

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์	2
3. ขอบเขตของการวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
1. การจำแนกเห็ดฟาง	5
2. ลักษณะทางสัณฐานและการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง	5
3. การผลิตเชื้อเห็ดฟาง	12
4. คุณค่าทางอาหารของเห็ดฟาง	13
5. การเพาะเห็ดฟาง	14
6. การปรับปรุงพันธุ์เห็ด	14
7. การศึกษาด้านชีวโมเลกุลของเห็ดฟาง	16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	22
1. การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์เห็ดฟาง	22
2. การทดสอบความสามารถในการออกดอกของเชื้อเห็ดฟาง	23
3. การแยกสปอร์เดี่ยวและศึกษาคุณสมบัติของสปอร์เดี่ยวเชื้อเห็ดฟาง	24
4. ศึกษาความสามารถในการเก็บรักษาดอกเห็ดในสภาพอุณหภูมิต่ำและการทนอุณหภูมิต่ำของเส้นใยเห็ดฟาง	26
5. การผลิตเห็ดฟางลูกผสม	26
6. การชักนำให้เกิดดอกในลูกผสมและการศึกษาลักษณะต่างๆของลูกผสม	28

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
7. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ระหว่าง สายพันธุ์พ่อ-แม่ กับลูกผสม	30
บทที่ 4 ผลการศึกษา	33
1. การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อเห็ดฟาง	33
2. การทดสอบความสามารถในการออกดอกของเชื้อเห็ดฟางในสภาพ โรงเรือนเพาะ	41
3. การแยกสปอร์เดี่ยวและศึกษาคุณสมบัติของสปอร์เดี่ยวเชื้อเห็ดฟาง	44
4. ศึกษาระดับความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ ($4 \pm 3^{\circ}\text{C}$) ของดอกเห็ดฟาง และเส้นใยเห็ดฟาง	66
5. การผลิตเชื้อเห็ดฟางลูกผสม	66
6. การชักนำให้เกิดดอกในลูกผสมและศึกษาลักษณะต่างๆของลูกผสม	78
7. การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเส้นใยเห็ดฟางด้วยเทคนิค RAPD	86
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	111
บทที่ 6 ข้อเสนอแนะ	116
เอกสารอ้างอิง	118
ภาคผนวก	122
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	123
ภาคผนวก ข สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาลายพิมพ์ DNA	124
ภาคผนวก ค ไพรมเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟาง	128
ภาคผนวก ง การเผยแพร่ผลงานวิทยานิพนธ์	129
ประวัติผู้เขียน	130

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	ไอโซเลตของเห็ดฟางจากแหล่งต่างๆ และลักษณะทางสัณฐานเบื้องต้น ของเห็ดฟาง 34
ตารางที่ 2	ผลผลิตของเห็ดฟางที่ชักนำให้ออกดอกได้ในโรงเรือนเพาะเห็ด ระหว่างเดือน ธันวาคม 2546- มกราคม 2547 42
ตารางที่ 3	การรวบรวมรอยพิมพ์สปอร์ของเห็ดฟาง 45
ตารางที่ 4	สปอร์เดี่ยวจากสายพันธุ์การค้าจำนวน 47 ไอโซเลต 47
ตารางที่ 5	สปอร์เดี่ยวจากสายพันธุ์ธรรมชาติจำนวน 79 ไอโซเลต 49
ตารางที่ 6	การจัดกลุ่มลักษณะโคโลนีและการเจริญของสปอร์เดี่ยว 53
ตารางที่ 7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ดฟางที่ได้จากสปอร์เดี่ยว ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 3 วัน 54
ตารางที่ 8	การจัดกลุ่มความสามารถในการเจริญของเส้นใยสปอร์เดี่ยวเห็ดฟาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 63
ตารางที่ 9	การจำแนกการเจริญของเส้นใยจากสปอร์เดี่ยวเห็ดฟางตามลักษณะของ เส้นใยที่เจริญบนอาหาร PDA 64
ตารางที่ 10	กลุ่มไอโซเลตของเส้นใยจากสปอร์เดี่ยวเห็ดฟางที่มีความสามารถ ในการสร้าง chlamydospore บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 65
ตารางที่ 11	การผสมระหว่างสปอร์เดี่ยว 67
ตารางที่ 12	การผสมระหว่างสปอร์เดี่ยวสายพันธุ์ธรรมชาติ H, G และ J 68
ตารางที่ 13	การผสมระหว่างสปอร์เดี่ยวสายพันธุ์ธรรมชาติ J, M และ I 68
ตารางที่ 14	การผสมระหว่างสปอร์เดี่ยวสายพันธุ์ธรรมชาติ M และ G 68
ตารางที่ 15	การผสมระหว่างสปอร์เดี่ยวสายพันธุ์การค้า และสายพันธุ์ธรรมชาติ 69
ตารางที่ 16	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ดฟางลูกผสมที่เจริญบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 3 วัน 72
ตารางที่ 17	คู่ผสมที่สร้าง chlamydospores เมื่อตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ 77
ตารางที่ 18	ผลผลิตเนื้อของเห็ดฟางสายพันธุ์ต่างๆ ที่สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ 80
ตารางที่ 19	ลักษณะทางฟีโนไทป์ของเห็ดฟางจากสปอร์เดี่ยวพ่อแม่ และลูกผสม 83

