

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

เห็ดคนางรม (oyster mushroom) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex.Fr.) Kummer (Smith,1978) จัดอยู่ในชั้น (Class) Basidiomycetes อันดับ (Order) Agaricales ตระกูล (Family) Tricholomataceae

เห็ดคนางรมที่เพาะเลี้ยงในปัจจุบัน สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ชนิดแรกดอกเห็ดเป็นสีขาวยุโรป เรียก Summer หรือ Florida type อีกชนิดหนึ่งดอกเห็ดเป็นสีเทา หรือเรียก Winter type โดยที่ชนิดดอกสีขาวจะให้ดอกเห็ดที่อุณหภูมิตั้งแต่ 20°C ขึ้นไป โดยไม่จำเป็นต้องได้รับอุณหภูมิต่ำมาก่อน แต่ในชนิดสีเทานั้น การให้อุณหภูมิต่ำจำเป็นต่อการสร้างดอกเห็ด (Kalberer,1974) อุณหภูมิที่กระตุ้นให้มีการสร้างคุ่มดอกเห็ดในชนิดสีขาว คือ 22 - 25°C ในขณะที่ชนิดสีเทาอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 12 - 15°C (Stamets and Chilton,1983) นอกจากนั้นเห็ดคนางรมทั้ง 2 ชนิด ยังแตกต่างกันที่ลักษณะของดอกเห็ดด้วย โดยที่หมวกเห็ดของดอกเห็ดชนิดสีขาว จะมีขนาดเล็กและบางกว่าสีเทา (Kalberer,1974) จากการรายงานของ Zadrazil (1978) ยังพบว่า ดอกเห็ดชนิดสีขาวให้ผลผลิตสูงกว่าในชนิดสีเทา และจากการนำเห็ดทั้ง 2 ชนิดมาผสมพันธุ์กัน (interbreeding) พบว่าสามารถผสมกัน ได้จึงคาดว่าเป็นเห็ดชนิด (species) เดียวกัน (Eger,1978)

*Pleurotus ostreatus* var. Florida บางครั้งเรียกว่า เห็ดคนางรมฮังการี เนื่องจากพบว่ามีการเพาะเลี้ยงกันในแถบยุโรป (ฮังการี) (Stamets and Chilton,1983) เห็ดคนางรมเป็นเห็ดที่ขึ้นทำลายไม้ บางครั้งพบว่าเป็นปรสิต พบทั่วไปในเขตอบอุ่น ดอกเห็ดจะมีก้านดอกติดกับหมวกดอกทางด้านข้าง คล้ายหอย บางครั้งหมวกดอกเห็ดจะห้อยลง (Zadrazil,1978)

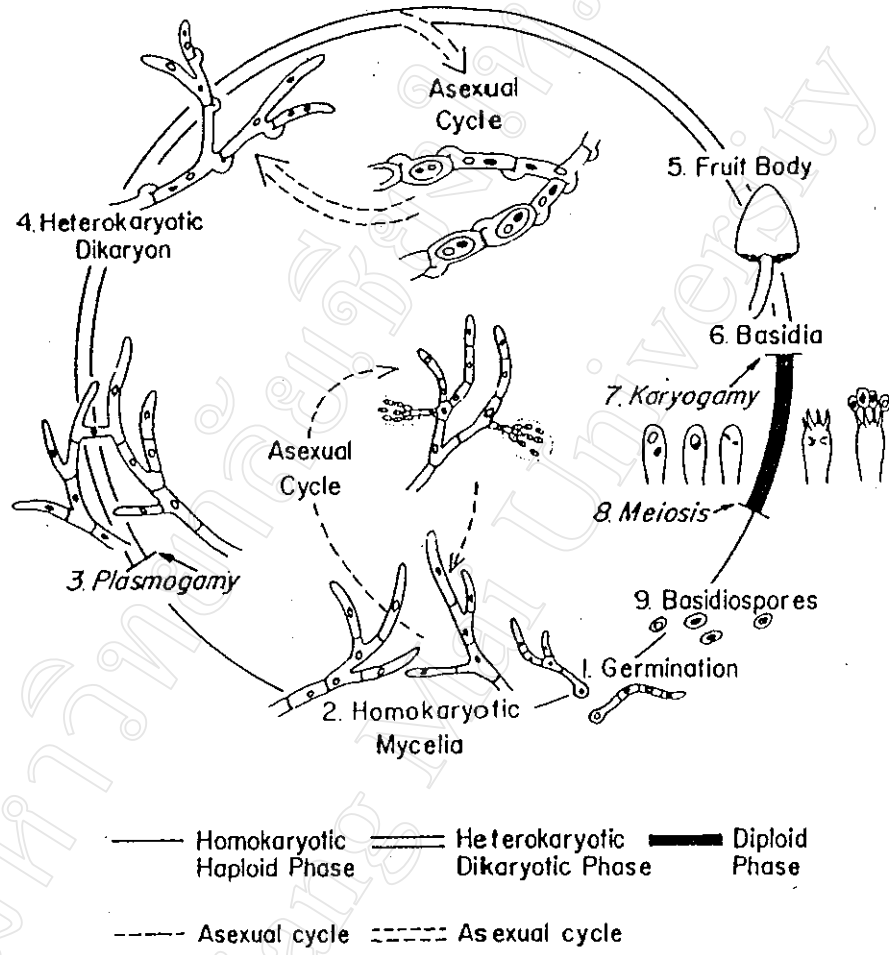
#### 1. ด้ยฐานวิทยา

1.1 ดอกเห็ด เห็ดคนางรมมีรูปร่างคล้ายหอยนางรม จึงมีชื่อว่า oyster mushroom ดอกเห็ดประกอบด้วย หมวกเห็ดที่มีลักษณะแบนราบ กลางหมวกเห็ดมีลักษณะเว้าเป็นแอ่ง ขอบหมวกเห็ดห้อยลง เห็ดที่บานเต็มที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 - 15 ซม มีสีขาวหรือสีเทาก้านดอกสั้น อาจติดอยู่กับดอกเห็ดที่ด้านข้างหรือตรงกลางก็ได้ ดอกเห็ดที่เกิดขึ้นในธรรมชาติมักมีก้านดอกติดอยู่ด้านข้าง ที่โคนก้านดอกบางครั้งพบขนอ่อน ๆ

เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) ลักษณะเป็นรูปไข่ยาว (oblong) ใสไม่มีสี ขนาด 3 - 4 x 8 - 12 ไมครอน สปอร์มีสีขาว

1.2 เส้นใย ลักษณะเส้นใยมีสีขาวทึบ เส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryotic mycelium) มีการสร้างข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) และมีความสามารถในการเชื่อมต่อเส้นใยได้ดี (hyphal fusion) (วสันต์, 2536 ; ศีพร้อม, 2524)

1. วงชีวิตของเห็ด (life cycle)



ภาพที่ 1 แสดงวงจรชีวิตของเห็ดในชั้น Basidiomycetes (ที่มา : Raper, 1978)

