

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟางโดยการผสมพันธุ์

Improvement of Straw Mushroom

[*Volvariella volvacea* (Bill.ex Fr.)Sing.] by Hybridization

กนิษฐา พรเจริญโรจน์^๑ และ วิเชียร ภู่อ่วง^๒

Kanittha Pornchareonroch^๑ and Wichian Pooswang^๒

Abstract : Twenty days of culture duration of the straw mushroom gave the highest mycelium dry weight when they were cultured in liquid medium. The 12th sub culture of the mycelium gave a higher mycelium dry weight but not significantly different, each subculture last 20 days. However yield of mushroom decreased after the 8th subculture.

Both cultivars used (V1 and V6) were obtained from Department of Agriculture. Twenty four homokaryons from V1 and twenty three from V6 were divided into fast, medium and slow growing mycelium. Only four homokaryons of fast and slow growing mycelium from each cultivar were selected for cross breeding. There were 64 combinations and 18 produced mushroom primordia but only 14 produced mushroom. One hybrid gave the highest yield which was higher than V6 but not significantly different from V1 and the commercially grown cultivar (Chakrapan).

There was no correlation between mycelium weight and yield. The line which gave the highest mycelium weight did not give the highest yield.

Electrophoretic zymogram of esterase and acid phosphatase can not be used to determined the yield potential of the hybrid strain.

^๑ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

^๒ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ : การเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางในอาหารเหลวเป็นเวลา 20 วัน ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยมากที่สุด ส่วนการ sub culture ครั้งที่ 12 จะให้น้ำหนักแห้งมากที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยแต่ละ sub culture จะเลี้ยงเส้นใยเป็นระยะเวลา 20 วัน อย่างไรก็ตามผลผลิตของเห็ดฟางจะลดลงหลังจาก sub culture ครั้งที่ 8 เห็ดฟางสองพันธุ์ที่ใช้ (V1 และ V6) นำมาจากกรมวิชาการเกษตร และได้มีการแบ่งการเจริญของเส้นใยสปอร์เดี่ยว 24 สายพันธุ์จากพันธุ์ V1 และ 23 สายพันธุ์ จากพันธุ์ V6 ออกเป็นเจริญเร็ว เจริญปานกลาง และเจริญช้า คัดเลือกสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวที่เจริญเร็ว และช้าอย่างละ 4 สายพันธุ์ ของแต่ละพันธุ์ เพื่อนำมาผสมพันธุ์ได้ 64 คู่ผสม มี 18 คู่ผสมที่เกิด primodia และมีเพียง 14 คู่ผสมที่สามารถเกิดดอกเห็ดได้ ลูกผสมหนึ่งสายพันธุ์ที่มีผลผลิตสูงที่สุดจะให้ผลผลิตมากกว่าพันธุ์ V6 แต่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ V1 และพันธุ์การดำ(จักรพันธุ์) ไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างน้ำหนักแห้งของเส้นใยและผลผลิต คือสายพันธุ์ที่ให้น้ำหนักมากที่สุดไม่ได้เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด ไซโมแกรม esterase และ acid phosphatase ไม่สามารถใช้ในการกำหนดศักยภาพในการให้ผลผลิตของสายพันธุ์ลูกผสม

Index words : การปรับปรุงพันธุ์ เห็ดฟาง ไซโมแกรม การผสมพันธุ์
Improvement, Straw mushroom, Hybridization, Zymogram.

บทนำ

เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงชนิดหนึ่ง และเป็นที่ยอมรับกันมาก นอกจากจะมีรสชาติดี มีคุณค่าทางอาหารสูง และเห็ดบางชนิดยังมีสรรพคุณทางยารักษาโรคทำให้ประชาชนหันมานิยมรับประทานเห็ดเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้มีการเพาะเห็ดมากขึ้น การเพาะเห็ดในระยะเริ่มแรกเป็นเพียงการเลียนแบบธรรมชาติเท่านั้น ผลผลิตที่ได้จึงต่ำและไม่แน่นอน ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงให้ความสนใจงานด้านการเพาะเห็ด และทำการวิจัยทางด้านนี้อย่างจริงจัง โดยนำเทคโนโลยีด้านต่างๆ เข้ามาช่วย (ปัญญา, 2532) ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์เป็นวิทยาศาสตร์แขนงหนึ่ง ที่จะช่วยเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ปลูก ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ genetic recombination โดยอาศัยความรู้ด้านการควบคุมวงจรชีวิตและรูปแบบของการแสดงเพศของเชื้อรา (Chang, 1982)

