

## การผสมข้ามชนิดของเห็ดนางฟ้ากับเห็ดนางฟ้าภูฐาน

### Interspecific Hybridization of *Pleurotus sajor – caju* (Fr.) Singer and *Pleurotus pulmonarius*

อนุวัฒน์ รัตนชัย<sup>1/</sup> ประสิทธิ์ วัฒนวงศ์วิจิตร<sup>1/</sup> และ วิเชียร ภู่อ่าง<sup>1/</sup>  
*Anuwat Rattanachai<sup>1/</sup>, Prasit Watanawongvijit<sup>1/</sup> and Wichian Pooswang<sup>1/</sup>*

**Abstract :** Interspecific breeding between *Pleurotus sajor-caju* and *P. pulmonarius* by mon-mon crossing was studied, a hybrid that gave the highest yield with brittle fruit body was HM9. Yield harvested for 35 days. Di-mon crossing between dikaryotic mycelium of *P. sajor-caju* and monokaryotic mycelium of *P. pulmonarius* and vice versa were investigated, a hybrid with highest yield and brittle fruit body was HDS8. Yield harvested for 35 days. Backcross by di-mon crossing method was observed. Monokaryotic mycelium from five selected high yield hybrids were used. Dikaryotic mycelium from five hybrids and both parents (*Pleurotus sajor-caju* and *P. pulmonarius*) were used. There were four hybrids that gave high yield with better quality of fruit bodies (DSX15, PY3, SY2 and SB6). Two hybrids (SB6 and SY2) gave higher yield than the average of both parents by 53.7% and 46.9% respectively. Fruit body formation ability could be selected by cultured dikaryotic mycelium in the test tube containing sterilized sawdust. There was no relationship between mycelium growth rate and fruit body yield. Thirty five days harvesting period was enough to indicate the economical yield of the hybrids. Esterase isozyme patterns of mycelium from 17 hybrid strains were investigated. They had a very close enzymic bands which were not able to be used to compared the differences. From the abovementions, interspecific breedings between *Pleurotus sajor-caju* and *P. pulmonarius* were possible both in the form of mon-mon, di-mon and backcross as di-mon crossing. Thus, they are belong to the same species of *Pleurotus sajor-caju*

<sup>1/</sup>ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50000

<sup>1/</sup>Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50002.Thailand.

**บทคัดย่อ :** จากการผสมข้ามชนิดระหว่างเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) และเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*) โดยการผสมแบบมอน-มอน สามารถให้ลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูง และมีเนื้อกรอบ คือ HM9 เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตนาน 35 วัน การผสมพันธุ์แบบโค-มอน ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้า กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้าภูฐาน และผสมกลับไปกลับมา โดยใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้าภูฐานกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้า สามารถให้ลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูง และมีเนื้อกรอบ คือ HDS8 เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตนาน 35 วัน การผสมกลับโดยใช้วิธีผสมแบบโค-มอนให้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวจากลูกผสมที่คัดไว้ทั้งห้าสายพันธุ์ และเส้นใยนิวเคลียสคู่จากลูกผสมทั้งห้าและเส้นใยของสายพันธุ์พ่อแม่คือเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน ได้ลูกผสม 4 สายเชื้อที่ให้ ผลผลิตสูงและคุณภาพคอกดี (DSX15, PY3, SY2 และ SB6) มีลูกผสม 2 สายเชื้อ (SB6 และ SY2) ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าค่าเฉลี่ยของผลผลิตทั้งของพ่อแม่ ถึง 53.7% และ 46.9% ตามลำดับ

จากการทดลองความสามารถในการออกดอกโดยเลี้ยงเส้นใยนิวเคลียสคู่ ในหลอดทดลองที่บรรจุวัสดุเชื้อที่ปลอดเชื้อพบว่า วิธีการนี้สามารถช่วยให้ทราบได้ว่าจากการศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใย พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการให้ผลผลิต ระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตของเห็ดลูกผสมนาน 35 วันก็เพียงพอหากพิจารณาในแง่เศรษฐกิจรูปแบบไอโซไซม์ esterase ของเส้นใยเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐานและเห็ดลูกผสม 17 สายเชื้อ พบว่าแถบสีอยู่ใกล้กันมากจนไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างได้ จากข้างต้นการผสมข้ามชนิดระหว่างเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) กับเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*P. pulmonarius*) สามารถผสมกันได้ทั้งแบบมอน-มอนแบบโค-มอน และการผสมกลับแบบโค-มอน แสดงว่าเห็ดทั้งสองชนิดนี้เป็นเห็ดชนิดเดียวกัน น่าจะเรียกว่า *Pleurotus sajor-caju*.

**Index words :** ผสมข้าม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐาน

Hybridization, *Pleurotus sajor-caju* (Fr) Singer, *Pleurotus pulmonarius*

## คำนำ

เห็ดเป็นอาหารรสดีที่ประชาชนทั่วโลก นิยมรับประทานมานาน (ดีพร้อม, 2524) จัดเป็นอาหารที่มีปริมาณของโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชผัก นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโน (amino acids) ในปริมาณที่ต่างกันมากกว่า 20 ชนิด กรดอะมิโนเหล่านี้มีอยู่ 9 ชนิดที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย และร่างกายของมนุษย์ไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ ได้แก่ lysine, methionine, tryptophane, threonine, valine, leucine, isoleucine, cystine และ phenylalanine กรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ (ปัญญา, 2537) เห็ด

นางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* มีถิ่นกำเนิดแถบภูเขาหิมาลัย ซึ่งมีอากาศชื้นและเย็น เห็ดชนิดนี้สามารถเพาะได้ง่ายเจริญเติบโตในอาหารได้หลายชนิดเหมือนเห็ดนางรม จัดว่าเป็นเห็ดที่มีขนาดคอกปานกลางเนื้อแน่นรสชาติดีกว่าเห็ดนางรมคอกเห็ด จะมีสีขาวนวลจนถึงสีน้ำตาลอ่อน (วสันต์, 2536) เห็ดนางฟ้าสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 18-25 องศาเซลเซียส (ดีพร้อม, 2524) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจัดเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุด (ปัญญา, 2537) และจะเกิดดอกได้ดีเมื่ออากาศเริ่มหนาวเย็น ช่วงที่อากาศร้อนจะออกดอกเห็ด ได้ยากระยะที่เห็ดออกดอกคือคือปลายฤดูฝนต่อกับต้นฤดูหนาว (วิฑูรย์, 2527) ส่วนเห็ดนางฟ้าภูฐาน *Pleurotus pulmonarius* ทนต่อ

สภาพอุณหภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงได้กว้าง (15-35 องศาเซลเซียส) ออกดอกได้ตลอดทั้งปี แต่คุณภาพของดอกค่อนข้างเหนียว (ตีพร้อม, 2524) ปัจจุบันนักวิชาการและ นักวิทยาศาสตร์ ได้ใช้เทคโนโลยีด้านต่าง ๆ มาช่วยในการเพิ่มผลผลิตเห็ดชนิดต่างๆ (ปัญญา, 2537) การใช้เทคนิคการรวมตัวกันของลักษณะทางพันธุกรรม โดยอาศัยความรู้ด้านวงจรชีวิต (life cycle) และรูปแบบการแสดงเพศ (sexual pattern) ของเชื้อรามาช่วยในการผสมพันธุ์ (Chang, 1982)

ดังนั้นการที่จะให้เห็ดนางฟ้าสามารถเพาะออกดอกได้ตลอดทั้งปี คุณภาพดีและมีผลผลิตสูง จึงเป็นสิ่งที่ต้องการการผสมพันธุ์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ใหม่ที่เป็นลูกผสมของเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน แล้วคัดเลือกโดยใช้วิธีการผสมพันธุ์ทั้งแบบได-มอน (di-mon crossing) และแบบมอน-มอน (mon-mon crossing) ก็จะเป็นแนวทางในการให้ได้สายพันธุ์ใหม่ตามต้องการ

## ผลการทดลอง

**การทดลองที่ 1** การผสมแบบมอน-มอน (mon-mon crossing) ระหว่างเห็ดนางฟ้ากับเห็ดนางฟ้าภูฐาน

จากการตรวจหาข้อยี่ระหว่างเซลล์ของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้าและของเห็ดนางฟ้าภูฐานเส้นใยที่ไม่มีข้อยี่ระหว่างเซลล์ได้จากเห็ดนางฟ้า 11 สายใย และจากเห็ดนางฟ้าภูฐาน 10 สายใย แล้วนำมาผสมพันธุ์กัน ตรวจหาข้อยี่ระหว่างเซลล์ของลูกผสมพบข้อยี่ระหว่างเซลล์ 30 สายเชื้อ จากนั้นนำลูกผสมที่ได้ทั้ง 30 สายเชื้อไปทดสอบการออกดอกโดยเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้เชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่ามีลูกผสม

12 สายเชื้อที่ออกดอก เพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสมสามารถเกิดดอกได้ 12 สายเชื้อ ซึ่งเป็นสายเชื้อเดียวกันกับ 12 สายเชื้อ ที่ออกดอกในหลอดทดลองที่ใช้เชื้อเป็นวัสดุเพาะ เมื่อศึกษาจำนวนวันที่ออกดอกพบว่าจำนวนวันที่ออกดอกนับจากต่อเชื้อมีความใกล้เคียงกัน คืออยู่ช่วง 28-35 วัน โดยสายเชื้อ HM10, HM12 ใช้เวลา 28 วัน ส่วนสายเชื้อ HM5, HM6 ใช้เวลาถึง 35 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีการกระจายตัวหลายแบบ ทั้งขนาด ความหนาของดอก ลักษณะของขอบดอกลักษณะเนื้อสัมผัส เช่น กรอบหรือเหนียว และสี ซึ่งลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณา ในการคัดเลือกลูกผสมเพื่อใช้ในการทดลองต่อไปได้แก่ลักษณะของเนื้อสัมผัส คือต้องการให้มีเนื้อกรอบจากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือสายเชื้อ HM8, HM9, HM10 โดยพิจารณาจากลักษณะของเนื้อสัมผัส ต้องกรอบ และให้ผลผลิตสูง ส่วนสายเชื้อ HM12 ถึงแม้จะให้ผลผลิตสูง แต่มีเนื้อสัมผัสเหนียวจึงคัดทิ้งไป

**การทดลองที่ 2** การผสมข้ามแบบได-มอน (di-mon crossing) ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon) ของเห็ดนางฟ้ากับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryon) ของเห็ดนางฟ้าภูฐานและเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้าภูฐานกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้า

**การทดลองที่ 2.1** การผสมแบบได-มอน เมื่อใช้เห็ดนางฟ้า (*P. sajor-caju*) เป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่เมื่อนำเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้า (*P. sajor-caju*) ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*P. pulmonarius*) จำนวน 10 สายใย ตรวจหาข้อยี่ระหว่างเซลล์ของเห็ดลูกผสมพบข้อยี่ระหว่างเซลล์ 9 สายเชื้อ จากนั้นนำลูกผสม

