บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

ในบรรดาเห็ดที่ขึ้นในธรรมชาติที่ได้รับความนิยมบริโภคสูงสุดคือ เห็ดโคน ในปี ค.ศ. 1977 Heim ได้จัดจำแนกเห็ดโคนออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม *Praetermitomyces* และ *Eutermitomyces* โดยแบ่งตามลักษณะของ pseudorhiza ซึ่งทำหน้าที่คล้ายราก โดยกลุ่ม *Praetermitomyces* จะเป็นกลุ่มที่ไม่มี pseudorhiza และ *Eutermitomyces* เป็นกลุ่มที่มี pseudorhiza

ในปัจจุบันพื้นที่ป่าธรรมชาติต่างๆ ของโลกถูกทำลายลงจนถึงขั้นวิกฤติโดยเฉพาะในแถบทวีปแอฟริกาและเอเชีย มีอัตราประชากรที่เพิ่มขึ้นจนน่าเป็นห่วง ส่งผลให้ป่าซึ่งเป็นแหล่งทรัพยากรและแหล่งผลิตที่สำคัญของเห็ดโคนได้ถูกทำลายลงเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรกรรม บางส่วนถูกแปรสภาพเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของมนุษย์ จนทำให้ระบบนิเวศดั้งเดิมและสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้แหล่งกำเนิดของรังปลวกและปลวกที่เพาะเห็ดได้ (fungus grower) รวมทั้งเห็ดโคนได้รับผลกระทบโดยตรงทำให้ผลผลิตของเห็ดโคนที่พบในท้องถิ่นทั่วไปลดน้อยลง ในประเทศไทยการสำรวจและจำแนกชนิดของสายพันธุ์เห็ดโคนมีอยู่น้อยและกระจัดกระจายขาดความต่อเนื่องทำให้การศึกษาวิจัยด้านความสัมพันธ์ในกลุ่มประชากรเห็ดโคนทำได้ยาก นอกจากนี้ยังไม่มีการหา genetic marker ที่ช่วยในการบ่งชี้และกำหนดพันธุ์ที่แน่นอน เพื่อกำหนดสายพันธุ์และการเก็บรักษาสายพันธุ์ที่ดีเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ตลอดจนปรับปรุงพันธุ์ต่อไป จึงควรมีการสำรวจและรวบรวมพันธุ์เห็ดโคนที่พบในประเทศไทยทั้งจัดทำ genetic marker ของเห็ดโคนแต่ละสายพันธุ์ขึ้น เนื่องจากเห็ดโคนจะมีลักษณะทางสัณฐานแตกต่างกัน จึงทำให้ยุ่งยากในการจัดจำแนก จึงได้มีแนวทางในการนำเอาลักษณะรูปแบบของไอโซไซม์มาช่วยประกอบในการจัดจำแนก เนื่องจากรูปแบบของไอโซไซม์นั้นเป็นรูปแบบของโปรตีนซึ่งถูกควบคุมด้วยยีนที่ไม่ได้เปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม และรูปแบบของไอโซไซม์นี้ยังสามารถวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของเห็ดโคนชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี Cluster analysis ว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างไรทั้งในกลุ่มประชากรเดียวกันและต่างกลุ่มประชากร

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทั่วไปของเห็ดโคน

เห็ดโคนเป็นเห็ดที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันมาก ดอกเห็ดมีขนาดตั้งแต่ 2 - 30 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับชนิด แหล่งที่พบและความอุดมสมบูรณ์ของดิน หมวกดอกมียอดแหลมหรือทู่ก็ได้ ก้านดอกโป่งออกเป็นกระเปาะบริเวณโคนก้าน กลาง หรือบริเวณใกล้หมวกดอกมีส่วนที่คล้ายรากหยั่งลึกถึงรังปลวก (ภาพที่ 1) สปอร์มีสีขาวครีม ชมพู (อนงค์ จันทรศรีกุล, 2530; Bels and Pataragetvit 1982; Singer, 1975) เส้นใยเห็ดมีผนังค่อนข้างบาง ไม่มี clamp connection (Singer, 1975; Natarajan, 1979)