เห็ดฟางจัดเป็นเห็ดที่เพาะง่าย และใช้ระยะเวลาในการเพาะน้อยเมื่อเทียบกับเห็ดชนิดอื่น

ในการเพาะเห็ด พบว่าปัญหาคือ เชื้อเห็ดฟางที่นำมาใช้เพาะให้ผลผลิตต่ำและไม่สม่ำเสมอ ซึ่งนับว่าเป็นปัญหาที่สำคัญที่สุดในการเพาะเห็ดฟาง ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งที่จะปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟางเพื่อหาสายพันธุ์ที่มีผลผลิตสูงขึ้น และสม่ำเสมอสามารถเพาะได้ตลอดทั้งปี

ตรวจเอกสาร

เห็ดฟางมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Volvariella volvacea* [(Bill.ex.Fr.)Sing.] มีวงจรชีวิตแบบ primary homothallism (Chang, 1972) โดยเริ่มจากดอกเห็ดเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ จะมีการสร้าง basidiospore ซึ่งเกิดจากการพัฒนาเส้นใยชั้นที่สอง ซึ่งมีสองนิวเคลียส ($n + n$) มีการพัฒนาไปเป็น basidium ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระบอง เมื่อนิวเคลียสสองอันเข้ามารวมกัน จะมีการกระจายตัวของลักษณะทางพันธุกรรม จากการที่นิวเคลียสแบ่งตัวแบบ meiosis ได้ haploid nucleus (n) จำนวน 4 นิวเคลียส และมีการสร้างก้านชูสปอร์ (sterigma) 4 อัน และนิวเคลียสจะเคลื่อนที่สู่ปลาย sterigma

และพัฒนาไปเป็น basidiospore เมื่อสปอร์แก่ก็จะถูกปล่อยออกมาและถ้าไปตกในบริเวณที่เหมาะสมก็จะงอกเส้นใยออกมา

การปรับปรุงพันธุ์เห็ด ได้ทำมานานแล้ว โดยในระยะแรกเป็นเพียงการคัดเลือกพันธุ์เท่านั้น แต่ในปัจจุบันได้มี การศึกษาค้นคว้าทางด้านการผสมพันธุ์และใช้เทคโนโลยีต่างๆ เข้ามาช่วยมากขึ้น จากการศึกษาการผสมพันธุ์เห็ดนางรมโดยการคัดเลือกโมโนคารีออน แล้วแบ่งเส้นใยออกเป็น 4 กลุ่ม คือเส้นใยที่เจริญเร็วมาก เจริญเร็ว เจริญช้า และเจริญช้ามาก ผสมแบบพบกันหมด พบว่าการเกิดดอกเห็ดได้ดึ้นนั้น จะได้จากการผสมข้ามระหว่างสามกลุ่มแรกที่เส้นใยมีอัตราการเจริญเร็ว การผสมในกลุ่มเดียวกันหรือกับพวกที่เส้นใยมีอัตราการเจริญช้ามาก จะให้ผลผลิตไม่เป็นที่น่าพอใจ(สุวรรณณีและวิเชียร, 2539)

ในการทดลองคัดสปอร์พบว่าเห็ดจะปล่อยสปอร์ออกมาเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียสและเมื่อนาสปอร์มาเลี้ยงในอาหารวันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับดูเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ จะพบว่าอุณหภูมิเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการงอกของสปอร์ ซึ่งจากการทดลองพบว่าสปอร์งอกดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบอีกว่าระดับความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์คือ 7.5 (Chang, 1972) ได้มีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของ *Volvariella diplasia* พบว่าน้ำหนักของเส้นใย จะมากที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Richard ที่ pH 6 อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน (Kalra et al., 1999)

สำหรับการวินิจฉัยความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เห็ด มีความจำเป็นอย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งการใช้ลักษณะการแสดงออกภายนอก (phenotype) ของเห็ดไม่สามารถบ่งบอกอย่างมีนัยสำคัญถึงความแตกต่างของสายพันธุ์ ที่มีความใกล้เคียงกันได้ การศึกษาไอโซไซม์โดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสน่าจะเป็นวิธีการตรวจสอบความผันแปรของพันธุ์พืชที่มีความใกล้เคียงกับการตรวจสอบระดับ DNA (Simpson and Withers, 1986) ซึ่งเส้นใยของเห็ดสามารถที่จะนำมาศึกษาแถบของเอนไซม์แต่ละชนิดได้ (Zervakis et al., 1994) จากการวิเคราะห์หารูปแบบไอโซไซม์ esterase, peroxidase และ acid phosphatase ของเห็ดนางรมลูกผสม โดยใช้ polyacrylamide gel 8.5% ผลปรากฏว่าไซโมแกรมของเส้นใยเห็ดลูกผสมมีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับไซโมแกรมของเส้นใยพ่อแม่ (เจนฟาง, 2540) และจากการทดลองของ Chang (1972) พบว่าไซโมแกรมของเส้นใยเห็ดฟางที่ได้จากการหารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับผลผลิตและ ระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดฟางให้มีผลผลิตสูงขึ้นและสม่ำเสมอ สามารถเพาะได้ตลอดทั้งปี

วิธีการทดลอง

สำหรับเห็ดฟางที่ใช้มีสองพันธุ์คือ V1 และ V6 ซึ่งเป็นของกรมวิชาการเกษตร โดยพันธุ์ V1 มีลักษณะดอกใหญ่สีเทา ให้ผลผลิตดีเมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำเล็กน้อย สำหรับพันธุ์ V6 จะให้ผลผลิตสูงแต่ขนาดดอกจะเล็กกว่าพันธุ์ V1 ดอกบานช้า สามารถเพาะได้ตลอดปี

การทดลองที่ 1

การเจริญของเส้นใยที่เลี้ยงในระยะเวลาต่างกัน

การศึกษาหาน้ำหนักแห้งของเส้นใยของเห็ดฟางพันธุ์ V1 โดยใช้ระยะเวลาการเจริญต่างๆ กัน วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี คือ เลี้ยงเส้นใยที่ระยะเวลา 8 14 20 และ 26 วัน มี 6 ซ้ำ โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร PDA ที่ไม่ใส่วุ้น เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนด นำเส้นใยเห็ดมากรอง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนักของเส้นใย

การทดลองที่ 2

การเจริญของเส้นใยและผลผลิตของเห็ดฟางพันธุ์ V1 เมื่อ sub culture ครั้งต่างๆ กัน

การศึกษากการเจริญของเส้นใยเห็ดฟางเมื่อ sub culture จำนวนครั้งต่างๆ กันที่จะส่งผลต่อผลผลิตของเห็ดฟาง โดยนำเส้นใยเห็ดฟางพันธุ์ V1 มาขยายพันธุ์หลายๆ ครั้งต่อเนื่องกัน วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี คือ sub culture ครั้งที่ 0 4 8 และ 12 มี 6 ซ้ำ โดยเลี้ยงเส้นใยในอาหารเหลว ให้มีระยะการเจริญเติบโตตามผลการทดลองที่ 1 แล้วนำมาเพาะให้เกิดดอกเห็ดโดยใช้วิธีการเพาะแบบกองสูงโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 3

การแยก คัดเลือก และผสมพันธุ์สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของเส้นใย

นำดอกเห็ดฟางพันธุ์ V1 และ V6 มาดักสปอร์ แล้วแยกไปเลี้ยงในอาหารวุ้น วัตรศมีของการเจริญเติบโตและแบ่งการเจริญออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เส้นใยเจริญเร็วมากเจริญเร็ว และเจริญช้า

คัดเลือกตัวแทนกลุ่มที่เส้นใยเจริญเร็วมากและเจริญช้าอย่างละ 4 สายพันธุ์ มาผสมพันธุ์แบบ พบกันหมด

การทดลองที่ 4

ทดสอบผลผลิตของลูกผสมที่ได้จากการคัดเลือก

คัดลูกผสมที่ได้จากการทดลองที่ 4 มาทดสอบผลผลิต วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 5

