หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

เห็ดหอม *Lentinula edodes* หรือ *Lentinus edodes* ชื่อสามัญคือ black mushroom เป็นที่รู้จักกันดีในภาษาญี่ปุ่นว่า shiitake และมีชื่อภาษาจีนว่า shiang-gu ในทางวิทยาศาสตร์ถูกจัดอยู่ใน Kingdom.....Fungi

Sub-division.....Basidiomycotina

Class.....Hymenomycetes

Order.....Agaricales

Family.....Tricholomataceae

Genus.....*Lentinula*

Species.....*Lentinula edodes*

เห็ดหอมเป็นที่รู้จักกันมานานและนิยมบริโภคกันมากในประเทศญี่ปุ่น จีน เกาหลี และแถบเอเชียตะวันออก เนื่องจากมีกลิ่นรสดี ทั้งยังมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคได้อีกด้วย ปัจจุบันมีการผลิตมากเป็นอันดับสองของโลกรองจากเห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) (Chang, 1987)

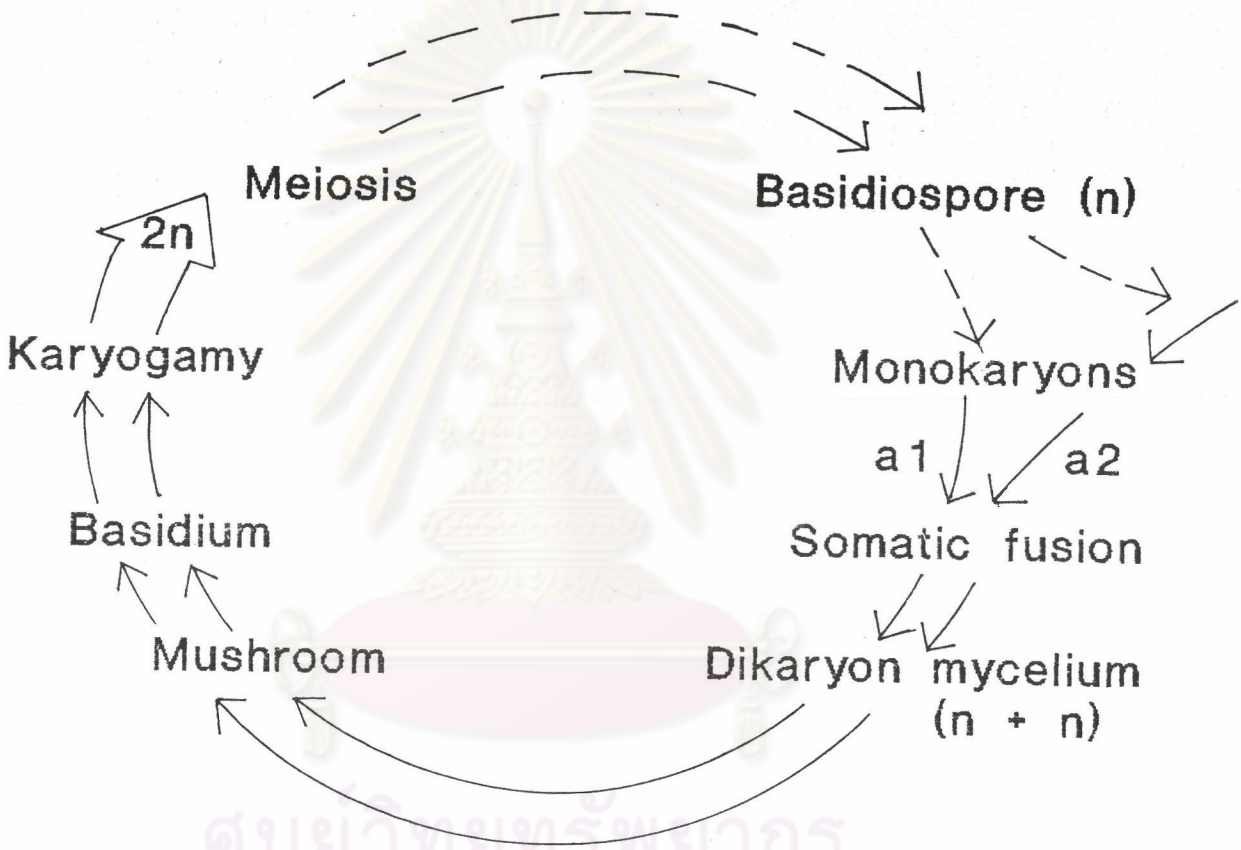
การเพาะเห็ดหอม ปกติเพาะได้ในท่อนไม้จำพวกไม้โอ๊ค หรือไม้ก่อ ในภาคเหนือของประเทศไทยได้มีการเพาะเห็ดหอมในท่อนไม้มานานกว่า 20 ปี (Nutalaya and Patarageteit, 1981) แต่เนื่องจากการขาดแคลนไม้เพาะ ทำให้การเพาะโดยใช้ขี้เลื่อยผสมวัสดุจากการเกษตรได้รับความสนใจและมีการวิจัยและพัฒนาเพิ่มขึ้นมาก (Triratana *et al.*, 1988)

