

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

เห็ดโคนน้อย (*Coprinus comatus*) มีรายงานการพบครั้งแรกบนมูลสัตว์ จึงเป็นที่มาของชื่อสกุล *Coprinus* ซึ่งเราสามารถพบได้ตามธรรมชาติโดยทั่วไป หลายชนิดพบบนมูลของสัตว์ ตามสนามหญ้าและกองปุ๋ยหมัก พบมากในช่วงฤดูร้อนและต้นฤดูฝน (Wakefield and Dennis, 1981) เห็ดโคนน้อย มีชื่อสามัญว่า Shaggy Mane Cap หรือ Lawyer's Wig มีเขตการกระจายพันธุ์ทั่วทุกภาคในประเทศไทย (ราชบัณฑิตยสถาน, 2539) เห็ดในสกุล *Coprinus* มีสมาชิกกว่า 130 ชนิด (Hawksworth *et al.*, 1995) ลักษณะสำคัญของเห็ดในสกุลนี้คือ ดอกเห็ดเมื่อแก่เต็มที่จะสลายตัวเป็นหยดหมึกสีดำ (Arora, 1986) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของเห็ดโคนน้อย

อนุกรมวิธานของเห็ดโคนน้อย

เห็ดโคนน้อยมีลำดับอนุกรมวิธาน (Ainsworth *et al.*, 1973, Moser, 1978 and Hawsworth *et al.*, 1995) ดังนี้

Kingdom : Fungi

Division : Basidiomycota

Subdivision : Basidiomycotina

Class : Basidiomycetes

Subclass : Holobasidiomycetidae

Order : Agaricales

Family : Coprinaceae

Genus : *Coprinus*

Species : *comatus*

ส่วนประกอบต่างๆ ของเห็ดโคนน้อย (อาานนท์, 2541)

1. หมวกดอก (Cap) เมื่อดอกเห็ดเจริญเต็มที่ ลักษณะดอกเห็ดจะคล้ายร่ม ชะลูด ปลายแหลมมน ผิวของหมวกมีสีน้ำตาลอ่อนไปจนกระทั่งขาวตรงปลายหมวกดอก มีขนาดแตกต่างกันไปตั้งแต่ 0.5-1.5 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของดอกเห็ด สายพันธุ์และสภาพแวดล้อม เมื่อแก่หมวกดอกจะบาง สีคล้ำ หมวกดอกจะกางออกจนกระทั่งดอกแก่เต็มที่จะสร้างสปอร์สีดำและนำไปในที่สุด

2. ครีบ (Gill) คือ ส่วนที่อยู่ใต้หมวกดอก มีลักษณะเป็นแผ่นเล็ก ๆ เรียงกันเป็นรัศมีจากจุดใกล้ก้านดอก ดอกเห็ดที่สมบูรณ์ จะมีจำนวนของครีบประมาณ 100-150 ครีบ จุดเริ่มต้นของครีบจะเริ่มจากจุดที่ใกล้ปลายยอดของก้านดอก (ไม่สัมผัสกัน) โดยมีความห่างประมาณ 0.2 มิลลิเมตร ส่วนสีของครีบขณะที่ยังเล็กจนถึงกึ่งบานมีสีขาว และค่อยเปลี่ยนเป็นสีดำจากข้างล่างสุดของหมวกดอก จากด้านนอกสุดของครีบ และค่อยๆ ลามขึ้นไปยังปลายสุดของยอด

3. ก้านดอก (Stalk) คือ ส่วนฐานของหมวกดอก เชื่อมอยู่ระหว่างส่วนฐานและตรงกลางของหมวกดอก มีการเรียงตัวของเส้นใยเป็นแบบขนานกับความยาวของก้านดอก มีสีขาว ลักษณะเรียวยาวหรือตรงส่วนโคนฐาน โดกว่าเล็กน้อย ก้านจะสูงชะลูดอย่างรวดเร็ว เมื่อหมวกดอกเริ่มบานภายในกลวงขอบบาง หักลุ่มง่าย ไม่มีวงแหวนหุ้ม

4. ขนหุ้มหมวก (Hair) คือ ส่วนของเนื้อเยื่อด้านนอกสุดของดอกเห็ด มีหน้าที่ป้องกันอันตรายของดอกเห็ดขณะยังเล็ก เมื่อดอกเห็ดโตขึ้นขนจะขยายตัวอย่างเห็นได้ชัด ตรงปลายยอดหนาแน่นกว่าแต่หลุดได้ง่ายเมื่อใช้มือลูบ

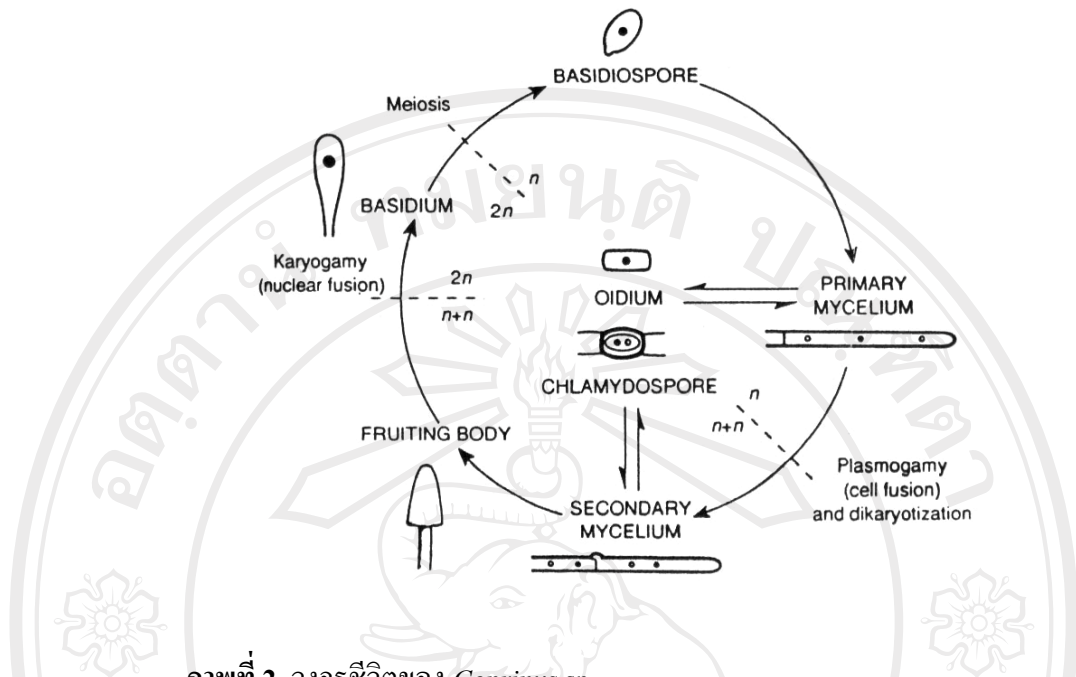
5. สปอร์ (Spore) มีลักษณะเป็นวงรีคล้ายไข่ด้านกว้างที่สุดจะกว้างประมาณ 2-3 ไมครอน ยาวประมาณ 5-7 ไมครอน ผิวของสปอร์เรียบ สีเทาอ่อนถึงเกือบดำ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแก่และอ่อนของสปอร์

6. เส้นใย (Mycelium) เส้นใยขั้นแรก (primary mycelium) มีนิวเคลียสอยู่ 1 อัน และจากเส้นใยขั้นที่ 1 จำนวน 2 เซลล์ ซึ่งมักจะมาจากเส้นใยต่างกันแต่ก็สามารถรวมกันได้เกิดเป็นเส้นใยขั้นที่ 2 (secondary mycelium) เส้นใยขั้นที่ 2 จำนวนมากจะรวมตัวกันเป็นดอกเห็ดในระยะต่อมา

7. คลามิโดสปอร์ (Chlamydospore) คือ อวัยวะสำหรับขยายพันธุ์อีกชนิดหนึ่งที่เกิดจากเส้นใยของเห็ด ในกรณีที่เส้นใยเริ่มแก่ตัว ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ผนังบางส่วนของเซลล์ในเส้นใยจะถูกสร้างหนาขึ้น มีลักษณะค่อนข้างกลม ส่วนใหญ่มักจะถูกสร้างขึ้นตรงส่วนปลายของเซลล์ มีสีน้ำตาลไหม้ทนทานต่อสภาพแวดล้อม และสามารถมีชีวิตอยู่ได้ข้ามฤดูในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น แห้งแล้ง หรือเย็นจนเกินไป

พัฒนาการและวงจรชีวิตของเห็ดในสกุล *Coprinus*

พัฒนาการและวงจรชีวิตของเห็ดในสกุล *Coprinus* ซึ่งเป็นเห็ดกลุ่มอะการิก ที่สร้างครีบได้ หมวกของดอกเห็ด โดยบนครีบนี้จะผลิตเบสิดิโอสปอร์ชนิดแฮพลอยด์ (haploid basidiospore) ที่งอกและเจริญเป็นเส้นใยปฐมภูมิ (primary mycelium) ซึ่งจะสร้างสปอร์ที่เรียกว่า ออยเดีย (oidia) โดยออยเดียนี้ จะรวมกับออยเดียหรือเส้นใยที่มีเพศเข้าผสมกันได้ (compatible mating) เกิดเป็นเส้นใยทุติยภูมิที่มีนิวเคลียสเป็น $n + n$ ที่เรียกว่า dikaryotic secondary mycelium และสร้างแคลมพ์คอนเนกชัน (clamp connections) ด้วย เส้นใยชนิดนี้จะสร้างแคลมิโดสปอร์ (chamydospores) และดอกเห็ดได้ การรวมกันระหว่างสองนิวเคลียสชนิดแฮพลอยด์ได้เป็นนิวเคลียสชนิดดิพลอยด์ ($2n$) นั้นเกิดขึ้นในเบสิดิอัส ซึ่งจะเกิดไมโอซิสตามมา และบนแต่ละเบสิดิอัสจะสร้างเบสิดิอัสสปอร์ชนิดแฮพลอยด์จำนวนสี่สปอร์ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของ *Coprinus* sp.

(ที่มา : Carlile and Watkinson, 1994)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดโคนน้อย

เห็ดโคนน้อยอาจมีความต้องการอาหาร และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากเห็ดชนิดอื่นๆ ลักษณะที่ปรากฏในเห็ดแต่ละดอกนั้น นอกจากจะได้รับอิทธิพลจากพันธุกรรมแล้วยังมีปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะการเจริญของเห็ดชนิดนี้ ซึ่งสามารถแบ่งปัจจัยเหล่านี้ออกเป็นสองประเภท ได้แก่ สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ และสิ่งแวดล้อมทางชีวภาพ ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้ดอกเห็ดเจริญเติบโตได้ดี สิ่งเหล่านี้ได้แก่

1. ธาตุอาหาร พบว่าเห็ดโคนน้อยสามารถใช้ธาตุไนโตรเจนในรูปปุ๋ยเคมี เช่น ปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยแอมโมเนีย และปุ๋ยในเตรท นอกจากนี้ ยังสามารถเจริญได้ในปุ๋ยหมักที่ยังมีกลิ่นแอมโมเนียอยู่ ด้วยเหตุนี้จึงมักพบเห็ดโคนน้อยเกิดขึ้นในการเพาะเห็ดฟางแบบโรงเรือนที่ทำการหมักแบบไม่สมบูรณ์และยังมีกลิ่นแอมโมเนียหลงเหลืออยู่ ธาตุอาหาร เกลือแร่และวิตามินที่สำคัญที่เห็ดโคนน้อยต้องการมีหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีความสำคัญเท่าเทียมกันแต่ ปริมาณที่ใช้แตกต่างกัน (อานนท์, 2541)

1.1. คาร์บอน เห็ดโคนน้อยต้องการคาร์บอนเพื่อนำไปใช้ในการสร้างเส้นใย และโครงสร้างหลักต่างๆ รวมถึงการใช้เป็นแหล่งพลังงาน โดยปกติแล้วเห็ดโคนน้อยจะใช้แหล่งคาร์บอนที่ซับซ้อนได้ดีกว่าเห็ดฟาง หรือคล้ายกับเห็ดนางรมและเห็ดนางฟ้า อย่างไรก็ตามผลผลิตของเห็ดก็แตกต่างกันไปตามโครงสร้างของคาร์บอนคือ หากคาร์บอนอยู่ในรูปสารเชิงซ้อนที่ยากแก่การที่เส้นใย

เห็ดโคนน้อยย่อยได้ เช่น จีเลื้อย ผลผลิตที่ได้ก็จะน้อยลง เพราะส่วนประกอบหลักของจีเลื้อยเป็น ลิกนิน และซิติกา (Liu, 2528 อ้างโดย อานนท์, 2541 และ วีระศักดิ์, 2529) ในทางตรงกันข้าม หากคาร์บอนอยู่ในรูปที่เห็ดเอาไปใช้ได้ง่าย เช่น เซลลูโลส เส้นใยของเห็ดก็จะเจริญได้อย่างหนาแน่นและให้ผลผลิตสูง แต่การพิจารณาแหล่งคาร์บอนให้แก่เห็ดโคนน้อยนั้น จะต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่นๆ ประกอบด้วย เช่น ถึงแม้น้ำตาลจะอยู่ในรูปที่เห็ดเอาไปใช้ได้ง่าย แต่น้ำตาลก็ไม่ได้เป็นแหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในการเพาะเห็ดโคนน้อย ทั้งนี้เพราะหากใส่น้ำตาลในปริมาณมากเกินไปก็มักจะเกิดปัญหาอย่างอื่นตามมา เช่น ความร้อนอาจไม่เหมาะสม หรือการบูดเน่าของปุ๋ยหมักที่อาจจะเกิดเร็วเกินไป ดังนั้นในการเลือกวัสดุที่ใช้เพาะเห็ดโคนน้อยจึงเน้นหนักไปหาวัสดุที่มีเซลลูโลสสูง (Liu and Chang, 2528 อ้างโดย อานนท์, 2541) เช่น ฟางข้าว ต้นข้าวโพด ต้นข้าว ฟาง ชานอ้อย ต้นกล้วย ไม้ฟ้าย ไม้ไผ่ และหญ้า

1.2 ไนโตรเจน ซึ่งการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนน้อยจะต้องอาศัยไนโตรเจนเป็นอาหารที่สำคัญด้วย (อานนท์, 2541) แหล่งของไนโตรเจนนอกจากจะได้จากมูลสัตว์จำพวก มูลม้า มูลวัว มูลควาย หรือมูลไก่แล้ว ไนโตรเจนที่เห็ดสามารถนำไปใช้ได้ดีนั้นคือ ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของอินทรีย์สาร เช่น กรดอะมิโนต่างๆ รวมทั้งสารอนินทรีย์ต่างๆ เช่น ปุ๋ยแคลเซียมไนเตรท ปุ๋ยยูเรีย เป็นต้น (วีระศักดิ์, 2529)

1.3 เกลือแร่ที่เห็ดต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม กำมะถัน แคลเซียม และแมกนีเซียม ส่วนเกลือแร่ที่เห็ดต้องการในปริมาณน้อย ได้แก่ โมลิบดีนัม โบรอน ทองแดง แมงกานีส และสังกะสี ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของสารละลายซึ่งเห็ดต้องการใช้ในบางระยะของการเจริญเติบโต (ปัญญา, 2538)

โดยปกติวัสดุที่นำมาใช้ในการเพาะเห็ดโคนน้อยมักมีแร่ธาตุอาหารเพียงพออยู่แล้ว แต่ในการเพาะเลี้ยงมักมีการใส่ปุ๋ยเพื่อเพิ่มผลผลิต และถ้าหากมีการใส่ปุ๋ยเคมีที่ไม่มีธาตุแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ มักให้ผลผลิตต่ำและช่วงการให้ผลผลิตสั้น ดังนั้นหากใช้ปุ๋ยเคมีที่ไม่มีธาตุแคลเซียมเป็นองค์ประกอบจะต้องเติมปูนขาวเข้าไปอย่างเพียงพอด้วย ปูนที่นิยมใช้มากที่สุด คือ ปูนโดโลไมท์ รองลงมาคือ การใช้ปูนขาว ใช้ในกรณีวัสดุเพาะเป็นกรด หรือใช้ปูนยับยั้งในกรณีวัสดุเพาะเป็นด่าง ส่วนธาตุแมกนีเซียมที่อยู่ในรูปของคีเลตมีผลทำให้เกิดดอกเร็วและเพิ่มปริมาณมากแต่ดอกเห็ดมักไม่ค่อยสมบูรณ์ และหากนำไปผสมน้ำรดขณะที่เกิดดอกเห็ดแล้ว ดอกเห็ดจะฝ่อตาย นอกจากนี้ยังพบว่า แร่ธาตุบางอย่าง เช่น โซเดียมที่อยู่ในรูปของเกลือแกง มีผลไปยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเห็ดโคนน้อย (อานนท์, 2541)

1.4 วิตามินหรือสารควบคุมการเจริญเติบโต จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากเปลือกกุ้งปู หรือที่เรียกว่า ฮอร์โมนเขียว หรือสารสกัดจากเนื้อเยื่อไม้ในอัตราความเข้มข้น 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์

หรือวิตามินบีในระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเร่งการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนน้อยได้ นอกจากนั้นสารควบคุมการเจริญอื่นๆ เช่น naphthalene acetic acid, indole-3- acetic acid และ 2-4 dinitrophenol มีผลเพียงเล็กน้อย (อานนท์, 2541)

2. สภาพความเป็นกรด-ด่าง เห็ดโคนน้อยสามารถเจริญในอาหารที่มี pH ตั้งแต่ 4.5-8.5 แต่ระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย คือ pH 7.0 และระดับที่เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์ คือ pH 7.5

3. อุณหภูมิ โดยปกติอุณหภูมิระหว่าง 24-38 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์ การเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกของเห็ดโคนน้อย แต่ในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส จะหยุดการเจริญของเส้นใย และอุณหภูมิที่สูงกว่า 50 องศาเซลเซียส จะเป็นอันตรายต่อเส้นใย (อานนท์, 2541)

4. ความชื้น เป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเห็ดโคนน้อยในทุกๆ ระยะ ตั้งแต่การงอกของสปอร์ การเจริญเติบโตของเส้นใย การเกิดดอกเห็ดและการเจริญของดอกเห็ด ซึ่งช่วงระยะของการเจริญเหล่านี้ต้องการความชื้นสูง (มากกว่า 77 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้นในการเลือกใช้วัสดุเพาะควรคำนึงถึงการให้ความชื้น และการให้ความชื้นจะต้องคำนึงถึงการถ่ายเทของอากาศด้วย เพราะจะไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด (อานนท์, 2541)

5. ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมของเห็ดโคนน้อยคือ 80-90 เปอร์เซ็นต์ โดยการสังเกตได้จากการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด และลักษณะของวัสดุเพาะ หากแห้งหรือซึบแสดงว่า ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศน้อยเกินไป ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเกิดดอกเห็ด ทำให้ดอกเห็ดแคระแกรน ไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ได้ และหากมีความชื้นสัมพัทธ์มากเกินไปจะทำให้เส้นใยฟูมาก ดอกเห็ดฉ่ำน้ำเน่าง่าย

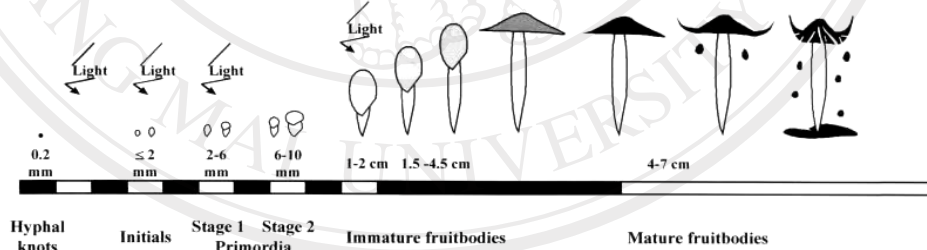
6. สภาพบรรยากาศ ตามปกติแล้วในระยะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนน้อย หากมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าในบรรยากาศ คือ ประมาณ 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เส้นใยของเห็ดโคนน้อยเจริญทางด้านความยาวและแบ่งเซลล์ได้เร็วขึ้น ในทางตรงกันข้ามช่วงระยะที่เส้นใยต้องการการรวมตัวเพื่อเกิดดอกเห็ด หากมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงแล้วจะทำให้เกิดดอกน้อยลง ก้านดอกยาว หมวกดอกเล็กหรือไม่มีหมวกดอกเกิดขึ้นเลย (อานนท์, 2541)

7. แสงสว่าง เห็ดโคนน้อยมีความต้องการแสงสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้เส้นใยชั้นที่ 2 รวมตัวกันเพื่อเกิดเป็นดอกเห็ด ดังนั้นในวันที่ 4-6 หลังจากที่ย่อยเชื้อเห็ดลงในวัสดุเพาะแล้ว ต้องให้แสงเพื่อช่วยกระตุ้นให้เส้นใยเกิดการรวมตัว จากการศึกษาด้วยเครื่องวัด illumination meter พบว่า ที่ความเข้มของแสง 350-420 ลักซ์ หรือประมาณ 50-60 วัตต์ และแสงสีน้ำเงิน จะช่วยกระตุ้นให้เส้นใยรวมตัวเป็นดอกเห็ดเร็วขึ้น ดอกเห็ดจะสมบูรณ์ ก้านดอกสั้น และให้ผลผลิตสูงกว่าใช้แสงสีอื่น

(อานนท์, 2541) และจากทดสอบคุณภาพของแสงสีต่างๆ ต่อการเกิดดอกของเห็ดโคนน้อย พบว่าแสงสีน้ำเงินกระตุ้นให้เกิดตุ่มเห็ดได้เร็วกว่าแสงอื่น ซึ่งใช้เวลาสี่วัน หลังจากเพาะเชื้อ (นิฤมณ, 2543)

กระบวนการ autolysis

เห็ดในสกุล *Coprinus* มีลักษณะโครงสร้าง และรายละเอียดในการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ที่แตกต่างจากเห็ดมีครีบชนิดอื่น โดยกระบวนการสร้างและปลดปล่อยสปอร์มีลักษณะที่สำคัญคือการย่อยสลายตัวของครีบดอก และหมวกดอกกลายเป็นของเหลวที่มีลักษณะคล้ายหยดหมึกสีดำ ซึ่งกระบวนการนี้เรียกว่าการเกิดกระบวนการ autolysis หรือ auto-digestion (ภาพที่ 3) เป็นกลไกการปล่อยสปอร์ โดยสปอร์จะถูกปล่อยเมื่อครีบดอกสลายตัว ส่วนที่ย่อยสลายจะกลายเป็นหยดน้ำเมื่อหลุดออกไปจะมีสปอร์ติดไปด้วย เมื่อแห้งสปอร์จะปลิวไปกับลมหรือไปกับน้ำนั่นเอง การย่อยสลายและการปล่อยสปอร์จะเกิดอย่างรวดเร็วมาก โดยอาจใช้เวลาเพียงไม่กี่ชั่วโมงเท่านั้น แม้ในกระบวนการ autolysis จะเป็นลักษณะที่สำคัญของสกุล *Coprinus* แต่ก็พบว่าในบางชนิดไม่พบการเกิด autolysis เช่น *C. plicatilis* และ *C. disseminatus* แต่พบว่าเห็ดทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะสำคัญอื่นๆ ของเห็ดในสกุล *Coprinus* อยู่อย่างครบถ้วน (Arora, 1986; Kues, 2000)



ภาพที่ 3 การเกิดกระบวนการ autolysis

(ที่มา : Kues, 2000)

กลไกการย่อยสลายผนังเส้นใยของเห็ดในสกุล *Coprinus* เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำงานของเอนไซม์บางชนิด ได้แก่ chitinase ซึ่งเอนไซม์จะถูกปลดปล่อยออกจาก vacuole ไปยังผนังเซลล์ การเกิดกระบวนการ autolysis มีผลเฉพาะตัวเนื้อเยื่อของหมวกเห็ดคือ ชั้นของ lamellae และเนื้อเยื่อชั้น trama ที่อยู่ด้านในเท่านั้น แต่ไม่มีผลกับผิวหนังนอกของหมวกเห็ดรวมถึงก้านดอก และเส้นใยของดอกเห็ด ซึ่งจากการรวบรวมผลการศึกษาดังๆ เกี่ยวกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการ autolysis พบว่ามีการสร้างเอนไซม์ขึ้นหลายชนิด และเอนไซม์ที่มีส่วนในการสลายตัว

ของหมวกเห็ด ได้แก่ chitinase, protease (Kues, 2000), phosphatase, β -glucosidase, aldolase, ribonuclease, cytochrom oxidase (Iten and Matile, 1970) และ β -(1,3)-gucanase (Bush, 1974)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า เห็ดในสกุล *Coprinus* หลายชนิดสร้างเอนไซม์ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายสารที่ย่อยสลายยากได้ เช่น *C.cinereus* สร้างสารที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลาย lignin (Ogawa *et al.*, 1998) และการศึกษาของ Kauffman *et al.*, (1999) พบว่า *C.cinereus* ใช้เอนไซม์ peroxidase กำจัดความเป็นพิษของสาร phenol ที่ตกค้างในน้ำ นอกจากนี้พบว่า *C. feiesii* สร้างเอนไซม์ laccases และ peroxidases ได้ (Heinzkill *et al.*, 1998)

