

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์เห็ดในรุ่นที่หนึ่ง

1.1 การหาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

เมื่อนำสปอร์จากเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 เจือจางในน้ำกลั่น บ่มในจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 32 36 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จนสปอร์งอกเป็นเส้นใย พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเส้นใยที่อุณหภูมิต่างๆ แตกต่างกัน โดยที่เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 8.40% เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.13 % เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.70% เท่านั้น ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบเส้นใยที่งอกเลย



ภาพที่ 6 เส้นใยที่งอกจากสปอร์ของเห็ดโคนญี่ปุ่น (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 ในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 25 32 36 และ 40 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (เซลเซียส)	เปอร์เซ็นต์การงอก					
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่4	ซ้ำที่5	เฉลี่ย
25	8.17%	10.17%	7.17%	8.83%	7.67%	8.40%
32	3.03%	4.27%	3.60%	4.13%	2.97%	3.13%
36	0.67%	1.17%	0.83%	0.50%	0.33%	0.70%
40	0%	0%	0%	0%	0%	0%

1.2 การคัดเลือกสปอร์ที่ทนร้อนซึ่งออกเป็นเส้นใยจากสปอร์เดี่ยว

เมื่อนำสปอร์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 เจือจางในน้ำกลั่น ปมในงานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จนสปอร์งอกเป็นเส้นใยและมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิเดิม พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเส้นใยที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส แตกต่างกัน โดยที่เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 8.40% ส่วนเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.70%

ดักเส้นใยที่งอกและสามารถมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส จำนวน 50 ตัวอย่าง และดักเส้นใยที่งอกและมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จำนวน 10 ตัวอย่าง

1.3 การศึกษาอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่หนึ่งของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

1.3.1 อัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่งของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 มาเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส พบว่ามีอัตราการเจริญแตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.2637 ซม./วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.2458 ซม./วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.1605 ซม./วัน ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยไม่สามารถเจริญได้

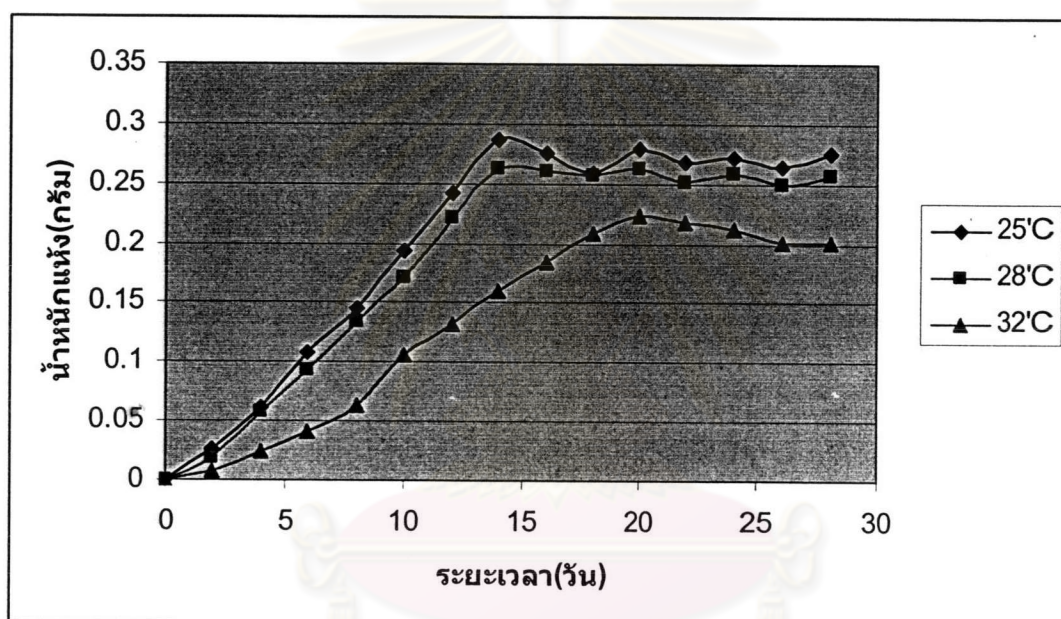
ตารางที่ 2 อัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่หนึ่งของเห็ดโคนญี่ปุ่น สายพันธุ์ CUY1 ในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (เซลเซียส)	รัศมีการเจริญของเส้นใย (ซม.)										อัตราการ เจริญเฉลี่ย (ซม./วัน)
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	
25	0	0.5413	1.1064	1.7325	2.3864	3.0170	3.6923	>4.00	>4.00	>4.00	0.2637
28	0	0.4125	0.9216	1.5135	2.1864	2.8512	3.4413	>4.00	>4.00	>4.00	0.2458
32	0	0.1204	0.2814	0.5918	0.9174	1.3215	1.7430	2.2013	2.7311	3.2130	0.1605
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ : เครื่องหมาย >4.00 หมายถึง เส้นใยเจริญจนถึงขอบจานเลี้ยงเชื้อ จนไม่สามารถวัดรัศมีการเจริญของเส้นใยได้

1.3.2 อัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่งของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 มาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส พบว่ามีอัตราการเจริญแตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 0.2865 กรัม ในวันที่ 14 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0205 กรัม/วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 0.2634 กรัม ในวันที่ 14 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0188 กรัม/วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 0.2231 กรัม ในวันที่ 20 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0112 กรัม /วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยระยะที่หนึ่งไม่สามารถเจริญได้



ภาพที่ 7 น้ำหนักแห้งของเส้นใยระยะที่หนึ่งของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY 1 ในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส

1.4 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

1.4.1 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA พบว่าเส้นใยหมายเลข 48 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย สูงสุดที่ 0.1811 ซม./วัน และเส้นใยหมายเลข 18 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.1685 ซม./วัน และอัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง control (เส้นใยระยะที่หนึ่งที่งอกจากสปอร์ของเห็ดสายพันธุ์ CUY1 ที่ 25 องศาเซลเซียส) เท่ากับ 0.1691 ซม./วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยทั้ง 50 เส้นใย ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า เส้นใยหมายเลข 26 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.2684 ซม./วัน และเส้นใยหมายเลข 16 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.2501 ซม./วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 0.2531 ซม./วัน (รายละเอียดในตารางที่ 3)

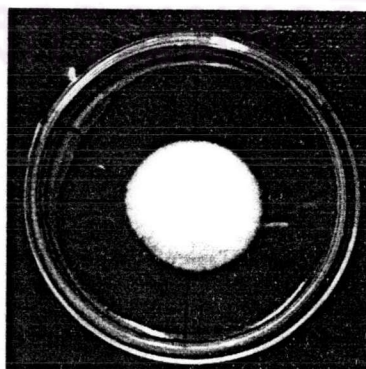
1.4.2 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเหลว PDB พบว่าเส้นใยหมายเลข 4 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 1.326×10^{-2} กรัม/วัน และเส้นใยหมายเลข 16 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 1.121×10^{-2} กรัม/วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 1.127×10^{-2} กรัม/วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยทั้ง 50 ตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า เส้นใยหมายเลข 40 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.048×10^{-2} กรัม/วัน และเส้นใยหมายเลข 7 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 1.843×10^{-2} กรัม/วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 1.964×10^{-2} กรัม/วัน (รายละเอียดในตารางที่ 3)

