บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดหอมสายพันธุ์ L1 และ L2 พบว่า เห็ดหอมที่อยู่ในระยะที่ 1 คือระยะที่ดอกตูมและเยื่อหุ้มที่ใต้ดอกยังปิดครีบดอกอย่างสนิทนั้นไม่สามารถปลดปล่อยสปอร์ได้ ในขณะที่เห็ดหอมระยะที่ 2 ซึ่งเป็นระยะเยื้อหุ้มใต้ดอกเริ่มเปิดให้เห็นครีบดอกบ้าง กับระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะที่เยื่อหุ้มใต้ดอกเปิดกว้างมากนั้นมีความสามารถปลดปล่อยสปอร์จากดอกได้ โดยระยะที่ 3 จะใช้เวลานับตั้งแต่เริ่มเตรียมการจนกระทั่งเริ่มปลดปล่อยสปอร์เพียง 5 ชั่วโมง ซึ่งน้อยกว่าระยะที่ 2 ที่ใช้เวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำ สปอร์ที่ได้มาทดสอบความสามารถในการงอก พบว่าทั้งระยะที่ 2 และ ระยะที่ 3 สปอร์ของเห็ดหอมสามารถงอกได้ โดยใช้เวลา 5 วัน เท่ากัน (ตารางที่ 3) จากการศึกษาของ Tokimoto และ Komatsu ในปี 1978 พบว่าในการปลดปล่อยสปอร์จะเกิดขึ้นที่บริเวณเนื้อเยื่อไฮยาโลพลาสมิก (hyaloplasmic) ซึ่งจะอยู่ที่ขั้วของสปอร์และปลายของ sterigmma เมื่อไฮยาโลพลาสมิกแบ่งตัวจะทำให้เกิดการปล่อยสปอร์ ดังนั้นจึงทำให้การปลดปล่อยสปอร์ของเห็ดในระยะการเจริญเติบโตที่ต่างกันจึงใช้เวลาแตกต่างกัน เพราะระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งตัวของเนื้อเยื่อดังกล่าวอาจใช้เวลาไม่เท่ากัน ส่วนการที่ระยะการเติบโตของดอกเห็ดหอมระยะที่ 1 ไม่มีการปล่อยสปอร์ก็อาจมีสาเหตุมาจากการที่เนื้อเยื่อไฮยาโรพลาสมิกไม่มีการแบ่งตัว ดังนั้น จากการทดลองนี้จึงทำให้สามารถเลือกระยะการเจริญเติบโตของดอกเห็ดหอมที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการดักสปอร์ โดยพบว่าระยะที่ 2 กับระยะที่ 3 เป็นระยะที่สามารถนำมาใช้ในการดัก สปอร์ได้

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดหอมทั้งสายสองพันธุ์ คือ L1 และ L2 ในอาหารวุ้นพบว่าเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ซึ่งแบ่งออกได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่มการเจริญเร็วมาก กลุ่มการเจริญเร็ว กลุ่มการเจริญช้า และกลุ่มการเจริญช้ามาก เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มการเจริญเร็ว จากการนำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวทั้ง 4 กลุ่มมาผสมพันธุ์แบบไดมอนกับเห็ดหอมสายพันธุ์ L1 และ L2 จำนวน 104 คู่ผสม พบว่าได้เส้นใยลูกผสมตัวใหม่(เส้นใยนิวเคลียสคู่) ที่ตรวจพบข้อยึดระหว่างเซลล์จำนวน 28 ตัว จำนวนลูกผสมที่ได้ส่วนใหญ่มาจากการผสมพันธุ์ในกลุ่มที่ 3 (monoL2 x diL1) ซึ่งให้จำนวนของลูกผสม 14 ตัว ซึ่งมีจำนวนลูกผสมมากกว่าการผสมพันธุ์ในกลุ่มที่ 4 (monoL2 x diL2) กลุ่มที่ 1 (monoL1 x diL1) และ กลุ่มที่ 2 (monoL1 x diL2) ซึ่งมีจำนวนลูกผสม 8, 3 และ 3 ตัว ตามลำดับ การให้ผลออกมาดัง

