สัณฐานวิทยาและระบบเพศของเห็ดกินได้บางชนิดในสกุล *Lentinus*

MORPHOLOGY AND MATING SYSTEM OF SOME EDIBLE SPECIES OF THE MUSHROOM, GENUS *LENTINUS*

จันทิมาภรณ์ นววงศ์วิวัฒน์

JANTHIMAPHORN NAWAWONGWIWAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9708-41-5

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สัณฐานวิทยาและระบบเพศของเห็ดกินได้บางชนิดในสกุล *Lentinus*

MORPHOLOGY AND MATING SYSTEM OF SOME EDIBLE SPECIES OF THE MUSHROOM, GENUS *LENTINUS*

จันทิมาภรณ์ นววงศ์วิวัฒน์

JANTHIMAPHORN NAWAWONGWIWAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9708-41-5

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 51664
วัน,เดือน,ปี 26 ก.ค. 2547

b.....
i.....

MORPHOLOGY AND MATING SYSTEM OF SOME EDIBLE SPECIES OF THE MUSHROOM, GENUS *LENTINUS*

JANTHIMAPHORN NAWAWONGWIWAT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2004

ISBN 974-9708-41-5

COPYRIGHT 2004

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ สัณฐานวิทยาและระบบเพศของเห็ดกินได้บางชนิดในสกุล *Lentinus*

MORPHOLOGY AND MATING SYSTEM OF SOME EDIBLE SPECIES OF THE MUSHROOM, GENUS *LENTINUS*

ชื่อนักศึกษา นางสาวจันทิมาภรณ์ นววงศ์วิวัฒน์

รหัสประจำตัว 43065210

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.มาลินี	ตันติยาภรณ์	
ดร.สรัญญา	พันธุ์พฤกษ์	
อาจารย์อัญชลี	เชียงกูล	
รศ.ดร.พรรณี	ฐิตาภิชิต	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 12 พฤษภาคม 2547 เวลา 13.00-16.00 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬาภรณวลัยลักษณ์ 1 ชั้น 4 ห้อง 424

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ.ดร.จารุวัตร เจริญสุข)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 25 **เดือน** พฤษภาคม **พ.ศ.** 2547

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สัณฐานวิทยาและระบบเพศของเห็ดกินได้บางชนิดในสกุล *Lentinus*
นักศึกษา	นางสาวจันทิมาภรณ์ นววงศ์วิวัฒน์
รหัสประจำตัว	43065210
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน และระบบเพศของเห็ด 5 ชนิดในสกุล *Lentinus* ได้แก่ เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก รวมทั้งได้ศึกษาในเห็ดหอมซึ่งอยู่ในสกุล *Lentinula* ผลการศึกษาพบว่าเห็ดในสกุล *Lentinus* รวมทั้งเห็ดหอมมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นคล้ายกันมาก โดยมีความแตกต่างในรายละเอียดด้านต่างๆ เพียงเล็กน้อย จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน พบว่าเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมและเห็ดโต่งฝนเจริญดีที่สุดบนอาหาร MYG เห็ดขอนขาว เห็ดบด และเห็ดหูกวางเจริญเติบโตดีที่สุดบนอาหาร PDA และเส้นใยของเห็ดตีนปลอกเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร MEA โดยเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดทุกชนิดเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีพีเอช 5.0-7.0 ที่อุณหภูมิห้อง ยกเว้นเห็ดหอมและเห็ดตีนปลอกที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การศึกษาระบบเพศโดยการนำเส้นใยโมโนคาริออนจำนวนไม่น้อยกว่า 12 สายพันธุ์จากเห็ดหนึ่งดอก มาผสมพันธุ์กันแบบพบกันหมดทีละคู่ด้วยวิธีดั้งเดิม โดยวางเส้นใยของคู่ผสมให้ห่างกันประมาณ 2 เซนติเมตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามด้วยการตรวจดูการเกิดแคลมป์คอนเนคชั่นบริเวณที่เส้นใยคู่ผสมมาพบกัน พบว่าอัตราส่วนของจำนวนคู่ผสมที่ผสมพันธุ์กันได้ต่อจำนวนคู่ผสมทั้งหมดเท่ากับ 1:4 ในเห็ดทุกชนิดที่ทำการศึกษา จึงแสดงว่าเห็ดทุกชนิดที่ศึกษาในครั้งนี้ มีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism นอกจากนั้นยังสามารถจัดกลุ่มของสายพันธุ์โมโนคาริออนของเห็ดแต่ละชนิดออกเป็น 4 กลุ่ม ตามชนิดของ mating type (A_1B_1 , A_1B_2 , A_2B_1 และ A_2B_2) ของเห็ดแต่ละชนิดด้วย

Thesis Title	Morphology and Mating System of Some Edible Species of the Mushroom, Genus *Lentinus*
Student	Miss Janthimaphorn Nawawongwiwat
Student ID.	43065210
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2004
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Pannee Dhitaphichit

ABSTRACT

This research aims to study morphology, optimal conditions and mating systems of the edible species in the genus *Lentinus* (*Lentinus squarrosulus*, *L. polychrous*, *L. strigosus*, *L. giganteus* and *L. sajor-caju*) including *Lentinula edodes*. The mushrooms studied had similar characteristics but with some minor variations among them. For optimal conditions studies, *Lentinula edodes* and *Lentinus giganteus* were found growing the best on MYG, *Lentinus squarrosulus*, *L. Polychrous* and *L. strigosus* on PDA while *L. sajor-caju* on MEA. All species grew well at pH 5.0-7.0 and at room temperature except *Lentinula edodes* and *Lentinus sajor-caju* grew the best at 25 °C and 30 °C, respectively. For mating system studies, the experiments were carried out by crossing each pair of 12-14 single spore isolations (SSIs, monokaryons) from one single fruiting body of each species in all combinations on PDA plates. The presence of clamps after mating indicates sexual compatibility. The ratio of number of compatible matings on number of total matings which were 1:4 in every species, indicated that all species are tetrapolar (bifactorial) heterothallism. The SSIs of each species were also separated into 4 groups according to the 4 mating types (ie. A_1B_1 , A_1B_2 , A_2B_1 and A_2B_2).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของรองศาสตราจารย์ ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำ ปรึกษาชี้แนะข้อคิดต่างๆ และแก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์มาลินี ตันติยาภรณ์ ดร.สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ และ อาจารย์อัญชลี เชียงกูล ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ปรึกษา ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ๆ ทุกคน รวมทั้งน้องชาย ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนการศึกษา ตลอดจนกำลังใจและตักเตือนสั่งสอนตลอดมา

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบคุณ พี่ๆ และเพื่อนๆ ในห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือต่างๆ และให้กำลังใจในการทำการวิจัยเป็นอย่างมาก

จันทิมาภรณ์ นววงศ์วิวัฒน์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VI

สารบัญภาพ XI

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 การจัดจำแนกเห็ดหอมและเห็ดในสกุล*Lentinus* 3

2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ด 3

2.3 วงจรชีวิตของเห็ด 6

2.4 ขั้นตอนการเจริญของเส้นใยเห็ด 7

2.5 ลักษณะการสืบพันธุ์ของเห็ดรา 8

2.6 ระบบเพศ (ระบบการผสมพันธุ์) ในเห็ด 9

2.7 การปรับปรุงพันธุ์เห็ด 12

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดและการเกิดดอกเห็ด 13

2.9 ความสำคัญทางโภชนาการของเห็ด 13

2.10 คุณสมบัติที่น่าสนใจบางประการเกี่ยวกับการเพาะเห็ด 14

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 16

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 20

3.1 สายพันธุ์เห็ด 20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 สารเคมี 20
3.3 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ 20
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย 21

บทที่ 4 ผลการทดลอง 25
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น 25
4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน 33
4.3 การศึกษาระบบเพศของเห็ดหอมและเห็ดชนิดต่างๆ ในสกุล *Lentinus* 39

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 57

บรรณานุกรม 60

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 65
ภาคผนวก ข 67

ประวัติผู้เขียน 80

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 การผสมพันธุ์แบบ bipolar (unifactorial) heterothallism ของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ในเห็ด 10

2.2 การผสมพันธุ์แบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism ของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ในเห็ด 11

2.3 ชนิดของเห็ดที่มีระบบเพศต่างๆ ที่มีรายงานมาแล้ว 17

4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งภายนอกและภายในของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก 26

4.2 ผลของชนิดของอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก เมื่อบ่มเส้นใย ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 33

4.3 ผลการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใย ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 35

4.4 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใย ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน 37

4.5 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอมจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนอาหาร MEA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ 39

4.6 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของ เห็ดหอมจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนอาหาร MEA เมื่อบ่มเส้นใย ของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ 40

4.7 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 42

4.8 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของ เห็ดขอนขาวจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 43

4.9 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดบน จานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 45

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.10 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบดจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 46

4.11 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวางจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดบนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 48

4.12 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวางจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 49

4.13 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดบนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 51

4.14 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝนจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 52

4.15 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดบนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 54

4.16 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดตีนปลอกจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 55

ข.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 67

ข.2 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 67

ข.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 68

ข.4 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ข.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบด บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 68
ข.6 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบด บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 69
ข.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 69
ข.8 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 69
ข.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝน บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 70
ข.10 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 70
ข.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของ เห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 70
ข.12 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ... 71
ข.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 71
ข.14 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 72
ข.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาว บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 72
ข.16 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 72
ข.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบด บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ข.18 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 73

ข.19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อพีเอชต่างๆ 73

ข.20 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 74

ข.21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 74

ข.22 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 74

ข.23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 75

ข.24 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ 75

ข.25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 76

ข.26 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ... 76

ข.27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 76

ข.28 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ.... 77

ข.29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 77

ข.30 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ข.31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 78
ข.32 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ..... 78
ข.33 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝน บนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 78
ข.34 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 79
ข.35 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอก บนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 79
ข.36 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ .. 79

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเห็ด 4
2.2 วงจรชีวิตของเห็ดในชั้น Basidiomycetes 6
2.3 การเกิดแคลมป์คอนเนคชั่น (clamp connection) 7
2.4 การควบคุมการแสดงออกของยีนบนโลคัส A และ B ต่อการเปลี่ยนแปลงทาง
สัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ด 11
4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดหอม 27
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดขอนขาว 28
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดบด 29
4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดหูกวาง 30
4.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดโต่งฝน 31
4.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดตีนปลอก 32
4.7 การศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของ
เห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก
บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 34
4.8 การศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม
เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก
บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 36
4.9 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม
เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก
บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน 38
4.10 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอม (บางคู่ผสม) บนจาน
อาหาร MEA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ 41
4.11 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาว (บางคู่ผสม) บน
จานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 44
4.12 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบด (บางคู่ผสม) บน
จานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.13 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวาง (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 50

4.14 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝน (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 53

4.15 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอก (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 56

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

เห็ด (mushroom) จัดเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำประเภทเห็ดรา (fungi) ที่มีวิวัฒนาการสูงกว่าเห็ดราชนิดอื่นๆ ส่วนใหญ่จัดอยู่ในชั้น Basidiomycetes มีทั้งชนิดที่รับประทานได้และไม่ได้ บางชนิดนำมาเป็นยารักษาโรค และบางชนิดมีพิษอาจทำให้ถึงตายได้ ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับเห็ดอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเห็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีราคาถูก มีทั้งชนิดที่เกิดเองตามธรรมชาติ และชนิดที่สามารถเพาะได้ในทางการค้า โดยเฉพาะเห็ดที่สามารถรับประทานได้มีการเพาะปลูกเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลาย และยังพบว่าเห็ดโดยทั่วไปเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนอาหารประเภทเนื้อสัตว์ได้ มีเกลือแร่และวิตามินเป็นส่วนประกอบที่สูงกว่าพืชผักชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะวิตามินบีรวม ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไนอาซิน (niacin) ไทอามีน (thiamine) และกรดแพนโททีนิก (pantotenic acid) รวมทั้งมีไขมันและแคลอรีต่ำ แต่มีเกลือแร่ เช่น โปแทสเซียม (potassium) ฟอสฟอรัส (phosphorus) แมงกานีส (manganese) และแคลเซียม (calcium) ในปริมาณสูง (ประภัสสร. 2540) นอกจากนี้เห็ดบางชนิดยังมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรคได้อีกด้วย เช่น เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) เห็ดหลินจือ (*Ganoderma japonicum*) เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) เห็ดไมตาเกะ (maitake) และเห็ดหูหนู (*Auricularia auricular*) (ศิริวรรณและไมตรี. 2545) เป็นต้น

เห็ดที่พบในธรรมชาติของประเทศไทยและที่มีการเพาะเป็นการค้าอย่างแพร่หลายมีจำนวนมากเช่น เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) แต่ยังมีเห็ดหลายชนิดที่ยังไม่อาจเพาะเป็นการค้า (ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าเห็ดเหล่านี้เป็น mycorrhizal fungi) เช่น เห็ดโคน (*Termitomyces* sp.) และเห็ดเผาะ (*Astreaus hygrometrious*) นอกจากนี้ยังมีเห็ดอีกหลายชนิดที่มีรสชาติดีแต่เป็นที่นิยมรับประทานเฉพาะภายในท้องถิ่น ยังไม่เป็นที่รู้จักกันแพร่หลายและไม่มีการศึกษาเห็ดเหล่านั้นอย่างจริงจัง ตัวอย่างได้แก่ เห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus*) และเห็ดบด (*L. polychrous*) รวมทั้งเห็ดชนิดใหม่ๆ ที่เพาะเป็นการค้าแต่ยังไม่เป็นที่นิยมแพร่หลาย ได้แก่ เห็ดตีนปลอก (*L. sajor-caju*) และเห็ดโต่งฝน (*L. gigianteus*) ซึ่งเป็นเห็ดที่จัดอยู่ในสกุล *Lentinus* ที่ใกล้ชิดกับเห็ดหอมมาก (เห็ดหอมเดิมชื่อ *Lentinus edodes* โดย Pegler (1983) เป็นคนแรกที่เปลี่ยนชื่อของเห็ดหอมจาก *Lentinus edodes* (Berk.) Singer เป็น *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler ทั้งนี้ Pegler ได้ให้เหตุผลว่าที่เปลี่ยนเพราะว่าระบบเส้นใย (hyphal system) เห็ดหอมเป็นประเภท monomitic

(ซึ่งเป็นลักษณะของเห็ดสกุล *Lentinula*) ในขณะที่ของเห็ดสกุล *Lentinus* ต้องเป็นประเภท dimitic หรือ trimitic

ในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบการสืบพันธุ์ (breeding system) หรือระบบเพศ (mating system) ของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* ได้แก่ เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก รวมทั้งเห็ดหอม ทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งก่อนหน้านี้มีเพียงเห็ดหอมที่มีรายงานการศึกษาระบบเพศโดย Chang และ Miles (1989) โดยได้ทำการศึกษาระบบเพศของเห็ดหอม โดยพบว่าเห็ดหอมมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism ในประเทศที่มีการเพาะเห็ดหอมเป็นอุตสาหกรรม การทดลองเรื่องการผสมพันธุ์มีความสำคัญมาก เช่น ในประเทศญี่ปุ่นได้มีการผสมพันธุ์เห็ดหอมสายพันธุ์ภายในประเทศกับสายพันธุ์ต่างประเทศเพื่อคัดพันธุ์ที่ต้องการ และที่ประเทศจีนก็มีรายงานการผสมพันธุ์เห็ดหอมเช่นเดียวกัน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นทั้งภายในและภายนอกของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* รวมทั้งของเห็ดหอม

1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยสายพันธุ์โมโนคาริออนของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* รวมทั้งของเห็ดหอม

1.2.3 เพื่อศึกษาประเภทของระบบเพศของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* รวมทั้งของเห็ดหอม และหาชนิด mating type ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดทุกชนิดที่ศึกษาในครั้งนี้

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นและหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเส้นใยสายพันธุ์โมโนคาริออน ตลอดจนศึกษาหาระบบเพศของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* รวมทั้งของเห็ดหอม จากการผสมพันธุ์กันของเส้นใยสายพันธุ์โมโนคาริออน และหาชนิด mating type ของสายพันธุ์โมโนคาริออนของเห็ดทุกชนิดที่ศึกษา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ

ทำให้ทราบระบบเพศของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* รวมทั้งของเห็ดหอม ซึ่งจะมีประโยชน์ในการนำไปใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ หรือผลิตลูกผสมทั้งโดยวิธีผสมพันธุ์แบบดั้งเดิมและวิธีการรวมโปรโตพลาสต์ เพื่อให้ได้ลูกผสมที่มีลักษณะดีตามต้องการเพื่อประโยชน์ทางการค้าต่อไป

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การจัดจำแนก (classification) เห็ดในสกุล *Lentinus* และเห็ดหอม (*Lentinus edodes*)

เห็ดชนิดต่างๆในสกุล *Lentinus* และเห็ดหอมซึ่งอยู่ในสกุล *Lentinula* สามารถจัดจำแนกได้ดังนี้ (Alexopoulos and Mims. 1979)

Kingdom	:	Fungi
Division	:	Amastigomycota
Subdivision	:	Basidiomycotina
Class	:	Basidiomycetes
Subclass	:	Holobasidiomycetidae II
Order	:	Agaricales
Family	:	Tricholomataceae
Genus	:	*Lentinus*
	:	*Lentinula*

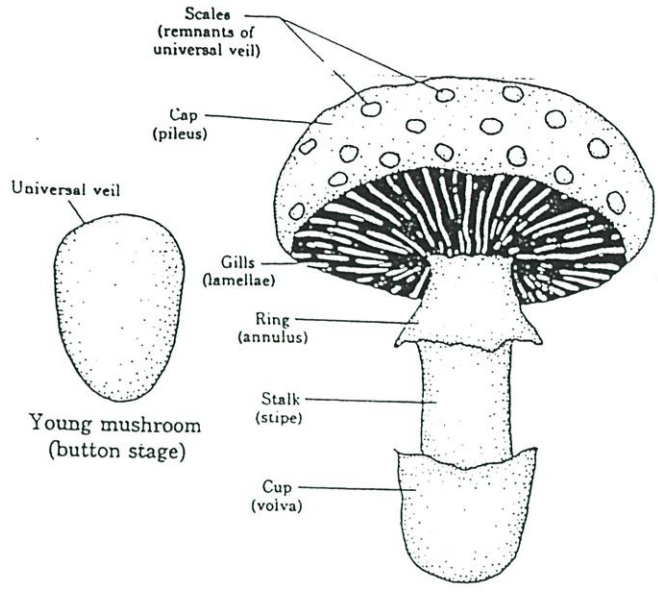
เห็ด 5 ชนิดในสกุล *Lentinus* ที่ใช้ในการศึกษางานวิจัย รวมทั้งของเห็ดหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ดังนี้

เห็ดขอนขาว	*Lentinus squarrosulus* Mont.
เห็ดบด	*Lentinus polychrous* Lév.
เห็ดหูกวาง	*Lentinus strigosus* (Schwein.)Fr.
เห็ดโต่งฝน	*Lentinus giganteus* Berk.
เห็ดตีนปลอก	*Lentinus sajor-caju* (Fr.) Fr.
เห็ดหอม	*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.

2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology characteristic) ของเห็ด

2.2.1 ลักษณะโครงสร้างภายนอก (macroscopic characteristic) ของเห็ด

ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเห็ด (บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร. 2537) มีส่วนประกอบต่างๆดังแสดงในภาพที่ 2.1 ซึ่งประกอบด้วย หมวกดอก (cap, pileus) ครีบดอก (gills, lamellae) ก้านดอก (stalk, stipe) วงแหวน (ring, annulus) ปลอกหุ้ม (cup, volva) และกลุ่มเส้นใย (mycelia)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างภายนอกของเห็ด
ที่มา : บัญญัติ สุขศรีงาม (2532)

2.2.1.1 หมวกดอก (cap, pileus) เป็นส่วนปลายสุดของดอกเมื่อดอกบานเต็มที่จะกางมีลักษณะรูปทรงเหมือนร่มกางขอบคุ้มลงหรือแบนราบหรือกลางหมวกเว้าลงเป็นแอ่งมีรูปเหมือนกรวยปากกว้าง ผิวหมวกด้านบนอาจจะเรียบ ขรุขระ มีเกล็ดหรือมีขนแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของเห็ด เนื้อหมวกหนาบางต่างกัน อาจจะเหนียวหรือฉีกขาดง่าย เนื้อเยื่อของหมวกบางชนิดอาจเปลี่ยนสีได้

2.2.1.2 ครีบดอก (gills, lamellae) หรือซี่หมวกเห็ด เรียงเป็นรัศมีรอบก้านดอก ด้านล่างของหมวกเห็ดแต่ละชนิดจะมีจำนวนครีบดอกแตกต่างกันและความหนาบางไม่เท่ากัน จำนวนของครีบหมวกจึงใช้เป็นลักษณะประกอบการจำแนกเห็ดด้วย สีของครีบหมวกส่วนมากจะเป็นสีเดียวกับสปอร์

2.2.1.3 ก้านดอก (stalk, stipe) มีขนาดใหญ่และยาวแตกต่างกัน ส่วนมากมีรูปทรงกระบอก ตอนบนยึดติดกับหมวกเห็ดหรือครีบหมวกด้านใน ก้านดอกเห็ดมีผิวเรียบขรุขระหรือมีขน หรือมีเกล็ด

2.2.1.4 วงแหวน (ring, annulus) เป็นเนื้อเยื่อบางๆยึดก้านดอกและขอบหมวกของเห็ดให้ติดกัน เมื่อหมวกเห็ดกางออกเยื่อจึงจะขาดจากขอบหมวก แต่ยังมีเศษส่วนยึดติดกับก้านดอกให้เห็นรอบก้านดอกเหมือนมีวงแหวนหรือแผ่นเยื่อบางสวมอยู่

2.2.1.5 ปลอกหุ้ม (cup, volva) เป็นเนื้อเยื่อหนาหรือบางชั้นนอกสุดที่หุ้มดอกเห็ดทั้งดอกไว้ในระยะที่เป็นดอกตูม เปลือกหุ้มจะมีเนื้อเยื่อและสีคล้ายคลึงกับหมวกเห็ด แต่ส่วนมากจะมีสีขาว

2.2.1.6 กลุ่มเส้นใย (mycelia) บริเวณที่ดอกเห็ดขึ้นจะปรากฏเส้นใยสีขาวขึ้นอยู่ก่อน เส้นใยนี้จะก่อตัวหรือรวมตัวกันเป็นก้อนใหญ่เห็ดบางชนิดจะมีเส้นใยรวมตัวกันเป็นก้อนแข็งอยู่ที่โคนก้านดอก หรือเส้นหยาบมองเห็นด้วยตาเปล่า แต่เห็ดบางชนิดมีเส้นใยละเอียดเล็กมาก มองไม่เห็นลักษณะดังกล่าว โดยปกติเส้นใยของเห็ดจะเป็นสีขาวนวลแทรกซึมอยู่ตามบริเวณที่เกิดดอกเห็ด

2.2.2 ลักษณะโครงสร้างภายใน (microscopic characteristic) ของเห็ด

ลักษณะโครงสร้างภายใน (microscopic characteristic) ของเห็ด (จิราพร นิลฉวี. 2546) ประกอบด้วย

2.2.2.1 ไฮมีเนียม (hymenium) เป็นชั้นของเนื้อเยื่อที่ให้กำเนิดสปอร์ของเห็ด ประกอบด้วยส่วนของเบซิเดีย (basidia), สเทอริกมา (sterigma) และเบซิดิโอสปอร์ (basidiospore) ซึ่งภายในชั้นไฮมีเนียมจะพบซิสทิเดีย (cystidia) ที่มีลักษณะคล้ายกับเบซิเดียแต่มีขนาดใหญ่กว่ามาก

2.2.2.2 เบซิเดีย (basidia) มีรูปร่างคล้ายกระบอง (club shape) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มี 2 นิวเคลียสอยู่ปลายสุดของเส้นใยในชั้นไฮมีเนียม สำหรับเบซิเดียในระยะแรกจะมีรูปร่างลักษณะยาวและแคบ จากนั้นจะขยายตัวกว้างขึ้นพร้อมกับที่นิวเคลียสทั้งสองภายในเบซิเดียจะรวมกัน (เกิดคาริโอแกมมี, karyogamy) ตามด้วยการแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) ได้นิวเคลียสแบบแฮพพลอยด์ (haploid, n) จำนวน 4 นิวเคลียส ในขณะเดียวกันส่วนปลายของเบซิเดียจะสร้างสเตอริกมาจำนวน 4 อัน ซึ่งที่ปลายของสเตอริกมาจะมีเบซิดิโอสปอร์ ซึ่งนิวเคลียสทั้ง 4 ได้เคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในแต่ละเบซิดิโอสปอร์ โดยทั่วไป 1 เบซิเดียมจะสร้าง 4 สเตอริกมาหรือ 4 เบซิดิโอสปอร์

2.2.2.3 เบซิดิโอสปอร์ (basidiospore) เป็นสปอร์ที่มีเซลล์เดียว มีหนึ่งนิวเคลียสและเป็นแบบแฮพพลอยด์ มีรูปร่างแบบต่างๆ เช่น กลม ยาวรี รูปไข่ ยาว ทรงกระบอก หรือรูปร่างคล้ายไส้กรอก สปอร์อาจมีสีหรือไม่มีสี โดยทั่วไปสปอร์จะติดอยู่ที่ปลายสเตอริกมา แต่เมื่อแก่จะเกิดหยดน้ำขึ้นที่ฐานของสปอร์ทำให้สปอร์หลุดออกมาจากสเตอริกมา เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม เจิร์มทิวบ์ (germ tube) จะงอกแล้วพัฒนาเป็นเส้นใยต่อไป

2.2.2.4 ชนิดของเส้นใย (hyphal types) แบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ

1) generative hyphae เป็นเส้นใยที่มีผนังบาง แตกกิ่งก้านจำนวนมากมีแคลมป์คอนเนคชั่น (clamp connection) และมีผนังกั้น

2) skeletal hyphae เป็นเส้นใยที่ไม่แตกกิ่งก้านหรือแตกแขนงน้อยมาก ผนังหนา ไม่มีแคลมป์คอนเนคชั่น

3) binding hyphae เป็นเส้นใยที่มีการแตกกิ่งก้านสั้นๆ ไม่มีแคลมป์คอนเนคชั่น ผนังหนากว่า skeletal hyphae

2.2.2.5 ระบบของเส้นใย (hyphal systems) แบ่งออกเป็น 3 ระบบได้แก่

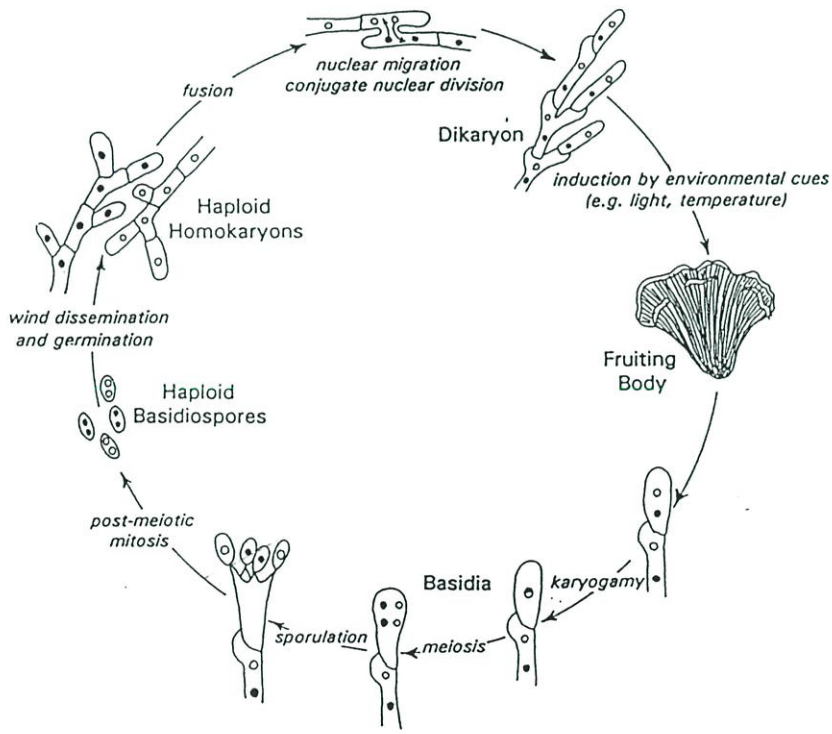
1) monomitic hyphal system เป็นระบบเส้นใยที่มี generative hyphae เพียงอย่างเดียวอยู่ในดอกเห็ด

2) dimitic hyphal system เป็นระบบเส้นใยที่มีเส้นใย 2 ชนิดอยู่ด้วยกัน คือ generative hyphae อยู่ร่วมกับ skeletal hyphae หรือ generative hyphae อยู่ร่วมกับ binding hyphae หรือ skeletal hyphae อยู่ร่วมกับ binding hyphae ในดอกเห็ด

3) trimitic hyphal system เป็นระบบเส้นใยที่ binding hyphae, skeletal hyphae และ generative hyphae อยู่ร่วมกันในดอกเห็ด

2.3 วงจรชีวิต (life cycle) ของเห็ด

วงจรชีวิตของเห็ดทั่วไปมีลักษณะคล้ายกัน (ภาพที่ 2.2) เริ่มจากสปอร์ซึ่งเรียกว่าเบซิดิโอสปอร์ (สร้างจากส่วนที่เรียกว่าเบซิเดียม) เมื่อแก่จัดจะหลุดออกจากดอกเห็ด และถูกพัดพาไปยังที่ต่างๆ โดยแมลงหรือโดยแรงลม เมื่อตกในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม สปอร์ก็จะงอกเส้นใยออกมา และเส้นใย ก็จะรวมตัวกันหลายขั้นตอน จนพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ จากนั้นดอกเห็ดก็จะมีการสร้างเบซิเดียมและสร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์หมุนเวียนกันไปเรื่อยๆ



ภาพที่ 2.2 วงจรชีวิตของเห็ดในชั้น Basidiomycetes

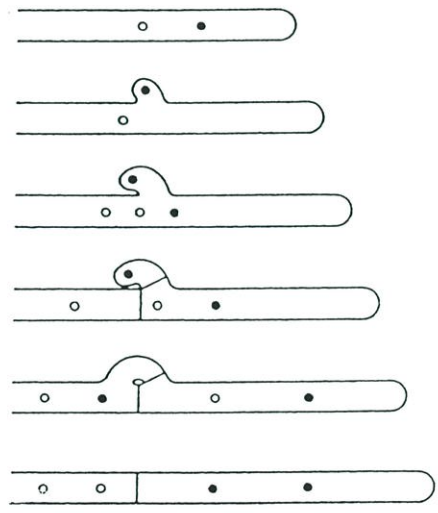
ที่มา : Chang *et al.* (1993)

2.4 ขั้นตอนการเจริญของเส้นใยเห็ด

วงจรชีวิตของเห็ดจะเจริญเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ต้องผ่านการเจริญของเส้นใย 3 ระยะ (ประภัสสร โชคสวนทรัพย์. 2540) คือ

2.4.1 เส้นใยปฐมภูมิ (primary mycelium) เป็นเส้นใยที่เกิดจากการงอกของเบซิดิโอสปอร์มาเป็นเส้นใยที่มีผนังขวาง (septate) กั้น แต่ละเซลล์มีหนึ่งนิวเคลียสและมีสภาพของโครโมโซมเป็นโมโนพลอยด์ (monoploid, n)

2.4.2 เส้นใยทุติยภูมิ (secondary mycelium) เกิดจากเซลล์ในเส้นใยปฐมภูมิสองเซลล์มาแตะกัน จากนั้นไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จากเซลล์หนึ่งไหลเข้ามาอีกเซลล์หนึ่งได้เป็นเซลล์ที่มีสองนิวเคลียสแต่นิวเคลียสทั้งสองไม่รวมกัน เรียกสภาพของเซลล์ในสภาวะนี้ว่า ไดคาริออน (n+n) ในเส้นใยทุติยภูมิจะมีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น (ภาพที่2.3)



ภาพที่ 2.3 การเกิดแคลมป์คอนเนคชั่น (clamp connection)
ที่มา : Carlile and Watkinson (1996)

ขั้นตอนการเกิดแคลมป์คอนเนคชั่น เริ่มจากเส้นใยที่มีนิวเคลียสที่มียีนของคู่ผสมพันธุ์ต่างกันมาอยู่ในเซลล์เดียวกัน ตามด้วยมีการแบ่งแบบไมโตซิสของนิวเคลียส นิวเคลียสที่แบ่งจะมีการเคลื่อนที่ไปอยู่ที่แขนงของเส้นใย และมีผนังขวางเป็นรูปตะขอเกิดขึ้น นิวเคลียสที่อยู่ในเซลล์รูปตะขอจะเคลื่อนที่มารวมกับนิวเคลียสที่มียีนคู่ผสมต่างกัน

2.4.3 เส้นใยตติยภูมิ (tertiary mycelium) เกิดจากเส้นใยทุติยภูมิที่เจริญเต็มที่และมีการสะสมอาหารไว้มากพอ จึงทำการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เซลล์ในเส้นใยยังคงเป็นไดคาริออน เส้นใยจะเริ่มพัฒนาไปเป็นตุ่มดอกเล็ก ๆ และเจริญเติบโตขึ้นเรื่อย ๆ จนกลายเป็นดอกเห็ด (basidiocarp)

2.5 ลักษณะการสืบพันธุ์ (reproduction) ของเห็ดรา

การสืบพันธุ์ในเห็ดราแบ่งได้เป็น 2 ประเภท (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2538) ได้แก่

2.5.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) เป็นการสืบพันธุ์แบบใช้เส้นใยหรือเนื้อเยื่อของเห็ด เมื่อเส้นใยเจริญเต็มที่จะมีการสร้างสปอร์แบบไม่มีเพศ (asexual spore) ได้แก่

2.5.1.1 คลามิโดสปอร์ (chlamydospore) เป็นสปอร์ที่มีผนังหนาเกิดจากเส้นใยเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ก็ได้ ภายในคลามิโดสปอร์มีการสะสมอาหารจึงทำให้สามารถพักตัว (dormant) อยู่ได้นาน การที่สปอร์มีผนังหนาทำให้สปอร์มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมหรือความแห้งแล้งได้เป็นอย่างดี

2.5.1.2 โคนิเดีย (conidia) หรือ โคนิดิโอสปอร์ (conidiospore) สปอร์พวกนี้ไม่มีสิ่งห่อหุ้ม และเกิดจากเซลล์ที่เรียกว่า สเตอริกมา (sterigma) ซึ่งทำหน้าที่สร้างโคนิเดีย

2.5.1.3 บลาสโตสปอร์ (blastospore) มีการขยายพันธุ์คล้ายกับเซลล์ของยีสต์ หน่อที่แตกออกมาเรียกว่า บลาสโตสปอร์ การแตกหน่อจะเกิดอย่างรวดเร็ว ในสภาพที่มีออกซิเจน อุณหภูมิ และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

2.5.1.4 สปอแรงจิโอสปอร์ (sporangiospore) เป็นสปอร์ที่เกิดจากการที่ปลายเส้นใยพองตัวออกคล้ายกระเปาะภายในกระเปาะจะมีผนังหนาและผนังกั้นเกิดขึ้น จากนั้นก็จะเจริญไปเป็นอับสปอร์ (sporangium) นิวเคลียสภายในอับสปอร์มีการแบ่งตัวหลายครั้ง และเจริญไปเป็นสปอแรงจิโอสปอร์จำนวนมากมาย เมื่ออับสปอร์แตกสปอร์เหล่านี้จะแพร่กระจาย ถ้าปลิวไปตกในบริเวณที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะงอกเส้นใยออกมา

2.5.2 การสืบพันธุ์แบบมีเพศ (sexual reproduction) เกิดจากการรวมตัวของนิวเคลียส ซึ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่

ระยะที่ 1 เรียกว่า พลาสโมแกมมี (plasmogamy) เป็นระยะที่โพรโตพลาสต์ของเซลล์ทั้งสองมารวมตัวกัน ทำให้นิวเคลียสทั้งสองอันมาอยู่ในเซลล์เดียวกัน

ระยะที่ 2 เรียกว่า คาริโอแกมมี (karyogamy) เป็นระยะที่นิวเคลียสทั้งสองมารวมตัวกัน การรวมตัวกันจะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับชนิดของเห็ดรา ในเห็ดราชั้นสูงการรวมตัวของนิวเคลียสจะเป็นไปช้ามาก จึงทำให้มองเห็นสองนิวเคลียสในเซลล์เดียวกัน เรียกระยะนี้ว่า ไดคาริออน (dikaryon, 2n)

ระยะที่ 3 เรียกว่า ไมโอซิส (meiosis) เป็นระยะที่นิวเคลียสมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ทำให้จำนวนโครโมโซมลดลงเป็นระยะแฮพพลอยด์ (haploid, n)

สปอร์ที่ได้จากการการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีชื่อว่า sexual spore ซึ่งมีหลายชนิด ได้แก่

2.5.2.1 ไซโกสปอร์ (zygospore) เป็นสปอร์ของเห็ดราในชั้น Zygomycetes เกิดจากการรวมตัวกันของนิวเคลียสในเส้นใย 2 เส้นที่มาพบกัน และมีการสร้างผนังหนาขึ้นห่อหุ้ม ทำสปอร์พวกนี้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้อย่างดี สปอร์พวกนี้พบในเชื้อราพวก Rhizopus และ Mucor

2.5.2.2 โอโอสปอร์ (oospore) เป็นสปอร์ของเห็ดราในชั้น Phycomycetes เกิดจากการรวมตัวกันของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย แบบโอโอแกมมีท (oogamete) จากนั้นเซลล์จะมีการสร้างผนังให้หนาขึ้นห่อหุ้มเอาไว้ทำให้มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้อย่างดี

2.5.2.3 แอสโคสปอร์ (ascospore) เป็นสปอร์ของเห็ดราในชั้น Ascomycetes เกิดจากการตัวกันของเซลล์ต่างเส้นใยหรือเส้นใยเดียวกันก็ได้ และนิวเคลียสทั้งสองจะรวมตัวกันเป็น 2n จากนั้นนิวเคลียสจะมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิสได้เป็น 4 นิวเคลียส จากนั้นมีการแบ่งตัวแบบไมโตซิส (mitosis) อีกครั้งหนึ่งได้เป็น 8 นิวเคลียส โดยสปอร์จะเกิดภายในแอสคัส (ascus) จึงเรียกว่า แอสโคสปอร์

2.5.2.4 เบซิดิโอสปอร์ (basiodiospore) เป็นสปอร์ของเห็ดราในชั้น Basidiomycetes เกิดจากการรวมตัวกันของเซลล์ที่นิวเคลียสเป็นแฮพพลอยด์ (n) 2 อัน เกิดที่ปลายสุดของเบซิเดียม ต่อมานิวเคลียสจะมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิสได้ 4 นิวเคลียส ในระยะนี้สเตอริกมาจะงอกขึ้นมาและนิวเคลียสแต่ละอันจะเข้าไปอยู่ในสเตอริกมาเคลื่อนไปเจริญเป็นสปอร์ที่ปลายสเตอริกมาและกลายเป็นเบซิดิโอสปอร์

2.6 ระบบเพศ (ระบบการผสมพันธุ์) ในเห็ด

Alexopoulos and Mims (1979) แบ่งเห็ดในชั้น Basidiomycetes ได้เป็น 3 พวกใหญ่ๆ ตามความเข้ากันได้หรือไม่ได้ทางเพศ (sexual compatibility) หรือที่เรียกว่าระบบเพศ (mating systems, sexual systems) ดังต่อไปนี้

2.6.1 primary homothallism หรือ self-fertility

เห็ดราประเภทนี้จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่สามารถผสมกันเองได้ภายในธาลัส (thallas) เดียวกัน เพราะฉะนั้นเห็ดราพวกนี้จะไม่มี mating type ตัวอย่างได้แก่ เห็ดฟางหรือเห็ดบัว (*Volvariella volvacea*) และ *Coprinus sterguilinus*

2.6.2 secondary homothallism

เห็ดราประเภทนี้จะมีธาลัสที่เจริญจากสปอร์ที่มีนิวเคลียส 2 อัน ที่มี mating types ต่างกัน ที่จริงเป็นชนิดของระบบเพศแบบ bipolar heterothallism (ดูข้อ 2.6.3) แต่นิวเคลียส 2 อันที่ต่างกันเข้าไปอยู่ในเซลล์เดียวกัน ในขณะที่นิวเคลียสใน basidium มีการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ทำให้ได้ basidiospore 2 อัน (ต่อ 1 basidium) โดยที่แต่ละ basidiospore มี 2 นิวเคลียสที่แตกต่างกันเมื่อสปอร์งอกนิวเคลียสทั้ง 2 จึงรวมกันได้เอง ดังนั้นเห็ดราพวกนี้จึงสามารถมีการสร้างดอกเห็ดได้เองภายในหนึ่งธาลัส (โดยไม่ต้องมีการผสมกับธาลัสที่มี mating type ตรงข้ามกัน)

2.6.3 heterothallism หรือ self-sterility

เห็ดราประเภทนี้ไม่สามารถผสมภายในธาลัสเดียวกันได้ การสืบพันธุ์แบบใช้เพศของเห็ดราพวกนี้เกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีนิวเคลียสจากต่างธาลัส ที่มี mating type ต่างกันมาผสมกันเท่านั้น การผสมพันธุ์กันในลักษณะนี้โดยทั่วไปมี 2 ประเภท คือ

2.6.3.1 bipolar (unifactorial) heterothallism การผสมพันธุ์แบบนี้จะเป็นการผสมพันธุ์ที่เกิดในสายพันธุ์ที่ระบบเพศถูกควบคุมโดยยีน 1 ยีน สปอร์ที่สร้างจะมีอัลลีล (allele) 2 ชนิด คือ A_1 และ A_2 และเห็ด 2 สายพันธุ์ที่จะผสมกันได้ต้องมีอัลลีลต่างกัน คือ A_1 ต้องผสมกับ A_2 อัตราส่วนของคู่ที่ผสมกันได้ต่อคู่ผสมทั้งหมดจึงเท่ากับ 2:4 หรือเท่ากับ 1:2 (ตาราง 2.1)

ตารางที่ 2.1 การผสมพันธุ์แบบ bipolar (unifactorial) heterothallism ของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ในเห็ด

อัลลีล	A_1	A_2
A_1	-	+
A_2	+	-

+ หมายถึง ผสมพันธุ์กันได้ - หมายถึง ผสมกันไม่ได้

2.6.3.2 tetrapolar (bifactorial) heterothallism เป็นการผสมพันธุ์ที่เกิดกับเห็ดราสายพันธุ์ที่ระบบเพศถูกควบคุมโดยยีน 2 ยีน ที่อยู่ต่างโครโมโซมกัน มีการแยกตัวกัน (segregation) อย่างอิสระของยีน A และ B จึงทำให้เห็ดรานั้นๆ สามารถสร้างสปอร์ที่มีเพศที่ต่างกันได้ 4 ชนิด คือ A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1 และ A_2B_2 โดยยีน A ประกอบด้วยอัลลีล A_1 และ A_2 และยีน B ประกอบด้วยอัลลีล B_1 และ B_2 คู่ผสมพันธุ์ที่จะผสมเข้ากันได้ต้องมีชนิดของเพศต่างกัน ได้แก่ A_1B_1 ต้องผสมกับ A_2B_2 และ A_1B_2 ต้องผสมกับ A_2B_1 อัตราส่วนของคู่ที่ผสมกันได้ต่อคู่ผสมทั้งหมดจึงเท่ากับ 4:16 หรือเท่ากับ 1:4 (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 การผสมพันธุ์แบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism ของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ในเห็ด

	A_1B_1	A_1B_2	A_2B_1	A_2B_2
A_1B_1	-	(-)	(+)	+
A_1B_2	(-)	-	+	(+)
A_2B_1	(+)	+	-	(-)
A_2B_2	+	(+)	(-)	-

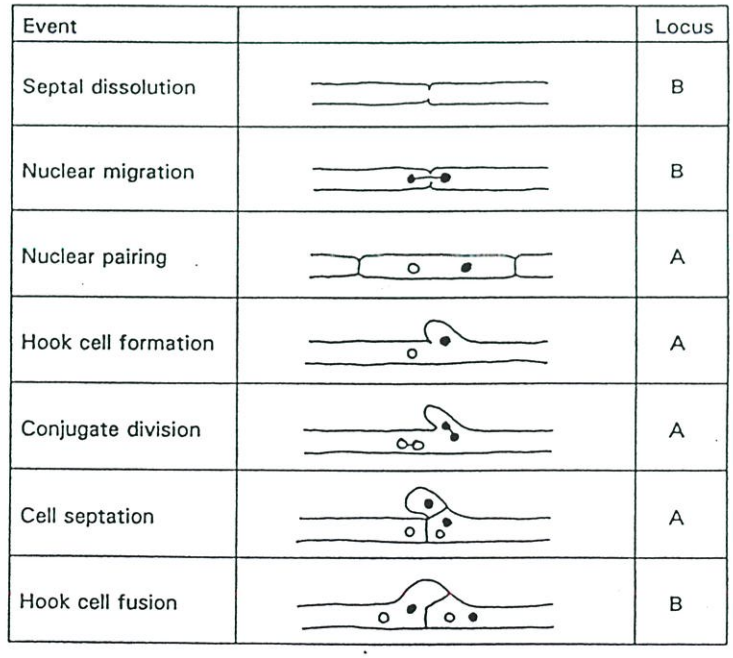
+ : ผสมกันได้อย่างสมบูรณ์ (compatible) มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น ($A \neq B \neq$)

- : ผสมเข้ากันไม่ได้ (incompatible) ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น (overlap, A=B=)

(+) : ผสมได้กึ่งเดียว (hemicompatible B) บริเวณที่เส้นใยชนกันเป็นร่อง (barrage, $A \neq B=$) และมีการสร้าง false clamp

(-) : ผสมได้กึ่งเดียว (hemicompatible A) บริเวณที่ชนกันเป็นเส้นแบนหนา (flat, $A=B \neq$)

ในระบบการผสมพันธุ์แบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism นี้ ทั้งยีน A และยีน B จะควบคุมลักษณะที่แตกต่างกันหรือมีผลต่อการผสมพันธุ์ที่ต่างกัน กล่าวคือในช่วงการผสมพันธุ์ ยีน A จะควบคุมการจับคู่กันของนิวเคลียสและการเกิดแคลมป์คอนเนคชั่น ส่วนยีน B จะควบคุมการเคลื่อนย้ายหรืออพยพของนิวเคลียส และการเชื่อมกันของปลายข้อยึดระหว่างเซลล์ (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 การควบคุมการแสดงออกของยีนบนโลคัส A และ B ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยเห็ด

ที่มา : Chang *et al.* (1993)

2.6.3.3 octapolar (trifactorial) heterothallism เป็นการผสมพันธุ์กันของสายพันธุ์เห็ดราที่เจริญมาจากต่างธาลัสที่เข้ากันได้ทางเพศ มีจำนวนยีนที่ควบคุมระบบเพศ 3 ยีน โดยที่ให้แต่ละยีนมี 2 อัลลีล เช่น ยีน A (A_1, A_2) ยีน B (B_1, B_2) และ ยีน C (C_1, C_2) จะได้ mating type 8 ชนิด ได้แก่ $A_1B_1C_1$, $A_1B_1C_2$, $A_1B_2C_1$, $A_1B_2C_2$, $A_2B_1C_1$, $A_2B_1C_2$, $A_2B_2C_1$ และ $A_2B_2C_2$ และอัตราส่วนของจำนวนคู่ที่ผสมกันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดเท่ากับ 8:64 หรือเท่ากับ 1:8 เห็ดราส่วนน้อยที่มีระบบเพศประเภทนี้ตัวอย่างเท่าที่มีรายงานได้แก่ *Psathyrella coprobia*

2.7 การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

วัตถุประสงค์หลักของการปรับปรุงพันธุ์ (ขนิษฐา พรเจริญโรจน์. 2543) คือการเพิ่มผลผลิตต่อเนื้อที่ปลูก ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์ในระยะแรกๆ มีความหมายแค่การคัดเลือกพันธุ์ที่มีอยู่ในธรรมชาติเพื่อให้ได้ลักษณะที่ต้องการ แต่หลังจากที่มีการค้นพบกฎของเมนเดล การปรับปรุงพันธุ์ในสิ่งมีชีวิตจึงเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากการคัดเลือกพันธุ์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ มาเป็นการผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์จากการสร้างพันธุ์ใหม่โดยมนุษย์ การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนั้นจะถูกควบคุมโดยพันธุกรรมของสายพันธุ์ที่แตกต่างกันหรือที่สามารถรวมกันได้ เห็ดที่นำมาใช้ควรปรับตัวได้ดีในธรรมชาติ และมีฐานพันธุกรรมกว้างเพื่อที่จะได้มีลักษณะให้เลือกมากพอสำหรับใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ วิธีการที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดนั้นมีหลายวิธีดังต่อไปนี้

2.7.1 การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการคัดเลือกพันธุ์ (selection)

ในทางการค้าจะคัดเลือกพันธุ์ใหม่จากการเพาะเลี้ยงมัลติสปอร์ (multispore) หรือจากการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยว หรือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดที่คัดเลือกไว้โดยตรง ซึ่งวิธีเหล่านี้จะใช้ระยะเวลาสั้นๆในการปรับปรุงพันธุ์ แต่การปรับปรุงพันธุกรรมจากวิธีการคัดเลือกพันธุ์นี้จะมีโอกาสได้สายพันธุ์ที่มีลักษณะดีตามต้องการได้ยากมากดังนั้นจึงควรมีการผสมพันธุ์ก่อนแล้วจึงใช้วิธีการคัดเลือกพันธุ์ต่อไป

2.7.2 การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมพันธุ์ (hybridization)

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการนี้เป็นวิธีที่ทำกันมานาน โดยจะให้มีการผสมข้ามระหว่างเห็ดสองสายพันธุ์ที่สามารถเข้าคู่กันได้ (compatible) เป็นวิธีที่ประสบความสำเร็จมากในงานปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่กินได้หลายชนิด

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเกิดดอกเห็ด

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเกิดดอกเห็ด (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2538) ได้แก่

2.8.1 แสงสว่าง (light) แสงสว่างมีผลในการกระตุ้นให้เส้นใยของเห็ดรวมตัวกัน และพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ต่อไป

2.8.2 สภาพความเป็นกรดด่าง (pH) พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเห็ด ควรอยู่ในสภาพที่เป็นกลางหรือมีพีเอชใกล้เคียงกับ 7 ในสภาพอาหารที่เป็นกรดเห็ดจะสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่เป็นการเจริญเติบโตของเส้นใยเท่านั้น และอาจมีการสร้างออยเดีย (oidia)

2.8.3 อุณหภูมิ (temperature) ปกติเห็ดเกือบทุกชนิดจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยสูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดเล็กน้อย คือประมาณ 3-4 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดดอกควรอยู่ระหว่าง 12-20 องศาเซลเซียส

2.8.4 สภาพของอากาศ (air) เห็ดต้องการก๊าซออกซิเจนในอากาศในการเจริญเติบโต ทั้งในระยะเส้นใยและระยะการพัฒนาเป็นดอก ตามปกติแล้วในระยะการเจริญเติบโตของเส้นใย เห็ดมีความทนทานต่อสภาพการขาดออกซิเจนได้ดีกว่าในระยะของการเกิดดอก

2.8.5 ความชื้นในวัสดุเพาะ (moisture) เห็ดต้องการความชื้นสูงในการเตรียมวัสดุที่ใช้เพาะเห็ดจึงควรเพิ่มความชื้นในปริมาณที่เหมาะสม โดยถ้าความชื้นในวัสดุมีต่ำเกินไป เส้นใยของเห็ดจะเจริญเติบโตไม่ดีเนื่องจากธาตุอาหารในวัสดุเพาะไม่สามารถละลายออกมาได้ ทำให้เส้นใยเห็ดนำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ ถ้าความชื้นในวัสดุเพาะมากเกินไปเส้นใยเห็ดจะเจริญเติบโตช้าและเดินไม่เต็มก้อนเชื้อ

2.8.6 ความชื้นของอากาศ (humidity) เห็ดจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาพความชื้นในอากาศค่อนข้างสูง ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศต่ำ ทำให้ดอกเห็ดมีลักษณะบอบบางเพราะความชื้นภายในดอกเห็ดจะระเหยน้ำออกไปในอากาศทำให้ดอกเห็ดแห้งและชะงักการเจริญเติบโต ถ้ามากเกินไปทำให้เส้นใยเห็ดขึ้นฟูบริเวณโคนดอกเห็ด ทำให้ดอกเห็ดฉ่ำน้ำและมีคุณภาพต่ำ ถุงเห็ดอาจเน่าทำให้ผลผลิตลดลง

2.9 ความสำคัญทางโภชนาการของเห็ด

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของเห็ดหลายชนิด (วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2529) พบว่าเห็ดจัดเป็นอาหารที่มีปริมาณของโปรตีนค่อนข้างสูง นอกจากนี้เห็ดยังมีกรดอะมิโน (amino acid) เป็นส่วนประกอบมากกว่า 20 ชนิด กรดอะมิโนเหล่านี้ มีอยู่ 9 ชนิด ที่มีความสำคัญต่อร่างกายและร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ ได้แก่ ไลซีน (lysine) เมทไทโอนีน (methionine) ทริปโตเฟน

(tryptophan) ทรีโอนีน (threonine) วาลีน (valine) ลิวซีน (leucine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ซิสทีน (cystine) และฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) กรดอะมิโนเหล่านี้มีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีนในร่างกายมนุษย์ นอกจากนี้เห็ดยังมีคุณค่าทางอาหารอีกหลายอย่างได้แก่ ไขมัน ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส ไทอามีน ไรโบฟลาวิน และไนอาซีน มีปริมาณแคลอรี คาร์โบไฮเดรต และแคลเซียมต่ำ แต่มีปริมาณกรดแอสโคบิก (ascorbic acid) สูง สำหรับปริมาณโปรตีนและคุณค่าทางอาหารของเห็ดแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปในปัจจุบันประชากรโลกมีอัตราเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ความต้องการอาหารโปรตีนเพิ่มมากขึ้นแต่อาหารโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์มีน้อยและค่อนข้างแพง มีอาหารหลายชนิดที่มีปริมาณโปรตีนสูง และสามารถใช้ทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์ได้ โดยเฉพาะเห็ดซึ่งจัดว่ามีโปรตีนสูงและไม่มีสารพวกโคเลสเตอรอลที่ทำให้เส้นเลือดอุดตัน และเห็ดยังมีราคาถูกกว่าเนื้อสัตว์มาก นอกจากนี้ The Institute of Muscle Recearch ในรัฐ Massachusetts ประเทศสหรัฐอเมริกา ยังรายงานว่ามีเห็ดหลายชนิดที่มีสรรพคุณทางยา ซึ่งสามารถจะบำบัดโรคมะเร็งอย่างได้ผล และเห็ดยังเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับผู้ที่นิยมรับประทานมังสวิรัติตลอดจนผู้ป่วยโรคหัวใจ โรคตับ และโรคความดันด้วย

2.10 คุณสมบัติที่น่าสนใจบางประการเกี่ยวกับการเพาะเห็ด

คุณสมบัติที่น่าสนใจบางประการเกี่ยวกับการเพาะเห็ด (มาวิน และคณะ. 2543) ได้แก่

2.10.1 ใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นวัสดุเพาะ

ในการทำธุรกิจการเกษตรส่วนใหญ่ของเกษตรกรในประเทศกำลังพัฒนา มักเป็นการทำธุรกิจที่ใช้ทรัพยากรธรรมชาติค่อนข้างฟุ่มเฟือย ไม่ก่อประโยชน์เท่าที่ควร ดังจะเห็นได้จากมีการทิ้งเศษวัสดุการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวให้สูญเปล่าอย่างน่าเสียดาย เช่น ขี้เลื่อยไม้ยางพารา ขี้เลื่อยไม้ก้ามปู ซึ่งวัสดุดังกล่าวเหล่านี้สามารถนำมาเพาะเห็ดได้เป็นอย่างดี

2.10.2 กรรมวิธีการเพาะไม่ยุ่งยากและใช้อุปกรณ์น้อย

เทคนิคหรือวิธีการเพาะเห็ดของประเทศไทย ได้มีการพัฒนาไปจนอยู่ในขั้นที่น่าพอใจไม่แพ้ต่างประเทศ มีการเปิดอบรมเพื่อเผยแพร่วิชาการอย่างกว้างขวางทุกรูปแบบ ส่วนเครื่องมือในการเพาะเห็ดก็เป็นเพียงเครื่องมือพื้นฐานง่ายๆ สามารถสร้างขึ้นได้ภายในประเทศ และราคาไม่แพงนักหรืออาจดัดแปลงจากวัสดุที่มีใช้อยู่แล้วก็สามารถทำได้

2.10.3 ไม่ใช้ดินและต้องการพื้นที่น้อย

การเพาะเห็ดส่วนใหญ่ในปัจจุบันเป็นการเพาะเห็ดในถุงพลาสติก หรือในขอนไม้หรือในโรงเรือน ไม่จำเป็นต้องเพาะลงดิน การเพาะเห็ดในถุงพลาสติกนั้นไม่ว่าจะเป็นการบ่มเชื้อหรือการทำให้เกิดดอก มักนิยมนำเอาถุงก้อนเชื้อเห็ดมาวางซ้อนกันหลายๆชั้น เป็นการประหยัดพื้นที่ทำให้เพาะได้

2.10.4 ใช้น้ำน้อยและไม่ต้องใช้น้ำฝน

ในการเพาะเห็ดแทบทุกชนิดก่อนทำการเพาะเห็ดต้องทำวัสดุเพาะให้มีความชื้นอยู่ระหว่าง 60-70 เปอร์เซ็นต์ เสียก่อน ความชื้นระดับนี้เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและสร้างดอกชั่วอายุ ด้วยเหตุผลดังกล่าวในช่วงที่ทำให้เห็ดเป็นดอกนั้น ไม่มีความจำเป็นที่จะต้องเพิ่มความชื้นหรือรดน้ำเข้าไปในวัสดุเพาะนั้นอีก เพียงแต่รักษาระดับความชื้นสัมพัทธ์รอบนอกหรือภายในโรงเรือนให้อยู่ในระดับ 80-85 เปอร์เซ็นต์ ก็เป็นการเพียงพอแล้ว

2.10.5 เพาะได้ทุกสถานที่ทุกฤดูกาล

เห็ดที่รับประทานได้หลายชนิดสามารถเพาะขึ้นได้ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังนั้นหากเป็นฤดูฝนหรือฤดูหนาวก็สามารถแก้ไขได้โดยการปิดโรงเรือนให้มิดชิดหรือทำการพ่นไอน้ำร้อนเข้าไปช่วยเพิ่มอุณหภูมิ

2.10.6 ต้นทุนในการลงทุนต่ำจึงทำเป็นอาชีพหลักหรืออาชีพเสริมได้

การเพาะเห็ดนิยมเพาะในถุงพลาสติกสามารถแบ่งงานกันทำตามความถนัด สำหรับผู้ที่มีเวลาหรือมีทุนน้อย ก็สามารถเริ่มที่ขั้นตอนใดขั้นหนึ่งได้โดยไม่ต้องเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนแรก โดยอาจเริ่มจากการซื้อก้อนเชื้อเห็ดมาทำให้เกิดดอกได้เลยหากเพาะจำนวนไม่มากก็ไม่มีความจำเป็นต้องสร้างโรงเรือน

2.10.7 ตลาดยังกว้างมากทั้งในและต่างประเทศ

ราคาของเห็ดในปัจจุบันเป็นราคาที่เหมาะสม ผู้เพาะก็สามารถเพาะได้อย่างมีกำไร ส่วนผู้บริโภคก็สามารถซื้อได้เพราะราคาไม่สูงจนเกินไป โดยเฉพาะในท้องถิ่นทั่วไปซึ่งนิยมบริโภคเห็ด แต่เห็ดยังมีน้อยและไม่เพียงพอในอนาคต

2.10.8 วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดแล้วสามารถนำกลับมาใช้เป็นปุ๋ยสำหรับพืชอื่นได้

วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดแล้วสามารถนำกลับมาใช้เป็นปุ๋ยหมักพื่อใช้กับพืชชนิดอื่นได้ เป็นการรณรงค์เพื่อลดการใช้ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ซึ่งมีผลเสียมากมายเช่น มีราคาแพง และอาจมีสารพิษตกค้างในพืช

2.10.9 ช่วยแก้ปัญหาว่างงานได้

ปัญหาการว่างงานยังเป็นปัญหาใหญ่ โดยเฉพาะเกษตรกรที่ว่างงานหลังฤดูการเก็บเกี่ยวผลผลิต มักมีการอพยพเพื่อหางานทำชั่วคราว เมื่อถึงฤดูการเพาะปลูกก็กลับมาทำการเพาะปลูก

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.11.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเห็ดหอมและเห็ดในสกุล *Lentinus*

ประภัสสร โชคสวนทรัพย์ (2540) ศึกษาการผสมพันธุ์ระหว่างเห็ดหอมและเห็ดขอนขาว ซึ่งกระทำโดย 2 วิธี วิธีแรกโดยการนำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของทั้งสองชนิดมาผสมกันโดยใช้วิธีดั้งเดิม (conventional method) ผลการทดลองพบว่าไม่มีการผสมพันธุ์เกิดขึ้นเนื่องจากเป็นเห็ดต่างชนิดกัน และอีกวิธีซึ่งทำโดยการรวมโปรโตพลาสต์ของเห็ดทั้งสองชนิดนี้พบว่าสามารถผสมกันได้และได้ลูกผสมทั้งหมด 3 สายพันธุ์

มุกดา และคณะ (2531) วิจัยเรื่องการผสมพันธุ์เห็ดหอมโดยการเพาะจากสปอร์และเนื้อเยื่อ เพื่อหาพันธุ์ร้อนจากการผสมเส้นใยสปอร์เดี่ยว (single spore isolates) ของเห็ดหอม 2 สายพันธุ์ พบว่าได้เส้นใยลูกผสมทั้งหมด 72 สายพันธุ์ แต่มีเพียง 3 สายพันธุ์ เท่านั้นที่สามารถเกิดดอกได้อย่างสมบูรณ์

ศิริพร เดชะธูป (2544) วิจัยเรื่องการปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอมโดยการผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว เป็นการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมข้ามแบบไดมอน โดยใช้เห็ดหอม 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ฤดูฝนและฤดูหนาว โดยทำการผสมทั้งหมด 104 คู่ผสม และได้ลูกผสมทั้งหมด 28 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถเพาะให้ออกดอกได้ทั้งหมด

วสันณ์ เพชรรัตน์ (2541) วิจัยเกี่ยวกับเห็ดในสกุล *Lentinus (Lentinus* spp.*)* ที่พบในป่าภาคใต้ของประเทศไทย โดยเก็บได้ทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ *L. ciliatus* Lév., *L. connatus* Berk., *L. giganteus* Berk. (เห็ดโต่งฝน), *L. polychrous* Lév. (เห็ดบด), *L. sajor-caju* (Fr.) Fr. (เห็ดตีนปลอก), *L. squarrosulus* Mont. (เห็ดขอนขาว), *L. strigosus* (Schwein.) Fr. (เห็ดหูกวาง) และ *Lentinus* sp. มี 2 ชนิดที่มีรายงานครั้งแรกในประเทศไทย คือ *L. ciliatus* Lév. และ *L. giganteus* Berk.

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.11.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบเพศของเห็ด

ตารางที่ 2.3 ชนิดของเห็ดที่มีระบบเพศต่างๆ ที่มีรายงานมาแล้ว

ชื่อวิทยาศาสตร์	ระบบเพศ	เอกสารอ้างอิง
Agaricus bitorquis *A. nivescens* *A. macrosporus*	bipolar heterothallism	Elliott. 1978
Agaricus bisporus	homothallism	Elliott. 1978
Agaricus section *Arvenses*	bipolar heterothallism	Calvo-Bado *et al.* 2000
Armillaria mallea	tetrapolar heterothallism	Korhonen.1978 Anderson and Ullrich. 1979
Auricularia auricula	bipolar heterothallism	Burnett. 1937 Chang and Hayes.1978
Auricularia polytricha	tetrapolar heterothallism	Chang and Hayes.1978
Coprinus fimetarius	tetrapolar heterothallism	Chang and Hayes.1978
Coprinus cothurnatus *C.amphibious* *C. Alkalinus* *C. comatus*	bipolar heterothallism	Lange. 1948 Anastasiou. 1967 Carlile *et al.* 2001 Burnett. 1968
Cyathus striatus	tetrapolar heterothallism	Fries and Joansen. 1936
Daedaliopsis confragosa	tetrapolar heterothallism	Al-Mughrabi and Hsiang. 1998
Flammulina velutipes	tetrapolar heterothallism	Chang and Hayes. 1978
Ganoderma boninense	tetrapolar heterothallism	Pilotti *et al.*. 2002
Ganoderma lucidum, *G. tsugae*	tetrapolar heterothallism	Adaskveg and Gilbertson. 1986

51664

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ระบบเพศ	เอกสารอ้างอิง
Hebeloma crustuliniforme	tetrapolar heterothallism	Aanen and Kuyper. 1999
Lentinellus ursinus	tetrapolar heterothallism	Miller and Methven. 2000
Lentinula edodes	tetrapolar heterothallism	Chang and Miles. 1989 Fox *et al.* 1994 Chang and Hayes.1978
Marasmius sp.	tetrapolar heterothallism	Gordon and Petersen. 1991
Marasmius oreades	bipolar heterothallism	Mallett and Harrison. 1987 Burnett and Evans. 1966
Melanotus textilis *M. defraudatus*	tetrapolar heterothallism	Walker *et al.* 1994
Melanotus harliae	bipolar heterothallism	Walker *et al.* 1994
Phellinus tremulae	tetrapolar heterothallism	Mallett and Myrholm. 1995
Phellinus gilvus	tetrapolar heterothallism	Rizzo *et al.* 1995
Pleurotus ostreatus	tetrapolar heterothallism	Eugenio and Anderson. 1968 Kay and Vilgalys. 1992 Chang and Hayes.1978
Pleurotus sajor-caju	tetrapolar heterothallism	Eugenio and Anderson. 1968
Pleurotus sapidus	tetrapolar heterothallism	Eugenio and Anderson. 1968
Pleurotus tuberregium	tetrapolar heterothallism	Isikhuemhem *et al.* 2000
Polyporus tenuiculus, *P. Ciliatus*,*P. tucumanensis*, *P. Dictyopus*, *P. Melanopus* *P. philippinensis*	tetrapolar heterothallism	Silveira and Wright. 2002

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ระบบเพศ	เอกสารอ้างอิง
Polyporus abietinus	tetrapolar heterothallism	Fries and Jonason. 1941
Schizophyllum commune	tetrapolar heterothallism	Brasier. 1970 Raper *et al.* 1958 Parag and Nachman. 1964
Sistotrema brinkmannii	homothallism, bipolar heterothallism, tetrapolar heterothallism	Ullrich and Raper. 1975
Trichoderma crassum	tetrapolar heterothallism	วสันณ์ เพชรรัตน์. 2522
Volvariella volvacea	homothallism	Chang and Hayes.1978
Xerula australis *X. furfuracea* *X. incognita* (sp.nov.) *X. megalospora* *X. rugosoceps* *X. radicata*	tetrapolar heterothallism	Petersen and Methven.1993
Xeromphalina austroandina, *X. campanella*, *X. campanelloides*, *X. cauticinalis* ssp. *cauticinalis*, *X.cauticinalis* ssp. *pubescentipes*, *X. cornui*, *X. fraxinophila*, *X. fulvipes*, *X. helbergeri*, *X. kauffmanii*, *X. parvibulbola* and *X. tenuipes*	tetrapolar heterothallism	Johnson and Petersen. 1996

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สายพันธุ์เห็ด

- เห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus* Mont.)
- เห็ดบด (*L. polychrous* Lév.)
- เห็ดหูกวาง (*L. strigosus* (Schwein.)Fr.)
- เห็ดโต่งฝน (*L.giganteus* Berk.)
- เห็ดตีนปลอก (*L. sajor-caju* (Fr.) Fr.)
- เห็ดหอม (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.)

เห็ดในสกุล *Lentinus* ทั้ง 5 ชนิด ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์รวมสวนเห็ดบ้านอรัญญิก จังหวัดนครปฐม สำหรับเห็ดหอมได้รับการอนุเคราะห์จากชมรมคนรักเห็ด จังหวัดนครศรีธรรมราช

3.2 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอสำเร็จรูป (PDA : potato dextrose agar)
- มอลท์สกัด (malt extract)
- ยีสต์สกัด (yeast extract)
- กลูโคส (glucose)
- เปปโตน (peptone)
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)
- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)
- ไดโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- ผงวุ้น (bacto agar)

3.3 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar Flow)	บริษัทผู้ผลิต	ISSCO รุ่น HS 123
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave)	บริษัทผู้ผลิต	Tomy รุ่น 35-325
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator)	บริษัทผู้ผลิต	SHEL LAB รุ่น 2020
- ไมโครปิเปต (micropipette)	บริษัทผู้ผลิต	LABSYSTEMS
- อุปกรณ์นับเม็ดเลือด (haemacytometer)	บริษัทผู้ผลิต	BOECO
- เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง	บริษัทผู้ผลิต	Mettler – Toledo รุ่น PG 5002
- เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น	บริษัทผู้ผลิต	Pyrex
- ตู้อบ	บริษัทผู้ผลิต	Memmert
- เครื่องวัด pH (pH meter)	บริษัทผู้ผลิต	Cyberscan รุ่น 2000
- กล้องจุลทรรศน์	บริษัทผู้ผลิต	Nikon รุ่น YS2-H

- อุปกรณ์ตัดเส้นใย (cork borer) เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร
- cover slip และ slide
- เข็มเขี่ยเชื้อและลูป (loop)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

นำดอกเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อในวัสดุเพาะที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มาศึกษาสัณฐานวิทยาทั้งภายในและภายนอกดังนี้ วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหมวกดอก ความยาวก้านดอก นับจำนวนครีบดอกต่อความยาว 1 เซนติเมตร บันทึกลักษณะพื้นผิว สีของหมวกดอกและก้านดอก ตำแหน่งของปลายก้านดอกที่ติดกับหมวกดอก และบันทึกสีของสปอร์พิมพ์โดยการตัดก้านดอกเห็ดออกแล้วคว่ำหมวกดอกลงบนกระดาษที่มีสีขาวและสีดำอย่างละครึ่ง บันทึกรูปร่างและขนาดของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มี ocular micrometer ที่เทียบค่าแล้วติดตั้งอยู่

3.4.2 การเก็บสปอร์พิมพ์ (spore print)

เก็บสปอร์พิมพ์เห็ดโดยการนำดอกเห็ดที่ตัดก้านดอกแล้วคว่ำหมวกดอกบนปากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อให้สปอร์ที่อยู่บนครีบดอกตกลงบนกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ปิดทับหมวกดอกด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิห้องและปลอดลม จากนั้นทิ้งดอกเห็ด และเก็บสปอร์พิมพ์ที่ได้ไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ในโอกาสต่อไป

3.4.3 การคัดเลือกสายพันธุ์โมโนคาริออน (monokaryon)

นำสปอร์พิมพ์ที่ได้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วทำการเจือจางให้สารละลายสปอร์มีความเข้มข้นประมาณ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (นับจำนวนสปอร์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์) ต่อไปนำสารละลายสปอร์ที่ได้มา 50 ไมโครลิตร เกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธีการ pour plate แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 – 3 วัน สำหรับเห็ดหอมเกลี่ยสารละลายสปอร์ลงบนจานอาหาร MEA และบ่มในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ ต่อจากนั้นตรวจดูสปอร์เดี่ยวที่กำลังงอก ใช้เข็มเขี่ยตัดสปอร์ที่กำลังงอกและแยกไปเลี้ยงบนอาหารผิวเอียง ตามด้วยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ สำหรับเห็ดหอมบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ ตรวจดูการเกิดแคลมป์คอนเนคชั่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดเลือกเฉพาะพวกที่ไม่มีแคลมป์คอน-เนคชั่น เพราะจะได้เป็นเส้นใยโมโนคาริออน หรือสายพันธุ์สปอร์เดี่ยว (single spore isolates, SSIs)

3.4.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

โดยการตัดเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดแต่ละชนิดด้วย cork beror ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร มาหาสภาวะต่างๆที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ได้แก่

3.4.4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญ ได้แก่ WA (water agar), PDA (potato dextrose agar), MEA(malt extract agar), MYA (yeast malt extract agar), MYG (glucose malt yeast extract agar) และ CYM (complete medium and yeast extract) บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

3.4.4.2 ระดับพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญ ได้แก่ พีเอช 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

3.4.4.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ ได้แก่ 15, 20, 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส

ทุกสภาวะวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเมื่อเส้นใยอายุ 7 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเจริญเติบโตด้วยวิธี ANOVA (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)

3.4.5 การศึกษาหาระบบเพศ

นำเส้นใยโมโนคาริออนจำนวน 12 สายพันธุ์ ที่เจริญมาจากสปอร์เดี่ยวที่คัดแยกได้จากดอกเห็ด 1 ดอกของเห็ดแต่ละชนิดที่ทำการศึกษา มาผสมพันธุ์กันทีละคู่แบบพบกันหมด โดยตัดเส้นใยด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำมาเพาะเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวางห่างกันประมาณ 2 เซนติเมตร แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ สำหรับเห็ดหอมบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3-4 สัปดาห์ ตรวจดูการเกิดแคลมป์คอนเนคชั่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณหาอัตราส่วนของคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมด ถ้าได้อัตราส่วนเป็น 1:2 แสดงว่าเห็ดชนิดนั้นๆ มีประเภทของระบบเพศแบบ bipolar (unifactorial) heterothallism แต่ถ้าได้อัตราส่วนเท่ากับ 1:4 แสดงว่าเห็ดที่ศึกษานั้นๆ มีประเภทของระบบเพศเป็นแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism ซึ่งถ้าเป็นประเภทหลังจะทำขั้นตอนต่อไป โดยจัดกลุ่มของสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์นั้น ออกเป็น 4 กลุ่มตามการผสมพันธุ์กันได้และไม่ได้ และทำการหา mating type ของแต่ละกลุ่มว่าเป็น A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1 หรือ A_2B_2 โดยอาศัยการดูลักษณะโคโลนีของเส้นใยบริเวณที่เจริญมาพบกันตามหลักของ Papazian (1950) โดยรายละเอียดต่อไปนี้

\+ แทน compatible mating ($A\neq B\neq$) เกิดจากคู่ผสมพันธุ์ที่มีอัลลีลของทั้ง ยีน A และ ยีน B ต่างกัน (ได้แก่ คู่ผสม $A_1B_1xA_2B_2$ และ $A_1B_2xA_2B_1$) ผลของการผสมกันของคู่ผสมเช่นนี้จะทำให้เส้นใยของคู่ผสมที่เจริญมาพบกันมีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น และเส้นใยของคู่ผสมมีลักษณะผสมกลมกลืนกันได้ดี โดยเส้นใยมีลักษณะฟูและหนาแน่น เจริญไปทุกทิศทางจากบริเวณที่เส้นใยชนกันและพัฒนาเกิดเป็นดอกเห็ดได้

\- แทน incompatible mating (overlap, A=B=) เกิดจากคู่ผสมพันธุ์ที่มีอัลลีลของทั้งยีน A และยีน B เหมือนกัน (ได้แก่ คู่ผสม $A_1B_1xA_1B_1$ $A_2B_2xA_2B_2$ $A_1B_2xA_1B_2$ และ $A_2B_1xA_2B_1$) ซึ่งคู่ผสมจะไม่สามารถผสมกันไม่ได้ทำให้เส้นใยบริเวณที่เส้นใยเจริญมาชนกันไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น และลักษณะของเส้นใยบริเวณนี้จะแบนราบ รวมทั้งเส้นใยของคู่ผสมจะเจริญเหลื่อมกัน (overlap)

(+) แทน hemicompatible B (barrage, A≠B=) เกิดจากคู่ผสมพันธุ์ที่มีอัลลีลของ ยีน A ต่างกัน แต่ของยีน B เหมือนกัน (ได้แก่ คู่ผสม $A_1B_1xA_2B_1$ และ $A_2B_2xA_1B_2$) ทำให้คู่ผสมสามารถผสมกันได้เพียงกึ่งเดียว (hemicompatible B) ทำให้บางครั้งพบการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูณ์ หรือเรียกว่า pseudoclamp หรือ false clamp ของเส้นใยคู่ผสมบริเวณที่เจริญมาชนกัน ลักษณะของโคโลนีบริเวณที่เส้นใยเจริญมาชนกันจะมีการเจริญของเส้นใยน้อยจึงทำให้เกิดเป็นร่อง ซึ่งเรียกว่า "barrage"

(-) แทน hemicompatible A (flat, A=B≠) เกิดจากคู่ผสมพันธุ์ที่มีอัลลีลของ ยีน A เหมือนกัน แต่ของยีน B ต่างกัน (ได้แก่ คู่ผสม $A_1B_1xA_1B_2$ และ $A_2B_2xA_2B_1$) ทำให้คู่ผสมสามารถผสมกันได้เพียงกึ่งเดียว (hemicompatible A) เส้นใยบริเวณที่คู่ผสมเจริญมาชนกันไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น และเส้นใยบริเวณนี้จะมีลักษณะเป็นเส้นนูน ซึ่ง Papazian (1950) เรียกลักษณะดังกล่าวว่า "flat"

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

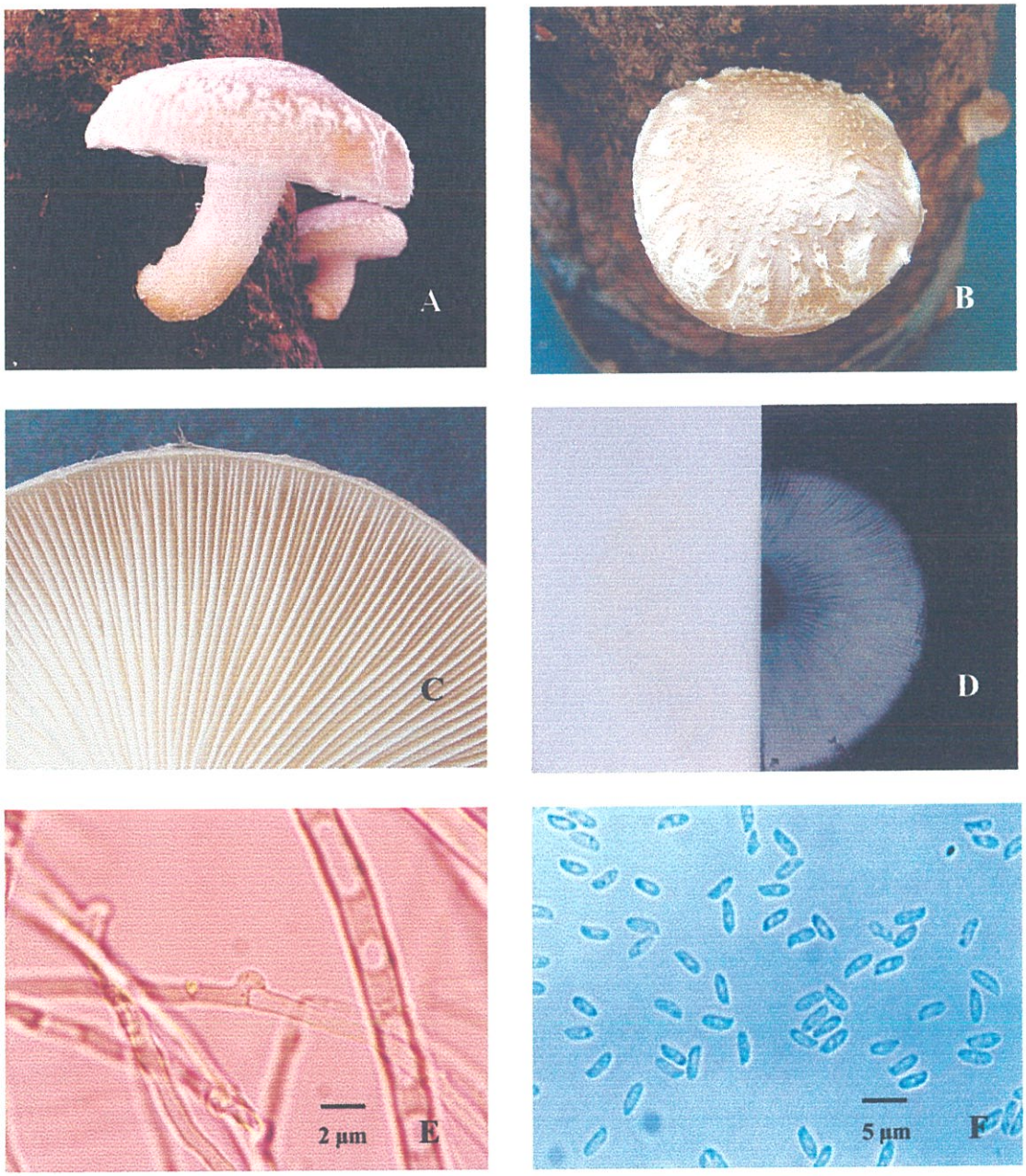
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดในสกุล *Lentinus* จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก รวมทั้งเห็ดหอมซึ่งอยู่ในสกุล *Lentinula* พบว่าเห็ดทุกชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนใหญ่คล้ายกัน (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1-4.6) กล่าวคือหมวกดอกเห็ดมีรูปร่างเป็นรูปทรงกรวยมีสีเหลืองครีมถึงสีน้ำตาล บนหมวกดอกมีเกล็ดและขนกระจายอยู่ทั่วทั้งหมวกดอก ก้านดอกเห็ดไม่อยู่ตรงกึ่งกลางดอกเห็ด ก้านดอกมีรูปทรงกระบอก สปอร์มีลักษณะเป็นสีขาวใสรูปทรงรีตรงปลายสปอร์มีลักษณะเหมือนเป็นติ่ง และไม่มี germ spore สปอร์พิมพ์มีสีขาวครีม และการเจริญของดอกเห็ดมักเกิดเป็นดอกเดี่ยว

สำหรับเห็ดแต่ละชนิด (species) ที่ศึกษา จะมีลักษณะบางประการที่แตกต่างกันดังต่อไปนี้ เห็ดหูกวางดอกเห็ดเมื่อเวลาบานใหม่ๆ จะมีสีม่วงอมน้ำตาลอ่อน และสีค่อยๆ จางลงจนมีสีหมวกดอกเป็นสีเหลืองอ่อน เช่นเดียวกับเห็ดโต่งฝนที่ดอกเห็ดอ่อนมีสีเทาเข้มจนเกือบดำและค่อยๆ จางลงจนเป็นสีน้ำตาลปนครีม หมวกดอกเห็ดโต่งฝนมีลักษณะบานขึ้นจากกลางหมวกถึงขอบหมวกเป็นรูปทรงกะทะหงาย นอกจากนี้การเพาะเห็ดโต่งฝนต้องนำดินมากลบก้อนเส้นใยจึงจะเกิดเป็นดอกเห็ดได้ สำหรับเห็ดตีนปลอกมีลักษณะก้านดอกแตกต่างจากเห็ดชนิดอื่นในสกุลเดียวกันนั่นคือตรงก้านดอกมีวงแหวน (ring) บริเวณกลางก้านดอก หมวกดอกเรียบไม่มีเกล็ดหรือขนปกคลุม

เห็ดหอมซึ่งเดิมจัดอยู่ในสกุล *Lentinus* เพราะมีลักษณะโดยทั่วไปบางอย่างคล้ายเห็ดในสกุล *Lentinus* แต่เนื่องจาก Pegler (1983) ให้เหตุผลว่าระบบเส้นใยของเห็ดหอมเป็นประเภท monomitic ซึ่งต่างจากเห็ดชนิดอื่นๆ ในสกุล *Lentinus* ที่มีระบบเส้นใยประเภท dimitic หรือ trimitic จึงจัดให้เห็ดหอมอยู่ในสกุล *Lentinula* ซึ่งมีเส้นใยประเภทเดียวกันแทน นอกจากลักษณะสัณฐานวิทยาภายในจะแตกต่างจากเห็ดชนิดอื่นๆ ในสกุล *Lentinus* ยังพบว่าลักษณะโครงสร้างภายนอกบางอย่างก็ต่างจากเห็ดชนิดต่างๆ ในสกุล *Lentinus* โดยหมวกดอกเห็ดหอมเป็นรูปทรงร่ม ดอกเห็ดอ่อนมีเยื่อบางสีขาวยึดระหว่างก้านดอกกับขอบหมวกดอกเห็ดเพื่อป้องกันดอกเห็ดเมื่ออ่อน

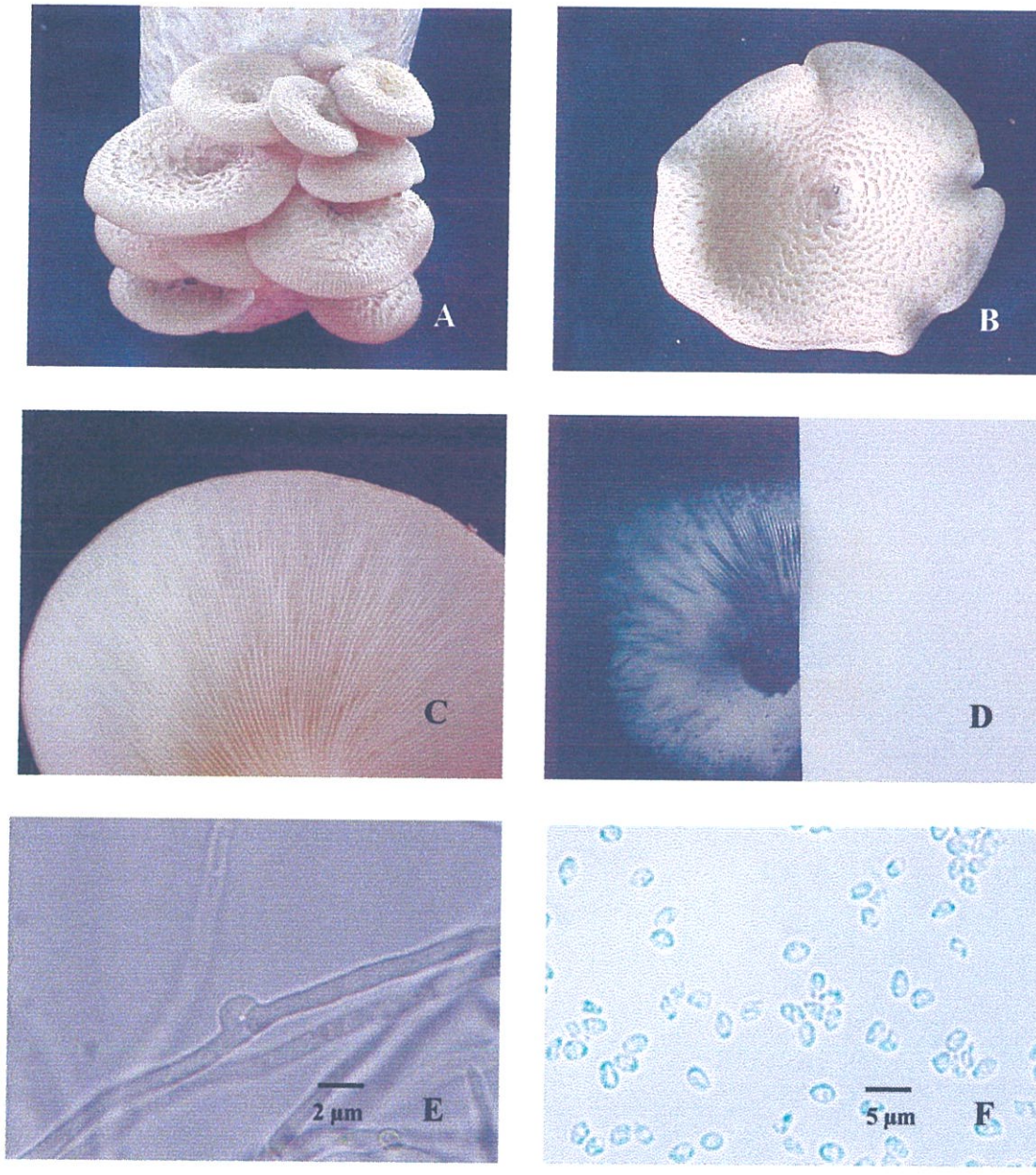
ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งภายนอกและภายในของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝนและเห็ดตีนปลอก

ชนิดของเห็ด	หมวกดอก			ก้านดอก		จำนวนครีบเฉลี่ยต่อ 1 ซม.	สีของสปอร์พิมพ์	สปอร์		ขนาดของเส้นใยเฉลี่ย (ไมโครเมตร)
	สี	ขนาดดอกเฉลี่ย (ซม.)	ลักษณะผิว	สี	ความยาวก้านดอกเฉลี่ย (ซม.)			รูปร่าง	ขนาดของสปอร์เฉลี่ย (ไมโครเมตร)	
หอม	น้ำตาลอ่อน	3.53x4.38	ขนสีขาว	ขาวครีม	2.39	24	ครีม	รูปรี	3.07x1.36	1.95
ขอนขาว	น้ำตาลปนเหลือง	4.11x5.01	เกล็ดสีเทา	ขาวครีม	3.38	23	เหลืองครีม	รูปรี	2.97x1.66	1.08
บด	น้ำตาลปนเทา	3.91x4.18	ขนสีเทา	น้ำตาลปนเทา	3.42	19	ครีม	รูปรี	3.77x1.17	1.27
หูกวาง	เหลืองครีม	4.56x3.33	ขนสีอ่อน	ขาวครีม	3.45	20	ขาวครีม	รูปรี	2.73x1.70	1.22
โต่งฝน	น้ำตาลครีม	11.16x8.83	เกล็ดน้ำตาล	น้ำตาลแดง	11.5	11	ขาวครีม	กลมรี	3.90x3.15	1.61
ตีนปลอก	น้ำตาลเข้ม	3.93x5.04	เรียบ	ครีม	2.91	24	ครีม	รูปรี	2.93x1.24	1.05



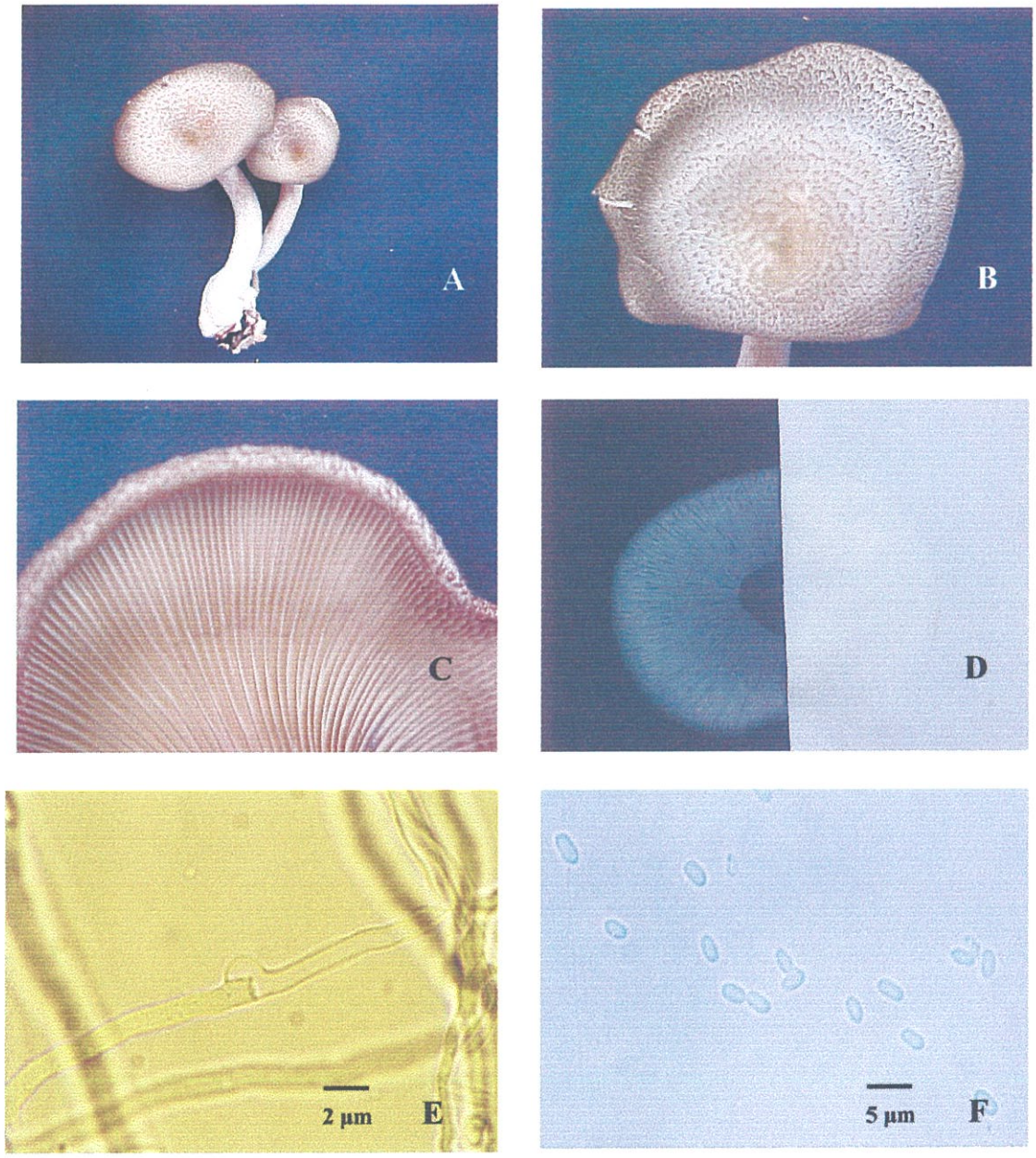
ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดหอม

A. รูปร่างของดอกเห็ด
B. ผิวหมวกดอกเห็ด
C. ครีบดอก
D. สีของสปอร์พิมพ์
E. เส้นใยไดคาริออน (10x100)
F. เบซิดิโอสปอร์ (10x40)



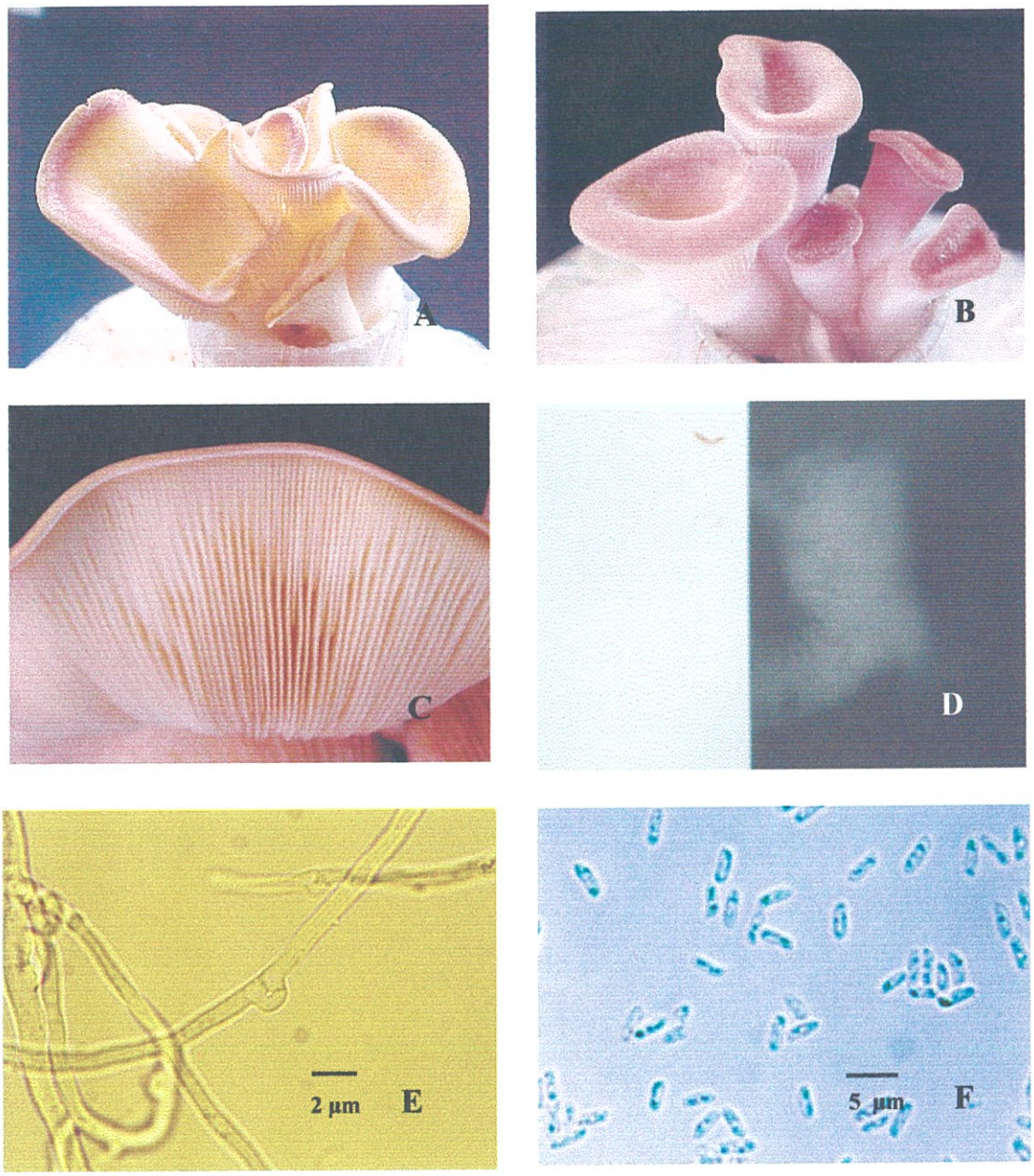
ภาพที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดขอนขาว

A. รูปร่างของดอกเห็ด
B. ผิวหมวกดอกเห็ด
C. ครีบดอก
D. สีของสปอร์พิมพ์
E. เส้นใยไดคาริออน (10x100)
F. เบซิดิโอสปอร์ (10x40)



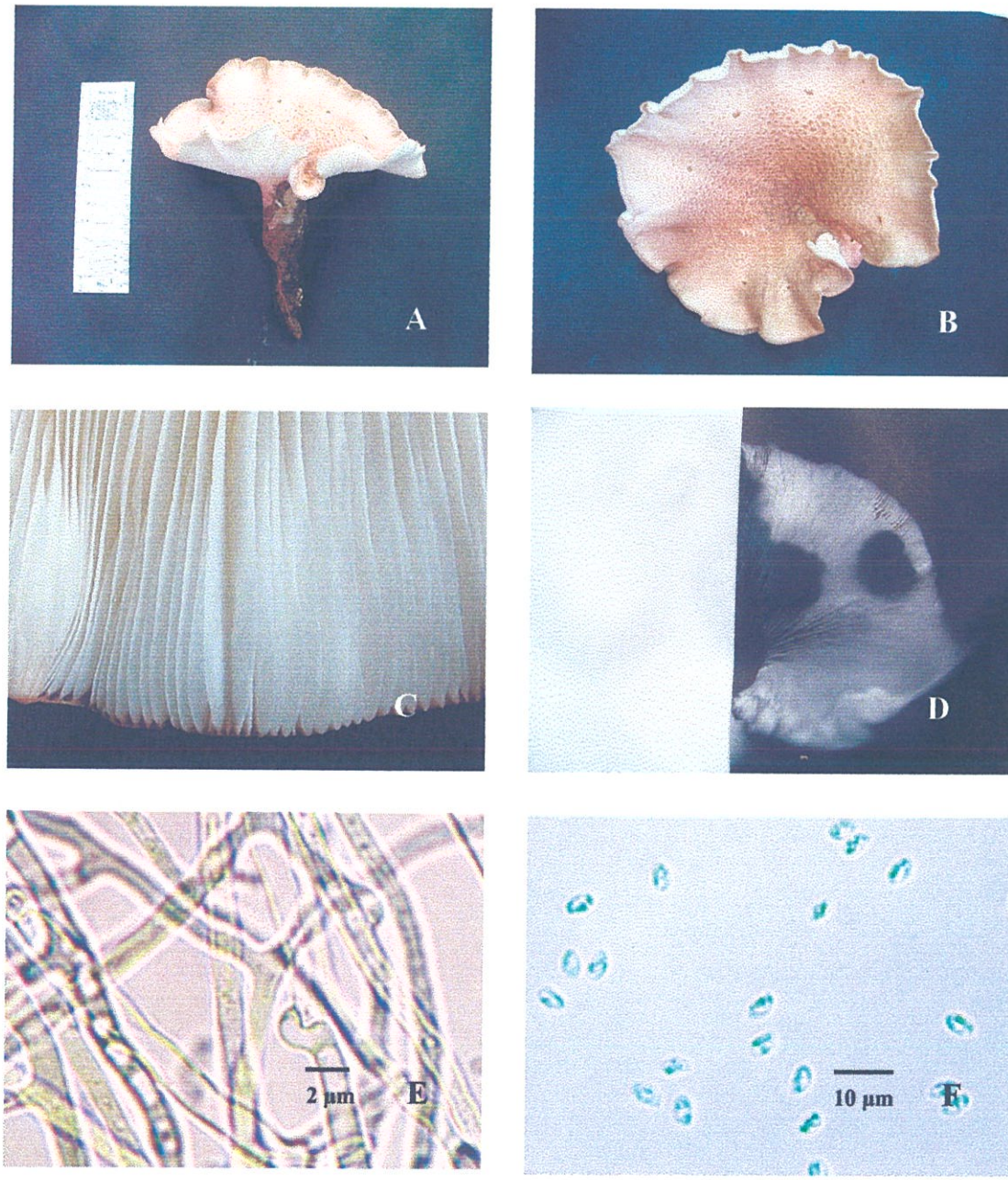
ภาพที่ 4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดบด

A. รูปร่างของดอกเห็ด
B. ผิวหมวกดอกเห็ด
C. ครีบดอก
D. สีของสปอร์พิมพ์
E. เส้นใยไดคาริออน (10x100)
F. เบซิดิโอสปอร์ (10x40)



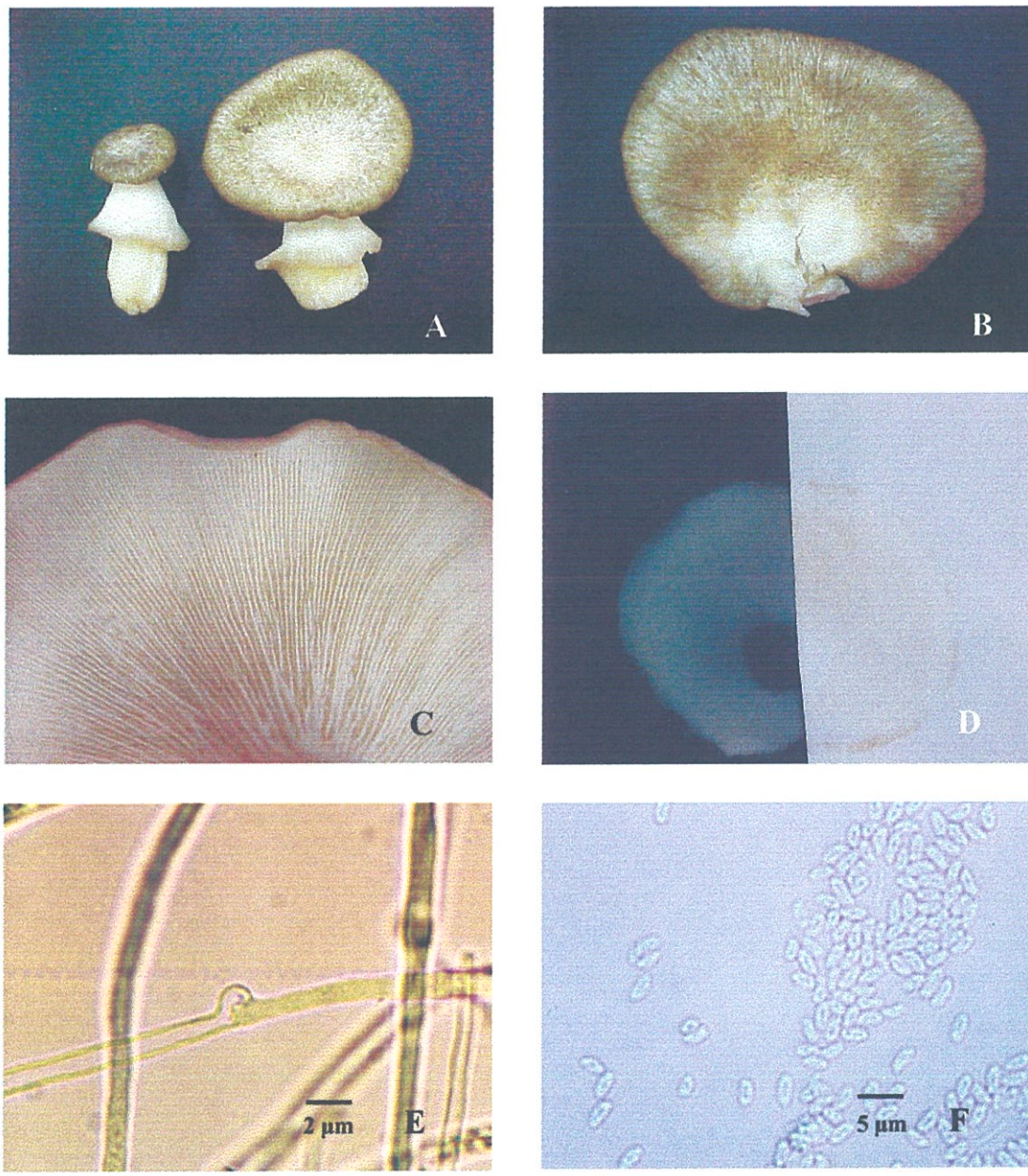
ภาพที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดหูกวาง

A. รูปร่างของดอกเห็ด
B. รูปร่างของดอกเห็ดอ่อน
C. ครีบดอก
D. สีของสปอร์พิมพ์
E. เส้นใยไดคาริออน (10x100)
F. เบซิดิโอสปอร์ (10x40)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดโต่งฝน

A. รูปร่างของดอกเห็ด
B. ผิวหมวกดอกเห็ด
C. ครีบดอก
D. สีของสปอร์พิมพ์
E. เส้นใยไดคาริออน (10x100)
F. เบซิดิโอสปอร์ (10x40)



ภาพที่ 4.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเห็ดตีนปลอก

A. รูปร่างของดอกเห็ด
B. ผิวหมวกดอกเห็ด
C. ครีบดอก
D. สีของสปอร์พิมพ์
E. เส้นใยไดคาริออน (10x100)
F. เบซิดิโอสปอร์ (10x40)

4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

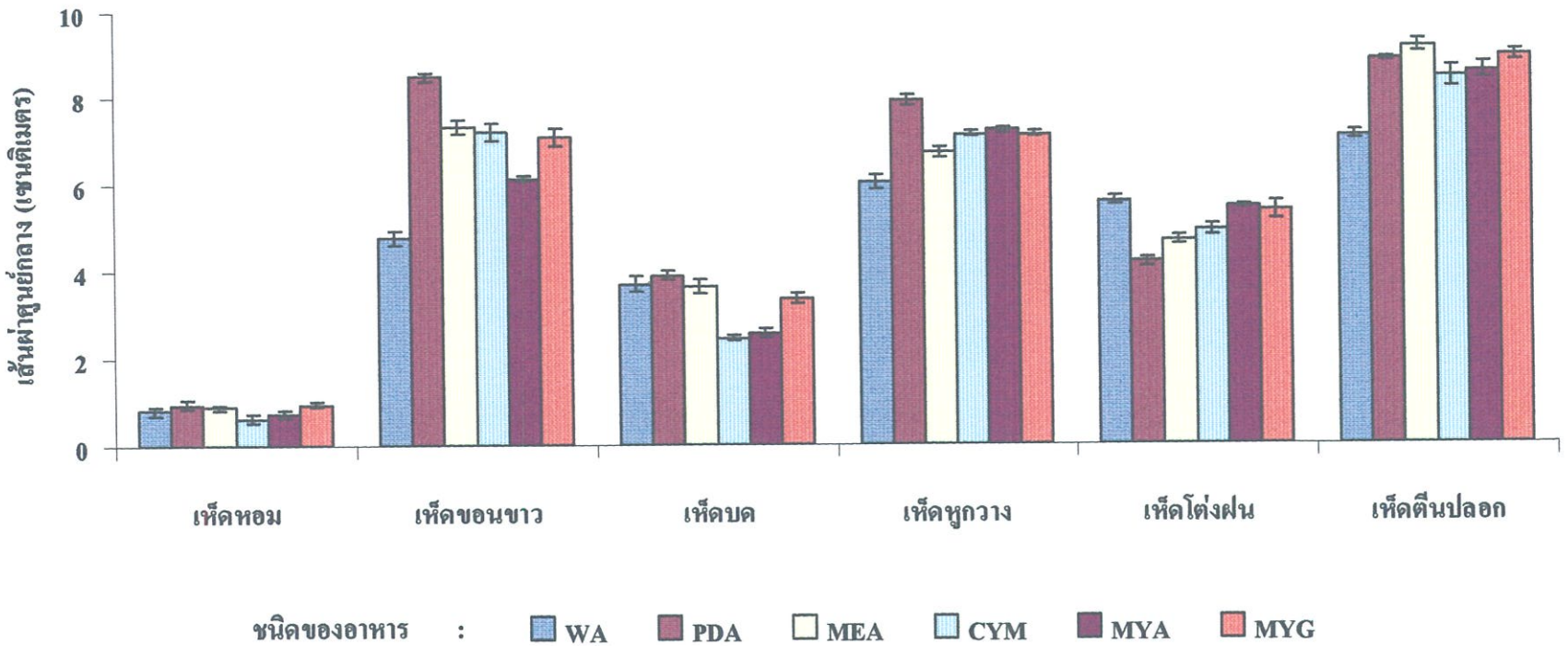
4.2.1 ชนิดของอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก โดยเลี้ยงเส้นใยบนอาหาร WA, PDA, MEA, CYM, MYA และ MYG บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำ 3 ซ้ำ จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์ของโคโลนีของเห็ดแต่ละชนิด (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.7) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลทำให้เส้นใยโมโนคาริออนมีการเจริญเติบโตได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของเห็ดแต่ละชนิดโดยใช้วิธี DMRT พบว่า เห็ดหอมสามารถเจริญเติบโตดีที่สุดบนอาหาร MYG, PDA และ MEA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 0.94, 0.93 และ 0.87 เซนติเมตร ตามลำดับ เห็ดโต่งฝนที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร WA, MYA และ MYG มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 5.60, 5.46 และ 5.40 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับเห็ดขอนขาว เห็ดบด และเห็ดหูกวางสามารถเจริญเติบโตดีที่สุดบนอาหาร PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 8.50, 3.90 และ 7.93 เซนติเมตร ตามลำดับ และเห็ดตีนปลอกสามารถเจริญเติบโตดีที่สุดบนอาหาร MEA คือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 9.16 เซนติเมตร

ตารางที่ 4.2 ผลของชนิดของอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก เมื่อบ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

อาหาร	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (เซนติเมตร)					
	เห็ดหอม	เห็ดขอนขาว	เห็ดบด	เห็ดหูกวาง	เห็ดโต่งฝน	เห็ดตีนปลอก
WA	1.10^{b}	4.76^{d}	3.70^{ab}	6.03^{d}	5.60^{a}	7.10^{c}
PDA	1.40^{a}	8.50^{a}	3.90^{a}	7.93^{a}	4.20^{d}	8.86^{bc}
MEA	1.33^{a}	7.33^{b}	3.63^{b}	6.67^{c}	4.70^{c}	9.16^{a}
CYM	0.97^{c}	7.20^{b}	2.43^{d}	7.13^{b}	4.93^{b}	8.46^{d}
MYA	1.20^{b}	6.13^{c}	2.56^{d}	7.23^{b}	5.46^{a}	8.60^{cd}
MYG	1.43^{a}	7.10^{b}	3.36^{c}	7.13^{b}	5.40^{a}	8.93^{ab}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05



ภาพที่ 4.7 การศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

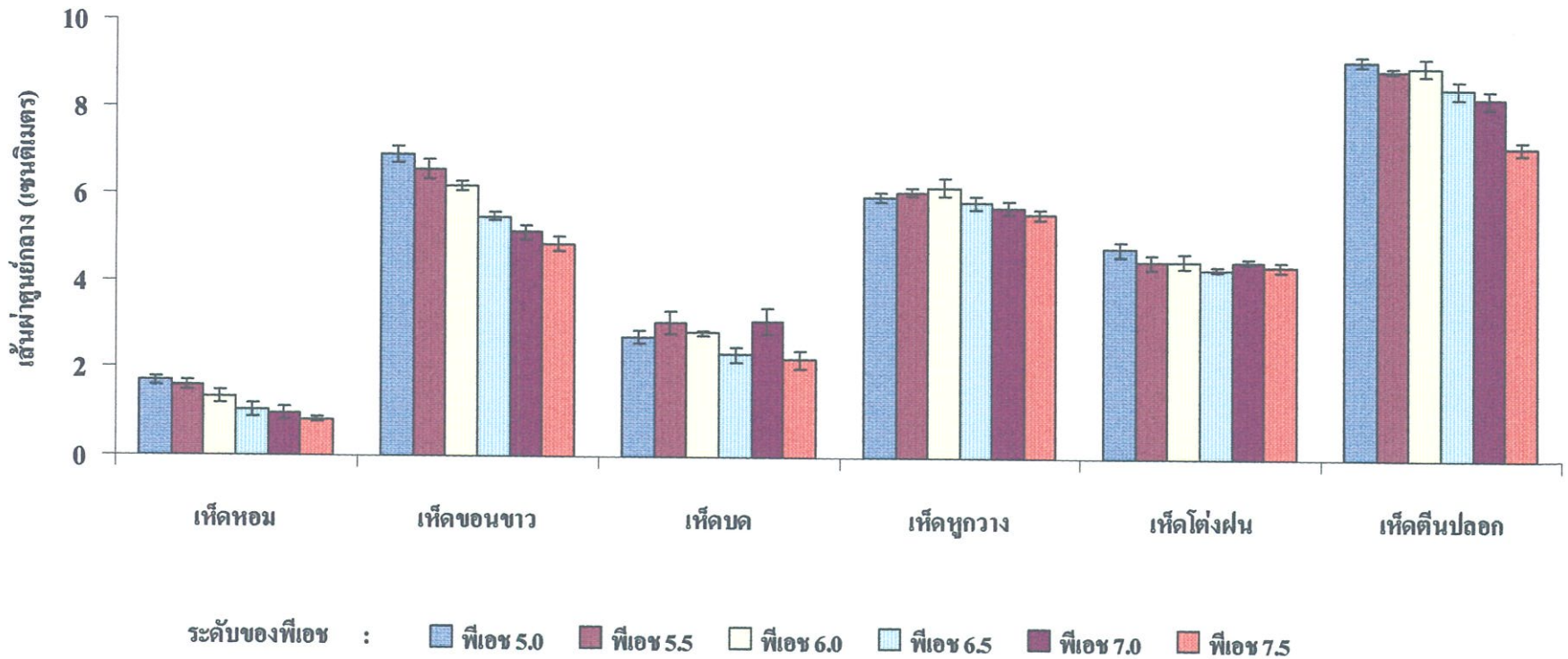
4.2.2 ระดับพีเอชที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

เมื่อทำการหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนได้แล้ว นำผลที่ได้มาศึกษาหาค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยต่อไป โดยเลี้ยงเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมและเห็ดโต่งฝนบนอาหาร MYG สำหรับเห็ดขอนขาว เห็ดบด และเห็ดหูกวาง เลี้ยงบนอาหาร PDA และเห็ดตีนปลอกเลี้ยงบนอาหาร MEA ที่พีเอชต่างๆ กันคือ 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำ 3 ซ้ำ จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแต่ละชนิด (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.8) นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลทำให้เส้นใยโมโนคาริออนมีการเจริญเติบโตได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี โดยใช้วิธี DMRT พบว่าเห็ดหอมและเห็ดขอนขาว เจริญเติบโตดีที่สุดที่พีเอช 5.0 และ 5.5 โดยเห็ดหอมมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 1.70 และ 1.60 ซม. ตามลำดับ และเห็ดขอนขาว มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.90 และ 6.56 ซม. ตามลำดับ เห็ดบดเจริญเติบโตดีที่สุดที่พีเอช 5.0, 5.5, 6.0 และ 7.0 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.76, 3.06, 2.83 และ 3.10 ซม. ตามลำดับ เห็ดหูกวางสามารถเจริญเติบโตดีที่สุดที่พีเอช 5.0, 5.5 และ 6.0 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 5.96, 6.10 และ 6.20 ซม. ตามลำดับ เห็ดโต่งฝนสามารถเจริญเติบโตดีที่สุดที่พีเอช 5.0 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 4.80 ซม. และเห็ดตีนปลอกเจริญเติบโตดีที่สุดที่พีเอช 5.0, 6.0 และ 5.5 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.13, 9.0 และ 8.93 ซม. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

พีเอช	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (เซนติเมตร)					
	เห็ดหอม	เห็ดขอนขาว	เห็ดบด	เห็ดหูกวาง	เห็ดโต่งฝน	เห็ดตีนปลอก
pH 5.0	1.70^{a}	6.90^{a}	2.76^{ab}	5.96^{abc}	4.80^{a}	9.13^{a}
pH 5.5	1.60^{a}	6.56^{a}	3.06^{a}	6.10^{ab}	4.50^{b}	8.93^{a}
pH 6.0	1.33^{b}	6.10^{b}	2.83^{ab}	6.20^{a}	4.53^{b}	9.00^{a}
pH 6.5	1.03^{c}	5.50^{c}	2.63^{b}	5.86^{bc}	4.33^{b}	8.50^{b}
pH 7.0	0.96^{c}	5.10^{d}	3.10^{a}	5.73^{cd}	4.53^{b}	8.26^{b}
pH 7.5	0.83^{c}	4.90^{d}	2.23^{c}	5.60^{d}	4.40^{b}	7.16^{c}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05



ภาพที่ 4.8 การศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

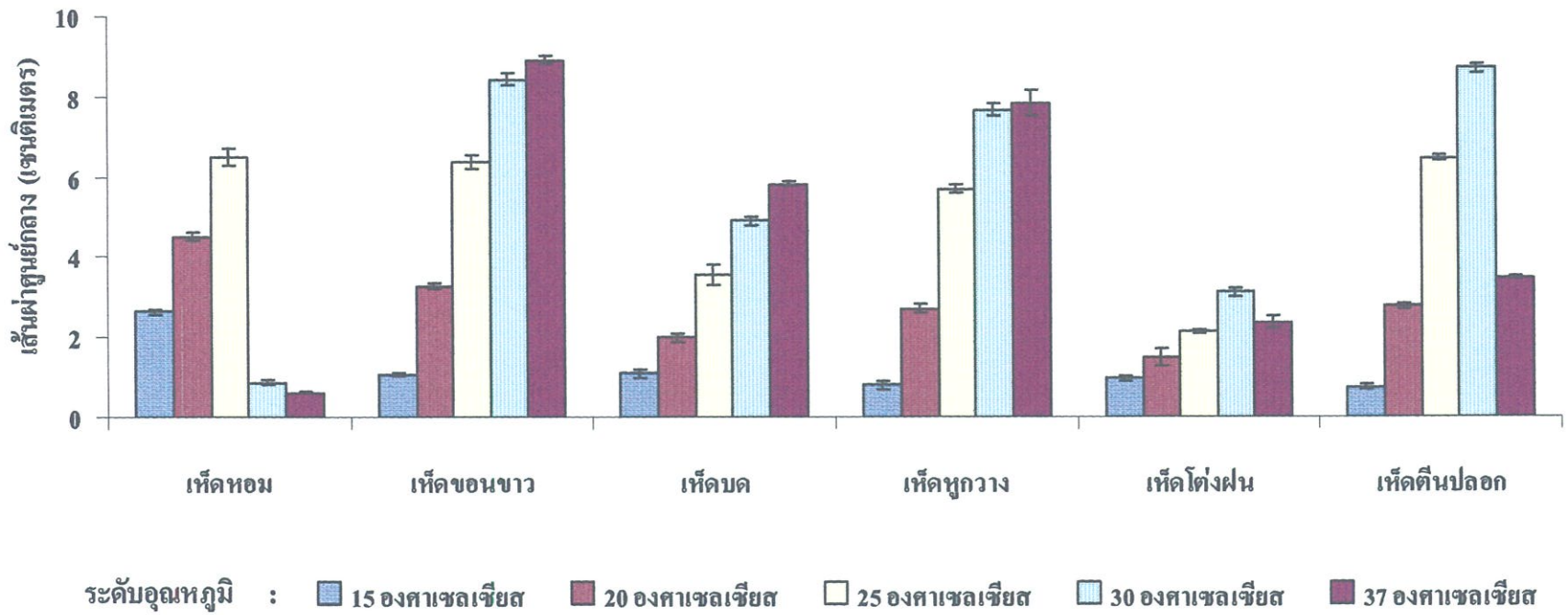
4.2.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

เมื่อทำการหาอาหารเลี้ยงเชื้อและพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนได้แล้ว นำผลที่ได้มาศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยต่อไป โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดหอมบนอาหาร MYG พีเอช 5.0 เห็ดขอนขาวเลี้ยงเส้นใยบนอาหาร PDA พีเอช 5.0 เห็ดบดเลี้ยงเส้นใยบนอาหาร PDA พีเอช 5.5 เห็ดหูกวางเลี้ยงเส้นใยบนอาหาร PDA พีเอช 6.0 เห็ดโต่งฝนเลี้ยงเส้นใยบนอาหาร MYG พีเอช 5.0 และเห็ดตีนปลอกเลี้ยงเส้นใยบนอาหาร MEA พีเอช 5.0 ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 15, 20, 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเห็ดแต่ละชนิด (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.9) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าอุณหภูมิมีผลทำให้เส้นใยโมโนคาริออนมมีการเจริญเติบโตได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเห็ดแต่ละชนิดโดยใช้วิธี DMRT พบว่า เห็ดหอมเจริญเติบโตสูงสุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.5 เซนติเมตร สำหรับเห็ดขอนขาว และเห็ดบด เจริญเติบโตสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.90 และ 5.83 เซนติเมตร ตามลำดับ เห็ดหูกวาง สามารถเจริญเติบโตสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.66 และ 7.83 เซนติเมตร ตามลำดับ และเห็ดโต่งฝนและตีนปลอกเจริญเติบโตสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 3.10 และ 8.70 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน

อุณหภูมิ	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย (เซนติเมตร)					
	เห็ดหอม	เห็ดขอนขาว	เห็ดบด	เห็ดหูกวาง	เห็ดโต่งฝน	เห็ดตีนปลอก
15 °C	2.63^{c}	1.06^{e}	1.10^{e}	0.80^{d}	0.96^{e}	0.73^{e}
20 °C	4.50^{b}	3.26^{d}	2.00^{d}	2.70^{c}	1.50^{d}	2.76^{d}
25 °C	6.50^{a}	6.36^{c}	3.53^{c}	5.70^{b}	2.13^{c}	6.46^{b}
30 °C	0.86^{d}	8.43^{b}	4.90^{b}	7.66^{a}	3.10^{a}	8.70^{a}
37 °C	0.61^{e}	8.90^{a}	5.83^{a}	7.83^{a}	2.36^{b}	3.46^{c}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05



ภาพที่ 4.9 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอม เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน

4.3 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดหอมและเห็ดชนิดต่างๆ ในสกุล *Lentinus*

4.3.1 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดหอม

จากการผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมจำนวน 12 สายพันธุ์แบบพบกันหมด ได้ผลการผสมพันธุ์ดังตารางที่ 4.5 และเมื่อคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดได้เท่ากับ 32:144 หรือเท่ากับ 1:4.5 หรือเท่ากับ 1:4 จึงแสดงว่าเห็ดหอมมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism

ตารางที่ 4.5 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอมจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนอาหาร MEA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
6	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
9	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
10	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
11	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
12	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-

\+ หมายถึง สามารถผสมพันธุ์กันได้ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- หมายถึง ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

จากตารางสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความสามารถในการผสมพันธุ์กันได้และผสมพันธุ์กันไม่ได้ รวมทั้งจากการตรวจดูลักษณะโคโลนีของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ตรงบริเวณที่เส้นใยของคู่ผสมเจริญมาพบกัน (compatible, overlap, barrage และ flat) ตามหลักของ Papazian (1950) (ภาพที่ 4.10 และตารางที่ 4.6) เพื่อหาชนิดของ mating type ของสายพันธุ์โมโนคาริออนแต่ละกลุ่มได้ผลต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 11 และ 12 มี mating type แบบ A_1B_1

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 9 และ 10 มี mating type แบบ A_2B_1

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1, 3, 6 และ8 มี mating type แบบ A_1B_2

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2 , 4, 5 และ 7 มี mating type แบบ A_2B_2

ตารางที่ 4.6 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนอาหาร MEA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์

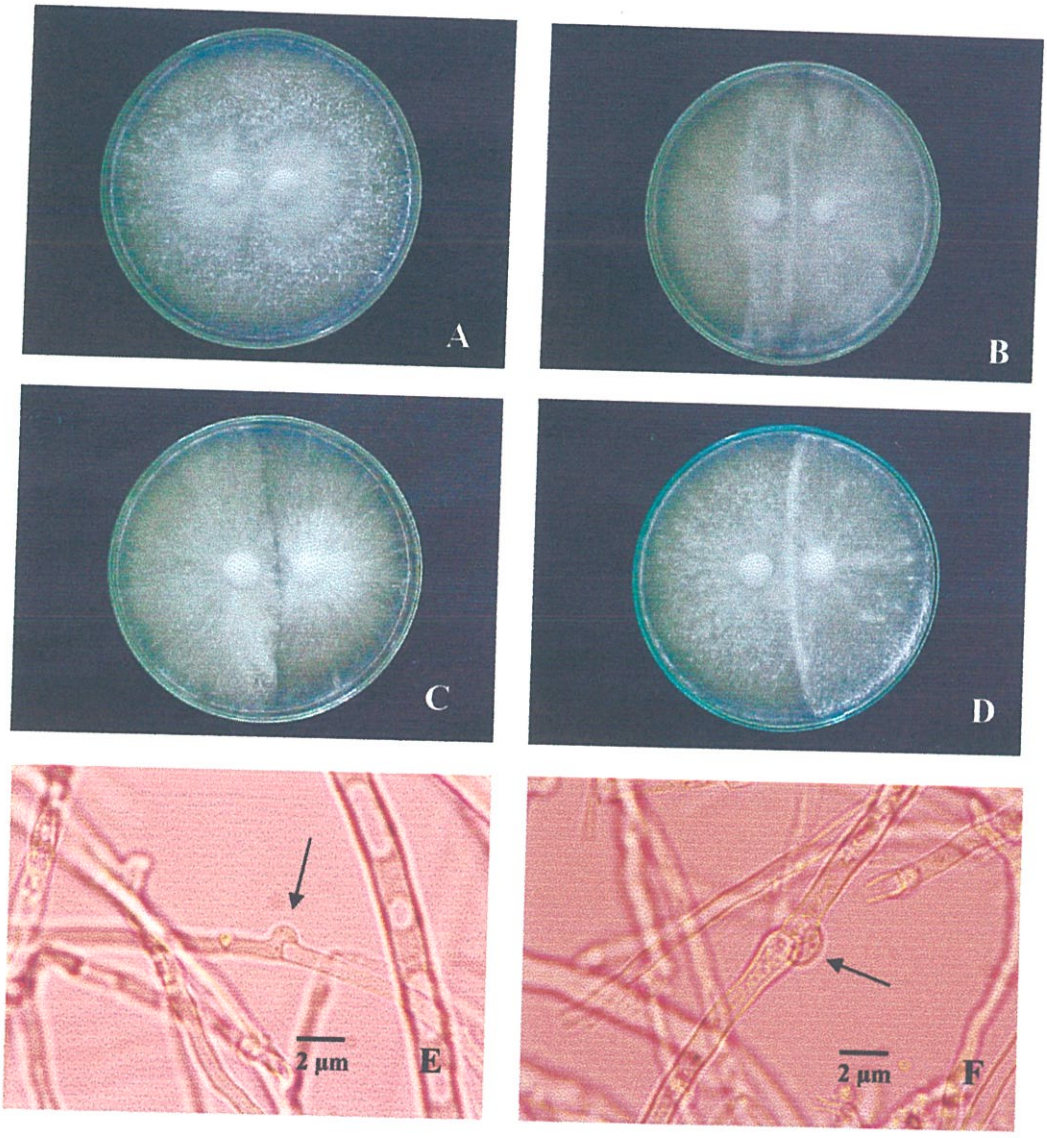
mating type		A_1B_1		A_2B_1		A_1B_2				A_2B_2			
		11	12	9	10	1	3	6	8	2	4	5	7
A_1B_1	11	-	-	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+
	12	-	-	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+
A_2B_1	9	(+)	(+)	-	-	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
	10	(+)	(+)	-	-	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
A_1B_2	1	(-)	(-)	+	+	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
	3	(-)	(-)	+	+	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
	6	(-)	(-)	+	+	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
	8	(-)	(-)	+	+	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
A_2B_2	2	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	4	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	5	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	7	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-

\+ แทน compatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- แทน incompatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

(+) แทน barrage หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นที่ไม่สมบูรณ์ (false clamp)

(-) แทน flat หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น



ภาพที่ 4.10 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอม (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร MEA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์

A. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 7x12 (clamp connection, A≠B≠)

B. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x6 (overlap, A=B=)

C. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 9x11 (barrage, A≠B=)

D. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 8x12 (flat, A=B≠)

E. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่น (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 7x12

F. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูรณ์ (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 9x11

4.3.2 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดขอนขาว

จากการผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดขอนขาวจำนวน 12 สายพันธุ์แบบพบกันหมด ได้ผลการผสมพันธุ์ดังตารางที่ 4.7 และเมื่อคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดได้เท่ากับ 36:144 หรือเท่ากับ 1:4 จึงแสดงว่าเห็ดขอนขาวมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism

ตารางที่ 4.7 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
2	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
3	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
5	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
6	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
7	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
8	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
9	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
10	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
11	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
12	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-

\+ หมายถึง สามารถผสมพันธุ์กันได้ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- หมายถึง ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

จากตารางสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความสามารถในการผสมพันธุ์กันได้และผสมพันธุ์กันไม่ได้ รวมทั้งจากการตรวจดูลักษณะโคโลนีของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ตรงบริเวณที่เส้นใยของคู่ผสมเจริญมาพบกัน (compatible, overlap, barrage และ flat) ตามหลักของ Papazian (1950) (ภาพที่ 4.11 และตารางที่ 4.8) เพื่อหาชนิดของ mating type ของสายพันธุ์โมโนคาริออนแต่ละกลุ่มได้ผลต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1 และ 9 มี mating type แบบ A_1B_1

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2, 6 10 และ 12 มี mating type แบบ A_2B_1

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3, 4 และ8 มี mating type แบบ A_2B_2

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5, 7 และ 11 มี mating type แบบ A_1B_2

ตารางที่ 4.8 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดขอนขาวจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

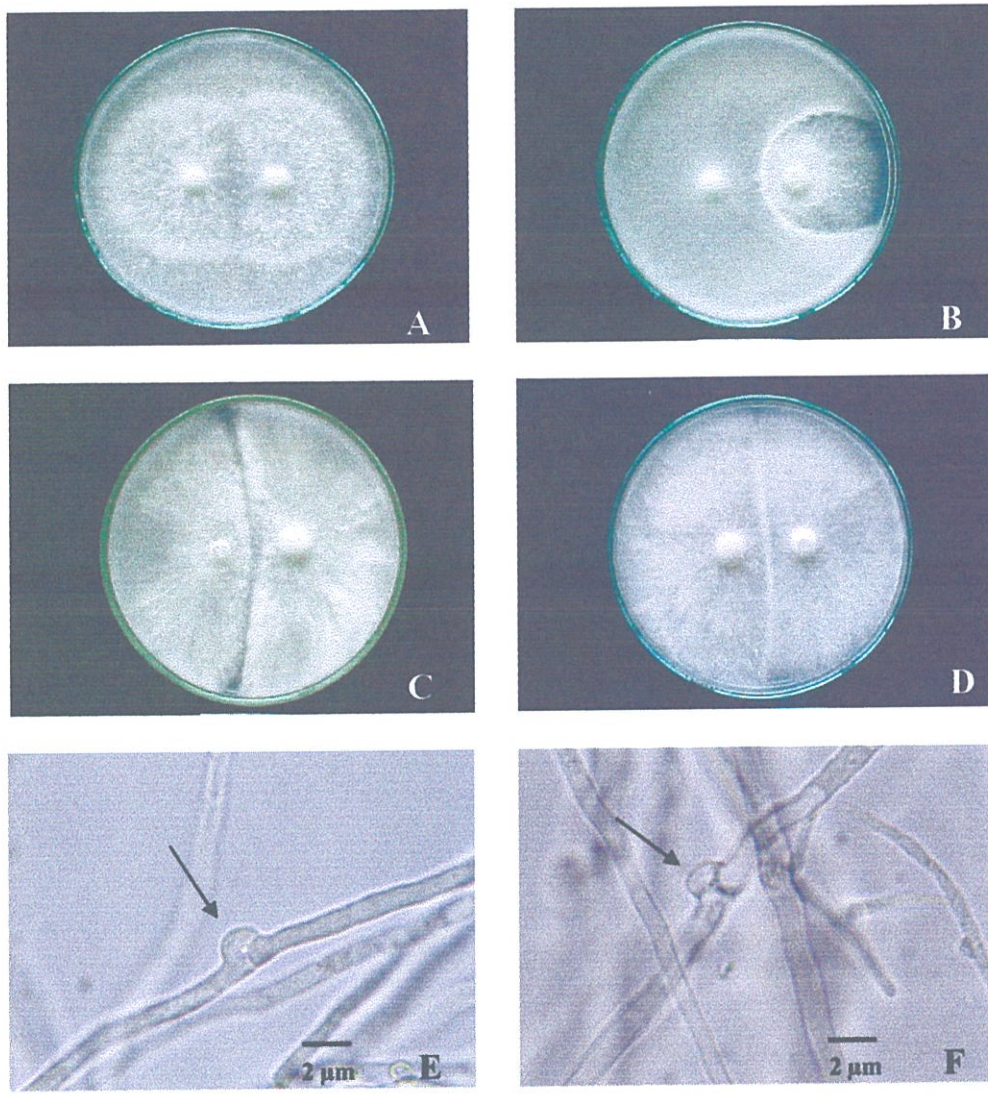
mating type		A_1B_1		A_2B_1				A_2B_2			A_1B_2		
		1	9	2	6	10	12	3	4	8	5	7	11
A_1B_1	1	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)	(-)	(-)
	9	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)	(-)	(-)
A_2B_1	2	(+)	(+)	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
	6	(+)	(+)	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
	10	(+)	(+)	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
	12	(+)	(+)	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
A_2B_2	3	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)	(+)	(+)
	4	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)	(+)	(+)
	8	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)	(+)	(+)
A_1B_2	5	(-)	(-)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	7	(-)	(-)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	11	(-)	(-)	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-

\+ แทน compatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- แทน incompatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

(+) แทน barrage หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นที่ไม่สมบูรณ์ (false clamp)

(-) แทน flat หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น



ภาพที่ 4.11 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาว (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

A. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x8 (clamp connection, A≠B≠)

B. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x9 (overlap, A=B=)

C. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x2 (barrage, A≠B=)

D. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 9x11 (flat, A=B≠)

E. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่น (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x8

F. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูรณ์ (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x2

4.3.3 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดบด

จากการผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบดจำนวน 12 สายพันธุ์แบบพบกันหมด ได้ผลการผสมพันธุ์ดังตารางที่ 4.9 และเมื่อคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดได้เท่ากับ 36:144 หรือเท่ากับ 1:4 จึงแสดงว่าเห็ดบดมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism

ตารางที่ 4.9 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนจานอาหารPDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
2	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
3	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
4	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
7	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
9	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
10	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
11	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
12	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

\+ หมายถึง สามารถผสมพันธุ์กันได้ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- หมายถึง ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

จากตารางสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความสามารถในการผสมพันธุ์กันได้และผสมพันธุ์กันไม่ได้ รวมทั้งจากการตรวจดูลักษณะโคโลนีของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ตรงบริเวณที่เส้นใยของคู่ผสมเจริญมาพบกัน (compatible, overlap, barrage และ flat) ตามหลักของ Papazian (1950) (ภาพที่ 4.12 และตารางที่ 4.10) เพื่อหาชนิดของ mating type ของ สายพันธุ์โมโนคาริออนแต่ละกลุ่มได้ผลต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1, 2 และ 6 มี mating type แบบ A_1B_1
กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3, 4, 11 และ 12 มี mating type แบบ A_2B_2
กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5, 8 และ 9 มี mating type แบบ A_2B_1
กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7 และ 10 มี mating type แบบ A_1B_2

ตารางที่ 4.10 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบดจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

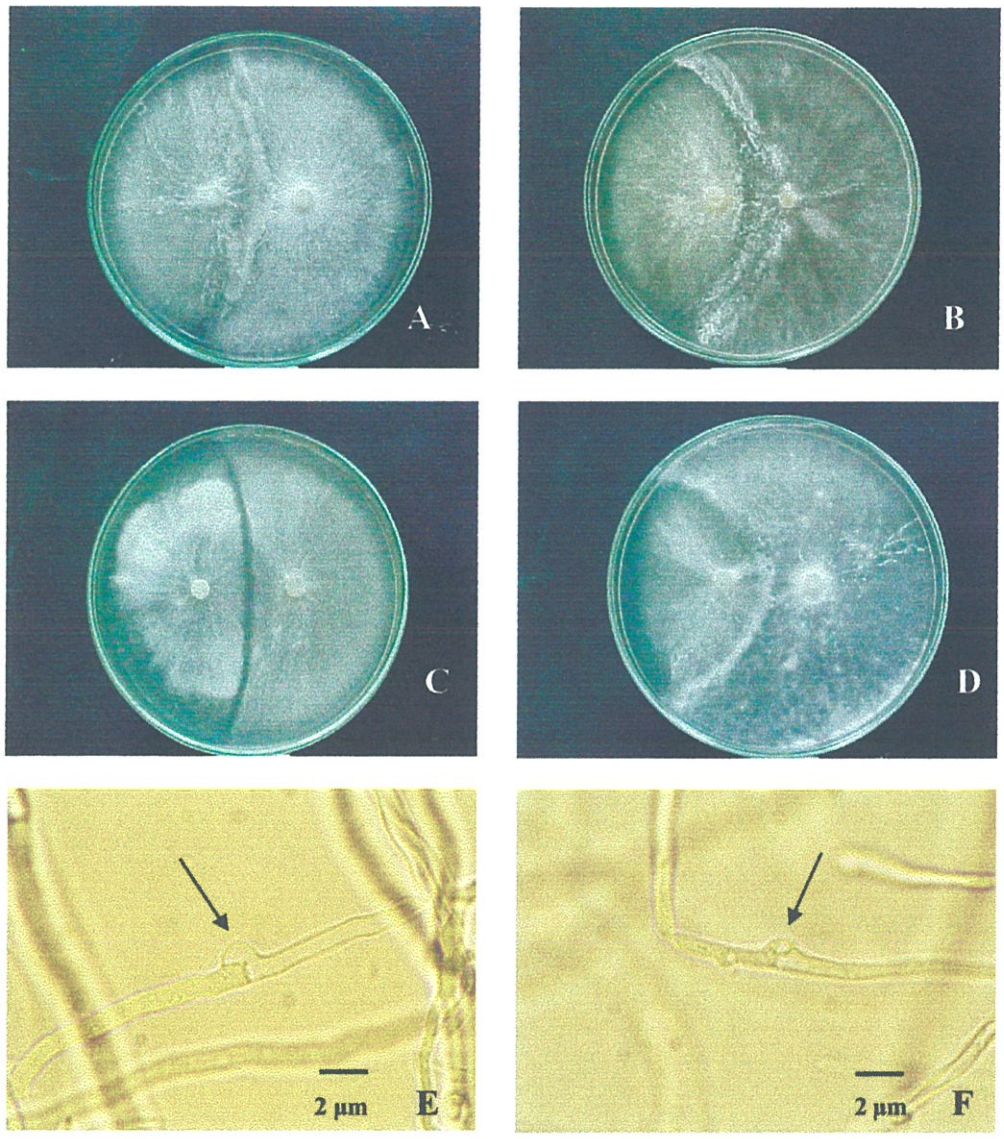
mating type		A_1B_1			A_2B_2				A_2B_1			A_1B_2	
		1	2	6	3	4	11	12	5	8	9	7	10
A_1B_1	1	-	-	-	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	2	-	-	-	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	6	-	-	-	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
A_2B_2	3	+	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	4	+	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	11	+	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	12	+	+	+	-	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
A_2B_1	5	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	+	+
	8	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	+	+
	9	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	-	-	-	+	+
A_1B_2	7	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	-	-
	10	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	-	-

\+ แทน compatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- แทน incompatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

(+) แทน barrage หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นที่ไม่สมบูรณ์ (false clamp)

(-) แทน flat หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น



ภาพที่ 4.12 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบด (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

A. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x12 (clamp connection, A≠B≠)

B. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x2 (overlap, A=B=)

C. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 6x9 (barrage, A≠B=)

D. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 2x7 (flat, A=B≠)

E. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่น (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x12

F. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูรณ์ (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 6x9

4.3.4 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดหูกวาง

จากการผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวางจำนวน 12 สายพันธุ์แบบพบกันหมด ได้ผลการผสมพันธุ์ดังตารางที่ 4.11 และเมื่อคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดได้เท่ากับ 36:144 หรือเท่ากับ 1:4 จึงแสดงว่าเห็ดหูกวางมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism

ตารางที่ 4.11 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวางจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนจานอาหารPDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
4	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
5	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
6	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
7	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
8	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
9	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
10	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
11	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
12	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-

\+ หมายถึง สามารถผสมพันธุ์กันได้ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- หมายถึง ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

จากตารางสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความสามารถในการผสมพันธุ์กันได้และผสมพันธุ์กันไม่ได้ รวมทั้งจากการตรวจดูลักษณะโคโลนีของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ตรงบริเวณที่เส้นใยของคู่ผสมเจริญมาพบกัน (compatible, overlap, barrage และ flat) ตามหลักของ Papazian (1950) (ภาพที่ 4.13 และตารางที่ 4.12) เพื่อหาชนิดของ mating type ของสายพันธุ์โมโนคาริออนแต่ละกลุ่มได้ผลต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1, 4, 8, 11 และ 12 มี mating type แบบ A_1B_1
กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2, 5 และ 9 มี mating type แบบ A_2B_1
กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3, 7 และ 10 มี mating type แบบ A_2B_2
กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 6 มี mating type แบบ A_1B_2

ตารางที่ 4.12 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวางจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

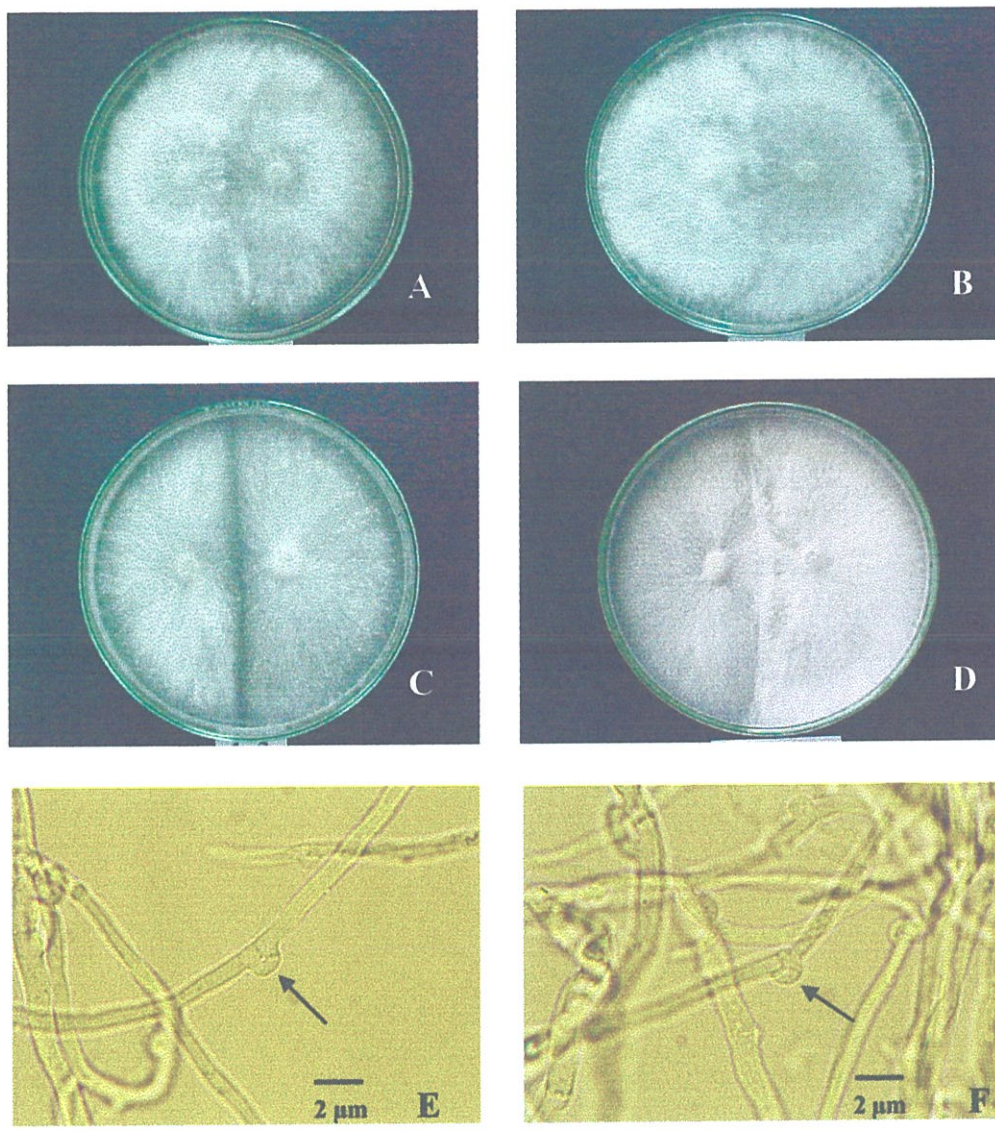
mating type		A_1B_1					A_2B_1			A_2B_2			A_1B_2
		1	4	8	11	12	2	5	9	3	7	10	6
A_1B_1	1	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)
	4	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)
	8	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)
	11	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)
	12	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)
A_2B_1	2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+
	5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+
	9	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+
A_2B_2	3	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)
	7	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)
	10	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)
A_1B_2	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-

\+ แทน compatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- แทน incompatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

(+) แทน barrage หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นที่ไม่สมบูรณ์ (false clamp)

(-) แทน flat หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น



ภาพที่ 4.13 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวาง (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

A. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 10x11 (clamp connection, A≠B≠)

B. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x8 (overlap, A=B=)

C. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x5 (barrage, A≠B=)

D. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 6x12 (flat, A=B≠)

E. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่น (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 10x11

F. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูรณ์ (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x5

4.3.5 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดโต่งฝน

จากการผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝนจำนวน 12 สายพันธุ์แบบพบกันหมด ได้ผลการผสมพันธุ์ดังตารางที่ 4.13 และเมื่อคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดได้เท่ากับ 36:144 หรือเท่ากับ 1:4 จึงแสดงว่าเห็ดโต่งฝนมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism

ตารางที่ 4.13 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
3	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
5	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
6	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
7	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
8	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
11	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
12	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

\+ หมายถึง สามารถผสมพันธุ์กันได้ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- หมายถึง ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

จากตารางสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความสามารถในการผสมพันธุ์กันได้และผสมพันธุ์กันไม่ได้ รวมทั้งจากการตรวจดูลักษณะโคโลนีของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ตรงบริเวณที่เส้นใยของคู่ผสมเจริญมาพบกัน (compatible, overlap, barrage และ flat) ตามหลักของ Papazian (1950) (ภาพที่ 4.14 และตารางที่ 4.14) เพื่อหาชนิดของ mating type ของสายพันธุ์โมโนคาริออนแต่ละกลุ่มได้ผลต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1, 4 และ 5 มี mating type แบบ A_1B_1

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2, 9 และ 10 มี mating type แบบ A_2B_1

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3, 7 และ 8 มี mating type แบบ A_2B_2

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 6, 11 และ 12 มี mating type แบบ A_1B_2

ตารางที่ 4.14 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝนจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

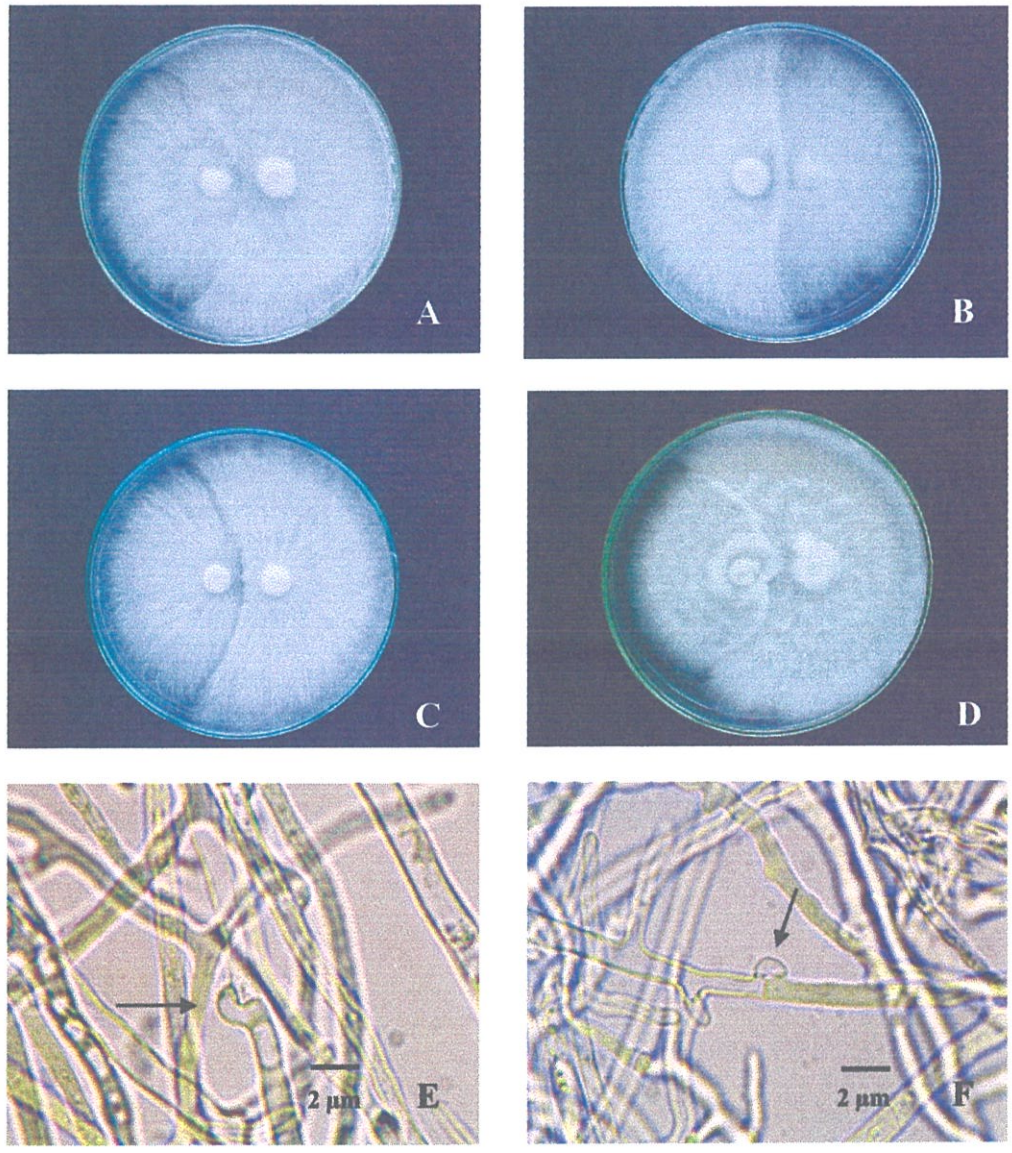
mating type		A_1B_1			A_2B_1			A_2B_2			A_1B_2		
		1	4	5	2	9	10	3	7	8	6	11	12
A_1B_1	1	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)	(-)	(-)
	4	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)	(-)	(-)
	5	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(-)	(-)	(-)
A_2B_1	2	(+)	(+)	(+)	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
	9	(+)	(+)	(+)	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
	10	(+)	(+)	(+)	-	-	-	(-)	(-)	(-)	+	+	+
A_2B_2	3	+	+	+	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)	(+)	(+)
	7	+	+	+	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)	(+)	(+)
	8	+	+	+	(-)	(-)	(-)	-	-	-	(+)	(+)	(+)
A_1B_2	6	(-)	(-)	(-)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	11	(-)	(-)	(-)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	12	(-)	(-)	(-)	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-

\+ แทน compatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- แทน incompatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

(+) แทน barrage หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นที่ไม่สมบูรณ์ (false clamp)

(-) แทน flat หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น



ภาพที่ 4.14 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝน (บางคู่ผสม) บนจานอาหารPDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

A. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x8 (clamp connection, A≠B≠)

B. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x5 (overlap, A=B=)

C. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x10 (barrage, A≠B=)

D. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x6 (flat, A=B≠)

E. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่น (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x8

F. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูรณ์ (ลูกศรชี้) ของผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x10

4.3.6 ผลการศึกษาระบบเพศของเห็ดตีนปลอก

จากการผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดตีนปลอกจำนวน 12 สายพันธุ์แบบพบกันหมด ได้ผลการผสมพันธุ์ดังตารางที่ 4.15 และเมื่อคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างคู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมเข้ากันได้ต่อจำนวนคู่ผสมพันธุ์ทั้งหมดได้เท่ากับ 36:144 หรือเท่ากับ 1:4 จึงแสดงว่าเห็ดตีนปลอกมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism

ตารางที่ 4.15 การผสมพันธุ์เส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด บนจานอาหารPDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
2	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
3	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
4	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
5	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
6	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
7	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
9	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

\+ หมายถึง สามารถผสมพันธุ์กันได้ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- หมายถึง ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

จากตารางสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์โมโนคาริออนทั้ง 12 สายพันธุ์ ได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความสามารถในการผสมพันธุ์กันได้และผสมพันธุ์กันไม่ได้ รวมทั้งจากการตรวจดูลักษณะโคโลนีของแต่ละคู่ผสมพันธุ์ตรงบริเวณที่เส้นใยของคู่ผสมเจริญมาพบกัน (compatible, overlap, barrage และ flat) ตามหลักของ Papazian (1950) (ภาพที่ 4.15 และตารางที่ 4.16) เพื่อหาชนิดของ mating type ของสายพันธุ์โมโนคาริออนแต่ละกลุ่มได้ผลต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1, 3 และ 5 มี mating type แบบ A_1B_1

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2 และ 4 มี mating type แบบ A_2B_1

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7, 9 และ10 มี mating type แบบ A_1B_2

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 6, 8, 11และ 12 มี mating type แบบ A_2B_2

ตารางที่ 4.16 การจัดกลุ่มและแสดง mating type ของการผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดตีนปลอกจำนวน 12 สายพันธุ์ แบบพบกันหมดทุกคู่ บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยของคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

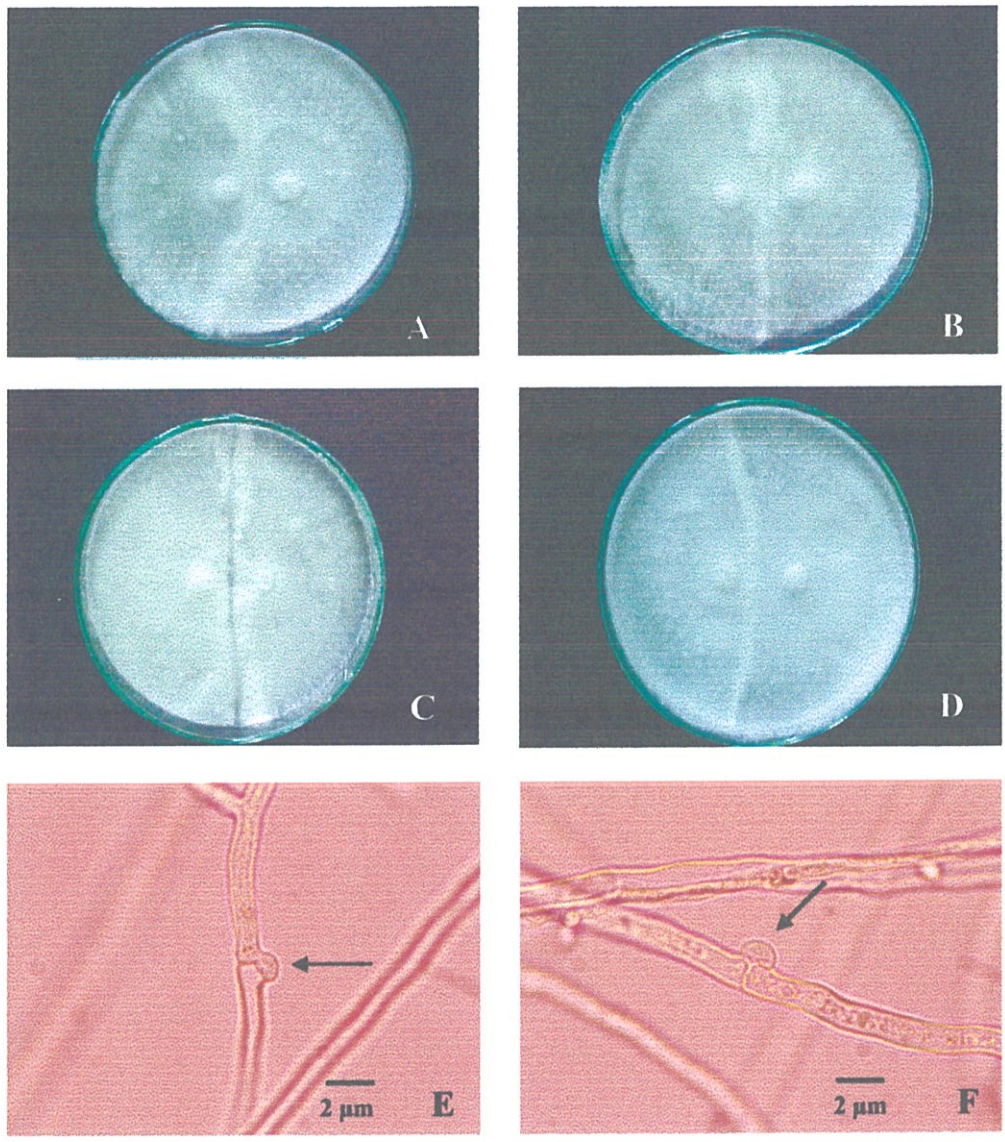
mating type		A_1B_1			A_2B_1		A_1B_2			A_2B_2			
		1	3	5	2	4	7	9	10	6	8	11	12
A_1B_1	1	-	-	-	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+
	3	-	-	-	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+
	5	-	-	-	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+
A_2B_1	2	(+)	(+)	(+)	-	-	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(+)	(+)	(+)	-	-	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)
A_1B_2	7	(-)	(-)	(-)	+	+	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
	9	(-)	(-)	(-)	+	+	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
	10	(-)	(-)	(-)	+	+	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)
A_2B_2	6	+	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	8	+	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	11	+	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-
	12	+	+	+	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-

\+ แทน compatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

\- แทน incompatible หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น

(+) แทน barrage หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียว มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่นที่ไม่สมบูรณ์ (false clamp)

(-) แทน flat หมายถึง คู่ผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้เพียงครึ่งเดียวไม่มีการสร้างแคลมป์คอนเนคชั่น



ภาพที่ 4.15 ลักษณะโคโลนีของคู่ผสมพันธุ์ของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอก (บางคู่ผสม) บนจานอาหาร PDA เมื่อบ่มเส้นใยคู่ผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

A. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x6 (clamp connection, A≠B≠)

B. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x5 (overlap, A=B=)

C. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x5 (barrage, A≠B=)

D. คู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x10 (flat, A=B≠)

E. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่น (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 1x6

F. ลักษณะแคลมป์คอนเนคชั่นไม่สมบูรณ์ (ลูกศรชี้) ของคู่ผสมพันธุ์สายพันธุ์ 4x5

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นทั้งภายนอกและภายใน ของเห็ดบางชนิดในสกุล *Lentinus* ซึ่งได้แก่ เห็ดขอนขาว เห็ดบด เห็ดหูกวาง เห็ดโต่งฝน และเห็ดตีนปลอก พบว่าเห็ดในสกุลนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นเหมือนกันเป็นส่วนใหญ่ แต่ต่างกันเล็กน้อยในส่วนต่างๆ คือ ลักษณะหมวกดอกเห็ด ซึ่งได้แก่ ขนาด สี และผิวของหมวกดอกเห็ด พบว่ามีขนาดของหมวกดอกใกล้เคียงกัน ยกเว้นเห็ดโต่งฝนที่มีขนาดหมวกดอกใหญ่กว่าเห็ดชนิดอื่นๆ หมวกดอกเห็ดมีสีเหลืองครีมจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ทั้งนี้สีของหมวกดอกเห็ดในเห็ดชนิดเดียวกันอาจจะมีลักษณะแตกต่างกันได้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและอายุของดอกเห็ด เช่น เมื่อเห็ดบดอยู่ในที่มีแสงหรืออากาศหนาวเย็นหมวกดอกเห็ดจะมีสีน้ำตาลเข้มมาก (อานนท์. 2540) และหมวกดอกเห็ดอ่อนของเห็ดหูกวางจะมีสีน้ำตาลอมม่วงแดงและสีค่อยๆ จางจนเป็นสีน้ำตาลอ่อนซึ่งตรงกับรายงานของอนงค์ (2535) เห็ดขอนขาว และเห็ดโต่งฝน ผิวของหมวกดอกเป็นเกล็ดสีเทาเข้ม เห็ดบด และเห็ดหูกวาง ผิวของหมวกดอกเป็นขน สำหรับเห็ดตีนปลอกผิวของหมวกดอกเห็ดเป็นแบบเรียบ นอกจากนี้เห็ดทุกชนิดมีก้านดอกเป็นรูปทรงกระบอก สีก้านดอกมีสีขาวครีมจนถึงสีน้ำตาลเทา และมีความยาวก้านดอกใกล้เคียงกัน ยกเว้นเห็ดโต่งฝนที่มีขนาดยาวกว่าเห็ดชนิดอื่นๆ จำนวนครีบดอกของเห็ดทุกชนิดเท่ากับ 19-24 ครีบ ต่อความกว้าง 1 เซนติเมตร ยกเว้นเห็ดโต่งฝนที่มีจำนวนครีบดอกเฉลี่ย 11 ครีบต่อเซนติเมตร สปอร์พิมพ์เห็ดมีสีขาวครีม ยกเว้นเห็ดขอนขาวที่มีสีเหลืองครีม รูปร่างสปอร์เป็นรูปรีเหมือนกัน มีขนาดสปอร์ใกล้เคียงกัน จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดหอม พบว่าหมวกดอกมีลักษณะคล้ายร่ม ซึ่งต่างจากเห็ดในสกุล *Lentinus* ชนิดต่างๆ ที่ศึกษาในครั้งนี้ที่มีรูปทรงกรวย ไม่สมมาตร หมวกดอกของเห็ดหอมมีสีน้ำตาลอ่อน และมีขนสีขาวอยู่เป็นกลุ่มทั่วทั้งหมวกดอก ลักษณะอื่นๆได้แก่ ก้านดอก ครีบดอก สีของสปอร์พิมพ์และสปอร์มีลักษณะใกล้เคียงกับเห็ดชนิดอื่นๆในสกุล *Lentinus* ที่ได้ทำการวิจัยในครั้งนี้

จากการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยโมโนคาริออน พบว่าเห็ดหอมเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร MYG, PDA และ MEA เห็ดโต่งฝนเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร MYA, MYG และ WA โดยเส้นใยของเห็ดทั้ง 2 ชนิดนี้ ลักษณะเส้นใยที่เลี้ยงบนอาหาร MYG จะฟูหนากว่าอาหารชนิดอื่นๆ และเห็ดตีนปลอกเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร MEA สำหรับเห็ดขอนขาว เห็ดบด และเห็ดหูกวาง ถึงแม้ว่าเส้นใยโมโนคาริออนจะเจริญดีที่สุดบนอาหาร PDA แต่ลักษณะเส้นใยบนอาหาร MEA, MYA และ MYG เส้นใยโมโนคาริออนค่อนข้างเจริญฟูหนากว่าบนอาหาร PDA จะเห็นได้ว่าชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญของเส้นใยโมโนคาริออน โดยเฉพาะอาหารที่มีมอลท์สกัด เปปโตน และกลูโคส

เป็นส่วนประกอบ (ภาคผนวก ก) เห็ดทุกชนิดสามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชต่ำอยู่ประมาณช่วงพีเอช 5.0-7.0 และเจริญได้น้อยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชสูงขึ้น ซึ่งผลการวิจัยที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของวสันณ์ เพชรรัตน์ (2541) ที่ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาวและเห็ดหูกวาง พบว่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ที่ 6.0 และพีเอชที่เหมาะสมของเห็ดบดอยู่ที่ 6.0-6.5 (อานนท์. 2540) และเห็ดในสกุล *Lentinus* ที่ทำการศึกษาเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงประมาณ 30-37 องศาเซลเซียส โดยเห็ดทั้ง 5 ชนิดนี้เป็นเห็ดที่เจริญอยู่ในป่าเมืองไทย ทำให้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง ที่อุณหภูมิต่ำมีผลทำให้เส้นใยเจริญน้อยลงและชะงักการเจริญของเส้นใยได้ ซึ่งต่างจากเห็ดหอมที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยเห็ดหอมเป็นเห็ดที่มาจากเมืองหนาวจึงต้องการอากาศเย็นในการเจริญเติบโต (บรรณ. 2533) ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปมีผลทำให้เส้นใยเจริญช้าลงและอาจไม่เจริญเลยก็ได้ จึงมีผู้ต้องการปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอมให้ทนต่ออากาศร้อนได้โดยการผสมพันธุ์เส้นใยสายพันธุ์ฤดูฝนและฤดูหนาว (ศิริพร เดชะธูป. 2544)

ในการศึกษาระบบเพศของเห็ด 5 ชนิดดังกล่าวในสกุล *Lentinus* รวมทั้งของเห็ดหอมซึ่งอยู่ในสกุล *Lentinula* พบว่ามีประเภทของระบบเพศเหมือนกัน คือมีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism ซึ่งก่อนหน้านี้มีเพียงเห็ดหอมเท่านั้นที่มีรายงานว่ามีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism (Mata *et al.* 2001, Fox *et al.* 1994 และ Chang *et al.*1993) และสามารถหาชนิดของ mating type (A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1 และ A_2B_2) ของสายพันธุ์โมโนคาริออนของเห็ดแต่ละชนิดได้ จะเห็นได้ว่าแม้ว่าเห็ดหอมจะอยู่ต่างสกุลกับเห็ดในสกุล *Lentinus* ทั้ง 5 ชนิดที่ศึกษา แต่ก็มีระบบเพศเหมือนกัน รวมทั้งพบอีกว่าเห็ด 5 ชนิดที่อยู่ในสกุลเดียวกันมีระบบเพศเหมือนกัน แสดงว่าเห็ดต่างชนิดที่อยู่ในสกุลเดียวกันมักจะมีระบบเพศเหมือนกัน ซึ่งมีรายงานพบในสกุลอื่นๆ ด้วยเช่นกัน เช่น *Xerula* (Petersen and Methven. 1993), *Xeromphalina* (Johnson and Petersen. 1996) และ *Pleurotus* (Eugenio and Anderson. 1968, Kay and Vilgalys. 1992 และ Chang and Heyes. 1978) ที่มีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism เหมือนกัน อย่างไรก็ตามเห็ดต่างชนิดที่อยู่ในสกุลเดียวกันบางสกุลก็มีรายงานว่ามีระบบเพศต่างกัน เช่น เห็ดในสกุล *Agaricus* โดย Elliott (1978) รายงานว่า *Agaricus bitorquis*, *A. nivescens* และ *A. macrosporus* มีระบบเพศแบบ bipolar (unifactorial) heterothallism ส่วน *A. silvicola* อาจจะมีระบบเพศแบบ homothallism เนื่องจากไม่พบว่ามีคู่ผสมใดที่ผสมเข้ากันได้ สำหรับ *A. bisporus* มีระบบเพศแบบ homothallism ที่แท้จริง นอกจากนี้เห็ดในสกุล *Coprinus* คือ *C. sterguilinus* มีระบบเพศแบบ homothallism (primary homothallism) ส่วน *C. bisporus* และ *C. congregatus* มีระบบเพศแบบ secondary homothallism และสำหรับ *C. cinereus* มีระบบเพศแบบ tetrapolar (bifactorial) heterothallism (Alexopoulos and Mims.1996) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า

C. cothurnetus, *C. amphibious*, *C alkalinus* และ *C. comatus* มีระบบเพศแบบ bipolar (unifactorial) heterothallism (Lange. 1948, Anastasiou. 1967, Carlile *et al.* 2001 และ Burnett. 1968)

บรรณานุกรม

ขนิษฐา พรเจริญโรจน์. 2543. **" การปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟางโดยการผสมพันธุ์ "** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จิราพร นิลฉวี. 2546. **"การศึกษาสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดบางชนิดในสกุล *Pleurotus* โดยเทคนิค PCR/RFLP."** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บรรณ บูรณะชนบท. 2533. **เห็ดหอม.** กรุงเทพฯ. เทพพิทักษ์การพิมพ์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2532. **จุลชีววิทยา เล่ม 2.** กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร. 2537. **การเพาะเห็ดฟาง.** ชมรมนักเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2538. **เทคโนโลยีการเพาะเห็ด.** ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประภัสสร โชคสวนทรัพย์. 2540. **"การผสมพันธุ์ระหว่างเห็ดหอมและเห็ดขอนขาว"** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2522. **"I. การศึกษาสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และการเพาะเห็ดตีนแรด II. ลักษณะการสืบพันธุ์ทางเพศของเห็ดตีนแรด."** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2541. **"เห็ดป่าในภาคใต้ของประเทศไทย : II. เห็ดเลนไทนัส (*Lentinus* spp.)"** Songklanakarin. J. Sci. Technol. 20 (1) : 35-40

มาวิน ศรีแก้ว, เมธาวี คานเพชรทา และวิชุดา เกตุใหม่. 2543. **"การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไฮโดรไลซ์ลิกนิน และการเจริญของเส้นใยเห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.)"** โครงการพิเศษทางเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

มุกดา (คูหิรัญ) ณัฏฐสมบูรณ์ และคณะ. 2531. **รายงานการวิจัย การพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อเพาะเห็ดหอม.** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2529. **การผลิตเห็ด.** โครงการผลิตสิ่งพิมพ์ทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศิริพร เดชะธูป. 2544. **การปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอมโดยการผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศิริวรรณ สุทธจิตต์ และไมตรี สุทธจิตต์. 2545. **เห็ดไทย.** สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2535. **เห็ดเมืองไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนพานิช. กรุงเทพฯ.

อานนท์ เอื้อตระกูล. 2532. **การเพาะเห็ดหอม.** พิมพ์สวย 88.

อานนท์ เอื้อตระกูล. 2540. **การเพาะเห็ดลม (เห็ดบด).** ศูนย์ไบโอเทค. บริษัท เค อะโกรเทค จำกัด. ปทุมธานี.

Aanen, K. and Kuyper, W. 1999. "Intercompatibility tests in the *Hebeloma crustuliniforme* complex in northwestern Europe." **Mycologia.** 91(5) : 783-795

Adaskveg, J.E. and Gilberton, R.L. 1986. "Cultural studies and genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. Tsugae* in relation to the taxonomy of the *G. Lucidum* complex." **Mycologia.** 78 : 694-705

Al-Mughrabi, Khalil, I. and Hsiang and Tom. 1997. "The mating system of *Daeddaliopsis confragosa.* " **Mycologia.** 90 : 82-84

Alexopoulos and Mims . 1979. **Introductory Mycology**. John Wiley and Son. Inc. Writed State of America. 868 p.

Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. and Blackwell M. 1996. **Introductory Mycology**. New York Sons.

Anastasiou, C.J. 1967. "Two species of *Coprinus* from alkali lakes." **Canadian Journal of Botany**. 45 : 2213-2222

Anderson J. and Ullrich B. 1979. " Diploids of *Armillaria mellea* : synthesis, stability, and mating behavior." **Canadean Journal Botany.** 60 : 432-439

Brasier, C.M. 1970. "Variation in a natural population of *Shizophyllum commune.*" **Am. Nat.** 104 : 191-204

Burnett, J.H. 1937. "Studies on the sexuality of Heterobasideae." **Mycologia**. 29 : 626-649

Burnett, J.H. 1968. **Fundamental of Mycology**. New York. St.Martin's Press.

Burnett, H. and Evans, J. 1966. " Genitical Homogeneity and the Stability of the Mating-type Factors of 'Fairy Rings' of *Marasmius oreades.*" **Nature.** 210 : 1368-1369

Calvo-Bado *et.al.* 2000. "Sexuality and Genetic Identity in the *Agaricus* Section *Arvenses.*" **Applied and Environmental Microbiology.** 66 : 728-734

Carlile, M.J. and Watkinson, S.C. 1996. **The Fungi**. Acedemic Press Limited. London.

Carlile, M.J., Watkinson, S.C. and Gooday, G.W. 2001. **The Fungi**. Tokyo. Academic Press.

Chang, S.T., Buswell, J.A., and Miles, G.P. 1993. **Genetics and Breeding of Edible Mushroom.** USA. Gordon and Breach Science Publisher.

Chang, S.T., and Hayes, W.A. 1978. **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** New York. Academic Press.

Chang, S.T. and Miles, P.G. 1989. Edible mushroom and their cultivation. Florida : CRC Press.

Charles, G. Elliott. 1994. **Reproduction in Fungi Genetical and Physiological aspects.** Chapman & Hall Inc. New York. USA.

Crisan, E.V. and Sand, A. 1978. **Nutritive value In The biology and cultivation of edible mushroom,** edited by S.T. Chang and W.A. Hayes. Academic Press, New York.

David H. Griffin. 1994. **Fungal Physiology**. Wiley – Liss. Inc. New York USA.

Elliott,T.J. 1978. "Comparative Sexuality in *Agaricus* Species." **Journal of General Microbiology.** 107 : 113-122

Euginio, C.P. and Anderson, N.A. 1968. "The genetics and cultivation of *Pleurotus ostreatus.*" **Mycologia**. 60 : 627-634.

Fox, H.M., Burden, J., Chang, S. And Peberdy, J. 1994. "Mating- type incompatibility between commercial strain of *Lentinula edodes.*" **Experimental Mycology**. 18 : 95-102.

Fries , N. And Jonason. 1941. **The natural history of recombination systems. In incompatibility in the fungi.** New York. Springer Verlag.

Gordon, Scott A. and Petersen, Ronald H. 1991. "Mating Systems in *Marasmius.*" **Mycotaxon.** XLI : 371-386.

Isikhuemhem, Omoang, S. et al. 2000. "Mating compatibility and phylogeography in *Pleurotus tuberregium.*" **Mycological Research**. 10 (46) : 732-737

Johnson, J.E. and Petersen, R.H. 1996. " Mating systems in *Xerophalina* species." **Mycologia.** 89(3) : 393-399

Kay, E. And Vilgalys, R. 1992. "Sepatial distribution and genetic relationships among individuals in a natural population of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*." **Mycologia**. 84 : 173-182

Korhonen, K. 1978. "Interfertility and clonal size in the *Armillaria lariellamellea* complex." **Karstenia**. 18 : 31-42

Lange, M. 1948. "Two species of *Coprinus* with notes on their cultural characters." **Mycologia**. 40 : 739-747.

Mallett, K.I. and Harrison, L.M. 1987. "The mating system of the fairy ring fungus *Marasmius oreades* and the genetic relationship of fairy rings." **Canadian Journal Botany.** 66 : 1111-1116

Mallett, K.I. and Myrholm. 1995. "The mating system of *Phellinus tremulae*." **Mycologia**. 87 (5) : 597-603

Mata, L., Petersen, H. and Hughes, W. 2001. "The genus *Lentinula* in the Americas." **Mycologia.** 93(6) : 1102-1112

Miller, A.N. and Methven, A.S. 2000. "Biological species concepts in eastern North American populations of *Lentinellus* ." **Mycologia.** 92 (4) : 792-800

Parag and Nachman. 1964. "Diploidy in the tetrapolar heterothallic Basidiomycete *Schizophyllum commune.*" **Department of Botany, The Hebrew University, Jerusalem, Israel.** 151-154

Papazian, P. 1950. "Physiology of the incompatibility factors in *Schizophylum commune.*" **Botanical Gazette.** 112 : 143-163

Pegler, D.N. 1983. "The Genus *Lentinus*." **A World Monograph, Kew Bulletin, Additional Series X,** Royal Botanic Gardens, KEW.

Petersen , H. and Ridley, S. 1996. "A New Zealand *Pleurotus* with multiple-species sexual compatibility." **Mycologia.** 82 (2) : 198-207

Petersen, H. and Methven, S. 1993. "Mating systems in the Xerulaceae : *Xerula* ." **Canadean Journal Botany.** 72 : 1151-1163

Pilotti, A., Sanderson, R. and Aitken, B. 2002. "Sexuality and interactions of monokaryotic and dikaryotic mycelia of *Ganoderma boninense.*" **Mycology Research.** 106 (11) : 1315-1322

Raper, A. 1976. "Sexuality and Life-cycle of the Edible, Wild *Agaricus bitorquis*." **Juornal of General Microbiology.** 95 : 54-66

Raper, R. and San Antonio, P. 1954. " Heterokaryotic Mutagenesis in Hymenomycetes. I. Heterokaryosis in *Schizophyllum commune*." **American Juornal of Botany.** 41 (2) : 69-86

Raper, Carlene A. et al. 1958. "The numberand distribution of incompatibility factors in *Schizophyllum*." **The American Microbiology**. 95 : 54-66

Rizzo, M., Rentmeester, M. and Burdsall, H. 1995. " Sexuality and somatic incompatibility in *Phellinus gilvus*." **Mycologia.** 87 (6) : 805-820

Schalkijk – Barendsen. Helene M.E. 1994. **Mushroom of Northwest North America**. Lone Pine Publishing. Washington. USA.

Sharma, O. P. 1989. **Textbook of Fungi**. Tata McGraw. Hill Publishing Company Limited. New Delhi.

Silveira, M. And Wright, E. 2002. " *Polyporus s. str.* in southern South America : mating tests." **Mycology Research.** 106 (11) : 1323-1330

Ullrich, C. and Raper, R. 1975. " Primary homothallism – relation to heterothallism in the regulation of sexual morphogenesis in *Sistotrema*." **Mycologia.** 30 : 311-321

Walker, Nabors, Gelinas and Ammirati. 1994. "The mating system of *Melanotus textilis*." **Mycologia.** 86 (2) : 209-211

Zervakis and Balis. 1995. "Incompatibility alleles and mating behaviour between and within *Pleurotus* species." **Science and Cultivation of Edible Fungi**. 53-62

ภาคผนวก ก

ก. 1 อาหาร water agar, WA

ชั่งวุ้น 15 กรัม เติมน้ำปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ก. 2 อาหาร potato dextrose agar, PDA

ใช้อาหาร PDA สำเร็จรูป โดยชั่ง PDA 39 กรัม หรือ ใช้ PDB (potato dextrose broth) 24 กรัม เติมวุ้น 15 กรัม และเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ก. 3 อาหาร malt extract agar, MEA

ใช้อาหาร MEA สำเร็จรูป โดยชั่งอาหาร MEA สำเร็จรูป 24 กรัมต่อลิตร หรือใช้สูตรอาหาร การเตรียมอาหาร MEA โดยประกอบด้วย

malt extract	20	กรัมต่อลิตร
glucose	20	กรัมต่อลิตร
peptone	1	กรัมต่อลิตร
agar	15	กรัมต่อลิตร

ก. 4 อาหาร complete medium and yeast extract agar, CYM

ใช้สูตรอาหาร CYM โดยประกอบด้วย

glucose	20	กรัมต่อลิตร
yeast extract	2	กรัมต่อลิตร
peptone	2	กรัมต่อลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	0.5	กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	0.46	กรัมต่อลิตร
K_2HPO_4	1	กรัมต่อลิตร
agar	15	กรัมต่อลิตร

ก. 5 อาหาร yeast malt extract agar, MYA

ใช้สูตรอาหาร MYA โดยประกอบด้วย

malt extract	3	กรัมต่อลิตร
glucose	10	กรัมต่อลิตร
yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
peptone	5	กรัมต่อลิตร
agar	15	กรัมต่อลิตร

ก. 6 อาหาร malt extract yeast extract glucose, MYG

ใช้สูตรอาหาร MYGโดยประกอบด้วย

malt extract	10	กรัมต่อลิตร
glucose	10	กรัมต่อลิตร
yeast extract	4	กรัมต่อลิตร
agar	15	กรัมต่อลิตร

อาหารทุกสูตรจะต้องเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร นำไปต้มให้อาหารละลายจนมีลักษณะใส บรรจุลงขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ข.1 การศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

ตารางที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	0.503	0.101	20.111**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.060	0.005	
ผลรวม	17	0.563		

C.V. = 5.89%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.2 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05		
		1	2	3
CYM	3	0.9667		
WA	3		1.1000	
MYA	3		1.2000	
MEA	3			1.3333
PDA	3			1.4000
MYG	3			1.4333

ตารางที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	23.983	4.797	205.567**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.280	0.023	
ผลรวม	17	24.263		

C.V. = 2.23%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.4 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
WA	3	4.7667			
MYA	3		6.1333		
MYG	3			7.1000	
CYM	3			7.2000	
MEA	3			7.3333	
PDA	3				8.5000

ตารางที่ ข.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	5.753	1.151	73.971**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.187	0.016	
ผลรวม	17	5.940		

C.V. = 3.82%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.6 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
CYM	3	2.4333			
MYA	3	2.5667			
MYG	3		3.3667		
MEA	3			3.6333	
WA	3			3.7000	3.7000
PDA	3				3.9000

ตารางที่ ข.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	5.880	1.176	117.600**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.120	0.010	
ผลรวม	17	6.000		

C.V. = 1.42%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.8 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
WA	3	6.0333			
MEA	3		6.6667		
CYM	3			7.1333	
MYG	3			7.1333	
MYA	3			7.2333	
PDA	3				7.9333

ตารางที่ ข.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	4.372	0.874	60.531**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.173	0.014	
ผลรวม	17	4.545		

C.V. = 0.29%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.10 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
PDA	3	4.2000			
MEA	3		4.7000		
CYM	3			4.9333	
MYG	3				5.4000
MYA	3				5.4667
WA	3				5.6000

ตารางที่ ข.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	8.204	1.641	68.688**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.287	0.024	
ผลรวม	17	8.491		

C.V. = 1.81%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.12 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05				
		1	2	3	4	5
WA	3	7.1000				
CYM	3		8.4667			
MYA	3		8.6000	8.6000		
PDA	3			8.8667	8.8667	
MYG	3				8.9333	8.9333
MEA	3					9.1667

ข.2 การศึกษาหาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

ตารางที่ ข.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	1.898	0.380	24.400**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.187	0.016	
ผลรวม	17	2.084		

C.V. = 10.02%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.14 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT การเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนของเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05		
		1	2	3
7.5	3	0.8333		
7.0	3	0.9667		
6.5	3	1.0333		
6.0	3		1.3333	
5.5	3			1.6000
5.0	3			1.7000

ตารางที่ ข.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	9.798	1.960	52.645**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.447	0.037	
ผลรวม	17	10.244		

C.V. = 2.69%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.16 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
7.5	3	4.9000			
7.0	3	5.1000			
6.5	3		5.5000		
6.0	3			6.1000	
5.5	3				6.5667
5.0	3				6.9000

ตารางที่ ข.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบด บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	1.523	0.305	8.842**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.413	0.034	
ผลรวม	17	1.936		

C.V. = 4.63%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.18 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05		
		1	2	3
7.5	3	2.2333		
6.5	3		2.6333	
5.0	3		2.7667	2.7667
6.0	3		2.8333	2.8333
5.5	3			3.0667
7.0	3			3.1000

ตารางที่ ข.19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อพีเอชต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	0.758	0.152	7.578**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.240	0.020	
ผลรวม	17	0.998		

C.V. = 2.39%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.20 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
7.5	3	5.6000			
7.0	3	5.7333	5.7333		
6.5	3		5.8667	5.8667	
5.0	3		5.9667	5.9667	5.9667
5.5	3			6.1000	6.1000
6.0	3				6.2000

ตารางที่ ข.21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	0.385	0.077	4.620**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.200	0.017	
ผลรวม	17	0.585		

C.V. = 2.86%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.22 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05	
		1	2
6.5	3	4.3333	
7.5	3	4.4000	
5.5	3	4.5000	
6.0	3	4.5333	
7.0	3	4.5333	
5.0	3		4.8000

ตารางที่ ข.23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	5	8.013	1.603	58.873**
ความคลาดเคลื่อน	12	0.327	0.027	
ผลรวม	17	8.340		

C.V. = 1.94%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.24 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่างๆ

พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05		
		1	2	3
7.5	3	7.1667		
7.0	3		8.2667	
6.5	3		8.5000	
5.5	3			8.9333
6.0	3			9.0000
5.0	3			9.1333

ข.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออน

ตารางที่ ข.25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิบ่มเชื้อ	4	74.686	18.671	5502.385**
ความคลาดเคลื่อน	10	0.034	0.003	
ผลรวม	14	74.720		

C.V. = 1.93%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.26 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิบ่มเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05				
		1	2	3	4	5
37	3	0.6333				
30	3		0.9000			
15	3			2.6333		
20	3				4.5000	
25	3					6.5000

ตารางที่ ข.27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิบ่มเชื้อ	4	136.503	34.126	2694.132**
ความคลาดเคลื่อน	10	0.127	0.013	
ผลรวม	14	136.629		

C.V. = 2.01%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.28 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดขอนขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิบ่มเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05				
		1	2	3	4	5
15	3	1.0667				
20	3		3.2667			
25	3			6.3667		
30	3				8.4333	
37	3					8.9000

ตารางที่ ข.29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบด บนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิบ่มเชื้อ	4	46.236	11.559	597.879**
ความคลาดเคลื่อน	10	0.193	0.019	
ผลรวม	14	46.429		

C.V. = 4.00%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.30 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดบดบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิบ่มเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05				
		1	2	3	4	5
15	3	1.1000				
20	3		2.0000			
25	3			3.5333		
30	3				4.9000	
37	3					5.8333

ตารางที่ ข.31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวาง บนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิบ่มเชื้อ	4	115.623	28.906	922.521**
ความคลาดเคลื่อน	10	0.313	0.031	
ผลรวม	14	115.936		

C.V. = 0.63%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.32 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดหูกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิบ่มเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05			
		1	2	3	4
15	3	0.8000			
20	3		2.7000		
25	3			5.7000	
30	3				7.6667
37	3				7.8333

ตารางที่ ข.33 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิบ่มเชื้อ	4	8.037	2.009	125.583**
ความคลาดเคลื่อน	10	0.160	0.016	
ผลรวม	14	8.197		

C.V. = 1.93%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.34 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดโต่งฝนบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิบ่มเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05				
		1	2	3	4	5
15	3	0.9667				
20	3		1.5000			
25	3			2.1333		
37	3				2.3667	
30	3					3.1000

ตารางที่ ข.35 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิบ่มเชื้อ	4	119.223	29.806	6386.929**
ความคลาดเคลื่อน	10	0.047	0.005	
ผลรวม	14	119.269		

C.V. = 1.54%

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางที่ ข.36 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ของการเจริญเติบโตของเส้นใยโมโนคาริออนเห็ดตีนปลอก บนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่ม ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิบ่มเชื้อ	จำนวนซ้ำ	เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับ 0.05				
		1	2	3	4	5
15	3	0.7333				
20	3		2.7667			
37	3			3.4667		
25	3				6.4667	
30	3					8.7000

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล จันทิมาภรณ์ นววงศ์วิวัฒน์

วัน เดือน ปีเกิด 30 มีนาคม 2521

ประวัติการศึกษา ระดับประถมศึกษา จากโรงเรียนวัดสามแพรก จ.นครศรีธรรมราช

ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น จากโรงเรียนปากพนัง จ.นครศรีธรรมราช

ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนเบญจมราชูทิศ จ.นครศรีธรรมราช

ระดับปริญญาตรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน) สาขาวิชาพืชสวน

จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังปีการศึกษา 2542