1.4.3 การคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการเจริญเฉลี่ยโดยวิธี ANOVA พบว่าอัตราการเจริญเฉลี่ย ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ของเส้นใยที่ทดสอบนี้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 19 และ 20) ดังนั้นจึงพิจารณาคัดเลือกเส้นใยเจริญได้ดีเป็น 15 อันดับแรกในอาหารแข็ง PDA ได้แก่ เส้นใยหมายเลข 4, 5, 7, 9, 13, 15, 17, 21, 24, 26, 32, 35, 39, 48 และ 49 แต่มีเส้นใยในกลุ่มนี้ที่เจริญได้ไม่ดีอาหารเหลว PDB 2 ตัวอย่าง คือ เส้นใยหมายเลข 7 และ 49 จึงทำการคัดทิ้งและพิจารณาเส้นใยที่เจริญได้ดีในอาหารแข็ง PDA ลำดับต่อไปคือ เส้นใยหมายเลข 14 และ 38 พบว่าเจริญได้ดีอาหารเหลว PDB ด้วย จึงคัดเลือกไปใช้ได้ ดังนั้นเส้นใยระยะที่หนึ่งที่คัดเลือกไปใช้ คือเส้นใยหมายเลข 4, 5, 9, 13, 14, 15, 17, 21, 24, 26, 32, 35, 38, 39 และ 48



ภาพที่ 8 เส้นใยระยะที่หนึ่งในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
1	0.1756	0.2578	1	1.259	1.923
2	0.1747	0.2571	2	1.256	2.013
3	0.171	0.2549	3	1.206	1.923
4	0.1799	0.2603	4	1.326	2.043
5	0.1784	0.2543	5	1.272	2.033
6	0.172	0.2517	6	1.231	1.988
7	0.1773	0.2523	7	1.164	1.843
8	0.171	0.2539	8	1.131	1.846
9	0.1775	0.2571	9	1.268	2.011
10	0.1705	0.2510	10	1.145	1.961
11	0.1703	0.2503	11	1.136	1.921
12	0.1701	0.2521	12	1.203	2.021
13	0.1766	0.2531	13	1.289	1.986
14	0.1764	0.2587	14	1.264	1.970
15	0.1787	0.2587	15	1.291	2.031
16	0.1686	0.2501	16	1.121	1.866
17	0.1782	0.2601	17	1.269	1.975
18	0.1685	0.2522	18	1.125	1.973
19	0.1695	0.2549	19	1.128	1.941
20	0.1712	0.2583	20	1.16	1.943
21	0.1784	0.2591	21	1.271	2.007
22	0.1733	0.2563	22	1.248	1.963
23	0.1713	0.2542	23	1.207	1.895
24	0.1766	0.2520	24	1.287	2.020
25	0.1703	0.2517	25	1.162	1.922

ตารางที่ 3 (ต่อ) อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

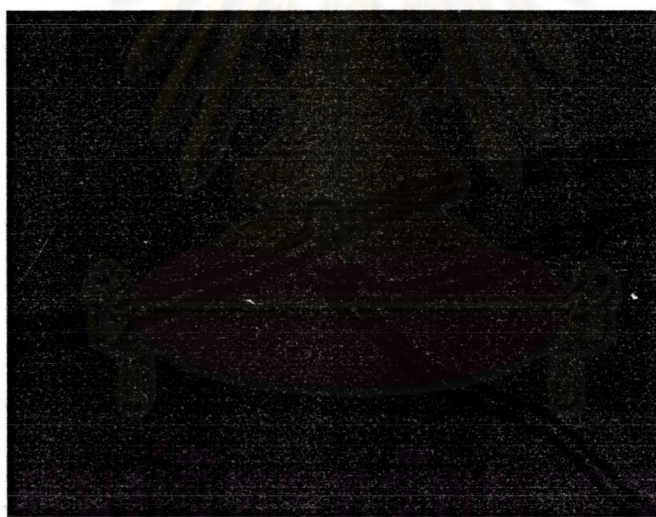
หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
26	0.1804	0.2684	26	1.311	2.021
27	0.1716	0.2589	27	1.212	1.925
28	0.173	0.2539	28	1.247	2.022
29	0.1754	0.2595	29	1.256	2.025
30	0.171	0.2517	30	1.224	2.014
31	0.173	0.2518	31	1.242	2.035
32	0.1787	0.2575	32	1.284	2.021
33	0.173	0.2544	33	1.236	2.013
34	0.1715	0.2565	34	1.237	1.943
35	0.1781	0.2625	35	1.264	1.993
36	0.1698	0.2547	36	1.136	1.930
37	0.1713	0.2518	37	1.202	1.867
38	0.176	0.2529	38	1.274	1.893
39	0.1778	0.2544	39	1.274	1.961
40	0.1758	0.2560	40	1.261	2.048
41	0.1755	0.2563	41	1.245	1.960
42	0.1742	0.2547	42	1.257	2.017
43	0.1741	0.2531	43	1.25	1.987
44	0.1688	0.2530	44	1.125	1.981
45	0.1758	0.2503	45	1.255	2.032
46	0.1747	0.2513	46	1.254	2.018
47	0.1751	0.2543	47	1.283	2.008
48	0.1811	0.2632	48	1.305	2.033
49	0.177	0.2518	49	1.144	1.955
50	0.1755	0.2548	50	1.255	1.947
control	0.1691	0.2531	control	1.127	1.964

1.5 การตรวจสอบรูปแบบการผสมพันธุ์ของเห็ดโคนญี่ปุ่น

เมื่อนำเส้นใยของสปอร์เดี่ยวผสมแบบพบกันหมด ได้อัตราส่วนระหว่างคู่ที่ผสมได้ : คู่ที่ไม่ทำการผสมทั้งหมด เป็นอัตราส่วนเฉลี่ย 23 : 105 ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์แบบ Chi-square test พบว่าอยู่ในขอบเขตที่ยอมรับได้ว่า อยู่ในอัตราส่วน 1 : 4 ซึ่งแสดงว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นมีรูปแบบการผสมพันธุ์เป็นแบบ tetrapolar (รายละเอียดใน ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 4 อัตราส่วนการผสมเส้นใยสปอร์เดี่ยว

อัตราส่วนระหว่างคู่ที่ผสมได้ : คู่ที่ไม่ทำการผสมทั้งหมด			
ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
22 : 105	26 : 105	21 : 105	23 : 105



ภาพที่ 9 แคลมป์คอนเนคชันที่พบในเส้นใยระยะที่สอง บนอาหารแข็ง PDA (กำลังขยาย 400 เท่า)

1.6 การผสมเส้นใยระยะที่หนึ่งเพื่อให้เกิดเส้นใยระยะที่สอง

จากการคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในข้อ 1.4.3 คัดเลือกได้เส้นใยทั้งหมด 15 ตัวอย่าง มาทำการผสมแบบพบกันหมด ได้คู่ผสมทั้งหมด 105 คู่ จากนั้นนำเส้นใยไปตรวจสอบว่าเป็นเส้นใยระยะที่สองหรือไม่ โดยดูจากแคลมป์คอนเนคชัน พบว่าได้คู่ผสมเป็นเส้นใยระยะที่สองทั้งหมด 20 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 4X5, 4X17, 4X32, 5X9, 5X32, 9X17, 9X32, 9X35, 13x26, 14x26, 14x48, 15x17, 15x32, 17x39, 21x26, 21x48, 24X32, 24X48, 32X38 และ 32X39

1.7 การศึกษาอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

1.7.1 อัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นมาเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส พบว่ามีอัตราการเจริญแตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.3219 ซม./วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสมีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.03178 ซม./วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 0.2237 ซม./วัน ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียสเส้นใยไม่สามารถเจริญได้

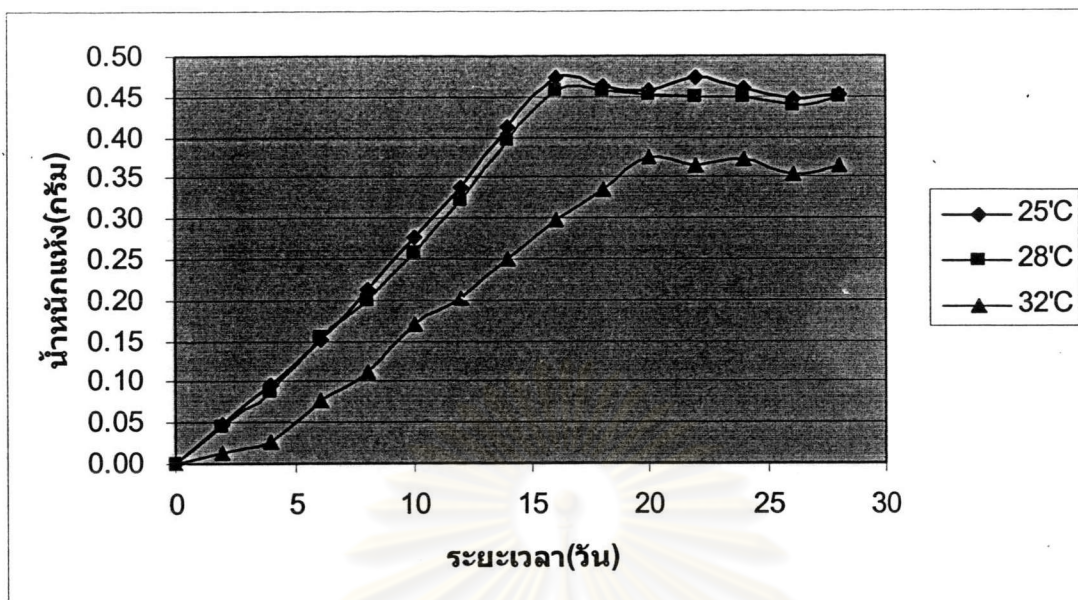
ตารางที่ 5 อัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 ในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (เซลเซียส)	รัศมีการเจริญของเส้นใย (ซม.)										อัตราการ เจริญเฉลี่ย (ซม./วัน)
	วันที่ 2	วันที่ 4	วันที่ 6	วันที่ 8	วันที่ 10	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 16	วันที่ 18	วันที่ 20	
25	0.1815	0.7015	1.5135	2.3215	3.0810	3.8625	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	0.3219
28	0.1745	0.6975	1.5013	2.2857	2.9867	3.8013	>4.00	>4.00	>4.00	>4.00	0.3178
32	0	0.2137	0.6318	1.2540	1.8765	2.4570	3.0145	3.5788	>4.00	>4.00	0.2237
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ : เครื่องหมาย >4.00 หมายถึง เส้นใยเจริญจนถึงขอบจานเลี้ยงเชื้อ จนไม่สามารถวัดรัศมีการเจริญของเส้นใยได้

1.7.2 อัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 มาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส พบว่ามีอัตราการเจริญแตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 0.4723 กรัม ในวันที่ 16 อัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0295 กรัม/วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 0.4576 กรัม ในวันที่ 16 อัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0286 กรัม/วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 0.3744 กรัม ในวันที่ 20 อัตราการเจริญเฉลี่ย 0.0187 กรัม /วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เส้นใยไม่สามารถเจริญได้



ภาพที่ 10 น้ำหนักแห้งของเส้นใยระยะที่สองของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 ในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 28 32 และ 36 องศาเซลเซียส

1.8 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่สอง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

1.8.1 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 20 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA พบว่าสายพันธุ์ 24X48 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย สูงสุดที่ 0.2484 ซม./วัน สายพันธุ์ 14X48 มีอัตราการเจริญต่ำสุดที่ 0.2288 ซม./วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยจำนวน 20 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า สายพันธุ์ 17x39 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.3262 ซม./วัน และสายพันธุ์ 5x38 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.3153 ซม./วัน (รายละเอียดในตารางที่ 6)

1.8.2 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

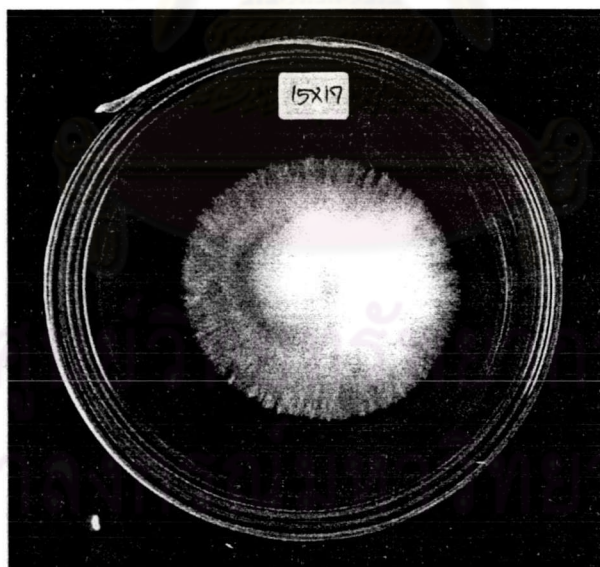
เมื่อนำเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 20 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเหลว PDB พบว่า สายพันธุ์ 4x32 มีอัตราการเจริญสูงสุดที่ 2.083×10^{-2} กรัม/วัน สายพันธุ์ 5x38 มีอัตราการเจริญต่ำสุดที่ 1.828×10^{-2} กรัม/วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 20 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า สายพันธุ์ 15X17 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.875×10^{-2} กรัม/วัน และสายพันธุ์ 32X39 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 2.690×10^{-2} กรัม/วัน (รายละเอียดในตารางที่ 6)

1.8.3 การคัดเลือกเส้นใยระยะที่สอง

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญเฉลี่ย ในอาหารแข็ง PDA โดยวิธี ANOVA พบว่าเส้นใยที่ทำการทดสอบนี้ มีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 21) และสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 24X48, 4X32 และ 5X9

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญเฉลี่ยในอาหารเหลว PDB โดยวิธี ANOVA พบว่าเส้นใยที่ทำการทดสอบนี้ มีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 22) และสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ 24X48, 4X32, 5X9 และ 15X17



ภาพที่ 11 เส้นใยระยะที่สองในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 6 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่สองในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB
ที่ 25 องศาเซลเซียส และ 32 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB (X10 ⁻² กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
4x5	0.2361	0.3167	4x5	1.897	2.845
4x17	0.2340	0.3183	4x17	1.958	2.842
4x32	0.2462	0.3223	4x32	2.083	2.876
5x9	0.2476	0.3201	5x9	1.989	2.821
5x38	0.2339	0.3153	5x38	1.828	2.753
9x17	0.2305	0.3169	9x17	1.837	2.815
9x32	0.2324	0.3187	9x32	1.850	2.774
9x35	0.2388	0.3169	9x35	1.890	2.783
13x26	0.2356	0.3164	13x26	1.865	2.716
14x26	0.2326	0.3172	14x26	1.856	2.733
14x48	0.2288	0.3201	14x48	1.867	2.744
15x17	0.2452	0.3206	15x17	2.013	2.875
15x32	0.2314	0.3157	15x32	1.848	2.813
17x39	0.2306	0.3262	17x39	1.916	2.697
21x26	0.2299	0.3186	21x26	1.886	2.695
21x48	0.2330	0.3182	21x48	1.867	2.747
24x32	0.2387	0.3188	24x32	1.915	2.861
24x48	0.2484	0.3206	24x48	2.077	2.783
32x38	0.2341	0.3158	32x38	1.947	2.744
32x39	0.2344	0.3191	32x39	1.875	2.690
control	0.2261	0.3202	control	1.813	2.713

1.9 การวัดอัตราการเจริญในถุงซีลี้อย

จากการเลี้ยงเส้นใยในถุงซีลี้อยของการทดลอง 2 ชุด คือที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิโดยเฉลี่ย 32 องศาเซลเซียส) พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ 4x32 มีอัตราการเจริญสูงสุดคือ 0.4620 ซม./วัน สายพันธุ์ 5x9 มีอัตราการเจริญต่ำสุดคือ 0.4262 ซม./วัน และจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยในถุงซีลี้อยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 23) สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 4X32, CUY1 และ 24X48

ส่วนที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดคือสายพันธุ์ 4x32 มีอัตราการเจริญสูงสุดคือ 0.3105 ซม./วัน สายพันธุ์ดั้งเดิม CUY1 มีอัตราการเจริญต่ำสุดคือ 0.2713 ซม./วัน และจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA แล้วพบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยในถุงซีลี้อยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 24) สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 1 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 4X32