ศึกษาลักษณะแถบเอนไซม์ในเส้นใยเห็ด โดยใช้เทคนิคทางอิเล็กโทรโฟริซิส

นำลูกผสมมาศึกษาารูปแบบการแสดงออกของไอโซไซม์ esterase acid phosphatase และ peroxidase เพื่อหาความสัมพันธ์ที่อาจเกี่ยวข้องกับผลผลิต

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

การเจริญของเส้นใยพันธุ์ V1 ที่เลี้ยงในระยะเวลาต่างๆ กัน

จากการทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยงเส้นใยของเห็ดฟางที่ 20 วัน จะให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยมากที่สุด โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 306.0 มก. ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับเส้นใยที่เลี้ยงที่ระยะเวลา 26 วัน แต่แตกต่างกับเส้นใยที่เลี้ยงที่ระยะเวลา 8 และ 14 วัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ดังนั้นในการทดลองต่อไปที่มีการชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นใย จะใช้เส้นใยที่เลี้ยงที่ระยะเวลา 20 วัน

Table 1 Dry weight of V1 straw mushroom mycelium cultured for 8, 14, 20 and 26 days.

Days	Dry mycelium weight (mg)
8	225.5 c
14	254.1 bc
20	306.0 a
26	274.3 ab

Means with different superscript differ significantly at $P < 0.05$

การทดลองที่ 2

การเจริญของเส้นใยและผลผลิตของเห็ดฟางพันธุ์ V1 เมื่อ sub culture ครั้งต่างๆ กัน

จากการทดสอบการเจริญของเส้นใยพบว่า เมื่อจำนวนครั้งที่ sub culture เพิ่มขึ้น น้ำหนักแห้ง

ของเส้นใยจะเพิ่มขึ้นด้วยแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทดสอบผลผลิตพบว่า การ sub culture ครั้งที่ 8 จะให้ผลผลิตมากที่สุด คือ 895.8 กรัม ต่อน้ำหนักฟางแห้ง 10 กิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 2

Table 2 Mycelium weight and mushroom yield of V1 which was sub culture at 0, 4, 8 and 12 times.

No. sub culture	mycelium weight (mg)	Yield (g/10 kg of straw)
0	472.9	664.3 b
4	521.2	829.8 a
8	537.1	895.8 a
12	608.1	467.0 c

Means with different superscript differ significantly at $P < 0.05$

การทดลองที่ 3

การแยก คัดเลือก และผสมพันธุ์สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของเส้นใย

3.1 การวัดและการจำแนกอัตราการเจริญเติบโตของสปอร์เดี่ยว

จากการวัดการเจริญของสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวจากพันธุ์ V1 มีสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวทั้งหมด 24 สายพันธุ์ และเห็ดฟางพันธุ์ V6 มีสายพันธุ์ สปอร์เดี่ยวทั้งหมด 23 สายพันธุ์ คัดเลือกสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวที่มีการเจริญเร็ว และ

เข้าอย่างละ 4 สายพันธุ์ รวมทั้งหมดจะได้ 16 สายพันธุ์ดังนี้

สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V1 ที่เจริญเร็วแทนด้วย A1, A2, A3, A4

สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V1 ที่เจริญช้าแทนด้วย A5, A6, A7, A8

สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V6 ที่เจริญเร็วแทนด้วย B1, B2, B3, B4

สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V6 ที่เจริญช้าแทนด้วย B5, B6, B7, B8

3.2 การผสมพันธุ์ และการคัดเลือกลูกผสม

จากการผสมพันธุ์ระหว่างเห็ดฟางสายพันธุ์ V1 ทั้ง 8 สายพันธุ์ กับสายพันธุ์ V6 ทั้ง 8 สายพันธุ์ ได้ลูกผสมทั้งหมด 64 คู่ผสม หลังจากนั้นคัดเลือกลูกผสมที่สามารถเกิด primordia ได้ 18 คู่ผสม ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ

1. สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V1 ที่เจริญเร็วผสมกับสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V6 ที่เจริญเร็ว ได้ 4 คู่ผสม คิดเป็นร้อยละ 25 ได้แก่ H1, H2, H3 และ H6

2. สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V1 ที่เจริญเร็วผสมกับสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V6 ที่เจริญช้า ได้ 3 คู่ผสม คิดเป็นร้อยละ 18.75 ได้แก่ H4, H5 และ H7

3. สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V1 ที่เจริญช้าผสมกับสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V6 ที่เจริญเร็ว ได้ 10 คู่ผสม คิดเป็นร้อยละ 62.5 ได้แก่ H8, H9, H10, H12, H13, H14, H15, H16, H17 และ H18

4. สายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์ V1 ที่เจริญช้าผสมกับสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของพันธุ์

V6 ที่เจริญช้า ได้เพียงหนึ่งคู่ผสม คิดเป็นร้อยละ 6.25 ได้แก่ H11

การทดลองที่ 4

ทดสอบผลผลิตของลูกผสม

จากการเพาะเห็ดฟางเพื่อทดสอบผลผลิตลูกผสมทั้ง 18 คู่ผสม พบว่ามี 14 คู่ผสม ที่สามารถเกิดดอกได้ คัดเลือกคู่ผสมที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด 4 คู่ผสม ได้แก่ H9 H13 H16 และ H17 ซึ่งล้วนแต่เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของ V1 ที่เจริญช้ากับสายพันธุ์สปอร์เดี่ยวของ V6 ที่เจริญเร็วเพื่อนำมาทดสอบผลผลิตเปรียบเทียบกับพันธุ์ V1 และ V6 พร้อมกับหาความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและน้ำหนักแห้งของเส้นใย ซึ่งพบว่า H13 ให้ผลผลิตให้ผลผลิตสูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากพันธุ์ V1 และ V6 ดังแสดงในตารางที่ 3 และจากการทดสอบความสัมพันธ์พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของเส้นใยและผลผลิต ($r=0.3411$) ดังภาพที่ 1 ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการคัดเลือกลูกผสมเห็ดฟางจะพิจารณาจากการเจริญของเส้นใยไม่ได้

Table 3 Yield mushroom and mycelium weight of the four hybrids compared with both parents.

Varieties	Yield (g)	Mycelium weight (mg)
V1	920 a	619.50 a
V6	850 a	514.70 bc
H9	320 b	651.37 a
H13	950 a	606.45 a
H16	160 c	574.25 ab
H17	115 c	440.03 c

Means with different superscript differ significantly at $P<0.05$

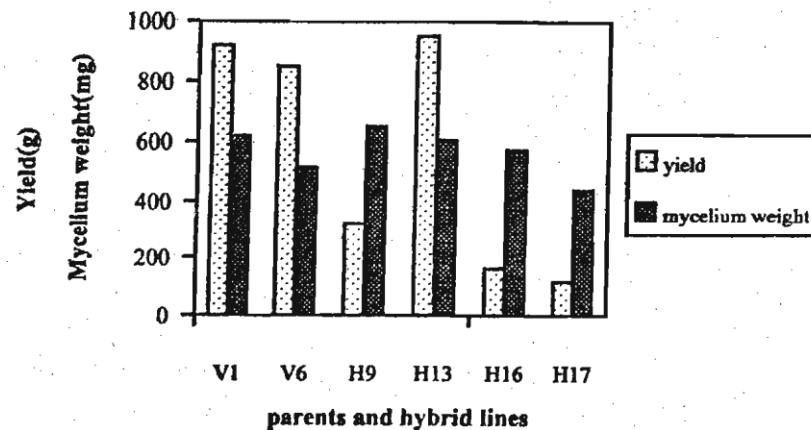


Figure 1 Relationship between mycelium weight (mg) and yield of mushroom(g).

เมื่อนำลูกผสมที่ดีที่สุดคือ H13 มาเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์การค้า ได้แก่พันธุ์ V1 V6 และ จักรพันธุ์ ตามลำดับผลปรากฏว่าพันธุ์ลูกผสมจะให้ผลผลิตดีกว่าพันธุ์ V6 แต่ไม่แตกต่างกับพันธุ์ V1 และพันธุ์การค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4

Table 4 Yield of straw mushroom V1, V6, H13 and Chakrapan were compared.

