

## การพัฒนาวัสดุเพาะและการเปรียบเทียบผลผลิต ของเห็ดนางรมลูกผสม

### Development of Culture Media and Yield Comparison of *Pleurotus* Mushroom Hybrids

เจนfang ทิระกันทร<sup>1</sup> และ วิเชียร ภู่อ่าง<sup>2</sup>

Janefang Tirakantorn<sup>1</sup> and Wichian Pooswang<sup>2</sup>

**Abstract :** Suitable culture media for growing oyster mushroom hybrid cultivar KDCM-4 was studied. It was found that Pararubber tree and Kapok tree sawdust at the ratio 1:1, 1% lime, 1.5% of  $MgSO_4$ , 20% rice bran and 74% moisture content of the culture media gave the highest yield. When this mixture of culture media (Formula 1) were compared with another media (Formula 2) of the same ratio of sawdust, 1% lime 0.2%  $MgSO_4$ , 10% rice bran and 70% of moisture content of the media. It was found that Formula 1 gave higher yield.

Yield potential of 5 *Pleurotus* mushroom hybrids were compared with their parents KD1 from Japan and CM1 stock of the Department of Horticulture CMU. CM1 gave the highest yield followed by KDCM-4. Electrophoretic isozyme assays of esterase, peroxidase and acid phosphatase were conducted on 7 strains on 8.5% polyacrylamide gel. The results indicated that the enzyme pattern of hybrids have the relation with their parents. Most of enzyme bands of the *Pleurotus* mushroom hybrids were similar to *Pleurotus ostreatus* from Japan (KD1)

**บทคัดย่อ :** การศึกษาวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4 พบว่าการผสมขี้เลื่อยไม้ยางพารา และไม้หน่ออัตราส่วน 1:1, ปูนขาว 1%, แมกนีเซียมซัลเฟต 1.5%, รำละเอียด 20% และความชื้นในวัสดุเพาะ 74% ให้ผลผลิตสูงสุด เมื่อนำส่วนผสมข้างต้น (สูตรที่ 1) มาเปรียบเทียบกับวัสดุเพาะสูตรที่ 2 โดยมีอัตราส่วนขี้เลื่อยเค็ม, ปูนขาว 1%, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2%, รำละเอียด 10% และความชื้นในวัสดุเพาะ 70% พบว่าวัสดุเพาะสูตรที่ 1 ให้ผลผลิตสูงสุด

<sup>1</sup>ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50002

<sup>2</sup>Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

การทดสอบผลผลิตเห็ดลูกผสม 5 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับแม่พันธุ์นางรมจากญี่ปุ่น (KD1) และแม่พันธุ์นางรมฮังการีของภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (CM1) พบว่า CM1 ให้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาได้แก่ ลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4 เมื่อนำเห็ดทั้ง 7 สายพันธุ์มาวิเคราะห์หารูปแบบไอโซไซม์ Esterase, Peroxidase และ Acid phosphatase โดยใช้ Polyacrylamide gel 8.5% ผลปรากฏว่าไอโซแกรมของเส้นใยเห็ดลูกผสมมีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับไอโซแกรมของเส้นใยพ่อแม่ โดยแถบสีส่วนใหญ่คล้ายกันกับแถบสีของแม่พันธุ์นางรมจากญี่ปุ่น