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 20	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 1 H4, J2 และ H4J2	97
ตารางที่ 21	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 2 G5, M9 และ G5M9	98
ตารางที่ 22	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 3 G1, M9 และ G1M9	99
ตารางที่ 23	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 4 G8, M9 และ G8M9	100
ตารางที่ 24	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 5 G5, M5 และ G5M5	101
ตารางที่ 25	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 6 G7, M9 และ G7M9	102
ตารางที่ 26	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 7 G6, H9 และ G6H9	103
ตารางที่ 27	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 8 H4, J6 และ H4J6	104
ตารางที่ 28	สรุปลักษณะต่างๆของพ่อ แม่ และลูกผสมเห็ดฟาง ชุดที่ 9 B5, J2 และ B5J2	105

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1	วงจรชีวิตของเห็ดฟาง <i>Volvariella volvacea</i> (Bull.ex Fr.) Sing 11
ภาพที่ 2	การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ โดย RAPD 19
ภาพที่ 3	ลักษณะดอกของเห็ดฟางที่สำรวจและเก็บรวบรวม 41
ภาพที่ 4	การทำรอยพิมพ์สปอร์และการแยกสปอร์เดี่ยว 52
ภาพที่ 5	ลักษณะเส้นใยจากสปอร์เดี่ยวของเชื้อเห็ดฟางที่เจริญบนอาหาร PDA 62
ภาพที่ 6	การรวมกันของเส้นใยเชื้อเห็ดฟาง (anastomosis) 69
ภาพที่ 7	การรวมกันของเส้นใยเชื้อเห็ดฟาง (anastomosis)บน slide culture โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10X และ 40X 70
ภาพที่ 8	ลูกผสมเห็ดฟางที่มีการสร้างและไม่สร้าง chlamydospore 71
ภาพที่ 9	การเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน 79
ภาพที่ 10	ลักษณะดอกเห็ดฟางลูกผสมไอโซเลตที่ได้จากการเพาะ 84
ภาพที่ 11	การย่อยสลายตัวเองของเห็ดฟางสีเปลี่ยนเป็นสีดำคล้ำ เนื้อเยื่อนิ่มฉ่ำน้ำ 85
ภาพที่ 12	DNA ของเชื้อเห็ดฟางไอโซเลตต่างๆ 86
ภาพที่ 13	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสมชุดที่ 1 H4, J2 และ H4J2 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ 88
ภาพที่ 14	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสมชุดที่ 2 G5, M9 และ G5M9 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ 89
ภาพที่ 15	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสมชุดที่ 3 G1, M9 และ G1M9 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ 90
ภาพที่ 16	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสมชุดที่ 4 G8, M9 และ G8M9 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ 91
ภาพที่ 17	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสมชุดที่ 5 G5, M5 และ G5M5 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ 92
ภาพที่ 18	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสมชุดที่ 6 G7, M9 และ G7M9 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ 93

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 19	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อ-แม่และลูกผสมชุดที่ 7 G6, H9 และ G6H9 โดยใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09	94
ภาพที่ 20	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อ-แม่และลูกผสมชุดที่ 8 H4, J6 และ H4J6 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ตามลำดับ	95
ภาพที่ 21	ลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อ-แม่และลูกผสมชุดที่ 9 B5, J2 และ B5J2 โดยการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ A-02, A-07 และ A-09 ในเลนที่ 1-9 ส่วนในเลนที่ 10-12 ใช้ น้ำกลั่นหนึ่งแทน ดีเอ็นเอ (control) ในทุกไพร์เมอร์ คือ A-02, A-07 และ A-09	96
ภาพที่ 22	Dendrogram ที่ได้จากการวิเคราะห์รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ของเห็ดฟางที่ใช้เป็น พ่อ และแม่ ทุกชุดด้วยไพร์เมอร์ A-02 (ก) และ A-07(ข)	109
ภาพที่ 23	Dendrogram ที่ได้จากการวิเคราะห์รูปแบบลายพิมพ์ DNA ของเห็ดฟางพ่อแม่และลูกผสม ด้วยไพร์เมอร์ A-09	110