

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นการศึกษาระดับความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงเส้นใยของเห็ดหอม พบว่า ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ 5.0 เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้เลี้ยงเส้นใยของเห็ดหอม ซึ่งตรงกับการทดลองของ Khan *et al.* (1995) ที่ว่า ระดับความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเส้นใยอยู่ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ 5.0 ซึ่งโดยทั่วไปแหล่งอาหารของเห็ดมักอยู่ในรูปของโพลีเมอร์ (polymer) ขนาดใหญ่ จึงต้องมีการย่อยโพลีเมอร์ขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ได้ ในการย่อยจึงจำเป็นต้องมีเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง (Elizabeth, 1972) เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยนี้อาจทำงานได้ดีเมื่ออาหารที่ใช้เลี้ยงเส้นใยอยู่ในระดับของความเป็นกรด-ด่างที่ 5.0 เอนไซม์ส่วนใหญ่สามารถทำงานได้ดีเมื่ออยู่ในระดับความเป็นกรด-ด่างที่ประมาณ 5-9 (พนม, 2531) เมื่อเอนไซม์ทำงานได้ดีก็อาจทำให้เส้นใยเห็ดสามารถดูดซึมน้ำอาหารมาใช้ได้ดีขึ้น ทำให้เส้นใยเห็ดสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างที่ 5 ได้ดี และเมื่อเลี้ยงเส้นใยต่อไปเรื่อยๆ ระดับของความเป็นกรด-ด่าง ก็จะลดลงอย่างเห็นได้ชัด จาก 6.0 เป็น 3.0 สาเหตุที่ระดับความเป็นกรด-ด่างลดลงนี้อาจเกิดจากการผลิตกรดอินทรีย์ออกมาหลายตัว เช่น acetic acid, succinic acid และ oxalic acid (Tokimoto and Komatsu, 1978) ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนี้อยู่ในช่วงระดับที่เหมาะสมต่อการออกดอกของเห็ดหอม

จากการศึกษาระดับของความเป็นกรด-ด่าง ในอาหารเหลวที่เลี้ยงเส้นใยเห็ด และอายุของเส้นใยที่เหมาะสมต่อการนำมาทำอิเล็กโตรโฟรีซิส เพื่อให้เห็นแถบของไซโมแกรมชัดเจนมากที่สุด พบว่า เมื่อเลี้ยงเส้นใยเห็ดหอมในอาหารเหลวที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ 3.5 และทำการเลี้ยงเส้นใยเป็นระยะเวลา 30 วัน พบแถบของไซโมแกรมชัดเจนที่สุด เนื่องจากเห็ดแต่ละชนิดมีเอนไซม์เป็นจำนวนมาก แต่ส่วนใหญ่อยู่ในสภาพพักตัว เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม เอนไซม์จึงสามารถทำงานได้ (Elizabeth, 1972) เห็ดโดยทั่วไปสามารถเจริญได้ดีเมื่ออยู่ในสภาพเป็นกรดเล็กน้อย โดยเฉพาะเห็ดหอม และเอนไซม์สามารถถูกกระตุ้นได้โดยระดับความเป็นกรด-ด่าง เมื่อถูกกระตุ้นเอนไซม์ที่อยู่ในระยะพักตัวที่ขอบระดับความเป็นกรด-ด่างนั้นก็ทำงาน ทำให้เห็นแถบไอโซไซม์ชัด และความชัดของแถบไอโซไซม์นั้นขึ้นอยู่กับระยะต่างๆของการเจริญเติบโตของเห็ดด้วย (Chang, 1978) ระยะที่เส้นใยเจริญเป็นเวลา 30 วันอาจเป็นระยะที่เหมาะสมที่จะเห็นแถบของไอโซไซม์ได้ชัดเจนที่สุด

การเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยของสายใยทั้งสองที่เป็นคู่ผสม ซึ่งเป็นเส้นใยนิวเคลียสเดียวกับเส้นใยลูกผสมซึ่งเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์แบบเส้นตรง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง Simchen and Jinks (1964) ที่ว่าอัตราการเจริญของเส้นใยนิวเคลียสคู่ ไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว และความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญของเส้นใยนิวเคลียสคู่และอัตราการเจริญของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่เป็นคู่ผสมขึ้นอยู่กับลักษณะของพันธุกรรม (genotype) ของลักษณะสายเชื้อคู่ผสม เส้นใยนิวเคลียสคู่ส่วนใหญ่มีอัตราการเจริญของเส้นใยเร็วกว่าเส้นใยทั้งสองของคู่ผสมซึ่งเป็นเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว บางตัวอาจเจริญได้ปานกลาง และมีส่วนน้อยที่เจริญได้ช้ากว่าเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่เป็นเส้นใยของคู่ผสมทั้งสอง

ในการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส เมื่อนำไซโมแกรมของกลุ่มผสมทั้งสองที่เป็นเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว มาเทียบกับลูกผสม พบว่า จำนวนของแถบและตำแหน่งของแถบของกลุ่มผสม ที่เป็นเส้นใยนิวเคลียสเดียวกับลูกผสม จะมีจำนวนแถบที่ต่างกัน และตำแหน่งของแถบก็แตกต่างกันด้วย ลูกผสมบางตัวมีแถบมากกว่าคู่ผสมทั้งสอง แต่บางตัวมีแถบน้อยกว่าคู่ผสมทั้งสอง และลูกผสมส่วนใหญ่จะมีตำแหน่งของแถบบางแถบที่คู่ผสมทั้งสองไม่มี สาเหตุที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการเข้าคู่กันแล้วได้ลูกผสมตัวใหม่ซึ่งอาจจะนำลักษณะของคู่ผสมทั้งสองมาต่างกันได้ หรือแถบบางแถบอาจไม่ปรากฏในกลุ่มผสมทั้งสองเลยแต่มีในลูกก็ได้ แต่การตรวจโดยใช้ไอโซไซม์นี้ได้ทดลองใช้กับเอนไซม์ esterase เพียงอย่างเดียว โดยใช้กระแสไฟต่ำกว่า 75 mA ที่ความต่างศักย์ 275 volt (Royse and May, 1993) จึงอาจจะยังไม่สามารถแยกความแตกต่างได้

เมื่อนำลูกผสมที่ได้ทั้งหมดมาเพาะเพื่อทดสอบผลผลิต พบว่า จากลูกผสม 14 สายเชื้อ จะมีลูกผสมที่สามารถออกดอกได้อยู่ 7 สายเชื้อ ซึ่งในแต่ละสายเชื้อจะมีอยู่ 4 ถุง บางสายเชื้อก็จะไม่สามารถออกดอกได้ครบทุกถุงทั้งที่เชื้อราเดินเต็มถุงแล้ว ปัญญา และ กิตติพงษ์ (2532) รายงานว่า สาเหตุอาจเกิดจากหัวเชื้อที่ใช้อ่อนแอ จึงทำให้เส้นใยไม่สามารถพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ การเลือกหัวเชื้อจึงมีความสำคัญมากต้องเลือกหัวเชื้อที่ดี และแข็งแรงเท่านั้น หรืออาจเกิดจากแมลงหิว พวกไซอาริด (Scarid), โฟริด (Phorid), และซีลิด (Cecid) เข้าทำลายเมื่อเชื้อราเดินเต็มถุง ดอกเห็ดที่ออกมาไม่สมบูรณ์หรือไม่มีดอกเห็ดเลย (สมาน, 2526) เมื่อทั้ง 7 สายเชื้อเกิดดอกเห็ด พบว่า เกิดความแปรปรวนของสีของดอกเห็ด ถึงแม้เป็นสายพันธุ์เดียวกัน แต่อยู่คนละถุง หรือแม้แต่ถุงเดียวกันแต่ดอกคนละครั้งก็ให้สีที่แตกต่างกัน คือ บางครั้งมีสีน้ำตาลอ่อนแต่ในบางครั้งจะมีสีน้ำตาลเข้ม นั่นคืออาจเกิดความแปรปรวนขึ้นในสายพันธุ์ หรืออาจเกิดจากสิ่งแวดล้อม คือ ความชื้น ความหลากหลายที่เห็นเป็นผลรวมจากลักษณะทางพันธุกรรมร่วมกับสิ่งแวดล้อม และเนื่องจากการทดลองนี้ผู้ควบคุมการเจริญเติบโต ไม่มี

การควบคุมความชื้นจึงต้องมีการให้ความชื้นเอง โดยการฉีดพ่นน้ำวันละ 2 เวลา คือ เช้า และเย็น ถ้าความชื้นต่ำไม่เพียงพอกับความต้องการก็ทำให้ดอกเห็ดมีขนาดเล็กไม่สมบูรณ์ ถ้าความชื้นมากเกินไปจะทำให้ได้ดอกเห็ดที่มีเนื้อหนวมกดอกบาง บานง่าย ก้านยาว คุณภาพต่ำ (บรรณ, 2533) และสภาพแวดล้อมมีบทบาทมากในการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิต พันธุ์ที่ถูกคัดเลือกเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปต้องเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมนั้นๆมากที่สุด

จากการทดสอบผลผลิตเมื่อนำลูกผสมทั้ง 7 สายเชื้อที่สามารถออกรดอกได้มาดูลักษณะคุณภาพของดอกพบว่า สายเชื้อ H10 เป็นสายเชื้อที่ให้ลักษณะที่ดีด้านความหนาและรูปร่างของดอกเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ L1 และสายพันธุ์ L2 ที่เป็นสายพันธุ์พ่อแม่ แต่ในด้านผลผลิตยังไม่สามารถให้ผลผลิตที่ดีเท่ากับพ่อ-แม่ สายเชื้อ H7 เป็นสายเชื้อที่มีผลผลิตที่ดีเมื่อเทียบกับพ่อ-แม่ วิธีการผสมกลับ (backcross) น่าจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่ามาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ โดยที่วิธีการผสมกลับ คือ การนำเอาลูกผสมที่ได้รับผสมกลับไปหาพ่อ-แม่ ในการปรับปรุงพันธุ์การผสมพันธุ์กลับจะทำก็ต่อเมื่อต้องการเสริมลักษณะบางอย่างที่ต้องการ (กฤษณา, 2528) ในการปรับปรุงพันธุ์ครั้งต่อไปควรทำการผสมกลับ แบบ di-mon crossing โดยนำลูกผสมสายเชื้อ H10 ที่มีลักษณะดีนำไปผสมกลับ กับสายพันธุ์ L2 ที่ให้ผลผลิตได้สูงในช่วงที่มีอากาศอุ่นชื้น เพื่อเป็นการเพิ่มยีนที่ให้ผลผลิตสูง หรือนำลูกผสมสายเชื้อ H7 ที่ให้ผลผลิตดีไปผสมกลับกับสายพันธุ์ L1 ที่มีคุณภาพดี เพื่อเป็นการเพิ่มยีนที่ทำให้ดอกเห็ดมีคุณภาพดี