ตารางที่ 7 อัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองในถุงซีลี้อย ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สายพันธุ์	อัตราการเจริญในถุงซีลี้อย(ซม./วัน)			
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
25	CUY1	0.4742	0.4585	0.4539	0.4619
	4X32	0.4580	0.4681	0.4601	0.4620
	5X9	0.4496	0.3996	0.4278	0.4262
	15X17	0.4450	0.4457	0.4448	0.4452
	24X48	0.4409	0.4689	0.4738	0.4613
32	CUY1	0.2707	0.2717	0.2715	0.2713
	4X32	0.2923	0.3199	0.3192	0.3105
	5X9	0.2970	0.2949	0.2939	0.2953
	15X17	0.2961	0.2969	0.2970	0.2967
	24X48	0.3003	0.3003	0.2989	0.2998



ภาพที่ 12 เส้นใยระยะที่สองในถุงซีลีย

1.10 การทดสอบปริมาณผลผลิตดอกเห็ดและการเก็บสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่น

1.10.1 การเปิดดอกเห็ดโคนญี่ปุ่น

เมื่อทำการเปิดดอกเห็ด พบว่าหลังจากทำการฉีดน้ำให้ความชื้นในโรงเรือน เปิดดอกประมาณ 7-10 วัน เริ่มมีตุ่มเห็ดเกิดขึ้น และค่อยๆ เจริญจนเป็นดอกเห็ดตุ่มที่พร้อมให้เก็บไป ชั่งน้ำหนักสดได้



ภาพที่ 13 ลักษณะเส้นใยในถุงซีลียที่พร้อมทำการเปิดดอก

1.10.2 การเก็บผลผลิตดอกเห็ด

ผลจากการเก็บดอกเห็ด แยกวิเคราะห์ตามแหล่งบ่มเส้นใยและห้องเปิดดอก ได้ 4 ชุดทดลองดังนี้

1. เห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 15.28 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 15X17 โดยน้ำหนักสดของน้ำหนักสดเฉลี่ย 13.81 กรัม/ถุง แต่จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่าแต่ละสายพันธุ์ให้ผลผลิตดอกเห็ดที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อถุงไม่แตกต่างกัน (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 25)

2. เห็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง

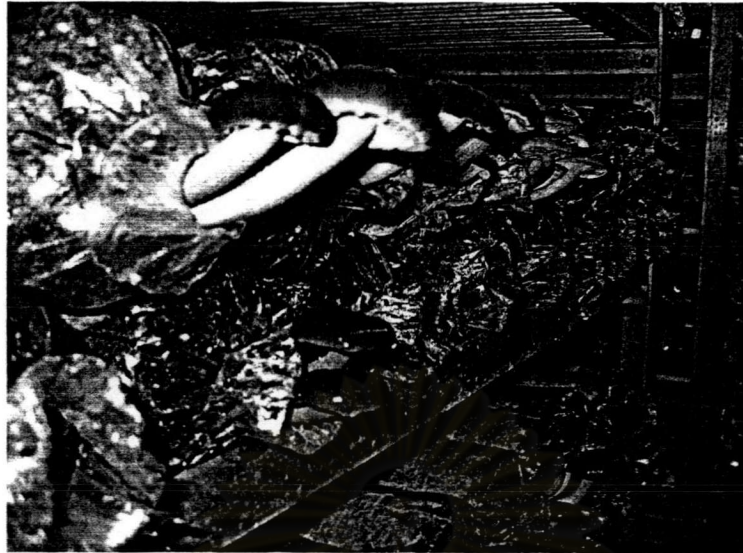
จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 4x32 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 13.52 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 10.68 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 26) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 4 สายพันธุ์ ได้แก่ 4X32, 24X48, 5X9 และ 15X17

3. เห็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 4X32 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 13.73 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 10.25 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 27) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 4X32 และ 24X48

4. เห็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องและเปิดดอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 4X32 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 14.80 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 11.38 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 28) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี ได้แก่ สายพันธุ์ 4X32



ภาพที่ 14 เห็ดโคนญี่ปุ่นในโรงเรือนเปิดดอก

ตารางที่ 8 น้ำหนักสดของเห็ด

สายพันธุ์	น้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย (กรัม/ถุง)			
	บ่มเชื้อ 32 °C เปิดดอก 32 °C	บ่มเชื้อ 25 °C เปิดดอก 32 °C	บ่มเชื้อ 32 °C เปิดดอก 25 °C	บ่มเชื้อ 25 °C เปิดดอก 25 °C
CUY1	10.25	10.68	11.38	15.28
4X32	13.73	13.52	14.80	15.24
5X9	11.50	12.40	12.54	14.04
15X17	11.88	12.19	12.40	13.81
24X48	12.56	12.88	13.20	14.33

1.11 การวิเคราะห์หาสายพันธุ์ที่ร้อนที่ดีที่สุดในรอบ

วิเคราะห์หาสายพันธุ์ที่ร้อนที่ดีที่สุดในรอบที่หนึ่ง โดยพิจารณาจากอัตราการเจริญในถุงซีลียที่อุณหภูมิห้อง และน้ำหนักสดของดอกเห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง พบว่าอัตราการเจริญในถุงซีลียที่อุณหภูมิห้องของ สายพันธุ์ 4x32 สูงที่สุด และน้ำหนักสดเฉลี่ยของดอกเห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้องก็สูงที่สุดด้วย จึงคัดเลือกสายพันธุ์ 4x32 เป็นสายพันธุ์ F1 เพื่อใช้เป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการปรับปรุงพันธุ์ ในรุ่นที่สองต่อไป

2. การคัดเลือกและผสมพันธุ์เห็ดในรุ่นที่สอง

2.1 การหาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เมื่อนำสปอร์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 และสปอร์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ 4X32 บ่มในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จนสปอร์งอกเป็นเส้นใยและเจริญได้ที่อุณหภูมิเดิม พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเส้นใยที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส แตกต่างกันมาก โดยที่เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 เท่ากับ 9.30% สายพันธุ์ 4X32 มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยเท่ากับ 9.70% ส่วนที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 เท่ากับ 0.90% สายพันธุ์ 4X32 มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยเท่ากับ 2.03%

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การงอกของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 และสายพันธุ์ 4X32 ที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ	สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การงอก					
		ดอกที่1	ดอกที่2	ดอกที่3	ดอกที่4	ดอกที่5	เฉลี่ย
25	CUY1	7.67%	8.33%	9.50%	10.67%	10.33%	9.30%
	F1	8.50%	9.00%	10.83%	10.33%	9.83%	9.70%
36	CUY1	0.83%	0.67%	1.33%	1.17%	0.50%	0.90%
	F1	2.17%	2.50%	1.67%	1.50%	2.33%	2.03%

2.2 การคัดเลือกสปอร์ที่ทนร้อนซึ่งงอกเป็นเส้นใยจากสปอร์เดียว

เมื่อนำสปอร์ของเห็ดโคนญี่ปุ่น สายพันธุ์ 4x32 และสายพันธุ์ CUY1 เจือจางในน้ำกลั่น บ่มในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จนสปอร์งอกเป็นเส้นใยและมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิเดิม ตักเส้นใยที่งอก และสามารถมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส จากสปอร์ของสายพันธุ์ 4x32 จำนวน 50 ตัวอย่าง และตักเส้นใยที่งอกและสามารถมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจากสปอร์ของสายพันธุ์ CUY1 จำนวน 10 ตัวอย่าง

2.3 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่งในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

