บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

1. ชีววิทยาของเห็ดนางรม

1.1 การจำแนกเห็ดนางรม

ชื่อวิทยาศาสตร์	Pleurotus ostreatus [(Jacq.ex.Fr) Kummer]
ชื่อสามัญ	Oyster mushroom
Class	Basidiomycetes
Order	Agaricales
Family	Tricholomataceae
Genus	Pleurotus
Species	ostreatus

1.2 ชนิดของเห็ดนางรม

เห็ดนางรมโดยทั่วไป แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

ก. เห็ดนางรมชนิดสีขาว (florida type) เดิมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Pleurotus sapidus Kalchbr ซึ่งจะมีดอกสีขาวจนถึงเหลือง ต้องการอุณหภูมิในการออกดอกที่สูงกว่า 15° ซ. ปัจจุบันยังมีบางคนเรียกว่า Pleurotus florida (Szabo, 1981)

ข. เห็ดนางรมชนิดสีเทา เป็นสายพันธุ์จากเยอรมันเป็น Pleurotus ostreatus ดอกเห็ดจะมีสีเข้ม ต้องการอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 15°ซ. ในการออกดอก (Eger et al , 1976)

แต่อย่างไรก็ตาม Eger (1978) ยืนยันว่าเห็ดทั้งสองชนิดเป็น Pleurotus ostreatus

1.3 สัญฐานวิทยาของเห็ดนางรม

เห็ดนางรมจัดเป็นเห็ดพวกทำลายเนื้อไม้ (wood-destroying fungi) ดำรงชีพด้วยการเจริญอยู่บนซากของสิ่งมีชีวิต (saprophytic fungi) บางครั้งพบเป็นปรสิต มีกระจายทั่วไปในเขตอบอุ่น และจะเกิดดอกเห็ดในช่วงฤดูใบไม้ร่วง หรือฤดูหนาวที่อุณหภูมิสูงถึง 15 °ซ ซึ่งอิทธิพลของอุณหภูมิจะต้องการในช่วงออกดอกเท่านั้นคือ 15-20 °ซ ดอกเห็ดจะติดกับก้านดอกทางด้านข้าง คล้ายหอย ช้อน หรือคล้ายลิ้น ขอบหมวกเห็ดจะห้อยลง หมวกเห็ดจะแบนราบ กลางหมวกเห็ดจะมีลักษณะเว้าเป็นแอ่ง ดอกเห็ดที่เจริญเต็มที่ จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 - 15 เซนติเมตร ดอกเห็ดมีทั้งสีเทา สีน้ำตาล และสีเทาอ่อน ๆ (Zadrazil, 1978)

2. ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกเห็ด

2.1 ความชื้นของบรรยากาศ ในช่วงที่บ่มเชื้อหรือการเดินของเส้นใยในถุงเพาะเห็ดนั้นความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศไม่มีความจำเป็นมากนักแต่อย่างไรก็ตามก็ควรอยู่ในช่วง 60 - 80 % (Zadrazil, 1978) ในช่วงที่เกิดดอกเห็ดควรมีการฉีดพ่นละอองน้ำเพื่อเพิ่มความชื้นภายในโรงเรือนวันละ 2-3 ครั้ง และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศควรอยู่ในระดับ 70 - 80 % (ปัญญาและกิตติพงษ์, 2537)

2.2 อุณหภูมิ เห็ดแต่ละชนิดมีความต้องการอุณหภูมิที่แตกต่างกัน Szabo (1981) ได้ทดลองเลี้ยงเส้นใยของเห็ด Pleurotus ostreatus 2 สายพันธุ์ จากฮังการี่ และจีน และอีกหนึ่งสายพันธุ์จากสหรัฐอเมริกา (Pleurotus florida) ที่อุณหภูมิ -10°ซ ถึง 50°ซ พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์เส้นใยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25°ซ อุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของสายพันธุ์เห็ดจากฮังการีและอเมริกาจะจำกัดอยู่ในช่วง -5 ถึง 40°ซ ส่วนสายพันธุ์ของจีนอยู่ระหว่าง 5 - 40°ซ และจากการทดลองของ Gapinski and Ziombra (1990) โดยเลี้ยงเส้นใยในวัสดุเพาะต่าง ๆ เมื่อบ่มไว้ในอุณหภูมิ 5-35°ซ พบว่าอุณหภูมิที่เส้นใยเจริญเร็วที่สุดคือ 25°ซ ในวัสดุเพาะที่มีส่วนผสมของข้าวไรย์ ฟางและซังข้าวโพด