ที่ได้ทั้ง 9 สายเชื้อไป ทดสอบการออกดอกโดยเลี้ยงในหลอดทดลอง ที่ใช้เชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่ามีลูกผสมจำนวน 8 สายเชื้อที่ออกดอกได้ จากนั้นนำลูกผสมทั้ง 9 สายเชื้อเพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสมสามารถเกิดดอกได้ 8 สายเชื้อ เช่นเดียวกับที่เพาะในหลอด เมื่อศึกษาจำนวนวันที่ออกดอกพบว่าจำนวนวันที่เริ่มออกดอกหลังจากต่อเชื้อ มีความใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 28-29 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีหลายแบบ ทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะ เนื้อสัมผัสและสี ลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณา ในการคัดเลือกลูกผสมเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ได้แก่ ลักษณะของเนื้อสัมผัสคือต้องกรอบ ผลผลิตของเห็ดลูกผสมที่ได้มีความใกล้เคียงกัน โดยสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เช่น HDS2 และ HDS8 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 133.20 และ 148.40 กรัม เป็นต้น ใช้ระยะเวลาเก็บเกี่ยวนาน 60 วัน ส่วนผลผลิตของเห็ดลูกผสมที่ใช้ระยะเวลาเก็บเกี่ยวนาน 35 วัน สายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง คือ HDS8 เช่นกัน น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 98.00 กรัม พบว่าระยะเวลาเก็บเกี่ยวนาน 35 วัน สามารถทราบได้ว่าสายเชื้อใดให้ผลผลิตสูง ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาเก็บเกี่ยว 60 วัน ดังนั้นในการทดสอบ ผลผลิตอาจใช้ระยะเวลาเก็บเกี่ยวนาน 35 วัน สำหรับการคัดเลือกเห็ดลูกผสมคัดเลือกเฉพาะ สายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงเพื่อนำไปใช้ต่อไป การศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด โดยนำลูกผสมทั้ง 8 สายเชื้อที่เกิดดอกได้มาเลี้ยง บนอาหารวุ้นพีดีเอในระยะเวลา 7 วัน แล้วนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของการเจริญของเส้นใยกับผลผลิตเฉลี่ยของเห็ดลูกผสม จำนวน 8 สายเชื้อ พบว่าได้ค่า  $r^2 = 0.0857$  ซึ่งแสดงว่าการ เจริญของเส้นใยไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิตแบบ เส้นตรง จากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือสายเชื้อ HDS8 โดยพิจารณาจากลักษณะของ

เนื้อสัมผัสกรอบและให้ผลผลิตสูง

**การทดลองที่ 2.2** การผสมแบบโค-มอน เมื่อใช้เห็ดนางฟ้าภูฐานเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ นำเส้นใยนิวเคลียสคู่ ของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*P. pulmonarius*) นำมาผสมกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้า (*P. sajor-caju*) จำนวน 11 สายใย ตรวจสอบข้อผิดพลาดระหว่างเซลล์ของเห็ดลูกผสม พบข้อผิดพลาดระหว่างเซลล์ จำนวน 11 สายเชื้อ นำลูกผสมที่ได้ทั้ง 11 สายเชื้อ ไปทดสอบการออกดอกโดยเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้เชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่ามีลูกผสมเพียง 8 สายเชื้อที่ออกดอกได้ จากนั้นนำลูกผสมทั้ง 11 สายเชื้อเพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสม สามารถเกิดดอกได้จำนวน 8 สายเชื้อ เช่นเดียวกับ ที่เพาะในหลอด เมื่อศึกษาจำนวนวันที่ออกดอก หลังจากต่อเชื้อพบว่ามีความใกล้เคียงกันคืออยู่ ในช่วง 26-33 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีหลาย แบบ ทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัสและสี ลักษณะสำคัญที่นำมา พิจารณาในการคัดเลือกลูกผสมเพื่อใช้ในการ ทดลองครั้งต่อไป ได้แก่ ลักษณะของเนื้อสัมผัส กรอบ ผลผลิตของเห็ดลูกผสมที่ได้มีความ ใกล้เคียงกัน โดยสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เช่น HDP4, HDP5 และ HDP8 เช่นกัน น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 129.20, 128.00 และ 155.60 กรัม ตามลำดับ ใช้ระยะเวลาเก็บเกี่ยวนาน 60 วัน ส่วนผลผลิตของเห็ดลูกผสมที่ใช้ระยะเวลาเก็บเกี่ยว นาน 35 วัน สายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เช่น HDP4, HDP5 และ HDP8 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 80.20, 76.20 และ 98.40 กรัม แสดงว่าระยะเวลาเก็บ เกี่ยวเพียง 35 วัน สามารถทราบได้ว่าสายเชื้อใด ให้ผลผลิตสูง ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาเก็บเกี่ยว 60 วัน ดังนั้นในการทดสอบผลผลิตอาจใช้ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพียง 35 วัน สำหรับการคัดเลือกเห็ด ลูกผสม จะทำการคัดเลือกเฉพาะ

สายเชื้อที่ให้ ผลผลิตสูง ศึกษาเพื่อนำไปใช้ต่อไป การศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด โดยนำลูกผสมทั้ง 8 สายเชื้อ ที่เกิดดอกได้มาเลี้ยงบนอาหารวันพีดีเอ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่าง เส้นผ่านศูนย์กลางของการเจริญของเส้นใย กับผลผลิต เห็ดของเห็ดลูกผสมจำนวน 8 สายเชื้อ พบว่าได้ค่า  $r^2=0.0318$  ซึ่งแสดงว่าการเจริญของเส้นใยไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิตแบบเส้นตรงจากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือ สายเชื้อ HDP8 โดยพิจารณาจากลักษณะของเนื้อสัมผัสกรอบและให้ผลผลิตสูง

### การทดลองที่ 3 การผสมกลับแบบ ได-มอน (di-mon backcrossing)

#### การทดลองที่ 3.1 ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดียว จากสปอร์ของ HM8

นำเห็ดลูกผสม HM8 ที่คัดเลือกไว้มาดักสปอร์และคัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดียวได้ 10 สายใยแล้วนำมาผสมกลับกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้า กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ด นางฟ้าภูฐาน และกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ด ลูกผสม HM8 ลูกผสมทั้งหมดที่ได้ มาตรวจข้อยี่ดระหว่างเซลล์ พบข้อยี่ดระหว่างเซลล์ 22 สายเชื้อจากนั้นนำลูกผสมทั้ง 22 สายเชื้อไปทดสอบการออกดอกโดยเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้จีลีสที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะปรากฏว่ามีลูกผสมจำนวน 21 สายเชื้อออกดอกได้เมื่อนำสายเชื้อทั้งหมด (22 สายเชื้อ) ไปเพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่า ลูกผสมสามารถเกิดดอกได้ 21 สายเชื้อ เมื่อศึกษาจำนวนวันที่เริ่มออกดอกหลังจากต่อเชื้อ คืออยู่ใน ช่วง 32-42 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีหลายแบบ ทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัส และสีลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณาในการคัดเลือกลูก

นำมาพิจารณาในการคัดเลือกลูกผสมเพื่อใช้ในการทดลองครั้งต่อไป ได้แก่ ลักษณะของเนื้อสัมผัส คือ กรอบ ผลผลิตของเห็ดลูกผสม สายเชื้อ SA มีความใกล้เคียง ซึ่งสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ สายเชื้อ SA3 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 146.40 กรัม เห็ดลูกผสมสาย PA มีความแตกต่างของผลผลิตโดยบางสายเชื้อให้ผลผลิตสูงเช่น PA2 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 153.20 กรัมส่วนสายเชื้อ DMA1 ถึง DMA9 ให้ผลผลิตต่ำจึงไม่ใช้ในการทดลองต่อไป จะคัดเลือกเฉพาะสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงนำไปใช้ต่อไป จากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือสายเชื้อ SA3 และ PA2 พิจารณาจากลักษณะของเนื้อ สัมผัสกรอบและให้ผลผลิต

#### การทดลองที่ 3.2 ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดียว จากสปอร์ของ HM9

นำเห็ดลูกผสม HM9 ที่คัดเลือกไว้มาทำการดักสปอร์และคัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดียว 10 สายใยแล้วนำมาผสมกลับกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้า กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ด นางฟ้าภูฐาน และกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ด ลูกผสม HM9 นำลูกผสมทั้งหมดมาตรวจข้อยี่ด ระหว่างเซลล์ พบข้อยี่ดระหว่างเซลล์ 17 สายเชื้อ นำลูกผสมที่ได้ทั้งหมด 17 สายเชื้อ ไปทดสอบการ ออกดอก โดยเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้จีลีสที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่ามีลูกผสมจำนวน 12 สายเชื้อออกดอกได้เมื่อนำสายเชื้อเพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสมสามารถเกิดดอกได้จำนวน 12 สายเชื้อเช่นกัน เมื่อได้ศึกษา จำนวนวันที่เริ่มออกดอกพบว่าจำนวนวันที่ออก ดอกนับจากต่อเชื้อ คืออยู่ในช่วง 32-49 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีหลายแบบ ทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัส และสีลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณาในการคัดเลือกลูก

ผสมเพื่อใช้ในการทดลองต่อไปได้แก่ ลักษณะของเนื้อสัมผัส คือต้องกรอบ ผลผลิต ของเห็ดลูกผสมสายเชื้อ SB มีความแตกต่างกัน สายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุด เช่น สายเชื้อ SB6 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 138.20 กรัม เห็ดลูกผสมสายเชื้อ PB มีความแตกต่างของผลผลิตโดยสายเชื้อ ให้ผลผลิตสูงสุด คือ PB6 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 125.60 กรัม ส่วนสายเชื้อ DMB1 และ DMB4 ให้ผลผลิตต่ำ จึงไม่นำมาใช้ในการทดลองครั้งต่อไป จะคัดเลือกเฉพาะสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เพื่อนำไปใช้ทดลองต่อไป จากการทดลองทำให้สามารถ คัดเลือกลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไปคือสายเชื้อ SB6 และ PB6 โดยพิจารณาจากลักษณะของเนื้อสัมผัสกรอบ และให้ผลผลิตสูง

**การทดลองที่ 3.3 ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดียว**  
จากสปอร์ของ HM10

นำเห็ดลูกผสม HM10 ที่คัดเลือกไว้มาทำการดักสปอร์และคัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดียวได้ทั้งหมดจำนวน 10 สายใย แล้วนำมาผสมกลับกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้า กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้าภูฐาน และกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดลูกผสม HM10 ลูกผสมทั้งหมดที่ได้ นำมาตรวจข้อยี่ดระหว่างเซลล์ พบข้อยี่ดระหว่างเซลล์ 21 สายเชื้อ จากนั้น นำลูกผสมที่ได้ทั้งหมด 21 สายเชื้อ ไปทดสอบการออกดอก โดยเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้ขี้เลื่อย ที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่ามีลูกผสม 17 สายเชื้อออกดอกได้ เมื่อนำสายเชื้อทั้งหมด (21 สายเชื้อ) เพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสมสามารถเกิดดอกได้ 17 สายเชื้อเช่นกัน ซึ่งก็คือ สายเชื้อที่สามารถออกดอกได้ในหลอดทดลองนั่นเอง เมื่อศึกษาจำนวนวันที่เริ่มออกดอกพบว่าจำนวนวันที่เริ่มออกดอกนับจากต่อเชื้อ คืออยู่ในช่วง 32-42 วัน ลักษณะของดอกเห็ด มีหลาย

แบบ ทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัส และสี ลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณาในการคัดเลือกลูกผสมเพื่อใช้ในการทดลองต่อไปได้แก่ลักษณะของเนื้อสัมผัส คือต้องกรอบ ผลผลิตของเห็ดลูกผสมสายเชื้อ SC มีสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เช่น สายเชื้อ SC6 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 111.60 กรัม สำหรับเห็ด ลูกผสมสายเชื้อ PC นั้นมีสายเชื้อให้ผลผลิตสูงสุด คือ PC7 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 126.40 กรัม ส่วนเห็ดลูกผสมสายเชื้อ DMC นั้น มีสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ DMC4 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 127.60 กรัม จากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือสายเชื้อ PC7 และ DMC4 โดยพิจารณาจากลักษณะของเนื้อสัมผัสต้องกรอบและให้ผลผลิตสูง ส่วนสายเชื้อ SC6 ถึงแม้ว่าจะให้ผลผลิตสูง แต่มีเนื้อสัมผัสเหนียวจึงคัดทิ้งไป