กล่าวอาจเป็นเพาะเห็ดหอมมีระบบการผสมพันธุ์แบบปัจจัยคู่ (bifactorial heterothallism หรือ tetrapolar mating system) (Chang , 1978; FAO , 1990; Daniel , 1996 และ ณัฏฐยา, 2540) เป็นระบบที่การแสดงออกของเพศหรือระบบการเข้ากันไม่ได้ ถูกควบคุมด้วยปัจจัยทางพันธุกรรม 2 ปัจจัยคือ A และ B โดยทั้งสองปัจจัยมีการกระจายแบบอิสระต่อกันซึ่งมีตำแหน่งบนแท่งโครโมโซมต่างกัน โดยแต่ละปัจจัยมีหลายคู่ยีน (2 loci/multiple alleles) (Tokimoto and Komatsu, 1978;Chang , 1978 ; Peberdy *et al* , 1993 and Miles , 1996) การผสมพันธุ์จะประสบผลสำเร็จจนได้เส้นใยนิวเคลียสคู่นั้น เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวทั้งสองจะต้องพาเอาคู่ยีนที่ต่างกันมาจับคู่กัน หรือผสมข้ามจนเกิดเส้นใยที่มีข้อยึดระหว่างเซลล์ที่สมบูรณ์ กลายเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่สามารถพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้ (ณัฏฐยา , 2540) ในระบบการผสมพันธุ์แบบปัจจัยคู่ ทั้งปัจจัย A และ B จะควบคุมลักษณะที่แตกต่างกัน หรือมีผลต่อการผสมพันธุ์ โดยการผสมที่มีปัจจัยต่างกัน ทำให้มีโอกาสได้ลูกผสมมากขึ้น ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า การผสมข้ามให้จำนวนลูกผสมมากกว่าการผสมตัวเอง

ความสัมพันธ์ระหว่างลูกผสมกับความสามารถในการเกิดปุ่มดอก (ตารางที่ 8) นั้นพบว่าลูกผสม H3, H4, H21 และ H22 ซึ่งไม่สามารถเกิดปุ่มดอกในหลอดทดลองได้ อย่างไรก็ตามกลับสามารถเกิดดอกในถุงเพาะได้ แต่ผลผลิตที่ได้อยู่ในระดับต่ำ (ดังตารางที่ 10) Tokimoto and Kawai ปี 1975 กล่าวว่า การการเกิดปุ่มดอกต้องการคาร์บอนและไนโตรเจนในความเข้มข้นสูง แต่ถ้าไนโตรเจนสูงเกินไปจะยับยั้งการเกิดปุ่มดอก เช่น ถ้ากรดคาร์ซามิโนมีมากถึง 0.02 % การเกิดปุ่มดอกต้องใช้คาร์โบไฮเดรต ถ้ามีน้ำตาลมากถึง 8% ในรูปของแซคคาโรสการเกิดดอกจะยิ่งให้ผลมากขึ้น ซึ่งสาเหตุที่ทำให้สามารถเกิดดอกในหลอดไม่ได้ อาจเป็นเพราะสายพันธุ์ดังกล่าวได้รับปัจจัยสภาพแวดล้อมและอาหารไม่เพียงพอ

