

## บทที่ 5

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณภาพและการคัดเลือกลูกผสมระหว่างเห็ดนางรมสีเทาพันธุ์ CMS กับเห็ดลูกผสม KDCM4(A4) จากจำนวน 256 คู่ผสม มี 107 คู่ที่ตรวจพบข้อขีดระหว่างเซลล์ และเมื่อนำมาเพาะเพื่อทดสอบคุณภาพของดอกในช่วงระหว่าง 3 มีนาคม 2539 ถึง 22 เมษายน 2539 มีเพียง 15 สายพันธุ์ลูกผสมเท่านั้นที่เกิดดอก (คิดเป็น 6% ของคู่ผสมทั้งหมด) สอดคล้องกับรายงานของ Bresinsky et al. (1987) อ้างถึง Hilber(1982)ผสมพันธุ์ *P. var. nebrodensis* x *P. var. eryngii* พบว่าสามารถผสมเข้ากันได้ (compatibility) 6% Bresinsky et al. (1987)อ้างถึง Cailleux et al. (1981)การที่มีอัตราการเกิดดอกเห็ดต่ำนี้อาจมีสาเหตุตามที่ว่าลูกผสมข้าม eco-type ของ *P. eryngii* ที่เป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่หนึ่งได้รับการรบกวนจากความสัมพันธ์ทางการสืบพันธุ์ (fertility) ตั้งแต่ 40-50% ซึ่งแบ่งสาเหตุได้เป็น ไม่เกิดดอกเห็ด 14-33% หยุดการสร้างครีบ 8-10% ดอกและโครงสร้างของครีบไม่พัฒนา (รบกวนการรวมตัวของนิวเคลียส) 2-10% และนอกจากนี้เส้นใยนิวเคลียสคู่ที่ไม่สามารถพัฒนาเกิดดอกเห็ดได้ อาจเนื่องมาจากลูกผสมที่ได้มียีนที่ไม่ทนสภาพอากาศร้อนอันเป็นลักษณะประจำพันธุ์ของเห็ดนางรมสีเทาพันธุ์ CMS ซึ่งปกติต้องเพาะในสภาพห้องเย็นจึงจะออกดอกได้ดี จึงทำให้ไม่ออกดอกทั้งหมดเมื่อเจอสภาพอากาศร้อน จากรายงานของ Eger (1978) ยีนที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการเกิดดอกเห็ด *Pleurotus* ไม่ได้ควบคุมโดยยีนเดี่ยว (single gene) เพราะจากการผสมพันธุ์เห็ด *Pleurotus* ระหว่างเชื้อพันธุ์จากเยอรมันซึ่งไวต่ออุณหภูมิ กับเชื้อพันธุ์จากอเมริกาซึ่งไม่ไวต่ออุณหภูมิ ได้สายพันธุ์ลูกผสมที่มีนิวเคลียสคู่ 4 ชนิด เช่น (1). ขบวนการเกิดดอกเห็ดจะไวต่ออุณหภูมิสูงอย่างเช่นกลุ่มเห็ดของเยอรมัน (2) ไม่ไวต่ออุณหภูมิสูงอย่างเช่นกลุ่มเห็ดของอเมริกา (3) การสร้างคุ่มดอกเห็ดจะไม่ไวต่ออุณหภูมิสูงแต่การเจริญของดอกเห็ดจะไวต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้น (4) การเริ่มเกิดตุ่มดอกเห็ด (primodium initiation) และการเริ่มเจริญของดอกเห็ดจะไวต่ออุณหภูมิสูง แต่การขยายตัวของหมวกเห็ดและการสร้างสปอร์จะยังคงเกิดได้ในที่อุณหภูมิสูงกว่า 20°C. จากผลลัพท์นี้แสดงว่าขบวนการเกิดดอกเห็ดไม่ได้ถูกควบคุมโดยยีนเพียงตัวเดียว แต่จะถูกควบคุมด้วยยีนหลายตัวอย่างเช่นใน *Coprinus macrorhizus* เราอาจคาดได้ว่าอย่างน้อยต้องมีสองอัลลีล (alleles) ที่เกี่ยวข้องกับความไวต่ออุณหภูมิของยีนเหล่านี้

Muller (1989) พบว่า ปัจจัยของสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับชีวเคมีของเห็ด การพัฒนาของดอกเห็ด *Pleurotus ostreatus* ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิซึ่งอุณหภูมิจะไปมีบทบาทต่อการทำงานของเอ็นไซม์ สายพันธุ์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิจะไม่สามารถเกิดดอกเห็ดที่อุณหภูมิสูงกว่า 20°C เพราะที่อุณหภูมิดังกล่าวจะทำให้กิจกรรมของมันลดลงเอง ซึ่งจะไปรบกวนความสัมพันธ์อันบอบบางระหว่างการสังเคราะห์และการสลายตัวของส่วนประกอบของผนัง

เซลล์ และสายพันธุ์ที่ทนร้อนสามารถเกิดดอกได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 32 - 35 °ซ เพราะเอนไซม์โปรติเอส (protease) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ต้องพึ่งพาโลหะนี้จะทำให้เอนไซม์ที่อยู่ผนังเซลล์ตายตัวหยุดทำงานไปบางส่วน มีผลทำให้ยังคงเกิดความสมดุลที่อุณหภูมิสูงได้ แต่ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 40 °ซ การควบคุมการสังเคราะห์และการสลายตัวจะล้มเหลวเพราะเอนไซม์โปรติเอสจะหยุดทำงานจากการที่อุณหภูมิสูงเกินไป เห็นลูกผสมชั่ว 1 (F1) ที่ผ่านการคัดเลือกคุณภาพจำนวน 9 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่จะเป็นการผสมโดยใช้กลุ่มของเส้นใยที่มีการเจริญต่างกลุ่มกัน และจากคู่ผสมทั้งหมด 256 คู่ แต่เกิดดอกเห็นเพียง 15 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นการผสมระหว่างกลุ่มที่เจริญเร็วกับเจริญช้า ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็นเกณฑ์พิจารณาได้ว่าการผสมแบบ mono-crossing ควรนำเส้นใยกลุ่มที่เจริญเร็วกับเจริญช้ามาใช้ในการผสมเพราะทำให้เกิดดอกได้ดี

จากการทดสอบความสามารถในการให้ผลผลิตในการเพาะ 2 ฤดูกาล สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดในกลุ่มจะเป็นคู่ผสมระหว่างกลุ่มเส้นใยที่มีการเจริญเร็วกับเจริญช้า คือสายพันธุ์ที่ 1 (C3x F1) หรือ Q1 ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าลูกผสมระหว่างกลุ่มเส้นใย จะมีความสามารถในการให้ผลผลิตสูงกว่าลูกผสมที่เกิดจากการผสมภายในกลุ่ม และความสามารถในการให้ผลผลิตจะไม่เปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลที่เพาะ

การผสมแบบ di - mon - mating ซึ่งเป็นการผสมกลับไปยังสายพันธุ์พ่อแม่ เพื่อรวมลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีของพ่อแม่มาไว้ยังลูกชั่วที่ 2 เส้นใยที่มีนิวเคลียสเดี่ยวจากสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุด [สายพันธุ์ที่ 1 (C3x F1) หรือ Q1] (จากการทดลองที่ 2) กับเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่ 11 สายพันธุ์ ได้คู่ผสม 220 คู่ผสม มี 197 คู่ที่ตรวจเจอข้อยี่ระหว่างเซลล์และมีเพียง 139 คู่ผสมที่เกิดดอกเห็น (คิดเป็น 63% ของคู่ผสมทั้งหมด) ทดสอบคุณภาพในช่วงระหว่าง 1 ธันวาคม 2539 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2540 จะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์ของคู่ผสมที่เพาะแล้วสามารถเกิดดอกได้จะมีปริมาณมากกว่าการผสมในการทดลองที่ 1 ซึ่งมีเพียง 6% ทั้งนี้เนื่องจากสายพันธุ์ที่มีนิวเคลียสคู่ที่นำมาผสมเป็นสายพันธุ์ที่สามารถออกดอกได้นอกห้องเย็น จึงทำให้ลูกผสมที่ได้มีโอกาสได้รับยีนที่ทนต่อสภาพอากาศร้อนมากกว่าลูกผสมชั่วที่ 1 (การทดลองที่ 1) และสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก 9 สายพันธุ์ จะมีรูปร่างลักษณะ ความหนา เปราะ และสีของดอกแตกต่างกันมีตั้งแต่สีเทาเข้มเหมือนสายพันธุ์เห็ดนางรมสีเทาพันธุ์ CM5 ซึ่งเป็นสายพันธุ์พ่อแม่จนถึงสีเทาอ่อนและสีเทาออกขาวแต่ไม่มีดอกสีขาวและครีบดอกบางเหมือนเห็ดนางรมสีขาว ลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) ที่เกิดดอกเห็นจะมาจากการผสมระหว่าง dikaryon กับ monokaryon ที่มีอัตราการเจริญทุกกลุ่มคือไม่มีการผสมกับกลุ่มใดที่ไม่เกิดดอก อาทิเช่น การผสมระหว่าง KDCM3 กับเส้นใยที่มีนิวเคลียสเดี่ยวซึ่งมี 4 กลุ่มเส้นใย คือ กลุ่มเจริญเร็วมาก เจริญเร็ว เจริญช้า และเจริญช้ามาก จะได้ลูกผสม(เป็นตัวแทนของทุกกลุ่ม) ที่สามารถเกิดดอกได้ทั้งหมด

การทดสอบผลผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ผ่านการคัดเลือกคุณภาพจำนวน 9 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่คือเห็ดนางรมสีเทาพันธุ์ CM.5 และเห็ดนางรมสีขาว พบว่าเห็ดนางรมสีเทาพันธุ์ CM.5 ออกดอกเพียง 2 ดอกจากจำนวนทั้งหมด 48 ดอก จึงไม่ได้นำมาเปรียบเทียบผลผลิตกับสายพันธุ์อื่น ๆ จากการเปรียบเทียบผลผลิตโดยแบ่งสายพันธุ์ออกเป็น 2 กลุ่มสายพันธุ์ คือ กลุ่มสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและกลุ่มสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำ กลุ่มสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงคือสายพันธุ์ที่ 1 (Q4XS1), 2 (Q1XT1) และ 3 (Q3XS3) ให้ผลผลิตไม่แตกต่างทางสถิติโดยให้ผลผลิต 110.9, 112.7 และ 119.5 กรัม/ถุง/crop โดยให้ผลผลิตต่ำกว่าเห็ดนางรมสีขาวแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งให้ผลผลิต 140.0 กรัม/ถุง/crop แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตเห็ดนางรมชนิดสีเทาพันธุ์ CM.5 ที่เพาะในห้องเย็นจากการทดลองของสุวรรณิ(2540) ทดลองอัตราส่วนของขี้เลื่อยไม้ฉำฉาและขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่อัตราส่วน 1:1 ได้ผลผลิต 112.50 กรัม/ถุง/crop ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งให้ผลผลิต 110.9, 112.7, 119.5 กรัม/ต่อ/crop ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ให้ผลผลิตต่ำมี 6 สายพันธุ์ไม่น่าสนใจ ลักษณะการให้ผลผลิตในแต่ละสายพันธุ์ในกลุ่มที่ให้ผลผลิตสูงจะเห็นได้ว่าการให้ผลผลิตเป็นชุก โดยสายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 3 จะเก็บผลผลิตได้ 2 ชุก ส่วนเห็ดนางรมสีขาวเก็บได้ 3 ชุก และการเริ่มให้ผลผลิตจะเร็วกว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำโดยสายพันธุ์ในกลุ่มที่ให้ผลผลิตต่ำการให้ผลผลิตจะกระจายไม่เป็นชุก และต้องใช้เวลายาวนานกว่าที่จะเริ่มให้ผลผลิต ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ที่จะให้ผลผลิตสูงนั้นจะต้องมีลักษณะการให้ผลผลิตเป็นชุกและให้ผลผลิตเร็ว ในการทดลองครั้งต่อไปควรนำลูกผสมสายพันธุ์กลุ่มที่ให้ผลผลิตสูงนำไปผสมกับเห็ดนางรมสีขาวเพื่อเป็นการเพิ่มยีนที่ให้ผลผลิตสูงซึ่งให้ผลผลิตสูงถึง 199.1 กรัม/ถุง/crop (ฉวีธยา,2539)