

งานวิจัยนี้ได้ทำการรวมโพรโตพลาสต์ระหว่างเห็ดนางรมกับเห็ดนางรมหัว โดยใช้สายพันธุ์โมโนคาริออนที่ทราบ mating type พบว่าสามารถทำการรวมโพรโตพลาสต์ได้เฉพาะคู่เห็ดนางรมที่มี mating type เป็น A₁B₁ กับเห็ดนางรมหัวที่มี mating type เป็น A₂B₂ 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 ผลการรวมโพรโตพลาสต์ได้ฟิวแซนต์ 9 สายพันธุ์ คือ OT1, OT2, OT3, OT4, OT5, OT6, OT7, OT8 และ OT9 ฟิวแซนต์ที่ได้มีฐานวิทยาศาสตร์คล้ายคลึงกับทั้งเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหัว ส่วนผลการตรวจสอบลูกผสมโดยวิธีชีววิทยาโมเลกุล วิธีที่ 1 แสดงให้เห็นว่าฟิวแซนต์ทั้งหมดมีแถบดีเอ็นเอเหมือนกับเห็ดนางรม และแตกต่างจากเห็ดนางรมหัว ส่วนผลจากวิธีที่ 2 พบว่าสามารถตรวจสอบความเป็นพ่อ-แม่-ลูกได้ โดยสามารถตรวจพบได้ตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอประมาณ 400 และ 1,600 คู่เบส และผลจากวิธีที่ 3 พบว่าคู่ไพรเมอร์ A5B4 สามารถตรวจสอบเห็ดนางรม เห็ดนางรมหัวและฟิวแซนต์ที่ได้ทั้ง 9 สายพันธุ์ โดยพบว่าต่างเป็นลูกผสมที่ได้จากการรวมโพรโตพลาสต์ระหว่างเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหัวทั้งสิ้น แต่จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคดีเอ็นเอทั้ง 3 วิธี พบว่าฟิวแซนต์ทั้งหมดต่างมีดีเอ็นเอของเห็ดนางรมมากกว่าเห็ดนางรมหัว

Nine fusants, OT1 , OT2 , OT3 , OT4 , OT5 , OT6 , OT7 , OT8 and OT9 from protoplast fusion of known mating type monokaryons of *Pleurotus ostreatus* (A₁B₁) and *P. tuberregium* (A₂B₂) were examined for hybridization 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, 9 fusants (OT1, OT2, OT3, OT4, OT5, OT6, OT7, OT8 and OT9) were obtained and all of them had combined 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* . However, the last 2 methods could proved the hybrid evidences of the 9 fusants. From all the 3 methods used the fusants were proved to be more similar to *P. ostreatus* than to *P. tuberregium*.