เห็ดทุกชนิดจัดเป็นพวก Basidiomycetes การเจริญของเห็ดโดยทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 9 ระยะด้วยกัน ตามภาพที่ 1 คือ

ระยะที่ 1 การงอกของ basidiospore เป็นการเริ่มเกิดการพัฒนา

ระยะที่ 2 เกิดเส้นใย haploid (n) ที่มีนิวเคลียสเหมือนกัน (homokaryotic mycelium) อันมีหลายนิวเคลียส ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน และสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างอิสระ และอย่างไม่มีกำหนดเวลา เส้นใยอาจจะผ่านวงจรการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้าง oidia

(คือสปอร์ที่เกิดจากเส้นใยท่อนสั้น ๆ ที่แตกแขนงออกมา) หรือสร้าง chlamydozoospores (คือสปอร์ที่เกิดจากการม้วนตัวของเซลล์เส้นใย) หรือไม่ผ่านก็ได้

ระยะที่ 3 การผสมระหว่างเส้นใยที่มีนิวเคลียสเป็น haploid ทั้งหมดที่เหมือนกัน (homokaryotic mycelium) ที่สามารถผสมเข้ากันได้ดี (compatible) โดยการหลอมเชื่อมของเส้นใย (plasmogamy) ทำให้เกิดระยะที่ 4

ระยะที่ 4 เส้นใยที่มีความสมบูรณ์เพศ ที่สามารถเกิดดอกเห็ดได้ (fertile mycelium) ปกติจะเป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกันชนิดพิเศษ (specialized heterokaryon) ที่เรียกว่า เส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon) haploid นิวเคลียสทั้งสองจะต้องเข้ากันได้ดีทางเพศ และมีพันธุกรรมต่างกัน โดยในแต่ละเซลล์จะมี haploid นิวเคลียส 1 คู่ตลอดทั้งเส้นใย ตรงบริเวณ septum ปกติจะพบว่ามีส่วนที่โค้งงอเชื่อมอยู่ เรียกว่าข้อยี่ระหว่างเซลล์ เส้นใยนิวเคลียสคู่นี้สามารถขยายพันธุ์ได้อย่างอิสระตลอดไป อาจจะผ่านหรือไม่ผ่านวงจรการขยายพันธุ์ ไม่อาศัยเพศเพื่อผลิต oidia หรือ chlamydozoospore ก็ได้ ถ้ามีการผลิตสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual spore) และมี 1 นิวเคลียส (uninucleate) ก็จะได้เส้นใยที่มีนิวเคลียสเหมือนกัน (homokaryotic mycelia) แต่ถ้าสปอร์ที่เกิดขึ้นแบบไม่อาศัยเพศ มี 2 นิวเคลียส (binucleate) ก็จะได้เส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่ (dikaryon) ภายใต้อสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

ระยะที่ 5 เส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่ก็จะผลิตดอกเห็ด ซึ่งถือว่าเป็นเนื้อเยื่อพิเศษที่เจริญออกมา

ระยะที่ 6 ดอกเห็ด จะสร้าง basidium ที่มีลักษณะเป็นรูปกระบอง ในแต่ละ basidium มีจำนวนโครโมโซมเป็น  $n+n$

ระยะที่ 7 นิวเคลียสทั้งสองภายใน basidium จะรวมตัวกัน มีการแลกเปลี่ยนลักษณะทางพันธุกรรม นิวเคลียสในระยะนี้เรียกว่า diploid nucleus มีจำนวนโครโมโซมเป็น  $2n$

ระยะที่ 8 diploid nucleus มีการแบ่งนิวเคลียสแบบ meiosis ทันที ได้ 4 นิวเคลียส ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็น  $n$  แต่ละอันเคลื่อนที่ไปสู่ปลาย sterigma ที่อยู่บน basidium ต่อมาพัฒนาเป็น basidiospore ซึ่งมีอยู่ 4 อัน

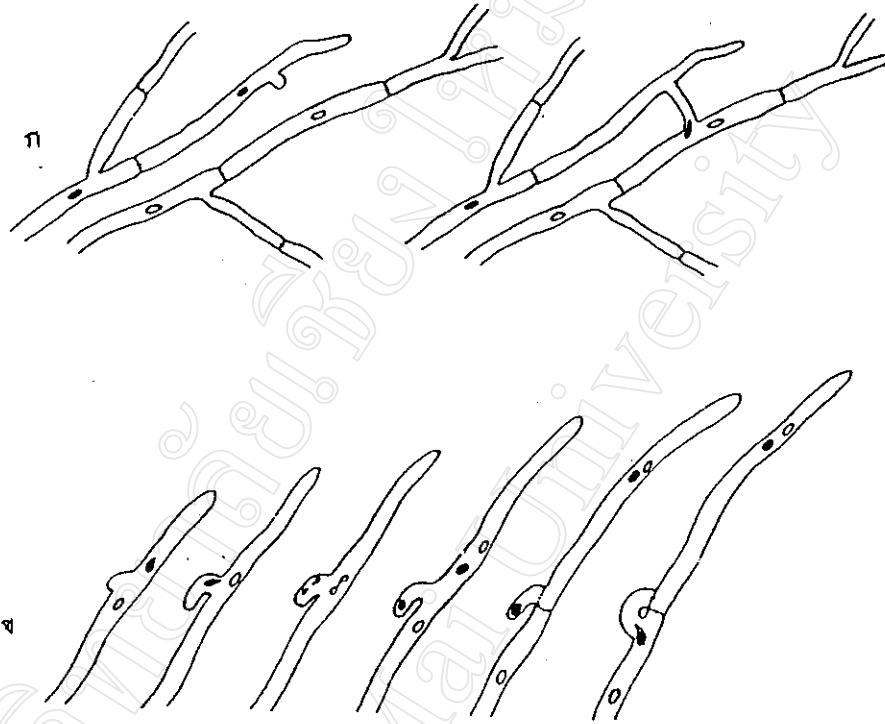
ระยะที่ 9 basidiospore ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น  $n$  จะหลุดออกไป เมื่อตกลงในที่ ๆ มีความชื้นสูงจะงอกให้เส้นใยต่อไป (Raper, 1978)

ในวงจรชีวิต จะมีช่วงที่เกี่ยวข้องกับนิวเคลียสอยู่ 3 ระยะ คือ ระยะที่นิวเคลียสทั้งหมดเป็น haploid ที่เหมือนกัน (homokaryotic haploid phase) ซึ่งเกิดจากการแบ่งตัว แบบไมโอซิส (meiosis) ระยะที่เป็นนิวเคลียสคู่ ที่นิวเคลียสทั้งสองไม่เหมือนกัน เกิดจากการหลอมเชื่อมของเส้นใย (plasmogamy) และระยะที่เป็น diploid ช่วงสั้น ที่เกิดจากการรวมกันของนิวเคลียส (karyogamy)

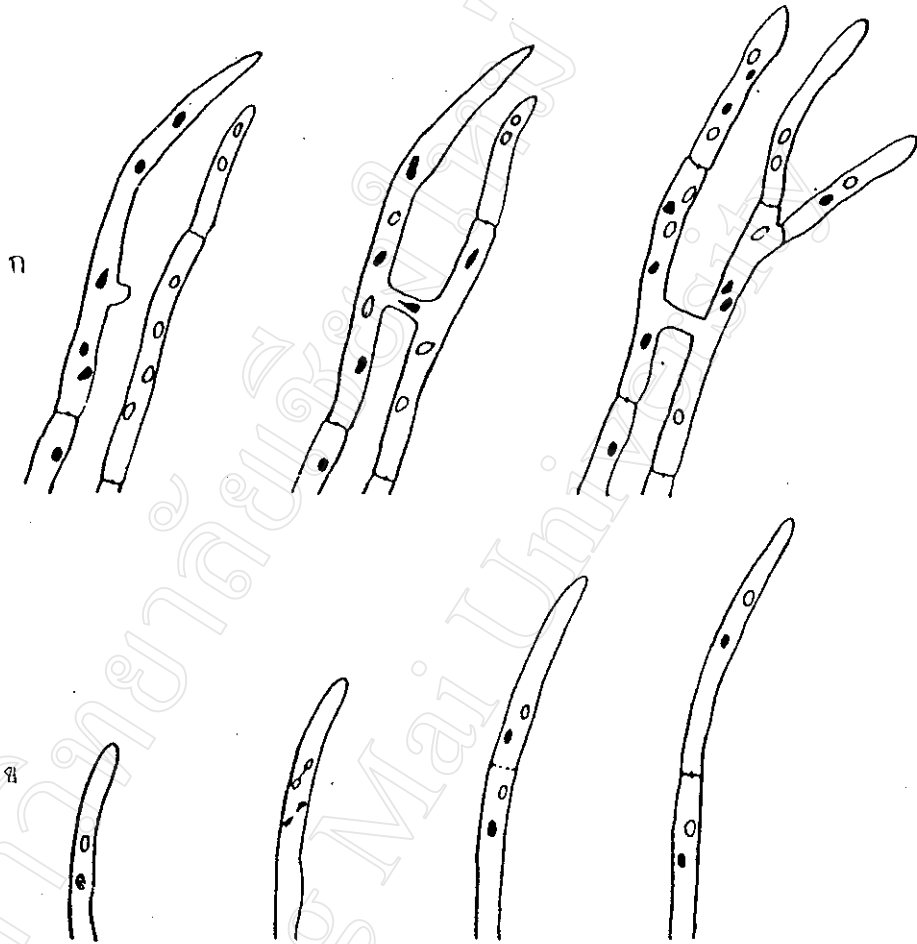
การหลอมเชื่อมกันของเส้นใย (plasmogamy) ที่มีนิวเคลียสทั้งหมดเหมือนกัน และเป็น haploid (homokaryon) เข้าด้วยกัน จะเกิดเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon) เส้นใยที่มีนิวเคลียสทั้ง

หมดเหมือนกัน และเป็น haploid นี้ ปกติจะมีเพียงนิวเคลียสเดียว (uninucleates) ที่รู้จักกัน เป็นเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryon) แต่อาจมีหลายนิวเคลียส (multikaryon) ก็ได้ คือแต่ละเซลล์จะมีนิวเคลียสที่มากทั้งจำนวน และชนิด หลังจากที่หลอมเชื่อมกันระหว่างเส้นใยที่มีนิวเคลียสทั้งหมดเหมือนกัน และเป็น haploid (homokaryon) ซึ่งแต่ละเส้นใยจะมีลักษณะทางพันธุกรรมต่างกัน แต่เข้าคู่กันได้ดี (compatible) นิวเคลียสของกลุ่มผสมทั้งสอง จะเข้าไปอยู่ในไซโตพลาสซึมเดียวกัน (ภาพ 2ก และ 3ก)

ในชั้น Basidiomycetes เกือบทั้งหมด จะมีการแลกเปลี่ยนนิวเคลียสกับเส้นใยที่จับคู่กัน โดยจะเกิดขึ้นตลอดทั้งเส้นใย เกิดเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryotic dikaryon) ในบางชนิด (species) จะไม่พบว่ามีการเคลื่อนที่ของนิวเคลียส เส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon) จะเกิดจากการแบ่งเซลล์ที่เกิดจากเซลล์ของเส้นใยที่หลอมเชื่อมกัน เส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon) นี้ แต่ละนิวเคลียสจะมีพันธุกรรมแตกต่างกัน สามารถเข้าคู่กันได้ จะมี 2 นิวเคลียสต่อ 1 เซลล์ (binucleate cell) นิวเคลียสทั้ง 2 จะได้จากทั้งพ่อ และแม่คู่กันในเซลล์ และจะคงอยู่ตลอดเวลาที่มีการแบ่งเซลล์ โดยจะแบ่งตัวพร้อมกับการแบ่งเซลล์ ตรงส่วนปลาย [synchronous (conjugate) division] หลังจากการแบ่งนิวเคลียสแต่ละครั้งก็จะเกิด septum มากัน นิวเคลียสทั้งสองจะเกิดเป็นเซลล์ใหม่ ตรงส่วนปลายของเส้นใย ปกติในระหว่างนี้ จะเกิดเซลล์ที่มีข้อยึดขึ้น ข้อยึดนี้ต่อมาจะเชื่อมต่อระหว่าง septate ของเซลล์ที่อยู่ปลายสุด กับเซลล์ที่อยู่ถัดมา (ภาพที่ 2ข และ 3ข) การเกิดข้อยึดระหว่างเซลล์จะแสดงในภาพ 2ข แต่ก็ยังเป็นเพียงบางชนิด (species) เท่านั้น เช่นในภาพ 3ข บางครั้งเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกันที่มีความสมบูรณ์เพศ ก็สามารถเกิดดอกเห็ดได้ (fertile heterokaryotic mycelium) จะไม่ใช่เส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่ (dikaryon) แต่จะเป็นเส้นใยที่มีหลายนิวเคลียส (multikaryon) ที่มีหลายนิวเคลียสต่อเซลล์ และไม่อยู่เป็นคู่กันในเซลล์ อย่างไรก็ตาม ในเส้นใยที่สมบูรณ์เพศ ก็สามารถเกิดดอกเห็ดได้ (fertile mycelia) จะต้องมีสภาพที่เป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryotic) ตรงส่วนโคนของ basidia และใน basidia ก่อนเกิด ขบวนการ karyogamy ขึ้น



ภาพที่ 2 แสดงขบวนการจับคู่กันในชั้น Basidiomycetes : (ก) การเกิดการหลอมรวม (plasmogamy) ระหว่างเส้นใยที่มีนิวเคลียสทั้งหมดเหมือนกันที่เป็น haploid (homokaryons) ที่เป็นเส้นใยที่มีเซลล์เป็นแบบนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryotic cell) ที่สามารถผสมเข้าคู่กันได้ดี เกิดเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon), (ข) การแบ่งนิวเคลียสที่เกิดพร้อม ๆ กับ การแบ่งเซลล์ในเส้นใย นิวเคลียสคู่ที่มีข้อยึดระหว่างเซลล์ นิวเคลียสสีดำ และสีขาว แสดงถึงนิวเคลียสที่ต่างกัน ที่สามารถผสมเข้าคู่กันได้ดี (ที่มา : Raper, 1978)



ภาพที่ 3 แสดงการจับคู่กันที่ไม่ปกติในชั้น Basidiomycetes : (ก) เกิดการหลอมรวม (plasmogamy) ระหว่างเซลล์เส้นใยที่มีนิวเคลียสทั้งหมดเหมือนกัน และเป็น haploid (homokaryon) กับเซลล์เส้นใยที่มีหลายนิวเคลียส (multikaryotic cell) เกิดเส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryon), (ข) การแบ่งนิวเคลียสที่เกิดพร้อมกัน การแบ่งเซลล์ในเส้นใยนิวเคลียสคู่ ที่ไม่เกิดข้อยี่ระหว่างเซลล์ นิวเคลียสสีดำ และสีขาว แสดงถึงนิวเคลียสที่ต่างกัน ที่สามารถเข้าคู่กันได้ดี (ที่มา : Raper, 1978)

### 3. รูปแบบการแสดงเพศในเห็ด

รูปแบบการแสดงเพศในเชื้อราชั้นสูงจะมีทั้งพวกที่ผสมตัวเองได้ (self-fertile) และพวกที่ผสมตัวเองไม่ได้ (self-sterile) โดยที่พวกที่ผสมตัวเองได้จะมีเพียง 10% ส่วนใหญ่จะถูกบังคับให้มีการผสมข้าม (cross-mating) เกิดขึ้น และในทุก ๆ กรณีของพวกที่ผสมตัวเองไม่ได้จะถูกควบคุม

ด้วยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเข้าคู่กันไม่ได้ (incompatibility factors) ซึ่งปัจจัยนี้จะเป็นตัวจำกัดรูปแบบในการจับคู่ของคู่ผสม

ใน Series Hymenomyces และ Series Gasteromyces ระบบที่ควบคุมการผสมเข้ากันไม่ได้ จะมีอยู่ 2 ปัจจัย คือ ระบบปัจจัยเดี่ยว (bipolar หรือ unifactorial incompatibility) และระบบปัจจัยคู่ (tetrapolar หรือ bifactorial incompatibility) โดยที่ 25 % ใน Series นี้ ถูกควบคุมด้วยระบบปัจจัยเดี่ยว และอีก 65 % จะถูกควบคุมด้วยระบบปัจจัยคู่

ในทั้งระบบปัจจัยเดี่ยวและระบบปัจจัยคู่ การผสมเข้ากันไม่ได้จะแสดงผลเฉพาะระหว่างโครโมโซมที่เป็น haploid (n) เท่านั้น ดังนั้นในระบบปัจจัยเดี่ยว การผสมข้ามระหว่างเครือญาติ (sibling) จะมีโอกาสเกิดขึ้นได้ 50 % ในขณะที่ระบบปัจจัยคู่จะมีโอกาสเกิดได้ 25 % (Raper, 1966) รายละเอียดของทั้ง 2 ระบบ มีดังนี้

3.1 ระบบที่ผสมตัวเองไม่ได้ (Heterothallism) เส้นใยที่สามารถเจริญเติบโตเป็นดอกเห็ดได้นั้น จะต้องเจริญมาจากสปอร์ที่มีคู่ยีนในนิวเคลียสที่มีพันธุกรรมต่างกัน โดยมีปัจจัยควบคุมอยู่ 2 ปัจจัย คือ

3.1.1 ระบบปัจจัยเดี่ยว (unifactorial system) เป็นระบบที่ลักษณะการแสดงออกของเพศ ควบคุมด้วยปัจจัยทางพันธุกรรมเพียงปัจจัยเดี่ยว คือ ปัจจัย A โดยจะมีคู่ยีน (allele) อีกจำนวนมาก บางครั้งก็เรียกว่า bipolar ปัจจัย A จะควบคุมความสามารถในการผสมเข้ากันได้ของคู่ยีน โดยในการเข้าคู่กันของยีนจะต้องมีปัจจัย A ที่ต่างกัน ( $A \neq$ ) คือจะมีการแลกเปลี่ยนนิวเคลียส โดยนิวเคลียสจากเส้นใยหนึ่ง จะเข้าไปอยู่ในอีกเส้นใยหนึ่ง แล้วแพร่กระจายไปทั่วเส้นใย เกิดเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ ที่มีข้อขัดระหว่างเซลล์ขึ้น (ข้อขัดจริง) ซึ่งรวมถึงการแลกเปลี่ยนปัจจัย A ระหว่างเส้นใยด้วย การสร้างเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่จะทำให้เกิดข้อขัดระหว่างเซลล์ขึ้น และในที่สุดก็จะพัฒนาเป็นดอกเห็ดบนเส้นใยนี้

ในการจับคู่ระหว่างคู่ยีนที่ต่างกัน เช่น A1 และ A2 จะมีการกระจายตัวในอัตราส่วน 1:1 ปกติใน basidium จะมี 4 สปอร์ ซึ่ง 2 สปอร์จะเป็นคู่ยีนที่มีปัจจัย A1 และอีก 2 สปอร์จะมีคู่ยีนที่มีปัจจัย A2 ดังนั้นเส้นใยที่พัฒนาจาก 4 สปอร์ซึ่งประกอบด้วยคู่ยีน 2 กลุ่มที่เข้าคู่กันได้ ดังแสดงในตารางที่ 1 ตัวอย่างเห็ดที่พบในกลุ่มนี้ คือ *Agaricus bitorquis*, *Pholiota nameko* และ *Auricularia auricula*

ตารางที่ 1 แสดงรูปแบบของ bipolar ในระบบที่ผสมตัวเองไม่ได้ แบบปัจจัยเดียว

| รูปแบบการผสม | A1 | A1 | A2 | A2 |
|--------------|----|----|----|----|
| A1           | -  | -  | +  | +  |
| A1           | -  | -  | +  | +  |
| A2           | +  | +  | -  | -  |
| A2           | +  | +  | -  | -  |

— แสดง การผสมเข้ากัน ไม่ได้ และ ไม่มีปฏิกริยาร่วมต่อกัน

+ แสดงการผสมเข้ากันได้ และเกิดปฏิกริยาร่วมต่อกันอย่างสมบูรณ์ ในการผลิต  
เส้นใย นิวเคลียสคู่ ที่มีความสมบูรณ์ทางเพศ ที่มีข้อขัดระหว่างเซลล์

จากตารางจะพบว่า คู่ยีนที่มีการผสมตัวเองจะ ไม่สามารถผสมเข้าคู่กันได้ดีเลย ในขณะที่  
การผสมข้ามระหว่างกลุ่มสามารถผสมเข้าคู่กันได้ดีทุกคู่ (Raper,1978)

3.1.2 ระบบปัจจัยคู่ (bifactorial system) เป็นระบบที่การแสดงออกของ  
เพศที่ควบคุมด้วยปัจจัยทางพันธุกรรม 2 ปัจจัย ซึ่ง ไม่ได้เชื่อมโยงกัน คือ ปัจจัย A และปัจจัย B แต่  
ละปัจจัยจะมีคู่ยีนอีกจำนวนมาก บางครั้งก็เรียกว่า tetrapolar

การผสมพันธุ์จะประสบผลสำเร็จเมื่อนิวเคลียสของเส้นใยทั้งสองเส้นใย พาเอาคู่ยีนที่ต่าง  
กันมาจับคู่กัน หรือผสมข้ามเพื่อให้เกิดข้อขัดระหว่างเซลล์ขึ้น และในที่สุดก็จะเกิดดอกเห็ดบนเส้น  
ใยที่มีนิวเคลียสคู่ ในระบบปัจจัยคู่นี้ ปัจจัย A และปัจจัย B จะควบคุมลักษณะที่แตกต่างกัน โดย  
ปัจจัย A จะควบคุมการจับคู่กันของนิวเคลียส (nuclear pairing) และการสร้างข้อขัดระหว่างเซลล์  
ส่วนในปัจจัย B จะควบคุมการเคลื่อนย้ายนิวเคลียส (nuclear migration) และการเชื่อมข้อขัด  
ระหว่างเซลล์ (clamp fusion)

การที่มีปัจจัย A แตกต่างกัน แต่ปัจจัย B เหมือนกัน ( $A \neq B =$ ) จะทำให้มีการผสมกันได้  
เพียงครึ่งเดียว หรือเรียกว่า hemicompatible ซึ่งจะไม่ทำให้มีการเคลื่อนย้ายนิวเคลียสเกิดขึ้น ผลก็  
คือเกิดเส้นใยที่นิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) โดยเซลล์ปลาย จะเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ แต่เซลล์ที่  
อยู่ถัดลงมา จะยังคงเป็นนิวเคลียสเดี่ยว และมีข้อขัดหลอก (ข้อขัดระหว่างเซลล์จะไม่หลอมเชื่อม  
กับเซลล์ที่อยู่ถัดลงมา ดังนั้นในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้ง จะยังมีนิวเคลียสคู่ไว้ตรงนี้หนึ่งตัว) กรณีที่  
ปัจจัย A เหมือนกัน แต่ปัจจัย B แตกต่างกัน ( $A = B \neq$ ) ก็เรียกว่า hemicompatible เช่นกัน คือมี  
การเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส และเกิดเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) อันประกอบด้วย  
เซลล์ที่มีนิวเคลียสหลายตัว (multikaryon) มี septa แบ่งกันเซลล์ แต่ไม่มีข้อขัดระหว่างเซลล์ การที่  
 $A = B \neq$  เป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) ก็เพราะมีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส



ได้อย่างไม่จำกัด และเกิดขึ้นตลอดเส้นใยของทั้งคู่ที่ผสมกัน บางครั้งก็อาจบอกความแตกต่าง จาก heterokaryon และ homokaryon อื่น ได้จากการที่เส้นใยไม่ค่อขฟู คือมักจะแบนราบ (flat) หยด ชะงักการเจริญ และเติบโตช้า การเติบโตผิดปกติ

ในกรณีที่มีคู่ยีนต่างกันทั้งสองปัจจัย ( $A \neq B \neq$ ) นั้น จะสามารถผสมเข้าคู่กันได้ดี (fully compatibility) และทำให้เกิดเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่ไม่มีข้อจำกัดในความสมบูรณ์ในการผสมเข้ากันได้ และมีข้อขัดระหว่างเซลล์ที่แท้จริง

ปัจจัย A และ B ไม่มีการเชื่อมโยงกันแต่จะกระจายตัวอย่างอิสระจากกัน ในอัตราส่วน 1:1:1:1 เช่น ในการผสมข้ามระหว่าง A1B1 x A2B2 สปอร์ทั้ง 4 ใน basidium อาจสร้าง tetrad ของทั้ง 4 คือ A1B1, A1B2, A2B1 และ A2B2 เส้นใยจะพัฒนามาจากการจับคู่กันของ 4 กลุ่มนี้ ดัง ในตารางที่ 2 ตัวอย่างของเห็ดที่พบในกลุ่มนี้ คือ *Auricularia polytricha*, *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes*, *Pleurotus ostreatus* และ *Coprinus fimetarius*

ตารางที่ 2 แสดงรูปแบบของ tetrapolar ในระบบที่ผสมตัวเองไม่ได้ แบบระบบปัจจัยคู่

| รูปแบบการผสม | A1B1 | A1B2 | A2B1 | A2B2 |
|--------------|------|------|------|------|
| A1B1         | -    | F    | (+)  | +    |
| A1B2         | F    | -    | +    | (+)  |
| A2B1         | (+)  | +    | -    | F    |
| A2B2         | +    | (+)  | F    | -    |

- แสดง การผสมที่ไม่สามารถผสมเข้ากันได้เลย

+ แสดง การผสมที่สามารถผสมเข้ากันได้สมบูรณ์ เกิดเส้นใยนิวเคลียสคู่ ที่มีข้อขัดระหว่างเซลล์เกิดขึ้นสมบูรณ์ สามารถให้ดอกเห็ดได้

(+) แสดง การผสมเข้ากันได้เพียงครึ่งเดียว เกิดเส้นใยที่มีนิวเคลียสเดี่ยวเป็นส่วนใหญ่ และการสร้างข้อขัดระหว่างเซลล์เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ สร้างดอกเห็ดไม่ได้

F แสดง การผสมเข้าคู่กันได้เพียงครึ่งเดียว เกิดเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกันชนิดที่มีหลายนิวเคลียสขึ้น (multikaryotic heterokaryon) และไม่เกิดการสร้างข้อขัดระหว่างเซลล์ สร้างดอกเห็ดไม่ได้ (Raper, 1978)

3.2 ระบบที่ผสมตัวเองได้ (Homothallism) เป็นลักษณะของการรวมตัวกันของเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์เดียวกัน แล้วสามารถพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้โดยไม่ต้องรวมตัวกับเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์อื่น homothallism ยังแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

3.2.1 primary homothallism พวกนี้จะไม่มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่เข้าคู่กันได้ เส้นใยที่สามารถผสมตัวเองได้ จะพัฒนาจากสปอร์เดี่ยวที่มีนิวเคลียสเดี่ยว เส้นใยที่ผสมตัวเองนี้จะมีนิวเคลียสที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน (homokaryotic) ซึ่งอาจเป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่ที่จะมีข้อขัดระหว่างเซลล์หรือไม่ก็ได้ ที่พบบ่อย คือเป็นเส้นใยที่มีหลายนิวเคลียส ที่ไม่มีข้อขัดระหว่างเซลล์ การรวมกันของนิวเคลียส (karyogamy) และการแบ่งเซลล์แบบ meiosis จะเกิดขึ้นใน basidia ของดอกเห็ด แต่จะไม่พบช่วงที่เส้นใยมีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryotic phase) อยู่ในวงจรชีวิตเลย ดังนั้นจึงไม่เกิดการกระจายตัวและการรวมกันของ genomes ต่าง ๆ เลย อย่างไรก็ตาม บางครั้งอาจเกิดการรวมตัว และกระจายตัวของ genomes ที่ต่างกันได้ ถ้านิวเคลียสตัวใดตัวหนึ่งเกิดการกลายพันธุ์ไป ตัวอย่างของเห็ดที่พบในกลุ่มนี้ คือ *Volvariella volvacea* (Raper, 1978)

3.2.2 secondary homothallism มีลักษณะที่แตกต่างจากที่กล่าวมาแล้ว คือจะเกี่ยวข้องกับปัจจัยที่เข้าคู่กันไม่ได้ ซึ่งขึ้นกับการกระจายตัวของนิวเคลียสอยู่ด้วย ในกรณีนี้แต่ละ basidia จะมีเพียง 2 สปอร์ โดยนิวเคลียสที่แบ่งตัวแบบ meiosis แล้ว และสามารถเข้าคู่กันได้ ดี จะเข้าไปในแต่ละ basidiospore เส้นใยที่งอกจากสปอร์เดี่ยวที่ได้ จะมีความสมบูรณ์เพศด้วยตัวเอง จะมีคู่ยีนที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่เข้าคู่กันไม่ได้ที่ต่างกัน เส้นใยที่เข้าคู่กันไม่ได้นี้ จะมี haploid นิวเคลียสที่ต่างกัน (heterokaryon) คือชนิดของนิวเคลียสต่างกัน ปกติเส้นใยจะเป็นแบบมีนิวเคลียสคู่ ที่มีข้อขัดระหว่างเซลล์ หรือไม่ก็ได้ หรืออาจเป็นแบบมีหลายนิวเคลียส ที่ไม่มีข้อขัดระหว่างเซลล์ก็ได้เช่นกัน วงชีวิตของเส้นใยแบบนี้ จะไม่มีช่วงที่มีนิวเคลียสเหมือนกัน (homokaryotic phase) อยู่เลย เส้นใยนี้อาจถูกควบคุมด้วยยีนเดี่ยวหรือยีนคู่ก็ได้ และการทำงานของมันก็แตกต่างไปจากในระบบที่ผสมข้าม เนื่องจากนิวเคลียสที่เกิดขึ้นหลังการแบ่งตัวแบบ meiosis แล้ว จะกระจายใน basidiospores ในที่สุด (Raper, 1966)

#### 4. การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนั้นจะถูกควบคุมโดยพันธุกรรมของสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน หรือที่สามารถรวมกันได้ งานปรับปรุงพันธุ์ในเชื้อราชั้นสูง เช่น เห็ดนั้น จำเป็นต้องทราบ sexual interaction ระหว่างสายพันธุ์เห็ดที่นำมาจับคู่กัน, ทราบความสามารถเกิดดอกเห็ด, ทราบระยะ meiosis และความมีชีวิตของสปอร์ ประสิทธิภาพของงานปรับปรุงพันธุ์ขึ้นอยู่กับลักษณะหลายประการ คือ

- 4.1 รูปแบบการแสดงเพศ ควรเป็นแบบที่ผสมตัวเองไม่ได้
- 4.2 มีวงจรชีวิตที่สั้น และมีช่วงที่มีนิวเคลียสเดี่ยว (haploid) เด่น สามารถเพาะเลี้ยงได้ภายในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม
- 4.3 ให้จำนวนสปอร์มาก และสปอร์นั้นสามารถงอกได้อย่างรวดเร็ว

#### 4.4 เพาะเลี้ยงได้ง่าย

4.5 สามารถสังเกต sexual interaction ในเส้นใยที่สมบูรณ์เพศ (fertile) ได้ง่าย และในวงจรชีวิตเห็ดช่วงที่เป็นระยะ vegetative สามารถนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์โดยวิธีปลอดเชื้อได้

เห็ดที่จะนำมาใช้ ควรมีการปรับตัวได้ดีในธรรมชาติ และมีฐานพันธุกรรมกว้างเพื่อที่จะได้มีลักษณะให้เลือกมากพอสำหรับใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ (Raper, 1978)

### 5. วิธีการที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

#### 5.1 การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการคัดเลือกพันธุ์ (by selection)

ในทางการค้าจะคัดเลือกพันธุ์ใหม่จาก การเพาะเลี้ยง multispore หรือจากการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยว หรือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดที่คัดเลือกไว้โดยตรง ซึ่งวิธีเหล่านี้จะใช้ระยะเวลาสั้น ๆ ในการปรับปรุงสายพันธุ์เห็ด แต่การปรับปรุงทางพันธุกรรมจากวิธีการคัดเลือกพันธุ์นี้ จะทำได้ยากมาก ดังนั้นจึงควรจะมีการผสมพันธุ์ก่อน แล้วจึงใช้วิธีการคัดเลือกพันธุ์ต่อไป

#### 5.2 การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมพันธุ์ (by hybridization)

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีนี้ เป็นวิธีที่ทำกันมานาน โดยจะให้มีการผสมข้ามระหว่างเห็ดสองสายพันธุ์ ที่สามารถเข้าคู่กันได้ ให้เส้นใยที่มี 2 นิวเคลียส และเกิดเป็นดอกเห็ดในที่สุด ซึ่งจะประสบความสำเร็จมากในงานปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่กินได้หลายชนิด ทำได้หลายวิธี ดังนี้

##### 5.2.1 โดยใช้เชื้อที่กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิด (use of auxotrophs)

เชื้อที่กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิด (auxotrophs) ที่เกิดจากธรรมชาติ หรือเกิดจากการชักนำโดยสารที่ทำให้กลายพันธุ์ (mutagenesis) ที่แตกต่างกัน 2 ชนิดจะนำมาผสมกัน แล้วทำการคัดเลือกโดยการเพาะเลี้ยงบน minimal medium การใช้วิธีนี้ขึ้นอยู่กับเชื้อที่กลายพันธุ์ไปที่จะนำมาใช้ว่าจะสามารถให้เห็ดสายพันธุ์ใหม่ได้หรือไม่

##### 5.2.2 โดยใช้ resistance markers

ในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดนั้น อาจใช้สายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อ antimetabolites แทนการใช้เชื้อที่ถูกทำให้กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิดได้ การที่ทำให้สปอร์ หรือบางส่วนของเส้นใยเห็ด เติบโตบนอาหารที่มี antimetabolites จะทำให้ได้ marker ขึ้น นำสายพันธุ์ต้านทาน 2 สายพันธุ์ มีความต้านทานต่อ antimetabolites ที่ต่างกันมาผสมกัน ลูกผสมที่เกิดขึ้นก็จะมีมีความต้านทานต่อ antimetabolites ทั้ง 2 ชนิดด้วยเช่นกัน

### 5.2.3 โดยใช้ protoplast fusion

สิ่งที่เป็นอุปสรรคอย่างหนึ่งต่อการผลิตเห็ด คือการที่เส้นใยจาก 2 สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ไม่สามารถผสมเข้ากันได้ ปัจจุบันมีรายงานว่า สามารถแยก protoplast จากพืษและเซลล์จุลินทรีย์ โดยใช้เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ แล้วทำให้โปรโตพลาสมาวมกันในช่วงเวลาสั้น ๆ protoplast จะสร้างผนังเซลล์ใหม่ และเริ่มสร้างเซลล์ปกติ หรือสร้างเส้นใยขึ้น เซลล์เหล่านี้เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสต่างกัน ถ้าการรวมกันเกิดขึ้นระหว่างเซลล์ ที่มาจากสายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมต่างกัน จะทำให้เพิ่มความถี่ของการผสมเข้ากันได้ให้มากขึ้น ซึ่งการจับคู่ในลักษณะนี้ในธรรมชาติเกิดขึ้นได้ยากมาก เทคนิคนี้สามารถใช้ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งในการผสมข้ามระหว่างชนิด (species) และระหว่างสกุล (Genus) ซึ่งวิธีปกติไม่สามารถทำได้ ถึงแม้ยังไม่มีรายงานว่าสามารถใช้วิธี protoplast fusion ในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดกินได้ แต่ในหลาย ๆ การทดลองคาดว่าน่าจะมีการนำมาใช้ต่อไป (Chang, 1982)

## 6. วิธีการที่ใช้การปรับปรุงพันธุ์ในเห็ดบางชนิด

สิ่งที่สำคัญที่สุดในการปรับปรุงพันธุ์ไม่ว่าจะใช้วิธีใดก็ตาม คือต้องทำด้วยความสะอาด และทำในสภาพปลอดเชื้อเท่านั้น

### 6.1 การคัดเลือกสปอร์เดี่ยว (monospore หรือ single spore selection) ในเห็ด

#### *Agaricus bisporus* และ *Volvariella volvacea*

เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยง multispore แล้ว วิธีการเลี้ยงสปอร์เดี่ยวจะสามารถคัดเลือกพันธุ์ใหม่ที่ดีกว่า เนื่องจากให้ลักษณะที่หลากหลายมากกว่า เช่น อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใย, รูปทรงของดอกเห็ด และการให้ผลผลิต จากการคัดเลือกสายพันธุ์ใหม่ของ *Agaricus bisporus* ด้วยวิธีการคัดเลือก พบว่าปัจจัยต่าง ๆ ที่สามารถถ่ายทอดได้จะคัดได้ จากการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยว มากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแบบ multispore

ในการเตรียมการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยวของ *Agaricus sp.* ดอกเห็ดจะต้องยังไม่บานเต็มที่ที่มีเยื่อบาง ๆ ปิดครีบทึบอยู่ นำดอกเห็ดนำมาทำความสะอาด และวางบนกระดาษกรอง ที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยง ซึ่งทั้งสองผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำปีกเกอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาครอบไว้ เมื่อเชื้อที่หุ้มครีบทึบอยู่ฝักขาดจะปล่อยสปอร์ให้ตกลงบนกระดาษกรอง สิ่งที่ได้บนกระดาษกรอง เรียกว่า พิมพ์สปอร์ (spore print) นำไปเก็บในตู้เย็นเพื่อรอการนำไปใช้ต่อไป

ในกรณีของ *Volvariella volvacea* และ *Pleurotus sp.* ดอกเห็ดที่ใช้ในการดักสปอร์ต้องเป็นเห็ดที่เพิ่งบานใหม่ ๆ พิมพ์สปอร์ของ *Volvariella volvacea* ควรเก็บในอุณหภูมิห้อง เพราะอุณหภูมิต่ำจะทำให้การงอกของสปอร์ลดลง

เมื่อต้องการนำพิมพ์สปอร์มาใช้ ให้ตัดกระดาษเป็นแถบยาวใส่ลงในน้ำกลั่น ทำให้ความเข้มข้นของสปอร์ลดลง เมื่อได้แล้วนำสารแขวนลอยสปอร์ 0.1 ml ใส่ลงในจานอาหารวุ้น ทิ้งไว้ 5-7 วัน สปอร์จะเริ่มงอก นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แยกสปอร์เดี่ยวไปเลี้ยงบนอาหารใหม่

อีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยว คือการใช้เข็มเขี่ย หรือคีม (forceps) ที่ปลอดเชื้อตัดเนื้อเยื่อจากครีบบนอาหารวุ้น ประมาณ 5-10 วินาทีแล้วย้ายชิ้นเนื้อเยื่อไปยังอาหารวุ้นใหม่ทำเช่นนี้อีก 2 ครั้งปิดฝาจานทิ้งไว้ 48 ชม เมื่อสปอร์งอก แยกสปอร์เดี่ยวไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ หลังจากนั้น 2-3 สัปดาห์จะสามารถคัดเลือกครั้งแรกได้ โดยสังเกตจากการเจริญเติบโตของเส้นใย เส้นใยที่เจริญเติบโตช้า แน่น (appressed type) หรือฟูเป็นปุย (fluffy) มักจะให้ผลผลิตต่ำ จากนั้นนำไปทดสอบทางด้านผลผลิต และคุณภาพของเห็ดต่อไป

### 6.2 การคัดเลือกจากการเพาะเลี้ยง multispore

การเตรียมการเพาะเลี้ยง multispore, การทำสารละลายสปอร์, การเก็บสปอร์ทำเช่นเดียวกับในหัวข้อ 6.1 แต่จะนำสารละลายสปอร์มาเทลงในอาหารวุ้นที่ยังไม่แข็งตัวทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัวประมาณ 3 - 5 วันเส้นใยจะเริ่มเจริญบนผิวอาหารวุ้น อีกวิธีหนึ่งที่ใช้ คือจุ่มเข็มเขี่ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงในน้ำกลั่น ให้ตรงปลายเข็มจุ่ม นำไปแตะบนพิมพ์สปอร์ หรือในสารละลายสปอร์ นำเข็มไปลากบนผิวอาหารวุ้นใหม่ หลังจากนั้น 1 สัปดาห์จะสามารถทำการคัดเลือกครั้งแรกได้

### 6.3 การผสมข้าม (cross-breeding)

การผสมข้ามจะทำในเส้นใย ที่มีนิวเคลียสเหมือนกัน ในกลุ่มที่ผสมตัวเองไม่ได้ เช่น *Agaricus bitorquis*, *Lentinula edodes* และ *Pleurotus spp.* เส้นใยที่มีนิวเคลียสเหมือนกัน 2 ชนิด หรือสปอร์เดี่ยว 2 อัน ที่นำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นเดียวกันและปล่อยให้มีการเดินมาชนกัน ถ้าเส้นใยที่มีนิวเคลียสเหมือนกันนั้นสามารถผสมเข้ากันได้จะเกิดเป็นเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกันขึ้นสังเกตได้ว่าเส้นใยจะหนา เป็นปุย (fluffy) และเป็นเส้น (stringy) ในขณะที่ถ้าไม่สามารถผสมเข้ากันได้ เส้นใยจะบาง และเติบโตช้า เส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกันจะสร้างข้อขัดระหว่างเซลล์ขึ้น ลูกผสมที่ได้จะเจริญเติบโต และพัฒนาต่อไปจนเป็นดอกเห็ด ทำการคัดเลือกอีกครั้งหนึ่งโดยพิจารณาจากการให้ผลผลิต การให้ดอกเห็ดเร็ว และคุณภาพของดอกเห็ดประกอบ (FAO, 1990)

## 7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงพันธุ์เห็ด

### 7.1 การคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทาน (selection of resistant strains)

การทดลองนี้สามารถคัดเลือกให้ได้สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมี และ/หรือ ทนต่ออุณหภูมิได้ โดยการเพาะเลี้ยงสปอร์บนอาหารวุ้นหรือวัสดุเพาะอื่น ๆ ที่เพิ่มความเข้มข้นของสารเคมีบางชนิดเป็นพิเศษ หรือการนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิสูงกว่าปกติ สปอร์ส่วนใหญ่ ประมาณ 90 - 99.9 % จะไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ สปอร์ที่งอกขึ้นมาได้ จะถูกย้ายไปเลี้ยงบน

อาหารใหม่ และสังเกตการเจริญเติบโตของเส้นใย ถ้าเป็นที่พอใจจะนำไปผสมพันธุ์กับสายพันธุ์อื่นที่มีความต้านทานต่างกัน ซึ่งได้มาจากวิธีการเดียวกัน แล้วนำไปทดสอบความสามารถในการออกดอก สปอร์ที่ได้จากดอกเห็ดที่นำมาทดสอบที่ไม่เป็นหมัน สามารถนำมาผ่านขั้นตอนการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานได้อีกครั้งหนึ่ง โดยจะเพิ่มระดับของสารเคมี หรือระดับของอุณหภูมิขึ้นอีกก็ได้

อีกวิธีหนึ่งที่จะให้ได้มาซึ่งพันธุ์ต้านทาน คือการนำสปอร์ของเห็ด, สปอร์ที่กำลังมีการงอกหรือบางส่วนของเส้นใยเห็ด มาฉายรังสีอัลตราไวโอเลต หรือให้สารที่มีการชักนำให้มีการกลายพันธุ์ก็ได้ (Eger, 1978)

#### 7.2 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ให้ดอกเห็ดที่อุณหภูมิสูง

เห็ดที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิชนิดหนึ่ง คือเห็ด *Pleurotus ostreatus* ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้เห็ดที่มาจากถิ่นกำเนิดที่ต่างกัน คือจากเยอรมัน (German) และจากอเมริกา (American) ทำการทดลองโดยให้สายพันธุ์ที่มาจากเยอรมันเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิ และพันธุ์ที่มาจากอเมริกาเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ที่ไม่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ เมื่อนำทั้ง 2 สายพันธุ์มาผสมกัน พบว่าในช่วงที่มีการสร้าง primordia จะไม่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิ แต่ในช่วงการพัฒนาดอกเห็ดจะมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ให้ การตอบสนองต่ออุณหภูมินั้นจะสังเกตได้ว่า หมวกดอกเห็ด (pileus) จะแผ่ขยายออก มีการผลิต basidiospore อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิสูงกว่า 20°C จึงสรุปว่า *Pleurotus ostreatus* มียีนหลายตัวในการควบคุมลักษณะต่าง ๆ เช่นเดียวกับในเห็ด *Coprinus macrorhizus* และน่าจะมียีนอย่างน้อยที่สุด 2 ตัวที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ และจะแสดงผลเมื่อให้อุณหภูมิสูงควบคู่ไปกับการให้แสงสว่าง (Eger, 1978)

#### 7.3 การปรับปรุงพันธุ์เห็ดเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีสปอร์น้อย

สายพันธุ์ให้สปอร์น้อยที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ คือ "F42 x 11" ซึ่งลักษณะที่มีสปอร์น้อยเป็นลักษณะเด่นในการผสมแบบ di-mon-mating (Eger et al, 1976) ใน *Pleurotus ostreatus* พบว่ามียีนอย่างน้อย 1 คู่ที่ตอบสนองต่อการผลิตสปอร์ (Eger, 1978)

อีกวิธีหนึ่งที่จะให้ได้สายพันธุ์ที่มีสปอร์น้อย คือการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้น เช่น จากการทดลองของ Imbernorn, M และ Labarere, J (1987) พบว่า การฉายรังสีอัลตราไวโอเลตให้กับสปอร์ของเห็ด *Pleurotus* สองชนิดคือ *P. ostreatus* และ *P. pulmonarius* ทำให้ได้สายพันธุ์ไม่ผลิตสปอร์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ (sporeless mutant) และสายพันธุ์สปอร์น้อย ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ (poorly - spored mutant) ซึ่งจะผลิตสปอร์น้อยลง

#### 7.4 การผสมพันธุ์เห็ดหอม (*Lentinus edodes*) ระหว่างสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในประเทศญี่ปุ่นและสายพันธุ์ป่าจากประเทศไต้หวันและนิวกินี

จากการทดลองผสมพันธุ์เห็ดหอมระหว่างสายพันธุ์ป่ากับสายพันธุ์ที่ใช้เพาะเลี้ยง พบว่า สายพันธุ์ป่าที่นำมาจากประเทศปาปัวนิวกินี (Papua New Guinea) และไต้หวัน (Taiwan)

สามารถผสมกับเห็ดหอมที่ใช้เพาะเลี้ยงทั่วไปในประเทศญี่ปุ่นได้ และลูกผสมที่ได้ทั้งหมดไม่เป็นหมัน จึงถือว่าจัดอยู่ในชนิด (species) เดียวกัน คือ *Lentinus edodes* สายพันธุ์ป่าที่ได้จากนิวกินีและไต้หวัน จะแตกต่างกับพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในประเทศญี่ปุ่นในด้านลักษณะทางกายภาพ และสัณฐานวิทยา ลูกผสมที่ได้จะถูกนำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์จากญี่ปุ่นในด้านการเจริญเติบโตของเส้นใยและการออกดอก (Mori *et al.*, 1974)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University