การเพาะเห็ดหอมในท่อนไม้มีข้อดีคือ คุณภาพของดอกเห็ดดีกว่าการเพาะในขี้เลื่อย กล่าวคือ มีเนื้อแน่น กลิ่นรสเข้มกว่า ส่วนข้อเสียคือ ใช้เวลา 8 เดือน ถึง 1 ปี นับตั้ง

แต่เริ่มเพาะจนสามารถเก็บผลผลิตได้ นอกจากนี้ ผลผลิตที่ได้ยังต่ำกว่าการเพาะในขี้เลื่อย ประมาณว่าท่อนไม้น้ำหนักแห้ง 100 กิโลกรัม จะให้ผลผลิตเป็นเห็ดสด 10-15 กิโลกรัม การเพาะในขี้เลื่อยมีข้อดีเนื่องจากใช้เวลาสั้น ประมาณ 3 เดือน ก็สามารถเก็บผลผลิตได้ (Chang and Miles, 1989) และผลผลิตที่ได้อาจสูงสุดถึง 80 กิโลกรัม ต่อน้ำหนักแห้งของวัสดุเพาะ 100 กิโลกรัม นั่นคือเท่ากับ 80 % B.E. (Diehle and Royse, 1986) (% B.E. = Biological efficiency = น้ำหนักเห็ดสด / น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ x 100) ซึ่งสูงกว่าการเพาะในท่อนไม้ประมาณ 8 เท่า ข้อเสียของการเพาะในขี้เลื่อยคือ ต้องทำในสภาวะปลอดเชื้อ ทำให้ต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการอบฆ่าเชื้อวัสดุเพาะ และต้องใช้ตู้ถ่ายเชื้อในการลงหัวเชื้อ ในประเทศเขตอบอุ่น เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี การเพาะเห็ดหอมส่วนใหญ่ยังคงทำในท่อนไม้ แต่ในอนาคตมีแนวโน้มว่าการเพาะในขี้เลื่อยจะได้รับความสนใจและพัฒนามากขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถควบคุมขั้นตอนการผลิตได้ และไม่ต้องตัดไม้

การเพาะเห็ดหอมในถุงขี้เลื่อยใช้ขี้เลื่อยเป็นส่วนผสมหลัก และอาจผสมวัสดุจากการเกษตรต่าง ๆ เช่น รำข้าว ข้าวฟ่าง เปลือกถั่ว ฯลฯ ขึ้นอยู่กับท้องถิ่นนั้น ๆ (Han *et al.*, 1981 ; Farr, 1983 ; Leatham, 1983 ; Royse, 1985 ; Triratana and Osathaphant, 1988) นอกจากสูตรผสมขี้เลื่อยที่เหมาะสมแล้ว การเพาะเห็ดหอมให้ได้ผลดี ยังต้องอาศัยสายพันธุ์ที่ดีเหมาะแก่การเพาะในถุงขี้เลื่อย โดยเฉพาะในประเทศไทยสายพันธุ์นั้น ๆ ควรที่จะสามารถเจริญได้ในภูมิอากาศเขตร้อน ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี หน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้เริ่มทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอม โดยการคัดเลือกและผสมพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกผสมที่มีคุณสมบัติตามต้องการ (Triratana *et al.*, 1988, Triratana *et al* ., 1989)