**Index words :** เห็ดนางรมฮังการี, ไอโซไซม์, ไอโซแกรม, หน่วยทดลอง

Pleurotus, Electrophoretic isozyme, Esterase, Peroxidase, Acid phosphatase

## บทนำ

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับลูกผสมเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) จากมหาวิทยาลัยคินกิ ประเทศญี่ปุ่น จำนวน 3 สาย ได้นำมาปรับปรุงพันธุ์ โดยผสมกับสายพันธุ์เห็ดลูกผสมของภาควิชาคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ใหม่ 5 สายพันธุ์ ทั้งห้าสายพันธุ์เกิดจากการคัดแยกสปอร์เดี่ยวของเห็ดนางรมลูกผสม แล้วนำมาผสมกับเห็ดลูกผสมที่ได้จากมหาวิทยาลัยคินกิ ประเทศญี่ปุ่น แต่เนื่องจากยังไม่ทราบศักยภาพในการผลิตและวัสดุเพาะที่เหมาะสม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาศักยภาพของการผลิตและวัสดุเพาะที่เหมาะสมสำหรับทดสอบสายพันธุ์เห็ดลูกผสมนี้ ในการจำแนกสายพันธุ์เห็ดนับวันจะมีความจำเป็นอย่างยิ่ง การใช้ลักษณะการแสดงออกภายนอก (Phenotype) ของเห็ดไม่สามารถบ่งบอกถึงความแตกต่างของสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันได้ การใช้เครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิสเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยให้ผลดีและรวดเร็วเมื่อเทียบกับวิธีการอื่นๆ ที่ใช้กันในปัจจุบัน สำหรับเชื้อราได้มีการศึกษาไอโซไซม์โดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสมาในช่วง 1960 และปัจจุบันมีวิธีการศึกษาการผันแปรของไอโซไซม์ในระดับโลกแล้ว เดียวใน *Agaricus brunnescens* และในเชื้อราอื่น (Deniel, 1982) นอกจากนี้การวิเคราะห์ไอโซไซม์ยังใช้เป็นเครื่องช่วยในการจัด

จำแนกเห็ดในกลุ่ม *Agaricus* และ *Polyporus* หรือหาความ แตกต่างภายในชนิด (Intraspecies) ของเห็ดพวก *Agaricus bisporus* และเห็ดฟาง (Zervakis et al. 1994) ดังนั้น การศึกษาไอโซไซม์โดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส น่าจะเป็นการตรวจสอบความผันแปรของพันธุ์เห็ดลูกผสมได้ดี ซึ่งจะนำมาใช้เป็นประโยชน์ ในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคตได้

## วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาและทดสอบวัสดุที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดนางรมลูกผสม
2. ทดสอบผลผลิตของสายพันธุ์เห็ดนางรมลูกผสม

## วิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ศึกษาอัตราส่วนของวัสดุเพาะระหว่างขี้เลื่อยของไม้ยางพารา ไม้ฉำฉา และไม้หนูนที่มีต่อผลผลิตเห็ดลูกผสมพันธุ์ KDCM-4 และศึกษาขนาดส่วนทดลองที่เหมาะสม

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ มี 6 กรรมวิธี คือ ใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราอย่างเดียว ขี้เลื่อยไม้หนูนอย่างเดียว อัตราส่วนระหว่างขี้เลื่อยไม้ยางพาราต่อไม้หนูน 3:1, 1:1, 1:3 และอัตราส่วน

ระหว่างเชื้อไม้อย่างพาราต่อเชื้อไม้น้ำฉา 1:1 มี 12 ชั่วโมงหนึ่งหน่วยการทดลองเท่ากับ 6 ถัง การศึกษาขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสม โดยหนึ่งหน่วยการทดลองที่เหมาะสมในการทดลองนี้ จะนำไปใช้ในการทดลองที่ 2-6

**การทดลองที่ 2** ศึกษาระดับปูนขาวและแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ โดยมีปัจจัยต่างๆ ดังนี้ 1) ระดับปูนขาว 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3% ของน้ำหนักเชื้อแห้ง 2) ระดับแมกนีเซียมซัลเฟต 3 ระดับ คือ 1.5, 3.0 และ 4.5% ของน้ำหนักเชื้อแห้ง รวม 10 กรรมวิธีที่ไม่ใส่ทั้งปูนขาวและแมกนีเซียมซัลเฟต 12 ชั่วโมงหนึ่งหน่วยการทดลองเท่ากับขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ 1

**การทดลองที่ 3** ศึกษาระดับรำข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ รวม 5 กรรมวิธี คือระดับรำข้าว 8, 14, 20, 26 และ 32% ของน้ำหนักแห้ง 12 ชั่วโมงหนึ่งหน่วยการทดลองเท่ากับ ขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ 1

**การทดลองที่ 4** ศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ รวม 3 กรรมวิธี คือระดับความชื้น 70, 72 และ 74% ของน้ำหนักเชื้อแห้ง 12 ชั่วโมงหนึ่งหน่วยการทดลองเท่ากับ ขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ 1

**การทดลองที่ 5** ทดสอบสูตรวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ รวม 2 กรรมวิธี คือวัสดุเพาะสูตรที่ 1 เป็นการนำผลการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ใช้เป็นวัสดุร่วมกัน และสูตรที่ 2 เป็นวัสดุเพาะที่ใช้เพาะเห็ด KDCM-4 ตั้งแต่เริ่มการทดลอง มี 12 ชั่วโมงหนึ่งหน่วยการทดลองเท่ากับ ขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ 1

**การทดลองที่ 6** ทดสอบผลผลิตสายพันธุ์เห็ดลูกผสมสกุลพลูโรดัสที่คัดไว้ได้ห้าสายพันธุ์เปรียบเทียบกับแม่พันธุ์จากญี่ปุ่น (KD1) และแม่พันธุ์นางรมฮังการีของภาควิชาพืชสวน (CM1)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ รวม 7 กรรมวิธี คือ เห็ด KD1, CM1, KDCM-1, KDCM-2, KDCM-3, KDCM-4 และ KDCM-5 มี 12 ชั่วโมงหนึ่งหน่วยการทดลองเท่ากับขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ 1

การบันทึกผลในการทดลองที่ 1-6

1. ช่วงเวลาและจำนวนครั้งของการเก็บเกี่ยวผลผลิต
2. ผลผลิตเป็นน้ำหนักสด (กรัมต่อถุง)

**การทดลองที่ 7** ศึกษาลักษณะไอโซไซม์ในเส้นใยเห็ด

โดยใช้เชื้อเห็ด 7 สายพันธุ์ที่เก็บไว้ใน Stock culture มาวิเคราะห์ไอโซไซม์ 3 ชนิด คือ Esterase, Peroxidase และ Acid phosphatase รวม 2 ชั่วโมง

## ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาอัตราส่วนของวัสดุเพาะระหว่าง ขี้เลื่อยไม้ยางพาราและขี้เลื่อยไม้หนุ่นที่มีต่อผลผลิตเห็ดลูกผสมพันธุ์ KDCM-4 พบว่า การใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพารา และขี้เลื่อยไม้หนุ่นในอัตราส่วน 1:1 ให้ผลผลิต สูงสุด ขี้เลื่อยไม้หนุ่นล้วนให้ผลผลิตต่ำสุด (ตาราง ที่ 1) ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของ สุวรรณิ (2540) รายงานว่า การใช้ขี้เลื่อยไม้ฉำฉา และขี้เลื่อยไม้ยางพาราในอัตราส่วน 1:1, 1:3

และใช้ขี้เลื่อย ไม้ยางพาราเพียงอย่างเดียวให้ผลผลิตสูง โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ การศึกษาขนาดหน่วย ทดลองที่เหมาะสมพบว่า จำนวนถุงเพิ่มขึ้น ค่า CV จะลดลงอย่างรวดเร็วในระยะแรกและลดลงอย่าง ช้าๆ โดยพบว่าบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด ประมาณเพิ่มจำนวนถุงจาก 1 ถุงเป็น 2 ถุง ดังนั้น ขนาดหน่วยทดลองที่เหมาะสมควรมี อย่างต่ำ 2 ถุง แต่ในการทดลองนี้จะพบว่าถุงเพาะเห็ดบางถุงไม่เกิด ดอกเห็ด จึงควรใช้หน่วยทดลอง 3 ถุง ในการทดลองครั้งต่อไป

**Table 1** Effect of the ratio of sawdust on yields of strain KDCM-4 oyster mushroom.

| Ratio of sawdust                                 | Yield<br>(g/bag/crop) |
|--------------------------------------------------|-----------------------|
| Pararubber tree sawdust 100 %                    | 75.56 b               |
| Kapok tree sawdust 100 %                         | 22.18 d               |
| Kapok tree sawdust : Pararubber tree sawdust 3:1 | 52.55 c               |
| Kapok tree sawdust : Pararubber tree sawdust 1:1 | 107.58 a              |
| Kapok tree sawdust : Pararubber tree sawdust 1:3 | 64.13 b               |
| Rain tree sawdust : Pararubber tree sawdust 1:1  | 70.53 b               |

ผลการศึกษาระดับปูนขาวและแมกนีเซียม-ซัลเฟตที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4 พบว่า ระดับแมกนีเซียมซัลเฟตมีผลทำให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้แมกนีเซียมซัลเฟตระดับ 4.5% ทำให้ผลผลิตสูงขึ้น (ตารางที่ 2) ในแมกนีเซียมซัลเฟต นอกจากจะมีธาตุแมกนีเซียมแล้วยังมีธาตุกำมะถันเป็นองค์ประกอบด้วย โดยธาตุกำมะถันมีผลส่งเสริมการเจริญของเห็ดด้วย สำหรับผลของระดับ

ปูนขาวที่มีต่อผลผลิตเห็ด พบว่า มี Interaction กันโดยการใช้ระดับปูนขาว 1% ทำให้แมกนีเซียม-ซัลเฟตไม่มีผลต่อผลผลิตเห็ด แต่เมื่อปรับระดับปูนขาวขึ้น ระดับแมกนีเซียมซัลเฟตจะมีผลต่อผลผลิตเห็ดทันที ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดทรัพยากรการผลิตจึงควรใช้ปูนขาวที่ระดับ 1% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้งและใช้แมกนีเซียมซัลเฟตระดับ 1.5% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้งในการทดลองครั้งต่อไป

**Table 2** Effect of  $MgSO_4$  and lime on yields of strain KDCM-4 oyster mushroom.

| $MgSO_4$<br>Lime | 1.5     | 3.0     | 4.5     | Mean    |
|------------------|---------|---------|---------|---------|
| 1.0              | 68.49   | 69.94   | 60.62   | 66.35 a |
| 2.0              | 48.08   | 49.45   | 64.89   | 54.14 b |
| 3.0              | 51.23   | 44.95   | 74.74   | 56.97 b |
| Mean             | 55.93 b | 54.78 b | 66.75 a |         |

\* control 50.77

\* No  $MgSO_4$  and Lime in the media

จากการศึกษาของระดับรำละเอียด 5 ระดับ คือ 8, 14, 20, 26 และ 32% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ที่มีต่อผลผลิตเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4 ให้ผลผลิตสูงเมื่อใช้รำละเอียดในระดับ 20% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ส่วนระดับที่ 8, 14 และ 26% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้งให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) การเพิ่มระดับรำจนถึงระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของเห็ดจะมีผลทำให้ผลผลิตของเห็ดเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Visscher (1987) รายงานว่าการเติมรำละเอียดในวัสดุเพาะแก่เห็ด *P. ostreatus* สายพันธุ์ S3001 ในปริมาณ 7.5 และ 15 W/W จะช่วยเพิ่มผลผลิตขึ้นจากไม้ไผ่เลื่อยคือ 41 เป็น 51 และ 61 ก.ก/ตัน ระดับรำที่สูงเกิน 20% ทำให้เส้นใยของเห็ดมีลักษณะจับตัวเป็นก้อนหนืดสีน้ำตาลขุ่น ซึ่งลักษณะผิดปกตินี้จะมีผลทำให้ผลผลิตลดลง ในการศึกษาของ Tan (1981) ทดลองใช้ระดับ 0, 5, 10, 15 และ 20% ของน้ำหนักวัสดุแห้ง พบว่ารำข้าวมากกว่า 5% มีผลยับยั้งเส้นใยของเห็ด *P. ostreatus* สายพันธุ์สีขาวเช่นเดียวกัน สาเหตุอาจเป็นเพราะปริมาณรำมากเป็นการเพิ่มกรดไขมัน (Fatty acid และ Lipid) โดยการศึกษาของ Song

and cho et al. (1989) รายงานว่า น้ำมันพืช (Vegetable oil) และกรดไขมันกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด แต่กรดไขมันที่มีมากเกินไปมีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใย โดยทำปริมาณกรดไขมันรูปที่มีประโยชน์ เปลี่ยนเป็นรูปที่ไม่มีประโยชน์ไม่สามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโต

จากการศึกษาผลของความชื้นในวัสดุเพาะ ที่มีต่อผลผลิตเห็ดลูกผสมพันธุ์ KDCM-4 ที่ระดับความชื้น 70, 72 และ 74% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ให้ผลผลิตสูงสุด (ตารางที่ 4) การตอบสนองของการให้ความชื้นจะมีแนวโน้มเป็นเส้นตรง การให้ความชื้นมากกว่า 74% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง อาจมีผลทำให้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นได้ แต่จากการศึกษาของ Gerrits (1959) รายงานไว้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นในระยะ Spawn กับผลผลิต (กรัม/น้ำหนักวัสดุเพาะแห้ง, กก) มีแนวโน้มที่จะเป็นเส้นโค้งพาราโบลา ในวัสดุเพาะที่มีความชื้นมากเกินไปเส้นใยสามารถเจริญได้แต่จะมีปริมาณออกซิเจนต่ำ ซึ่งเส้นใยเห็ดที่กำลังพัฒนาเป็นดอกเห็ด ต้องการออกซิเจนมากขึ้น (Zadrazil, 1974)

**Table 3** Effect of rice bran on yields of strain KDCM-4 oyster mushroom.

| Rice bran<br>(% of sawdust dryweight) | Yield<br>(g/bag/crop) |
|---------------------------------------|-----------------------|
| 8                                     | 74.75 b               |
| 14                                    | 49.81 b               |
| 20                                    | 95.48 a               |
| 26                                    | 77.23 b               |
| 32                                    | 58.27 c               |

**Table 4** Effect of moisture content of the media on yields of strain KDCM-4 oyster mushroom.

| Moisture content of the media<br>(% of sawdust dryweight) | Yield<br>(g/bag/crop) |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------|
| 70                                                        | 24.53 b               |
| 72                                                        | 39.63 b               |
| 74                                                        | 56.45 a               |

จากการทดลองเพาะเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ KDCM-4 ในวัสดุเพาะปลูก 2 สูตร โดยมีขี้เลื่อยไม้ยางพารา และ ไม้ไผ่ ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัสดุหลัก พบว่า สูตรอาหารที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยรำละเอียด 20% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ปูนขาว 1% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง แมกนีเซียมซัลเฟต 1.5% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ความชื้น 74% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ให้ผลผลิตมากกว่าสูตรอาหารที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยรำละเอียด 10% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ปูนขาว 1% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ความชื้น 70% ของน้ำหนักขี้เลื่อยแห้ง ซึ่งสูตรอาหารที่มีปริมาณรำละเอียดและแมกนีเซียมเพิ่มขึ้น จะให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น โดยทั้งรำละเอียดและ

แมกนีเซียมซัลเฟตจะเป็นแหล่งแร่ธาตุที่เชื้อราต้องการในการเจริญเติบโต แต่จากผลการทดลองที่ 1 ถึง 4 พบว่า ปริมาณรำละเอียดและแมกนีเซียมซัลเฟตที่มีมากเกินไปจะทำให้ผลผลิตลดลงได้

**Table 5** Effect of different media on yields of strain KDCM-4 oyster mushroom.

| Media     | Yield<br>(g/bag/crop) |
|-----------|-----------------------|
| Formula 1 | 103.30 a              |
| Formula 2 | 71.39 b               |

**Table 6** Yield comparison of different strains grown in the same media.

| Strain | Yield<br>(g/bag/crop) |
|--------|-----------------------|
| KD1    | 85.30 cd              |
| CM1    | 124.70 a              |
| KDCM-1 | 82.83 cd              |
| KDCM-2 | 86.08 cd              |
| KDCM-3 | 71.51 de              |
| KDCM-4 | 105.90 b              |
| KDCM-5 | 88.13 c               |

จากผลการทดสอบผลผลิตสายพันธุ์เห็ดลูกผสมสกุลพลูโรดัสที่คัดไว้ห้าสายพันธุ์ เปรียบเทียบกับแม่พันธุ์เห็ดนางรมสีเทาจากญี่ปุ่น (KD1) และแม่พันธุ์นางรมฮังการีสีขาว (CM1) พบว่า แม่พันธุ์นางรมฮังการีสีขาวให้ผลผลิตสูงสุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Kalberer and Kunsch (1974) รายงานว่าเห็ดนางรมสีขาวให้ผลผลิต