**การทดลองที่ 3.4 ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดียว**  
จากสปอร์ของ HDS8

นำเห็ดลูกผสม HDS8 ที่คัดเลือกไว้มาทำการดักสปอร์และคัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดียวได้ 20 สายใย แล้วนำมาผสมกลับกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้ากับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้าภูฐาน และกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดลูกผสม HDS8 ลูกผสมทั้งหมด นำมาตรวจข้อยี่ดระหว่างเซลล์ พบข้อยี่ดระหว่างเซลล์ 41 สายเชื้อ จากนั้นนำลูกผสมที่ได้ทั้งหมด 41 สายเชื้อ ไปทดสอบการออกดอกโดยเลี้ยง ในหลอดทดลองที่ใช้ขี้เลื่อยที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่าลูกผสมทั้งหมดสามารถออกดอกได้ เมื่อนำสายเชื้อทั้งหมด เพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสมสามารถเกิดดอกได้ ทั้งหมดเช่นกัน เมื่อศึกษาจำนวนวันที่ออกดอกพบว่าจำนวนวันที่เริ่มออกดอกหลังจากต่อเชื้อ คืออยู่ในช่วง 27-30 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีหลาย



แบบทั้งขนาด ความหนาของดอกขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัส และสี ลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณาในการคัดเลือกลูกผสมเพื่อใช้ในการ ทดลองต่อไป ได้แก่ลักษณะของเนื้อสัมผัส คือต้อง กรอบ ผลผลิตของเห็ดลูกผสมสายเชื้อ SX มีความแตกต่างกัน โดยสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เช่น สายเชื้อ SX2, SX4 และ SX5 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 212.80, 205.60 และ 212.20 กรัม ตามลำดับ เห็ดลูกผสมสายเชื้อ PX มีความแตกต่างของ ผลผลิต โดยสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ PX10 และ PX12 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 216.80 และ 226.00 กรัม ส่วนเห็ดลูกผสมสายเชื้อ DSX มีความแตกต่างของผลผลิตโดยสายเชื้อให้ผลผลิตสูง คือ DSX2, DSX3, DSX10, DSX11, DSX14 และ DSX15 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 204.40, 195.60, 196.80, 192.80, 193.00 และ 191.00 กรัม จะคัดเลือกเฉพาะสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุด เพื่อนำไปใช้ต่อไปจากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือก ลูกผสมที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือ สายเชื้อ SX2, PX12 และ DSX15 โดยพิจารณาจาก ลักษณะของเนื้อสัมผัสกรอบและให้ผลผลิตสูง

**การทดลองที่ 3.5** ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวจากสปอร์ของ HDP8

นำเห็ดลูกผสม HDP8 ที่คัดเลือกไว้มาทำการคัดสปอร์และคัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวได้ 20 สายใย แล้วนำมาผสมกลับกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้า กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้าภูฐาน และกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ด ลูกผสม HDP8 ลูกผสมทั้งหมด นำมาตรวจข้อยัดระหว่างเซลล์ พบข้อยัดระหว่างเซลล์ 27 สายเชื้อ จากนั้นนำลูกผสมที่ได้ทั้งหมด 27 สายเชื้อ ไปทดสอบการออกดอกโดยเลี้ยงในหลอดทดลองที่ใช้ขี้เลื่อยที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ ปรากฏว่า ลูกผสมทั้งหมดสามารถออกดอกได้ เมื่อนำสายเชื้อทั้งหมด

เพาะในถุงเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าลูกผสมทั้งหมดสามารถเกิดดอกได้เมื่อศึกษาจำนวนวันที่เริ่มออกดอกนับจากต่อเชื้อพบว่า จะอยู่ในช่วง 27-32 วัน ลักษณะของดอกเห็ดมีหลายแบบทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอกลักษณะเนื้อสัมผัส และสี ลักษณะสำคัญที่นำมาพิจารณาในการ คัดเลือก ลูกผสมเพื่อใช้ในการทดลองครั้งต่อไป ได้แก่ ลักษณะของเนื้อสัมผัส คือต้องกรอบ ผลผลิตของเห็ดลูกผสมสายเชื้อ SY มีความแตกต่างกัน โดยสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ สายเชื้อ SY2 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 190.40 กรัม เห็ดลูกผสมสายเชื้อ PY มีความแตกต่างของผลผลิต โดยสายเชื้อให้ผลผลิตสูง เช่น PY3 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 202.40 กรัม ส่วนเห็ดลูกผสมสายเชื้อ DPY มีความแตกต่างของผลผลิตโดยสายเชื้อให้ผลผลิตสูง เช่น DPY5 น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 180.00 กรัม คัดเลือกเฉพาะสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูงสุดเพื่อนำไปใช้ต่อไปจากการทดลองทำให้สามารถคัดเลือกลูกผสม ที่ต้องการนำไปใช้ในการทดลองต่อไปคือสายเชื้อ SY2, PY3 และ DPY5 โดยพิจารณา ลักษณะของเนื้อสัมผัสต้องกรอบและให้ผลผลิตสูง

**การทดลองที่ 3.6** เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดลูกผสมกลับที่คัดได้

การศึกษากการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโดยนำลูกผสมทั้ง 12 สายเชื้อ ที่เกิดดอกได้เลี้ยงบนอาหารวุ้นพีดีเอในระยะเวลา 7 วัน แล้วนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลาง ของการเจริญของเส้นใยกับผลผลิตเฉลี่ยของเห็ด ลูกผสมจำนวน 12 สายเชื้อ พบว่าได้ค่า  $r^2 = 0.0612$  ซึ่งแสดงว่าการเจริญของเส้นใยไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิตแบบเส้นตรง

**การทดลองที่ 3.7** ลักษณะแถบเอนไซม์ในเส้นใยเห็ด จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์หรือ

**Table 1** Yield of *Pleurotus sajor – caju*, *Pleurotus pulmonarius* and hybrid (harvested for 35 day).

| Strain | Mean of yield<br>(g / bag) |
|--------|----------------------------|
| SB6    | 105.92a                    |
| SY2    | 101.33a                    |
| HM9    | 85.83b                     |
| DSX15  | 85.33b                     |
| HDS8   | 85.08b                     |
| PY3    | 85.08b                     |
| SX2    | 76.92bc                    |
| HM8    | 76.17bc                    |
| PX12   | 76.00bc                    |
| PA2    | 75.33bc                    |
| SA3    | 73.00bc                    |
| di pl  | 70.33c                     |
| di sa  | 67.50cd                    |
| PC7    | 64.92cd                    |
| DMC4   | 64.83cd                    |
| HM10   | 64.50cd                    |
| DPY5   | 54.33d                     |
| HDP8   | no fruit body              |
| PB6    | no fruit body              |