เห็ดหอม (*L. edodes*) มีวงชีวิตเหมือนเห็ดใน Sub-division Basidiomycotina ทั่ว ๆ ไป (รูปที่ 1) โดยผู้ศึกษาคนแรกคือ Kniep และต่อมา Raper ได้ศึกษาเพิ่มเติม สรุปได้ว่า การสืบพันธุ์เป็นแบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) และเป็นชนิด Tetrapolar คือมีการควบคุมโดย mating type factors 2 ชนิด คือ A และ B หน้าที่ของ factor A คือควบคุมการจับคู่กันของนิวเคลียส และการเกิด hook cell ส่วน factor B มีหน้าที่ควบคุมการเคลื่อนย้ายของนิวเคลียส และการเชื่อมติดกันของ hook cell



รูปที่ 1 Generalized life cycle of the Basidiomycotina

(Ross, I.K.,1979, "Biology of the Fungi")

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เส้นใย monokaryon ที่จะผสมกันได้ต้องมี mating type factors A และ B ต่างกันทั้ง 2 loci จึงจะเข้ากันได้ (compatible) ผสมกันเกิดเป็นเส้นใย dikaryon ซึ่งมี clamp connection สรุปลักษณะการพันธุ์ได้ดังนี้

AxBx x AyBy (Monokaryon)

|

AxBx + AyBy (Dikaryon, clamped hyphae)

|

Fruiting body with basidia

| karyogamy in basidia

AxAyBxBy (2n)

| meiosis

spore (n)

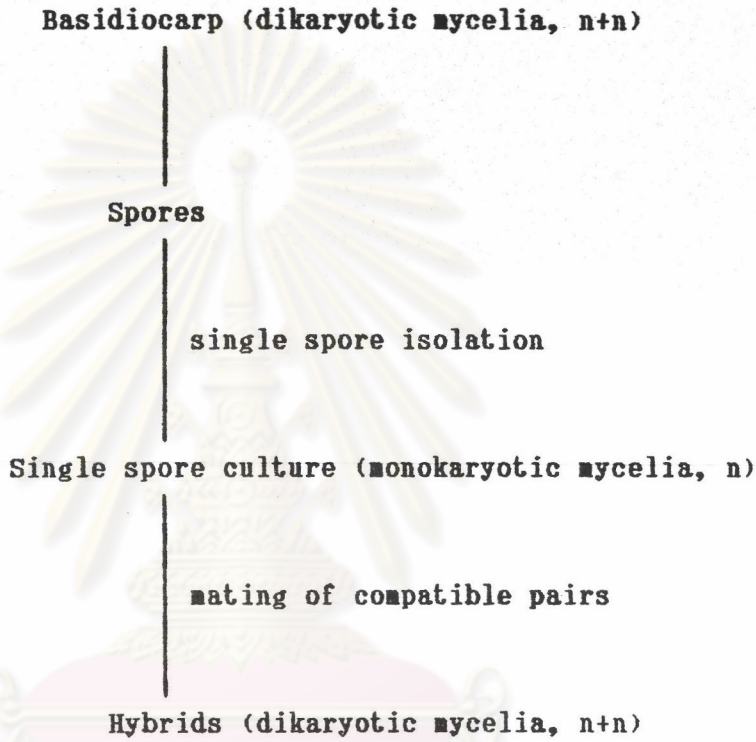
AxBx

AxBy

AyBx

AyBy (Chang and Miles, 1989)

หน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด จุฬาฯ ได้ทำการคัดและผสมพันธุ์เห็ดหอม โดยการแยกเส้นใยสปอร์เดี่ยวสายพันธุ์พ่อและแม่ ซึ่งได้มาจากที่ต่าง ๆ ทั้งในและนอกประเทศ (รูปที่ 2) เมื่อได้ลูกผสม ก็นำไปทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น การเจริญของเส้นใยที่ 30 ° ซ. บนอาหารวุ้นในจานเลี้ยงเชื้อ ทดสอบความสามารถในการเกิดดอกในถุงขี้เลื่อย โดยการเพาะจริงในถุงขี้เลื่อย ซึ่งใช้เวลานานถึง 3 เดือน จึงจะทราบว่าออกดอกได้หรือไม่ ผลผลิตเป็นอย่างไร และการกำหนดคุณลักษณะของสายพันธุ์เห็ดหอมจะใช้ลักษณะภายนอก เช่น สี ความหนาของหมวกเห็ด ผลผลิต เป็นต้น เป็นตัวดัชนี (Royse *et al.*, 1983a) ซึ่งลักษณะต่าง ๆ เหล่านี้แปรเปลี่ยนได้โดยอิทธิพลจากสภาวะแวดล้อม (Han *et al.*, 1981 ; Tokimoto and Komatsu, 1982 ; Triratana and Tantikanjana, 1987)



รูปที่ 2 Mating diagram of *L. edodes*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Esser (1965, 1967) ศึกษารา *Podospora anserina* ใน Class Ascomycetes พบว่ามี barrage zone เกิดขึ้นระหว่าง somatic hyphae ของสายพันธุ์บางคู่ ซึ่งเกิดจากยีนที่ไม่เกี่ยวข้องกับ mating type จึงเรียกว่าเป็น heterogenic incompatibility ในเห็ดราหลายชนิดมีรายงานการแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มหรือสายพันธุ์ โดยการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเส้นใย (hyphal interaction) ซึ่งเป็นการศึกษา somatic incompatibility ทำได้โดยเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดราที่ต้องการดูความแตกต่างคู่กันบนจานเลี้ยงเชื้อ แล้วสังเกตแนวระหว่างเส้นใยเมื่อเส้นใยทั้งสองเจริญมาพบกัน ถ้ามีแนวระหว่างเส้นใย (barrage) แสดงว่าเส้นใยทั้งสองเข้ากันไม่ได้เนราะมีความแตกต่างกันในคุณลักษณะเรื่องหนึ่ง ๆ ซึ่งวิธีนี้มีรายงานว่าใช้เป็นวิธีแบ่งกลุ่มของเห็ดราบางชนิด เช่น Burpee และคณะ (1980) ใช้แบ่งกลุ่ม *Ceratobasidium cornigerum* และราในสกุลใกล้เคียง Adaskaveg และ Gilbertson (1987) ศึกษาใน *Ganoderma lucidum* และ *G. tsugae* Stenlid (1985) เปรียบเทียบการใช้ somatic incompatibility กับ sexual incompatibility และ isozyme patterns ในการศึกษาประชากรของ *Heterobasidion annosum* กล่าวว่า somatic incompatibility เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดและให้ผลที่เชื่อถือได้

ปัจจุบัน มีผู้นิยมใช้เทคนิคทางชีวเคมี และพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล ในการศึกษาการปรับปรุงและคัดเลือกสายพันธุ์ของเห็ดตามต้องการ (Lu *et al.*, 1988) เทคนิคทางชีวเคมี เช่น เทคนิคเจลอิเลคโตรฟอริซิส ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์บางชนิดที่ถูกสร้างขึ้นอย่างกว้างขวาง ใช้ในการกำหนดและติดตามคุณลักษณะของสิ่งมีชีวิตทั้งในพืช (Menendez *et al.*, 1986 ; Bournival and Korban, 1987 ; Doong and Kiang,1987 ; ดวงพร วรสุนทโรสถ, 2530) สัตว์ (DeLorenzo and Ruddle, 1969 ; Nelson *et al.*,1987) สำหรับในเห็ดรารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ ได้รับการศึกษาและวิจัยกันอย่างมากมาย อาทิเช่น Spieth (1975) วิเคราะห์โปรตีนและไอโซไซม์ 2 ชนิด คือ acid phosphatase และ esterase ในรา *Neurospora intermedia* ที่มาจากแหล่งต่าง ๆ ของโลก พบว่ามีความผันแปรมากทั้งในประชากรที่มาจากที่เดียวกันและที่มาจากที่ต่างกัน อังคณา ปลั่งนัฑนะพานิชย์ (2519) ศึกษาโปรตีนและเอนไซม์ amylaseใน *Candida albicans* พบว่ารูปแบบโปรตีนไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทำให้เกิดโรคในที่ใดที่

