

เพ็ญญา โสใหญ่. 2549. ลักษณะทางฟีโนไทป์และลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเห็ดฟางลูกผสม.

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [ISBN 974-626-620-9]

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

รองศาสตราจารย์ ดร. นิวัฒน์ เสนาะเมือง,

รองศาสตราจารย์ ดร. วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์,

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล

บทคัดย่อ

เก็บรวบรวม แยกเชื้อบริสุทธิ์ และเก็บรอยพิมพ์สปอร์ของเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea* (Bull.ex.Fr.) Sing) จำนวน 126 ไอโซเลต จากสายพันธุ์ธรรมชาติ 45 ไอโซเลต และสายพันธุ์การค้า 81 ไอโซเลต ในจำนวนเห็ดทุกสายพันธุ์สามารถเพาะเลี้ยงให้เกิดดอกได้จำนวน 37 ไอโซเลตและทำการทดสอบการงอกของสปอร์ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่า ที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 15 °ซ ไม่พบการงอกของสปอร์แต่อย่างใด สปอร์ของเห็ดฟางงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 32 °ซ เมื่อนำสารแขวนลอยสปอร์เชื้อเห็ดฟาง 15 สายพันธุ์ มาแยกสปอร์เดี่ยวบนอาหาร PDA ที่ 32 °ซ ได้จำนวน 126 ไอโซเลต เลี้ยงบนอาหาร PDA เส้นใยที่ได้จากสปอร์เดี่ยวของเชื้อเห็ดฟางที่สำรวจและเก็บรวบรวมได้มีความแตกต่างกันในลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ความเร็วในการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA และความสามารถในการสร้างคลามีโดสปอร์ (chlamydospore) โดยสามารถจำแนกตามความเร็วในการเจริญเติบโตของเส้นใยบนอาหาร PDA ได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่เจริญเร็ว เจริญปานกลางและเจริญช้า และสามารถจำแนกลักษณะการเจริญของเส้นใยเป็น 2 ลักษณะได้แก่ แบบ normal คือเส้นใยหยาบเจริญเรียบบนอาหาร และ abnormal คือเส้นใยละเอียดฟูบนอาหาร และความสามารถในการสร้างคลามีโดสปอร์ (chlamydospore) คัดเลือกไอโซเลตต่างๆมาผสมกันในงานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธี anastomosis ได้ลูกผสมจำนวน 132 ไอโซเลต นำลูกผสมจำนวน 82 ไอโซเลต มาศึกษาการเจริญของลูกผสมพบว่า มีลักษณะของเส้นใยแบบ normal จำนวน 81 ไอโซเลต และ abnormal จำนวน 1 ไอโซเลต โดยมีลูกผสมที่สร้างคลามีโดสปอร์ และสร้าง primordia จำนวน 37 ไอโซเลต คัดเลือกลูกผสมที่มีความสามารถในการสร้างคลามีโดสปอร์มากจำนวน 9 ไอโซเลต และลูกผสมที่ไม่สร้างคลามีโดสปอร์ จำนวน 1 ไอโซเลต พร้อมทั้งพันธุ์พ่อแม่ มาทำการชักนำให้ออกดอกเพื่อดูลักษณะทางฟีโนไทป์ ผลผลิตและการเน่าเสียเมื่อเก็บในอุณหภูมิต่ำโดยเปรียบเทียบกับพันธุ์การค้าและพันธุ์จากกรมวิชาการ 2 ไอโซเลต พบว่าสามารถชักนำให้ออกดอกได้ จำนวน 23 ไอโซเลต จากการเพาะ

ทั้งหมด 27 ไอโซเลต โดยมีค่าประสิทธิภาพการให้ผลผลิต (biological efficiency) ตั้งแต่ 0.76-24.73 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมที่ได้มีลักษณะทางฟีโนไทป์เหมือนกับพันธุ์พ่อหรือพันธุ์แม่ แต่ไม่มีลูกผสมสายพันธุ์ใดทนทานต่อการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ เมื่อนำเชื้อเห็ดฟางลูกผสมและพ่อ แม่ ทั้ง 10 ชุดดังกล่าวมาศึกษาแบบลายพิมพ์ DNA โดยใช้ส่วนจีโนมทั้งหมดด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ A02, A07 และ A09 พบว่าชุดลูกผสมต่างกันตอบสนองต่อไพรเมอร์ต่างกัน และได้รูปแบบของลายพิมพ์ DNA ที่แตกต่างกันไป ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ชุดลูกผสม G5M9 และ G6H9 เป็นลูกผสมเห็ดฟางที่แท้จริง สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พ่อ แม่และลูกผสมได้เมื่อใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ A-02, A-07 และ A-09 ส่วนลูกผสมชุดอื่นๆยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากสายพันธุ์พ่อแม่ได้อย่างชัดเจน อาจเนื่องจากฐานพันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อแม่ใกล้เคียงกันมากหรือลูกผสมที่ได้ยังไม่ใช่ลูกผสมที่แท้จริง

Pennapa Soyai. 2006. *Phenotype and DNA Fingerprint Characteristics of Hybrid Straw*

Mushroom. Master of Science. Thesis in Plant Pathology, Graduate School, Khon Kaen University. [ISBN 974-626-620-9]

Thesis Advisors : Associate Professor Dr. Niwat Sanoamuang,
Associate Professor Dr. Weerasak Saksirirat,
Assistant Professor Dr. Petcharat Thammabenjapone

ABSTRACT

One hundred and twenty six isolates of straw mushrooms (*Volvariella volvacea* (Bull.ex Fr.) Sing.) from the wild (45) and commercial (81) isolates were collected, isolated for pure cultures and proceeded for spore prints. From these 126 isolates, only 37 isolates could be forced to fruit under controlled conditions. Fruiting bodies from all 37 isolates were put into refrigerator in order to investigate the ability to be store in low temperature and all of them were rotten away within 2-3 days. Germination of basidiospores was experimented using spore print from 9 isolates under different set of temperatures and all of them could not germinate at temperature below 15 °C, but germinated very well at 32 °C. A hundred and twenty six single basidiospores isolates from 15 isolates were conducted and they were investigated for specific characteristics. All single basidiospore isolates were classified into 3 groups, (fast, medium and slow), based on speed of growth on PDA and 2 types, (normal and abnormal), based on colony and the ability to produce chlamydospores and primordia. Cultures from single basidiospore isolation were paired in the same petri dish to allow anastomosis of hypha and 137 cultures taken from fresh mycelium on the connection line were selected. Most of the anastomosis cultures (hybrid lines) exhibited normal type so that 82 of which were selected for detail investigation in the laboratory. Only ten hybrid lines including their parental lines were selected for investigating the ability to produce fruiting body under controlled conditions and their DNA patterns. Twenty three out of 27 hybrid lines produced fruiting bodies and their biological efficiency was between 0.76-24.73 %. Most of the hybrid lines produced more or less similar phenotypes, shape and size, as their own parents. DNA patterns of the ten hybrid lines were also elucidated using RAPD technique with three different

primers. Different hybrid lines exhibited their own DNA patterns and also reacted differently to individual primers. DNA fingerprints from primer A-02, A-07 and A-09 of hybrid G5M9 and G6H9 were clearly distinct from their parents. The other set of hybrids straw mushrooms could not be distinguished between parent lines and hybrids by DNA fingerprints. These events can be occurred depended on the narrow genetic base of their parents or the obtained hybrids were not truly anastomosis hybrids.