บทที่ 5

อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

1. คัดเลือกและแยกราที่มีความสามารถในการลดสีของน้ำกากส่า

จากการคัดเลือกรา 50 ไอโซเลต ได้ราที่มีความสามารถลดสีของน้ำกากส่าเพียง 16 ไอโซเลต พบว่าส่วนใหญ่เป็นราที่ได้จากดอกเห็ดและราในกลุ่มไวต์รอท จากนั้นทำการวิเคราะห์ความสามารถในการลดสีในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยน้ำกากส่า10% และ malt extract powder 2% พบว่ารา CM5 สามารถลดสีของน้ำกากส่าได้สูงที่สุด 49.19% โดยใช้เวลา 30 วัน แต่ยังใช้เวลามากในการลดสี จึงควรนำไปปรับปรุงการเพิ่มประสิทธิภาพการลดสีให้สูงขึ้น

2. ชักนำให้เกิดมิวเทชันด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตและสาร MNNG

เมื่อนำรา CM5 ซึ่งมีความสามารถในการลดสีของน้ำกากส่าได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับราชนิดอื่น ๆ ที่ทำการคัดเลือกได้ มาชักนำให้เกิดมิวเทชันด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต 120 J/cm^2 นาน 5 วินาที พบว่า UV2 มิวแทนต์ซึ่งอยู่ในช่วงที่มีอัตราการอยู่รอดต่ำกว่า 10% มีความสามารถในการลดสีของน้ำกากส่าสูงขึ้น โดยสามารถลดสีของน้ำกากส่าได้มากถึง 48.30% ภายในเวลา 8 วัน ขณะที่ไวด์ไทป์สามารถลดสีได้ 31.42% โดยใช้อาหารเหลวตามสูตรของ Miyata และคณะ (2000) จะเห็นได้ว่า การใช้อาหารเหลวชนิดนี้ในการวิเคราะห์ความสามารถการลดสีของน้ำกากส่าของรา CM5 และ UV มิวแทนต์ทำให้ลดระยะเวลาในการลดสีของน้ำกากส่าได้มากขึ้น จากนั้น UV2 มิวแทนต์ ถูกนำไปชักนำให้เกิดมิวเทชันด้วยสาร MNNG โดยใช้ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 20 นาที ได้รามิวแทนต์ที่อยู่ในช่วงอัตราการอยู่รอดต่ำกว่า 10% เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการลดสีของน้ำกากส่า พบว่า UV2-NG10 มิวแทนต์สามารถลดสีได้สูงที่สุดถึง 84.15% ภายในระยะเวลา 8 วัน การชักนำให้เกิดมิวเทชันด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตแล้วชักนำให้เกิดมิวเทชันต่อด้วยสาร MNNG เป็น double mutation นี้สามารถผลิตเพิ่มประสิทธิภาพในการลดสีลดสีของน้ำกากส่าได้สูง เช่นเดียวกับการเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ในเชื้อราชนิดอื่น ๆ (Bapiraju และคณะ, 2004) ความเสถียรของมิวแทนต์ เมื่อเปรียบเทียบกับไวด์ไทป์ พบว่า มิวแทนต์ทั้ง 2 มิวแทนต์ยังคงมีความสามารถในการลดสีสูงกว่าไวด์ไทป์ อย่างไรก็ดีควรเลี้ยงเชื้อรามิวแทนต์ในอาหารที่มีน้ำกากส่าเป็นองค์ประกอบ เพื่อให้มีมิวแทนต์ยังคงความสามารถในการลดสีได้สูง และทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการลดสีของมิวแทนต์ต่อไป

3. การศึกษาลักษณะของราไวด์ไทป์และมิวแทนต์

มิวแทนต์ที่ได้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหาร PDA คล้ายคลึงกัน แต่ใน UV2 มิวแทนต์ มีเซคเตอร์เกิดขึ้นและมีความฟูของเส้นใยน้อยกว่าไวด์ไทป์ ในขณะที่ UV2-NG10 มิวแทนต์มีความฟูของเส้นใยมากกว่าไวด์ไทป์ CM5 และ UV2 มิวแทนต์ และเซคเตอร์หายไป มิวแทนต์ทั้งคู่มีอัตราการเติบโตที่ช้ากว่าไวด์ไทป์ CM5 มีลักษณะเช่นเดียวกับ *Monascus kaoliang* R-10847 (Lin และ Iizuka, 1982) ซึ่งมีการเจริญของเส้นใยน้อยกว่าไวด์ไทป์

มาลาไซต์กรีนสามารถใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมในการคัดเลือกรามิวแทนต์ที่สามารถลดสีของน้ำกากส่าได้ในราชนิดนี้ โดยมีค่า MIC ของไวด์ไทป์ คือ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการทดลองของ Li และ Chang (1991) โดย UV2 มิวแทนต์ และ UV2-NG10 มิวแทนต์มีค่า MIC คือ 0.06 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่สำหรับคีโตโคนาโซล มิวแทนต์ทั้งคู่มีความไวมากไวด์ไทป์มาก จึงไม่ควรนำมาใช้ในการคัดเลือกมิวแทนต์นี้ แต่ค่า MIC ของมิวแทนต์ทั้งสอง สามารถบ่งบอกได้ว่า มิวแทนต์นี้มีการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารต้านทานคีโตโคนาโซล

การศึกษาความแตกต่างศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมที่ตำแหน่ง ITS โดยเทคนิค RFLP โดยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *AluI HinfI* และ *MboI* ได้รูปแบบของชิ้นส่วนดีเอ็นเอไม่แตกต่างกัน แสดงว่าไม่เกิดการมิวเทชันที่ตำแหน่ง ITS และสอดคล้องกับผลการประมวลผลลำดับเบสในราไวด์ไทป์และมิวแทนต์ทั้งสองที่มีค่าเหมือนกันทุกประการ แสดงว่า รามิวแทนต์ที่เกิดขึ้นนี้ เป็นมิวแทนต์ที่เกิดจากการชักนำให้เกิดมิวเทชันจริง มิได้เกิดจาการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นที่มีลักษณะที่คล้ายกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย