

โปรโตพลาสต์ของเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) และ เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) ได้จากการนำเส้นใยอายุ 5 วัน (สำหรับเห็ดหอม) และอายุ 3 วัน (สำหรับเห็ดนางรม) มาบ่มในสารละลายไลซิงเอนไซม์ความเข้มข้น 4 และ 8 มก. ต่อ มล. (ตามลำดับ) โดยมีแมกนีเซียมซัลเฟต 0.6 โมลาร์ ในโซเดียมมาเลทบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (ที่พีเอช 5.5 สำหรับเห็ดหอม และ 5.0 สำหรับเห็ดนางรม) เป็นออสโมติกสตาบิไลเซอร์ โดยสามารถแยกโปรโตพลาสต์ได้จำนวน 6.6×10^6 และ 2.6×10^7 โปรโตพลาสต์ต่อมิลลิลิตร สำหรับเห็ดทั้ง 2 ชนิดตามลำดับ สำหรับการรวมโปรโตพลาสต์ ทำโดยใช้สารละลายที่ประกอบด้วยโพลีเอทรีนไกลคอล 6000 ความเข้มข้น 40% บ่มเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำโปรโตพลาสต์มาบ่มในอาหารชักนำให้เกิดการสร้างผนังเซลล์เป็นเวลา 9-11 วัน พบว่ามีเชื้อลูกผสม 7 สายพันธุ์ที่มี clamp connection ซึ่งได้แก่ PL6, PL7, PL9, PL12, PL15, PL17, และ PL21 และเมื่อนำมาศึกษาในรูปแบบไอโซไซม์ โดยใช้เทคนิค polyacrylamide gel electrophoresis เพื่อบ่งบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง พ่อ แม่ และ ลูกผสม พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ esterase และ malate dehydrogenase สามารถบ่งบอกความสัมพันธ์ระหว่างเห็ดหอมเห็ดนางรมและลูกผสม ส่วนรูปแบบของ phosphogluconate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase และ laccase โดยทั่วไป ไม่อาจพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่และลูกผสมได้ สำหรับการทดลองด้านการเพาะเห็ดลูกผสมให้เกิดดอกพบว่าเห็ดลูกผสมที่สามารถเพาะให้ออกดอก โดยทั่วไปมีลักษณะคล้ายเห็ดนางรมมากกว่าเห็ดหอม ซึ่งสอดคล้องกับรูปแบบไอโซไซม์ ที่พบว่าลูกผสมส่วนมากมีแถบไซโมแกรมเหมือนของเห็ดนางรมทุกแถบแต่มีแถบที่เหมือนของเห็ดหอมเพียงบางแถบเท่านั้น

Protoplasts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* were derived from 5 days- (for *L. edodes*) and 3 days-(for *P. ostreatus*) old mycelia by incubating in 4 and 8 mg. /ml. Lysing Enzyme supplemented with 0.6 molar $MgSO_4$ in 0.02 molar sodium maleate buffer as osmotic stabilizer and the results were that 6.6×10^6 (of *L. edodes*) and 2.6×10^7 (of *P. ostreatus*) protoplasts/ml. were obtained. Protoplast fusion of the two species were performed by using 40% polyethylene glycol 6000 and seven fusants (PL6, PL7, PL9, PL12, PL15, PL17 and PL21) containing clamp connections were obtained. When isozyme studies were performed, only esterase and malate dehydrogenase gave results in showing the relationships between the two parents and the hybrids. For fusants those produced fruitbodies on sawdust cultures, it was found that generally the morphology of these fusants were more similar to that of *P. ostreatus* than to *L. edodes* which was relevant to the results of the zymogrames obtained that the fusants had all the bands of *P. ostreatus* but had only some bands of *L. edodes*.