2.3.1 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA พบว่าเส้นใยหมายเลข 19 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย สูงสุดที่ 0.1879 ซม./วัน และเส้นใยหมายเลข 46 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย ต่ำสุดที่ 0.1721 ซม./วัน และอัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง control (เส้นใยระยะที่หนึ่งที่งอกจากสปอร์ของเห็ดสายพันธุ์ CUY1) เท่ากับ 0.1704 ซม./วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยทั้ง 50 ตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า เส้นใยหมายเลข 22 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.2687 ซม./วัน และเส้นใยหมายเลข 50 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.2504 ซม./วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 0.2537 ซม./วัน (รายละเอียดในตารางที่ 10)

2.3.2 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเหลว PDB พบว่าเส้นใยหมายเลข 25 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 1.333×10^{-2} กรัม/วัน และเส้นใยหมายเลข 45 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย ต่ำสุดที่ 1.127×10^{-2} กรัม/วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 1.126×10^{-2} กรัม/วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยทั้ง 50 ตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า เส้นใยหมายเลข 21 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.037×10^{-2} กรัม/วัน และเส้นใยหมายเลข 13 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 1.845×10^{-2} กรัม/วัน (รายละเอียดในตาราง 10)

2.3.3 การคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการเจริญเฉลี่ยโดยวิธี ANOVA พบว่าอัตราการเจริญเฉลี่ย ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ของเส้นใยที่ทดสอบนี้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 29 และ 30) ดังนั้นจึงพิจารณาคัดเลือกเส้นใยเจริญได้ดีเป็น 15 อันดับแรกในอาหารแข็ง PDA ได้แก่ เส้นใยหมายเลข 1, 2, 4, 9, 11, 12, 19, 22, 25, 27, 28, 31, 34, 35 และ 49 แต่มีเส้นใยในกลุ่มนี้ที่เจริญได้ไม่ดีอาหารเหลว PDB 1 เส้นใยคือ เส้นใยหมายเลข 2 จึงทำการคัดทิ้ง และพิจารณาเส้นใยที่เจริญได้ดีในอาหารแข็ง PDA ลำดับต่อไป คือ เส้นใยหมายเลข 43 พบว่าเจริญได้ดีอาหารเหลว PDB ด้วย จึงคัดเลือกไปใช้ได้ ดังนั้นเส้นใยระยะที่หนึ่งที่คัดเลือกไปใช้ คือเส้นใยหมายเลข 1, 4, 9, 11, 12, 19, 22, 25, 27, 28, 31, 34, 35, 43 และ 49

ตารางที่ 10 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
1	0.1853	0.2590	1	1.298	2.024
2	0.1852	0.2574	2	1.253	1.965
3	0.1817	0.2532	3	1.270	1.945
4	0.1854	0.2546	4	1.319	1.965
5	0.1822	0.2563	5	1.266	1.957
6	0.1807	0.2540	6	1.260	1.975
7	0.1803	0.2550	7	1.255	1.988
8	0.1792	0.2542	8	1.244	2.015
9	0.1832	0.2534	9	1.271	1.963
10	0.1822	0.2506	10	1.268	1.923
11	0.1861	0.2628	11	1.280	1.869
12	0.1843	0.2578	12	1.312	2.005
13	0.1835	0.2581	13	1.263	1.845
14	0.1809	0.2551	14	1.262	1.943
15	0.1802	0.2534	15	1.134	1.932
16	0.1834	0.2598	16	1.262	1.932
17	0.1808	0.2566	17	1.263	1.924
18	0.1807	0.2515	18	1.256	1.865
19	0.1879	0.2635	19	1.294	1.99
20	0.1816	0.2546	20	1.261	1.983
21	0.1801	0.2566	21	1.251	2.037
22	0.1842	0.2687	22	1.291	1.927
23	0.1784	0.2547	23	1.243	1.99
24	0.1781	0.2520	24	1.238	1.927
25	0.1855	0.2594	25	1.333	1.989

ตารางที่ 10 (ต่อ) อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^2$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
26	0.1770	0.2521	26	1.213	1.897
27	0.1851	0.2606	27	1.296	2.015
28	0.1824	0.2604	28	1.290	1.945
29	0.1774	0.2592	29	1.231	1.945
30	0.1757	0.2513	30	1.167	1.945
31	0.1841	0.2547	31	1.280	1.897
32	0.1753	0.2506	32	1.151	1.957
33	0.1771	0.2568	33	1.218	1.869
34	0.1845	0.2526	34	1.275	1.846
35	0.1846	0.2523	35	1.278	2.016
36	0.1768	0.2545	36	1.213	2.023
37	0.1755	0.2520	37	1.151	1.923
38	0.1759	0.2520	38	1.209	1.925
39	0.1761	0.2586	39	1.210	2.016
40	0.1757	0.2542	40	1.169	1.963
41	0.1758	0.2552	41	1.171	1.846
42	0.1739	0.2550	42	1.143	1.924
43	0.1810	0.2590	43	1.279	2.023
44	0.1753	0.2524	44	1.143	1.845
45	0.1734	0.2533	45	1.127	1.868
46	0.1721	0.2525	46	1.131	1.975
47	0.1840	0.2521	47	1.276	1.925
48	0.1739	0.2552	48	1.137	1.943
49	0.1801	0.2521	49	1.248	2.024
50	0.1726	0.2504	50	1.132	1.983
control	0.1704	0.2537	control	1.126	1.988

2.4 การผสมเส้นใยระยะที่หนึ่งเพื่อให้เกิดเส้นใยระยะที่สอง

จากการคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในข้อ 2.3.3 คัดเลือกได้เส้นใยทั้งหมด 15 ตัวอย่าง มาทำการผสมแบบพบกันหมด จากนั้นนำเส้นใยที่เจริญมาพบกัน ไปตรวจสอบว่าเป็นเส้นใยระยะที่สองหรือไม่ โดยดูจากแคลมป์คอนเนคชั่น พบว่าได้ผสมเป็นเส้นใยระยะที่สองทั้งหมด 19 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 1x4, 1x35, 4x9, 4x27, 4x34, 9x35, 11x35, 12x19, 12x22, 12x28, 12x31, 19x25, 19x43, 22x25, 22x43, 25x31, 27x35, 28x43 และ 35x47

2.5 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่สองในอาหารแข็ง PDA และอาหารเหลว PDB

2.5.1 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 19 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA พบว่าสายพันธุ์ 12x19 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.2702 ซม./วัน สายพันธุ์ 27x35 มีอัตราการเจริญต่ำสุดที่ 0.2504 ซม./วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 19 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบ พบว่าสายพันธุ์ 12x19 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.3427 ซม./วัน และสายพันธุ์ 9x35 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.3396 ซม./วัน (รายละเอียดใน ตารางที่ 11)

2.5.2 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 19 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเหลว PDB พบว่าสายพันธุ์ 12x19 มีอัตราการเจริญสูงสุดที่ 2.102×10^{-2} กรัม/วัน สายพันธุ์ 28x43 มีอัตราการเจริญต่ำสุดที่ 1.659×10^{-2} กรัม/วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 19 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า สายพันธุ์ 32x39 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.875×10^{-2} กรัม/วัน และสายพันธุ์ 21x39 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 2.697×10^{-2} กรัม/วัน (รายละเอียดใน ตารางที่ 11)

2.5.3 การคัดเลือกเส้นใยระยะที่สอง

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญเฉลี่ย ในอาหารแข็ง PDA โดยวิธี ANOVA พบว่าเส้นใยที่ทำการทดสอบนี้ มีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 31) และสายพันธุ์ ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 12x19, 1x4, 22x25 และ 19x25

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญเฉลี่ย ในอาหารเหลว PDB โดยวิธี ANOVA พบว่าเส้นใยที่ทำการทดสอบนี้มีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 32) และสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุด จัดอยู่ในกลุ่มแรก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 12x19, 1x4, 22x25 และ 19x25 (รายละเอียดใน ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่สองในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
1x4	0.2694	0.3170	1x4	2.067	2.847
1x35	0.2557	0.3186	1x35	1.862	2.844
4x9	0.2524	0.3226	4x9	1.901	2.878
4x27	0.2591	0.3204	4x27	1.851	2.823
4x34	0.2556	0.3156	4x34	1.832	2.755
9x35	0.2522	0.3172	9x35	1.776	2.817
11x35	0.2541	0.3190	11x35	1.664	2.776
12x19	0.2702	0.3172	12x19	2.102	2.785
12x22	0.2574	0.3167	12x22	1.769	2.718
12x28	0.2544	0.3175	12x28	1.760	2.735
12x31	0.2506	0.3204	12x31	1.771	2.746
19x25	0.2670	0.3209	19x25	2.037	2.877
19x43	0.2532	0.3160	19x43	1.852	2.815
22x25	0.2680	0.3265	22x25	1.993	2.699
22x43	0.2517	0.3189	22x43	1.690	2.697
25x31	0.2547	0.3185	25x31	1.678	2.749
27x35	0.2504	0.3191	27x35	1.820	2.863
28x43	0.2552	0.3209	28x43	1.659	2.785
35x47	0.2559	0.3161	35x47	1.751	2.746
control	0.2261	0.3202	control	1.813	2.713

2.6 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองในถุงซีลีย

จากการเลี้ยงเส้นใยในถุงซีลียของการทดลอง 2 ชุด คือที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิโดยเฉลี่ย 32 องศาเซลเซียส) พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ CUY1 มีอัตราการเจริญสูงสุดคือ 0.4649 ซม./วัน สายพันธุ์ 22x25 มีอัตราการเจริญต่ำสุดคือ 0.4263 ซม./วัน และจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยในถุงซีลียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 33) สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ CUY1, 1x4 และ 12x19

ส่วนที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดคือสายพันธุ์ 12x19 มีอัตราการเจริญสูงสุดคือ 0.3111 ซม./วัน สายพันธุ์ดั้งเดิม CUY1 มีอัตราการเจริญต่ำสุดคือ 0.2720 ซม./วัน และจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA แล้วพบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยในถุงซีลียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 34) สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 12x19 และ 1x4

ตารางที่ 12 อัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองในถุงซีลีย ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สายพันธุ์	อัตราการเจริญในถุงซีลีย(ซม./วัน)			
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
25	CUY1	0.4765	0.4695	0.4486	0.4649
	1x4	0.4603	0.4731	0.4548	0.4627
	12x19	0.4432	0.4739	0.4685	0.4619
	19x25	0.4473	0.4507	0.4395	0.4458
	22x25	0.4519	0.4046	0.4225	0.4263
32	CUY1	0.2730	0.2767	0.2662	0.2720
	1x4	0.3026	0.3053	0.2936	0.3005
	12x19	0.2946	0.3249	0.3139	0.3111
	19x25	0.2984	0.3019	0.2917	0.2973
	22x25	0.2993	0.2999	0.2886	0.2959

2.7 การทดสอบปริมาณผลผลิตดอกเห็ดและการเก็บสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่น

2.7.1 การเปิดดอกเห็ดโคนญี่ปุ่น

เมื่อทำการเปิดดอกเห็ด พบว่าหลังจากทำการฉีดน้ำให้ความชื้นในโรงเรือน เปิดดอกประมาณ 7-10 วัน เริ่มมีตุ่มเห็ดเกิดขึ้น และค่อยๆ เจริญจนเป็นดอกเห็ดตูม ที่พร้อมให้เก็บไป ชั่งน้ำหนักสดได้

2.7.2 การเก็บผลผลิตดอกเห็ด

ผลจากการเก็บดอกเห็ด แยกวิเคราะห์ตามแหล่งบ่มเส้นใยและห้องเปิดดอก ได้ 4 ชุดทดลองดังนี้

1. เห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 15.02 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ 19x25 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 14.12 กรัม/ถุง แต่จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยวิธี ANOVA พบว่าแต่ละสายพันธุ์ให้ผลผลิตดอกเห็ดที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อถุงไม่แตกต่างกัน (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 35)

2. เห็ดที่บ่มเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียสและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 12x19 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 13.70 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 10.54 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 36) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 12x19 และ 1x4

3. เห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 12x19 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 13.47 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 8.9 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 37) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรก มี 1 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 12x19

4.เห็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องและเปิดดอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 12x19 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 13.79 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 10.03 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 38) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 12x19 และ 1x4

ตารางที่ 13 น้ำหนักสดของเห็ด

สายพันธุ์	น้ำหนักสดดอกเห็ดเฉลี่ย (กรัม/ถุง)			
	บ่มเชื้อ 32 °C เปิดดอก 32 °C	บ่มเชื้อ 25 °C เปิดดอก 32 °C	บ่มเชื้อ 32 °C เปิดดอก 25 °C	บ่มเชื้อ 25 °C เปิดดอก 25 °C
CUY1	8.90	10.54	10.03	15.02
1x4	12.50	13.15	13.76	14.64
12x19	13.47	13.70	13.79	14.28
19x25	12.00	12.72	12.69	14.12
22x25	12.25	13.16	12.97	14.28

2.8 การพิจารณาหาสายพันธุ์ที่ร้อนที่ดีที่สุดในรุ่น

วิเคราะห์หาสายพันธุ์ที่ร้อนที่ดีที่สุดในรุ่นที่สอง โดยพิจารณาจากอัตราการเจริญในถุงขี้เลื่อยที่อุณหภูมิห้อง และน้ำหนักสดของดอกเห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง พบว่าอัตราการเจริญในถุงขี้เลื่อยที่อุณหภูมิห้องของ สายพันธุ์ 12x19 สูงที่สุด และน้ำหนักสดเฉลี่ยของดอกเห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้องก็สูงที่สุดด้วย จึงคัดเลือก สายพันธุ์ 12x19 เป็นสายพันธุ์ F2 เพื่อใช้เป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการปรับปรุงพันธุ์ ในรุ่นที่สาม ต่อไป

3. การคัดเลือกและผสมพันธุ์เห็ดในรุ่นที่สาม

3.1 การหาเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เมื่อนำสปอร์จากเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 และสปอร์จากเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ 12x19 บ่มในจานเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จนสปอร์งอกเป็นเส้นใยและเจริญได้ที่อุณหภูมิเดิม พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเส้นใยที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส แตกต่างกันมาก โดยที่เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 เท่ากับ 10.00% สายพันธุ์ 12x19 มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยเท่ากับ 9.20% ส่วนที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 เท่ากับ 1.13% สายพันธุ์ 12x19 มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยเท่ากับ 2.13%

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์การงอกของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ CUY1 และสายพันธุ์ 12x19 ในอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 25 และ 36 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ	สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การงอก					
		ดอกที่1	ดอกที่2	ดอกที่3	ดอกที่4	ดอกที่5	เฉลี่ย
25	CUY1	10.83%	9.67%	7.83%	10.33%	11.33%	10.00%
	12x19	9.00%	8.16%	10.83%	10.50%	7.50%	9.20%
36	CUY1	1.50%	1.17%	1.33%	0.83%	0.83%	1.13%
	12x19	2.33%	1.83%	2.67%	1.67%	2.16%	2.13%

3.2 การคัดเลือกสปอร์ที่ทนร้อนซึ่งออกเป็นเส้นใยจากสปอร์เดียว

เมื่อนำสปอร์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ 12x19 และสายพันธุ์ CUY1 เจือจางในน้ำกลั่น บ่มในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน จนสปอร์งอกเป็นเส้นใยและมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิเดิม ตักเส้นใยที่งอกและสามารถมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส จากสปอร์ของสายพันธุ์ 12x19 จำนวน 50 เส้นใย และตักเส้นใยที่งอกและสามารถมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจากสปอร์ของสายพันธุ์ CUY1 จำนวน 10 เส้นใย

3.3 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่งในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