Varieties	Yield (g)
V1	1200.0 b
V6	856.7 c
H13	1450.0 ab
Chakrapan	1497.0 a

Means with different superscript differ significantly at $P < 0.05$

การทดลองที่ 5

ศึกษาลักษณะแถบเอนไซม์ในเส้นใยเห็ด โดยใช้เทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิส

จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ หรือ ไซโมแกรม (zymogram) ของเส้นใยของพันธุ์ V1 V6 จักรพันธุ์ สปอร์เดี่ยว 13 สายพันธุ์ และลูกผสม

18 คู่ผสม นำมาวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิส เอนไซม์ที่ทำการศึกษามี 4 ชนิด คือ esterase acid phosphatase และ peroxidase ให้ผลดังนี้

Esterase

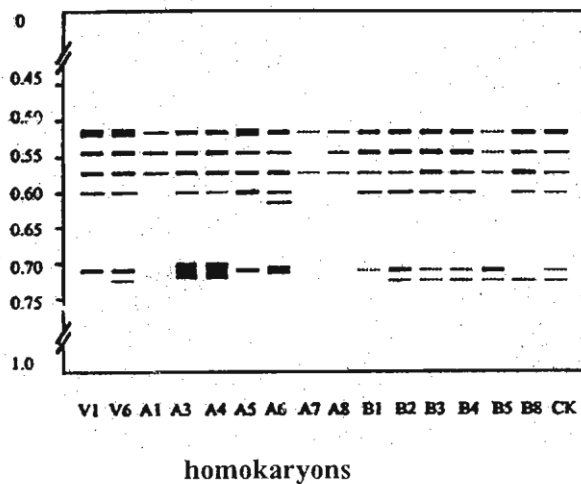
เอนไซม์ esterase ของเส้นใยเห็ดฟางพันธุ์ V1 และพันธุ์ V6 ได้ปรากฏแถบสีที่ใกล้เคียงกันมาก โดยพันธุ์ V1 ให้แถบสีที่ปรากฏ 5 แถบ และ V6 ให้แถบสีที่ปรากฏ 6 แถบ สำหรับพันธุ์จักรพันธุ์พบว่า มีไซโมแกรมที่ใกล้เคียงกับพันธุ์ V1 และ V6 ให้แถบสีที่ปรากฏ 6 แถบ ส่วนสปอร์เดี่ยวทั้ง 13 สายพันธุ์ จะมีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ จำนวนแถบมีตั้งแต่ 2-6 แถบ

สำหรับรูปแบบไอโซไซม์ esterase ของลูกผสมทั้ง 18 สายพันธุ์ จะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ จำนวนแถบมีตั้งแต่ 3-6 แถบ ดังแสดงไซโมแกรมในภาพที่ 2 ซึ่งจากการทดลองพบว่าลูกผสมส่วนใหญ่มีอัตราการเคลื่อนที่เหมือนพ่อแม่ แต่แตกต่างกันที่ความหนาของแถบไม่เท่ากัน ในบางสายพันธุ์จะมีแถบที่ไม่ชัดเจน (จุดไข่

ปลา) ซึ่งจากการทดลองไม่สามารถที่จะระบุได้ว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงมีรูปแบบของไซโมแกรมเป็นแบบใด

Acid phosphatase

จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ acid phosphatase ของเส้นใยเห็ดฟาง พบว่าให้แถบสีที่ไม่ชัดเจน จึงไม่สามารถบอกได้ถึงความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์