ภาพที่ 1 ดอกเห็ดที่เจริญมาจากรังปลวกซึ่งอยู่ใต้ผิวดิน
(http://www.mycolog.com/chapter16.htm)

การศึกษาเกี่ยวกับเห็ดโคนส่วนใหญ่มุ่งเน้นถึงการหาวิธีการและสูตรอาหารที่จะทำให้เห็ดโคนออกดอกนอกเหนือธรรมชาติแต่ยังไม่ประสบผลสำเร็จ รายงานส่วนใหญ่จึงเป็นการสำรวจแหล่งที่พบเห็ดโคนที่ขึ้นในธรรมชาติ และความก้าวหน้าในการศึกษานิเวศน์วิทยาของเห็ดโคน

การแพร่กระจายและแหล่งที่พบเห็ดโคน

การแพร่กระจายของเห็ดโคนเริ่มจากทวีปแอฟริกาเข้าสู่ทวีปเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยผ่านทางปากีสถาน อินเดีย ศรีลังกา เข้าสู่มาเลเซีย คาบสมุทรอินโดจีน บอร์เนียว ฟิลิปปินส์ ส่วนทางตอนใต้ของจีนและเกาะไต้หวันพบอยู่น้อย (Batra และ Batra, 1967)

มีรายงานการสำรวจพบเห็ดโคนขึ้นในธรรมชาติที่ประเทศต่าง ๆ ในทวีปอาฟริกาและเอเชีย เช่น แอฟริกาใต้ ไนจีเรีย แซมเบีย นามีเบีย อินเดีย จีน ฟิลิปปินส์ และประเทศไทย เป็นต้น (โอภาส ศรีสะอาดและคณะ, 2525; อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2530; Zang, 1981; Yang, 1990; Quimio, 1977; Aich *et al*., 1977; Piearce, 1987; Botha และ Eicker, 1992; Zoberi, 1973)

จากการสำรวจเห็ดโคนในเมืองไทยของ Bels และ Pataragetvit (1982) พบเห็ดโคน 4 ชนิด คือ *T. clypeatus T. fuliginosus* และ *T. globulus* ที่จังหวัดกาญจนบุรี ในเดือนตุลาคม ส่วนอีกชนิดหนึ่งคือ *T. mammiformis* พบที่จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนกันยายน โอภาสและคณะ (2525) พบเห็ดโคน 3 ชนิด คือเห็ดปลวกปี ขึ้นในเดือนมิถุนายน ซึ่งเป็นระยะเริ่มต้นฤดูฝนที่อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี ชนิดที่ 2 คือเห็ดโคนขาไก่ หรือเห็ดโคนใหญ่ ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ขึ้นในเดือนกรกฎาคม - กันยายน ชนิดที่ 3 เห็ดโคนข้าวตอก (*T. Fuliginosus*) ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในปี พ.ศ. 2537 เกษม สร้อยทอง ศึกษาลักษณะของเห็ดโคน *Termitomyces sp.* 4 ชนิด คือ *T. albuminosus T. cartilagineus T. clypeatus* และ *T. fuliginosus* โดยใช้ลักษณะของหมวกดอก ก้านดอก สปอร์ pseudorhiza ในการจำแนกชนิดของเห็ดโคน มีรูปประกอบคำบรรยายลักษณะต่าง ๆ