3.3.1 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA พบว่าเส้นใยหมายเลข 8 มีอัตราการเจริญเฉลี่ย สูงสุดที่ 0.1901 ซม./วัน และเส้นใยหมายเลข 45 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.1741 ซม./วัน และอัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง control (เส้นใยระยะที่หนึ่งซึ่งออกจากสปอร์ของเห็ดสายพันธุ์ CUY1) เท่ากับ 0.1746 ซม./วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยทั้ง 50 ตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบเส้นใยหมายเลข 13 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.2689 ซม./วัน และเส้นใยหมายเลข 1 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.2508 ซม./วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 0.2531 ซม./วัน (รายละเอียดในตารางที่ 15)

3.3.2 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่หนึ่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเหลว PDB พบว่าเส้นใยหมายเลข 13 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 1.335×10^{-2} กรัม/วัน และเส้นใยหมายเลข 2 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 1.130×10^{-2} กรัม/วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 1.142×10^{-2} กรัม/วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยทั้ง 50 เส้นใย ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า เส้นใยหมายเลข 3 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.046×10^{-2} กรัม/วัน และเส้นใยหมายเลข 29 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 1.848×10^{-2} กรัม/วัน เส้นใย control มีอัตราการเจริญเฉลี่ยที่ 1.988×10^{-2} กรัม/วัน (รายละเอียดในตารางที่ 15)

3.3.3 การคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนอัตราการเจริญเฉลี่ยโดยวิธี ANOVA (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 39,40) พบว่าอัตราการเจริญเฉลี่ย ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ของเส้นใยที่ทดสอบนี้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง) ดังนั้นจึงพิจารณาคัดเลือกเส้นใยเจริญได้ดีเป็น 15 อันดับแรกในอาหารแข็ง PDA ได้แก่ เส้นใยหมายเลข 5, 8, 10, 11, 13, 18, 19, 21, 23, 25, 28, 36, 44, 47, และ 49 แต่มีเส้นใยในกลุ่มนี้ที่เจริญได้ไม่ดีอาหารเหลว PDB 2 เส้นใย คือ เส้นใยหมายเลข 11 และ 25 จึงทำการคัดเลือกและพิจารณาเส้นใยที่เจริญได้ดีในอาหารแข็ง PDA ลำดับต่อไป คือ เส้นใยหมายเลข 30 และ 40 พบว่าเจริญได้ดีอาหารเหลว PDB ด้วย จึงคัดเลือกไปใช้ได้ ดังนั้นเส้นใยระยะที่หนึ่งที่คัดเลือกไปใช้ เส้นใยหมายเลข 5, 8, 10, 13, 18, 19, 21, 23, 28, 30, 36, 40, 44, 47 และ 49

ตารางที่ 15 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
1	0.1843	0.2508	1	1.263	1.978
2	0.1746	0.2506	2	1.130	1.871
3	0.1831	0.2553	3	1.254	2.046
4	0.1779	0.2522	4	1.259	1.868
5	0.1872	0.2596	5	1.283	1.872
6	0.1821	0.2523	6	1.215	2.026
7	0.1801	0.2522	7	1.173	1.849
8	0.1901	0.2637	8	1.321	1.968
9	0.1778	0.2554	9	1.268	1.960
10	0.1875	0.2592	10	1.310	2.027
11	0.1865	0.2630	11	1.264	1.935
12	0.1829	0.2548	12	1.246	2.018
13	0.1881	0.2689	13	1.335	1.992
14	0.1830	0.2620	14	1.251	2.027
15	0.1773	0.2526	15	1.145	1.927
16	0.1775	0.2522	16	1.153	1.960
17	0.1812	0.2544	17	1.212	2.019
18	0.1860	0.2523	18	1.298	2.018
19	0.1872	0.2548	19	1.293	1.930
20	0.1781	0.2588	20	1.273	1.948
21	0.1861	0.2528	21	1.28	2.019
22	0.1827	0.2552	22	1.233	1.948
23	0.1854	0.2536	23	1.277	1.849
24	0.1828	0.2517	24	1.24	1.930
25	0.1862	0.2576	25	1.265	1.927

ตารางที่ 15 (ต่อ) อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		หมายเลข เส้นใย	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
26	0.1759	0.2552	26	1.137	1.935
27	0.1777	0.2544	27	1.257	1.991
28	0.1873	0.2580	28	1.278	1.928
29	0.1773	0.2508	29	1.145	1.848
30	0.1852	0.2592	30	1.283	1.927
31	0.1794	0.2594	31	1.171	1.966
32	0.1777	0.2515	32	1.256	1.968
33	0.1791	0.2570	33	1.169	1.948
34	0.1840	0.2583	34	1.264	1.986
35	0.1754	0.2535	35	1.134	1.986
36	0.1866	0.2606	36	1.292	1.948
37	0.1821	0.2568	37	1.216	1.931
38	0.1789	0.2547	38	1.270	1.926
39	0.1759	0.2554	39	1.140	1.946
40	0.1845	0.2534	40	1.281	2.026
41	0.1829	0.2542	41	1.245	1.993
42	0.179	0.2523	42	1.154	1.926
43	0.1822	0.2536	43	1.221	1.872
44	0.1855	0.2525	44	1.273	1.966
45	0.1741	0.2527	45	1.134	1.978
46	0.1804	0.2549	46	1.211	1.928
47	0.1875	0.2608	47	1.314	2.042
48	0.1842	0.2565	48	1.266	1.849
49	0.1864	0.2549	49	1.296	1.993
50	0.1836	0.2568	50	1.265	1.946
control	0.1746	0.2531	control	1.142	1.988

3.4 การผสมเส้นใยระยะที่หนึ่งเพื่อให้เกิดเส้นใยระยะที่สอง

จากการคัดเลือกเส้นใยระยะที่หนึ่ง ในข้อ 3.3.3 คัดเลือกได้เส้นใยทั้งหมด 15 เส้นใย มาทำการผสมแบบพบกันหมด จากนั้นนำเส้นใยที่เจริญมาพบกัน ไปตรวจสอบว่าเป็นเส้นใยระยะที่สองหรือไม่ โดยดูจากแคลมป์คอนเนคชั่น พบว่าได้คู่ผสมเป็นเส้นใยระยะที่สองทั้งหมด 23 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 5x13, 5x28, 5x47, 8x18, 8x21, 8x36, 10x18, 10x21, 10x36, 13x19, 13x40, 18x23, 18x44, 19x28, 19x47, 19x49, 21x44, 23x36, 28x40, 30x40, 36x44, 40x47 และ 40x49

3.5 การทดสอบอัตราการเจริญและคัดเลือกเส้นใยระยะที่สองในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB

3.5.1 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารแข็ง PDA

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 23 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดี ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารแข็ง PDA พบว่าสายพันธุ์ 8x18 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.2725 ซม./วัน สายพันธุ์ 30x40 มีอัตราการเจริญต่ำสุดที่ 0.2525 ซม./วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยจำนวน 23 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า สายพันธุ์ 19x28 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 0.3265 ซม./วัน และสายพันธุ์ 8x21 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 0.3156 ซม./วัน

3.5.2 การทดสอบอัตราการเจริญในอาหารเหลว PDB

เมื่อนำเส้นใยระยะที่สอง จำนวน 23 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบและคัดเลือกเส้นใยที่เจริญได้ดี ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเหลว PDB พบว่าสายพันธุ์ 8x18 มีอัตราการเจริญสูงสุดที่ 2.039×10^{-2} กรัม/วัน สายพันธุ์ 23x36 มีอัตราการเจริญต่ำสุดที่ 1.660×10^{-2} กรัม/วัน

ได้ทำการเลี้ยงเส้นใยจำนวน 23 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการเปรียบเทียบพบว่า สายพันธุ์ 5x47 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.878×10^{-2} กรัม/วัน และสายพันธุ์ 40x47 มีอัตราการเจริญเฉลี่ยต่ำสุดที่ 2.687×10^{-2} กรัม/วัน

