธุ์ไปทดสอบผลผลิต แล้วคัดเลือกลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด 4 สายพันธุ์เพื่อไปทดสอบผลผลิตเปรียบเทียบกับพันธุ์ V1 และ V6 พร้อมกันนี้ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งและผลผลิตของเห็ดฟางทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่ามีลูกผสมเพียงสายพันธุ์เดียวที่ให้ผลผลิตสูงคือพันธุ์ H13 จึงนำไปเปรียบเทียบผลผลิตกับพันธุ์ V1, V6 และพันธุ์การค้าอีกครั้งหนึ่งพบว่า พันธุ์ H13 ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ V1 และ V6 แต่ไม่แตกต่างกับพันธุ์การค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการหาความสัมพันธ์นั้นพบว่า น้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิตของเห็ดฟางทั้ง 6 สายพันธุ์ ซึ่งอาจสรุปได้ว่าสายพันธุ์ใดก็ตามที่มีการเจริญของเส้นใยดีไม่ได้เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง

จากรายงานของ Chang และ Yau (1971) ได้สันนิษฐานว่ามีปัจจัยร่วมที่เกี่ยวกับการผสมพันธุ์ 2 ปัจจัยคือ A_1 และ A_2 ซึ่งเส้นใยที่สามารถสร้างดอกเห็ดได้จะมีปัจจัยทั้งสองอยู่ด้วยกัน โดยเกิดจากการผสมระหว่าง A_1 และ A_2 หรืออาจเกิดการผสมข้ามคู่ยีนที่ไม่เท่ากัน โดยเกิดจากการผสม

ระหว่าง A_1 กับ $A_1A_2A_2$ หรือ A_2 กับ $A_1A_1A_2$ สำหรับเส้นใยที่เป็นหมันจะเกิดขึ้นได้ 2 กรณีคือเมื่อ A_1 หรือ A_2 แยกกันอยู่ เส้นใยพวกนี้จะมีการเจริญไม่ปกติคือมีการเจริญช้าและบาง อีกทั้งไม่มีคลอโรพลาสต์เกิดขึ้น และเมื่อเส้นใยที่มี $A_1A_2A_2$ หรือ $A_2A_1A_1$ แยกกันอยู่ เส้นใยพวกนี้จะมีการเจริญปกติเส้นใยเจริญเร็ว ดังนั้นสปอร์เดี่ยวของเส้นใยเห็ดฟางที่มีการเจริญไม่ปกติจะเป็นเส้นใยที่เป็นหมันทั้งหมด ส่วนเส้นใยสปอร์เดี่ยวที่เจริญปกติอาจเป็นเส้นใยที่เป็นหมันหรือไม่เป็นหมันก็ได้ ในการผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยที่เป็นหมันอาจสันนิษฐานได้ว่าลูกผสมที่สามารถเกิดดอกเห็ดได้เกิดจากการผสมระหว่างสองยีนที่มีความสมดุลกัน เช่น $A_1A_2A_2 \times A_1A_1A_2$ หรือ $A_1 \times A_1A_2A_2$ หรือ $A_2 \times A_1A_1A_2$ หรือ $A_1 \times A_2$ ฯลฯ ซึ่ง Chang (1972) ได้รายงานว่าการผสมพันธุ์ในเห็ดที่เป็นพวก homothallic ได้แก่ เห็ดฟาง และเห็ดแชมปิญอง ยังเป็นเรื่องที่ยาก ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดชนิดนี้ ควรใช้การคัดเลือกสายพันธุ์จากการเพาะเลี้ยง สปอร์เดี่ยว

ผลจากการศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ esterase, Acid phosphatase และ peroxidase ของเห็ดฟางพันธุ์ V1, V6, เส้นใยสปอร์เดี่ยว และลูกผสม พบว่าเส้นใยของเห็ดฟางทั้งหมดมีรูปแบบไอโซไซม์ esterase ที่ไม่แตกต่างกันมากนัก จำนวนแถบสีที่ปรากฏมีตั้งแต่ 2-6 แถบ บางแถบเห็นไม่ชัดเจน แต่สามารถบอกได้ถึงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Fan และคณะ (1997) ซึ่งได้ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ esterase ของ *Agaricus bisporus* 5 สายพันธุ์ โดยใช้ polyacrylamide gel (PAGE) พบว่าแต่ละสายพันธุ์มีรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน

การศึกษาค่าความสัมพันธ์ระหว่างแถบไอโซไซม์กับลักษณะต่าง ๆ ของสปอร์เดี่ยว 13 สายพันธุ์ และ ลูกผสม 18 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่การเจริญของเส้นใยและผลผลิตนั้น จากการทดลองครั้งนี้ ยังไม่สามารถเปรียบเทียบและแยกความแตกต่างได้ชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ ในการทดลองนี้ ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์อาจมีความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่เพียงพอ และเทคนิคทางด้านอิเล็กโทรโฟรีซิส นั้นมีปัจจัยต่าง ๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งจากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ laccases ของเห็ดนางรม โดยใช้เทคนิคทางด้านอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบ disc electrophoresis พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ของเส้นใยเห็ดนางรมที่ pH 8.9 มีความแตกต่างกับที่ pH 4.3 (Molitoris, 1979)

จากการศึกษาของ Chang (1972) พบว่าไซโมแกรมของเส้นใยเห็ดฟางที่ได้จากการหารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับผลผลิต แต่จากการทดลองปรากฏว่ารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase ไม่ปรากฏแถบสี ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณตัวอย่างที่ใช้สำหรับหยอดลงในแผ่นเจลใช้เพียงแค่ 70 ไมโครลิตร ซึ่งอาจมีปริมาณเอนไซม์น้อยเกินไป ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการเพิ่มปริมาณตัวอย่างเพื่อให้ได้ปริมาณเอนไซม์ที่มากขึ้นเพียงพอที่จะทำให้เกิดการแสดงออกของไอโซไซม์ peroxidase