หนึ่งโดยเฉพาะ ส่วนรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ amylase มีเพียงรูปแบบเดียวและไม่แตกต่างกันใน pathogen และ saprobe May และคณะ (1979) วิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ phosphoglucoisomerase, 6-phosphogluconate dehydrogenase และ leucine aminopeptidase ในรา *Entomophthora sphaerosperma* และ *E. virulenta* พบว่ามีความแตกต่างกันในระหว่างสอง species นี้ ไอโซไซม์หลายชนิดได้ได้รับการศึกษาและวิจัยถึงสมบัติและการสังเคราะห์เพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าว เช่น adenosine deaminase, aspatate aminotransferase, glutamate dehydrogenase, peptidase, malate dehydrogenase ฯลฯ ในเห็ดกระดุม *Agaricus bisporus*, *A. campestris* และเห็ดหลม *Lentinus edodes* พบว่ารูปแบบไอโซไซม์มีความผันแปรในระหว่างสายพันธุ์ของเห็ดดังกล่าว (May and Royse, 1981) ในเห็ด *A. brunnescens* สามารถใช้วิธีทางชีวเคมีและพันธุศาสตร์ในการจำแนกสายพันธุ์ทางการค้าออกเป็นกลุ่ม ๆ โดยใช้ลักษณะทาง genotypic classes ของไอโซไซม์ 5 ชนิด คือ mannosephosphate isomerase, peptidase with leucyl-leucyl-leucine-1, peptidase with leucyl-leucyl-leucine-2, glutamate pyruvate transaminase และ alcohol dehydrogenase พบว่าลูกผสมมีรูปแบบไอโซไซม์เป็นแบบผสมระหว่างพ่อกับแม่ (Royse and May, 1982a, 1982b ; May and Royse, 1982) ส่วนใน *L. edodes* มีการวิจัยทดสอบเพื่อใช้ไอโซไซม์ในการจำแนกสายพันธุ์มากมาย ไอโซไซม์ที่นิยมใช้ได้แก่ glucose phosphate isomerase, peptidase, malate dehydrogenase, glutamate dehydrogenase, alkaline phosphatase เป็นต้น จากรูปแบบไอโซไซม์ดังกล่าวนี้ สามารถจำแนกสายพันธุ์ *L. edodes* ออกเป็นกลุ่ม ๆ และคำนวณค่าความคล้ายคลึงกัน (similarity coefficient) ของสายพันธุ์ได้ (Royse *et al.*, 1983a, 1983b ; Royse and May, 1987 ; Ohmasa and Furukawa, 1986)

เอนไซม์ที่มักพบในเห็ด คือ tyrosinase และ laccase จัดอยู่ในกลุ่ม Monophenol monooxygenase (EC. 1.14.18.1) ซึ่งยังรวมถึงเอนไซม์อื่น ๆ อีก ได้แก่ phenolase, catechol oxidase, polyphenol oxidase, monophenol oxidase, *o*- and *p*- diphenol oxidase, orthophenolase และ urushiol oxidase เอนไซม์กลุ่ม Monophenol monooxygenase นี้ เป็น copper-protein มี systematic

name ว่า Monophenol, dihydroxyphenylalnine : oxygen oxidoreductase (Florkin and Stotz, 1973)

Tyrosinase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่ทำให้ดอกเห็ดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (browning reactions) มีการศึกษาการควบคุมเอนไซม์ชนิดนี้เพื่อชลอการกลายเป็นสีน้ำตาลของดอกเห็ดในระหว่างการเก็บ และการวิเคราะห์แอคติวิตีของ tyrosinase ในดอกเห็ด *A. bisporus* ระยะต่าง ๆ โดยใช้ catechol, dopa และ tyrosine เป็นสับเสตรท พบว่า catechol oxidase ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ dopa oxidase และ tyrosine hydroxylase ลดลงตั้งแต่เป็นตุ่มดอกเล็ก ๆ ไปจนถึงเป็นดอกที่โตเต็มที่ แต่ในทางตรงข้าม latent dopa oxidase (ขณะวิเคราะห์เติม SDS) กลับเพิ่มขึ้น (Flurkey and Ingebrigtsen, 1989; Ingebrigtsen *et al.*, 1989)