จากการตรวจสอบทางด้านพันธุกรรม โดยใช้ไอโซไซม์เอสเทอเรส พบว่าลูกผสมที่ให้ผลผลิตดี จะมีลักษณะทางไอโซไซม์เอสเทอเรสที่ให้จำนวนแถบของไอโซไซม์เอสเทอเรสจำนวน 4, 5 และ 7 แถบ (ตารางที่ 14) Royse and May ปี 1993 กล่าวว่า การทดสอบลักษณะไอโซไซม์เอสเทอเรสของลูกผสมที่ได้เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่พบว่า ลักษณะที่ได้สามารถแยกความแตกต่างของลูกผสมจากเห็ดหอมสายพันธุ์พ่อแม่ ดังนั้นเทคนิคทางด้านอิเลคโตรโฟลีซิส ซึ่งสามารถตรวจสอบความแตกต่างของไอโซไซม์ดังกล่าวได้ จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ความสัมพันธ์ทางพันธุ์กรรมหรือความแตกต่างทางด้านสายพันธุ์ได้ แต่ข้อมูลจากไอโซไซม์เอสเทอเรสเพียงอย่างเดียว ไม่สามารถบ่งชี้ความสามารถในการให้ผลผลิตได้ อาจต้องมีข้อมูลอื่นร่วมอีก

เมื่อนำลูกผสมที่ได้มาทดสอบผลผลิต พบว่ามี 6 คู่ผสม ที่ให้ผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ดี เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดหอมสายพันธุ์ L2 ซึ่ง 5 คู่ผสม มาจากการผสมข้าม (monoL2 x diL1) 1 คู่ผสม

มาจากการผสมตัวเอง (monoL2 x diL1) ของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว L2 โดยกลุ่มการเจริญของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่นำมาใช้ในการผสมพันธุ์คือ กลุ่มเส้นใยเจริญเร็วมาก กลุ่มเส้นใยเจริญเร็ว และกลุ่มเส้นใยเจริญช้า ส่วนลักษณะการเดินเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่ใช้ในการผสมพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตดีนั้น ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่มีลักษณะเดินเรียบและเดินฟู่ ดังนั้นในการผสมพันธุ์แบบไดมอนครั้งต่อไป ควรเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่อยู่ในกลุ่มเส้นใยเจริญเร็วมาก กลุ่มเส้นใยเจริญเร็ว และกลุ่มเส้นใยเจริญช้า (ยกเว้นกลุ่มเส้นใยที่เจริญช้ามาก) ที่มีลักษณะการเดินเรียบและเดินฟู่ (ยกเว้นลักษณะของเส้นใยที่เดินเรียบและมีสีน้ำตาล) มาใช้ในการผสมพันธุ์แบบไดมอนจึงทำให้มีโอกาสได้ลูกผสมที่มีผลผลิตดี อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลผลิตหลังการตัดแต่ง (ซึ่งเป็นน้ำหนักทางการค้า) พบว่า ลูกผสม H18 (ได้จากการผสมข้ามระหว่าง monoL2 x diL1) ให้แนวโน้มผลผลิตหลังการตัดแต่งสูงกว่าลูกผสมตัวอื่น และเห็ดหอมสายพันธุ์ L2 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 14) อาจกล่าวได้ว่าการที่ลูกผสม H18 มีผลผลิตมากขึ้นซึ่งเกิดจากการผสมข้าม อาจเนื่องมาจากการได้รับยีนใหม่นั่นเอง

ส่วนลักษณะการเกิดสีของดอกลูกผสมเห็ดหอมที่ได้ จากการสังเกตพบว่าลูกผสมสามารถเกิดสีได้ทั้งน้ำตาลคล้ำและน้ำตาลอ่อน (ตารางที่ 15) และการเกิดสีมีความแปรปรวนตลอดเวลาแม้บางครั้งให้สีน้ำตาลอ่อน แต่ต่อมาเมื่อมีการให้น้ำหรือสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สีก็จะถูกกลับเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มได้ ดังแสดงในภาพที่ 16 ซึ่งแสดงสีของดอกเห็ดหอม ด้านซ้ายแสดงลักษณะของเห็ดหอมที่มีสีน้ำตาลคล้ำ ส่วนก้อนด้านขวาแสดงลักษณะเห็ดหอมสีน้ำตาลอ่อน