3.5.3 การคัดเลือกเส้นใยระยะที่สอง

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญเฉลี่ย ในอาหารแข็ง PDA ที่ 32 องศาเซลเซียส โดยวิธี ANOVA พบว่าเส้นใยที่ทำการทดสอบนี้ มีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดใน ภาคผนวก ง ตารางที่ 41) และสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรก มี 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 8x18, 5x13, 13x40 และ 40x49

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอัตราการเจริญเฉลี่ยในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยวิธี ANOVA พบว่าเส้นใยที่ทำการทดสอบนี้มีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 42) และสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 8x18, 13x40 และ 5x13

ตารางที่ 16 อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่สอง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
5x13	0.2717	0.3170	5x13	2.008	2.847
5x28	0.2547	0.3186	5x28	1.864	2.844
5x47	0.2693	0.3226	5x47	1.864	2.878
8x18	0.2725	0.3204	8x18	2.039	2.823
8x21	0.2580	0.3156	8x21	1.834	2.755
8x36	0.2555	0.3172	8x36	1.777	2.817
10x18	0.2604	0.3190	10x18	1.666	2.776
10x21	0.2579	0.3172	10x21	1.773	2.785
10x36	0.2545	0.3167	10x36	1.771	2.718
13x19	0.2564	0.3175	13x19	1.762	2.735
13x40	0.2710	0.3204	13x40	2.037	2.746
18x23	0.2597	0.3209	18x23	1.852	2.877
18x44	0.2567	0.3160	18x44	1.854	2.815
19x28	0.2529	0.3265	19x28	1.798	2.699
19x47	0.2693	0.3189	19x47	1.692	2.697
19x49	0.2582	0.3185	19x49	1.683	2.749
21x44	0.2703	0.3191	21x44	1.821	2.863
23x36	0.2540	0.3209	23x36	1.660	2.785

ตารางที่ 16 (ต่อ) อัตราการเจริญเฉลี่ยของเส้นใยระยะที่สอง ในอาหารแข็ง PDA และ อาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDA (ชม./วัน)		สายพันธุ์	อัตราการเจริญเฉลี่ยใน PDB ($\times 10^{-2}$ กรัม/วัน)	
	32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส		32 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
28x40	0.2570	0.3161	28x40	1.753	2.746
30x40	0.2525	0.3211	30x40	1.787	2.741
36x44	0.2579	0.3185	36x44	1.816	2.710
40x47	0.2582	0.3179	40x47	1.788	2.687
40x49	0.2721	0.3210	40x49	1.990	2.735
control	0.2261	0.3202	control	1.813	2.713

3.6 การทดสอบอัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองในถุงซีลื้อย

จากการเลี้ยงเส้นใยในถุงซีลื้อยของการทดลอง 2 ชุด คือที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิโดยเฉลี่ย 32 องศาเซลเซียส) พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ CUY1 มีอัตราการเจริญสูงสุดคือ 0.4715 ชม./วัน สายพันธุ์ 13x40 มีอัตราการเจริญต่ำสุดคือ 0.4594 ชม./วัน และจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA แล้วพบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยในถุงซีลื้อยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 43) สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ CUY1 และ 40x49

ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุดคือสายพันธุ์ 8x18 มีอัตราการเจริญสูงสุดคือ 0.3179 ชม./วัน สายพันธุ์ดั้งเดิม CUY1 มีอัตราการเจริญต่ำสุดคือ 0.2524 ชม./วัน และจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่าอัตราการเจริญของเส้นใยในถุงซีลื้อยแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 44) สายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญสูงสุด จัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 8x18 และ 5x13

ตารางที่ 17 อัตราการเจริญของเส้นใยระยะที่สองในถุงขี้เลื่อย ที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สายพันธุ์	อัตราการเจริญในถุงขี้เลื่อย(ชม./วัน)			
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
25	CUY1	0.4720	0.4652	0.4773	0.4715
	5x13	0.4631	0.4532	0.4702	0.4622
	8x18	0.4463	0.4761	0.4618	0.4614
	13x40	0.4476	0.4632	0.4675	0.4594
	40x49	0.4625	0.4583	0.4723	0.4644
32	CUY1	0.2513	0.2621	0.2437	0.2524
	5x13	0.3124	0.3014	0.2913	0.3017
	8x18	0.3216	0.3204	0.3117	0.3179
	13x40	0.2984	0.3019	0.2917	0.2973
	40x49	0.2945	0.3127	0.2964	0.3012

3.7 การทดสอบปริมาณผลผลิตดอกเห็ดและการเก็บสปอร์เห็ดโคนญี่ปุ่น

3.7.1 การเปิดดอกเห็ดโคนญี่ปุ่น

เมื่อทำการเปิดดอกเห็ด พบว่าหลังจากทำการฉีดน้ำให้ความชื้นในโรงเรือน เปิดดอกประมาณ 7-10 วัน เริ่มมีตุ่มเห็ดเกิดขึ้น และค่อยๆ เจริญจนเป็นดอกเห็ดตุ่ม ที่พร้อมให้เก็บ ไปชั่งน้ำหนักสดได้

3.7.2 การเก็บผลผลิตดอกเห็ด

ผลจากการเก็บดอกเห็ด แยกวิเคราะห์ตามแหล่งบ่มเส้นใยและห้องเปิดดอก ได้ 4 ชุดทดลองดังนี้

1. เห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต สูงสุดคือสายพันธุ์ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 15.02 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต ต่ำสุดคือ 19x25 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 14.12 กรัม/ถุง แต่จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยวิธี ANOVA พบว่าแต่ละสายพันธุ์ให้ผลผลิตดอกเห็ดที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อถุงไม่แตกต่างกัน (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 45)

2. เหน็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 8x18 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 14.71 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 10.14 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 46) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 8x18 และ 5x13

3. เหน็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 8x18 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 13.52 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 9.31 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 47) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 1 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 8x18

4. เหน็ดที่บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องและเปิดดอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

จากการชั่งน้ำหนักสดของเห็ดในชุดทดลองนี้ พบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือสายพันธุ์ 8x18 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 14.07 กรัม/ถุง ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำสุดคือ CUY1 โดยน้ำหนักสดของดอกเห็ดเฉลี่ย 9.76 กรัม/ถุง และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA พบว่ามีสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รายละเอียดในภาคผนวก ง ตารางที่ 48) สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดอกเห็ดมีน้ำหนักสดสูงสุดจัดอยู่ในกลุ่มแรกมี 1 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 8x18

ตารางที่ 18 น้ำหนักสดของเห็ด

สายพันธุ์	น้ำหนักสดดอกเห็ดเฉลี่ย (กรัม/ถุง)			
	บ่มเชื้อ 32 'C เปิดดอก 32 'C	บ่มเชื้อ 25 'C เปิดดอก 32 'C	บ่มเชื้อ 32 'C เปิดดอก 25 'C	บ่มเชื้อ 25 'C เปิดดอก 25 'C
CUY1	9.31	10.14	9.76	15.51
5x13	12.63	13.79	12.81	15.74
8x18	13.52	14.71	14.07	15.46
13x40	12.45	13.08	12.96	15.16
40x49	12.34	13.22	12.52	14.66

3.8 การพิจารณาหาสายพันธุ์ที่ร้อนที่ดีที่สุดในรุ่น

วิเคราะห์หาสายพันธุ์ที่ร้อนที่ดีที่สุดในรุ่นที่สาม โดยพิจารณาจากอัตราการเจริญในถุงซีลี่ยที่อุณหภูมิห้อง และน้ำหนักสดของดอกเห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้อง พบว่าอัตราการเจริญในถุงซีลี่ยที่อุณหภูมิห้องของ สายพันธุ์ 8x18 สูงที่สุด และน้ำหนักสดเฉลี่ยของดอกเห็ดที่บ่มเชื้อและเปิดดอกที่อุณหภูมิห้องก็สูงที่สุดด้วย จึงคัดเลือก สายพันธุ์ 8x18 เป็นสายพันธุ์ F3 เพื่อใช้เป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการปรับปรุงพันธุ์ ในรุ่นต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย