ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกและการรวมโปรโตพลาสต์ของเห็ดหอม และเห็ดนางรม	
ชื่อผู้เขียน	นายมังกร เทวสิงห์	
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เกษตรศาสตร์ (สาขาวิชาพืชสวน)	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชียร ภู่สว่าง	ประธานกรรมการ
	อาจารย์ ประสิทธิ์ วัฒนวงศ์วิจิตร	กรรมการ
	อาจารย์ ดร. อุราภรณ์ สอาดสุด	กรรมการ

บทคัดย่อ

การทำให้ได้โปรโตพลาสต์ และทำให้โปรโตพลาสต์งอกได้ ทำขึ้นในเห็ด 2 ชนิด ในส่วนผสมของเอนไซม์เซลลูเลสกับไคติเนสที่ pH 4.6 สำหรับเห็ดหอม (*Lentinus edodes*) และส่วนผสมของเอนไซม์เซลลูเลส ไคติเนส และเบต้า–กลูคูโรนิเดส ที่ pH เดียวกันสำหรับเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) ในเห็ดหอมการเตรียมโปรโตพลาสต์ได้ปริมาณ $5.4x10^4$ โปรโตพลาสต์ต่อมิลลิลิตรต่อ 72 ชั่วโมง ในเห็ดนางรมได้ $1.12x10^5$ โปรโตพลาสต์ต่อมิลลิลิตรต่อ 96 ชั่วโมง โปรโตพลาสต์ที่ได้สามารถงอกออกมามากกว่า 6.54 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ปัจจัยที่มีผลต่อการปล่อยโปรโตพลาสต์ ได้มีการศึกษาเพื่อให้ได้ปริมาณโปรโตพลาสต์สูงสุด พบว่า ในเห็ดหอม แมนนิทอล 0.6 โมล เป็นสารที่ช่วยให้เกิดการคงตัวที่ดีที่สุด

การงอกโปรโตพลาสต์จากเส้นใยของเห็ดหอมได้มีการทดสอบบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Yeast extract and Glucose (MYG) และ Malt Yeast extract Glucose and Peptone (MYGP) ซึ่งผสมวุ้นที่ปริมาณต่างๆ กัน พบว่า PDA ที่ผสมด้วยวุ้น (Bacto) 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตสูงสุด

ความเข้มข้นของ PEG ที่เหมาะสมแก่การหลอมรวมโปรโตพลาสต์ของเห็ดนางรม และเห็ดหอม คือ 20 หรือ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

การหลอมรวมโปรโตพลาสต์ในเห็ดชนิด (species) เดียวกัน ทั้งในเห็ดนางรมหรือเห็ดหอมนั้น ได้จับคู่กันในรูปแบบ Mon(x)Mon เช่น PN(x)PN หรือ LN(x)LN รูปแบบ Di(x)Mon เช่น P2N(x)PN หรือ L2N(x)LN และรูปแบบ Di(x)Di เช่น P2N(x)P2N และ L2N(x)L2N การหลอมรวมข้ามสกุล (genus) ก็จับคู่คล้ายกัน เช่น PN(x)LN, PN(x)L2N, P2N(x)LN และ P2N(x)L2N

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

รูปแบบไอโซไซม์เอสเทอเรส และเปอร์ออกซิเดส ของผลผลิตจากการหลอมรวมโปรโตพลาสต์ ไม่ว่าจะเป็นการหลอมรวมภายในชนิด (species) เดียว หรือต่างสกุล (genus) กัน ได้นำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ พบความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่กับผลผลิตที่ได้จากการหลอมรวมของโปรโตพลาสต์ในรูปแบบไอโซไซม์เอสเทอเรส

Thesis Title Isolation and Fusion of Protoplasts of Shiitake (*Lentinus edodes* (Berk.) Singer.) and Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer.)

Auther Mr. Mungkorn Thavasingh

M.S. Agriculture (Horticulture)

Examining Committee :

Assist. Prof. Dr. Wichian Pooswang	Chairman
Lecturer Prasit Watanawongvigit	Member
Lecturer Dr. Uraporn Sardsud	Member

Abstract

The formation and regeneration of two mushroom protoplasts were carried out using an enzyme mixture of celllulase and chitinase, pH 4.6 for *Lentinus edodes* and an enzyme mixture of cellulase, chitinase and β-glucuronidase at the same pH for *Pleurotus ostreatus.* The preparation of $5.4x10^4$ protoplasts/ml/ 72 hr. from *Lentinus edodes,* $1.12x10^5$ protoplasts/ml/ 96 hr. from *Pleurotus ostreatus* and regeneration of more than 6.57% and 0.50% were attained respectively.

Some factors affecting the release of protoplasts were investigated to maximize the yield of protoplasts 0.6 M mannital was the best of the stabilizers for the formation of *Lentinus edodes* protoplasts.

Regeneration of protoplasts from *Lentinus edodes* mycelia were tested on different regeneration media i.e.; potato dextrose agar (PDA), malt yeast extract and glucose (MYG), and malt yeast extract, glucose and peptone (MYGP), with different agar concentration. The results came out that PDA with 1% Bacto agar gave the highest regeneration product.

The most effective PEG concentration suitable for protoplast fusion of *Pleurotus* or *Lentinus* mushroom was 20 or 30% w/v.

Intraspecific protoplast fusion, either among *Pleurotus Ostreatus* or *Lentinus edodes,* were conducted in the combinations of Mon(x)Mon as PN(x)PN or LN(x)LN, Di(x)Mon as P2N(x)PN or L2N(x)LN, and Di(x)Di as P2N(x)P2N and L2N(x)L2N. Intergeneric

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

protoplast fusion were also made in similar combinations as PN(x)LN, PN(x)L2N, P2N(x)LN and P2N(x)L2N.

The isozyme patterns of esterase and peroxidase of the fusion products, either intraspecific or intergeneric protoplast fusion, were compared with those of their parental strains. Some differences among the parental strains and their fusion product were observed in esterase pattern.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University