ความสำคัญและประโยชน์ของเห็ดโคนน้อย

คุณสมบัติทางยา

เห็ดโคนน้อยมีสรรพคุณในการช่วยย่อยอาหารและลดเสมหะ เมื่อใช้ภายนอกจะช่วยบรรเทาอาการปวดต่างๆ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง Ehrlich's carcinoma ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (สาธิต, 2540) และจากการศึกษาเบื้องต้นสารสกัดน้ำเลี้ยงเส้นใยของ *C. disseminatus* สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งในคนได้ (Han *et al.*, 1999) ตัวอย่างสารที่สำคัญที่มีสรรพคุณทางยา คือ

สาร Polysaccharide ของ pentose , (1-3) - β - D-glucan สารชนิดนี้เป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ของน้ำตาลเพนโทส เป็นสารที่มีอยู่ในเห็ดทั่วไป มีส่วนกระตุ้นให้ร่างกายสร้างสารอินเตอร์เฟอรอน สารชนิดนี้จะไปกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันการเข้าทำลายของเนื้องอกหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกบางชนิดได้ รวมทั้งโรคไวรัสที่ทำให้เกิดโรคไข้วัดใหญ่ ซึ่งมีการทดลองกับหนู โดยทำการฉีดสารทำให้หนูเป็นมะเร็งเช่นเดียวกับมะเร็งที่เป็นในมนุษย์ จากนั้นจึงฉีดสารสกัดจากเห็ดเข้าไปเป็นเวลา 14 วัน ปรากฏว่าหนูจำนวน 80.7 เปอร์เซ็นต์ หายจากการเป็นโรคมะเร็ง (อานนท์, 2541)

สารอิริตาดินิน (eritadenine) สารนี้มีอยู่ในเห็ดต่างๆ ทั่วไป แต่มีอยู่ในเห็ดโคนน้อย เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้าภูฐาน เห็ดเป่าฮื้อ เห็ดฟาง เห็ดหอม เป็นจำนวนมาก แต่ประเทศญี่ปุ่นมักเน้นว่า สารชนิดนี้มีในเฉพาะเห็ดหอมและเห็ดหลินจือเท่านั้น (มีมากในเห็ดหลินจือพันธุ์สีดำ หรือ ม่วง) เพราะประเทศญี่ปุ่นเพาะเห็ดสองชนิดนี้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ สารอิริตาดินิน ที่มีคุณสมบัติในการละลายไขมันในเส้นเลือด มีสูตรทางเคมีคือ $C_6H_{10}O_4N_5$ 2(R) dehydroxy 4- (9-adenyl)- butyric acid

นอกจากสารทั้ง 2 ชนิดนี้แล้วพบว่า เห็ดในสกุล *Coprinus* บางชนิดยังสร้างสารที่มีคุณสมบัติทางยา เช่น สาร coprinol ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ (Johansson *et al.*, 2001) และสาร antileukemia ซึ่งสกัดได้จาก *C. radiatus* (Anisova *et al.*, 1987)

การสืบพันธุ์

1. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

เห็ดในสกุล *Coprinus* จัดเป็นฟังไจที่เป็น holobasidiomycetes เส้นใยระยะแรกที่ไม่สมบูรณ์เพศจะงอกออกมาจากเบสิดิโอสปอร์ ภายในเซลล์ประกอบด้วยนิวเคลียสที่เป็น haploid อยู่ 1 นิวเคลียส เมื่อมีการพัฒนาต่อไปเกิดกระบวนการ plasmogamy และ karyogamy ทำให้เส้นใยทั้งหมดกลายเป็นเส้นใยแบบ dikaryon ซึ่งภายในประกอบด้วยนิวเคลียสที่เป็น haploid ที่ต่างกัน 2 นิวเคลียส จากกระบวนการสร้าง clamp connection เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เส้นใยที่เป็น dikaryon จะพัฒนาไปเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ จากนั้นเบสิดิโอสปอร์ที่อยู่ภายในโครงสร้างสืบพันธุ์เกิดการแบ่งตัวแบบ meiosis สร้างเป็นแบบเบสิดิโอสปอร์ 4 สปอร์

2. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

วงจรชีวิตของเห็ดในสกุล *Coprinus* ที่สำคัญ จะมีการสร้างโครงสร้างที่ช่วยในการสืบพันธุ์จากเส้นใยทั้งแบบที่เป็น monokaryon และ dikaryon ซึ่งเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) จะมีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ รูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ เรียกว่า oidia ซึ่งเกิดบนโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า oidiophore (Kues, 2000)

คลามัยโดสปอร์ (Chlamydospore) เป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ที่เกิดจากเส้นใยที่มีอายุมากและอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม พลังของเส้นใยบางส่วนจะถูกสร้างให้หนาขึ้น กลายเป็นสปอร์ที่ทนทานอยู่ข้ามฤดูกาลได้ ส่วนมากมักถูกสร้างขึ้นบริเวณส่วนปลายเซลล์ มีสีน้ำตาลไหม้ (อานนท์, 2541)

สเคลอโรเทีย (Sclerotia) มีรูปร่างกลมประกอบด้วยหลายเซลล์ มีเปลือก melanized ห่อหุ้มอยู่ ซึ่งพัฒนาจากเส้นใยที่รวมตัวกันในที่มีดกลายเป็นโครงสร้างที่ทนทานอยู่ข้ามฤดูกาลได้ (Kues, 2000)

การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

ตามปกติดอกเห็ดจะเกิดขึ้นในฤดูกาลที่มีความชื้นสูง แต่เมื่อมีความต้องการบริโภคเห็ดเพิ่มมากขึ้นทำให้การเกิดดอกเห็ดตามฤดูกาลและตามธรรมชาติไม่เพียงพอกับความต้องการ จึงได้มีการหาวิธีการเพาะเลี้ยง และทำการปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดเพื่อให้ได้เห็ดปริมาณมากตามความต้องการของตลาดและสามารถผลิตเห็ดได้ตลอดทั้งปี (วิฑูรย์, 2527) การปรับปรุงพันธุ์เห็ดโดยผสมพันธุ์นั้นเป็นการนำเอาลักษณะที่ต้องการจากสองสายพันธุ์ขึ้นไป ที่มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันเอามารวมอยู่ด้วยกัน รวมไปถึงการสร้างและการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ ให้เกิดลูกผสมที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ให้คุณภาพและผลผลิตของเห็ดสูง การปรับปรุงพันธุ์จะประสบความสำเร็จได้ต้องมีความรู้ด้านชีววิทยาพื้นฐาน และระบบการปรับปรุงพันธุ์เห็ดแต่ละชนิดที่ต้องการพัฒนาให้

ดีขึ้น (Miles, 1993) ซึ่งในอดีตการปรับปรุงพันธุ์เห็ดส่วนใหญ่จะทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มาจากธรรมชาติหรือชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งไม่ก่อให้เกิดการรวมกันของลักษณะทางพันธุกรรม ในปัจจุบันการผสมพันธุ์เห็ดได้มีการทำกันอย่างแพร่หลาย โดยใช้เทคนิคการรวมกันของลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งมีจุดประสงค์เพื่อสร้างลักษณะอย่างใดอย่างหนึ่งในสายพันธุ์ให้หลากหลายแล้ว นำเข้ามาอยู่ด้วยกัน (Chang, 1982)

วิธีการที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

1.1 การปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดเลือกพันธุ์ (Selection)

ในทางการค้าจะคัดเลือกพันธุ์ใหม่จากการเพาะเลี้ยง multispore หรือจากการเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยว หรือจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากดอกเห็ดที่คัดเลือกไว้โดยตรง ซึ่งวิธีการเหล่านี้จะใช้ระยะเวลาสั้นๆ ในการปรับปรุงสายพันธุ์เห็ด แต่การปรับปรุงทางพันธุกรรมจากวิธีการคัดเลือกแบบนี้ จะทำได้ยากมาก ดังนั้นควรมีการผสมพันธุ์ก่อน แล้วจึงใช้วิธีการคัดเลือกพันธุ์ต่อไป

1.2 การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมพันธุ์ (Hybridization)

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีนี้ เป็นวิธีที่ทำกันมานาน โดยจะให้มีการผสมข้ามระหว่างสองสายพันธุ์ที่สามารถเข้าคู่กันได้ ให้เส้นใยมีสองนิวเคลียสและเกิดเป็นดอกเห็ดในที่สุด ซึ่งจะประสบความสำเร็จมากในงานปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่กินได้หลายชนิดทำได้หลายวิธีดังนี้

1.2.1 การผสมของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (Mono-mono crossing) เป็นการพัฒนาศายพันธุ์เห็ด โดยการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่มีเส้นใยที่เป็นนิวเคลียสเดี่ยวเข้าด้วยกัน การผสมเกิดจากการเชื่อมต่อระหว่างเส้นใย 2 สายพันธุ์และมีการแลกเปลี่ยนสารภายในเซลล์ โดยมีการคัดเลือกอย่างต่อเนื่องและกำจัดลักษณะที่ไม่ดีออก ซึ่งวิธีนี้เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง เพื่อที่จะได้ลูกผสมที่มีลักษณะใหม่ๆ เกิดขึ้น (Fritche, 1978)

1.2.2 การผสมของเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่กับเส้นใยที่มีนิวเคลียสเดี่ยว (Di-mono crossing) โดยเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่ผสมกับนิวเคลียสของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว ผลที่ได้ อาจเป็นการผสมที่เข้ากันได้เพียงแค่ครึ่งเดียว (hemicompatible mating) หรือเข้ากันได้อย่างสมบูรณ์ ในบางครั้งนิวเคลียสทั้งคู่ของเส้นใยนิวเคลียสคู่จะเคลื่อนย้ายเข้าไปอยู่ด้วยกัน ได้เส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่เดิมตรงส่วนปลายของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (Eger, 1978)

1.2.3 การผสมโดยใช้เชื้อที่กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิด (auxotrophs) โดยนำเชื้อที่กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิด (auxotrophs) ที่เกิดจากธรรมชาติ หรือเกิดจากการชักนำโดยสารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ที่แตกต่างกัน 2 ชนิดจะนำมาผสมกัน แล้วทำการ

คัดเลือกโดยการเพาะเลี้ยงบน minimal medium การใช้วิธีนี้ขึ้นอยู่กับเชื้อที่กลายพันธุ์ไปที่นำมาใช้ว่าสามารถให้เห็ดสายพันธุ์ใหม่ได้หรือไม่

1.2.4 โดยใช้ Resistance Marker

ในการปรับปรุงเห็ดนั้น อาจใช้สายพันธุ์ที่กลายที่มีความต้านทานต่อ antimetabolites แทนการใช้เชื้อที่ถูกทำให้กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิดได้ การทำให้สปอร์หรือบางส่วนของเส้นใยเห็ดเติบโตบนอาหารที่มี antimetabolites จะทำให้ได้ marker ขึ้น นำสายพันธุ์ 2 สายพันธุ์ซึ่งมีความต้านทานต่อ antimetabolites ที่ต่างกันมาผสมกัน และลูกผสมที่เกิดขึ้นก็มีความต้านทานต่อ antimetabolites ทั้งสองชนิดด้วยเช่นกัน

1.2.5 โดยใช้ Protoplast Fusion

สิ่งที่เป็อุปสรรคอย่างหนึ่งต่อการผลิตเห็ดคือ การที่เส้นใยจากสองสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ไม่สามารถผสมเข้ากันได้ ปัจจุบันมีรายงานว่า สามารถแยก protoplast จากเซลล์พืชและจุลินทรีย์โดยใช้เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ แล้วทำให้ protoplast รวมกันในช่วงเวลาสั้นๆ protoplast จะสร้างผนังใหม่ และเริ่มสร้างเซลล์ปกติหรือสร้างเส้นใยขึ้น เซลล์เหล่านี้เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสต่างกัน ถ้าการรวมกันเกิดขึ้นระหว่างเซลล์ที่มาจากสายพันธุ์ที่พันธุกรรมต่างกัน จะทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการผสมเข้าด้วยกันได้ให้มากขึ้น ซึ่งการจับคู่ลักษณะนี้ในธรรมชาติเกิดขึ้นได้ยากมาก และการใช้เทคนิคนี้สามารถใช้ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งในการผสมข้ามระหว่างชนิด และระหว่างสกุล (Chang, 1982) ในปี 2540 มังกร ได้ทำการการหลอมรวมโปรโตพลาสต์ระหว่างเห็ดหอมกับเห็ดนางรม ได้ลูกหลอมรวม (fusion product) 60 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกตัวแทนได้ 26 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีทางอิเล็กโตรโฟรีซิสจะแสดงแถบ (band) ที่มีความสัมพันธ์ร่วมกันคือ แถบที่พบมีลักษณะเหมือนกับคู่รวมระหว่างเห็ดหอมกับเห็ดนางรม แสดงให้เห็นว่ามีการถ่ายทอดพันธุกรรมไปยังลูกหลอมรวมโดยวิธีการหลอมรวมเซลล์ (cell fusion)

รูปแบบการแสดงเพศในเห็ด

รูปแบบการแสดงเพศในเชื้อราชั้นสูงจะมีทั้งพวกที่ผสมตัวเองได้ (self-fertile) และพวกที่ผสมตัวเองไม่ได้ (self-sterile) โดยที่พวกผสมตัวเองได้จะมีเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพวกที่ผสมตัวเองไม่ได้ก็ต้องมีการผสมข้าม (cross-mating) ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้จะถูกควบคุมด้วยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเข้าคู่กันไม่ได้ (incompatibility factors) ซึ่งเป็นปัจจัยที่เป็นตัวจำกัดรูปแบบในการจับคู่ของลูกผสม

ใน Series Hymenomycetes และ Series Gasteromycetes ระบบที่ควบคุมการผสมที่เข้ากันไม่ได้ จะมีอยู่สองระบบ คือระบบปัจจัยเดี่ยว (bipolar หรือ unifactorial incompatibility) และระบบปัจจัยคู่ (tetrapolar หรือ bifactorial incompatibility) โดยที่ 25 เปอร์เซ็นต์ ใน series นี้ ถูกควบคุม

ด้วยระบบปัจจัยเดี่ยวและอีก 65 เปอร์เซ็นต์ จะถูกควบคุมด้วยระบบปัจจัยคู่ ทั้งระบบปัจจัยเดี่ยวและระบบปัจจัยคู่ การผสมเข้ากันไม่ได้จะแสดงผลเฉพาะระหว่างโครโมโซมที่เป็น haploid (n) เท่านั้น ดังนั้นในระบบปัจจัยเดี่ยว การผสมข้ามระหว่างเครือญาติจะมีโอกาสเกิดขึ้นได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระบบปัจจัยคู่จะมีโอกาสเกิดได้ 25 เปอร์เซ็นต์ (Raper, 1966)

1. กลุ่มที่ผสมตัวเองไม่ได้ (Heterothallism) เส้นใยที่สามารถเจริญเติบโตเป็นดอกเห็ดได้นั้น จะต้องเจริญมาจากสปอร์ ที่มีคู่ยีนในนิวเคลียสที่มีพันธุกรรมต่างกัน โดยมีสองระบบคือ

1.1 ระบบปัจจัยเดี่ยว (Unifactorial system) เป็นระบบที่มีลักษณะการแสดงออกของเพศ ควบคุมด้วยปัจจัยทางพันธุกรรมเพียงปัจจัยเดี่ยว คือ ปัจจัย A ที่อยู่บนคู่ยีน (allele) บางครั้งก็เรียกว่า bipolar ปัจจัย A จะควบคุมความสามารถในการผสมเข้ากันได้ของคู่ยีน โดยในการเข้าคู่กันของยีนจะต้องมีปัจจัย A ที่ต่างกัน ($A \neq$) คือจะมีการแลกเปลี่ยนนิวเคลียส โดยนิวเคลียสจากเส้นใยหนึ่งจะเข้าไปอยู่ในอีกเส้นใยหนึ่ง แล้วเจริญเติบโต เกิดเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่มีข้อยึดระหว่างเซลล์ขึ้น (clamp connection) การสร้างเส้นใยที่มีนิวเคลียสคู่จะทำให้เกิดข้อยึดระหว่างเซลล์ขึ้น และในที่สุดจะพัฒนาเป็นดอกเห็ด

การจับคู่ระหว่างคู่ยีนที่ต่างกัน เช่น A1 และ A2 จะมีการกระจายตัวในอัตราส่วน 1:1 ปกติใน basidium จะมี 4 สปอร์ ซึ่ง 2 สปอร์ จะเป็นคู่ยีนที่มีปัจจัย A1 และอีกสองสปอร์จะมีคู่ยีนที่มีปัจจัย A2 ดังนั้นเส้นใยที่พัฒนาจาก 4 สปอร์ ซึ่งประกอบด้วยคู่ยีนสองกลุ่ม ที่เข้ากันได้ (ตารางที่ 1) ตัวอย่างเห็ดในกลุ่มนี้คือ *Agaricus bitorquis*, *Pholiota mameko* และ *Auricularia auricular*

ตารางที่ 1 รูปแบบการผสมกันของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวในกลุ่มที่ผสมตัวเองไม่ได้ แบบระบบปัจจัยเดี่ยว (Raper, 1978)

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

- แสดงการผสมเข้ากันไม่ได้และไม่มีปฏิกริยาร่วมกัน

+ แสดงการผสมเข้ากันได้

1.2 ระบบปัจจัยคู่ (Bifactorial system) เป็นระบบที่มีการแสดงออกของเพศที่ควบคุมด้วยปัจจัยทางพันธุกรรม 2 ปัจจัย ซึ่งไม่ได้เชื่อมโยงกัน คือ ปัจจัย A และปัจจัย B

การผสมพันธุ์จะประสบผลสำเร็จได้ เมื่อนิวเคลียสของเส้นใยทั้งสองเส้นใย พาเอาคู่ยีนที่ต่างกันมาจับคู่กัน หรือผสมข้ามเพื่อให้เกิดข้อยี่ระหว่างเซลล์ขึ้น และในที่สุดก็จะเกิดดอกเห็ดได้ และในระบบปัจจัยคู่นี้ ปัจจัย A และปัจจัย B ควบคุมลักษณะที่แตกต่างกัน โดยปัจจัย A จะควบคุมการจับคู่ของนิวเคลียส (nuclear pairing) และการสร้างข้อยี่ระหว่างเซลล์ (clamp formation) ส่วนในปัจจัย B จะควบคุมการเคลื่อนย้ายนิวเคลียส (nuclear migration) และการเชื่อมข้อยี่ระหว่างเซลล์ (clamp fusion)

การที่มีปัจจัย A แตกต่างกัน แต่ปัจจัย B เหมือนกัน ($A \neq B=$) จะทำให้มีการผสมกันได้เพียงครั้งเดียว หรือเรียกว่า hemicompatible ซึ่งจะไม่มีทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายนิวเคลียสเกิดขึ้น ผลก็คือได้เส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) โดยเซลล์ปลาย จะเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ แต่เซลล์ที่อยู่ถัดลงมา จะยังคงเป็นนิวเคลียสเดี่ยว มีข้อยี่ระหว่างเซลล์แบบหลอก กรณีที่ ปัจจัย A เหมือนกันแต่ปัจจัย B แตกต่างกัน ($A=B \neq$) ก็เรียกว่า hemicompatible เช่นกัน คือ มีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส และเกิดเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryon) มี septa แบ่งกันเซลล์ แต่ไม่มีข้อยี่ระหว่างเซลล์ มีการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียสได้อย่างไม่จำกัด และเกิดขึ้นตลอดเส้นใยของทั้งคู่ที่ผสมกัน บางครั้งสามารถแสดงถึงความแตกต่างได้จาก heterokaryon อื่น จากลักษณะที่ปรากฏ คือ การที่เส้นใยไม่ค่อยฟู คือมักจะเป็นแบบราบ (flat) หยุดชะงักการเจริญและเติบโตผิดปกติ

ในกรณีที่มิคูยีนต่างกันทั้งสองปัจจัย ($A \neq B \neq$) นั้น นิวเคลียสจะสามารถผสมเข้าคู่กันได้ดี (full compatibility) และทำให้เกิดเส้นใยนิวเคลียสคู่ และมีข้อยี่ระหว่างเซลล์ที่แท้จริง

ปัจจัย A และปัจจัย B ไม่มีการเชื่อมโยงกันแต่จะกระจายตัวอย่างอิสระจากกัน ในอัตราส่วน 1:1:1:1 เช่นในการผสมระหว่าง $A_1B_1 \times A_2B_2$ สปอร์ทั้ง 4 ใน basidium อาจสร้าง tetrad ของทั้ง 4 คือ A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1 และ A_2B_2 เส้นใยจะพัฒนาจากการจับคู่กันของ 4 กลุ่มนี้ (ตารางที่ 2) ตัวอย่างเห็ดในกลุ่มนี้ คือ *Auricularia polytricha, Lentinus edodes, Flammulina velutipes, Pleurotus ostreatus* และ *Coprinus fimetarius*

ตารางที่ 2 แสดงรูปแบบการผสมกันของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว ในกลุ่มที่ผสมตัวเองไม่ได้ แบบระบบปัจจัยคู่

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

- แสดงการผสมเข้ากันไม่ได้และไม่มีปฏิกิริยาร่วมกัน
- + แสดงการผสมเข้ากันได้ และเกิดปฏิกิริยาร่วมกันอย่างสมบูรณ์ ในการผลิตเส้นใย นิวเคลียสคู่
- (+) แสดงการผสมเข้ากันได้เพียงครั้งเดียว เกิดเส้นใยที่มีนิวเคลียสเดี่ยวเป็นส่วนใหญ่และการสร้างข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ สร้างดอกเห็ดไม่ได้
- F แสดงการผสมเข้ากันได้เพียงครั้งเดียว เกิดเส้นใยต่างชนิดกัน (mulikaryotic heteokaryon) ไม่มีการสร้างข้อยึดระหว่างเซลล์ และไม่สามารถสร้างดอกเห็ดได้ (Raper,1978)

2. กลุ่มที่ผสมตัวเองได้ (Homothallism) เป็นลักษณะของการรวมตัวกันของเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์เดียวกัน แล้วสามารถพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดได้โดยไม่ต้องรวมตัวกับเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์อื่น Homothallism ยังแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.1 Primary Homothallism ไม่มีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยที่เข้าคู่กันได้ เส้นใยที่สามารถเข้ากันได้จะพัฒนาจากสปอร์เดี่ยวที่มีนิวเคลียสเดี่ยว เส้นใยที่ผสมตัวเองนี้จะมีนิวเคลียสที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน (homokaryotic) ซึ่งอาจเป็นเส้นใยที่มีข้อยึดระหว่างเซลล์หรือไม่มีก็ได้ แต่ที่พบบ่อยที่สุดเป็นเส้นใยที่มีหลายนิวเคลียส (multikaryotic) ซึ่งไม่มีข้อยึดระหว่างเซลล์ การรวมตัวกันของนิวเคลียส (karyogamy) และการแบ่งตัวแบบไมโอซิสเกิดขึ้นในเบสิดิเทียมของดอกเห็ด เส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryotic phase) จะไม่พบวงจรชีวิตของเห็ดที่มีรูปแบบการผสมแบบนี้ จึงไม่เกิดการกระจายตัวและการรวมกันของ genomes ที่ต่างกันได้ แต่ในบางครั้งอาจเกิดการรวมตัวและการกระจายตัวของ genomes ที่ต่างกันได้ ถ้าเกิดการกลายพันธุ์ของนิวเคลียส เห็ดที่มีรูปแบบการผสมแบบนี้ คือ *Volvariella volvacea*

2.2 Secondary Homothallism เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่ผสมกันไม่ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับกระบวนการกระจายตัวของนิวเคลียส การผสมแบบนี้มีการสร้างสปอร์สองสปอร์ ในเบสิดิเทียมโดยเมื่อนิวเคลียสแบ่งตัวแล้ว นิวเคลียสที่เข้ากันได้สองนิวเคลียส มีการเคลื่อนย้ายไปแต่ละเบสิดิเทียมสปอร์ เส้นใยที่ผสมตัวเองได้เกิด

จากสปอร์เดี่ยวซึ่งมีความสมบูรณ์เพศ และมียีนคู่ที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่ผสมกันไม่ได้ ที่ต่างกัน เส้นใยที่ผสมกันได้คือเส้นใยที่มีนิวเคลียสต่างกัน (heterokaryotic) ซึ่งอาจเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่มีข้อยี่ระหว่างเซลล์ เส้นใยนิวเคลียสคู่ที่ไม่มีข้อยี่ระหว่างเซลล์ หรือเส้นใยที่มีหลายนิวเคลียส (multikaryon) ที่ไม่มีข้อยี่ระหว่างเซลล์ก็ได้ โดยที่เส้นใยที่มีนิวเคลียสเหมือนกัน (homokaryotic phase) จะไม่พบในวงจรชีวิตรูปแบบนี้ ซึ่งแตกต่างจากรูปแบบที่มีการผสมข้าม เนื่องจากเมื่อนิวเคลียสแบ่งตัวแล้วจะกระจายอยู่ในแบซิดิโอสปอร์ และเห็ดที่มีรูปแบบการผสมแบบนี้ เช่น *Agaricus bisporus*

วิธีการผสมพันธุ์เห็ด (Breeding methods)

การผสมพันธุ์เห็ดที่รับประทานได้นั้นมีการทำกันอย่างแพร่หลาย โดยใช้เทคนิคการรวมกันของลักษณะทางพันธุกรรมภายใต้สภาพควบคุม โดยมีจุดประสงค์เพื่อที่จะสร้างลักษณะอย่างใดอย่างหนึ่งในสายพันธุ์ให้หลากหลายหรือการใช้สารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ตามมา ซึ่งสามารถรวมเข้ามาอยู่ด้วยกัน (one organism) (Chang, 1982) ซึ่งงานปรับปรุงพันธุ์ในเชื้อราชั้นสูง เช่น เห็ด จำเป็นต้องทราบ sexual interaction ระหว่างสายพันธุ์ของเห็ดที่นำมาจับคู่กัน ความสามารถในการเกิดดอกเห็ด ทราบระยะ meiosis และความมีชีวิตของสปอร์ ซึ่งความสำเร็จของการปรับปรุงพันธุ์เห็ดขึ้นอยู่กับลักษณะหลายประการ คือ

1. รูปแบบการแสดงเพศ ควรเป็นแบบที่ผสมตัวเองไม่ได้
 2. มีวงจรชีวิตสั้นและมีช่วงที่มีนิวเคลียสเดี่ยว (haploid) เด่น สามารถเพาะเลี้ยงได้ภายในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม
 3. ให้จำนวนสปอร์มาก และสปอร์นั้นสามารถงอกได้รวดเร็ว
 4. เพาะเลี้ยงง่าย
 5. สามารถสังเกต sexual interaction ในเส้นใยที่สมบูรณ์เพศ (fertile) ได้ง่ายและในวงจรเห็ดช่วงที่เป็นระยะ vegetative สามารถนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์โดยวิธีปลอดเชื้อได้
- เห็ดที่นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์นั้น ควรมีการปรับตัวได้ดีในธรรมชาติ และมีฐานทางพันธุกรรมกว้างเพื่อที่จะได้มีลักษณะให้เลือกมากพอสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ (Raper, 1978)

อิเล็กโทรโฟริซิส (Electrophoresis)

อิเล็กโทร โฟริซิส เป็นวิธีการทางชีวเคมีที่อาศัยของค์ประกอบของโมเลกุล เช่น กรดนิวคลีอิก โปรตีน หรือเอนไซม์ที่อยู่ในพีชมาเป็นเกณฑ์ในการจำแนก โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของสารผ่านตัวกลางที่เป็นสารกึ่งแข็ง เช่น agarose หรือ polyacrylamide ซึ่งแช่อยู่ในสารละลายในสนามไฟฟ้า

ระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ อัตราการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุ ขนาด และรูปร่างของโมเลกุลของสาร ความหนาแน่นของประจุสูง การเคลื่อนที่ของสารก็จะเร็วขึ้น ในการวิเคราะห์เอนไซม์หลังจากแยกโมเลกุลในสนามไฟฟ้าแล้ว การทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (substrate) ของเอนไซม์จะทำให้เกิดแถบของสี (product) เฉพาะของสารประกอบนั้นๆ ซึ่งทำให้สามารถนำมาเปรียบเทียบและจำแนกได้ (สิวาพร, 2547)

ชนิดของอิเล็กโทรโฟรีซิส มี 3 ชนิด

1. Moving Boundaries หรือ Free Electrophoresis หลักการก็คือ สารตัวอย่างจะถูกบรรจุไว้ในระหว่างกลางของสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งอยู่ในหลอด เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าให้กับสารในหลอด องค์ประกอบแต่ละส่วนของตัวอย่าง จะเคลื่อนที่ไปในทิศทางและอัตราเร็วที่ขึ้นกับชนิดและจำนวนประจุ วิธีนี้จัดเป็นต้นแบบของอิเล็กโทรโฟรีซิส

2. Zone Electrophoresis หลักการคือ หยดสารตัวอย่างหรือใส่สารตัวอย่างลงในตัวกลางที่เป็นสารกึ่งแข็ง เช่น แป้งหรือเจล เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าไปในตัวกลางที่แช่ในสารละลาย โมเลกุลในสารตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปบนหรือผ่านไปในตัวกลางนั้นได้ตามแต่ชนิด ขนาด และรูปร่างของโมเลกุลนั้นๆ และเกิดเป็นแถบตามชนิดของโมเลกุล ซึ่ง zone electrophoresis มีหลายแบบ เช่น

2.1 Paper Electrophoresis ใช้สารตัวกลางที่เป็นกระดาษและใช้แรงดันไฟฟ้าค่อนข้างต่ำ จุ่มกระดาษลงในสารบัฟเฟอร์แล้ววางในภาชนะที่บรรจุสารละลายไว้ หยดตัวอย่างเป็นจุดหรือแถบบนกระดาษนี้ แล้วปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่านตัวกลางโมเลกุลในสารตัวอย่างก็จะเคลื่อนที่แยกออกจากกันตามคุณสมบัติของโมเลกุล

2.2 Gel Electrophoresis ใช้สารตัวกลางจำพวกเจลที่เป็นสารกึ่งแข็ง เช่น แป้ง หรือ โพลีอะคริลิไมด์ การแยกโมเลกุลจะอาศัยสภาพของเนื้อเจลและขนาดช่องที่เกิดขึ้นจากการเตรียมเจลในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน แต่เดิมนิยมใช้แป้งมันเป็นสารตัวกลางแต่ปัจจุบันนิยมใช้สารโพลีอะคริลิไมด์ เนื่องจากสามารถปรับขนาดช่องของเนื้อเจลได้โดยการปรับความเข้มข้นของเจล นอกจากนี้ เจลยังมีคุณสมบัติที่ดีคือไม่ดูดซับสารตัวอย่างที่ผ่านเข้ามาตามช่องโมเลกุลจึงเคลื่อนที่ได้ อย่างอิสระ โดยที่โมเลกุลขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้ในอัตราเร็วที่สูงกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่

3. Continuous Electrophoresis หรือ Curtain Electrophoresis หลักการคือ ให้สารผสมตัวอย่างที่ต้องการเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางในสนามไฟฟ้าอย่างต่อเนื่อง การเคลื่อนที่แยกตัวอย่างของโมเลกุลต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในสารตัวอย่างจะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ อัตราการใส่ตัวอย่าง ความเข้มข้นของสนามไฟฟ้า และความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ สารตัวกลางที่ใช้คือกระดาษกรอง

เอนไซม์และโปรตีนในพืช

พืชชนิดต่างๆ ที่อยู่บนโลกนี้ประกอบด้วยองค์ประกอบย่อยๆ แตกต่างกันไปตั้งแต่อวัยวะใหญ่ๆ ไปจนถึงโมเลกุลเล็กๆ ภายในเซลล์ พืชชนิดเดียวกันที่มีลักษณะต่างๆ เหมือนกันแยกความแตกต่างไม่ได้ด้วยตาเปล่า แต่เมื่อศึกษาให้ละเอียดลงไปถึงระดับโมเลกุลก็ยังสามารถแยกออกจากกันได้ โปรตีนหรือเอนไซม์เป็นโมเลกุลที่มีประโยชน์มากเพราะข้อมูลทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดออกมาจากพ่อแม่จะถูกแปรออกมาเป็นโมเลกุลของโปรตีนหรือเอนไซม์โดยตรง

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวนมาก และจับกันอยู่อย่างเป็นระเบียบ กรดอะมิโนที่จับกันอยู่โดยทั่วไปมีอยู่ 20 ชนิด ด้วยกัน บางชนิดมีคุณสมบัติเป็นกลางทางไฟฟ้าที่ pH 7 บางชนิดมีประจุบวก บางชนิดก็มีประจุลบ ประจุไฟฟ้าเหล่านี้ทำให้เกิดแรงดึงดูดหรือผลึกซึ่งกันและกัน ทำให้โมเลกุลของโปรตีนมีลักษณะโครงสร้างแตกต่างออกไปตามแรงเหล่านี้ (จริงแท้, 2531)

สำหรับเอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งได้รับการศึกษาค่อนข้างมาก เพราะเอนไซม์ทำหน้าที่กระตุ้นหรือควบคุมปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ในพืช การเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในตัวเอนไซม์แต่ละชนิดอาจส่งผลถึงความอยู่รอดของพืชได้อย่างมาก เอนไซม์มีอยู่หลายชนิดและต่างมีหน้าที่ในการกระตุ้นปฏิกิริยาเคมีต่างกัน

ไอโซไซม์ คือ เอนไซม์ชนิดเดียวกันที่มียีนต้นแบบมากกว่าหนึ่งยีนทำให้มีโมเลกุลที่ต่างกันหรือเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่ต่างรูป ทำให้ได้เอนไซม์ที่มีองค์ประกอบต่างกัน คุณสมบัติทางไฟฟ้าและโครงสร้างจะต่างกันแต่มีปฏิกิริยาทางเคมีแบบเดียวกัน เอนไซม์ต่างๆ สามารถสกัดได้จากส่วนต่างๆ ของพืชโดยอาศัยเทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งสามารถตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายต้น (clone) ของพืชชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกัน หรือจำแนกพันธุ์พืชได้จากแบบไอโซไซม์ (isozyme pattern) โดยเอนไซม์สามารถแบ่งได้ออกเป็น 6 กลุ่มใหญ่ๆ โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยา คือ

1. Oxido-reductase กลุ่มนี้จะเร่งปฏิกิริยาเกี่ยวกับออกซิเดชัน รีดักชัน เช่น ดีไฮโดรจีเนส ออกซิเดส รีดักเตส เปอร์ออกซิเดส เป็นต้น
2. Transferase เอนไซม์กลุ่มนี้จะเร่งปฏิกิริยาเกี่ยวกับการย้ายหมู่ต่างๆ เช่น หมู่อะมิโน หมู่คาร์บอกซิล และหมู่ฟอสเฟต จากสารประกอบชนิดหนึ่งให้กับสารอีกชนิดหนึ่ง เช่น aminotransferase transaminase เป็นต้น
3. Hydrolyase เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เร่งการสลายพันธะต่างๆ ของสารต่างๆ ด้วยน้ำ เช่นการสลายพันธะเอสเทอร์ พันธะเปปไทด์ เช่น esterase peptidase

4. Lyase เป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีการเร่งการทำลายพันธะคู่ระหว่าง C=C, C=O, C=N โดยมีการเติมหมู่ต่างๆ ไปยังพันธะคู่เหล่านั้น เช่น decarboxylase aldolase

5. Isomerase เป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีการเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไปมาระหว่างไอโซเมอร์ในปฏิกิริยา racemization และ epimerization ตัวอย่างเช่น racemase epimerase mutase

6. Lygase เป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีการเร่งปฏิกิริยาเกี่ยวกับการสร้างพันธะ C-O, C-S และ C-N โดยอาศัยพลังงานจากการสลาย ATP ได้แก่ synthetase carboxylase kinase (พนม, 2531)

การแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมของเห็ดหอม ได้มีการใช้ไอโซไซม์เอสเทอร์เอส และทำการศึกษาร่วมกับอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยที่เพาะในวัสดุเพาะ จนสามารถคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดหอมดีสายพันธุ์จากสายพันธุ์ทั้งหมด 22 สายพันธุ์ จากนั้นทำการคัดเลือกโดยศึกษาการพัฒนาของดอก (Levanon *et al.*, 1993) นอกจากนี้ไอโซไซม์เอสเทอร์เอสที่ใช้ polyacrylamide gel electrophoresis พบว่าค่า Rf เท่ากับ 0.47 สามารถแยกความแตกต่างของเห็ดหอมทั้งเจ็ดสายพันธุ์ จึงสรุปว่าควรนำ esterase zymograms มาใช้ในการจำแนกสายพันธุ์เห็ดหอม (Lee *et al.*, 1997)

หลักในการผสมเห็ดนางรมเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและมีลักษณะตามที่ต้องการนั้นทำได้โดยการนำเส้นใยที่งอกจากสปอร์แต่ละสปอร์มาผสมพันธุ์กัน โดยไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของเส้นใยมาจับคู่ผสม และเมื่อได้ลูกผสมแล้วจึงนำลูกผสมไปทดสอบผลผลิตและลักษณะต่างๆ โดยการเพาะเลี้ยงตามปกติ แต่ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคทางด้าน อิเล็กโทรโฟรีซิส เข้ามาทำการศึกษาเพื่อแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืช ดังนั้นการนำเอาวิธีการนี้มาทดลองใช้แยกความแตกต่างของเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์ก่อน ซึ่งคัดเลือกไว้เป็นพ่อแม่แล้วนำมาทำลูกผสม โดยการเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยก็จะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์กันได้ ซึ่งเส้นใยเห็ดสามารถนำมาศึกษาแถบไอโซไซม์แต่ละชนิดได้ (Zervakis และคณะ, 1994)

Zhu (2004) ได้ทำการศึกษารูปแบบไอโซไซม์โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและเอสเทอร์เอส เพื่อใช้ทดสอบหาความแตกต่างของเห็ดในสกุล *Coprinus* จำนวนห้าชนิด คือ *C. plicatilis*, *C. domesticus*, *C. clvatus*, *C. atramentarius* และ *C. silvaticus* พบว่า *C. domesticus* และ *C. clvatus* มีรูปแบบไอโซไซม์เหมือนกัน และ อีก 3 ชนิดมีรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน จึงสรุปได้ว่าสามารถใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและเอสเทอร์เอสเพื่อใช้ในการจำแนกชนิด และความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์ของเห็ดในสกุล *Coprinus* ได้ และ Deng (2004) ได้นำเส้นใยของเห็ดโคนน้อย *C. comatus* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน มาทำการศึกษารูปแบบไอโซไซม์โดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและเอสเทอร์เอส พบว่าเส้นใยที่ทำการเพาะเลี้ยงจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันมีรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน และจากการทดลองสามารถใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและเอสเทอร์เอส ใช้ตรวจสอบทางอนุกรมวิธานและทางสรีระวิทยาหรือใช้ศึกษาความแตกต่างทางชีวเคมีเพื่อใช้ในการแยกชนิดของเห็ดโคนน้อยได้

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดเพื่อให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจากเดิม ทำให้สามารถผลิตเห็ดนอกฤดูกลางแจ้งและสามารถจำหน่ายได้ในราคาที่สูงกว่าเห็ดในฤดูกลางแจ้ง โดย Eger (1978) ได้ทำการปรับปรุงสายพันธุ์ *Pleurotus ostreatus* ซึ่งเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่างกัน ในการศึกษาใช้เห็ดที่มีถิ่นกำเนิดต่างกัน คือ จากประเทศเยอรมนีและประเทศสหรัฐอเมริกา ทำการทดลอง โดยให้สายพันธุ์ที่มาจากประเทศเยอรมนีเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำ และสายพันธุ์ที่มาจากประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง เมื่อนำทั้งสองสายพันธุ์มาผสมกัน พบว่าในช่วงที่มีการสร้าง primordial จะไม่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง แต่ในช่วงการพัฒนาคอกเห็ดจะมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงที่ให้ และการตอบสนองต่ออุณหภูมินั้นจะสังเกตได้จาก หมวกดอก (pileus) ที่จะแผ่ขยายออก มีการผลิต basidiospore อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส จึงสรุปว่า *Pleurotus ostreatus* มียีนหลายตัวในการควบคุมลักษณะต่างๆ เช่นเดียวกับในเห็ด *C. macrorhizus* ซึ่งน่าจะมียีนอย่างน้อยที่สุดสองตัวที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ และจะแสดงผลเมื่อให้อุณหภูมิสูงควบคู่ไปกับการให้แสงสว่าง ในประเทศไทยได้มีการทำการปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดมาอย่างต่อเนื่อง เช่น ณีภุชญา (2540) ทำการผสมพันธุ์แบบ mono-mono crossing ระหว่างเห็ดนางรมชนิดฟลอคิดากับเห็ดลูกผสม KDCM4 คัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ 12 สายพันธุ์ และนำมาเปรียบเทียบผลผลิตสองฤดู คือ ฤดูฝนและฤดูหนาว พบว่าในฤดูหนาวจะมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงกว่าในฤดูฝน หทัยกาญจน์ (2544) ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอมให้สามารถทนร้อน โดยทำการผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยวของสายพันธุ์ L1 เป็นสายพันธุ์ที่ออกดอกเมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำกับสายพันธุ์ L2 เป็นสายพันธุ์ที่ทนร้อนสามารถออกดอกได้เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นกว่าปกติ พบว่ามีลูกผสมที่สามารถออกดอกได้อยู่ 7 สายเชื้อ และจากการทดลองของขนิษฐา (2543) ทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟาง เพื่อหาสายพันธุ์ให้มีผลผลิตสูงขึ้นและสม่ำเสมอ สามารถเพาะได้ตลอดทั้งปี พบว่า มีลูกผสมเพียงสายพันธุ์เดียวที่ให้ผลผลิตสูงคือ H13 และ พบว่าให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ V1 และ V2 แต่ไม่แตกต่างกับพันธุ์การค้า การปรับปรุงพันธุ์เห็ดโคนน้อย เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่สามารถให้ผลผลิตภายใต้อุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีวิธีการทำดังนี้

1. การเก็บรวบรวมสายพันธุ์
2. การคัดเลือกสายพันธุ์
3. การผสมพันธุ์จากสปอร์เดี่ยว
4. การคัดเลือกสายพันธุ์ที่เจริญและให้ดอกได้ที่อุณหภูมิต่ำ

วิธีการเหล่านี้จะทำให้เราสามารถคัดเลือกหาสายพันธุ์เห็ดโคนน้อยที่เกิดดอกและให้ผลผลิตในสภาพอุณหภูมิต่ำได้