Peroxidase

ไม่ปรากฏแถบ

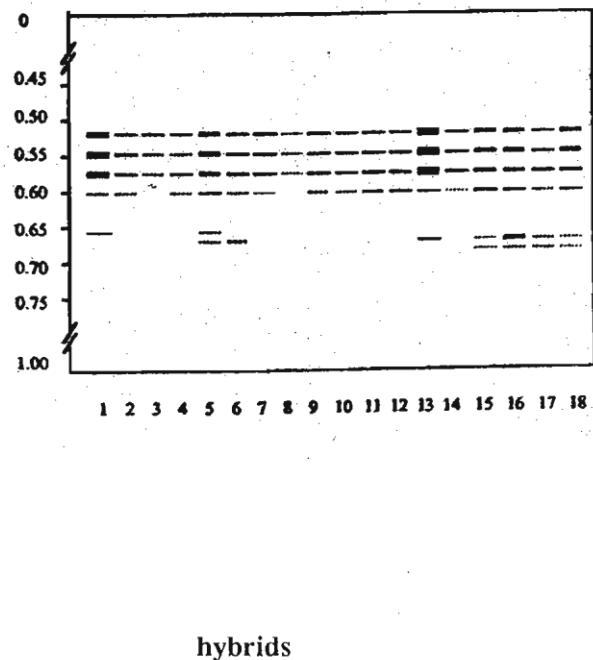


Figure 2 Zymogram of the esterase isozyme of CK(Chakrapan), V1, V6 with select homokaryons and selected hybrids.

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดฟางพันธุ์ V1 ในอาหารเหลวที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าเมื่อเลี้ยงเส้นใยที่ระยะเวลา 20 วัน จะให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยมากที่สุด สำหรับการเลี้ยงเส้นใยที่ sub culture ครั้งต่าง ๆ กัน พบว่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยจะมากที่สุดเมื่อ sub culture ครั้งที่ 12 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นเพราะ

เส้นใยเห็ดฟางต้องการการปรับตัวให้เข้ากับสภาพอาหารที่ใช้เลี้ยง แต่เมื่อทดสอบผลผลิตปรากฏว่าผลผลิตจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามจำนวนครั้งที่ sub culture โดยผลผลิตจะสูงสุดเมื่อ sub culture ครั้งที่ 8 หลังจากนั้นผลผลิตจะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Graham (1975) รายงานว่าหลังจากที่มีการ sub culture อย่างต่อเนื่องบนอาหารวันจะทำให้ผลผลิตลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเส้นใยเกิดการกลายพันธุ์เมื่อมีการ sub culture จำนวนมากครั้งและ

เนื่องจากเห็ดฟางเป็นเห็ดที่มีจำนวนนิวเคลียสไม่แน่นอนในหนึ่งเซลล์และนิวเคลียสนี้สามารถเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างเซลล์ได้ ดังนั้นเมื่อ subculture อย่างต่อเนื่อง เส้นใยที่ได้อาจเต็มไปด้วยนิวเคลียสที่ไม่มีประสิทธิภาพทำให้ผลผลิตของเห็ดฟางลดลง

จากการศึกษาการเจริญของสปอร์เดี่ยวของเห็ดฟางพันธุ์ V1 และ V6 ซึ่งแบ่งการเจริญออกเป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่มที่เส้นใยเจริญเร็วมาก (1), เจริญปานกลาง (2) และ เจริญช้า (3) แล้วนำกลุ่มที่เจริญเร็วและเจริญช้าของ V1 ผสมกับกลุ่มที่เจริญเร็วและเจริญช้าของ V6 คัดเลือกลูกผสมที่สามารถเกิด chlamydospores และ primodia ได้ เนื่องจากมีรายงานว่าผลผลิตที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับจำนวน chlamydospores ที่มาก (Chang and Yau 1970, 1971) ซึ่งลูกผสมส่วนมากได้จากการจับคู่กันของเส้นใย V1 ที่มีการเจริญของเส้นใยช้าและ V6 ที่มีการเจริญของเส้นใยเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของสุวรรณ (2540) ที่ผสมพันธุ์เห็ดนางรมโดยพบว่าพันธุ์ที่เกิดจากการผสมระหว่างเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวกลุ่มที่เจริญเร็วมากกับกลุ่มที่เจริญช้าสามารถเกิดดอกเห็ดได้เป็นส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Chang (1972) พบว่าเส้นใยสปอร์เดี่ยวที่เจริญช้าผิดปกติเป็นเส้นใยที่เป็นหมันไม่สามารถเกิดดอกเห็ดได้ ในขณะที่การจับคู่กันของเส้นใยสปอร์เดี่ยวที่มีการเจริญช้าผิดปกตินี้สามารถเกิดดอกเห็ดได้

เมื่อนำลูกผสมทั้ง 18 สายพันธุ์ไปทดสอบผลผลิต พบว่ามีลูกผสมเพียงสายพันธุ์เดียวที่ให้ผลผลิตสูงคือพันธุ์ H13 ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ V6 แต่ไม่แตกต่างกับพันธุ์ V1 และพันธุ์การค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการหาความสัมพันธ์

นั้นพบว่าน้ำหนักแห้งของเส้นใยไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิตของเห็ดฟางทั้ง 6 สายพันธุ์ซึ่งอาจสรุปได้ว่าสายพันธุ์ใดก็ตามที่มีการเจริญของเส้นใยดีไม่ได้เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง

ผลจากการศึกษารูปแบบ ของไอโซไซม์ esterase, acid phosphatase และ peroxidase ของเห็ดฟางพันธุ์ V1 V6 พันธุ์การค้า สายพันธุ์สปอร์เดี่ยว และลูกผสม พบว่าเส้นใยของเห็ดฟางทั้งหมดมีรูปแบบ ไอโซไซม์ esterase ที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่สามารถบอกได้ถึงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแถบไอโซไซม์กับลักษณะต่างๆ ซึ่งได้แก่การเจริญของเส้นใยและผลผลิตนั้น จากการทดลองครั้งนี้ยังไม่สามารถเปรียบเทียบและแยกความแตกต่างได้ชัดเจน

จากการศึกษาของ Chang (1972) พบว่าไซโมแกรมของเส้นใยเห็ดฟางที่ได้จากการหารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับผลผลิต แต่จากการทดลองปรากฏว่ารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase ไม่ปรากฏแถบสี ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณตัวอย่างที่ใช้สำหรับหยอดลงในแผ่นเจล ใช้เพียงแค่ 70 ไมโครลิตร ซึ่งอาจมีปริมาณเอนไซม์น้อยเกินไป ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการเพิ่มปริมาณตัวอย่างเพื่อให้ได้ปริมาณเอนไซม์ที่มากขึ้นเพียงพอที่จะทำให้เกิดการแสดงออกของไอโซไซม์ peroxidase

บรรณานุกรม

เจนฟาง ถิรกันทร. 2540. การพัฒนาวัสดุเพาะและการเปรียบเทียบผลผลิตของเห็ดนางรมลูกผสม. วิทยา

- นิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(เกษตรศาสตร์) สาขา
วิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 77
น.
- ปัญญา โพธิ์รัตนัน. 2532. เทคโนโลยีการผลิตเห็ด. ภาค
วิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการ
เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 590 น.
- สุวรรณฉวี จันทร์ตาและ วิเชียร ภู่อ่าง. 2539. การคัดเลือก
โมนาคารีออนของเห็ดนางรมเพื่อการผสมพันธุ์.
วารสารเกษตร 12(3): 279-290.
- สุวรรณฉวี จันทร์ตา. 2540. การคัดเลือกโมนาคารีออนของ
เห็ดนางรมเพื่อการผสมพันธุ์. วิทยานิพนธ์วิทยา
ศาสตร์มหาบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)สาขาวิชา
พืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 77น.
- Chang, S.T. 1972. The Chinese Mushroom. The Chinese
University of Hong Kong, Hong Kong. 89 p.
- Chang, S.T. 1982. Sexuality and strain improvement in
edible mushroom. Mushroom Newsletter for The
tropics. 6(1): 2-6.
- Chang, S.T., and C.K. Yau, 1970. A simple technique
for indoor cultivation of straw mushroom. Mush-
room News 18, 9-11.
- Chang, S.T., and C.K. Yau, 1971. *Volvariella volvacea*
and its life history. Am. J. Bot. 58, 552-561.
- Graham, K.M. 1975. Studies on the padi mushroom
(*Volvariella volvacea*). V. Performance of single-
basidiospore isolates. Malay. Agric. Res. 5 : 31-36.
- Kalra, R.; R.P. Phutela, and H.S. Sodhi, 1999. Studies
on growth of *Volvariella diplasia*. Horticultural
Abstracts. Vol. 69(1): 80
- Simpson, M.J.A. and L.A. Withers, 1986. Characteriza-
tion of plant genetic resources using isozyme elec-
trophoresis: A Guide to the Literature. IBPGR,
Rome. 102 p.
- Zervakis, G.; Sourdis, J. and Balis, C. 1994. Genetic
variability and systematic of eleven *Pleurotus*
species based on isozyme analysis. Mycol. Res.
98(3). 329-341.