บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1.1 การหาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ

จากการหาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ จากเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกที่แตกต่างกันในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ทั้งนี้จะพิจารณาได้ว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียสมีความแตกต่างกันมาก ในรุ่นที่หนึ่ง เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็น 8.40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในรุ่นที่สอง และสาม เป็น 9.30 เปอร์เซ็นต์ และ10.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ที่ 36 องศาเซลเซียส ในรุ่นที่หนึ่ง เป็น 0.70 เปอร์เซ็นต์ รุ่นที่สอง และสาม เป็น 0.90 เปอร์เซ็นต์และ1.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ 40 องศาเซลเซียสไม่พบการงอกของสปอร์

จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่น (24-28 องศาเซลเซียส) น่าจะเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการงอกของสปอร์เช่นกัน และยังเป็นการยืนยันได้ว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่น ซึ่ง Ross (1979) รายงานไว้ว่าอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการงอกของสปอร์ โดยสปอร์จะงอกได้ดีหากกระตุ้นด้วยอุณหภูมิสูงหรือต่ำในช่วงอุณหภูมิหนึ่ง ซึ่งหากต่ำหรือสูงเกินไปกว่าช่วงที่เหมาะสมมากเกินไป ก็จะทำให้อัตราการงอกของสปอร์ลดลงเรื่อยๆ จนถึงกับไม่สามารถงอกได้

และจากการพิจารณาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เห็ดสายพันธุ์ที่ผสมขึ้นใหม่ กับสายพันธุ์ดั้งเดิมคือสายพันธุ์ CUY1 ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์จากสายพันธุ์ที่ดีที่สุดในรุ่นที่สอง (4X32) เป็น 2.03 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสายพันธุ์ CUY1 เป็น 0.90 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์จากสายพันธุ์ที่ดีที่สุดในรุ่นที่สาม (12X19) เป็น 2.13 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าการคัดเลือกสายพันธุ์ในการวิจัยนี้เป็นการเพิ่มลักษณะทนร้อนให้กับสายพันธุ์ใหม่ โดยพิจารณาได้จากเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ดั้งเดิม

1.2 การคัดเลือกสปอร์ทนร้อนซึ่งงอกเป็นเส้นใยจากสปอร์เดี่ยว

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกสปอร์ทนร้อน ซึ่งงอกเป็นเส้นใยจากสปอร์เดี่ยว ซึ่งทำการคัดเลือกจากสปอร์ที่สามารถงอกและมีชีวิตรอดได้ที่ 36 องศาเซลเซียส พบว่ามีสปอร์ที่สามารถงอกได้แต่ก็มีจำนวนน้อย แต่ก่อนหน้าที่จะมีการวิจัยครั้งนี้ จีรนันท์ วงศ์อามาตร และ จารุณี สมบาน (2544) ได้ทำการศึกษาลักษณะการทนทานต่ออุณหภูมิของสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่น และจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสปอร์เดี่ยวที่ทนร้อนของเห็ดโคนญี่ปุ่น สามารถงอกได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งในงานวิจัยครั้งนี้ ได้ทดสอบการงอกในช่วงอุณหภูมิดังกล่าวแต่ไม่พบการงอกของสปอร์จึงลดอุณหภูมิลง

มาเรื่อยๆ ครั้งละ 1 องศาเซลเซียส จนมาพบการงอกของสปอร์ที่ 36 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสปอร์ที่นำมาทดสอบการงอกอาจจะมีระยะเวลาในการเก็บที่แตกต่างกันก็เป็นได้ อย่างไรก็ตามการคัดเลือกสปอร์ที่งอกได้ที่ 36 องศาเซลเซียส ก็น่าจะมีความเหมาะสมในระดับหนึ่ง เนื่องจากเป็นช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า optimum temperature มากถึง 8 องศาเซลเซียส และในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้คัดเอาเฉพาะลักษณะการงอกได้หรือไม่ได้เท่านั้น แต่ยังปล่อยให้สปอร์ที่งอกเป็นเส้นใยได้แล้วเจริญอยู่ในอุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ต่อไปอีก 7 วัน ซึ่งหากเส้นใยไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง ก็ไม่น่าจะมีชีวิตรอด

1.3 การศึกษาอัตราการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆของเส้นใยระยะที่หนึ่ง

อัตราการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นในอาหารแข็ง PDA มีความแตกต่างกัน โดยช่วงอุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 25 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ยบนอาหารแข็ง 0.2637 ซม./วัน ซึ่งใกล้เคียงกับที่ 28 องศาเซลเซียสที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.2458 ซม./วัน แต่แตกต่างกันมากกับที่ 32 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.1605 ซม./วัน ส่วนที่ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยไม่สามารถเจริญได้

อัตราการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นในในอาหารเหลว PDB ก็เป็นไปในทำนองเดียวกับอาหารแข็งกล่าวคือ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ยบนอาหารเหลว 0.0205 กรัม/วัน ซึ่งใกล้เคียงกับที่ 28 องศาเซลเซียสที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0188 กรัม/วัน แต่แตกต่างกันมากกับที่ 32 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0112 กรัม/วัน ส่วนที่ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยไม่สามารถเจริญได้ เช่นเดียวกับในอาหารแข็ง

จากข้อมูลต่างๆเหล่านี้ เป็นเหตุผลที่งานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสในการคัดเลือกเส้นใย เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าช่วงอุณหภูมิที่เส้นใยเจริญได้ดี ซึ่งจะทำให้เส้นใยได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ถือเป็นปัจจัยที่ใช้คัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อน แต่ทั้งนี้ในช่วงอุณหภูมิดังกล่าว เส้นใยก็ยังสามารถเจริญได้ทำให้สามารถใช้อัตราการเจริญเป็นตัวแปรในการคัดเลือกได้

1.4 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่งในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

จากการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ในอาหารแข็ง PDA ในรุ่นที่หนึ่ง รุ่นที่สอง และ รุ่นที่สาม สังเกตได้ว่า อัตราการเจริญโดยเฉลี่ยสูงขึ้น โดยอัตราการเจริญที่สูงที่สุดในรุ่นที่หนึ่ง เป็น 0.1811 ซม./วัน รุ่นที่สอง เป็น 0.1879 ซม./วัน รุ่นที่สาม เป็น 0.1901 ซม./วัน

ในอาหารเหลว PDB ให้ผลที่แตกต่างกับในอาหารแข็งเล็กน้อยเนื่องจากอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดใกล้เคียงกันมาก โดยในรุ่นที่1 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงที่สุดเป็น $1.326X10^{-2}$ กรัม/วัน รุ่นที่2 เป็น $1.333X10^{-2}$ กรัม/วัน รุ่นที่3 เป็น $1.335X10^{-2}$ กรัม/วัน

อัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA และอาหารเหลว PDB มักจะเป็นไปในทางเดียวกัน กล่าวคือหากเส้นใยหมายเลขใดเจริญได้ดีในอาหารแข็งก็มักเจริญได้ดีในอาหารเหลวด้วย ยกเว้นมีเส้นใยบางหมายเลขที่เจริญในอาหารแข็งได้ดีแต่เจริญในอาหารเหลวได้ไม่ดีนัก แต่ก็มีจำนวนไม่กี่ตัวอย่างเท่านั้น ทั้งนี้อาจเกิดจากการผิดพลาดคลาดเคลื่อนจากการทดลองก็เป็นได้

1.5 การหารูปแบบการผสมพันธุ์ของเห็ดโคนญี่ปุ่น

เมื่อนำเส้นใยของสปอร์เดี่ยวผสมแบบพบกันหมด ได้อัตราส่วนระหว่างคู่ที่ผสมได้ : คู่ที่ทำการผสมทั้งหมด เป็นอัตราส่วนเฉลี่ย 23 : 105 ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์แบบ Chi-square test พบว่าอยู่ในขอบเขตที่ยอมรับได้ว่า อยู่ในอัตราส่วน 1 : 4 ซึ่งแสดงว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นมีรูปแบบการผสมพันธุ์เป็นแบบ tetrapolar (รายละเอียดใน ภาคผนวก ค) ทั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Meinhardt และ Leslie (1982) ที่สรุปไว้ว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นมีรูปแบบการผสมพันธุ์เป็นแบบ tetrapolar ซึ่งจะมี factor ที่ต่างกัน 2 คู่ เป็นปัจจัยที่ควบคุมการผสมพันธุ์ และในการวิจัยครั้งนี้ได้เลือกเส้นใยระยะที่หนึ่งมา 15 ตัวอย่างมาผสมแบบพบกันหมด ซึ่งจะเกิดเส้นใยในระยะที่สองขึ้นประมาณ 20 คู่ผสมน่าจะเป็นจำนวนที่เหมาะสมในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุดในแต่ละรุ่นต่อไป

1.6 การผสมเส้นใยระยะที่หนึ่งให้ได้คู่ผสมเป็นเส้นใยระยะที่สอง

จากการผสมเส้นใยระยะที่หนึ่งให้ได้คู่ผสมเป็นเส้นใยระยะที่สอง ทั้ง 3 รุ่น สรุปได้ว่าอัตราส่วนการผสมได้:คู่ที่ทำการผสมทั้งหมด ใกล้เคียงกับอัตราส่วน 1:4 โดยในรุ่นที่หนึ่ง มีอัตราส่วน 20:105 ในรุ่นที่สอง มีอัตราส่วน 19:105 และในรุ่นที่สาม มีอัตราส่วน 23:105 ทั้งนี้เป็นสิ่งยืนยันว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นมีรูปแบบการผสมเป็นแบบ tretrapolar ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้คัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง มาทำการผสม 15 เส้นใยทำให้ได้คู่ผสมทั้งหมด 105 คู่ผสม ซึ่งจะเกิดเส้นใยระยะที่สอง ขึ้น 20 สายพันธุ์ โดยประมาณ ซึ่งถือว่ามีจำนวนที่พอเหมาะกับการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์

1.7 การศึกษาอัตราการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่น

อัตราการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นในอาหารแข็ง PDA มีความแตกต่างกัน โดยช่วงอุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 25 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ยบนอาหารแข็ง 0.3219 ซม./วัน ซึ่งใกล้เคียงกับที่ 28 องศาเซลเซียสที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย

0.3178 ซม./วัน แต่แตกต่างกันมากกับที่ 32 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.2237 ซม./วัน ส่วนที่ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยไม่สามารถเจริญได้

อัตราการเจริญในช่วงอุณหภูมิต่างๆ ของเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นในในอาหารเหลว PDB ก็เป็นไปในทำนองเดียวกับอาหารแข็งกล่าวคือ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ยบนอาหารเหลว 0.0295 กรัม/วัน ซึ่งใกล้เคียงกับที่ 28 องศาเซลเซียสที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0286 กรัม/วัน แต่แตกต่างกันมากกับที่ 32 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0187 กรัม/วัน ส่วนที่ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยไม่สามารถเจริญได้ เช่นเดียวกับในอาหารแข็ง

จากงานวิจัยนี้พบจะสรุปได้ว่าช่วงอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะกับการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่น ทั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zervakis และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเส้นใย บนอาหารจำพวกลิกโนเซลลูโลส ของเห็ดหลายชนิดรวมทั้งเห็ดโคนญี่ปุ่นด้วย ซึ่งผลการศึกษาสรุปได้ว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส

ทั้งนี้สอดคล้องกับข้อมูลเบื้องต้นที่ Griffin (1994) ระบุไว้อย่างชัดเจนว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า optimum temperature จะมีผลทำให้อัตราการเจริญลดลง ดังนั้นในการทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่สองจึงเลือกทดสอบที่ 32 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่มีผลกระทบกับการเจริญของเส้นใยทำให้สามารถใช้เป็นปัจจัยในการคัดเลือกเส้นใยได้

1.8 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่สองในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

จากการทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สอง ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ในอาหารแข็ง PDA ในรุ่นที่หนึ่ง รุ่นที่สอง และ รุ่นที่สาม สังเกตได้ว่า อัตราการเจริญโดยเฉลี่ยสูงขึ้น โดยอัตราการเจริญที่สูงที่สุดในรุ่นที่หนึ่ง เป็น 0.2484 ซม./วัน รุ่นที่สอง เป็น 0.2702 ซม./วัน รุ่นที่สาม เป็น 0.2725 ซม./วัน

ในอาหารเหลว PDB ให้ผลที่แตกต่างกับในอาหารแข็งเล็กน้อยเนื่องจากอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดใกล้เคียงกันมาก โดยในรุ่นที่หนึ่ง มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงที่สุดเป็น 2.083×10^{-2} กรัม/วัน รุ่นที่สอง เป็น 2.102×10^{-2} กรัม/วัน รุ่นที่สาม เป็น 2.139×10^{-2} กรัม/วัน

และจากการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี ANOVA พบว่าในแต่ละรุ่นจะมีคู่ผสม ประมาณ 3 - 4 สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดอยู่ในกลุ่มแรก นั้นแสดงว่าสายพันธุ์ ที่เกิดจากการผสมขึ้นมาใหม่น่าจะได้รับการถ่ายทอดลักษณะทนร้อนและลักษณะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันไปบ้าง

1.9 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองในถุงขี้เลื่อย

จากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สอง ในถุงขี้เลื่อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิห้อง ทั้ง 3 รุ่นให้ผลที่เหมือนกันโดย เส้นใยจะเจริญได้ดีกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเปรียบเทียบแต่ละสายพันธุ์ในอุณหภูมิห้อง พบว่าสายพันธุ์ที่ทำการคัดเลือกและผสมขึ้นมาใหม่มีอัตราการเจริญที่ดีกว่าสายพันธุ์ดังเดิมทั้ง 3 รุ่น โดยอัตราการเจริญในถุงขี้เลื่อยที่สูงที่สุดที่อุณหภูมิห้องในรุ่นที่หนึ่ง เป็น 0.3105 ซม./วัน รุ่นที่สอง เป็น 0.3111 ซม./วัน รุ่นที่สาม เป็น 0.3179 ซม./วัน สูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม CUY1 ที่เป็นสายพันธุ์ควบคุม ซึ่งมีอัตราการเจริญในถุงขี้เลื่อยที่อุณหภูมิห้องในรุ่นที่หนึ่ง เป็น 0.2713 ซม./วัน รุ่นที่สอง เป็น 0.2720 ซม./วัน รุ่นที่สาม เป็น 0.2524 ซม./วัน ซึ่งจากการวิเคราะห์แบบ ANOVA พบว่าในแต่ละรุ่นเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญที่ 25 องศาเซลเซียส ของแต่ละสายพันธุ์อาจจะไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญที่อุณหภูมิห้อง พบว่าในแต่ละรุ่นสายพันธุ์ที่คัดเลือกและผสมขึ้นใหม่ จะมีอัตราการเจริญที่สูงกว่าสายพันธุ์ CUY1 อย่างมีนัยสำคัญ นั่นแสดงว่าเส้นใยของเห็ดจากสายพันธุ์ที่คัดเลือกและผสมขึ้นใหม่น่าจะได้รับการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมที่ทนร้อนเพิ่มขึ้น

1.10 การทดสอบปริมาณผลผลิตดอกเห็ดและการเก็บสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่น

เมื่อเริ่มทำการเปิดดอก ต้องเปิดปากถุงขี้เลื่อยให้กว้างเพื่อให้ดอกเห็ดสามารถเจริญออกมาภายนอกถุงได้ เห็ดโคนญี่ปุ่นมีสมบัติเป็นปรสิตในธรรมชาติ ดังนั้นจึงเกิดการปนเปื้อนได้ยาก อย่างไรก็ตามมีถุงขี้เลื่อยส่วนหนึ่งที่เส้นใยไม่เกิดการเจริญเลย ทั้งนี้น่าจะเกิดจากความผิดพลาดในการถ่ายหัวเชื้อเห็ดลงในถุงขี้เลื่อย ทำให้เส้นใยตาย แต่ก็มีอัตราส่วนของถุงที่ไม่เจริญประมาณ 3-5% เท่านั้น

น้ำหนักสดของเห็ดโคนญี่ปุ่นที่เปิดดอกในอุณหภูมิห้อง ที่เก็บจากสายพันธุ์ที่คัดเลือกและผสมขึ้นใหม่ มีน้ำหนักต่อถุงเฉลี่ยที่มากกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้ง 3 รุ่น โดยน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อถุงของสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดในรุ่นที่หนึ่ง เท่ากับ 13.23 กรัม/ถุง ในรุ่นที่สอง เท่ากับ 13.47 กรัม/ถุง ในรุ่นที่สาม เท่ากับ 13.52 กรัม/ถุง สูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม CUY1 ที่เป็นสายพันธุ์ควบคุมซึ่งมีน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อถุงในรุ่นที่หนึ่ง เท่ากับ 10.25 กรัม/ถุง ในรุ่นที่สอง เท่ากับ 8.90 กรัม/ถุง ในรุ่นที่สาม เท่ากับ 9.31กรัม/ถุง ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของค่าเฉลียโดยวิธี ANOVA พบว่าสายพันธุ์ใหม่มีน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นจากสายพันธุ์ดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