

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเห็ดในสกุล *Pleurotus* จำนวน 5 ชนิด ซึ่งได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรมทอง เห็ดนางนวล และเห็ดเป่าฮื้อ มีลักษณะคล้ายกันมากโดยมีความแตกต่างในรายละเอียดด้านต่างๆ เพียงเล็กน้อย และจากการศึกษาวิธีการแยกโปรโตพลาสต์ของเห็ดทั้ง 5 ชนิด พบว่าสภาวะของปัจจัยบางประการที่เหมาะสมสำหรับเห็ดแต่ละชนิดตามลำดับมีดังต่อไปนี้ เส้นใยเห็ดที่เหมาะสมสำหรับการแยกโปรโตพลาสต์ในเห็ดทุกชนิดเป็นเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์เดี่ยวเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวโมลต์สก็ด พีเอช 7.0 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ยกเว้นเห็ดนางฟ้าที่เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน ตามด้วยการบ่มด้วยไลซิ่งเอนไซม์ (จากบริษัท Sigma ซึ่งมีความเข้มข้น 9, 8, 8, 9 และ 10 มก./มล. สำหรับเห็ดแต่ละชนิด ตามลำดับ) โดยมีแมกนีเซียมซัลเฟต (ที่ความเข้มข้น 0.9, 0.9, 1.2, 0.9 และ 0.9 โมลาร์ สำหรับเห็ดแต่ละชนิด ตามลำดับ) ในโซเดียมมาเลทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0 เป็นออสโมติกสเตรบิลิเซอร์ที่เหมาะสมที่สุด ทั้งนี้ได้ทำการบ่มโดยการเขย่าส่วนผสมที่เหมาะสมของเห็ดแต่ละชนิดที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สำหรับจำนวนโปรโตพลาสต์ที่แยกได้ในเห็ดแต่ละชนิดมีปริมาณเท่ากับ 8.78×10^6 , 8.52×10^6 , 10.55×10^6 , 8.05×10^6 และ 2.58×10^6 โปรโตพลาสต์/มล. ตามลำดับ

สำหรับการรวมโปรโตพลาสต์ระหว่างเห็ดนางรมกับเห็ดนางรมทอง เห็ดนางรมกับเห็ดนางนวล และเห็ดนางรมทองกับเห็ดนางนวล โดยใช้สารละลายที่ประกอบด้วยโพลิเอทิลีนไกลคอล (PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 6,000) ความเข้มข้นร้อยละ 40 และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที พบว่าได้ลูกผสมโดยสังเกตจากการมีแคลมป์คอนเนคชันทั้งหมด 5 สายพันธุ์ โดย 3 สายพันธุ์คือ Fu1, Fu2 และ Fu3 เป็นลูกผสมระหว่างเห็ดนางรมกับเห็ดนางรมทอง และอีก 2 สายพันธุ์คือ Fu4 และ Fu5 เป็นลูกผสมระหว่างเห็ดนางรมกับเห็ดนางนวล เห็ดลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์มีขนาดของเส้นใยและสปอร์ใหญ่กว่าสายพันธุ์พ่อแม่ และเมื่อตรวจสอบรูปแบบไอโซไซม์เอสเทอเรส มาเลทดีไฮโดรจีเนส และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส พบว่าลูกผสม Fu1, Fu2 และ Fu3 แสดงลักษณะความเป็นลูกผสมเมื่อทำการศึกษารูปแบบไอโซไซม์เอสเทอเรสและมาเลทดีไฮโดรจีเนส ส่วนลูกผสม Fu4 และ Fu5 แสดงลักษณะความเป็นลูกผสมเมื่อทำการศึกษารูปแบบไอโซไซม์เอสเทอเรส เมื่อนำลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์ไปเพาะให้เกิดดอกในก้อนขี้เลื่อย พบว่าเห็ดลูกผสม Fu2 และ Fu3 ไม่เกิดดอก ส่วนเห็ดลูกผสม Fu1, Fu4 และ Fu5 สามารถเพาะให้เกิดดอกได้ โดยเห็ดลูกผสม Fu1 และ Fu5 มีดอกเห็ดที่มีรูปร่างลักษณะทั้งภายนอกและภายในเป็นลักษณะผสมระหว่างเห็ดสายพันธุ์พ่อแม่ ส่วนเห็ดลูกผสม Fu4 มีรูปร่างลักษณะภายนอกเหมือนเห็ดนางรมแต่มีสีของสปอร์พิมพ์เป็นสีผสมระหว่างเห็ดนางรมกับเห็ดนางนวล

ABSTRACT

TE150974

Morphological studies of five species of the genus *Pleurotus*, namely *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. citrinopileatus*, *P. djamor* and *P. cystidiosus*, were found in having similar characteristics but with some variations among them. On the aspects of protoplast isolations the results were that the suitable conditions of the factors for the five species, respectively, were as follows : the mycelia used for each species were derived from single spore isolations, and were 4 day-old in malt extract broth medium, pH 7.0 incubated at 25°C (*P. sajor-caju* incubated at 30°C). The mycelia of the 5 species were then treated with Lysing Enzyme (Sigma, at the concentrations of 9, 8, 8, 9 and 10 mg/ml, respectively) and with MgSO₄ (at the concentrations of 0.9, 0.9, 1.2, 0.9 and 0.9 molar, respectively) in 0.05 M Na-maleate buffer pH 5.0 as the most suitable osmotic stabilizer. The solutions containing the above most suitable condition of each factor for each species were incubated by shaking at 100 rpm, at room temperature, for 2 hours. The amounts of protoplast obtained in the five species were 8.78×10^6 , 8.52×10^6 , 10.55×10^6 , 8.05×10^6 and 2.58×10^6 protoplasts/ml, respectively.

Protoplast fusions between *P. ostreatus* vs *P. citrinopileatus*, *P. ostreatus* vs *P. djamor* and *P. citrinopileatus* vs *P. djamor* were done by using 40% polyethylene glycol (PEG; MW 6,000) and incubated at room temperature for 20 minutes. Five fusants because of having clamp connections were isolated, among these three of them (Fu1, Fu2 and Fu3) were fusants of *P. ostreatus* vs *P. citrinopileatus*, while the other two, Fu4 and Fu5 were fusants of *P. ostreatus* vs *P. djamor*. All fusants had bigger mycelia and spores than those of their parents. When isozyme patterns of esterase, maleate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase were studied, it was found that Fu1, Fu2 and Fu3 showed hybridization when esterase and maleate dehydrogenase were used, while Fu4 and Fu5 did so when only esterase was used. For fruitbodies production in sawdust plastic bags, Fu2 and Fu3 did not fruit. The characteristics of the fruitbodies of Fu1 and Fu5 were mixture (both macro- and microcharacteristics) of their parental strains while Fu4 looked morphologically similar to *P. ostreatus* but the color of its spore-print was in between those of *P. ostreatus* and *P. djamor*.