Laccase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย lignin (lignin depolymerization) ร่วมกับเอนไซม์อื่น ๆ เช่น ligninase และ peroxidase (Szkearz *et al.*, 1989) พบใน Basidiomycetes ที่ย่อยสลายไม้ได้ มีรายงานเกี่ยวกับความสำคัญของ laccase ต่อการเจริญเติบโตและการเกิดดอกในเห็ดชนิดต่าง ๆ มากมาย อาทิเช่น บทบาทต่อการเริ่มต้นการ เกิดดอกเห็ด *Coprinus congregatus* (Ross,1982) ในเห็ด *A. bisporus* มีรายงานว่าระดับของ laccase ที่ปล่อยสู่ภายนอกเซล ลดลงระหว่างการเกิดดอกเห็ด (Wood, 1980) Kerrigan และ Ross (1988) ใช้ laccase ที่ปล่อยออกสู่ภายนอกเซลเป็นเครื่องหมายในการแยกกลุ่มเห็ดกระดุม Leatham และ Stahmann (1981) ศึกษาคุณสมบัติหลายประการของ laccase ในเห็ดหอม เช่น ความจำเพาะต่อสับเสตรท ตำแหน่งของการสังเคราะห์ และความเกี่ยวข้องกับระยะการเจริญเกิดดอกเห็ด พบว่าระดับของการสังเคราะห์เอนไซม์เพิ่มสูงและมีสัมพันธภาพกับการเจริญอย่างรวดเร็วของเส้นใย (aerial mycelium) ซึ่งระดับการสังเคราะห์เอนไซม์จะเพิ่มสูงมากควบคู่กับการเจริญอย่างรวดเร็วของ pigmented primodia

Acid phosphatase [EC. 3.1.3.2] เป็นเอนไซม์ไฮโดรไลซ์ phosphomono ester ได้ผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาเป็น ฟอสเฟตอิสระ หรือบางครั้งสามารถย้ายหมู่ฟอสเฟต

(transphosphorylation) Kropp (1990) กล่าวอ้างถึง รายงานของ Harley และ McCready (1950,1952) ว่า ราพวก Ectomycorrhiza มีบทบาทสำคัญเมื่อเข้าไป infect รากพืช จะทำให้พืชสามารถนำฟอสฟอรัสในดินไปใช้ได้มากขึ้น Kropp จึงได้ทำการวิเคราะห์ระดับการสังเคราะห์เอนไซม์ acid phosphatase ในรา Ectomycorrhiza *Laccaria bicolor* ใน monokaryon รุ่น F_1 พบว่า แต่ละ isolate มีการสังเคราะห์เอนไซม์ในระดับต่าง ๆ กัน บาง isolate มีการสังเคราะห์เอนไซม์สูงกว่าตัวอื่นถึง 10 เท่า ระดับการสังเคราะห์เอนไซม์ชนิดนี้ถูกควบคุมโดยกลุ่มของยีน (polygenes)

Leatham (1985b) พบว่า phosphatase ใน *L. edodes* อยู่ในส่วนผนังเซล มีระดับการสังเคราะห์สูงสุดในช่วงหลังจากเส้นใยหยุดเจริญ และคงอยู่อย่างนั้นตลอดการทดสอบ รูปแบบของเอนไซม์ phosphatase ที่สำคัญและมีระดับสูงคือ acid phosphatase นอกจากนี้ยังได้ตั้งข้อสังเกตว่าเป็นเอนไซม์ที่ควบคู่กับการเจริญของเส้นใย อย่างไรก็ตามหน้าที่ที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัด Leatham (1989) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเริ่มขึ้นของแอคติวิตีกับการเจริญของดอกเห็ด พบว่า *L. edodes* ปลดปล่อยเอนไซม์ acid phosphatase สูงสุดจาก primordia และ fruit body เหมือน laccase

Esterase [EC 3.1.1.__] เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์ carboxylic ester มีรายงานว่ารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ชนิดนี้ สามารถใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น พืช (Menendez *et al.*, 1986 ; Bournival and Korban, 1987) รา *Neurospora intermedia* (Spieth, 1975) Wang และ Wang (1989) ทำการวิเคราะห์ไอโซไซม์ของเอนไซม์หลายชนิดในเห็ด *A. bisporus* คือ polyphenol oxidase, cytochrome oxidase, peroxidase, alcohol dehydrogenase, lactic dehydrogenase, malate dehydrogenase, acid phosphatase รวมทั้ง esterase แล้วใช้ข้อมูลที่ได้มาสร้างแม่แบบการทำนายลักษณะและจัดกลุ่ม *A. bisporus* 150 สายพันธุ์ นอกจากนี้ ยังพบว่าลูกผสมมีรูปแบบไอโซไซม์ที่ได้รับจากพ่อและแม่ที่เป็น monokaryon (Wang and Wang,1990) Wang และ Liao (1990) นักวิทยาศาสตร์กลุ่มเดียวกันนี้ได้ใช้รูปแบบไอโซไซม์ esterase เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic markers) แบ่งกลุ่ม homokaryons เพื่อใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์เห็ด *A. bisporus* มีผลทำให้สามารถลดความ

ยุ่งยากในการจำแนก homokaryons จาก 3- , 4- spored basidia โดยใช้ micromanipulator Toyomazu and Zennyozi (1981) รายงานว่า esterase ใน *L. edodes* มีชนิดของไอโซไซม์มากมายหลายแบบ ซึ่งแสดงว่ามีความผันแปรลักษณะทางพันธุกรรมมาก จึงเหมาะสมที่จะใช้ไอโซไซม์ชนิดนี้ในการกำหนดคุณลักษณะและจำแนกกลุ่มของเห็ดชนิดนี้ Ohmasa และ Furukawa (1986) ได้รายงานถึงวิธีการจัดกลุ่ม เห็ดหอม 40 สายพันธุ์ โดยใช้ ความแตกต่างของรูปแบบของเอนไซม์ esterase และ malate dehydrogenase พบว่าสามารถจัดได้เป็นกลุ่มย่อย 5 กลุ่ม

โครงการวิจัยนี้ มุ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตี และรูปแบบการสังเคราะห์เอนไซม์ acid phosphatase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญในระหว่างการเกิดดอกเห็ด (Leatham and Hasselkus, 1989 ; Lu *et al.*, 1988) laccase ซึ่งมีรายงานว่าเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการเกิดสีและกระตุ้นการเกิดดอกเห็ด (Leatham and Stahmann, 1981 ; Lu *et al.*, 1988) และรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ esterase ซึ่งนิยมใช้ในการกำหนดคุณลักษณะและจัดกลุ่มเห็ดหลายชนิดรวมทั้งเห็ดหอมได้ (Toyomaza and Zennyozi, 1981; Ohmasa and Furukawa, 1986) กับความสามารถของการเกิดดอกในถุงขี้เลื่อยของเห็ดหอมสายพันธุ์ลูกผสม โดยตั้งเป้าหมายว่าความสัมพันธ์ดังกล่าว อาจใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดหอมที่สามารถเกิดดอกได้ดีในถุงขี้เลื่อยต่อไป

ขั้นตอนการวิจัยมีดังนี้

1. รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะภายนอกและสรีรวิทยาของเห็ดหอมสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการผสมพันธุ์ ซึ่งคัดแล้วว่าเป็นสายพันธุ์ที่สำคัญและน่าสนใจ ได้แก่ สายพันธุ์ พ่อ-แม่ และลูกผสม
2. รวบรวมเกี่ยวกับการเกิดดอกในสายพันธุ์ที่สำคัญและน่าสนใจ สำหรับลูกผสมที่ไม่เกิดดอกทำการทดสอบความสามารถในการเกิดดอกซ้ำอีกครั้ง
3. ศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเส้นใย (hyphal interaction) ของสายพันธุ์พ่อ-แม่ เพื่อดูความแตกต่างกันของสายพันธุ์ เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์
4. ศึกษารูปแบบการเจริญของเส้นใยเห็ดหอม ทั้งเส้นใยสปอร์เดี่ยว monokaryon และเส้นใย dikaryon ของสายพันธุ์พ่อ-แม่ และลูกผสม ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว

5. วิเคราะห์และเปรียบเทียบแอคติวิตีของเอนไซม์ laccase และ acid phosphatase ของสายพันธุ์พ่อ-แม่, ลูกผสม และ เส้นใยสปอร์เดี่ยว
6. ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น glutamate dehydrogenase, laccase, acid phosphatase และ esterase ในช่วงการเจริญของเส้นใย เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว
7. วิเคราะห์และเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ laccase และ esterase ของสายพันธุ์พ่อ-แม่, ลูกผสม และเส้นใยสปอร์เดี่ยว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย