

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการผสมพันธุ์ระหว่างเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) กับเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*) แบบมอน-มอน (mon-mon crossing) ก็ได้ลูกผสม 3 สายเชื้อ (HM8, HM9 และ HM10) พบว่าลักษณะของดอกเห็ดมีการกระจายตัวหลายแบบทั้งขนาดความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัสคือกรอบหรือเหนียว และสี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Simchen (1965) ซึ่งได้ทดลองผสมแบบมอน-มอน ในเห็ด *Schizophyllum commune* ได้ลูกผสมที่มีลักษณะหลากหลายออกมา การผสมแบบมอน-มอน เป็นการพัฒนาสายพันธุ์เห็ด ซึ่งการผสมพันธุ์เกิดจากการเชื่อมต่อระหว่างเส้นใย 2 สายพันธุ์ และมีการแลกเปลี่ยนสารภายในเซลล์ จะได้ลูกผสมลักษณะใหม่ๆ (Fritche, 1978)

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการให้ผลผลิตของเห็ดลูกผสม ที่ได้จากการผสมทั้งแบบมอน-มอน และการผสมแบบได-มอน พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ต่อความเร็วในการเจริญเติบโตของเส้นใย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าเส้นใยที่เจริญเร็วนั้นอาจไม่ให้ผลผลิตสูง หากมีการทดลองครั้งต่อไป ควรพิจารณาเส้นใยที่เจริญช้าด้วย การทดสอบการออกดอกในหลอดทดลองที่บรรจุเชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ พบว่าเมื่อนำเส้นใยที่มีข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) ไปเพาะทดสอบการออกดอกในหลอดบรรจุวัสดุเพาะที่ปลอดเชื้อ สามารถช่วยให้ทราบได้ว่า สายเชื้อใดที่นำไปเพาะลงถุงแล้วสามารถเกิดดอกได้ สำหรับเส้นใยที่ตรวจพบข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) แต่เมื่อนำไปเพาะแล้วไม่เกิดดอกอาจเป็นข้อยึดหลอก (false clamp) ซึ่งเกี่ยวกับรูปแบบการผสม (Raper, 1978)

วิธีการทดสอบการออกดอกในหลอดบรรจุวัสดุเชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ อาจเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ทราบว่าสายใยใด เพาะแล้วสามารถออกดอกโดยไม่ต้องตรวจข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยในการทดลองสะดวกยิ่งขึ้น

การทดลองผสมข้ามแบบได-มอน (di-mon crossing) ทำทั้งกับเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน ในแต่ละเห็ดใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryon) ของเห็ดชนิดหนึ่งผสมกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon) ของเห็ดอีกชนิดหนึ่งผสมกัน พบว่าวิธีการผสมแบบได-มอน นี้มีโอกาที่จะได้ลูกผสมที่ดีได้มากกว่าวิธีการผสมแบบมอน-มอน ในการผสมแบบได-มอนนี้ นิวเคลียสเดี่ยวของเส้นใยนิวเคลียสคู่ จะย้ายเข้าไปอยู่ในเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว อันเป็นวิธีที่รวม

ลักษณะทางพันธุกรรมไว้ (Eger, 1978) จากการทดลองคัดเลือกได้ 2 สายเชื้อ คือ HDS8 และ HDP8 ไว้สำหรับใช้ทดลองครั้งต่อไป โดยคัดเลือกสายเชื้อที่มีเนื้อกรอบและให้ผลผลิตสูง ส่วนเห็ดลูกผสมที่ผสมกลับแบบไค-มอน โดยใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของตัวเอง ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของมันเอง ที่ได้จากการผสมแบบมอน-มอน พบว่าเห็ดลูกผสมให้ผลผลิตต่ำ สำหรับเห็ดลูกผสมที่ผสมกลับแบบไค-มอน ที่ใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของตัวเอง ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของตัวเอง ที่ได้จากการผสมแบบไค-มอน พบว่าเห็ดลูกผสมให้ผลผลิตสูง

การทดลองผสมกลับแบบไค-มอน (di-mon backcrossing) ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว จากลูกผสมที่ได้ทั้ง 5 สายเชื้อ (HM8, HM9, HM10, HDS8 และ HDP8) ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ ของเห็ดลูกผสมทั้ง 5 สายเชื้อกับผสมกับเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน คัดลูกผสมใหม่ได้ 12 สายเชื้อ คือ SA3, PA2, PY3, SB6, PB6, SY2, SX2, DMC4, PX12, DPY5, PC7 และ DSX15 สรุปขณะนี้มียูกผสม 17 สายเชื้อ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการให้ผลผลิตของเห็ดลูกผสมทั้ง 12 สายเชื้อ กับความสามารถในการเจริญของเส้นใย พบว่าก็ ไม่มีความสัมพันธ์ต่อกันเช่นกัน

เมื่อศึกษาระยะที่เก็บเกี่ยวนาน 35 และ 60 วัน พบว่า ผลผลิตที่ 35 กับ 60 วัน มีแนวโน้มสัมพันธ์กัน ดังนั้นหากมีการผสมพันธุ์เห็ด อาจคัดจากการเก็บผลผลิต 35 วันก็พอ เพราะคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

จากการทดสอบผลผลิตเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐาน กับเห็ดลูกผสมทั้ง 17 สายเชื้อ ที่เก็บเกี่ยวผลผลิตนาน 35 วัน แล้วนำถุงเพาะไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ แล้วเปรียบเทียบผลผลิตทางสถิติ พบว่า เห็ดลูกผสม 6 สายเชื้อ (HDS8, DSX15, PY3, SY2, SB6 และ HM9) ให้ผลผลิตสูงกว่าเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการรวมลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีไว้ (Eger, 1978) โดยลูกผสม 5 สายเชื้อแรกได้จากการผสมแบบไค-มอน และลูกผสมตัวสุดท้าย (HM9) ได้จากการผสมแบบมอน-มอน ลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูงคือ SB6 และ SY2 โดยให้ผลผลิตสูงกว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตของเห็ดนางฟ้ากับเห็ดนางฟ้าภูฐานถึง 53.7% และ 46.9% ตามลำดับ

สำหรับการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐาน และเห็ดลูกผสม 17 สายเชื้อ พบว่าแถบสีอยู่ใกล้กันมาก สายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เมื่อทดสอบผลิตในการทดลองที่ 4 และปรากฏแถบสีแตกต่างสายเชื้ออื่น ได้แก่ SB6 และ SY2

การที่ไม่สามารถเปรียบเทียบและแยกความแตกต่างของแถบสีได้ชัดเจน อาจเป็นเพราะความต่างศักย์ที่ใช้ในการทดลองยังไม่เหมาะสม ซึ่งจากการทดลองใช้ความต่างศักย์ 190 โวลต์ และควบคุมอุณหภูมิที่ 0 องศาเซลเซียส Rouse arad May (1981) ศึกษาแบบไอโซไซม์ของเห็ด *Pleurotus spp.* ใช้ความต่างศักย์ต่ำกว่า 200 โวลต์ แต่ไม่ได้ระบุชัดเจนว่าควรจะใช้ความต่างศักย์

เท่าไร ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้ความต่างศักย์ 190 โวลต์ หากมีการทดลองครั้งต่อไป อาจหาความต่างศักย์ที่เหมาะสมก่อนทดลอง สาเหตุอื่นที่ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบและแยกความแตกต่างของแถบสีได้ชัดเจน อาจเป็นเพราะใช้จำนวนรอบน้อยไปในการเหวี่ยงแยกส่วนตัวอย่างเส้นใยที่เติม extraction buffer ในการทำเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งทำให้ค่า Relative Centrifugal Force (RCF) น้อยด้วย ดังนั้นหากมีการทดลองครั้งต่อไป อาจเพิ่มจำนวนรอบหรือเพิ่มขนาดของหลอด eppendrop อาจช่วยให้แยกตัวอย่างเส้นใยออกจาก extraction buffer ได้ดีขึ้นและอาจแยกความแตกต่างของแถบสีได้เมื่อ ทำเทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซิส หรืออาจเกิดจากการทดลองตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์อาจเกี่ยวกับความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และความเข้มข้นต่าง ชนิด (2543) ศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ esterase, acid phosphatase และ peroxidase ของเห็ดฟางพันธุ์ V1 และ V2, เส้นใยสปอร์เดี่ยวและลูกผสม พบว่าเส้นใยของเห็ดฟางทั้งหมดมีรูปแบบไอโซไซม์ esterase ปรากฏแถบสีอยู่ใกล้กันหากมีการทดลองครั้งต่อไป ควรใช้เอนไซม์ชนิดอื่นในการทดลองด้วย

จากการผสมข้ามชนิด (species) ระหว่างเห็ดนางฟ้า *Plurotus sajor-caju* กับเห็ดนางฟ้าภูฐาน *Plurotus pulmonarius* ทั้งแบบมอน-มอน และ การผสมแบบ ไค-มอน ลูกผสมที่ได้ยังสามารถผสมกลับไปหาเห็ดทั้งสองได้อีกด้วย แสดงว่าเห็ดทั้งสองชนิดนี้ คือ เห็ดนางฟ้า *Plurotus sajor-caju* กับเห็ดนางฟ้าภูฐาน *P. pulmonarius* น่าจะเป็นเห็ดชนิด (species) เดียวกัน Kinugawa et.al.(1994) เคยเสนอว่าน่าจะใช้ชื่อว่า *P. sajor-caju* เพราะถ้าต่างชนิด (species) กันจะผสมกันไม่ได้