Heim (1942) รายงานไว้ 17 ชนิดของเห็ดในสกุล *Termitomyces* ซึ่งมี 2 subgenus คือ *Praetermitomyces* และ *Eutermitomyces* โดยเป็นพวกที่ไม่มีและมี pseudorhiza ตามลำดับ และสายพันธุ์ *Termitomyces medius* (Heim & Grasse) เป็น intermediate ระหว่าง 2 subgenus ในปี ค.ศ. 1987 Piearce ศึกษาเห็ดโคน *Termitomyces* ซึ่งมีศูนย์กลางการแพร่กระจายอยู่ในอาฟริกา อินเดีย และแซมเบีย พบว่าเห็ดโคนจะเกิดขึ้นในช่วงประมาณเดือนพฤศจิกายน - มกราคม และพบมากในเดือนธันวาคม ปี ค.ศ. 1945 Singer นำเอาสกุล *Podabrella* ซึ่งมีชื่อเดิมว่า *Podabrella microcarpus* ((Berk & Broome) Sing) มาจัดอยู่ในสกุล *Praetermitomyces* โดยปัจจุบันมีชื่อว่า *Termitomyces microcarpus* แต่ทั้ง Heim (1977) และ Pegler (1977) ไม่ยอมรับการจัดจำแนกนี้ แต่มันก็ยังคงอยู่ในสกุล *Termitomyces* เพราะมันเป็นพวกที่มีลักษณะการเจริญเติบโตร่วมกับปลวก (termitophilous) และมีลักษณะของดอกเห็ดที่เหมือนกับเห็ดชนิดอื่น ๆ ในสกุลนี้ ในปี ค.ศ. 1969 Pegler & Rayner และ ปี ค.ศ. 1977 Pegler

ได้รายงานชนิดเห็ดโคนที่พบในประเทศเคนยาไว้ 8 ชนิดได้แก่ *T. Albuminosus* *T. carlilagineus* *T. eurhizus* *T. globulus* *T. microcarpus* *T. orientalis* *T. robustus* และ *T. shimperi* ในปี ค.ศ. 1980 Pegler & Piearce และในปี ค.ศ. 1987 Piearce ได้รายงานการพบเห็ดโคนจำนวน 8 ชนิดได้แก่ *T. clypeatus* *T. eurrhizus* *T.medius* *T.microcarpus* *T. schimperi* *T. letestui* *T.giganteus* และพบสปีชีส์ใหม่อีก 1 ชนิดคือ *T. titanicus* จากแซมเบีย ในปี 1990 Westhuizen และ Eicker ได้รายงานการพบเห็ดโคนในแอฟริกาใต้จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *T. microcarpus* *T.clypeatus* *T. striatus* *T. schimperi* *T. reticulatus* *T.sagittiformis* และ *T. umkowaani* ในปี ค.ศ. 1979 Natarajan ได้บรรยายลักษณะสายพันธุ์ใหม่คือ *T. heimii* จากอินเดีย ในปี 1985 Zang ได้บรรยาย 2 ชนิดได้แก่ *Sinotermitomyces carn*osus M. Zang และ *S. cavus* M. Zang ในสกุลใหม่ของ termitophilous agarics (*Sinotermitomyces*) จากประเทศจีน

รายงานชนิดของปลวกที่มีความสัมพันธ์กับเห็ด

ในปีค.ศ. 1921 Bottomley และ Fuller รายงานว่า *Termitomyces microcarpus* เป็นเห็ดโคนที่สามารถเจริญเติบโตร่วมกับปลวกในสกุล *Odontotermes* จำนวน 3 species และในปี ค.ศ. 1950 Doidge ได้รายงานว่าเห็ด *Termitomyces albuminosa* มีความสัมพันธ์กับปลวกสายพันธ์ *O. badius* เพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้น ในปี ค.ศ. 1961 Coaton ได้ถูกอ้างถึงรายงานของ Sands (1970), Heim (1977) และ Piearce (1987) ว่าความสัมพันธ์ระหว่างเห็ดกับปลวกมีความสัมพันธ์แบบ symbiosis โดยในการจัดจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ของปลวกที่เป็น host เขาได้อ้างว่ามันสามารถจำแนกชนิดของเห็ดได้ และปลวกอาจจะเป็นกุญแจที่สำคัญสำหรับการจำแนกเห็ด

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปลวกกับเห็ดโคน

Termite Host	Fungus	Reference
Acanthotermes acanthothorax	*Termitomyces robustus* *Termitomyces fuliginosus*	Heim 1958, 1977
Ancistrotermes latinotus	*Termitomyces medius*	Grass & Heim 1950; Coaton 1961
Bellicositermes subhyalinas	*Termitomyces schimperi*	Heim 1963
Bellicositermes natalensis	*Termitomyces letestui*	Heim 1958, 1977
Microtermes insperatus	*Termitomyces cartilaginosus*	Kemner 1934
Odontotermes badius	*Termitomyces cartilaginosus*	Coaton 1961
Odontotermes gurdospurensis	*Termitomyces eurhizus*	Batra & Batra 1966
Odontotermes horni	*Termitomyces cartilaginosus*	Bathellier 1927
Odontotermes obesus	*Termitomyces cartilaginosus*	Bose 1934
Odontotermes obscuriceps	*Termitomyces cartilaginosus*	
Odontotermes redmanni	Termitomyces cartilaginosus	Petch 1906
Odontotermes sundaicus	Termitomyces cartilaginosus	

ที่มา : www.utoronto.ca/forest/termite/Fungi.html

ชีวเคมีในเห็ดโคน

เห็ดโคนเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางอาหารสูง มีรายงานการวิจัยสารชีวเคมีในเห็ดโคนดังนี้ Rohrmann และ Rossmann (1980) พบว่าในดอกเห็ดโคนมีไคตินเป็นองค์ประกอบถึง 2.7% และมีโปรตีนสูงถึง 38% Botha และ Eicker (1992) ศึกษาเห็ดโคน 4 ชนิดจากอาฟริกาใต้ ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นถึง 10 ชนิด และกรดอะมิโนไม่จำเป็นอีก 8 ชนิด

เห็ดโคนสามารถย่อยสลายลิกนินได้ เพราะมีแอคติวิตี้ของเอนไซม์ laccase และ polyphenoloxidase (Hakin, Larsen and Obst, 1974) ในปี 1983 Osore และ Okech สามารถสกัดเอนไซม์ cellulase และ beta-glucosidase จาก conidiophores และดอกเห็ดของเห็ดโคนได้

Ghosh Banerjee และ Sengupta (1980) ได้สกัดและศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ xylanhydrolase จากเห็ดโคน *T. clypeatus* ในปี 1987 Ghosh และ Sengupata สามารถสกัดเอนไซม์ amylase จากอาหารเลี้ยงเส้นใยได้

การเพาะเลี้ยงเห็ดโคนในภาวะควบคุม

นักวิชาการและนักวิจัยทั้งในและต่างประเทศพยายามหาวิธีเพาะเลี้ยงเห็ดโคนทั้งวิธีเลียนแบบธรรมชาติและในอาหารสังเคราะห์ (ยงยุทธ สายฟ้าและคณะ, 2520 ; สาโรช ธีรศิลปและคณะ, 2526a ; Batra and Batra, 1967 และ Thomas, 1987) แต่ก็ยังไม่สามารถทำให้เห็ดโคนออกดอกในภาวะควบคุมได้ ในปี ค.ศ. 1967 Batra and Batra ศึกษาการใช้สูตรอาหารพื้นฐานที่มีแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนและวิตามิน ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโคน *T. albuminosus* พบว่าสูตรอาหารที่มีสารละลายที่กรองจากเส้นใย Xylaria อายุ 14 วัน ซึ่งใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดโคน จะทำให้เส้นใยมีการเจริญเติบโตมากที่สุด และพบว่าวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโคน คือ ไทอะมีน (thiamine) ไบโอติน (biotin) และไพริดอกซิน (pyridoxine) ในปี ค.ศ. 1987 Thomas ได้ทดลองเลี้ยงเส้นใยของ *Termitomyces sp.* 8 ชนิดในอาหารสังเคราะห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตของเส้นใยไม่แตกต่างกัน ยงยุทธ สายฟ้าและคณะ (2520) เพาะเลี้ยงเห็ดโคนในอาหารวุ้น 11 สูตรและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใย พบว่าสูตรอาหารที่มีน้ำต้มเห็ดโคน จะให้เส้นใยที่มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด ในปี พ.ศ. 2526 สาโรชและคณะ ศึกษาวัสดุที่เห็ดโคนขึ้นในธรรมชาติ คือ อินทรีย์วัตถุที่ประกอบเป็นรังเลี้ยงตัวอ่อนของปลวกในระยะที่เห็ดกำลังขึ้นมีความชื้นสูง pH อยู่ในช่วง 5.0 - 5.5 อุณหภูมิภายในรังปลวกขณะเห็ดขึ้นอยู่ในช่วง 28 - 30 องศาเซลเซียส ความชื้นในบรรยากาศประมาณ 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมินอก รังปลวกประมาณ 37 - 40 องศาเซลเซียส และยังศึกษาการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของเห็ดโคนข้าวตอก (*T. fuliginosus*) ภายในรังปลวกธรรมชาติและภายในโหลทดลอง พบว่าการเกิดดอกเห็ดเริ่มต้นจากเส้นใยภายในรังปลวกรวมตัวกันอย่างไร้ระเบียบ เป็นตุ่มเห็ดที่มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 -1.0 เซนติเมตร ยึดติดกับผิวหน้าของรังปลวก จากนั้นส่วนของตุ่มที่สัมผัสกับรังปลวกจะยืดเป็นเบสิดิโอคาร์พ (basidiocarp) หรือดอกเห็ดและยืดยาวออกเรื่อย ๆ จนชนเพดานของโพรงดินเหนียวที่หุ้มรังปลวกแล้วดันแทรกดินเหนียวของจอมปลวกออกสู่ภายนอก ขณะที่เบสิดิโอคาร์พเริ่มแทรกดินจอมปลวกอยู่นั้น จะเริ่มมีการสร้างหมวกเห็ดปรากฏให้เห็นที่ปลายแหลมของมัน ขนาดของหมวกดอกจะโตขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อเคลื่อนเข้าใกล้ผิวดิน เมื่อโผล่พ้นดินก้านดอกจะยืดยาวออกได้อีกเล็กน้อยพร้อมทั้งหมวกดอกเห็ดที่เจริญเต็มที่แล้วจะบานออกและปล่อยเบสิดิโอสปอร์ สีครีมอ่อน ๆ รูปไข่ขนาดประมาณ 5 X 5 ไมครอน

เห็ดโคนขาไก่มีลำดับการเจริญเติบโตและพัฒนาการแตกต่างไปจากเห็ดโคนข้าวตอก ในภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมเส้นใยภายในรังปลวกจะรวมตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบตุ่มเห็ดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 1.0 เซนติเมตร จากนั้นตุ่มเห็ดจะเจริญเติบโตยืดยาวออกมาเป็นแท่งเบสิดิโอคาร์พที่มีลักษณะแข็งและบริเวณปลายแหลม แท่งเบสิดิโอคาร์พเจริญยาวขึ้นเรื่อย ๆ แล้วดันแทรกดินเหนียวจอมปลวกออกสู่ภายนอก ส่วนของหมวกเห็ดเจริญออกมาสังเกตได้เมื่อเบสิดิโอคาร์พเกือบถึงผิวดินเมื่อเห็ดโผล่พ้นผิวดินแล้วจะมีการเติบโตขยายขนาดทางด้านกว้างของเบสิดิโอคาร์พยืดยาวได้อีกเล็กน้อยหมวกเห็ดที่โตเต็มที่แล้วก็บานออกในลักษณะโค้งจากแนวระนาบประมาณ 10 - 20 องศา เบสิดิโอสปอร์เป็นรูปไข่ ขนาดประมาณ 5 X 6 ไมครอน มีสีขาวนวล (สาโรช ธีรศิลปและคณะ 2526b)

ไอโซไซม์และอิเลคโตรโฟริซิส

ไอโซไซม์ เป็นโปรตีนที่มีประจุซึ่งเกิดจาก หมู่อะมิโน หมู่คาร์บอกซิล และหมู่ฟังก์ชั่นในสายรองของกรดอะมิโนที่ประกอบขึ้นเป็นโปรตีน เมื่อเคลื่อนที่ในกระแสไฟฟ้าแล้วสามารถตรวจสอบได้ โดยการนำ substate ที่ทำปฏิกิริยาเฉพาะกับเอนไซม์ที่ถูกแยกด้วยกระแสไฟฟ้า ทำให้เกิดการตกตะกอนเป็นแถบ (band) ซึ่งแสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่ศึกษาได้ (สุจิตรา จางตระกูล, 2535b)

การศึกษาไอโซไซม์เริ่มตั้งแต่ปี 1950 โดยอาศัยวิธีโครมาโตกราฟีและอิเลคโตรโฟริซิสแบบกระดาษ Smithies (1955) ได้พัฒนาเทคนิคอิเลคโตโฟริซิสชนิดเจลแป้ง และสามารถย้อมสีเอนไซม์โดยตรงบนเจลแป้ง ซึ่ง Hunter และ Marker (1957) ได้เสนอให้ใช้คำว่าไซโมแกรม (Zymogram) เพื่อแสดงถึงแถบเอนไซม์ที่ปรากฏบนแผ่นเจล และให้นิยามคำว่าไอโซไซม์ หมายถึงเอนไซม์ที่มีโมเลกุลหลายรูปแบบแต่เร่งปฏิกิริยาเดียวกันในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน สามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้วิธีอิเลคโตรโฟริซิส

ดังนั้นอิเลคโตโฟริซิสจึงเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าในสนามไฟฟ้า ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารโพลิเมอร์ในทางชีวภาพ (biological polymer) ซึ่งมีประจุจึงสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ อาศัยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ เทคนิคอิเลคโตโฟริซิสจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของแมคโครโมเลกุล (macromolecule) เช่น โปรตีน (อาภัสสรา ชมิดท์, 2537)

จากรายงานของ Okumishi (1979) ซึ่งใช้อิเลคโตโฟริซิสศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ 6 ระบบที่สกัดจากเส้นใย primodium ก้านเห็ด หมวกเห็ด และ hymenophore ของเห็ด

หอม (*Lentinus edodes* SJ 8541) ได้แก่ เอนไซม์ esterase acid phosphatase malate dehydrogenase glucrose-6-phosphate dehydrogenase และ 6-phosphogluconate dehydrogenase พบว่าเอนไซม์ esterase ที่สกัดได้จากเห็ด *Corpinus kimurae* AJ 8239 และ เอนไซม์ esterase tyrosinase malate dehydrogenase และ 6-phosphogluconate dehydrogenase ของเห็ด *Polyporellus brumalis* AJ 8169 มีคุณสมบัติเป็นไอโซไซม์ และยังพบว่าเอนไซม์ esterase จะมีรูปแบบของไอโซไซม์ที่แตกต่างกันในเส้นใย primordium ก้านดอก และหมวกดอก

Toyomasu และ Zennyozi (1981) พบว่าสามารถใช้ electrophoresis patterns ของเอนไซม์ esterase ribonuclease glucrose-6-phosphate dehydrogenase และ malate dehydrogenase ที่สกัดได้จากเส้นใยของเห็ดหอม ในการจัดจำแนกสายพันธุ์ของเห็ดหอมได้

Royes และ May (1982) ศึกษาการแปรผันของไอโซไซม์ 20 ระบบโดยใช้เห็ด *Agaricus brunnescens* จำนวน 34 สายพันธุ์ที่มีการเพาะเลี้ยงเป็นการค้า และเห็ดชนิดนี้จำนวน 162 สายพันธุ์ของศูนย์รวบรวมพันธุ์เห็ดมหาวิทยาลัยเพนซิลเวเนีย โดยศึกษาจากการสกัดเอนไซม์จากเส้นใย และจากการตรวจสอบการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของไอโซไซม์ในเห็ดชนิดนี้จากสปอร์ของดอกเห็ดที่เป็น heterozygote พบว่ามีการแพร่กระจายของยีนเป็นไปตามกฎของเมนเดล จึงทำให้ทราบว่าเห็ดที่มีการเพาะเลี้ยงเป็นการค้านี้ 27 สายพันธุ์พบมีการแปรผันทางพันธุกรรมของยีน 5 ตำแหน่ง แต่อีก 5 สายพันธุ์เป็นพันธุ์ที่เกิดจากสปอร์เดียว

Electrophoresis pattern ของเอนไซม์ 9 ชนิดของเส้นใยเห็ดหอม 93 สายพันธุ์ที่วิเคราะห์ได้สามารถใช้แยกการแปรผันของเห็ดหอมในธรรมชาติได้ โดยพบว่าเห็ดหอมที่มาจากประเทศญี่ปุ่น จีน ปาปัวนิวกีนี และนิวซีแลนด์ แต่ละสายพันธุ์มีรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 9 ชนิดที่แตกต่างกัน ยกเว้น เห็ดหอมที่มาจากประเทศญี่ปุ่นและจีน มีรูปแบบไอโซไซม์ใกล้เคียงกัน (Fukada and Tokimoto, 1991)

Sen และ Hepper (1986) อ้างถึง Rosendahl และ Sen กล่าวว่า การใช้เทคนิคไอโซไซม์ในการจัดจำแนกราวีเอไมโครไรซ่า โดยศึกษาจากรูปแบบของไอโซไซม์ที่สกัดได้จาก สปอร์ราวีเอไมโครไลซ่าสกุล *Glomus* 5 ชนิด พบว่าเอนไซม์ malate dehydrogenase เป็นชนิดที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเชื้อราได้ดีที่สุด

ในปี 1989 Wang and Wang ใช้อิเลคโตโฟริซิสของเอนไซม์ esterase, polyphenoloxidase cytochomeoxidase peroxidase alcohol dehydrogenase acid phosphatase malate dehydrogenase และโปรตีน ในการทำนายลักษณะที่ดีของสายพันธุ์เห็ดแชมปิญอง (*Acaricus bisporus*) ขณะที่เป็นเส้นใยก่อนที่จะนำไปเพาะเลี้ยง เพื่อลดระยะเวลาในการคัดเลือกสายพันธุ์

สุจิตรา จางตระกูล (2535a) ใช้เทคนิค horizontal starch gel electrophoresis ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของไอโซไซม์ในใบสน จากเอนไซม์ LAP พบว่าถูกควบคุมด้วยยีน 2 ตำแหน่งคือ LAP-A มี 2 อัลลีล คือ A_0 และ A_1 และ LAP-B มี 2 อัลลีล คือ B_1 และ B_2 อัลลีล A_0 เป็นยีนด้อย (recessive gene) ไม่สามารถแสดงฟีโนไทป์ออกมาได้ ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ยาก แต่สามารถศึกษาได้โดยอิเลคโตรโฟริซิสซึ่งยีน LAP มีการถ่ายทอดลักษณะการกระจายตัว (segregation) เป็นไปตามกฎของเมนเดล

การศึกษาไอโซไซม์ gene maker ในไม้ป่าและไม้ป่าชายเลนบางชนิด โดยเอนไซม์ 11 ระบบพบว่าสามารถวินิจฉัยตำแหน่งของยีนได้ถึง 8 ตำแหน่ง คือ LAP-A, LAP-B, GOT-A, 6-PGDH, SKDH-A, G-6PDH-A และ FADH-A ซึ่งเป็นผลมาจากการแปรผันทางพันธุกรรมจริง ไม่ได้เป็นผลมาจากปัจจัยอื่น ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปใช้กับการวางแผนพันธุ์ป่าไม้ในเมืองไทยได้ (สุจิตรา จางตระกูล, 2535b)

สุจิตรา จางตระกูล (2536) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแม่ไม้สะเดาไทยโดยใช้ไอโซไซม์ 11 ระบบ จากใบอ่อนของแม่ไม้ พบว่าการแปรผันของยีน 4 ตำแหน่งใน 3 clones ของแม่ไม้ช่วยในการปรับปรุงพันธุ์และอนุรักษ์

และในปี 2538 สุจิตรา จางตระกูล ได้ศึกษาตำแหน่งของยีนควบคุม isozyme pheontype ของไอไซไซม์ 11 ชนิดในสนสองใบ ซึ่งมีการกระจายตัวเป็นไปตามกฎของเมนเดล พบว่ายีนควบคุมไอโซไซม์ 11 ตำแหน่งเป็น polymorphic และอีก 7 ตำแหน่งเป็น monomorphic และจากการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ 11 ประชากรของสนสองใบในประเทศไทย พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำเนื่องจากมีการผสมตัวเอง