

งานวิจัยนี้ได้ทำการรวมโปรโตพลาสต์ระหว่างเห็ดนางรมกับเห็ดนางรมหัว โดยใช้สายพันธุ์โมโนคาริออนที่ทราบประเภทของ mating type พบว่าสามารถทำการรวมโปรโตพลาสต์ได้เฉพาะคู่เห็ดนางรมที่มี mating type เป็น A_1B_1 กับเห็ดนางรมหัวที่มี mating type เป็น A_2B_2 สำหรับการตรวจสอบลูกผสมของเห็ดลูกผสมที่ได้ทำโดยใช้ฐานวิทยาศาสตร์และเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล 3 วิธี ซึ่งได้แก่ 1) วิธี polymorphism chain reaction / restriction fragment length polymorphisms (PCR/RFLP) ของดีเอ็นเอที่อยู่บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) และ intergenic spacer (IGS) ของ rDNA โดยใช้คู่ไพรเมอร์ 2 คู่ คือ ITS1 กับ ITS4 และ O-1 กับ LR12R

2) วิธี PCR ของ rDNA โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS1 กับ O-1 และ

3) วิธี sequence-related amplified polymorphism (SRAP) โดยใช้ไพรเมอร์ 6 คู่

ผลการรวมโปรโตพลาสต์ พบว่าได้ฟิวแซนต์ 9 สายพันธุ์ คือ OT1, OT2, OT3, OT4, OT5, OT6, OT7, OT8 และ OT9 โดยทุกสายพันธุ์ที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกับทั้งเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหัว ส่วนผลการตรวจสอบลูกผสมโดยวิธีชีววิทยาโมเลกุล พบว่า วิธีที่ 1 สามารถพิสูจน์ให้เห็นว่าฟิวแซนต์ทั้งหมดมีแถบดีเอ็นเอเหมือนเฉพาะของเห็ดนางรมแต่แตกต่างจากเห็ดนางรมหัว ในขณะที่ ผลจากวิธีที่ 2 และ 3 สามารถตรวจสอบความเป็นลูกผสมของเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหัวในฟิวแซนต์ทั้ง 9 สายพันธุ์ แต่จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคดีเอ็นเอทั้ง 3 วิธี พบว่า ฟิวแซนต์ทั้งหมดต่างมีดีเอ็นเอของเห็ดนางรมมากกว่าเห็ดนางรมหัว

ABSTRACT

186497

Nine fusants, OT1 , OT2 , OT3 , OT4 , OT5 , OT6 , OT7 , OT8 and OT9 were obtained from protoplast fusion using known mating type monokaryons of *Pleurotus ostreatus* (A_1B_1) and *P. tuberregium* (A_2B_2). Hybridization tests were done by using morphological characterization and 3 molecular biological methods namely, 1) polymorphism chain reaction / restriction fragment length polymorphisms (PCR/RFLP) of DNA at internal transcribed spacer (ITS) and the intergenic spacer (IGS) of rDNA using 2 pairs of primers i.e. ITS1 with ITS4 and O-1 with LR12R 2) PCR of rDNA using ITS1 with O-1 as primers and 3) sequence-related amplified polymorphism (SRAP) using 6 pairs of primers.

The results were that the 9 fusants obtained had combined morphological characteristics of both *P. ostreatus* and *P. tuberregium*. For molecular studies, it was found that by the first method, all the 9 fusants showed the same bands as only those of *P. ostreatus* but the last 2 methods could prove the hybrid evidences of the 9 fusants. However, from all the 3 methods used, the fusants were proved to be more similar to *P. ostreatus* than to *P. tuberregium*.