2.3 แสง การเกิดดอกเห็ดในสภาพที่มีแสงน้อยก้านดอกจะยาวและหนาแต่ดอกจะเล็ก ถ้าการระบายอากาศไม่ดี (มีคาร์บอนไดออกไซด์ 1-2 % โดยปริมาตร) และมีแสงต่ำจะทำให้การเจริญของเห็ดลดลง อากาศเป็นปัจจัยที่สำคัญกว่าแสง แต่อย่างไรก็ตามผลของก๊าซต่าง ๆ จะไม่มีความสำคัญถ้าไม่มีแสง แสงเป็นปัจจัยที่ช่วยในการเกิดตุ่มดอกเห็ด (primodia) และอย่างน้อยเห็ดต้องได้รับแสง 15 นาทีต่อวัน ใน Pleurotus florida ช่วงระยะเวลาที่ได้รับแสงและความเข้มของแสงจะช่วยเพิ่มจำนวนตุ่มดอกเห็ด (primodia) และใน Pleurotus ostreatus แสงที่จำเป็นต่อการพัฒนาของดอกเห็ดมีความเข้ม 10,000 ลักซ์ต่อชั่วโมง (Zadrazil, 1978)

2.4 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศที่สูงจนถึง 28 % โดยปริมาตร จะกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดของทั้ง Pleurotus ostreatus และ Pleurotus florida แต่ใน Pleurotus eryngii ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะสูงสุดที่ 22 % โดยปริมาตร ถ้าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูงถึง 37.5 % โดยปริมาตร จะทำให้การเจริญของเส้นใยของเห็ดทั้งสามลดลงประมาณ 40 % เมื่อเทียบกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 0.03 % ในการทดลองวัดปริมาณการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ในวัสดุที่ใส่หัวเชื้อ 5 และ 10 % ของวัสดุเพาะพบว่าหลังจากใส่หัวเชื้อได้ 3 วัน ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้นมากกว่า

20 %โดยหัวเชื้อที่ 10 % จะให้ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะมากกว่าที่ 5 % ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มสูงสุดหลังจากต่อเชื้อได้ 4 และ 6 วัน หลังจากนั้นจึงลดลง การใช้หัวเชื้อ 1 % แล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 25°ซ และ 30°ซ ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุดหลังจากต่อเชื้อได้ 20 วัน โดยที่อุณหภูมิ 25°ซ มีคาร์บอนไดออกไซด์ 30 % แต่ที่ 30°ซ มีคาร์บอนไดออกไซด์ 35 % หลังจากนั้นความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะลดลง ซึ่งที่อุณหภูมิ 30 °ซ ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์จะลดลงเร็วกว่าอุณหภูมิที่ 25°ซ การที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในถุงเพาะสูงจะช่วยป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ จะทำให้ไม่สามารถที่จะเติบโต หรือบางทีอาจจะตายได้ (Zadrazil, 1978)

2.5 ก๊าซอ็อกซิเจน ในการเจริญของเส้นใยเห็ดนั้นต้องการทั้งคาร์บอนไดออกไซด์และอ็อกซิเจนถึงแม้ว่าจะต้องการอ็อกซิเจนน้อยก็ตาม (semianerobic) เส้นใยเห็ดจะเจริญได้ดีในสภาพที่มีปริมาณอ็อกซิเจนน้อย แต่ถ้าไม่มีออกซิเจนเลยจะทำให้เส้นใยเห็ดชะงักการเจริญ เห็ดจะต้องการอ็อกซิเจนเป็นปริมาณมากในช่วงที่เกิดดอก (aerobic) (Zadrazil, 1978)

3. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับก้อนวัสดุเพาะ

3.1 วัสดุที่ใช้เพาะ วัสดุที่ใช้ในการเพาะเห็ดนั้นสามารถนำวัสดุที่มีในท้องถิ่นมาเพาะก็ได้ เช่น ฟาง ซังข้าวโพด และขี้เลื่อย (ปัญญาและกิตติพงษ์, 2537) แต่ตามปกตินิยมใช้ขี้เลื่อยเนื่องจากมีมากและหาง่าย เช่น ขี้เลื่อยไม้ฉำฉา และไม้ยางพารา เป็นต้น นอกจากนี้ปริมาณวัสดุเพาะจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ด และปริมาณการเกิดดอกเห็ดด้วย

3.2 ปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ เห็ดได้รับสารอาหารจากวัสดุที่ใช้เพาะ แต่การใช้ขี้เลื่อยเพียงอย่างเดียวเพื่อเพาะเห็ดจะทำให้มีสารอาหารต่าง ๆ ในวัสดุเพาะนั้นไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเห็ด จึงต้องมีการเติมธาตุอาหารต่าง ๆ ลงไปในวัสดุเพาะเพื่อให้เห็ดมีการเจริญเติบโตดีขึ้น ในการเพาะเห็ดนางรมได้มีการทดลองใช้รำละเอียด 1 5 10 และ 15 เปอร์เซนต์ เติมเข้าไปในวัสดุเพาะ พบว่าการใช้รำที่ 10 เปอร์เซนต์ ให้ผลผลิตสูงที่สุด แต่การเพิ่มปริมาณรำมากขึ้นจะทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ ในวัสดุเพาะมากขึ้นด้วย ทำให้เป็นข้อจำกัดในการใช้ปริมาณรำเติมลงไปในวัสดุเพาะ (อัจฉรา และพรรณี, 2530)

3.3 ความชื้น ความชื้นในวัสดุเพาะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดและผลผลิตของเห็ด วัสดุเพาะที่แห้ง (มีน้ำอยู่ 40-50%) การเจริญของเส้นใยจะมีน้อยหรือไม่เจริญเลย ขณะที่วัสดุเพาะที่มีน้ำอยู่ 55-65 % การเจริญจะดีกว่า แต่ถ้าเพิ่มปริมาณน้ำในวัสดุเพาะจะทำให้การเจริญของเส้นใยลดลงและถ้าปริมาณน้ำสูงถึง 75 % เส้นใยจะหยุดการเจริญ ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่าในวัสดุเพาะที่มีน้ำมากจะทำให้ขาดอ๊อกซิเจน (Zadrazil, 1978)

4. การผสมพันธุ์เห็ด

การผสมพันธุ์เห็ดทำได้โดยการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยวของเห็ดที่ต้องการ โดยให้เจริญเป็นเส้นใยซึ่งมีนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryon=เส้นใยขั้นที่ 1) จากนั้นนำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวจากสปอร์ที่สองมาผสมกัน เมื่อเส้นใยผสมพันธุ์กันก็จะมีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส เกิดในบางเซลและเจริญเติบโตเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon=เส้นใยขั้นที่ 2) ซึ่งเส้นใยชนิดนี้สามารถเจริญและพัฒนาเป็นดอกเห็ดได้ ความสามารถในการผสมกันได้ของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวนี้ มี 2 รูปแบบ คือ

1. Homothallism คือเส้นใยที่งอกมาจากสปอร์เดียวกัน สามารถผสมกันได้เอง (ผสมตัวเอง) โดยแขนงของเส้นใยเดียวกันจะผสมกันและเจริญเติบโตต่อไปเกิดการพัฒนาเป็นดอกเห็ด (Raper, 1966) Homothallism นี้ยังแบ่งออกเป็น 2 ประเภท

1.1 primary homothallism เกิดขึ้นในเห็ดเพียงไม่กี่ชนิด สามารถผสมตัวเองได้โดยไม่มีปัจจัยที่ผสมตัวเองไม่ติดอยู่เลย (incompatibility factors) เส้นใยที่ผสมตัวเองนี้เจริญมาจากสปอร์เดี่ยวที่มีนิวเคลียสเดี่ยว ที่เกิดจากการแบ่งตัวแบบไมโอซีส เส้นใยที่ผสมตัวเองนี้จะมีนิวเคลียสเหมือนกันเรียกว่า homokaryotic หรืออาจเป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่ ซึ่งมีนิวเคลียสไม่เหมือนกัน หรือไม่มีข้อยึดระหว่างเซลก็ได้เรียกว่า dikaryotic แต่ที่พบบ่อยและค่อนข้างจะแปลกก็คือเมื่อผสมแล้วกลับเป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสหลายอัน เรียกว่า multikaryotic ซึ่งไม่มีข้อยึดระหว่างเซล การรวมกันของนิวเคลียส (karyogamy) และการแบ่งเซลแบบลดจำนวน จะเกิดในแบสิเดีย (basidia) ของดอกเห็ด โดยทั่วไปแล้วเส้นใยเห็ดที่เป็นพวก homothallic นี้ ช่วงที่เส้นใยซึ่งมีนิวเคลียสทั้งสองไม่เหมือนกันซึ่งอาจจะเรียกว่า heterokaryotic จะไม่มีเกิดขึ้น ดังนั้นการกระจายตัวและการรวมตัวของจีนอม (genome) ต่าง ๆ จึงไม่มี อย่างไรก็ตามการรวมตัวกันของจีนอมก็อาจเกิดขึ้นได้บ้าง หากนิวเคลียสอันใดอันหนึ่งที่เหมือนกันมีหรือกลายพันธุ์ไป ตัวอย่างเห็ดกลุ่มนี้ได้แก่เห็ดฟาง (Volvariella volvaceae) (Raper, 1978)

1.2 secondary homothallism เป็นลักษณะที่แตกต่างกันออกไปคือมีปัจจัยการผสมไม่ติดและถูกกำหนดโดยกลไกที่เกิดจากการแยกตัวของนิวเคลียส คือแต่ละแบสิเดีย จะมีสปอร์อยู่ 2 สปอร์ โดยนิวเคลียสที่แบ่งตัวแบบลดจำนวนแล้ว 2 นิวเคลียสที่สามารถผสมกันได้ จะเข้าไปอยู่ในแต่ละ basidiospore และเส้นใยที่งอกจากสปอร์เดี่ยวนี้จะมีนิวเคลียสคู่ซึ่งมียีนที่ต่างกัน (heterothalic) ควบคุมปัจจัยที่ผสมไม่ติดหรือที่เกี่ยวข้องกับการผสมไม่ติด เส้นใยที่ผสมตัวเองได้นี้เป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสทั้งสองไม่เหมือนกัน (heterokaryotic) โดยนิวเคลียสทั้งสองมีลักษณะทางพันธุกรรมต่างกัน ปกติเส้นใยนี้จะเป็นแบบมีนิวเคลียสคู่ (dikaryon) ที่มีข้อยึดระหว่างเซล แต่อาจเป็นแบบนิวเคลียสคู่ที่ไม่มีข้อยึดระหว่างเซล หรือเป็นแบบที่มีหลายนิวเคลียส (multikaryon) ก็ได้ ตัวอย่างได้แก่เห็ดกระดุม (Agaricus bisporus) (Raper, 1978)

2. Heterothallism เป็นเส้นใยเห็ดที่ผสมตัวเองไม่ติด (self sterile) เส้นใยที่จะผสมกันได้ต้องเจริญมาจากสปอร์ที่มีคู่ของยีนในนิวเคลียสต่างกันโดยมีปัจจัยควบคุมการผสมกันได้ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท

2.1 การควบคุมด้วยปัจจัยเดี่ยว [Unifactorial control (bipolar heterothallism)] ซึ่งมีปัจจัย A เป็นตัวควบคุมการผสมติด เมื่อมีการจับคู่กันของเส้นใยสองชนิดการผสมจึงจะสมบูรณ์ก็ต่อเมื่อนิวเคลียสมีคู่ยีนของปัจจัย A ที่ต่างกัน โดยนิวเคลียสของเส้นใยหนึ่งเคลื่อยย้ายเข้าไปอยู่ในอีกเส้นใยหนึ่ง ขบวนการนี้เกิดขึ้นในเส้นใยทั้งสองฝ่ายทำให้ได้เส้นใยนิวเคลียสคู่ การเพิ่มจำนวนเส้นใยนิวเคลียสคู่จะเกิดขึ้นพร้อมกันกับการสร้างข้อยึดระหว่างเซล (ข้อยึดจริง) การเกิดดอกเห็ดจะได้จากการเจริญของเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่นี้ ปัจจัย A เป็นลักษณะพันธุกรรมอย่างเดียวที่ควบคุมการผสมติด เมื่อผสมคู่ยีนที่เป็น A_1 และ A_2 จะทำให้เกิดการผสมกันได้ A_1 และ A_2 กระจายตัวในอัตรา 1: 1 ในสปอร์ที่เกิดขึ้น โดยปกติสปอร์ของเห็ดจะมี 4 สปอร์ ต่อ basidium ซึ่งเป็น tetrad ทำให้ได้สปอร์สองตัวที่มียีน A_1 และอีกสองสปอร์มียีน A_2 เส้นใยที่เจริญจากสปอร์ทั้ง 4 จะสามารถจับคู่ผสมกันได้สองพวกซึ่งจะมีปฏิกิริยาร่วมกันแบบ bipolar เมื่อมีการจับคู่แบบพบกันหมด ตัวอย่างได้แก่เห็ดหูหนู (Auricularia spp.) (Raper, 1978)

2.2 การควบคุมด้วยปัจจัยคู่ [Bifactorial control (Tetrapolar heterothallism)] ในการผสมนั้นจะมีปัจจัยควบคุมทางเพศอยู่ 2 ชุด คือ A และ B ปัจจัยทั้งสองอยู่คนละส่วนกันแต่ทำงานร่วมกัน ในการจับคู่ผสมกันปัจจัย A ควบคุมการจับคู่กันของนิวเคลียส (nuclear pairing) และการสร้างข้อยึดระหว่างเซล (clamp connection) (ภาพที่ 1) ปัจจัย B ควบคุมการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส (nuclear migration) และการเชื่อมของข้อยึดระหว่างเซล (clamp fusion)

การที่มีคู่ยีนของปัจจัย A ที่ต่างกัน แต่ปัจจัย B เหมือนกัน จะเกิดการผสมติดเพียงกึ่งเดียว คือไม่มีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส มีผลทำให้เกิดเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) ที่ไม่สามารถสร้างดอกเห็ดได้ (infertile) โดยเซลที่ส่วนปลายของเส้นใยจะมีนิวเคลียสคู่ แต่เซลที่อยู่ถัดลงมาเป็นเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว และมีข้อยึดหลอกระหว่างเซล (false clamp) คือเป็นข้อยึดระหว่างเซลที่ไม่สามารถเชื่อมเซลที่ถัดจากส่วนปลายได้ ดังนั้นจึงมีการขังนิวเคลียสลูกไว้หนึ่งตัวทุกครั้งที่มีการแบ่งตัว

ถ้าคู่ของยีนของปัจจัย A เหมือนกัน แต่ของปัจจัย B ต่างกันจะเกิดการผสมเพียงกึ่งเดียวเช่นกันคือ มีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส และมีการสร้างเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) ที่ไม่สามารถสร้างดอกเห็ดได้ เกิดเป็นเซลที่มีนิวเคลียสหลายตัว (multikaryotic cell) โดยมีผนังกั้นระหว่างเซล และไม่มีข้อยึดระหว่างเซล การที่มีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียสอย่างไม่จำกัด กระจายไปทั่วเส้นใยที่จับคู่กัน

ถ้าคู่ยีนของปัจจัย A และปัจจัย B ต่างกัน จะเกิดการผสมติด มีการเกิดเส้นใยนิวเคลียสคู่ ที่มีข้อยึดระหว่างเซลที่สมบูรณ์ และผสมกันได้อย่างสมบูรณ์ (Raper, 1978) ตัวอย่างได้แก่เห็ดนางรม (Pleurotus ostreatus) เห็ดประเภท tetrapolar heterothallism นี้จะผสมกันได้เมื่อมีคู่ของยีน A ต่างกัน และ B ต่างกันด้วย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงความสามารถในการผสมกันได้ของเห็ดประเภท Tetrapolar heterothallism

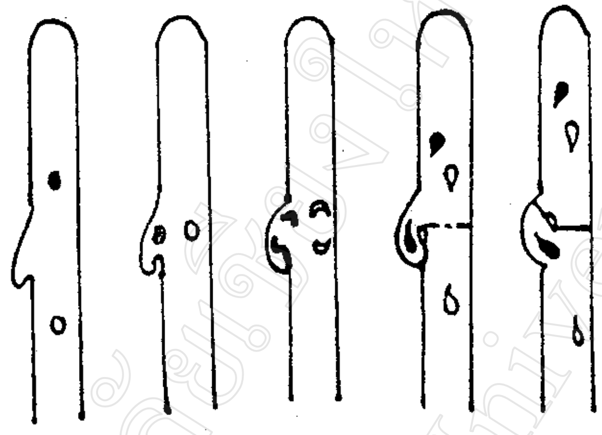
รูปแบบการผสม	A_1B_1	A_1B_2	A_2B_1	A_2B_2
A_1B_1	-	F	(+)	+
A_1B_2	F	-	+	(+)
A_2B_1	(+)	+	-	F
A_2B_2	+	(+)	F	-

- = ผสมเข้ากันไม่ได้เลย

\+ = ผสมเข้ากันได้สมบูรณ์ เป็น dikaryon ที่นิวเคลียสเคลื่อนที่ได้และเกิดดอกได้ มีข้อยึดจริง

(+) = เข้ากันได้กึ่งเดียว สร้างดอกไม่ได้ คือ heterokaryon ส่วนใหญ่จะเคลื่อนที่ไม่ได้มีข้อยึดหลอก

F = เข้ากันได้กึ่งเดียวคือสร้างดอกไม่ได้คือ heterokaryon เป็นแบบ multikaryon ไม่มีข้อยึดระหว่างเซล (Raper, 1978)



ภาพที่ 1 การสร้างข้อยึดระหว่างเซล (clamp connection) ของเส้นใยเห็ด

5. อิเล็กโตรโฟรีซีส (electrophoresis)

อิเล็กโตรโฟรีซีส หมายถึงการเคลื่อนย้ายอนุภาคที่อยู่ในสารละลายด้วยกระแสไฟฟ้า โดยอาศัยคุณสมบัติของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าบวกหรือลบ ซึ่งจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วลบหรือขั้วบวกในสนามไฟฟ้าด้วยอัตราการเคลื่อนที่ และทิศทางต่างกันไปตามแต่ชนิดของประจุบนอนุภาคนั้น ๆ (พิสสวรรณ, 2531)

ชนิดของอิเล็กโตรโฟรีซีส มี 3 ชนิด คือ

1. Moving boundaries หรือ Free electrophoresis หลักการก็คือสารตัวอย่างจะถูกบรรจุไว้ในระหว่างกลางของสารละลายบัพเฟอร์ซึ่งอยู่ในหลอด เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าให้กับสารในหลอด องค์ประกอบแต่ละส่วนในสารตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางและอัตราเร็วที่ขึ้นกับชนิดและจำนวนของประจุ วิธีนี้จัดเป็นต้นแบบของอิเล็กโตรโฟรีซีส

2. Zone electrophoresis หลักการคือหยดสารตัวอย่างหรือใส่สารตัวอย่างลงในตัวกลางที่เป็นสารกึ่งแข็ง เช่น แป้ง หรือเจล เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าไปในตัวกลางที่แช่ในสารละลาย โมเลกุลในสารตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปบนหรือผ่านไปในสารตัวกลางนั้นได้ตามแต่ชนิด ขนาด และรูปร่างของโมเลกุลนั้น ๆ และเกิดเป็นแถบตามชนิดของโมเลกุลขึ้น zone electrophoresis มีหลายแบบ เช่น

2.1 Paper electrophoresis สารตัวกลางที่ใช้เป็นกระดาษและใช้แรงดันไฟฟ้าค่อนข้างต่ำ จุ่มกระดาษลงในสารละลายบัพเฟอร์แล้ววางในถาดที่บรรจุสารละลายไว้ หยดตัวอย่างเป็นจุดหรือเป็นแถบลงบนกระดาษนี้ แล้วปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่านตัวกลาง โมเลกุลในสารตัวอย่าง ก็จะเคลื่อนที่แยกออกจากกันตามคุณสมบัติของโมเลกุล

2.2 Gel electrophoresis ใช้สารตัวกลางจำพวกเจลที่เป็นสารกึ่งแข็งเช่น แป้ง (strach) หรือ โพลีอะคริละไมด์ (polyacrylamide) การแยกโมเลกุลจะอาศัยสภาพของเนื้อเจลและขนาดช่องที่เกิดขึ้นจากการเตรียมเจลในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แต่เดิมนิยมใช้แป้งมัน เป็นสารตัวกลางแต่ปัจจุบันนิยมใช้โพลีอะคริละไมด์ เนื่องจากสามารถปรับขนาดช่องของเนื้อเจลได้โดยการปรับความเข้มข้นของเจล นอกจากนี้เจลยังมีคุณสมบัติที่ดีคือไม่ดูดซับสารตัวอย่างที่ผ่านเข้ามาตามช่อง โมเลกุลจึงเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ โดยที่โมเลกุลขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้ในอัตราเร็วที่สูงกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่

3. Continuous electrophoresis หรือ Curtain electrophoresis หลักการให้สารผสมตัวอย่างที่ต้องการแยก เคลื่อนที่ผ่านตัวกลางในสนามไฟฟ้าอย่างต่อเนื่อง การเคลื่อนที่แยกตัวของโมเลกุลต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบในสารตัวอย่างจะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของสารละลายบัพเฟอร์ อัตราการใส่ตัวอย่าง ความเข้มข้นของสนามไฟฟ้าและความเข้มข้นของสารละลายบัพเฟอร์ สารตัวกลางที่ใช้คือกระดาษกรอง (พิสสวรรณ, 2531)

6. เอนไซม์และโปรตีนในพืช

พืชชนิดต่าง ๆ ที่ปรากฏอยู่บนโลกนี้ต่างประกอบด้วยองค์ประกอบย่อย ๆ แตกต่างกันออกไปตั้งแต่อวัยวะใหญ่ ๆ ไปจนถึงโมเลกุลเล็ก ๆ ภายในเซล พืชที่มีวิวัฒนาการมาจากต้นกำเนิดเดียวกันมักจะมีองค์ประกอบคล้ายคลึงกัน แต่เมื่อพิจารณาองค์ประกอบเหล่านี้ดูให้ดีก็จะพบความแตกต่างอยู่มาก แม้แต่พืชชนิดเดียวกันที่มีลักษณะต่าง ๆ เหมือนกันแยกความแตกต่างไม่ได้ด้วยตาเปล่า แต่เมื่อศึกษาให้ละเอียดลงไปถึงระดับโมเลกุลก็ยังสามารถแยกแยะออกจากกันได้ โปรตีนหรือเอนไซม์เป็นโมเลกุลที่มีประโยชน์มากเพราะข้อมูลทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดมาจากพ่อแม่นั้นจะถูกแปลออกมาเป็นโมเลกุลของโปรตีนหรือเอนไซม์โดยตรง

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ประกอบด้วยกรดอมิโนจำนวนมากและจับกันอยู่อย่างเป็นระเบียบ กรดอมิโนที่จับกันอยู่นี้โดยทั่วไปมีอยู่ 20 ชนิดด้วยกัน บางชนิดมีคุณสมบัติเป็นกลางทางไฟฟ้าที่ pH 7 บางชนิดมีประจุบวก บางชนิดก็มีประจุเป็นลบ ประจุไฟฟ้าเหล่านี้ทำให้เกิดแรงดึงดูดหรือผลักดันซึ่งกันและกัน หรือกับ

โมเลกุลของน้ำขึ้น ทำให้โมเลกุลของโปรตีนมีลักษณะโครงสร้างแตกต่างออกไปตามแรงเหล่านี้ (จริงแท้, 2531)

สำหรับเอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งได้รับการศึกษาค่อนข้างมากเพราะเอนไซม์ทำหน้าที่กระตุ้นหรือควบคุมปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ในพืช การเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในตัวเอนไซม์แต่ละชนิดอาจส่งผลถึงความอยู่รอดของพืชได้อย่างมาก เอนไซม์มีอยู่หลายชนิดและต่างก็มีหน้าที่ในการกระตุ้นปฏิกิริยาเคมีต่างกัน เอนไซม์แต่ละกลุ่มที่เร่งชนิดของปฏิกิริยาต่าง ๆ มีดังนี้

1. อ๊อกซิโดรีดักเตส (oxidoreductases) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอ๊อกซิเดชั่น-รีดักชั่น โดยอาศัยโคเอนไซม์ NAD NADH NADPH FAD เป็นตัวรับส่งไฮโดรเจน เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ อ๊อกซิเดส เปออ๊อกซิเดส เป็นต้น

2. ทรานส์เฟอเรส (transferase) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่สารที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนจากสารหนึ่งไปยังอีกสารหนึ่ง เช่น การย้ายหมู่อะมิโน ชื่อโดยทั่วไปของเอนไซม์กลุ่มนี้ เช่น อะมิโนทรานส์เฟอเรส ทรานส์คาร์บ๊อกซิเลส เป็นต้น

3. ไฮโดรเลส (hydrolases) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาตัดการเชื่อมระหว่างคาร์บอนกับอะตอมของสารอื่นโดยใช้น้ำ ชื่อทั่ว ๆ ไป ของเอนไซม์กลุ่มนี้เช่น เอสเทอร์เรส อะไมเลส ฟอสเฟเตส เป็นต้น

4. ไลเอส (lyases) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาตัดการเชื่อมระหว่างคาร์บอน-คาร์บอน คาร์บอน-กำมะถัน และคาร์บอน-ไนโตรเจน ชื่อโดยทั่วไปของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ ดีคาร์บ๊อกซีเลส ซิเตรตไลเอส เป็นต้น

5. ไอโซเมอร์เรส (isomerases) เอนไซม์กลุ่มนี้จะเร่งปฏิกิริยา การเปลี่ยนไปมาระหว่างไอโซเมอร์ เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ ไอโซเมอเรส เป็นต้น

6. ไลเกส (ligases) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาสร้างการเชื่อมระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอน อ๊อกซิเจน ไนโตรเจน และสารอื่น ๆ โดยอาศัยพลังงาน ชื่อทั่ว ๆ ไปของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ คาร์บ๊อกซิเลส เป็นต้น (วิบูลย์, 2526)

Isozyme คือเอนไซม์ชนิดเดียวกัน ที่มียีนต้นแบบมากกว่าหนึ่งยีน ทำให้มีโมเลกุลที่ต่างกัน หรือเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่ต่างรูป ทำให้ได้เอนไซม์ที่มีองค์ประกอบต่างกัน คุณสมบัติทางไฟฟ้าและโครงสร้างจะต่างกันแต่มีปฏิกิริยาทางเคมีแบบเดียวกัน เอนไซม์ต่าง ๆ สามารถสกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชโดยอาศัยเทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซีส ซึ่งสามารถตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายต้น (clone) ของพืชชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกัน หรือจำแนกพันธุ์พืชได้จากแบบของไอโซไซม์ (isozyme pattern)

ดังนั้นการศึกษาเทคนิคทาง อิเล็กโตรโฟรีซีสเพื่อการจำแนกพันธุ์โดยใช้ isozyme pattern จำเป็นต้องคำนึงถึงประเภทของเอนไซม์ซึ่งสามารถแยกออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. Specific enzyme ได้แก่ amylase, malate dehydrogenese, alcohol dehydrogenase, phosphoglucomutase

2. Non-specific enzyme ได้แก่ esterase, peroxidase, catalase, acid phophatase, alkaline phosphatase (ชวนพิศ, 2538)

7. การประเมินความสามารถของคู่ผสมในการเจริญของเส้นใยและการให้ผลผลิตของเห็ด โดยใช้เทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซีส

หลักในการผสมเห็ดนางรมเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและมีลักษณะตามที่ต้องการนั้น ทำได้โดยการนำเส้นใยที่งอกจากสปอร์แต่ละสปอร์มาผสมกันโดยไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของเส้นใยมาประกอบการจับคู่ผสม และเมื่อได้ลูกผสมแล้วจึงนำลูกผสมไปทดสอบผลผลิตและลักษณะต่างๆ โดยการเพาะเลี้ยงตามปกติ แต่ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคทางด้าน อิเล็กโตรโฟรีซีส เข้ามาทำการศึกษาเพื่อแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืช ดังนั้นการนำเอาวิธีการนี้มาทดลองใช้แยกความแตกต่างของเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์ก่อน ซึ่งคัดเลือกไว้เป็นพ่อแม่แล้วนำมาทำลูกผสมโดยการเปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยก็จะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์กันได้ ซึ่งเส้นใยของเห็ดสามารถที่จะนำมาศึกษาแถบของเอนไซม์แต่ละชนิดได้ (Zervakis et.al, 1994) เอนไซม์เหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดและยังเกี่ยวกับการนำวัสดุเพาะไปใช้ การประเมินความสามารถของลูกผสมด้านการเจริญของเส้นใยและผลผลิต โดยใช้วิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส ซึ่งเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงตามปกติจะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเส้นใย ผลผลิตของเห็ดและลักษณะแถบเอนไซม์ของเห็ด

แต่อย่างไรก็ตามการที่จะประเมินถึงความสามารถในการเจริญเติบโตของเส้นใยและผลผลิตของเห็ดจะต้องทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดลูกผสมนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยของวัสดุเพาะที่เหมาะสมซึ่งประกอบทั้งชนิดของขี้เลื่อย อัตราส่วนของชนิดขี้เลื่อย ความชื้นของวัสดุเพาะ ปริมาณของวัสดุเพาะ และการปนเปื้อนของก้อนเชื้อ เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับแบบของไอโซไซม์ (isozyme pattern) ของลูกผสมที่ได้ต่อไป