Means within the same column followed by different letter differ significantly at  $P < 0.05$ , CV. = 22.78 %

<sup>u</sup> di pl = dikaryon of *Pleurotus pulmonarius*, di sa = dikaryon of *Pleurotus sajor-caju*

ไซโมแกรม (zymogram) ของเส้นใยเห็ดนางฟ้าเห็ดนางฟ้าภูฐานและลูกผสม 17 สายเชื้อ นามวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิส เอนไซม์ที่ทำการศึกษาเพื่อหารูปแบบไอโซไซม์ คือ esterase พบว่ามีแถบสีที่ใกล้เคียงกันมาก โดยเห็ดนางฟ้าเห็ดนางฟ้าภูฐานให้แถบสี 2 แถบ และลูกผสมที่ปรากฏแถบสี 2 แถบ ได้แก่ PX12, PY3, DSX15 และ HM10 ส่วนลูกผสมที่ปรากฏ แถบสี 3 แถบ ได้แก่ HDP8, DPY5, SX2, HM8, HM9, PA2, SA3, PC7 และ SB6 ลูกผสมที่ปรากฏแถบสี 4 แถบ ได้แก่ SY2, HDS8,

DMC4 และ PB6 จำนวนแถบ และค่า Rf ของเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐานและเห็ดลูกผสม พบว่าไซโมแกรมของไอโซไซม์ esterase ของเห็ดลูกผสมสายเชื้อ HM8 และ HM9 ให้จำนวนแถบสี 3 แถบ แตกต่างจากเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน ส่วนสายเชื้อ HM10 ให้จำนวนแถบสี 2 แถบ เท่ากับจำนวนแถบสีของเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน แต่ลักษณะของแถบสีต่างกัน พบว่า ไซโมแกรมของไอโซไซม์ esterase ของเห็ด ลูกผสมสายเชื้อ DSX15 ให้จำนวนแถบสี 2 แถบและลักษณะของแถบเหมือน



เห็ดนางฟ้าภูฐาน สายเชื้อ SX2, SA3 และ SB6 ให้จำนวนแถบสี 3 แถบ ที่แตกต่างกัน ส่วนสายเชื้อ SY2, HDS8 และ DMC4 ให้จำนวนแถบสี 4 แถบที่แตกต่างกัน และจากภาพที่ 12 พบว่าไซโมแกรมของไอโซไซม์ esterase ของเห็ดลูกผสมสายเชื้อ PX12 และ PY3 ให้จำนวนแถบสี 2 แถบ และลักษณะของแถบสีเหมือนของเห็ดนางฟ้าภูฐาน สายเชื้อ HDP8, DPY5, PA2 และ PC7 ให้จำนวนแถบสี 3 แถบ ซึ่งสายเชื้อ HDP8 และ DPY5 มี PB6 ให้แถบสี 4 แถบ

#### การทดลองที่ 4 การทดสอบผลผลิต

นำเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐาน และลูกผสม 17 สายเชื้อ ที่ได้จากการคัดเลือกนำไปเพาะเลี้ยงเส้นใยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำผลผลิตเฉลี่ยของเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐาน และเห็ดลูกผสมไปวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบผลผลิตเห็ดลูกผสมกับสายเชื้อเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้า ภูฐาน ปรากฏว่าเห็ดลูกผสมที่ให้ผลผลิตที่มีความแตกต่างทางสถิติสูงกว่าเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้า ภูฐาน ได้แก่ HDS8, DSX15, PY3, SY2, HM9, SB6 ส่วนสายเชื้อ HDP8 และ PB6 ไม่เกิดดอกนั้น อาจเป็นเพราะเกิดการปนเปื้อน สายเชื้อ SB6 และ SY2 ให้น้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 105.92 และ 101.33 กรัม ส่วนน้ำหนักเห็ดนางฟ้า และเห็ดนางฟ้าภูฐาน 67.50 และ 70.33 กรัม นำมาหาค่าเฉลี่ยได้ 68.92 กรัม ซึ่งสายเชื้อ SB6 และ SY2 ให้ผลผลิตสูง กว่าผลผลิตน้ำหนักเฉลี่ยของเห็ดนางฟ้า และ เห็ดนางฟ้าภูฐาน 53.7% และ 46.9% ตามลำดับ ซึ่งสายเชื้อ SB6 ได้จากการผสมพันธุ์แบบมอน-มอน ของเห็ดนางฟ้า และเห็ดนางฟ้า ภูฐาน ได้ลูกผสมแล้วนำมาผสมกลับ แบบโค-มอน โดยใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้ากับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดลูกผสม ส่วนสายเชื้อ SY2 ได้มาจากการผสมพันธุ์แบบโค-มอน โดยใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้าภูฐาน กับเส้นใย

นิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดนางฟ้า ได้ลูกผสมแล้วนำมาผสมกลับแบบโค-มอน โดยใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดนางฟ้ากับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดลูกผสม

### วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการผสมพันธุ์ระหว่างเห็ดนางฟ้า กับเห็ดนางฟ้าภูฐานแบบมอน-มอน คัดได้ลูกผสม 3 สายเชื้อ (HM8, HM9 และ HM10) พบว่าลักษณะของดอกเห็ดมีการกระจายตัวหลายแบบทั้งขนาด ความหนาของดอก ขอบดอก ลักษณะเนื้อสัมผัส คือกรอบหรือเหนียว และสี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Simchen (1965) ได้ทดลองผสมแบบ มอน-มอน ในเห็ด *Schizophyllum commune* ได้ ลูกผสมที่มีลักษณะหลากหลายออกมาการผสมแบบมอน-มอน เป็นการพัฒนาสายพันธุ์เห็ด ซึ่งการผสมพันธุ์เกิดจากการเชื่อมต่อระหว่างเส้นใย 2 สายพันธุ์ และมีการแลกเปลี่ยนสารภายในเซลล์ จะได้ลูกผสมลักษณะใหม่ๆ (Fritche, 1978) สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการให้ผลผลิตของเห็ดลูกผสมที่ได้จากการผสมทั้งแบบมอนมอน และการผสมแบบโค-มอน พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ต่อความเร็วในการเจริญเติบโตของเส้นใย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการที่เส้นใยที่เจริญเร็วนั้น อาจไม่ให้ผลผลิตสูง หากมีการทดลองครั้งต่อไปควรพิจารณาเส้นใยที่เจริญช้าด้วยการทดสอบการออกดอกในหลอดทดลองที่บรรจุเชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ พบว่าเมื่อนำเส้นใยที่มีข้อยี่ระหว่างเซลล์ไปเพาะทดสอบการออกดอกในหลอดบรรจุวัสดุเพาะเชื้อปลอดเชื้อ สามารถช่วยให้ทราบได้ว่าสายเชื้อใดที่นำไปเพาะลงถุงแล้วสามารถเกิดดอกได้สำหรับเส้นใยที่ตรวจพบข้อยี่ระหว่างเซลล์แต่เมื่อนำไปเพาะแล้ว ไม่เกิดดอกอาจเป็นข้อยี่หลอก

ซึ่งเกี่ยวกับรูปแบบ การผสม (Raper, 1978)

### วิธีการทดสอบการออกดอก

ในหลอดบรรจุวัสดุเชื้อที่ปลอดเชื้อเป็นวัสดุเพาะ อาจเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ทราบว่ายีสต์ใด เพาะแล้วสามารถออกดอกโดยไม่ต้องตรวจยีสต์ระหว่างเซลล์ ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้การทดลองสะดวกยิ่งขึ้น การทดลองผสมข้ามแบบใด-มอน ทำทั้งกับเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐานในแต่ละเห็ดใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดชนิดหนึ่งผสมกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดอีกชนิดหนึ่งผสมกัน พบว่าวิธีการผสมแบบใด-มอน นี้มีโอกาที่จะได้ลูกผสมที่ดีได้มากกว่าวิธีการผสมแบบมอน-มอน ในการผสมแบบใด-มอนนี้ นิวเคลียสใดนิวเคลียสหนึ่งของเส้นใยนิวเคลียสคู่ จะย้ายเข้าไปอยู่ในเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว อันเป็นวิธีที่รวมลักษณะทางพันธุกรรม (Eger, 1978) จากการทดลองคัดเลือก ได้ 2 สายเชื้อ คือ HDS8 และ HDP8 ไว้สำหรับใช้ทดลองครั้งต่อไปโดยคัดเลือกสายเชื้อที่มีเนื้อกรอบ และให้ผลผลิตสูง ซึ่งเห็ดลูกผสมที่ผสมกลับแบบ ใด-มอน ใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของตัวมันเองผสม กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของตัวมันเองที่ได้จากการผสมแบบมอน-มอน พบว่าผลผลิตของเห็ดลูกผสมต่ำ ส่วนเห็ดลูกผสมที่ผสมกลับแบบใด-มอน ใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ของตัวมันเอง ผสมกับ เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของตัวมันเอง ที่ได้จากการ ผสมแบบใด-มอนพบว่าผลผลิตของเห็ดลูกผสม สูงการทดลองผสมกลับแบบใด-มอน ใช้เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวจากลูกผสมที่ได้ทั้ง 5 สายเชื้อ (HM8, HM9, HM10, HDS8 และ HDP8) ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดลูกผสมทั้ง 5 สาย เชื้อกับผสมกับเห็ดนางฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน คัดลูกผสมใหม่ได้ 12 สายเชื้อ คือ SA3, PA2, PY3, SB6, PB6, SY2, SX2, DMC4,

PX12, DPY5 , PC7 และ DSX15 สรุปขณะนี้มียูกผสม 17 สายเชื้อ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการให้ผลผลิตของเห็ดลูกผสมทั้ง 12 สายเชื้อกับความสามารถในการเจริญของเส้นใยก็ไม่มีความสัมพันธ์ต่อกันเช่นกัน เมื่อศึกษาระยะที่เก็บเกี่ยวนาน 35 กับ 60 วัน พบว่า ผลผลิตที่ 35 กับ 60 วัน มีแนวโน้มสัมพันธ์กันดังนั้นหากมีการผสมพันธุ์เห็ด อาจคัดจากการเก็บผลผลิต 35 วันที่พอเพราะคุ้มค่าทางเศรษฐกิจจากการทดสอบ ผลผลิตเห็ดนางฟ้า เห็ดนางฟ้าภูฐานกับเห็ดลูกผสม ทั้ง 17 สายเชื้อ ที่เก็บเกี่ยวผลผลิตนาน 35 วัน แล้วนำถุงเพาะไปเลี้ยงเส้นใยในตู้ควบคุมอุณหภูมิแล้วเปรียบเทียบผลผลิตทางสถิติพบว่าเห็ดลูกผสม 6 สายเชื้อ ( HDS8 , DSX15 , PY3 , SY2 , SB6 และ HM9 ) ให้ผลผลิตสูงกว่าเห็ดนาง ฟ้าและเห็ดนางฟ้าภูฐาน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการ รวมลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีไว้ (Eger, 1978) โดยลูกผสม 5 สายเชื้อแรกได้จากการผสมแบบ ใด-มอนและลูกผสมตัวสุดท้าย (HM9) ได้จากการผสมแบบมอน-มอน ลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูง คือ SB6 และ SY2 โดยให้ผลผลิตสูงกว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตของเห็ดนางฟ้ากับเห็ดนางฟ้าภูฐานถึง 53.7% และ 46.9% ตามลำดับ สำหรับการ ศึกษา รูปแบบไอโซไซม์ของเส้นใยเห็ดนางฟ้าเห็ดนางฟ้าภูฐาน และเห็ดลูกผสม 17 สายเชื้อ พบว่าแถบสีอยู่ใกล้กันมากสายเชื้อที่ให้ผลผลิตสูง เมื่อทดสอบผลิตในการการทดลองที่ 4 และ ปรากฏแถบสีแตกต่างสายเชื้ออื่น ได้แก่ SB6 และ SY2 การที่ไม่สามารถเปรียบเทียบและแยกความ แตกต่างของแถบสีได้ชัดเจนอาจเป็นเพราะความ ต่างสัคย์ที่ใช้ในการทดลองยังไม่เหมาะสม ซึ่งจากการทดลองใช้ความต่างสัคย์ 190 โวลต์ และ ควบคุมอุณหภูมิที่ 0 องศาเซลเซียส Rouse and May (1981) ศึกษา รูปแบบ ไอโซไซม์ของเห็ด *Pleurotus spp.* ใช้ความต่างสัคย์ต่ำกว่า 200 โวลต์ แต่ไม่ได้ระบุชัดเจนว่าควรจะใช้