สูงกว่าเห็ดนางรมสีเทา เมื่อพิจารณาลูกผสมทั้งห้า สายพันธุ์ พบว่ามีเพียงลูกผสมพันธุ์ KDCM-4 เท่านั้น ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าแม่พันธุ์นางรมสีเทาจาก ญี่ปุ่น โดยลูกผสม อีก 3 สายพันธุ์ อันได้แก่ KDCM-1, KDCM-2 และ KDCM-5 จะให้ผลผลิตต่ำและไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ KD1 อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยด้านอุณหภูมิซึ่งเกี่ยวข้องกับผลผลิตด้วย โดยเห็ด KDCM-4 ที่ทดลองในฤดูฝนและฤดูหนาวให้ผลผลิตสูงกว่าการทดลองในฤดูร้อน ทั้งนี้เป็นเพราะเห็ดแม่พันธุ์ทั้ง 2 สายพันธุ์มีความต้องการอุณหภูมิแตกต่างกัน โดยลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์มีแนวโน้มต้องการอุณหภูมิต่ำในการเกิดดอก จากรายงานของ Resinsky *et al.* (1987) รายงานว่าเมื่อผสมเห็ดนางรมจากญี่ปุ่นที่ต้องการอุณหภูมิ 20°C ในการเกิดดอกกับเห็ดนางรมจากเยอรมันที่ต้องการอุณหภูมิ 11 °C ในการเกิดดอก และส่วนน้อย 25% ที่สามารถเกิดดอกได้ในสภาพอุณหภูมิสูงสุด

จากการศึกษาแบบไอโซไซม์ Esterase, Peroxidase และ Acid phosphatase ของเส้นใยนิวเคลียสคู่ 7 สายพันธุ์ พบว่า คู่ผสมพ่อแม่พันธุ์ (KD1 และ CM1) ให้รูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และเมื่อพิจารณารูปแบบไอโซไซม์ของลูกผสม พบว่า ลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์ให้รูปแบบไอโซไซม์ที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยแถบสีส่วนใหญ่ที่ปรากฏตรงกันกับแถบสีของสายพันธุ์ KD1 เนื่องจาก Isozyme gene จำนวนมากตั้งอยู่บนโครโมโซม (Rahihan *et al.*, 1987) จึงอาจวิเคราะห์ได้ว่ารูปแบบไอโซไซม์ของลูกผสมมีแนวโน้มได้รับพันธุกรรมที่ถ่ายทอดมาจากโครโมโซมของสายพันธุ์ KD1 มากกว่าสายพันธุ์ CK1 จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบไซโมแกรมทั้ง

3 เอนไซม์ สามารถจำแนกแถบไอโซไซม์ได้ 3 ชนิด คือ ไม่เหมือนในพ่อแม่, บางแถบเหมือนในพ่อหรือแม่ หรือเหมือนในทั้งพ่อและแม่ โดยแถบสีที่ไม่พบในพ่อแม่ก็น่าจะมาจากปฏิกิริยาร่วมในทางบวกของพ่อและแม่ และบางแถบที่พบในพ่อหรือแม่นั้นเกิดจากการแสดงออกของยีนเด่น (Dominant expression) (Molitoris, 1979)

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของแถบไอโซไซม์พบว่าแถบไอโซไซม์ Acid phosphatase และ Peroxidase ไม่มีความเข้มข้นมากนัก ทั้งนี้จะเป็นเพราะตัวอย่างเห็ดที่ใช้มีความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่เพียงพอ โดยเมื่อ Load ตัวอย่างเห็ดในปริมาณ 50 ไมโครลิตร จะไม่ปรากฏแถบของเอนไซม์และหากเพิ่มความเข้มข้นในปริมาณที่สูงขึ้นจะปรากฏแถบสี ซึ่งแถบไอโซไซม์ Acid phosphatase และ Peroxidase ที่ปรากฏขึ้นในการทดลองนี้ใช้ปริมาณสารตัวอย่าง 100 และ 130 ไมโครลิตรตามลำดับ สำหรับแถบไอโซไซม์ Esterase ปริมาณสารตัวอย่างเท่ากับ 50 ไมโครลิตรน่าจะเหมาะสมแล้ว นอกจากปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์แล้วยังมีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายประการ ซึ่งสภาพความเปิดกรด-ด่าง ก็เป็นปัจจัยหนึ่ง โดย Molitoris (1979) พบว่า หากศึกษาไอโซไซม์ Laccases ของเห็ดนางรมในสภาพ pH 8.9 แล้วนั้น รูปแบบไอโซไซม์ที่ได้ของลูกผสมจะไม่เหมือนพ่อแม่ ซึ่งข้อจำกัดมากมายทั้งด้านสภาพแวดล้อมและสภาพภายในเนื้อเยื่อของเห็ดเองจะมีอิทธิพลต่อการแสดงออก ดังนั้นผลของการตรวจสอบที่ได้จึงอาจมีความแปรปรวนหรือผิดพลาดอยู่บ้างจึงควรนำวิธีการอื่นมาใช้ด้วย เช่น เทคนิคทางด้าน RAPD, RFLPS เป็นต้น