ความต่างศักย์เท่าไร ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้ความต่างศักย์ 190 โวลต์ หากมีการทดลองครั้งต่อไป อาจหาความต่างศักย์ที่เหมาะสมก่อนทดลอง สาเหตุอื่นที่ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบและแยกความแตกต่างของ แอปลีได้ชัดเจน อาจเป็นเพราะใช้จำนวนรอบ น้อยไปในการเหวี่ยงแยกส่วนตัวอย่างเส้นใยที่เติม extraction buffer ในการทำเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ซึ่งทำให้ค่า Relative Centrifugal Force (RCF) น้อยด้วย ดังนั้นหากมีการทดลองครั้งต่อไป อาจเพิ่มจำนวนรอบหรือเพิ่มขนาดของหลอด eppendrop อาจช่วยให้แยกตัวอย่างเส้นใยออกจาก extraction buffer ได้ดีขึ้นและอาจแยกความแตกต่างของแอปลีได้เมื่อทำเทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิส หรืออาจเกิดจากการทดลองตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์อาจเกี่ยวกับความเข้มข้นของเอนไซม์ อนุภูมิและความเป็นกรด-ด่าง ขนิษฐา (2543) ศึกษาารูปแบบของไอโซไซม์ esterase, acid phosphatase และ peroxidase ของเห็ดฟางพันธุ์ V1 และ V2, เส้นใยสปอร์เดี่ยวและลูกผสมพบว่าเส้นใยของเห็ดฟางทั้งหมดมีรูปแบบไอโซไซม์ esterase ปรากฏแอปลีอยู่ใกล้กันหากมีการทดลอง ครั้งต่อไปควรใช้เอนไซม์ชนิดอื่นในการทดลองด้วย จากการผสมข้ามชนิด (species) ระหว่างเห็ดนางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* กับเห็ดนางฟ้าภูฐาน *Pleurotus pulmonarius* ทั้งแบบมอน-มอน และการผสมแบบได-มอนลูกผสมที่ได้ยังสามารถผสมกลับไปหาเห็ดทั้งสองได้อีกด้วย แสดงว่าเห็ดทั้งสองชนิดนี้ คือ เห็ดนางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* กับเห็ดนางฟ้าภูฐาน *P. pulmonarius* น่าจะเป็นเห็ดชนิด (species) เดียวกัน Kinugawa et.al. (1994) เคยเสนอว่าน่าจะใช้ชื่อว่า *P. sajor-caju* เพราะถ้าต่างชนิด (species) กันจะผสมกันไม่ได้

## เอกสารอ้างอิง

- ขนิษฐา พรเจริญโรจน์ . 2543 . การปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟางโดยการผสมพันธุ์. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 79 น.
- ดิพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ . 2524 . การเพาะเห็ดและเห็ดบางชนิดในประเทศไทย . ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ . 188 น.
- ปัญญา โพธิ์ศิริรัตน์ . 2537 . เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 421 น.
- วสันต์ เพชรรัตน์ . 2536 . การผลิตเห็ด. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา . 226 น.
- วิฑูรย์ พลาอุทม์ . 2527 . การทำเชื้อและการเพาะเห็ด . คณะพืชศาสตร์วิทยาเขตเกษตรนครศรีธรรมราช วิทยาลัยเทคโนโลยีและ อาชีวศึกษา, กรุงเทพฯ . 199 น
- Chang, S.T. 1982 . Sexuality and strain improvement in edible mushroom . Mushroom Newsletter for the Tropics 6(1) :2-6.
- Eger, G. 1978 . Biology and breeding of *Pleurotus ostreatus* .Mushroom Science IX (part I): 567-573.
- Fritsche, G.1978 . Breeding Work , p. 239-250. In S.T. Chang and W.A.Hays(eds). The Biology and Cultivation of Edible Mushroom . Academic Press, New York.
- Kinugawa, K., P. Wichian ., C. Smarn., F. Shuzo., T. Eiji., O. Mieko and T. Hikaru. 1994 .Progress Report (1991-1993) of the Joint Reseach Program of Kinki and Chiang Mai University on the Promotion of Mushroom Research Faculty Agriculture Kinki University. 27: 93-113.

Raper, J.R. 1978 .Sexuality and breeding , p. 83-117. In  
S.T. Chang and W.A. Hays (eds.) . The Biology  
and Cultivation of Edible Mushroom .Academic  
Press, New York.

Royse, D.J. and May. B .1981. Multilocus Enzyme  
Electrophoresis for the Genetic Analysis of  
Edible Mushrooms, 228 p. *In* Chang, S.T., J.A.  
Buswell and P.G. Miles. 1993 .Genetic and

Breeding of Edible Mushroom. OPA  
(Amsterdam) B.V., Netherlands.

Simchen, G.1965 . Monokaryotic Variation and Haploid  
Selection in *Schizophyllum commune*.  
Department of Genetics, University of  
Birmingham, Alabama.