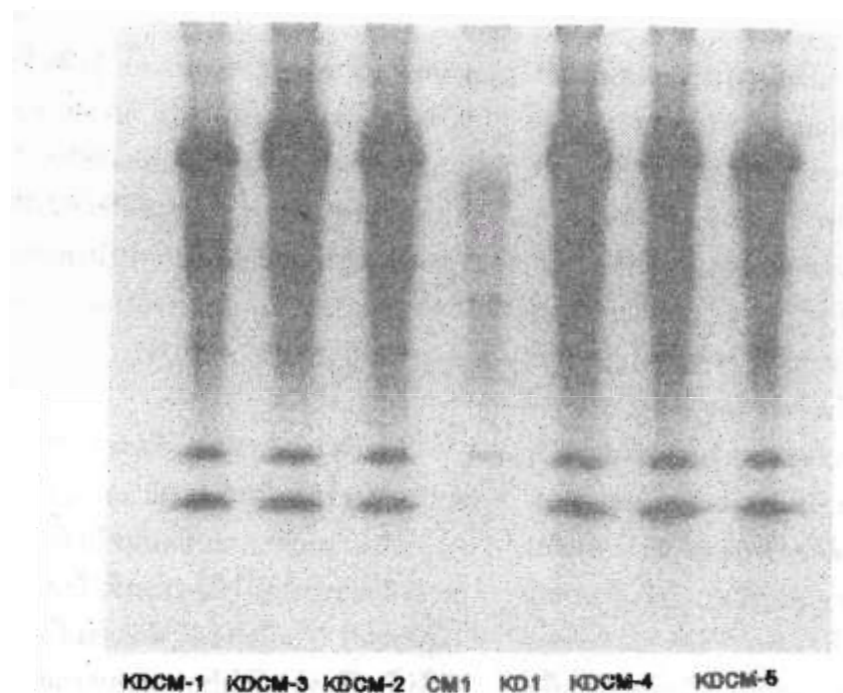


Figure 1 The pattern of esterase isozyme of 7 strains oyster mushroom.

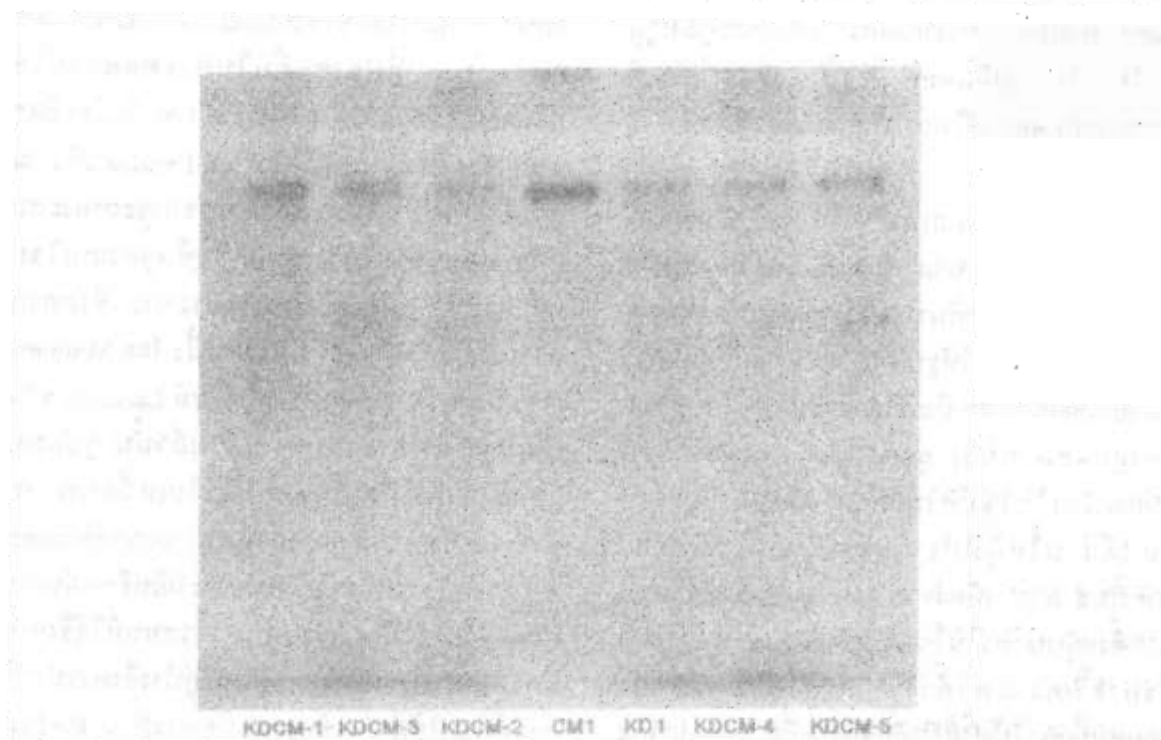
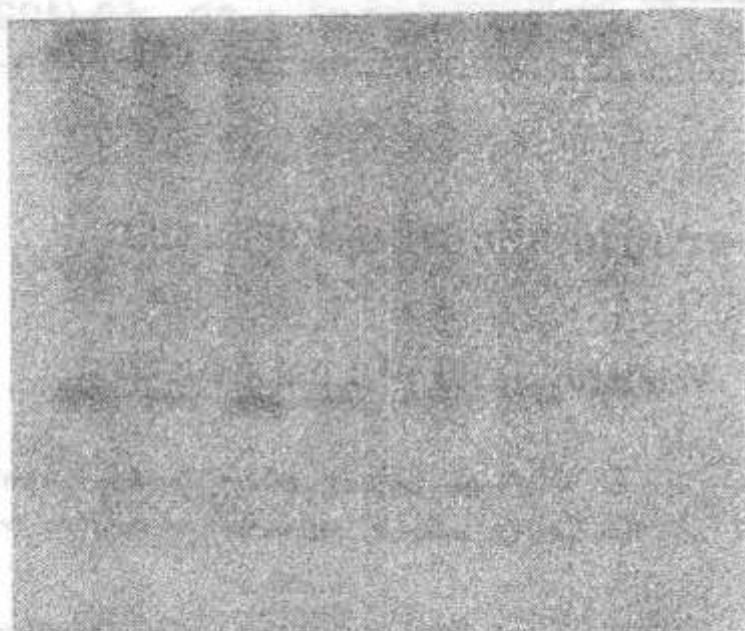


Figure 2 The pattern of peroxidase isozyme of 7 strains oyster mushroom.



KDCM-1 KDCM-3 KDCM-2 CM1 KD1 KDCM-4 KDCM-5

**Figure 3** The pattern of acid phosphatase isozyme of 7 strains oyster mushroom.

### เอกสารอ้างอิง

- สุวรรณ จันทร์ดา. 2540. การคัดเลือกโมโนคลอนของเห็ดนางรมเพื่อการผสมพันธุ์. วิทยาศาสตร์มหบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวนมหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 77 หน้า
- Deniel J.R. and M. Bernie. 1982. Use of isozyme variation to identify genotypic classes of *Agaricus brunnescens*. Mycology Res. 100(6) 717-731.
- Gerrits, J.P.G. 1959. The influence of water in mushroom compost. Mushroom Sci. (4)
- Kalberer, P. and U. Kunsch. 1974. Amino acid composition of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Lebensm-Wiss. U. Technol. 7 : 242-244.
- Molitoris, H.P. 1978. Wood degradation, phenoloxidase and chemotaxonomy of higher fungi. Mushroom Sci. X : 243-236.
- Ranjhan, S., J.C. Glaszmann., D.A.Ramirez and G.S Khush. 1987. Chromosomal location of four isozymes loci by trisomic analysis in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 75 : 541-545.
- Song C.H., K.Y. Cho. 1989. Growth stimulation and lipid synthesis in *Lentinus edodes*. Mycologia. 81(4) : 514-522.
- Tan, K.K. 1981. Cultivation of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on cotton waste. Mushroom Sci. 6 : 697-703.
- Visscher, H.R. 1987. Supplementation of the substrate for *Pleurotus* species at filling. Mushroom Sci. 7(Part 2) : 229-240.
- Zadrazil F. 1974. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus comucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. Mushroom Sci. 4(Part 1) : 621-652.
- Zervakis, G. J. Sourdis and B. Constantinos. 1994. Genetic variability and systematics of eleven *Pleurotus* species based on isozyme analysis. Mycology Res. 98(3) : 329-341.