วว.TISTR

โครงการวิจัยที่ ภ.56-04/ย.3/รายงานฉบับที่ 1(ฉบับสมบูรณ์)

การวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่น เพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ.56-04
การวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดและระบบการผลิตเห็ดเมืองหนาวในพื้นที่ราบเชิงพาณิชย์

โครงการย่อยที่ 3
การวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นเพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบ

รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)
การวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นเพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบ

โดย

ธนภักษ์ อินยอด

สุพัตรา เปี่ยมวารี **ตันติมา กำลัง**

วันทนา สะสมทรัพย์ **สาวิตรี ปราโมช ณ อยุธยา**

กัลยา รัตนถาวรกิติ **ธนภัทร เติมอารมย์**

บรรณาธิการ วว., ปทุมธานี 2559

นฤมล รื่นไวย์

สงวนลิขสิทธิ์

บุญเรียม น้อยชุมแพ

ศิริสุข ศรีสุข

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

นางลักษมี ปลั่งแสงมาศ
ผู้ว่าการ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จากงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2556-2558 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) คณะผู้วิจัยขอกราบพระคุณอย่างสูงไว้ในที่นี้.

นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้อำนวยการฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ให้โอกาสและสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้รวมทั้งผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำวิจัยครั้งนี้ทุกท่านที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือสนับสนุนให้คำชี้แนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์.

ขอบคุณ ดร.สุจิตรา โกศล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเรียบเรียงบทคัดย่อภาษาอังกฤษให้ถูกต้องตามหลักไวยกรณ์.

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่มอบโอกาสทางการศึกษา และให้กำลังใจมาโดยตลอดรวมถึงอาจารย์ผู้สอนทุกท่าน ที่มอบความรู้ให้กับผู้วิจัยเพื่อให้สามารถนำความรู้มาดำเนินการวิจัย ถ่ายทอดและเกิดประโยชน์ต่อสังคมและประเทศในครั้งนี้.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญตาราง	ค
สารบัญรูป	ฉ
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
1. บทนำ	3
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	21
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์	34
4. สรุปผลการวิจัย	97
5. แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์	98
6. ข้อเสนอแนะ	100
7. เอกสารอ้างอิง	101

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.	สมบัติของรังสีก่อไอออนประเภทต่างๆ (ดัดแปลงจาก IAEA 1977)	8
ตารางที่ 2.	วัสดุและอาหารเสริม สำหรับเตรียมหัวเชื้อ ที่อัตราส่วนต่างๆ	25
ตารางที่ 3.	ผลการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่รอดชีวิตหลังการฉายรังสีแกมมา โดยคาดว่าจะเป็นพันธุ์กลายและทนร้อน	45
ตารางที่ 4.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10, 25 และ 50 กิโลแรด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน	46
ตารางที่ 5.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จาก การฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	50
ตารางที่ 6.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ได้จากการ ฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่บ่มไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	52
ตารางที่ 7.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จาก การฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	54
ตารางที่ 8.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือก ที่ได้จาก การฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่บ่มไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	56
ตารางที่ 9.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จาก การฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่บ่มไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	58
ตารางที่ 10.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จาก การฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ใน อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	59

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 11.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	61
ตารางที่ 12.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	63
ตารางที่ 13.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	65
ตารางที่ 14.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	67
ตารางที่ 15.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	68
ตารางที่ 16.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	69
ตารางที่ 17.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	70
ตารางที่ 18.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	71
ตารางที่ 19.	อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน	72

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 20.	การศึกษาสัณฐานวิทยา (น้ำหนัก และคุณภาพของดอกเห็ด) โดยการเพาะในวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการผลิตดอกเห็ด	76
ตารางที่ 21.	ปริมาณโปรตีน, แร่ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) และแร่ธาตุอาหารรอง (micronutrients) และโลหะหนักในดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด	79
ตารางที่ 22.	ปริมาณโปรตีน, แร่ธาตุอาหารหลัก (Macronutrients) และแร่ธาตุอาหารรอง(micronutrients) และโลหะหนักในดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด	80

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวฟ่าง (สูตรที่ 1)	35
รูปที่ 2.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิ สีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 1) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	36
รูปที่ 3.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวเปลือก (สูตรที่ 2)	36
รูปที่ 4.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 2) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	37
รูปที่ 5.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 3)	37
รูปที่ 6.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 3) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	38
รูปที่ 7.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 4)	38
รูปที่ 8.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 4) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	39
รูปที่ 9.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 5)	39
รูปที่ 10.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิ สีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 5) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	40
รูปที่ 11.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 6)	40
รูปที่ 12.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 6) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	41
รูปที่ 13.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 7)	41
รูปที่ 14.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิ สีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 7) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	42

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 15.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 8)	42
รูปที่ 16.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 8) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	43
รูปที่ 17.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 9)	43
รูปที่ 18.	การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 9) สำหรับผลิตหัวเชื้อ	44
รูปที่ 19.	ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเห็ดเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้วัสดุเพาะสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน	49
รูปที่ 20.	ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเห็ดเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้วัสดุเพาะสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน	49
รูปที่ 21.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	51
รูปที่ 22.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	53
รูปที่ 23.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	55
รูปที่ 24.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	57

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 25.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	58
รูปที่ 26.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	60
รูปที่ 27.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	62
รูปที่ 28.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	63
รูปที่ 29.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	65
รูปที่ 30.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	67
รูปที่ 31.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	68
รูปที่ 32.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	69
รูปที่ 33.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	70
รูปที่ 34.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	71

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 35.	อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน	72
รูปที่ 36.	ลักษณะการเปิดดอกของเห็ดโคนญี่ปุ่นในโรงเรือนเพาะ	74
รูปที่ 37.	ผลผลิตดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นหลังจากเปิดดอกในโรงเรือนเพาะเป็นเวลา 15 วัน	74
รูปที่ 38.	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์กลาย (ยานางิ 2/2 C3) ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด (ขวา) เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (ซ้าย)	74
รูปที่ 39.	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์ยานางิเข้ม C12 ที่ผ่านการฉายรังสี 10 กิโลแรด (ขวา) เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (ซ้าย)	75
รูปที่ 40.	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์ยานางิ 2/1 C1 (ซ้าย) และสายพันธุ์ยานางิ 2/1C1 (ขวา) ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด	75
รูปที่ 41.	ดีเอ็นเอของเห็ดโคนญี่ปุ่นบริเวณ ITS region มีขนาดประมาณ 700-750 bp	81
รูปที่ 42.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย1 กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	90
รูปที่ 43.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2 กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	90
รูปที่ 44.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์สีอ่อน (ยอ) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	91
รูปที่ 45.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์สีเผือก (ยผ) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	91
รูปที่ 46.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์สีเข้ม (ยข) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	92
รูปที่ 47.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C3 (10 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	92
รูปที่ 48.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C12 (10 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	93

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 49.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2/1C1 (25 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	93
รูปที่ 50.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2/2 C3 (25 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	94
รูปที่ 51.	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C12 (25 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank	94
รูปที่ 52.	Phylogenetic tree ของสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ผ่านฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด ที่ให้ผลผลิตสูง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ควบคุม	95
รูปที่ 53.	Phylogenetic tree ของสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ผ่านฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด ที่ให้ผลผลิตสูง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ควบคุม	96

DEVELOPMENT OF YANAGI MUTSUTAKE STRAIN WITH GAMMA RADIATION FOR LOWLAND CULTIVATION

Tanapak Inyod, Supatra Piemvaree, Tantima Kumlung, Wantana Sasomsub, Sawithree Pramoj na ayudthya, Kanlaya Rattanathawornkiti and Thanaphat Toemarrom

ABSTRACT

The research and development of *Yanagi Mutsutake* strains with gamma radiation for lowland cultivation was conducted using five of ten varieties of *Yanagi Mutsutake* mushroom (Y1, Y2, YL, YA and YS), which have high potential and yield, in the experiments. All of five selected-strains (parent mycelia) were irradiated by using radiation Gamma cell 220 at different levels (0, 10, 25 and 50 Krad). Irradiated samples were incubated at 40 °C. New mycelium, which was generated from the parent mycelia, was expected to be mutated strains by gamma radiation and resistant to heat. All of those 186 samples/isolates were isolated and kept for further experiments (growth rate, productivity, nutritional values, mineral nutrient contents, and basic morphology). The experiment on mycelium growth rate on mushroom spawn was found that the irradiated strains were higher than those of the parent strains comparatively (average 2.4 and 2.1 cm/week, respectively). Similarly, the result of productivity showed that the irradiated strains were higher than that of the parent strains (average 14-30 and 12-16 g/mushroom spawn/crop, respectively). Moreover, the mushroom's nutritional values analysis showed that irradiated strains were higher than those of the parent strains comparatively. Mushroom's size (pileups and stalk) showed that the irradiated stains were bigger than the parent strains. From this experiment, two of 186 mutant strains (YSC3 and YSC12 obtained from gamma radiation at 10 Krad) and3 strains: Y2/1C1, Y2/2C3 and YSC12 obtained from gamma radiation at 25 Krad were identified as new variety of *Yanagi Mutsutake* which was resistant to heat and had higher yield.

การวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นเพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบ

ธนภักษ์ อินยอด[1], สุพัตรา เปี่ยมวารี[1], ตันติมา กำลัง[1], วันทนา สะสมทรัพย์[1], สาวิตรี ปราโมช ณ อยุธยา[1], กัลยา รัตนถาวรกิติ[1] และธนภัทร เติมอารมย์[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นด้วยรังสีแกมมา เพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบ ได้ทำการรวบรวมสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่น เพื่อใช้สำหรับทดสอบ จำนวน 10 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้ได้คัดเลือกสายพันธุ์เห็ดที่มีศักยภาพ ซึ่งให้ผลผลิตสูงได้ 5 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ ย1, ย2, ยอ, ยผ และ ยข) เห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ ดังกล่าวได้นำไปปรับปรุงพันธุ์โดยกระบวนการฉายรังสี ด้วยเครื่องฉายรังสี Gamma cell 220 ที่ระดับปริมาณรังสีต่างๆ (0, 10, 25 และ 50 กิโลแรด) เชื้อเห็ดที่ผ่านการฉายรังสีและเจริญเป็นเส้นใยใหม่และมีชีวิตรอดหลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศา-เซลเซียส คาดว่าจะกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาและทนความร้อนได้ และได้ทำการแยกเชื้อเห็ดดังกล่าวให้บริสุทธิ์ได้ 186 ตัวอย่าง (isolate) สำหรับใช้ทดสอบ อัตราการเจริญเติบโตในก้อนเชื้อเห็ด, ผลผลิต, คุณค่าทางโภชนาการและแร่ธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบของเห็ดและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นต่อไปผลการศึกษาพบว่า อัตราการเจริญเติบโตในก้อนเชื้อเห็ดของตัวอย่างเห็ดที่ผ่านการฉายรังสีมีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ย 2.4 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ ซึ่งสูงกว่าของสายพันธุ์แม่ (2.1 เซนติเมตรต่อสัปดาห์) ตัวอย่างเห็ดที่ผ่านการฉายรังสีให้ผลผลิตโดยเฉลี่ย 14-30 กรัมต่อก้อนเห็ดต่อรอบ ซึ่งสูงกว่าเห็ดสายพันธุ์แม่ซึ่งให้ผลผลิต 12-16 กรัมต่อก้อนเห็ดต่อรอบ. นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างเห็ดที่ผ่านการฉายรังสีให้คุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าเห็ดสายพันธุ์แม่ การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น พบว่า ขนาดดอกและก้านดอกของเห็ดจากสายพันธุ์ที่ผ่านการฉายรังสี มีขนาดใหญ่กว่าสายพันธุ์แม่ ในจำนวนเห็ดที่ผ่านการฉายรังสี 186 ตัวอย่าง พบว่า เป็นเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ใหม่จำนวน 2 สายพันธุ์ จากการฉายรังสีที่ปริมาณ 10 กิโลแรด ได้แก่ สายพันธุ์ยานางิเข้ม C3 และ C12 และ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ยานางิ2/1C1, ยานางิ 2/2C3 และยานางิเข้ม C12 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทนร้อนและให้ผลผลิตสูง.

---

[1]ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

1. บทนำ

เห็ดโคนญี่ปุ่นหรือเห็ดยานางิ (*Yanagi Matsutake*) มีชื่อสากลว่า *Agrocybe cylindracea* Maire ดอกมีสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้ม ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่เห็ดออกดอกถ้าอุณหภูมิยิ่งเย็นสีจะยิ่งเข้ม ก้านดอกสีขาว เนื้อแน่นและมีเนื้อเยื่อยาวทำให้ไม่เปราะหรือหักง่าย รสชาติคล้ายกับเห็ดโคนไทย เห็ดโคนญี่ปุ่นเป็นเห็ดที่เริ่มนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายและมีราคาแพง โดยราคาขายส่งเฉลี่ยอยู่ที่ 160 บาทต่อกิโลกรัม (ตลาดกลางผักและผลไม้จังหวัดราชบุรี 2558) เนื่องจากรสชาติที่อร่อย เมื่อนำมาประกอบอาหารหมวกดอกจะเหนียวนุ่มเหมือนเห็ดหอม, ก้านดอกจะกรอบเหมือนเห็ดโคนป่า นอกจากนี้ ยังสามารถเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นได้นานกว่า 1 สัปดาห์ โดยยังมีความสด, รูปร่าง, ขนาดและน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลง การเพาะเลี้ยงสามารถกระทำได้ง่ายเหมือนการเพาะเห็ดถุงทั่วไป และยังเพาะเลี้ยงได้ตลอดปีจึงมีแนวโน้มว่าจะเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่มีอนาคต.

ในปัจจุบันเห็ดโคนญี่ปุ่นและเห็ดเขตร้อนต่างๆ มีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ทั้งนี้ เนื่องจากในบางสภาพอากาศ เช่น อากาศร้อนจัด เห็ดจะเจริญเติบโตทางด้านเส้นใยมากกว่าเกิดดอก, ผลผลิตที่ได้จึงลดลง, ส่วนคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการนั้นจะดีหรือด้อย ปัจจัยหลักสำคัญอย่างหนึ่ง คือ การขาดเทคโนโลยีที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต เช่น เชื้อสายพันธุ์เห็ดที่ดี, วัสดุเพาะเห็ด และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น แสง, บรรยากาศ และแร่ธาตุที่จำเป็น เป็นต้น (Garraway and Evans 1984) รวมถึงปัญหาการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีผลให้ต้นทุนการผลิตเห็ดสูงขึ้น ดังนั้น หากมีเทคโนโลยีที่เหมาะสมและการจัดการที่ดีจะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้.

จากความสำคัญที่กล่าวมาข้างต้น ประกอบกับความจำเป็นที่จะต้องศึกษา, พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเห็ดโคนญี่ปุ่น และเห็ดเขตร้อนอื่นๆ รวมทั้งการศึกษาวิธีการเพาะและการดูแลรักษาเห็ดอย่างเหมาะสม ตลอดจนการจัดการข้อมูลเกี่ยวกับเห็ดอย่างมีระบบ เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพ ก่อให้เกิดแนวคิดในการศึกษาการวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นเพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบขึ้น ทั้งนี้ เพื่อสนองนโยบายการวิจัยของชาติ และสอดคล้องกับยุทธศาสตร์แผนการบริหารราชการแผ่นดินของประเทศ โดยเฉพาะยุทธศาสตร์การสร้างศักยภาพและความสามารถเพื่อการพัฒนาทางเศรษฐกิจ และเป็นการพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชน ตลอดจนสามารถนำองค์ความรู้ไปถ่ายทอดสู่เกษตรกรหรือผู้ประกอบการในภาคอุตสาหกรรมหรือเอกชนได้.

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่น เพื่อให้ผลผลิตและคุณภาพสูงเมื่อปลูกในพื้นที่ราบ.

2. เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีเพิ่มคุณภาพเห็ดโคนญี่ปุ่น.

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ปรับปรุงเห็ดโคนญี่ปุ่นเพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่สามารถเพาะและให้ผลผลิตที่มีคุณภาพในเขตพื้นที่ลุ่มของประเทศไทย.

2. พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดโคนญี่ปุ่นให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในเขตพื้นที่ลุ่มของประเทศไทย.

เห็ดโคนญี่ปุ่น หรือเห็ดยานางิ (Yanagi Matsutake) เป็นเห็ดที่คนไทยเริ่มนิยมบริโภค เห็ดชนิดนี้ เมื่อเพาะในที่อุณหภูมิต่ำ ดอกเห็ดมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลอมส้ม, ก้านดอกมีสีขาว, เนื้อแน่น เวลาเคี้ยวได้รสชาติดี แต่การเพาะเห็ดโคนญี่ปุ่นมักประสบปัญหา เนื่องจากเห็ดชนิดนี้เมื่อนำมาเพาะในที่อุณหภูมิสูง เช่น บริเวณพื้นที่ราบภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี, ราชบุรีและปทุมธานี ดอกเห็ดจะมีการเจริญเติบโตเร็วเกินไปทำให้ระหว่างการเก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่า หมวกดอกจะหลุดออกจากก้าน และก้านดอกเปราะ ส่งผลให้คุณภาพของดอกเห็ดลดลง การพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่มีสายพันธุ์ที่แข็งแรง และสามารถเจริญเติบโตในสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิสูง ทั้งสามารถให้คุณภาพ และผลผลิตที่สูงก็จะเป็นประโยชน์ในการผลิตเพื่อการค้า และลดการนำเข้าเห็ดจากต่างประเทศต่อไป.

จอมพุก (2553) ได้รายงานว่า โดยทั่วไปนักปรับปรุงพันธุ์จะใช้ความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation) ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ โดยคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ จากพันธุ์ที่มีการรวบรวมมาจากแหล่งต่างๆ ทั้งในท้องถิ่นและจากต่างประเทศ นำมาปลูกและคัดเลือก (selection) พันธุ์ที่มีลักษณะดีตามต้องการไว้ โดยนำมาใช้เป็นพันธุ์ปลูกโดยตรง หรือนำมาผสมพันธุ์ (hybridization) กับพันธุ์ที่มีอยู่เดิม เพื่อเพิ่มลักษณะดีที่ต้องการเข้าไป โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรวมลักษณะดีที่มีอยู่ในแต่ละพันธุ์มาไว้ในพันธุ์เดียวกัน เช่น ผลผลิตสูง, ต้านทานโรคและแมลง รวมทั้งทนทานต่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เป็นต้น วิธีการปรับปรุงพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น ซึ่งประกอบด้วยการนำเข้าพันธุ์, การคัดเลือกและการผสมพันธุ์เรียกว่าเป็นการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีมาตรฐาน (conventional breeding) ซึ่งอาศัยความแปรปรวนทางพันธุกรรมในธรรมชาติซึ่งส่วนหนึ่งมาจาก

การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) โดยสิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ได้ทุกระยะการเจริญเติบโต.

ส่วนการปรับปรุงพันธุ์โดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ (mutation breeding) นักปรับปรุงพันธุ์ไม่ได้อาศัยความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในธรรมชาติ แต่ใช้รังสีหรือสารเคมีเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์. จากนั้น ก็คัดเลือกลักษณะที่ต้องการนำมาขยายพันธุ์ทดสอบลักษณะที่ต้องการและขยายพันธุ์ เผยแพร่ เป็นพันธุ์ใหม่ต่อไป จะเห็นได้ว่าการปรับปรุงพันธุ์โดยการกลายพันธุ์มีความแตกต่างจากการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีมาตรฐานเพียงขั้นตอนแรกเท่านั้นในขั้นต่อไปซึ่งประกอบด้วยการคัดเลือก, การทดสอบพันธุ์, การขยายพันธุ์ และบางครั้งอาจใช้วิธีการผสมพันธุ์ด้วย ซึ่งไม่แตกต่างจากวิธีการปรับปรุงพันธุ์มาตรฐานแต่อย่างใด.

การกลายพันธุ์ (mutation)

การกลายพันธุ์ คือ การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเซลล์ที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของดีเอ็นเอซึ่งไม่ได้เกิดจากการรวมตัว (recombination) หรือการแยกตัว (segregation) ของสารพันธุกรรมตามปกติและสามารถถ่ายทอดลักษณะการเปลี่ยนแปลงนั้นจากเซลล์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปยังเซลล์ลูกได้ด้วยกระบวนการแบ่งเซลล์การกลายพันธุ์แบ่งได้เป็น 2 ระดับ คือ

1. การกลายพันธุ์ระดับยีน (gene mutation หรือ point mutation) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในยีนเกี่ยวข้องกับการสูญหายไปหรือเพิ่มเข้ามาของส่วนของยีนหรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในยีนการเปลี่ยนแปลงของยีนแบ่งตามลักษณะการเกิดได้ 2 ชนิด คือ

1.1 การกลายพันธุ์แบบเฟรมชิพต์ (frameshift mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเพิ่มเข้ามาหรือหลุดหายไปของนิวคลีโอไทด์เบส (หรือเรียกสั้นๆ ว่า เบส) จากโมเลกุลดีเอ็นเอที่ทำหน้าที่เป็นยีน การทำงานของยีนเพื่อสร้างพอลิเพปไทด์จะส่งข้อมูลพันธุกรรมผ่าน mRNA เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในยีน เนื่องจากการเพิ่มเข้ามาหรือหลุดหายไปของเบสทำให้ลำดับของเบสบน mRNA เปลี่ยนแปลงไปด้วย ซึ่งส่งผลให้ลำดับของกรดแอมิโนของพอลิเพปไทด์ที่ควบคุมการสร้างโดยยีนนั้นเปลี่ยนไปจากเดิมทำให้โปรตีนที่สร้างขึ้นมาจากยีนดังกล่าว ไม่สามารถทำงานได้เหมือนเดิมหรือมีประสิทธิภาพไม่เท่าเดิมหรือทำงานไม่ได้เลยการเพิ่มเข้ามาหรือหลุดหายไปของเบสเพียง 1 โมเลกุล สามารถทำให้กรอบการอ่านของรหัสพันธุกรรมทีละ 3 เบส (triplet code) เปลี่ยนไปได้มีการเลื่อนเข้ามาหรือเลื่อนออกไปจากตำแหน่งเดิมจึงเรียกว่าการกลายพันธุ์แบบเฟรมชิพต์.

1.2 การกลายพันธุ์เนื่องจากการเข้าแทนที่ของคู่เบส (base substitution) คือ การเปลี่ยนแปลงในสารพันธุกรรม เนื่องจากการเข้าแทนที่ของคู่เบสการกลายพันธุ์แบบนี้เกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ

1.2.1 แทรนซิชัน (transition) เป็นการแทนที่ของคู่เบสในกลุ่มเดียวกัน เช่น เบส อะดินิน (adenine, A) ซึ่งเป็นเบสในกลุ่มพิวริน (purine) เข้าแทนที่เบสกัวนิน (guanine, G) ซึ่งเป็นเบสกลุ่มพิวรินเช่นเดียวกัน หรือเบสไซโตซิน (cytosine, C) เข้าแทนที่เบสไทมิน (thymine, T) ซึ่งทั้งสองต่างเป็นกลุ่มเบสไพริมิดิน (pyrimidine).

1.2.2 แทรนเวอร์ชัน (transversion) เป็นการเปลี่ยนแปลงแบบสลับคู่ของเบส คือ เบสพิวริน (A หรือ G) เข้าไปแทนที่เบสไพริมิดิน (C หรือ T) หรือในทางตรงข้ามเบสไพริมิดิน (C หรือ T) เข้าไปแทนที่เบสพิวริน (A หรือ G) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการแทนที่คู่เบสใดคู่เบสหนึ่งทำให้เกิดการสร้างกรดแอมิโนตัวอื่นขึ้นแทนที่ โดยสร้างกรดแอมิโนตัวใหม่ที่ต่างไปจากเดิม เกิดเป็นโปรตีนตัวใหม่ที่อาจทาหน้าที่ไม่เหมือนเดิม หรือมีประสิทธิภาพในการทำงานน้อยกว่าเดิม หรือไม่สามารถทำหน้าที่ใดๆ ได้เลยการกลายพันธุ์ เนื่องจากการเข้าแทนที่คู่เบสเป็นการเปลี่ยนแปลงเฉพาะเบสตัวใดตัวหนึ่ง จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation).

2. การกลายพันธุ์ระดับโครโมโซม (chromosome mutation) การกลายพันธุ์ของโครโมโซม เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดในโครงสร้างหรือจำนวนโครโมโซมซึ่งเกี่ยวข้องกับยีนหลายยีนการกลายพันธุ์ของโครโมโซมเกิดได้ใน 2 ลักษณะ คือ

2.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโมโซม อาจเกิดจากการขาดหายไปของส่วนของโครโมโซม (deletion หรือ deficiency) ทำให้ยีนจำนวนหนึ่งขาดหายไปหรือเกิดจากการที่ยีนหรือส่วนของโครโมโซมเพิ่มเข้ามามากกว่าปกติ (duplication) หรือเกิดจากการเปลี่ยนแปลงกลับทิศทางของส่วนของโครโมโซม (inversion) หรือเกิดการย้ายสลับที่ระหว่างส่วนของโครโมโซม 2 โครโมโซม (translocation) หรือชิ้นส่วนของโครโมโซมย้ายไปอยู่ตำแหน่งใหม่ภายในโครโมโซมเดียวกันหรือต่างโครโมโซมโดยไม่มีการแลกเปลี่ยนส่วนกันเกิดขึ้น (transposition).

2.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม ได้แก่ การเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซมลงจากปกติโดยทั่วไปสิ่งมีชีวิตอยู่ในสภาพที่มีจำนวนโครโมโซมในโซมาติกเซลล์ (somatic cells) เป็นดิพพลอยด์ (diploid = 2n) แต่อาจมีการเพิ่มหรือลดจำนวนเกิดขึ้นบางโครโมโซม เรียกว่า แอนนิวพลอยด์ (aneuploidy) เช่นเป็น 2n+1 หรือ 2n-1 เป็นต้น, ส่วนพวกที่มีการเพิ่มหรือลดของโครโมโซมเป็นชุดเรียกว่า พอลิพลอยด์ (polyploidy) เช่น 3n หรือ 4n เป็นต้น.

การกลายพันธุ์เกิดขึ้นในระดับยีนหรือโครโมโซม ซึ่งเป็นโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตที่เล็กมาก การที่จะทราบว่ามีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นนั้น ทราบได้โดยมีการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ (phenotype) การเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์ในบางลักษณะอาจชัดเจนสามารถแยกได้ด้วยตาเปล่า เช่น มีการเปลี่ยนแปลงในรูปทรงของต้น, เปลี่ยนแปลงในสีดอก, จำนวนหรือขนาดของผล และมีอายุการเก็บเกี่ยวเร็วขึ้นหรือช้าลง เป็นต้น ซึ่งการกลายพันธุ์ชนิดนี้สามารถคัดเลือกนำมาใช้ประโยชน์ได้ง่ายแต่การกลายพันธุ์บางชนิดก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์เล็กน้อยไม่ปรากฏให้เห็นชัดเจน ต้องใช้วิธีการเฉพาะในการแยกพันธุ์กลายและคัดเลือกนำพันธุ์กลายที่ต้องการมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงในลักษณะเชิงปริมาณเช่นองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของพืช, ปริมาณโปรตีน, ไขมัน, น้ำตาลกรดแอมิโน, ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง, การเก็บสะสมอาหารของพืช และผลผลิต เป็นต้น. การแยกพันธุ์กลายมาใช้ประโยชน์จะต้องอาศัยเครื่องมือวิเคราะห์และวิธีการวิเคราะห์โดยเฉพาะบางลักษณะต้องอาศัยหลักสถิติเข้าช่วยในการวิเคราะห์และต้องใช้จำนวนต้นพืชหลายต้นในการตรวจสอบตัวอย่างเช่น ผลผลิตและในปัจจุบันยังมีการนำเทคนิคทางโมเลกุล (molecular techniques) มาช่วยในการคัดเลือกและตรวจสอบพันธุ์กลายอีกด้วย.

การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำ (induced mutation) มีคุณสมบัติหรือคุณลักษณะที่ไม่ต่างจากที่เกิดเองตามธรรมชาติ เพียงแต่มีอัตราการกลายพันธุ์สูงกว่าที่เกิดเองตามธรรมชาตินอกจากนี้ การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำอาจได้ลักษณะแปลกใหม่ที่ไม่พบในธรรมชาติ. เนื่องจากการกลายพันธุ์ในลักษณะดังกล่าวอาจเคยเกิดขึ้นแล้วในธรรมชาติแต่ถูกคัดทิ้งไปโดยไม่ผ่านการเลือกคัดของธรรมชาติ (natural selection) พวกจีโนไทด์ที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมเท่านั้นจึงจะมีชีวิตรอดได้นอกจากนี้ อาจถูกคัดทิ้งไปโดยมนุษย์ (human selection) โดยมนุษย์จะเลือกพืชที่มีลักษณะที่พึงประสงค์ไว้และกำจัดพวกที่ไม่ต้องการออกไปบางครั้งพืชที่กลายพันธุ์แม้จะได้ผ่านการเลือกคัดตามธรรมชาติ แล้วก็อาจจะถูกทำให้สูญพันธุ์ไปโดยมนุษย์เอง (Stadler 1928) ได้ทดลองฉายรังสีเอกซ์กับข้าวโพดและข้าวบาร์เลย์พบว่า รังสีเอกซ์สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชทั้งสองชนิดและมีอัตราการกลายพันธุ์สูงกว่าที่เกิดเองตามธรรมชาติ จากการค้นพบนี้ทำให้นักปรับปรุงพันธุ์พืชให้ความสนใจในการนำรังสีเอกซ์และรังสีประเภทไอออไนซิง (ionizing radiation) อื่นๆ เช่น รังสีแกมมา และรังสีนิวตรอน มาใช้ประโยชน์ในการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชจึงได้เกิดเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์ที่เรียกว่าเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์โดยการกลายพันธุ์ (mutation technique for crop improvement หรือ mutation breeding) โดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์.

สิ่งที่ใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เรียกว่า สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางกายภาพ (physical mutagen) ได้แก่ รังสีต่างๆ ซึ่งแบ่งตามความสามารถในการทำให้ตัวกลางแตกตัวเป็นไอออนได้เป็น 2 ประเภท คือ

รังสีไม่ก่อให้เกิดไอออน (non-ionizing radiation) หมายถึง รังสีที่มีพลังงานต่ำ เมื่อผ่านเข้าไปในตัวกลางใดๆ จะไม่สามารถทำให้ตัวกลางนั้นแตกตัวเป็นไอออนเนื่องจากมีพลังงานไม่มากพอที่จะผลักอิเล็กตรอนให้หลุดออกจากอะตอมได้รังสีประเภทนี้มีพลังงานอยู่ในช่วง 10^{-2}-10^{2} eV เช่น อัลตราไวโอเลต (ultraviolet, UV), อินฟราเรด (infrared) และแสงสว่าง (visible light).

รังสีก่อให้เกิดไอออน (ionizing radiation) หมายถึง รังสีที่มีพลังงานสูงอยู่ในช่วง keV-MeV เมื่อรังสีชนิดนี้ผ่านเข้าไปในตัวกลางใดๆ จะทำให้อะตอมของตัวกลางนั้นแตกตัวเป็นไอออน โดยที่พลังงานจากรังสีสามารถผลักให้อิเล็กตรอนในอะตอมของตัวกลางหลุดออกจากอะตอมเกิดเป็นคู่ไอออน (ion pair) ซึ่งประกอบด้วยอิเล็กตรอนอิสระ (free electron) ที่มีประจุลบ (negative ion) และไอออนบวก (positive ion) ซึ่งเป็นอะตอมที่ขาดอิเล็กตรอนตัวอย่างรังสีประเภทนี้ ได้แก่ รังสีเอกซ์ (X-rays), รังสีแกมมา (gamma rays), อนุภาคแอลฟา (alpha particle) และอนุภาคบีตา (beta particle).

รังสีที่นำมาใช้ประโยชน์ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์และให้ผลดี คือ รังสีก่อไอออนโดยรังสีก่อไอออนแต่ละชนิดจะมีแหล่งกำเนิด (source), พลังงาน (energy) และความสามารถผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. สมบัติของรังสีก่อไอออนประเภทต่างๆ (ดัดแปลงจาก IAEA 1977)

ชนิดรังสี	แหล่งกำเนิด	ประเภทรังสี	พลังงาน	ความสามารถผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อ[1/]
รังสีเอกซ์	เครื่องกำเนิดรังสีเอกซ์ (X-ray machine)	แม่เหล็กไฟฟ้า	50-300 kV	2-3 มิลลิเมตร – หลายเซนติเมตร
รังสีแกมมา	ไอโซโทปกัมมันตรังสี (radioisotope), และปฏิกิริยานิวเคลียร์ (nuclear reaction)	แม่เหล็กไฟฟ้า	สูงได้ถึงหลายๆ MeV	หลายเซนติเมตร
อนุภาคนิวตรอน	เครื่องปฏิกรณ์นิวเคลียร์ (nuclear reactor), เครื่องเร่งอนุภาค (accelerator)	อนุภาค	<1 eV – หลายๆ MeV	หลายเซนติเมตร
อนุภาคบีตา	ไอโซโทปกัมมันตรังสีหรือเครื่องเร่งอนุภาค	อนุภาค	สูงได้ถึงหลายๆ MeV	หลายมิลลิเมตร
อนุภาคแอลฟา	ไอโซโทปกัมมันตรังสี	อนุภาค	2-9 MeV	<1 มิลลิเมตร
อนุภาคโปรตอน	เครื่องปฏิกรณ์นิวเคลียร์หรือเครื่องเร่งอนุภาค	อนุภาค	สูงได้ถึงหลายๆGeV	หลายเซนติเมตร

หมายเหตุ: 1/ เปลี่ยนแปลงไปตามปัจจัยต่างๆ ในที่นี้เป็นค่าที่ได้จากค่าเฉลี่ยของเนื้อเยื่อพืชปกติ

รังสีที่นิยมใช้ในการเหนี่ยวนาให้พืชกลายพันธุ์ ได้แก่ รังสีเอกซ์, รังสีแกมมา, รังสีนิวตรอน และไอออนบีม.

1. รังสีเอกซ์ (X-rays) รังสีเอกซ์ผลิตได้จากเครื่องกำเนิดรังสีเอกซ์ที่ประกอบด้วยหลอดสุญญากาศภายในมีเป้า (target) ซึ่งทำจากวัสดุที่มีจุดหลอมเหลวสูง เช่น ทังสเตนโมลิบดินัม ทำหน้าที่เป็นขั้วบวก (anode) และไส้หลอด (filament) ที่ทำจากทังสเตนซึ่งสามารถทนความร้อนได้สูง ทำหน้าที่เป็นขั้วลบ (cathode) เป้าและไส้หลอดต่อเข้ากับแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงสูงเมื่อไส้หลอดร้อนจะปลดปล่อยอิเล็กตรอนให้เคลื่อนที่ไปปะทะเป้าแล้วให้รังสีเอกซ์ออกมา.

2. รังสีแกมมา (gamma-rays) รังสีแกมมาเป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง, ไม่มีมวล, ไม่มีประจุ, มีอำนาจทะลุทะลวง (penetration) สูง เกิดจากการปล่อยพลังงานของนิวไคลด์กัมมันตรังสี (radionuclide หรือ radioactive nuclide) ที่สลายตัวให้รังสีชนิดอื่นแล้วแต่ยังมีพลังงานเหลืออยู่จึงปล่อยพลังงานออกมาในรูปของรังสีแกมมาตัวอย่างของนิวไคลด์กัมมันตรังสี คือ โคบอลต์-60 (cobalt-60, ^{60}Co) และซีเซียม-137 (cesium-137, ^{137}Cs) ซึ่งนิยมนำมาใช้ เป็นต้น กำเนิดรังสีแกมมาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายในพืชรังสีแกมมามีพลังงานอยู่ในช่วง keV-MeV สำหรับความสามารถในการทะลุทะลวงผ่านตัวกลางใดๆ ขึ้นอยู่กับพลังงานและชนิดของตัวกลาง นักปรับปรุงพันธุ์พืชนิยมใช้รังสีแกมมาในการเหนี่ยวนำให้พืชเกิดการกลายมากกว่ารังสีเอกซ์ เนื่องจากสามารถฉายรังสีตัวอย่างพืชได้ทั้ง 2 แบบ คือ.

1. การฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) เป็นการให้รังสีปริมาณสูงๆ และสิ้นสุดในระยะเวลาอันสั้น เพื่อไม่ให้พืชหรือชิ้นส่วนของพืชมีโอกาสซ่อมแซมความเสียหายในช่วงที่ได้รับรังสี ได้แก่ การให้รังสีกับเมล็ดหรือส่วนของพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยเนื้อเยื่อต้นพืชตลอดจนเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง การให้รังสีแบบนี้จะให้เฉพาะส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชก็ได้สามารถให้ในระยะใดระยะหนึ่งของการพัฒนาอัตราการกลายพันธุ์โดยทั่วไปค่อนข้างสูงขนาดของส่วนที่กลาย (mutated sector) ใหญ่ง่ายต่อการคัดเอาลักษณะนั้นๆ ออกมาได้แต่มีข้อเสีย คือ จะมีความผิดปกติของโครโมโซมสูงมาก ทำให้เกิดความเสียหายทางสรีรวิทยา (physiological effect) กับตัวอย่างพืชค่อนข้างมากเป็นผลให้ลดความสมบูรณ์เพศลงไปพืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสี (radiosensitivity) แตกต่างกันลักษณะความไวหรือความต้านทานต่อรังสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการการพิจารณาหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมของแต่ละพืชจึงเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นผู้วิจัยอาจค้นคว้าจากผลงานของผู้อื่นที่ได้ทำไว้หรืออาจจะหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมได้โดยทาการทดลองเพื่อหาค่า LD_{50}(50% lethality) หรือ GR_{50} (50% growth reduction).

วิธีการหาค่า LD_{50} หรือ GR_{50} ทำได้โดยนำตัวอย่างพืชจำนวนหนึ่งมาฉายรังสีในกรณีเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงก็นำเนื้อเยื่อที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อมาฉายรังสี หลังจากฉายรังสีแล้วต้องย้ายลงเลี้ยงในอาหารใหม่โดยแยกเป็นต้นเดี่ยวๆ โดยใช้ปริมาณรังสีต่างๆ กัน ตั้งแต่ 0 จนถึงปริมาณรังสีสูงมากๆ เพื่อทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หาเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดที่อายุ 30 วัน หรือเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของต้นกล้าที่อายุ 15 วัน โดยคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของพวกที่ไม่ฉายรังสี ดังแสดงในตารางที่ 2 หาค่าความสัมพันธ์ของปริมาณรังสีกับเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของต้นกล้า หรือการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยให้ปริมาณรังสีอยู่บนแกน X เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด หรือการเจริญเติบโตอยู่บนแกน Y จากจุด 50 เปอร์เซ็นต์ของแกน Y ลากเส้นมาตัดเส้นเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด หรือการเจริญเติบโตและลากลงมาตัดค่าปริมาณรังสีในแกน X จุดตัดบนแกน X จะเป็นปริมาณรังสีที่ทำให้พืชอยู่รอด หรือมีการเจริญเติบโต 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวัดการเจริญเติบโตของต้นกล้าอาจวัดความสูงของต้นกล้าน้ำหนักสด หรือน้ำหนักแห้งของต้นกล้าเป็นต้นปริมาณรังสีที่เหมาะสมที่แนะนำให้ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์คือปริมาณรังสีทำให้เกิดการตายกับต้นพืชอยู่ในช่วง 30-50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{30}-LD_{50}) หรือถ้าใช้ค่าความเจริญเติบโตก็อยู่ในช่วง GR_{50}.

2. การฉายรังสีแบบสะสมหรือเรื้อรัง (chronic irradiation) เป็นการเพิ่มระยะเวลาที่ได้รับรังสีนานออกไปโดยให้ได้รับปริมาณรังสีต่อหน่วยเวลาต่ำๆ เพื่อให้ทุกระยะของการเจริญเติบโตหรือการแบ่งเซลล์ได้รับรังสี ดังนั้นจึงต้องให้ได้รับรังสีอยู่เป็นเวลานาน เช่น หลายสัปดาห์หลายเดือนหรือเป็นปีส่วนของพืชที่เหมาะจะนามาฉายรังสีแบบนี้ ก็คือพืชทั้งต้นที่กำลังเจริญเติบโตหรือพืชและส่วนของพืชที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยง (in vitro culture) การได้รับรังสีแบบนี้จะเสียหายน้อยกว่าการได้รับแบบเฉียบพลันในกรณีที่ได้รับรังสีเป็นปริมาณที่เท่ากันผลที่เกิดกับพืชที่ได้รับรังสีวิธีนี้จะมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ที่ตา (bud mutation) เพราะรังสีมักไปทำลายยอดเดิมทำให้ตาค่อนข้างมีโอกาสเจริญออกมาการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นมักเกิดการกลายในยีนมากกว่าการกลายในโครโมโซมทำให้มีความเสียหายทางสรีรวิทยาไม่รุนแรงนักข้อดีของการฉายรังสีแบบนี้อีกประการหนึ่ง คือถ้าพืชอยู่ในกระถางสามารถเอาเข้ารับรังสีในระยะใดของการเจริญเติบโตก็ได้แต่ข้อเสียของการฉายรังสีแบบนี้ก็ คือ ส่วนกลายที่ได้จะมีขนาดเล็ก ดังนั้น จึงเป็นการยากที่จะค้นหาและแยกส่วนที่กลายออกมา.

3. รังสีนิวตรอน (neutron) นิวตรอนเป็นอนุภาคที่ไม่มีประจุไฟฟ้าจึงสามารถผ่านเข้าไปในตัวกลาง คือ เซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ดีเป็นรังสีที่เกิดจากเครื่องปฏิกรณ์นิวเคลียร์ (nuclear reactor) หรือเครื่องกำเนิดนิวตรอน (neutron generator) สามารถจำแนกประเภทอนุภาคนิวตรอนตามระดับพลังงานได้ 4 ประเภท คือ นิวตรอนช้า (slow neutron) มีพลังงานต่ำในช่วง eV นิวตรอน,

พลังงานปานกลาง (intermediate neutron) มีพลังงานในช่วง 10 eV-10 keV นิวตรอนเร็ว (fast neutron) มีพลังงานในช่วง 10 keV-10 MeV และนิวตรอนสัมพันธภาพ (relativistic neutron) มีพลังงานสูงมากกว่า 10 MeV ขึ้นไปถ้าเปรียบเทียบในปริมาณรังสีที่เท่ากันรังสีนิวตรอนมีความรุนแรงมากกว่ารังสีเอกซ์และรังสีแกมมา โดยเกิดอันตรายมากกว่ารังสีเอกซ์ หรือรังสีแกมมาถึง 10 เท่า การฉายรังสีนิวตรอนมีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากหลังจากฉายรังสีแล้วตัวอย่างที่ฉายรังสีจะต้องเก็บไว้ในที่กำบังรังสีระยะหนึ่งก่อน จึงจะนำมาทำการศึกษาต่อไปได้ เนื่องจากรังสีนี้มีพลังงานสูงมากจนทำให้สารบางตัวในตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสารรังสี จึงไม่ได้รับความนิยมเหมือนกับรังสีเอกซ์หรือรังสีแกมมา.

4. ไอออนบีม (ion beam) เป็นลำอนุภาคที่มีประจุ ได้แก่ อิเล็กตรอนหรือไอออนอื่นๆ เช่น คาร์บอนไอออน (^{12}C ion), นีออนไอออน (^{20}Ne ion) และไนโตรเจนไอออน (^{14}N ion) มีการเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกันและมุ่งเข้าสู่เป้าหมายเดียวกันไอออนบีม เริ่มเข้ามามีบทบาทในการปรับปรุงพันธุ์พืชในช่วงกลางทศวรรษที่ 20 เป็นสิ่งก่อกลายพันธุ์ชนิดใหม่ที่นำมาใช้ บางครั้งมีการเรียกการปรับปรุงพันธุ์ที่ใช้ไอออนบีมเป็นสิ่งก่อกลายพันธุ์ว่า “ion beam breeding”.

ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสี

รังสีที่นิยมใช้ในการเหนี่ยวนำให้พืชกลายพันธุ์มากที่สุด คือ รังสีแกมมา เพราะมีสมบัติในการเหนี่ยวนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์และสามารถปรับวิธีการฉายรังสีและหาเครื่องมือฉายรังสีให้เหมาะสมกับงานได้ก่อนที่จะใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ควรต้องพิจารณาเสียก่อนว่าการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยวิธีมาตรฐานหรือโดยวิธีการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์วิธีไหนจะบรรลุวัตถุประสงค์ได้รวดเร็วกว่ากันรวมทั้งประหยัดทุนทรัพย์และแรงงาน หรืออาจใช้ทั้ง 2 วิธีการ ร่วมกันขั้นตอนในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้รังสีมีขั้นตอน ดังต่อไปนี้

1. ตั้งวัตถุประสงค์ควรต้องมีเป้าหมายหลักของการปรับปรุงพันธุ์พืชชนิดนั้นๆ โดยต้องพิจารณาว่าพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์นั้นขาดลักษณะใดบ้าง หากมีลักษณะที่ต้องปรับปรุงหลายลักษณะต้องจัดลำดับความสำคัญจากมากไปหาน้อย แต่ไม่ควรมีวัตถุประสงค์มากเกินไปเพราะจะทำให้มีความยุ่งยากในการดำเนินงานขั้นตอนต่อไป.

2. พิจารณาเลือกพันธุ์เริ่มต้นโดยคำนึงถึงพื้นฐานทางพันธุกรรม (genetic base) ของพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ควรหาข้อมูลว่าลักษณะที่ต้องการปรับปรุงนั้นควบคุมด้วยยีนแบบใดมีพันธุ์หรือสายพันธุ์ที่มียีนแบบเฮเทอโรไซกัสที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการปรับปรุงหรือไม่ถ้ามีก็จะเป็นการดีที่จะนาเอาพันธุ์หรือสายพันธุ์นั้นๆ มาเป็นพันธุ์เริ่มต้น เนื่องจากการกลายที่เกิดกับเฮเทอโรไซกัสจะ

คัดเลือกได้ง่ายกว่าโฮโมไซกัสพืชที่มีอัตราการกลายตามธรรมชาติสูงเมื่อนำมาปรับปรุงพันธุ์ โดยวิธีการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ก็มีโอกาสประสบความสำเร็จได้สูง เช่น พืชตระกูลเบญจมาศ (*Chrysanthemum* sp.).

3. ส่วนของพืชที่นำมาฉายรังสีการฉายรังสีกับพืช เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดการกลายสามารถฉายกับส่วนใดของพืชก็ได้ที่สามารถนำไปปลูกขยายพันธุ์สาหรับติดตามผลได้ เช่น เมล็ด (dormant seed), พืชทั้งต้น (whole plant), ละอองเรณู (pollen grain), แกมีโทไฟต์ (gametophyte), ไซโกต (zygote), ส่วนอื่นๆ ของพืชที่ขยายพันธุ์จากเนื้อเยื่อร่างกาย (vegetative organ) เช่น กิ่ง (stem cutting), ใบ (leaf), หัว (tuber, corm, bulb), ไหล (stolon), ราก (root) รวมทั้งเซลล์และเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง (cultured cells and tissues) ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของงาน, ตัวอย่างพืช, ชนิดของแหล่งรังสีและข้อดีข้อเสียของการใช้ตัวอย่างแต่ละประเภท พืชหลายชนิดขยายพันธุ์ได้ทั้งสองวิธี คือ เมล็ดและเนื้อเยื่อต้นพืชก็จะได้เปรียบกว่าพืชที่ขยายพันธุ์โดยวิธีการใดวิธีการหนึ่งเพียงอย่างเดียว.

4. จำนวนส่วนของพืชที่นำมาฉายรังสีการกลายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเหนี่ยวนำจะเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นแบบไม่จำเพาะเจาะจงหรือแบบสุ่ม (random process) โดยขึ้นอยู่กับโอกาสและปัจจัยอื่นๆ อีกมากมายการนำเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งมีเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวมาฉายรังสีเป็นจำนวนมากย่อมมีโอกาสได้เซลล์กลายจำนวนมากการนำชิ้นส่วนของสิ่งมีชีวิตมาฉายรังสีควรให้มีจำนวนมากพอสมควร แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นก็ต้องคำนึงถึงพื้นที่ปลูก, แรงงาน ตลอดจนค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติดูแลรักษาด้วย.

5. ชนิดของรังสีที่นำมาใช้เป็นสิ่งก่อการกลายในพืชควรเป็นรังสีก่อไอออนที่มีความสามารถในการทะลุทะลวงสูงเพราะสามารถผ่านเข้าไปในสิ่งมีชีวิตได้ดีที่นิยมใช้ คือ รังสีเอกซ์และรังสีแกมมาดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้นสาหรับรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งเป็นรังสีไม่ก่อไอออนอาจเป็นข้อยกเว้นเพราะมีผู้นำมาใช้เป็นสิ่งก่อการกลายในพืชได้บ้าง เช่น ใช้กับละอองเรณูหรือเซลล์เดี่ยวในสภาพเพาะเลี้ยง.

6. วิธีการฉายรังสีการฉายรังสีกับตัวอย่างพืชทำได้ 2 วิธีการ คือ การฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) คือ ให้รังสีโดยใช้อัตรารังสี และปริมาณรังสีสูงๆ และสิ้นสุดการฉายรังสีในระยะเวลาสั้นๆ เช่น เป็นนาที หรือชั่วโมงการฉายรังสีแบบโครนิก (chronic irradiation) คือ การให้รังสีโดยใช้อัตรารังสีและปริมาณรังสีต่ำๆ แต่ใช้เวลาในการฉายรังสีเป็นระยะเวลานานๆ เช่น เป็นสัปดาห์, เดือน, ปี หรือหลายปี.

7. ปริมาณและอัตรารังสี

7.1 ปริมาณรังสีจะใช้ปริมาณ (dose) รังสีเท่าใดขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิตและวิธีฉายรังสี พืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสีแตกต่างกันออกไปลักษณะต้านทานต่อรังสี (radioresistance) หรือไวต่อรังสีส่วนหนึ่งควบคุมด้วยยีนสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้สำหรับปริมาณรังสีที่เหมาะสมของพืชแต่ละชนิดนักวิจัยอาจค้นคว้าจากผลงานวิจัยที่ผู้อื่นทำไว้หรือที่แนะนำโดยทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ (IAEA 1977).

7.2 อัตรารังสี (dose rate) ที่ปริมาณรังสีใดๆ จะมีผลต่อพืชทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ ดังนั้น การเลือกใช้อัตรารังสีควรต้องพิจารณาให้ดีและในการทดลองทุกครั้งนอกจากจะบันทึกเรื่องปริมาณรังสีแล้วควรบันทึกอัตรารังสีด้วยโดยอัตราการกลายจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตรารังสีสูงรวมทั้งการให้รังสีแบบต่อเนื่อง (non-fractionated exposure) แต่อัตราการกลายจะลดลงถ้าอัตรารังสีต่ำหรือแบ่งให้ได้รับเป็นช่วงๆ (fractionated exposure).

สำหรับการปรับปรุงพันธุ์เห็ด เพื่อให้ได้เห็ดที่ให้ผลผลิตสูง และมีลักษณะตรงตามความต้องการของผู้บริโภค เริ่มต้นโดยใช้พันธุ์ดีนั้นเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งเพราะการใช้พันธุ์ดีย่อมได้รับผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพสูง ได้รับผลตอบแทนที่แน่นอนการเพาะเห็ดในประเทศไทย สายพันธุ์เห็ดใหม่ๆ ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่นำมาจากต่างประเทศ เช่น เห็ดหูหนูพันธุ์ต่างๆ และเห็ดนางฟ้า เป็นต้น. สายพันธุ์เห็ดเหล่านี้อาจไม่เหมาะสมกับสภาพดินฟ้าอากาศเท่ากับพันธุ์ที่มีกำเนิดในประเทศไทยเอง, ดังนั้น จึงควรพยายามปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่มีอยู่เพื่อจะได้ผลประโยชน์อย่างเต็มที่และยังเป็นการพึ่งพาตนเองอีกส่วนหนึ่งด้วยเห็ดพันธุ์ดีจะต้องประกอบด้วยคุณลักษณะดังต่อไปนี้

1. ผลผลิตสูงในที่นี้ หมายถึง สามารถให้ดอกคิดเป็นน้ำหนักมากกว่าเห็ดพันธุ์อื่นๆ เมื่อใช้วัสดุเพาะที่เหมือนกันเป็นจำนวนเท่าๆ กัน.

2. ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดีการที่เชื้อเห็ดโตเร็วจะสามารถทำให้แข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ดีและการปรับตัวได้ดีนั้นจะทำให้สามารถเจริญเติบโตและออกดอกได้ถึงแม้ว่าสภาพอากาศจะเปลี่ยนแปลงไปขณะที่กำลังเพาะอยู่ ซึ่งสำคัญมากสำหรับการเพาะเห็ดกลางแจ้ง.

3. ออกดอกเร็วและออกดอกเป็นรุ่นๆ พร้อมกันการออกดอกเร็วทำให้ลดเวลาในการดูแลและลดดอกเบี้ยจากการกู้ยืมมาลงทุนการออกดอกพร้อมๆ กันจะช่วยให้ประหยัดแรงงานในการเก็บ.

4. มีขนาดและสีตรงกับความต้องการของตลาดลักษณะนี้ เป็นลักษณะเฉพาะจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเห็ด เช่น เห็ดฟางมีดอกขนาดประมาณ 4 เซนติเมตร สีนวลหรือขาวเนื้อในหนาและแน่น, เห็ดหูหนูมีขนาดประมาณ 4-6 เซนติเมตร สีน้ำตาลเข้มเนื้อบางขนสั้นหรือไม่มีขน เป็นต้น เห็ด ซึ่งมีลักษณะตรงกับความต้องการของตลาดจะขายได้ง่ายและได้ราคาดี.

ถึงแม้ว่าเห็ดเป็นพืชชั้นต่ำแต่ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ก็คล้ายคลึงกับการปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์ชั้นสูงอื่นๆ กล่าวว่า คือ ยึดการผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์เป็นหลักแต่การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนั้นต้องคำนึงถึงธรรมชาติในการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ (nature of sexual reproduction) ของเห็ดที่จะปรับปรุงพันธุ์ด้วยธรรมชาติที่ว่านี้ที่สำคัญที่สุดก็ คือ มีการผสมพันธุ์แบบผสมข้าม (Heterothallic)หรือไม่ต้องผสมข้าม (Homothallic).

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดโดยการผสมพันธุ์นั้นเป็นการนำเอาลักษณะที่ต้องการจากสองสายพันธุ์ขึ้นไปที่มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันเอามารวมอยู่ด้วยกันรวมไปถึงการสร้างและการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการให้เกิดลูกผสมที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ให้คุณภาพและผลผลิตของเห็ดสูงการปรับปรุงพันธุ์จะประสบความสำเร็จได้ต้องมีความรู้ด้านชีววิทยาพื้นฐานและระบบการปรับปรุงพันธุ์เห็ดแต่ละชนิดที่ต้องการพัฒนาให้ดีขึ้น (Miles 1993).

เทวสิงห์ (2540) ได้รายงานว่า การปรับปรุงพันธุ์เห็ดโดยผสมพันธุกรรมที่แตกต่างกัน หรือที่สามารถรวมกันได้ เห็ดที่นำมาใช้ควรเป็นเห็ดที่การปรับตัวได้ดีในธรรมชาติ และมีฐานพันธุกรรมกว้างเพื่อจะได้มีลักษณะที่ให้เลือกได้มากพอสำหรับงานวิจัย.

ในอดีตการปรับปรุงพันธุ์เห็ด ได้จากการคัดเลือกสายพันธุ์ดีหรือได้จากการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ แต่ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์ โดยใช้เทคนิคการนำพันธุกรรมมารวมกัน โดยอาศัยความรู้ด้านการควบคุมวงจรชีวิตและรูปแบบของการแสดงเพศของเชื้อรา (Chang 1982) ในการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์นั้นปัจจัยสำคัญที่ควรทราบ คือ incompatibility factor ซึ่งเป็นเครื่องบ่งชี้ว่าเห็ดทั้ง 2 สายพันธุ์ หรือแต่ละ Isolate ในสายพันธุ์เดียวกันนั้นสามารถผสมกันและมีวงชีพที่ครบสมบูรณ์หรือไม่ (ตรีรัตน์ และชิโนรักษ์ 2529).

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่ไม่ต้องผสมข้ามหรือแบบต่างเพศร่วมทัลลัส (Homothallic) สปอร์เดียวสามารถเจริญถึงขั้นออกดอกและผลิตสปอร์ใหม่ได้ครบวงจรชีวิต จากผลการทดลองของกองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร ปรากฏว่าเมื่อนำสปอร์เดี่ยวของเห็ดฟาง ซึ่งแยกออกมาจากดอกเดี่ยวกันมาเลี้ยงจนเป็นเส้นใยสปอร์เหล่านี้จะให้เส้นใย ซึ่งมีความแตกต่างกันมากมาย ซึ่งความแตกต่างนั้นมีทั้งทางด้านอัตราการเจริญเติบโต, สี, ความหนาแน่นของเส้นใยและความสามารถในการสร้างสปอร์ผนังหนา (chlamydospore) การปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่ไม่ต้องผสมข้ามนั้น จำเป็นต้องอาศัยประโยชน์จากความแปรปรวนของสปอร์เดี่ยวให้ได้มากที่สุด, ดังนั้น การแยกสปอร์เดี่ยวจึงเป็นเทคนิค

ที่นักปรับปรุงพันธุ์เห็ดทุกคนจะต้องทราบเป็นอย่างดีและสามารถปฏิบัติได้อย่างชำนาญ ซึ่งมีขั้นตอนดำเนินการ ดังนี้

1. การเพาะเลี้ยงสปอร์เดี่ยว

ในขั้นนี้ผู้ปรับปรุงพันธุ์ควรแยกสปอร์เดี่ยวจากดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์ที่จะปรับปรุงอย่างน้อยสายพันธุ์ละ 5 ดอก และควรแยกสปอร์เดี่ยวเป็นจำนวนไม่ต่ำกว่า 50 สปอร์ จากแต่ละดอก โดยเลือกแยกสปอร์ที่กำลังงอกเพื่อนำมาใช้เป็นฐานพันธุกรรม (genetic base) ในการปรับปรุงพันธุ์ขั้นต่อไป.

2. การคัดเส้นใยในระยะที่ 1 และ 2

เมื่อได้สปอร์เดี่ยวที่กำลังงอกมาแล้ว ให้แยกใส่หลอดทดลองหลอดละ 1 สปอร์ บ่มเชื้อเพื่อให้เส้นใยเจริญเติบโตเต็มที่แล้วคัดเอาพวกที่มีลักษณะดีไว้ ลักษณะดีที่ว่านี้ คือ ลักษณะที่มีสหสัมพันธ์กับลักษณะดีในแปลงเพาะตัวอย่าง เช่น เชื้อเห็ดที่มีเส้นใยหนาแน่นบนอาหารวุ้นเมื่อนำไปเพาะจะให้ดอกที่มีเนื้อแน่นน้ำหนักดี, ดังนั้น ถ้าผู้ปรับปรุงพันธุ์ต้องการเชื้อเห็ดที่จะให้ดอกที่มีลักษณะเช่นนี้ ควรที่จะคัดหาเชื้อเห็ดที่มีเส้นใยหนาแน่นพิเศษเป็นต้น การคัดเลือกในขั้นนี้ถ้ามีลักษณะที่ดีดังกล่าวข้างต้นเป็นเครื่องชี้นำจะช่วยลดปริมาณงานในระยะต่อๆ ไปได้มาก ทั้งนี้ เพราะผู้ปรับปรุงพันธุ์จะสามารถคัดพวกที่ไม่มีคุณสมบัติตามต้องการทิ้งในขั้นนี้ได้.

3. การคัดในแปลงเพาะ

ขั้นนี้เป็นขั้นที่มีความสำคัญที่สุดเพราะเป็นการเปรียบเทียบทุกสายพันธุ์ในสภาพการเพาะที่แท้จริงจึงจำเป็นที่ผู้ปรับปรุงพันธุ์จะต้องวางแผนการเปรียบเทียบสายพันธุ์ โดยถูกต้องตามหลักสถิติเพื่อที่จะวิเคราะห์ตัวเลขได้ เพื่อต้องการวัดผลความแตกต่างที่แน่นอนและยังเปรียบเทียบซ้ำได้อีกด้วย ในการคัดสายพันธุ์ขั้นนี้ควรมีสายพันธุ์ที่กำลังได้รับความนิยมอยู่สัก 2-3 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ดั้งเดิมก่อนปรับปรุงเป็นตัวเปรียบเทียบอยู่ด้วย เพื่อที่จะได้ทราบว่าสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกรอบแรกแล้วนี้ดีกว่าสายพันธุ์เดิมก่อนการคัดเลือกมากน้อยเพียงใดและถ้าเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดีอื่นๆ แล้วเป็นอย่างไรบ้างอุปสรรคที่สำคัญของการคัดพันธุ์ในขั้นนี้ คือ การจัดหาอุปกรณ์และสถานที่ที่เหมาะสม ตัวอย่างเช่น ถ้าผู้ปรับปรุงพันธุ์ต้องการเปรียบเทียบผลผลิตเห็ดฟาง 100 สายพันธุ์ โดยเฉพาะแบบกองเตี้ย เพื่อให้มีความแน่นอนทางสถิติควรจะเพาะสายพันธุ์ละไม่น้อยกว่า 4 กอง รวมแล้วจะต้องเพาะอย่างน้อย 400 กอง เป็นเนื้อที่ประมาณ 200 ตารางเมตร. ทั้งนี้ยังไม่รวมถึงเนื้อที่ระหว่างกองอีกประมาณ 200 ตารางเมตร รวมเนื้อที่ทั้งหมด 400 ตารางเมตร เนื้อที่ 400 ตารางเมตร ที่กล่าวนี้จะต้องปลอดจากการรบกวนจากภัยต่างๆ เช่น ฝน, ลม, นก, หนูและแมลง ถ้าผู้ปรับปรุงพันธุ์จัดหาสถานที่เช่นนี้ ไม่ได้จะต้องคิดค้นวิธีที่จะเพาะเห็ดฟางในภาชนะขนาดเล็กหรือในกองที่มีขนาดเล็กลง โดยที่ผลผลิตที่สหสัมพันธ์กันกับกองขนาดมาตรฐาน หรือมิฉะนั้นก็แบ่งคัดสาย

พันธุ์ที่จะเปรียบเทียบออกเป็นหลายครั้งตามแต่สถานที่จะอำนวย แต่วิธีการหลังนี้จะทำให้เสียเวลาเพิ่มขึ้นอีกมากและเสี่ยงต่อการที่สภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งทำให้เปรียบเทียบผลการเพาะลำบากอีกด้วย การคัดเลือกในขั้นนี้นับเป็นขั้นสุดท้ายของการปรับปรุงพันธุ์ในรอบแรก ส่วนใหญ่แล้วในรอบแรกนี้ยังไม่ได้สายพันธุ์ที่ดีเด่นถึงนำมาใช้ได้จำเป็น จึงต้องคัดต่อไปอีกสัก 2-3 รอบ แต่มิใช่ว่าควรจะหยุด เมื่อได้สายพันธุ์ดีตามต้องการของผู้ปรับปรุงพันธุ์แล้ว เพราะเราสามารถที่จะปรับปรุงพันธุ์เหล่านี้ให้ดีขึ้นไปอีกเรื่อยๆ. ดังจะเห็นได้จากการปรับปรุงพันธุ์เห็ดแชมปิญอง (*Agaricusbisporus*) ซึ่งเป็นพวก Homothallic ประเภทสอง (Secondary homothallism) ซึ่งได้มีการปรับปรุงสายพันธุ์เรื่อยมานับเป็นเวลา 30-40 ปีแล้ว ปัจจุบันเห็ดแชมปิญองพันธุ์ใหม่ๆ สามารถได้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ต้นตระกูลถึง 300-400 เปอร์เซ็นต์ และยังออกดอกเก็บไว้เร็วกว่าอีก 4-5 เท่าอีกด้วย.

สำหรับการปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่ต้องผสมข้าม หรือแบบต่างเพศต่างทัลลัส (Heterothallic) ซึ่งเป็นเห็ดที่ต้องมีการผสมข้ามเห็ดชนิดนี้เส้นใยระยะที่ 1 ที่งอกออกมาจากสปอร์จะไม่สามารถพัฒนาเป็นดอกเห็ดเหมือนเส้นใยเห็ดพวก homothallic จำเป็นที่จะต้องมีการผสมกับเส้นใยระยะที่ 1 จากสปอร์อื่นที่เข้ากันได้ (compatible) เสียก่อน และกลายเป็นเส้นใยระยะที่ 2 ต่อจากนั้นเส้นใยระยะที่ 2 จึงพัฒนาต่อไปเป็นดอกเห็ดในที่สุดขั้นตอนในการปรับปรุงพันธุ์เห็ด ซึ่งต้องผสมข้ามมีดังต่อไปนี้

1. การแยกสปอร์เดี่ยว เนื่องจากการผสมและคัดเลือกพันธุ์เห็ด ซึ่งต้องผสมข้ามนี้จะต้องเริ่มจากเส้นใยระยะที่ 1 ดังนั้น จึงต้องแยกสปอร์เดี่ยวจากแต่ละสายพันธุ์ไว้ให้ได้มากที่สุด เส้นใยระยะที่ 1 ซึ่งได้จากสปอร์แต่ละสปอร์จะมีองค์ประกอบของนิวเคลียสชนิดเดียว (monokaryon).

2. การผสมเส้นใยระยะที่ 1 การผสมเส้นใยระยะที่ 1 ให้เป็นเส้นใยระยะที่ 2 นี้ ทำบนอาหารวุ้นมีวิธีผสมอยู่ 2 แบบด้วยกัน คือ

- แบบแรก ผสมเส้นใยระยะที่ 1 สองชนิดเข้าด้วยกัน (mon + mon mating) ถ้าเส้นใยของทั้งสองสปอร์เข้ากันได้จะเชื่อมกัน (anastomose) และมีการแลกเปลี่ยนนิวเคลียสกันได้เป็นเส้นใยระยะที่ 2 เส้นใยระยะที่ 2 นี้จะมีองค์ประกอบของนิวเคลียส 2 ชนิด (dikaryon).

วิธีการนี้เป็นวิธีที่มักทำให้เกิดลูกผสมที่มีลักษณะใหม่ๆ เป็นการนำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวสองชนิด หรือสปอร์เดี่ยวจากสองสายพันธุ์มาเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วปล่อยให้เส้นใยเจริญมาชนกัน ถ้าเส้นใยของคู่ผสมใดเป็นยีนที่มีอัลลีลต่างกัน ก็สามารถผสมกันได้โดยเส้นใยทั้ง 2 สายพันธุ์จะเกิดการเชื่อมต่อกันด้วยข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) บริเวณผนังกั้นเซลล์ และมีการแลกเปลี่ยนสารภายในเซลล์ จากการทดลองของคำบุญรัตน์ และภู่สว่าง (2540) พบว่า เห็ดนางรม

ฟลอริดาที่ได้จากการผสมพันธุ์แบบ mon-mon crossing ลูกผสมที่ได้ให้ผลผลิตสูง และมีความเปราะค่อนข้างมาก. ส่วนการผสมเส้นใยระยะที่ 1 อีกวิธีหนึ่งนั้น เป็นการผสมเส้นใยระยะที่ 1 โดยใช้เส้นใยระยะที่ 2 (di + mon mating) ในการผสมแบบนี้นิวเคลียสที่เส้นใยระยะที่ 1 ได้รับการผสมจากเส้นใยระยะที่ 2 คือ นิวเคลียสที่เข้ากันได้นั่นเองวิธีนี้สะดวกกว่าวิธีแรกในแง่การผสมแต่มีความยุ่งยากในการเลือกเส้นใยระยะที่ 2 ที่จะใช้ผสม.

นอกจากนี้ ยังมีวิธีการปรับปรุงพันธุ์เห็ดโดยวิธีอื่นๆ เช่น

1. การปรับปรุงพันธุ์โดยการรวมโพรโทพลาสต์ (protoplast fusion)

สิ่งที่เป็นอุปสรรคอย่างหนึ่งต่อการผลิตเห็ด คือ การที่เส้นใยจากสองสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ไม่สามารถผสมเข้ากันได้ปัจจุบันมีรายงานว่าสามารถแยก protoplast จากเซลล์พืชและจุลินทรีย์โดยใช้เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์แล้วทำให้ protoplast รวมกันในช่วงเวลาสั้นๆ protoplast จะสร้างผนังใหม่และเริ่มสร้างเซลล์ปกติ หรือสร้างเส้นใยขึ้นเซลล์เหล่านี้เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสต่างกันถ้าการรวมกันเกิดขึ้นระหว่างเซลล์ที่มาจากสายพันธุ์ที่พันธุกรรมต่างกัน จะทำให้เพิ่มความถี่ของการผสมเข้าคู่กันได้ให้มากขึ้น ซึ่งการจับคู่ลักษณะนี้ในธรรมชาติเกิดขึ้นได้ยากมาก และการใช้เทคนิคนี้สามารถใช้ได้อย่างกว้างขวางทั้งในการผสมข้ามระหว่างชนิดและระหว่างสกุล (Chang 1982) ในปี พ.ศ. 2540 มีการทำการหลอมรวมโปรโทพาสต์ระหว่างเห็ดหอมกับเห็ดนางรมได้ลูกหลอมรวม (fusion product) 60 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกตัวแทนได้ 26 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีทางอีเล็กโทรโฟรีซีสจะแสดงแถบ (band) ที่มีความสัมพันธ์ร่วมกัน คือ แถบที่พบมีลักษณะเหมือนกับคู่ร่วมระหว่างเห็ดหอมกับเห็ดนางรม แสดงให้เห็นว่ามีการถ่ายทอดพันธุกรรมไปยังลูกหลอมรวมโดยวิธีการหลอมรวมเซลล์ (cell fusion).

2. การผสมโดยใช้เชื้อกลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิด (Auxotrophs)

เป็นการนำเชื้อที่กลายพันธุ์มาสามารถสร้างเอนไซม์บางชนิดที่เกิดจากธรรมชาติ หรือเกิดจากการชักนำโดยสารก่อการกลายพันธุ์ ที่แตกต่างกัน 2 ชนิด มาผสมกัน แล้วทำการเพาะเลี้ยงบน minimal medium การใช้วิธีนี้ขึ้นอยู่กับเชื้อที่กลายพันธุ์ไปที่นำไปใช้ว่าสามารถให้เห็ดสายพันธุ์ใหม่ได้หรือไม่.

3. การใช้ Resistance Marker

เป็นการใช้สายพันธุ์กลายที่มีความต้านทานต่อ antimetabolites แทนการใช้เชื้อที่ถูกทำให้กลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิดได้ การทำให้สปอร์บางส่วนของเส้นใยเห็ดเติบโตบนอาหารที่มี antimetabolites จะทำให้ได้ marker ขึ้น นำสายพันธุ์ 2 สายพันธุ์ ซึ่งมีความ

ต้านทานต่อ antimetabolites ที่ต่างกันมาผสมกัน และลูกผสมที่เกิดขึ้นก็มีความต้านทานต่อ antimetabolites ทั้งสองชนิดด้วยเช่นกัน.

หลักในการผสมเห็ดนางรม เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและมีลักษณะตามที่ต้องการนั้นทำได้ โดยการนำเส้นใยที่งอกจากสปอร์แต่ละสปอร์มาผสมพันธุ์กัน โดยไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของเส้นใยมาจับคู่ผสมและเมื่อได้ลูกผสมแล้ว จึงนำลูกผสมไปทดสอบผลผลิตและลักษณะต่างๆ โดยการเพาะเลี้ยงตามปกติ. แต่ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคนิคทางด้านอิเล็กโทรโฟรีซีสเข้ามาทำการศึกษา เพื่อแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืช, ดังนั้น การนำเอาวิธีการนี้มาทดลองใช้แยกความแตกต่างของเส้นใยที่เจริญมาจากสปอร์ก่อน ซึ่งคัดเลือกไว้เป็นพ่อแม่แล้วนำมาทำลูกผสม โดยการเปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยก็จะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์กันได้ซึ่งเส้นใยเห็ดสามารถนำมาศึกษาแถบไอโซไซม์แต่ละชนิดได้ (Zervakis *et al*. 1994).

การปรับปรุงพันธุ์เห็ด เพื่อให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจากเดิมทำให้สามารถผลิตเห็ดนอกฤดูกาลได้และสามารถจำหน่ายได้ในราคาที่สูงกว่าเห็ดในฤดูกาล โดย Eger (1978) ได้ทำการปรับปรุงสายพันธุ์ *Pleurotusostreatus* ซึ่งเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่างกันในการศึกษาใช้เห็ดที่มีถิ่นกำเนิดต่างกัน คือ จากประเทศเยอรมนีและประเทศสหรัฐอเมริกาทำการทดลองโดยให้สายพันธุ์ที่มาจากประเทศเยอรมนีเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำและสายพันธุ์ที่มาจากประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง เมื่อนำทั้งสองสายพันธุ์มาผสมกันพบว่า ในช่วงที่มีการสร้าง primordial จะไม่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงแต่ในช่วงการพัฒนาดอกเห็ดจะมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงที่ให้และการตอบสนองต่ออุณหภูมินั้น จะสังเกตได้จากหมวกดอก (pileus) ที่จะแผ่ขยายออกมีการผลิต basidiospore อย่างต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส จึงสรุปว่า *Pleurotusostreatus* มียีนหลายตัวในการควบคุมลักษณะต่างๆ เช่นเดียวกับในเห็ด *C. macrorhizus* ซึ่งน่าจะมียีนอย่างน้อยที่สุดสองตัวที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิและจะแสดงผล เมื่อให้อุณหภูมิสูงควบคู่ไปกับการให้แสงสว่างในประเทศไทยได้มีการทำการปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดมาอย่างต่อเนื่อง เช่น คำบุญรัตน์ และภู่สว่าง (2540) ทำการผสมพันธุ์แบบ mono-mono crossing ระหว่างเห็ดนางรมชนิดฟลอลิดากับเห็ดลูกผสม KDCM4 คัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ 12 สายพันธุ์ และนำมาเปรียบเทียบผลผลิตสองฤดู คือ ฤดูฝน และฤดูหนาว พบว่า ในฤดูหนาวจะมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูงกว่าในฤดูฝน นำภานนท์ และภู่สว่าง (2544) ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอมให้สามารถทนร้อนโดยทำการผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยวของสายพันธุ์ L1 เป็นสายพันธุ์ที่ออกดอก

เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำกับสายพันธุ์ L2 เป็นสายพันธุ์ที่ทนร้อนสามารถออกดอกได้ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นกว่าปกติพบว่า มีลูกผสมที่สามารถออกดอกได้อยู่ 7 สายเชื้อ และจากการทดลองของพรเจริญโรจน์และภู่สว่าง (2543) ทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟาง เพื่อหาสายพันธุ์ให้มีผลผลิตสูงขึ้นและสม่ำเสมอสามารถเพาะได้ตลอดทั้งปี พบว่า มีลูกผสมเพียงสายพันธุ์เดียวที่ให้ผลผลิตสูง คือ H13 และพบว่าให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ V1 และ V2 แต่ไม่แตกต่างกับพันธุ์การค้า.

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์เห็ด

โครงการปรับปรุงพันธุ์เห็ดแต่ละโครงการจะก้าวหน้าไปรวดเร็วหรือเชื่องช้าเพียงใดนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลัก 2 ประการ คือ ปัจจัยด้านเห็ดที่จะปรับปรุงพันธุ์ใหม่และปัจจัยด้านผู้ทำการปรับปรุงพันธุ์เองปัจจัยทั้งสองนี้มีความสำคัญเท่าเทียมกัน.

ปัจจัยด้านเห็ด ปัจจัยด้านเห็ดที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการปรับปรุงพันธ์ ได้แก่

1. อัตราการเจริญเติบโต.
2. ความยากง่ายในการผสมหรือคัดพันธุ์.
3. จำนวนสายพันธุ์ที่มีอยู่.
4. ลักษณะที่แตกต่างกันของสายพันธุ์เหล่านี้ถ้ามีสายพันธุ์เป็นจำนวนมากและมีความแตกต่างกันมากก็จะทำให้สะดวกในการผสมให้ได้สายพันธุ์ใหม่ตามต้องการ.
5. ความยากง่ายในการเพาะและเวลาที่ใช้ในการเพาะแต่ละช่วง.

นักปรับปรุงพันธุ์แต่ละคนมีความคิดเห็น, ความชอบและการตัดสินใจแตกต่างกันไปสิ่งเหล่านี้มีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อการวางแผนและจัดทำโครงการตลอดจนการเก็บข้อมูลและความละเอียดถี่ถ้วนในการติดตามและวัดผล ซึ่งเป็นหัวใจของความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ทุกโครงการการปรับปรุงพันธุ์เห็ดนั้นไม่ได้เป็นสิ่งที่ยากเกินความพยายามจนเกินไปเพียงแต่จะต้องศึกษาเทคนิคๆ บางประการเช่นวิธีการแยกสปอร์เดี่ยวและเข้าใจวงจรชีวิตของเห็ดที่ต้องการจะปรับปรุงพันธุ์ ผู้สนใจสามารถดำเนินการได้พันธุ์ใหม่ที่เกิดขึ้นนี้จะมีคุณประโยชน์อย่างมหาศาลต่อผู้ปรับปรุงพันธุ์เองและต่อวงการเห็ดส่วนรวมจึงควรอย่างยิ่งที่จะช่วยกันส่งเสริมให้มีการปรับปรุงพันธุ์เห็ดขึ้นอย่างกว้างขวางทั้งในภาครัฐบาลและเอกชน.

การปรับปรุงพันธุ์ไม่เพียงแต่จะต้องให้ความสำคัญในด้านผลผลิตเท่านั้น แต่ต้องปรับปรุงในด้านของคุณภาพด้วยเช่นกัน เช่น ความหนาบางของดอก, รสชาติ และกลิ่น เป็นต้น. ในปี พ.ศ. 2529 กรมวิชาการเกษตร ได้คัดเลือกเห็ดฟาง และส่งเสริมให้เกษตรกรนำไปทดลองเพาะในช่วงฤดูฝนโดยได้

ตั้งชื่อว่าเห็ดฟางหมายเลข 1 ในปีเดียวกันนี้ กรมวิชาการเกษตรก็ได้ค้นพบเห็ดฟางอีกสายพันธุ์หนึ่ง (สายพันธุ์หมายเลข 2) ซึ่งสามารถเติบโตให้ผลผลิตสูงสม่ำเสมอในสภาพการเพาะการดูแลรักษาที่แตกต่างกันในแต่ละท้องที่ และยังสามารถเพาะได้ดีทุกฤดูกาลโดยให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงไม่ต่ำกว่า 1 กิโลกรัม ต่อกองเตี้ยมาตรฐานยกเว้นในฤดูฝนที่ผลผลิตจะลดลงมาบ้าง แต่บรรดาผู้เพาะเห็ดก็พอใจ อีกทั้งคุณภาพของดอกเห็ดก็ตรงตามความต้องการของตลาดเห็ดสด.

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย คือ เห็ดลูกผสมของเห็ดโคนญี่ปุ่นที่สามารถเพาะในเขตพื้นที่ราบ ได้วิธีวิจัยการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์เห็ด เพื่อให้ได้เห็ดชนิดใหม่ สามารถนำสายพันธุ์เห็ดชนิดใหม่ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ไปจดทะเบียนรับรองพันธุ์ได้ รวมถึงสามารถนำงานวิจัยไปเผยแพร่ เช่น ตีพิมพ์ในเอกสารวิชาการต่างๆ.

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุ

1. เมล็ดข้าวฟ่าง.
2. วัสดุเพาะ เช่น ขี้เลื่อย.
3. ถุงพลาสติก, คอขวด และฝาจุก.
4. เข็มเขี่ยเชื้อ และแท่งเหล็ก.
5. ขวดเมล็ดข้าวฟ่าง
6. แป้นรองเห็ด และเชือก.

2.2 อุปกรณ์

1. ตู้บ่มเชื้อ (incubator).
2. Cork borer.
3. หม้อสำหรับทำการต้ม.
4. ขวดแก้ว.
5. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave).
6. เครื่องผสม.
7. หม้อนึ่งความดัน.
8. ตู้อบ Hot air oven.
9. เครื่องบด.
10. มีด และไม้บรรทัด.
11. เครื่องย่อยตัวอย่าง (2020 Digestion system and Scrubber).
12. เครื่องกลั่น Kjeltec System 2200 Distillating Unit.
13. บิวเรตต์ (Burette) และขาตั้ง (Stands).
14. ปิเปตต์ (Pipette) หรือกระบอกตวง (Cylinder).
15. Microplate.
16. เครื่อง Microtiter plate reader.
17. หลอดแก้ว Digestion tube ขนาด 250 มิลลิลิตร.
18. ขวดแก้วรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร หรือ 500 มิลลิลิตร.

19. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask).

20. กรวยกรอง.

21. เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer(AAS) (Model 100 Analyzer, Perkin Elmer/Germany).

22. เครื่อง Spectrophotometer.

23. อุปกรณ์เครื่องแก้วและวัสดุที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโรคพืช.

24. เครื่องนับจำนวนสปอร์และกล้องจุลทรรศน์.

25. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) (Model HARRIER 15/80 Bench Top Refrigerated Centrifuge, Sanyo, Japan).

26. เครื่องดูดสารละลายอัตโนมัติ.

27. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermal cycler).

28. เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซีสแบบเจล (Gel Electrophoresis, Model Mini/Protean 3 cell, Bio/Rad, USA).

29. UV transilluminaor.

30. กล้องโพลาลอยสำหรับบันทึกภาพ.

31. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius/BP2100S/USA).

32. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius/BP221S/USA).

33. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (Model WB/22, Memert/German).

34. Extraction Timble (Whatman/England).

35. โถดูดความชื้น (Dessicator).

36. ตู้ดูดควัน (Hood).

37. เตาย่อยชนิดพิเศษที่มีลักษณะเป็นแท่งโลหะสี่เหลี่ยมมีช่องบรรจุหลอด (Digestion block หรือ heat block) หรือเตานำความร้อน (Hot plate).

38. เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) (Model SevenEasy, Mettler Toledo/Switzerland).

2.3 สารเคมีเกรดวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต/เกรด/ประเทศ
1. น้ำกลั่น	
2. เอทานอล (99.8 เปอร์เซ็นต์ (v/v))	Merk/Germany
3. Ethylenedinitrilotetraacetic acid disodium salt dehydrate (EDTA)	Merk/Germany
4. กรดแอซีติก (Acetic acid)	Fluka/Analytical/Germany
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	Merk/Analytical/Germany
6. สารเร่งปฏิกิริยาเคมี (Catalyst)	AjexFinechem/Analytical/Australia
7. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4)	LabScan Asia/Analytical/Thailand
8. กรดเกลือ (HCl)	Merk/Analytical/Germany
9. ฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์	Sigma/Analytical/Germany
10. กรดไนทริกเข้มข้น (conc HNO_3)	Sigma/Analytical/Germany
11. กรดเพอร์คลอริกเข้มข้น (conc $HClO_4$)	LabScan Asia/Analytical/Thailand
12. โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	AjexFinechem/Analytical/Australia
13. โพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$)	AjexFinechem/Analytical/Australia
14. Molybdovanadate reagent	Merk/Analytical/Germany
15. กลูโคส (D-Glucose)	AjexFinechem/Analytical/Australia
16. กรดบอริก (H_3BO_3)	AjexFinechem/Analytical/Australia
17. เมทิลเรด ($C_{15}H_{15}N_3O_2$)	Merk/Analytical/Germany
18. โบรโมคลีซอลกรีน ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$)	Merk/Analytical/Germany
19. สารละลายมาตรฐาน P, Ca, K, Na, Cu, Zn, Mn, Mg และ Fe	Merk/Analytical/Germany
20. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose agar (PDA)	Merk/Analytical/Germany
21. สารเคมีที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ	
22. สารเคมีสำหรับการทำ electrophoresis	Theera trading Analytical/Thailand

2.4 วิธีการ

2.4.1 คัดเลือกและรวบรวมสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ใช้ทดสอบ

รวบรวมสายพันธุ์การค้า และจากสภาพธรรมชาติ, ศึกษาข้อมูลพื้นฐาน, บันทึกภาพและเก็บข้อมูลทางกายภาพของเห็ด และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใย.

การคัดแยกสปอร์เดี่ยว เป็นการคัดเลือกเส้นใยที่เป็นหมันออกไป โดยทำ single spore isolation และการรักษาเชื้อที่ได้แบ่งกลุ่มของเชื้อที่ได้ในขั้นนี้ผู้ปรับปรุงพันธุ์ควรแยกสปอร์เดี่ยวจากดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์ที่จะปรับปรุงอย่างน้อยสายพันธุ์ละ 5 ดอก และควรแยกสปอร์เดี่ยวเป็นจำนวนไม่ต่ำกว่า 50 สปอร์ จากแต่ละดอก โดยเลือกแยกสปอร์ที่กำลังงอกเพื่อนำมาใช้เป็นฐานพันธุกรรม (genetic base) ในการปรับปรุงพันธุ์ขั้นต่อไปเมื่อได้สปอร์เดี่ยวที่กำลังงอกมาแล้วให้แยกใส่หลอดทดลองหลอดละ 1 สปอร์ บ่มเชื้อเพื่อให้เส้นใยเจริญเติบโตเต็มที่แล้วคัดเอาพวกที่มีลักษณะดีไว้ลักษณะดีที่ว่านี้ คือ ลักษณะที่มีสหสัมพันธ์กับลักษณะดีในแปลงเพาะตัวอย่างเช่นเชื้อเห็ดที่มีเส้นใยหนาแน่นบนอาหารวุ้นควรที่จะคัดหาเชื้อเห็ดที่มีเส้นใยหนาแน่นพิเศษ. หลังจากนั้น นำมาศึกษาอัตราการเจริญของโคโลนีต่อวัน นำไปศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา และเก็บรักษาเชื้อเพื่อนำไปตรวจสอบสายพันธุ์.

ในขั้นตอนสุดท้ายเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ขั้นตอนนี้ควรมีสายพันธุ์ที่กำลังได้รับความนิยมอยู่สัก 2-3 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ดั้งเดิมก่อนปรับปรุงเป็นตัวเปรียบเทียบอยู่ด้วยเพื่อที่จะได้ทราบว่าสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกรอบแรกแล้วนี้ดีกว่าสายพันธุ์เดิมก่อนการคัดเลือกมากน้อยเพียงใดและถ้าเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดีอื่นๆ แล้วเป็นอย่างไรบ้าง.

2.4.2 การศึกษาชนิดของวัสดุเพาะและอาหารเสริมที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหัวเชื้อเห็ดโคนญี่ปุ่น

โดยใช้สายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่น จำนวน 5 สายพันธุ์ โดยวัสดุสำหรับเตรียมหัวเชื้อประกอบด้วย 9 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 2 ปรับวัสดุทำหัวเชื้อให้ได้ pH 6.5-7 เห็ดแต่ละสายพันธุ์ทำ 10 ซ้ำ โดยบรรจุวัสดุทำหัวเชื้อ ประมาณ 3 ใน 4 ของขวดแก้วปากกว้าง นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/นาที เป็นเวลา 20 นาที หลังจากวัสดุทำหัวเชื้อเย็นลงวางชิ้นวุ้นที่มี เส้นใยเห็ดขนาด 10 มิลลิเมตรบนผิวหน้าของวัสดุทำหัวเชื้อที่บรรจุอยู่ในขวด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องวัดการเจริญของเส้นใย/วัน (มิลลิเมตร/วัน) จากไหล่ของขวดบรรจุทำหัวเชื้อจนกว่าเส้นใยเห็ดจะเจริญเต็มขวด.

ตารางที่ 2. วัสดุและอาหารเสริมสำหรับเตรียมหัวเชื้อที่อัตราส่วนต่างๆ

สูตร	วัสดุหลัก (กิโลกรัม)			อาหารเสริม (กรัม)		ธาตุอาหาร (กรัม)		
	ข้าวฟ่าง	ข้าวเปลือก	ข้าวโพด	แป้งข้าวโพด	รำข้าว	$CaCO_3$ (ปูนขาว/B)	$CaSO_4$ (gypsum/A)	$MgSO_4$
1	1							
2		1						
3			1					
4	1			20		20		0.2
5		1		20		20		0.2
6			1	20		20		0.2
7	1				20	20		0.2
8		1			20	20		0.2
9			1		20	20		0.2

2.4.3 การปรับปรุงพันธุ์โดยการฉายรังสี และคัดเลือกเชื้อเห็ดโคนญี่ปุ่นที่มีลักษณะตรงตามความต้องการ

2.4.3.1 เตรียมตัวอย่างสำหรับฉายรังสี โดยการขูดเส้นใยของเห็ดใส่ในสารละลายที่มี NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำกลั่น ปั่นตัดเส้นใย ใช้ปิเปตต์ดูดเส้นใยเห็ดที่แขวนลอยในสารละลายให้มีปริมาตร 2.5 มิลลิลิตรต่อหลอดทดลอง แบ่งเป็นตัวอย่างที่เตรียมฉายรังสี และตัวควบคุม.

2.4.3.2 การฉายรังสี ใช้เครื่องฉายรังสี Gammacell 220 ซึ่งมี Co-60 เป็นต้นกำเนิดรังสี การฉายโดยแช่ rack ที่มีเส้นใยเห็ดแขวนลอยในหลอดทดลองไว้ในน้ำแข็ง อัตราปริมาณรังสีที่ใช้ในการทดลองนี้คือ 0, 10, 25 และ 50 กิโลแรด.

2.4.3.3 การคัดเลือกเชื้อที่คาดว่ากลายพันธุ์ด้วยรังสีนำเส้นใยเห็ดที่ฉายรังสีและไม่ฉายรังสีมาทำให้เจือจางลงด้วย Tween 0.01 เปอร์เซ็นต์ ผสม NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำกลั่น จากนั้นใช้ปิเปตต์ดูด 0.1 มิลลิลิตร ของเส้นใยเห็ดในแต่ละความเจือจางของแต่ละปริมาณรังสี ใส่ลงผิวหน้าอาหาร PDA รอจนผิวหน้าแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ประมาณ 7 วัน, จากนั้นเก็บโคโลนีที่คาดว่ากลายพันธุ์เก็บไว้ใน PDA slant นำไปศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด.

2.4.4 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด

ย้ายเส้นใยเห็ดที่ผ่านการฉายรังสีจาก PDA slant มาเลี้ยงต่อบนอาหาร PDAให้เส้นใยเจริญเติบโตประมาณ 7 วัน จากนั้น ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยเห็ดแล้วย้ายชิ้นวุ้นที่เจาะมาวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเทคนิคปลอดเชื้อ แล้วไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง วัดอัตราการเจริญของเส้นใยทุกวัน แล้วคำนวณอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ด.

2.4.5 การผลิตดอกเห็ดเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นและการจำแนกกลุ่ม

2.4.5.1 การศึกษาสัณฐานวิทยา (Morphology) ของดอกเห็ด โดยการเพาะในวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการผลิตดอกเห็ด.

การเตรียมเมล็ดข้าวฟ่าง

คัดเลือกเมล็ดข้าวฟ่างและแช่เมล็ดข้าวฟ่างทิ้งไว้ 1 คืน นำเมล็ดข้าวฟ่างมาต้มให้สุก แล้วผึ่งเพื่อลดความชื้นบรรจุเมล็ดข้าวฟ่างใส่ขวดแก้ว และใส่จุกสำลี นำมานึ่งฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave).

การทำก้อนเชื้อเห็ด

เตรียมวัสดุเพาะ และอาหารเสริมตามอัตรา ดังนี้ ขี้เลื่อย 100 กิโลกรัม, รายละเอียด 100 กิโลกรัม, ปูนขาว 2 กิโลกรัม, ดีเกลือ 300 กรัม, ภูไมต์ 2 กิโลกรัม, แป้งข้าวเหนียว 1 กิโลกรัม และน้ำ โดยชั่งน้ำหนักให้ได้ปริมาณตามสูตร, จากนั้น ผสมขี้เลื่อยและวัสดุเพาะอื่นๆ ลงในเครื่องผสม ปรับความชื้นโดยการเติมน้ำลงไปให้ได้ความชื้น 60-65 เปอร์เซ็นต์ บรรจุขี้เลื่อยใส่ถุงพลาสติกทนร้อน น้ำหนักประมาณ 800 กรัม ใส่คอขวดพลาสติก ปิดด้วยจุกประหยัดสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งลูกทุ่งที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ในการเตรียมก้อนเชื้อสำหรับเห็ดแต่ละสายพันธุ์ ทำ 20 ก้อนต่อสายพันธุ์.

การเตรียมหัวเชื้อเห็ดและการหยอดเชื้อในก้อนเชื้อเห็ด

เลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหาร PDA ใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเจริญ มาวางในขวดเมล็ดข้าวฟ่างโดยเทคนิคปลอดเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการถ่ายเชื้อจากเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนเชื้อเห็ด เลือกขวดหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างที่เส้นใยเห็ดเพิ่งเจริญเต็มทั่วทุกเมล็ด

ใหม่ๆ ใช้แท่งเหล็กตีหัวเชื้อเห็ดให้กระจายโดยเทคนิคปลอดเชื้อ, จากนั้น ฉีดพ่นแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวก้อนเชื้อเห็ดแล้วหยอดหัวเชื้อเห็ดลงก้อนเห็ดแต่ละสูตร ประมาณ 10-20 เมล็ด แล้วปิดฝาให้สนิท บ่มก้อนเห็ดไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้ววัดอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดในแต่ละวันจนเส้นใยเจริญเต็มก้อนเห็ด.

การเปิดดอกเห็ดในโรงเรือนเปิดดอกและการเก็บผลผลิตของเห็ด

เตรียมโรงเรือนให้เหมาะสมต่อการเปิดดอกเห็ด จากนั้น เตรียมแป้นรองก้อนเห็ดแล้วมัดไว้กับราวที่ใช้แขวนก้อนเชื้อเห็ด นำก้อนเห็ดที่เส้นใยเจริญเต็มก้อนแล้วมาวางบนแป้นรองเห็ด เปิดฝาจุกออก แล้วใช้แท่งเหล็กแคะเมล็ดข้าวฟ่างบริเวณปากถุงออกรดน้ำให้ความชื้นแก่ก้อนเชื้อเห็ด วันละ 3 ครั้ง เช้า-กลางวัน-เย็น ครั้งละ 10 นาที ทุกวัน จะเก็บผลผลิตโดยการดึงดอกเห็ดที่เกิดเป็นช่อ นำดอกเห็ดที่ได้มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการชั่งน้ำหนัก แล้ววัดขนาดความกว้าง, ความยาวของดอกเห็ด และก้านเห็ด (การเก็บผลการทดลองใช้นะยะเวลา 6 เดือน นับจากเห็ดเริ่มผลิตดอก), จากนั้น หั่นหรือฉีกดอกเห็ดให้มีขนาดเล็กลง นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำไปบดให้ละเอียด เพื่อนำไปวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ และแร่ธาตุจากเห็ดต่อไปและนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้โปรแกรม SAS (1999-2000) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's New Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์.

2.4.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางชนิดของเห็ด และแร่ธาตุจากเห็ด

1. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (crude protein) ตามวิธีของ Kjeldahl (1883) สารเคมีและวิธีเตรียม.

- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4).

- เกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Commercial grade NaOH) อัตราส่วน 1:1 เตรียมจากเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กิโลกรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ A.R.grade 40 เปอร์เซ็นต์ เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร.

- กรดบอริก (Boric acid) 3% เตรียมจากกรดบอริก 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 ลิตร.

- สารสำเร็จรูปอัดเม็ด (Kjeltabs) ประกอบด้วย 3.5 กรัม ของ K_2SO_4 และ 3.5 มิลลิกรัมของ Se หรือ Mixed catalyst ที่ประกอบด้วย K_2SO_4, Cu $SO_4 \cdot 10H_2O$ และ Se ในอัตราส่วน 100:10:1 ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน.

- อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator) เตรียมได้จากการละลาย 0.22 กรัม bromocresol green และ methyl red 0.075 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 96 มิลลิลิตรเติม NaOH 0.1 โมล ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตร ผสมเข้าด้วยกัน.

- สารละลายกรดเกลือมาตรฐาน 0.1 โมล เตรียมโดยไทเทรตกับสารละลายเบสที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน โดยสารละลายเบสได้ถูก standardize ด้วย potassium acid phthalate สูตรโมเลกุล $KHC_8H_4O_4$ มีความบริสุทธิ์สูงมากเกือบไม่ดูดความชื้นเลยเป็น primary standard ควรอบให้แห้งด้วยการอบที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใช้ phenolphthalein เป็น indicator หรืออาจเตรียมโดยไทเทรตกับ $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนโดยใช้ methyl red เป็น indicator.

วิธีวิเคราะห์

1.1 การย่อยสลาย (digestion)

1.1.1 ชั่งตัวอย่างที่อบและบดละเอียดแล้ว 0.5-1.00 กรัม (ผ่านการอบที่ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) บนกระดาษกรองและห่อใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 800 มิลลิลิตร หรือหลอดย่อย digestion tube ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารสำเร็จรูปอัดเม็ด จำนวน 2 เม็ด.

1.1.2 เติม conc H2SO4 20 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl flask หรือ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดแก้ว.

1.1.3 ทำ blank และตัวอย่างอ้างอิง (reference sample) โดยวิธีเดียวกัน

1.1.4 นำไปย่อยใน digestion block ใช้อุณหภูมิประมาณ 400 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใสใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นเติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร หรือถ้าอุปกรณ์ในการย่อยเป็นหลอดแก้วเติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร จนได้สารละลายใส.

1.2 การกลั่น (distillation)

เครื่อง Kjeldahl : ใส่สารละลายกรดบอริก 50 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer Flask ขนาด 500 มิลลิลิตร หยด Mixed indicator 4-5 หยด นำไปวางรองรับ distillate จากเครื่องกลั่นโดยให้ปลายหลอดแก้วจุ่มอยู่ในสารละลายบอริก แล้วเติมสารละลายเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์

(1:1) จำนวน 50 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl flask ที่มีสารละลายตัวอย่างทำการกลั่น (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรต.

1.3 การไทเทรต

ไทเทรตของเหลวที่กลั่นได้ด้วย HCl มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 โมล จนกระทั่งสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากเขียวเป็นสีม่วง (purple) คือ จุดยุติ (end point)
- ไทเทรต blank ในทำนองเดียวกัน.

แล้วคำนวณหาปริมาณโปรตีน จากเปอร์เซ็นต์ N = $\frac{(a-b)\ c \times 1.401}{g}$

a = มิลลิลิตร ของกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

b = มิลลิลิตร ของกรดที่ใช้ในการไทเทรต blank

c = ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ (molar)

g = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

เปอร์เซ็นต์ โปรตีน = Nitrogen × Kjeldahl factor

2. การวิเคราะห์ธาตุอาหารในเห็ดตามวิธีของ Willard, Merrill and Dean (2001)

2.1 ในการวิเคราะห์ธาตุอาหารในเห็ด เช่น K, Na, Cu, Ca, Zn, Mn, Mg และ Fe โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS).

ชั่งตัวอย่างใส่ใน Erlenmeyer flask เติมกรด HNO_3 : $HClO_4$ (1:1) ตั้ง digest บน hot plate อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียสจน organic matter หมด จะมีควันสีขาว ยกลงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายใส่ volumetric flask ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer แล้วคำนวณหาปริมาณแร่ธาตุ.

การคำนวณ

แร่ธาตุ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) = $\frac{\text{ค่าความเข้มข้นที่วัดจากเครื่อง AAS} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส (P) ในเห็ด โดยใช้ Spectrophotometer Molybdovanadophosphate Method (Westerman 1990).

ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างจากการวิเคราะห์หาปริมาณ K, Na, Cu, Ca, Zn, Mn, Mg และ Fe ในเห็ด ลงใน volumetric flask แล้วเติม molybdovanadate reagent แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เตรียม working standard 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 ppm ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างไปวัดความเข้มของสีด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร หาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับผล standard curve.

2.4.5.3 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล (molecular genetic)

- การเตรียมเส้นใยเห็ดทำการย้ายเชื้อเห็ดยานางิจากขวดเก็บแม่เชื้อมาเพาะเลี้ยงบนจานอาหารเพาะเลี้ยงสูตร PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้เส้นใยเจริญได้ประมาณ 2 ใน 3 ส่วน ของจานเพาะเลี้ยงนำไปใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ.
- การสกัดดีเอ็นเอบดตัวอย่างเส้นใยเชื้อเห็ดให้เป็นผงละเอียดในไนโตรเจนเหลว แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Rogers and Bendich (1994) โดยนำผงเส้นใยเชื้อเห็ดที่บดละเอียดแล้ว 0.4 กรัม ใส่ลงในหลอด microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 2X CTAB buffer [2% CTAB, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 20 mM EDTA pH 8.0, 1.4 M NaCl, 1% PVP (polyvinylpyrrolidone)] ที่มีอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที, จากนั้นนำไปสกัดด้วย chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอดไปมาแล้วนำไปปั่นแยกที่ 11,000 กรัม นาน 5 นาที ดูดส่วนน้ำใสประมาณ 400 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่แล้วนำไปสกัดซ้ำด้วย 5% CTAB solution [5% CTAB, 0.35 M NaCl] ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และ chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นแยกที่ 11,000 กรัม นาน 10 นาที, จากนั้น ดูดส่วนน้ำใสใส่หลอดใหม่แล้วตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย CTAB precipitation buffer [1% CTAB, 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 10 mM EDTA pH 8.0] ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปแช่น้ำแข็งนาน 20 นาที จึงนำไปปั่นแยกที่ 11,000 กรัม นาน 2-5 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งแล้วละลายตะกอนด้วย high-salt TE buffer [10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0, 1M NaCl] ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ถ้าตะกอนละลายยากนำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนกว่าตะกอนจะละลายตกตะกอนดีเอ็นเออีกครั้งด้วย absolute ethanol ที่เย็นจัดปริมาตร 400 ไมโครลิตร และนำไปแช่ที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้น จึงนำไปปั่นที่ 11,000 กรัม นาน 15 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งแล้วล้างตะกอนดีเอ็นเออีกครั้งด้วย 80 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลที่เย็นจัดนำไปปั่นที่ 11,000 กรัม นาน 5 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งแล้ว

ปล่อยให้ตะกอนแห้ง จากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอใน 0.1X TE [1 mM Tris- HCl pH 8.0, 0.1 mM EDTA pH 8] ที่ผสม RNase 100 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที หรือทำการสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเห็ด โดยใช้ชุดสกัด Thermo Scientific Phire Plant Direct PCR Master Mix (Lot 00202172) โดยดูด Dilution Buffer จากชุดสกัดปริมาณ 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด Micro centrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ใช้ปลาย Tip ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเส้นใยบนจานอาหารเพาะเลี้ยงให้เส้นใยเห็ดติดขึ้นมาเล็กน้อย (ระวังอย่าให้อาหารวุ้นติดขึ้นมา) จากนั้น ทำการบดเส้นใยกับสารละลาย Dilution Buffer จนได้สารละลายที่มีลักษณะข้นหนืด ทิ้งสารละลายไว้ประมาณ 5 นาที ในน้ำแข็ง, จากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที, จากนั้น ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป (หากยังไม่ใช้ทันทีให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไปประเมินคุณภาพและปริมาณโดยใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์และ agarose gel electrophoresis แล้วปรับความเข้มข้นของตัวอย่างดีเอ็นเอให้ได้ประมาณ 2 นาโนกรัม/ไมโครลิตร.

- การเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ITS-PCR โดยนำดีเอ็นเอของเชื้อเห็ดที่สกัดได้มาใช้เป็นต้นแบบสำหรับการเพิ่มปริมาณโดยปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PRC) ร่วมกับ universal primer ITS 1 (5’TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) กับ reversal primer ITS4 (5’TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) ตามวิธีการดัดแปลงจาก William *et al*. (1990) ในสารทำปฏิกิริยา 50 ไมโครโมล ประกอบด้วย 20 มิลลิโมล Tris-HCL (ph 8.4), 50 มิลลิโมล $MgCl_2$, 0.2 มิลลิโมล dNTP, 0.6 ไมโครโมล primer, 2ng DNA template และ 1 U Taq DNA polymerase ทำปฏิกิริยาในเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 5 นาที (initial denaturation) แล้วตามด้วยโปรแกรมการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 3 ระดับ คือ 94 องศาเซลเซียส 30 นาที (Denaturation), 55 องศาเซลเซียส 30 นาที (Primer annealing), 72 องศาเซลเซียส 45 นาที (Primer extension) จำนวน 30 รอบ แล้วปรับปฏิกิริยาให้มีอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 4 นาที (Final extension) ปฏิกิริยา PCR จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 rRNA นำผลจากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ที่ได้มาตรวจสอบด้วย gel electrophoresis บน 1 เปอร์เซ็นต์ agarose gel ใน 0.5X TBE buffer โดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 10 V/cm ตรวจสอบแถบ ดีเอ็นเอ โดยย้อมสีด้วยเอทิเดียมโบรไมด์ (ethidiumbromide) ล้างด้วยน้ำกลั่นนาน 10 นาที ส่องดูแถบของดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง Transluminator (Bio-rad, USA).

- การหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ โดยนำ PCR product ไปทำให้บริสุทธิ์ซึ่งการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์มี 2 วิธี คือ

1. การตกตะกอนดีเอ็นเอ

หลังจากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR แล้ว ขั้นตอนต่อไป คือ การทำบริสุทธิ์ DNA เพื่อที่จะได้ DNA ที่สะอาดและส่งตรวจวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมต่อไป มีขั้นตอน ดังนี้

1.1 เตรียม 1 โมล NaCl ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด Micro centrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน.

1.2 ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลาย DNA ที่ผ่านการทำ PCR แล้ว ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (หรือหมดทั้งหลอด) แล้วใส่ลงไปในสารละลายที่เตรียมไว้ ผสมเบาๆ ให้เข้ากันจากนั้นเติมแอลกอฮอล์ 90 เปอร์เซ็นต์ ผสมเบาๆ ให้เข้ากัน.

1.3 นำสารละลายที่อยู่ในหลอดไปบ่มในน้ำแข็ง เป็นเวลานาน 20 นาที.

1.4 นำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที.

1.5 เทส่วนใสทิ้ง แล้วล้างตะกอนอีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที.

1.6 เทส่วนใสทิ้ง จากนั้น ตากตะกอนให้แห้ง เมื่อแห้งแล้วละลาย DNA ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 ไมโครลิตร.

1.7 ตรวจผลการทำบริสุทธิ์ DNA ด้วยวิธีอากะโรสเจลอิเล็กโทรโฟริซิส และเก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการส่งตรวจรหัสพันธุกรรมต่อไป.

2. การใช้ชุด Thermo Scientific Gene JET PCR Purification Kit.

2.1 เติม Binding Buffer ลงใน หลอด PCR ที่ทำเสร็จแล้ว อัตราส่วน 1:1.

2.2 ย้ายสารละลายทั้งหมดลงใน Gene JET purification Column จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้น เทส่วนใสในหลอดด้านล่างทิ้ง.

2.3 เติม Wash Buffer ที่ผสมกับแอลกอฮอล์เรียบร้อยแล้วปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงใน Gene JET purification Column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้น เทส่วนใสด้านล่างทิ้ง.

2.4 ปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อกำจัดสารละลายที่ยังหลงเหลืออยู่ออกให้หมด.

2.5 เติม Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยค่อยๆ หยดลงไปตรงกลางของ GeneJET purification Column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นเก็บสารละลาย DNA บริสุทธ์ที่ได้ไว้ใน Micro centrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร.

2.6 นำ DNA ที่ได้ไปเช็คผลการทำบริสุทธิ์ DNA ด้วยวิธีอากะโรสเจลอิเล็ก-โทรโฟริซิส และเก็บรักษา DNA ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการส่งตรวจรหัสพันธุกรรมต่อไป

- การเปรียบเทียบสายพันธุ์ของเห็ดรา นำดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์ แล้วส่งไปให้บริษัท First Base Laboratories ประเทศมาเลเซีย เพื่อดำเนินการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 rRNA เมื่อได้ลำดับเบสแล้วนำไปเทียบความคล้ายกับฐานข้อมูลใน GenBank (White *et al*. 1990).

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

คัดเลือกและรวบรวมสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ใช้ทดสอบ

จากการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่มีศักยภาพจากสายพันธุ์ทางการค้าและจากสภาพธรรมชาติ สามารถรวบรวมและจำแนกกลุ่มได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม.

การศึกษาชนิดของวัสดุเพาะและอาหารเสริมที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหัวเชื้อเห็ดโคนญี่ปุ่น

จากการศึกษาการเจริญของเส้นใยต่อวัน จากไหล่ของขวดที่บรรจุวัสดุเพาะสูตรต่างๆ จำนวน 9 สูตร สำหรับใช้เป็นวัสดุเพาะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหัวเชื้อเห็ดโคนญี่ปุ่น โดยใช้สายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่น จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิ สีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม พบว่า ในวัสดุเพาะสูตรที่ 1 โดยใช้ข้าวฟ่าง เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.31, 2.15, 2.14,2.38 และ 1.94 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1 และ 2.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 2 โดยใช้ข้าวเปลือก เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.84, 2.85, 2.82, 2.79 และ 2.40 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3 และ 4.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 3 โดยใช้ข้าวโพด เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.72, 2.57, 2.59, 2.58 และ 2.41 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 5 และ 6.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 4 โดยใช้ข้าวฟ่าง+แป้งข้าวโพด+$CaCO_3$+$MgSO_4$ เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.28, 2.54, 2.51, 2.51 และ 2.09 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 7 และ 8.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 5 โดยใช้ข้าวเปลือก+แป้งข้าวโพด+$CaCO_3$+$MgSO_4$ เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.80, 2.77, 2.83, 2.78 และ 2.37 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ. ดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 6 โดยใช้ข้าวโพด+แป้งข้าวโพด+$CaCO_3$+$MgSO_4$ เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.51, 2.45, 2.40, 2.54 และ 2.25 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 11 และ 12.

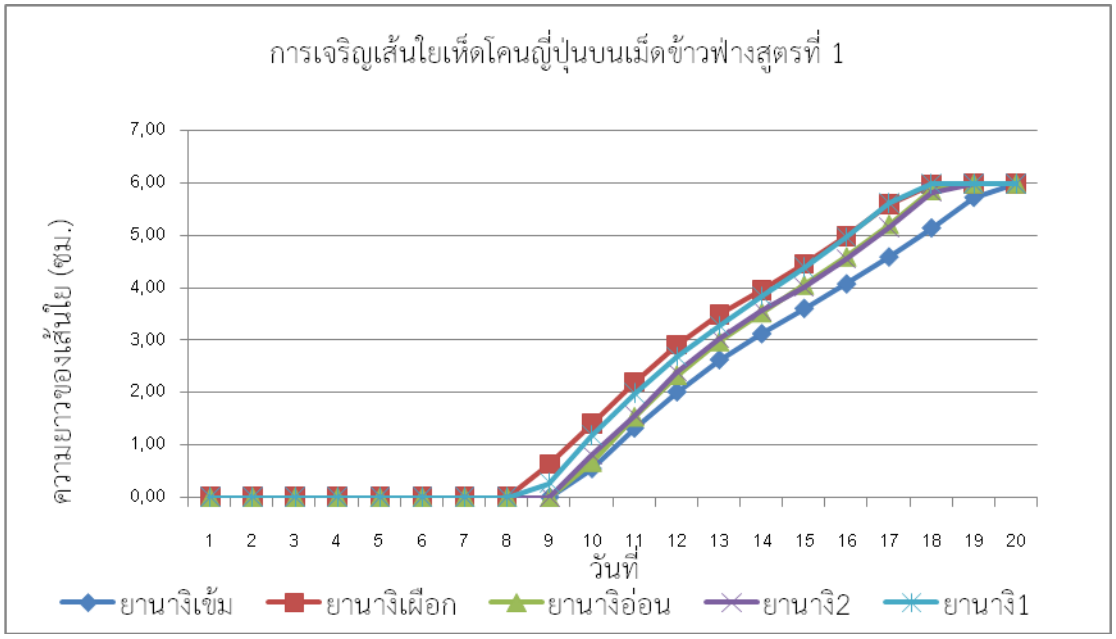
ในวัสดุเพาะสูตรที่ 7 โดยใช้ข้าวฟ่าง+รำข้าว+ $CaCO_3$+$MgSO_4$ เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.24, 2.15, 2.47, 2.27 และ 2.19 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 13 และ 14.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 8 โดยใช้ข้าวเปลือก+รำข้าว+ $CaCO_3$+$MgSO_4$ เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.72, 1.24, 2.82, 2.73 และ 2.44 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 15 และ 16.

ในวัสดุเพาะสูตรที่ 9 โดยใช้ข้าวโพด+รำข้าว+ $CaCO_3$+$MgSO_4$ เส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญ 2.68, 2.75, 2.86, 2.85 และ 2.81 เซนติเมตรต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 17 และ 18.

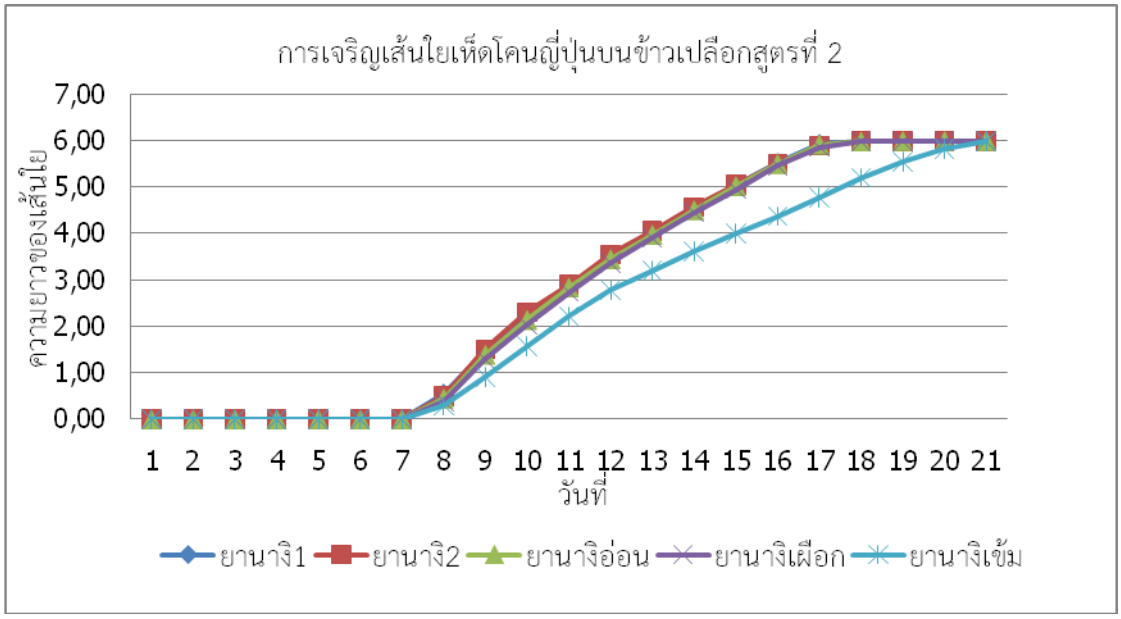
จากการทดลองนี้ พบว่า วัสดุสูตรที่ 9 ซึ่งประกอบด้วยข้าวโพด 1 กิโลกรัม, รำข้าว 20 กรัม, $CaCO_3$ 20 กรัม และ $MgSO_4$ 2 กรัม เป็นวัสดุเพาะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตหัวเชื้อเห็ดโคนญี่ปุ่น โดยพบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการเจริญของเส้นใยที่เร็ว และหนา ซึ่งเป็นลักษณะของหัวเชื้อที่ดี และจะทำให้ได้ผลผลิตสูง.

รูปที่ 1. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวฟ่าง (สูตรที่ 1).



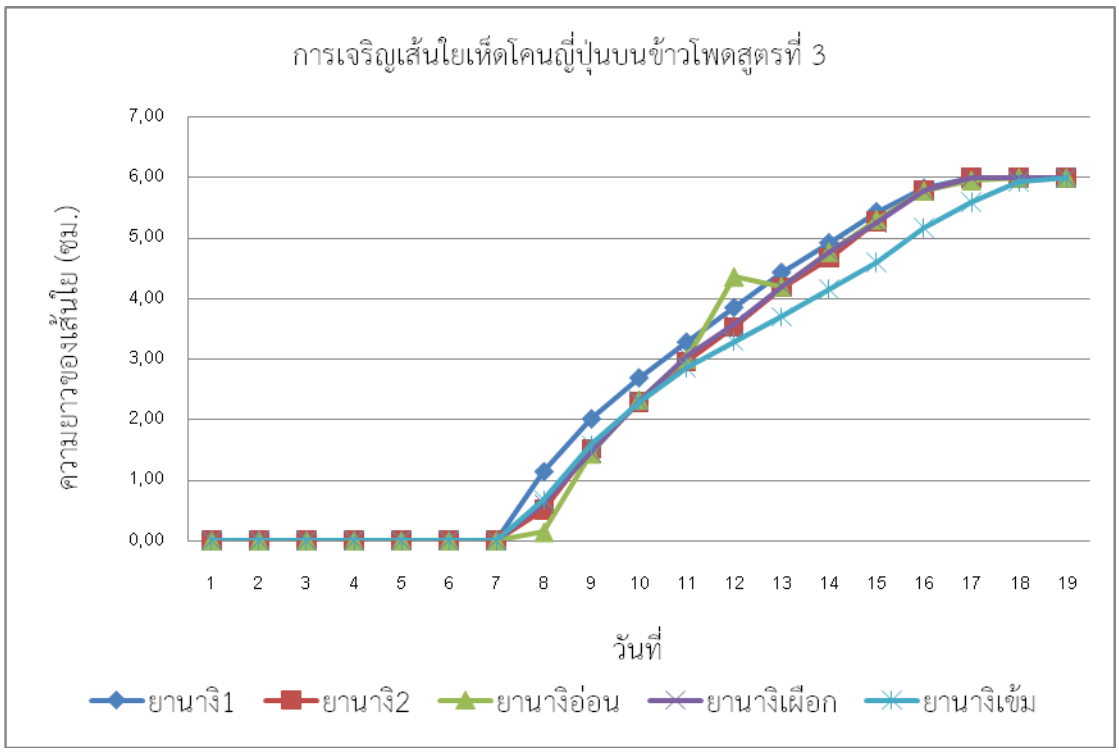
รูปที่ 2. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 1) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

รูปที่ 3. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวเปลือก (สูตรที่ 2).

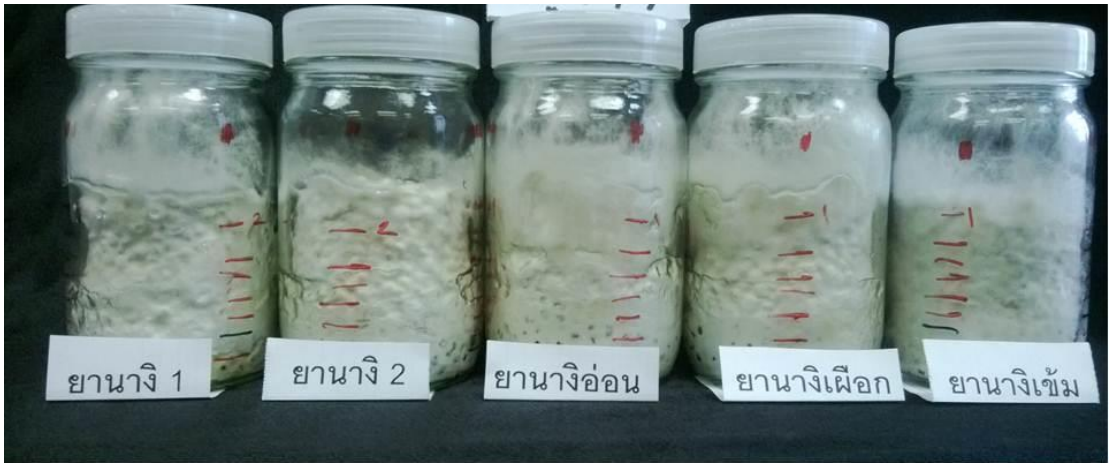


รูปที่ 4. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 2) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

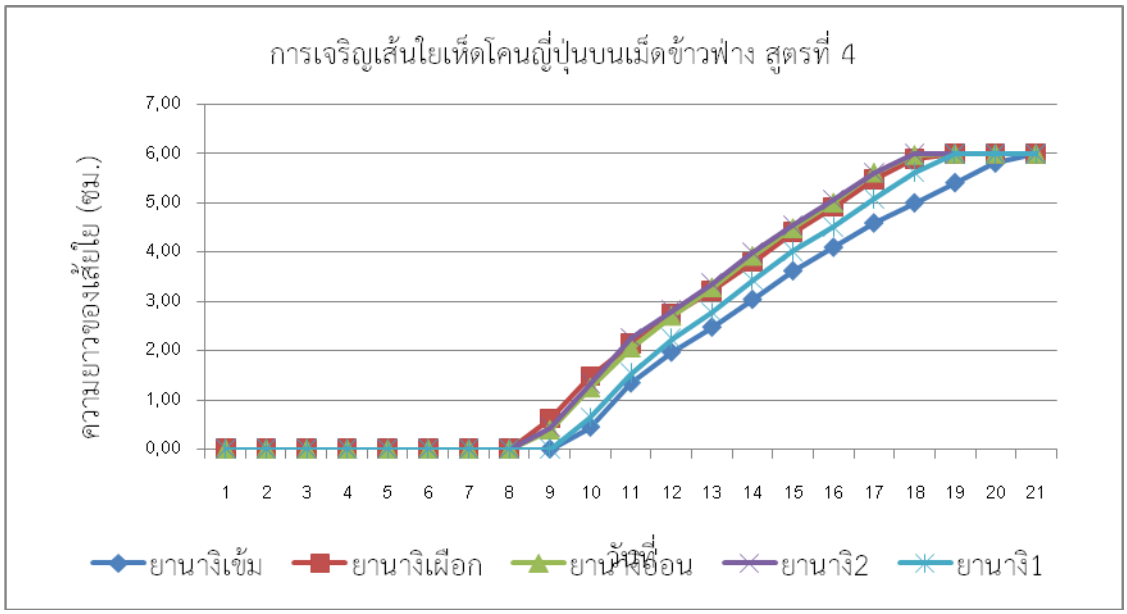
รูปที่ 5. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 3).



รูปที่ 6. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 3) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

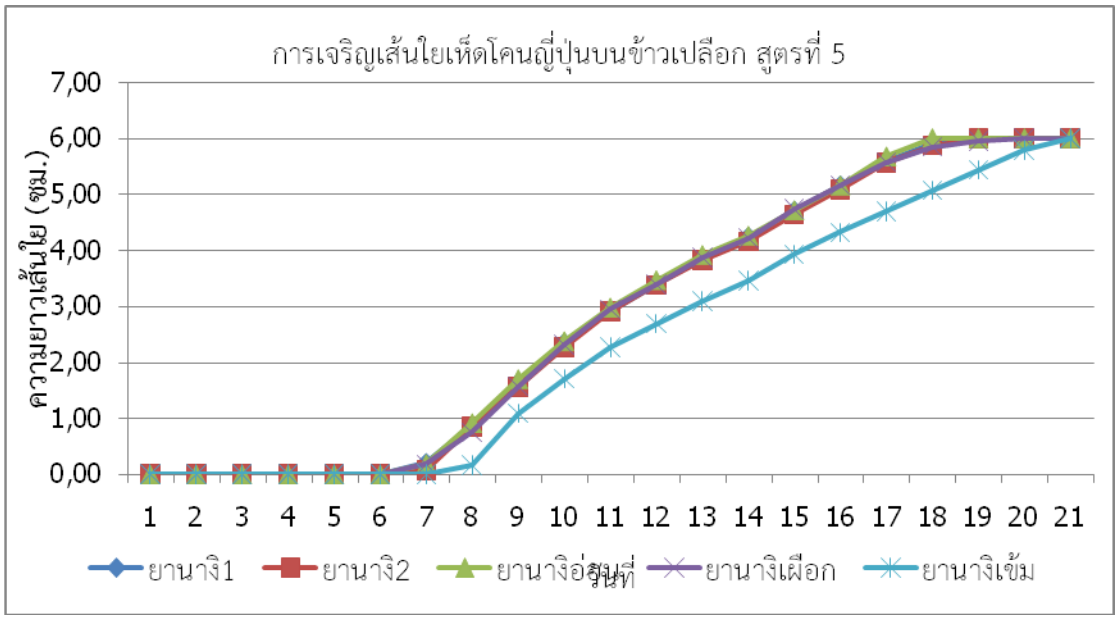


รูปที่ 7. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวฟ่าง (สูตรที่ 4).

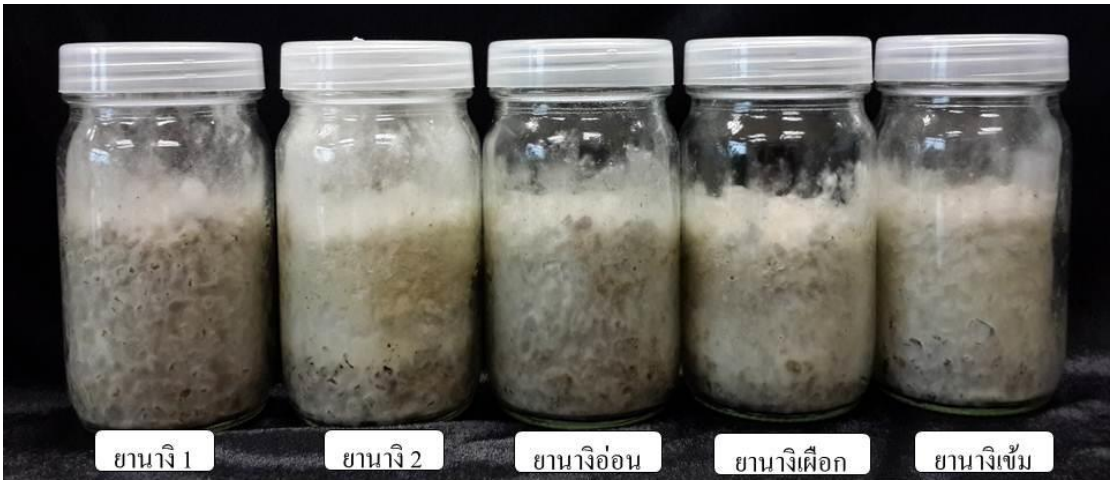


รูปที่ 8. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 4) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

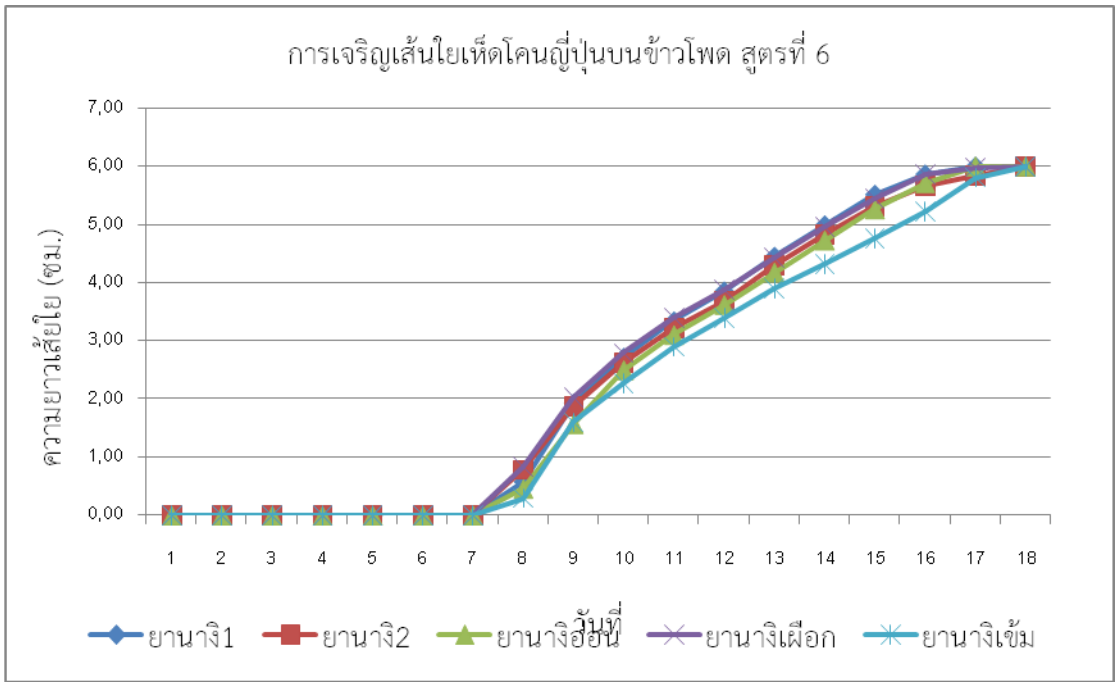
รูปที่ 9. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวเปลือก (สูตรที่ 5).



รูปที่ 10. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 5) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

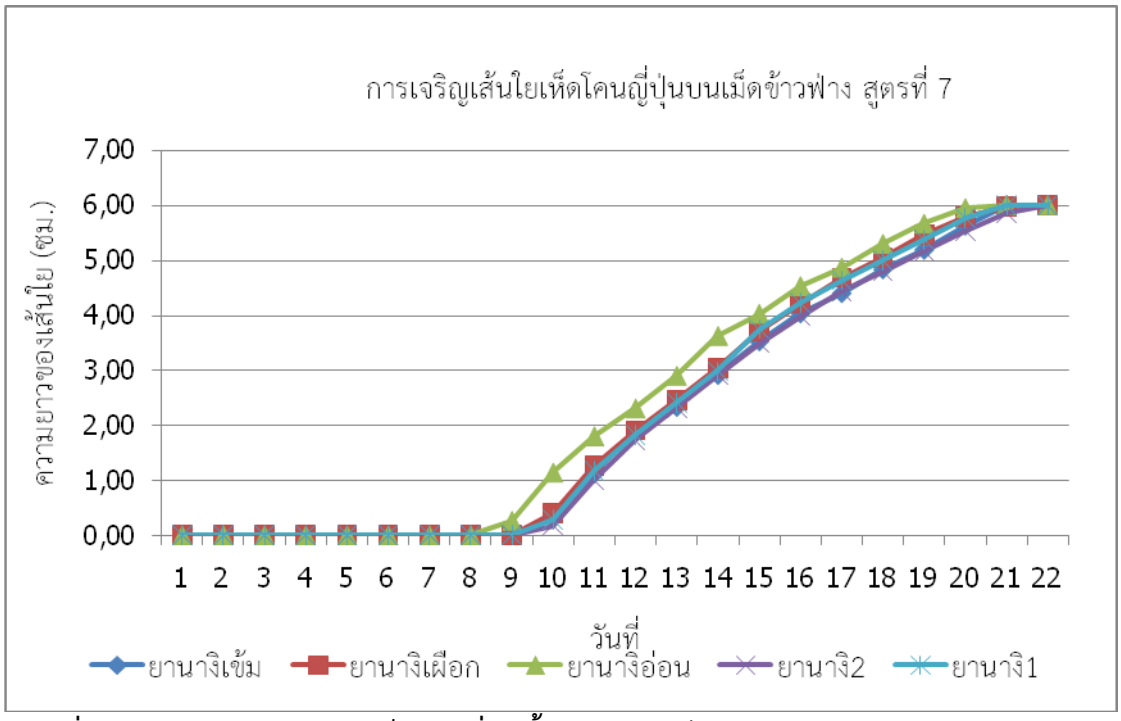


รูปที่ 11. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 6).



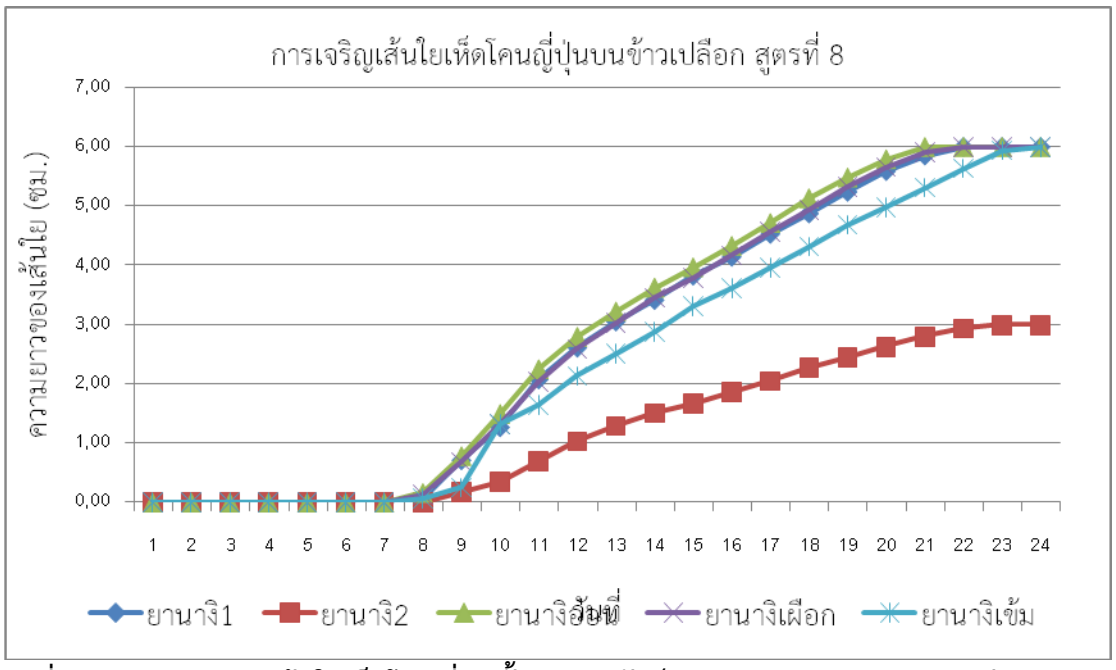
รูปที่ 12. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 6) สำหรับผลิตหัวเชื้อ

รูปที่ 13. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวฟ่าง (สูตรที่ 7).

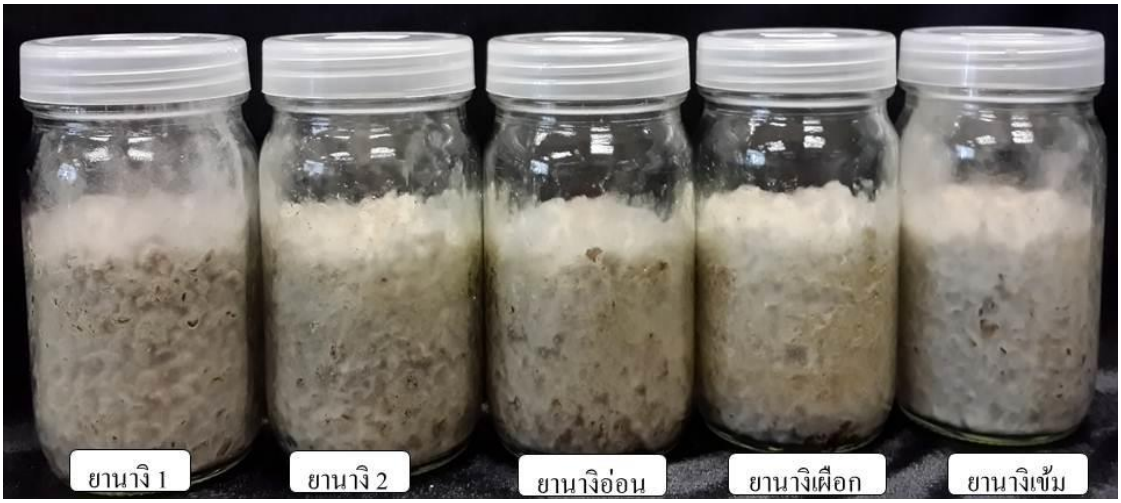


รูปที่ 14. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 7) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

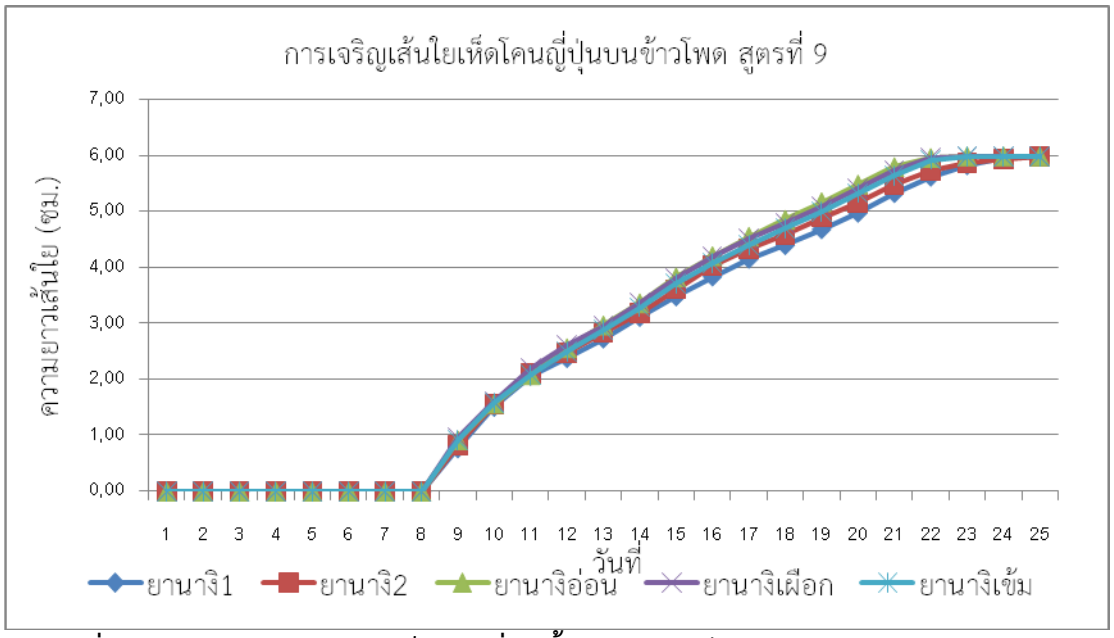
รูปที่ 15. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวเปลือก (สูตรที่ 8).



รูปที่ 16. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 8) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.



รูปที่ 17. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์ บนข้าวโพด (สูตรที่ 9).



รูปที่ 18. การเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นทั้ง 5 สายพันธุ์: ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิสีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม บนเมล็ดข้าวฟ่าง (วัสดุเพาะสูตร 9) สำหรับผลิตหัวเชื้อ.

หมายเหตุ:

สูตรที่ 1 ข้าวฟ่าง
สูตรที่ 2 ข้าวเปลือก
สูตรที่ 3 ข้าวโพด
สูตรที่ 4 ข้าวฟ่าง+แป้งข้าวโพด+ $MgSO_4$
สูตรที่ 5 ข้าวเปลือก+แป้งข้าวโพด+ $MgSO_4$
สูตรที่ 6 ข้าวโพด+แป้งข้าวโพด+ $MgSO_4$
สูตรที่ 7 ข้าวฟ่าง+รำข้าว+ $MgSO_4$
สูตรที่ 8 ข้าวเปลือก+รำข้าว+ $MgSO_4$
สูตรที่ 9 ข้าวโพด+รำข้าว+ $MgSO_4$

การปรับปรุงพันธุ์โดยการฉายรังสีและคัดเลือกเชื้อเห็ดโคนญี่ปุ่นที่มีลักษณะตรงตามความต้องการ

จากการนำเส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ มาฉายรังสีที่ปริมาณความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 10, 25 และ 50 กิโลแรด และบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เพื่อคัดเลือกเห็ดโคนญี่ปุ่นแต่ละสายพันธุ์ที่รอดชีวิตหลังการฉายรังสี โดยคาดว่าจะเป็นพันธุ์กลายและทนร้อนจากการทดลองพบว่า ได้เห็ดโคนญี่ปุ่นที่คาดว่าจะกลายพันธุ์ด้วยรังสี ทั้งหมด 186 isolates โดยได้ 87, 96 และ 1 isolate จากการฉายรังสีที่ 10, 25 และ 50 กิโลแรด ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.

ตารางที่ 3. ผลการคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่รอดชีวิตหลังการฉายรังสีแกมมา โดยคาดว่าจะเป็นพันธุ์กลายและทนร้อน

สายพันธุ์เดิม	ซ้ำที่	จำนวนสายพันธุ์ (isolate) ที่รอดชีวิตที่คาดว่าจะเป็นพันธุ์กลาย		
		10 K	25 K	50 K
ยานางิ1	ซ้ำที่1	10	17	0
	ซ้ำที่2	10	9	0
รวม		**20**	**26**	**0**
ยานางิ2	ซ้ำที่ 1	10	1	0
	ซ้ำที่ 2	10	27	0
รวม		**20**	**28**	**0**
ยานางิอ่อน	ซ้ำที่ 1	9	15	1
	ซ้ำที่ 2	10	9	0
รวม		**19**	**24**	**1**
ยานางิเผือก	ซ้ำที่ 1	10	7	0
	ซ้ำที่ 2	10	5	0
รวม		**20**	**12**	**0**
ยานางิเข้ม	ซ้ำที่ 1	8	8	0
	ซ้ำที่ 2	0	0	0
รวม		**8**	**8**	**0**
รวมทั้งสิ้น		**87**	**96**	**1**

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10, 25 และ 50 กิโลแรด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่า เห็ดสายพันธุ์แม่ ซึ่งได้แก่ ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือกและยานางิเข้ม มีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยต่อวัน เท่ากับ 0.67, 0.72, 0.66, 0.69 และ 0.73 เซนติเมตร ตามลำดับ และในกลุ่มของสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10 กิโลแรด พบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยต่อวันสูงที่สุด คือ 0.72-0.80 เซนติเมตร, รองลงมา คือ สายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.70-0.76 เซนติเมตร เช่นเดียวกันกับในกลุ่มของสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 25 กิโลแรด พบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ย

ต่อวันสูงที่สุด คือ 0.74-0.81 เซนติเมตร, รองลงมา คือ สายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.74-0.79 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 4 อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ.

จากการทดลองจะเห็นว่าสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10, 25 และ 50 กิโลแรด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน มีอัตราการเจริญของเส้นใยที่เร็วสายพันธุ์แม่ ที่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี.

ตารางที่ 4. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10, 25 และ 50 กิโลแรด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน.

สายพันธุ์	อัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยต่อวัน (เซนติเมตร)				
ย1			0.67		
ย2			0.72		
ยอ			0.66		
ยผ			0.69		
ยข			0.73		
กลุ่มที่ฉายรังสี 10 กิโลแรด	0.70-0.73	0.69-0.78	0.67-0.73	0.70-0.76	0.72-0.80
กลุ่มที่ฉายรังสี 25 กิโลแรด	0.70-0.73	0.73-0.80	0.67-0.80	0.74-0.79	0.74-0.81
	(ย1)	(ย2)	(ยอ)	(ยผ)	(ยข)

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10 และ 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยวัดการเจริญของเส้นใยทุกสัปดาห์ ดังแสดงในรูปที่ 19 และ 20 พบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ด ตั้งแต่ 2.22-2.70 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C42, C43 และ C54 ดังแสดงในตารางที่ 5 และรูปที่ 21. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.49 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ด ตั้งแต่ 2.29-2.66 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มี

การเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C27 ดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 22. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.43 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ด ตั้งแต่ 2.31-2.66 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C60 ดังแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 23. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.48 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดตั้งแต่ 2.41-2.70 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C38 ดังแสดงในตารางที่ 8 และรูปที่ 24. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.58 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดตั้งแต่ 2.29-2.65 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C2-2 ดังแสดงในตารางที่ 9 และรูปที่ 25. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.46 เซนติเมตร.

สำหรับในกลุ่มของสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 25 กิโลแรด พบว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดตั้งแต่ 2.08-2.37 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C4 และ C18 ดังแสดงในตารางที่ 10 และรูปที่ 26. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.24 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดตั้งแต่ 2.09-2.61 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C34 ดังแสดงในตารางที่ 11 และรูปที่ 27. อย่างไร

ก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.24 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรดมีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดตั้งแต่ 2.13-2.67 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C10 ดังแสดงในตารางที่ 12 และรูปที่ 28. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.43 เซนติเมตร.

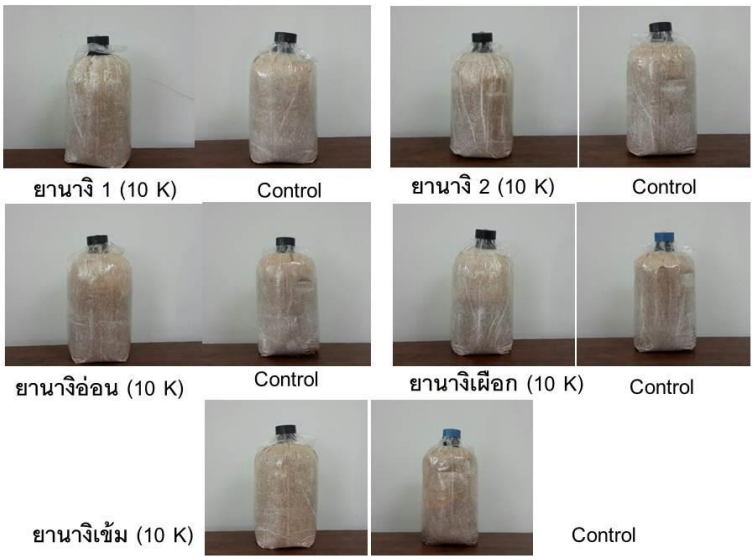
เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดตั้งแต่ 2.19-2.65 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C17 ดังแสดงในตารางที่ 13 และรูปที่ 29. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.39 เซนติเมตร.

เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายในกลุ่มสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ด ตั้งแต่ 2.27-2.32 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ โดยสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเห็ดสูงสุด คือ C3 และ C7 ดังแสดงในตารางที่ 14 และรูปที่ 30. อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มนี้ เท่ากับ 2.30 เซนติเมตร.

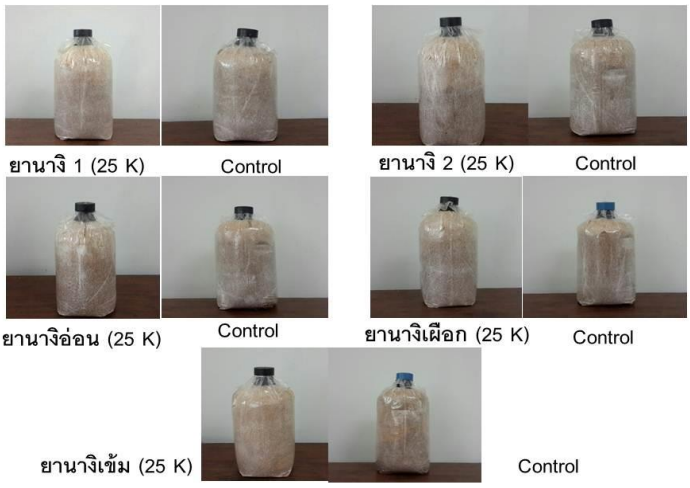
ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน พบว่า เห็ดสายพันธุ์แม่ ซึ่งได้แก่ ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิเข้ม มีอัตราการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยต่อวัน เท่ากับ2.05, 2.05, 2.08, 2.13 และ 1.99 เซนติเมตร ตามลำดับ.

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10 และ 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2 เดือน. ในครั้งนี้ พบว่า สายพันธุ์เห็ดที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยต่อสัปดาห์เร็วกว่า สายพันธุ์เห็ดที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด. อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์เห็ดที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 10 และ 25 กิโลแรด ทำให้ได้

สายพันธุ์เห็ดที่มีอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานเร็วกว่าสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นสายพันธุ์แม่ที่ไม่ได้ฉายรังสี.



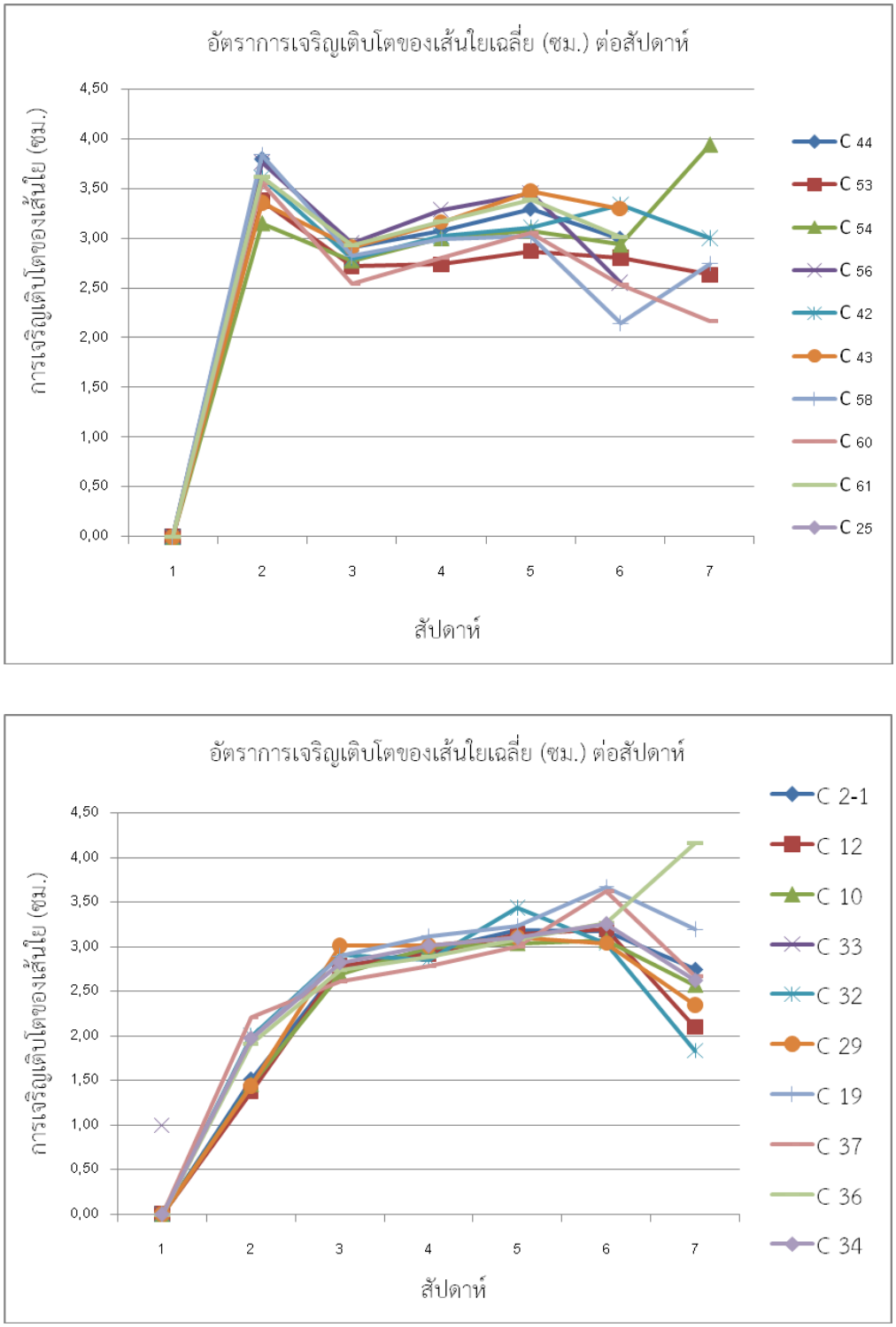
รูปที่ 19. ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเห็ดเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้วัสดุเพาะสูตรมาตรฐานที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน.



รูปที่ 20. ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์กลายที่ไดจากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเห็ดเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้วัสดุเพาะสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน.

ตารางที่ 5. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

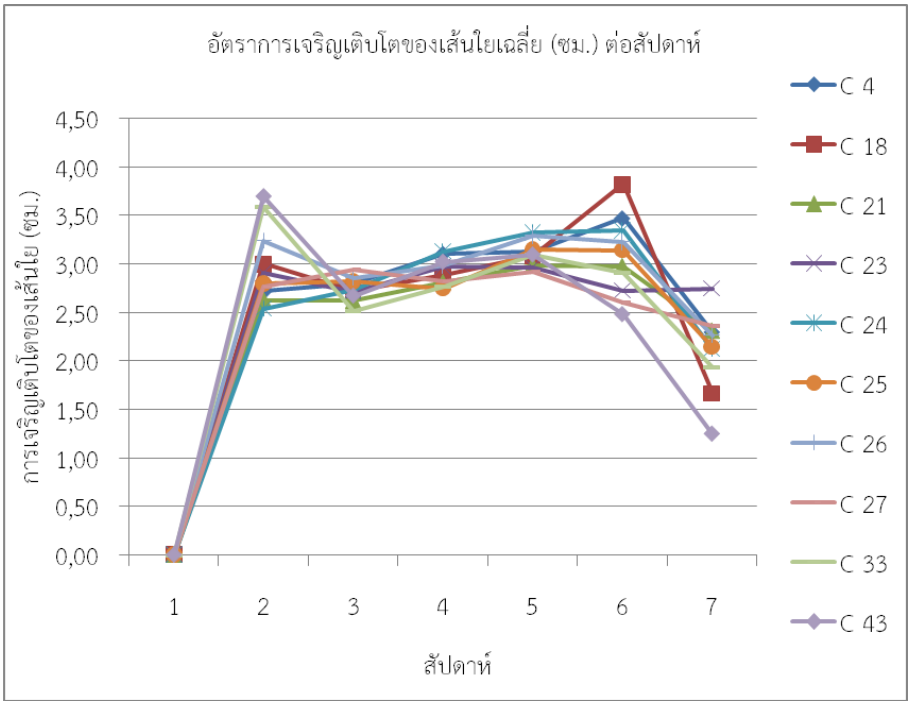
วันที่	ยานางิ1/1									
	C 25	C 42	C 43	C 44	C 53	C 54	C 56	C 58	C 60	C 61
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	2.23	3.61	3.36	3.80	3.38	3.16	3.77	3.84	3.56	3.62
30-ก.ค.	3.04	2.80	2.91	2.91	2.73	2.78	2.95	2.83	2.54	2.93
6-ส.ค.	3.00	3.03	3.17	3.08	2.74	3.01	3.29	3.00	2.81	3.17
13-ส.ค.	3.26	3.11	3.48	3.30	2.88	3.08		3.03	3.06	3.38
20-ส.ค.	3.48	3.34	3.30	3.00	2.81	2.94	2.56	2.15	2.53	3.01
27-ส.ค.	-	3.00	-	-	2.64	3.95	-	2.75	2.18	-
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	1.52	1.38	1.46	1.98	1.44	2.00	2.11	1.98	1.92	2.21
30-ก.ค.	2.77	2.79	2.70	2.90	3.02	2.92	2.86	2.83	2.74	2.62
6-ส.ค.		2.93	2.99	3.13	3.02	2.86	3.08	3.02	2.89	2.78
13-ส.ค.	3.18	3.14	3.04	3.24	3.11	3.44	3.23	3.11	3.08	3.01
20-ส.ค.	3.18	3.20	3.08	3.68	3.04	3.04	3.47	3.26	3.28	3.63
27-ส.ค.	2.75	2.10	2.58	3.20	2.35	1.84	-	2.63	4.17	2.68

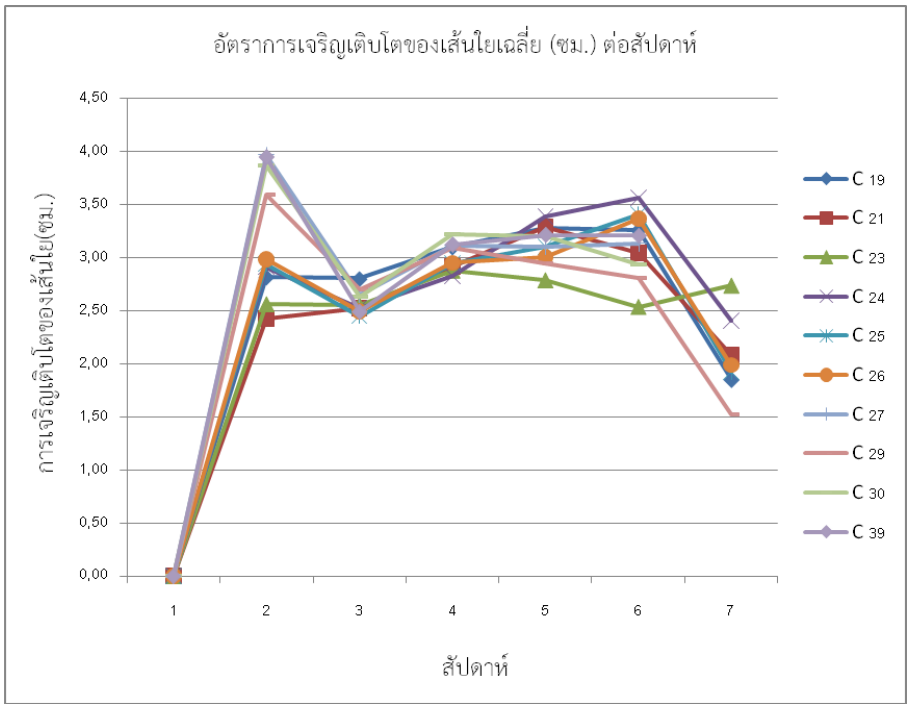


รูปที่ 21. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 6. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ยานางิ2/1									
	C 4	C 18	C 21	C 23	C 24	C 25	C 26	C 27	C 33	C 43
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	2.72	3.00	2.63	2.91	2.54	2.80	3.24	2.77	3.59	3.70
30-ก.ค.	2.80	2.73	2.63	2.72	2.73	2.82	2.86	2.94	2.52	2.68
6-ส.ค.	3.11	2.88	2.82	2.98	3.13	2.75	2.98	2.83	2.77	3.03
13-ส.ค.	3.13	3.08	2.99	2.97	3.33	3.15	3.29	2.92	3.10	3.10
20-ส.ค.	3.48	3.83	2.98	2.73	3.35	3.14	3.23	2.60	2.91	2.48
27-ส.ค.	2.30	1.67	2.32	2.75	2.13	2.14	2.27	2.36	1.94	1.25
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	2.82	2.43	2.56	2.91	2.94	2.98	3.97	3.59	3.87	3.95
30-ก.ค.	2.80	2.53	2.55	2.53	2.45	2.49	2.65	2.70	2.63	2.49
6-ส.ค.	3.10	2.92	2.88	2.83	2.95	2.95	3.12	3.09	3.22	3.13
13-ส.ค.	3.28	3.29	2.78	3.38	3.10	3.00	3.10	2.94	3.20	3.22
20-ส.ค.	3.26	3.04	2.53	3.56	3.41	3.37	3.13	2.81	2.93	3.21
27-ส.ค.	1.85	2.08	2.73	2.40	1.93	1.99	-	1.53	-	-

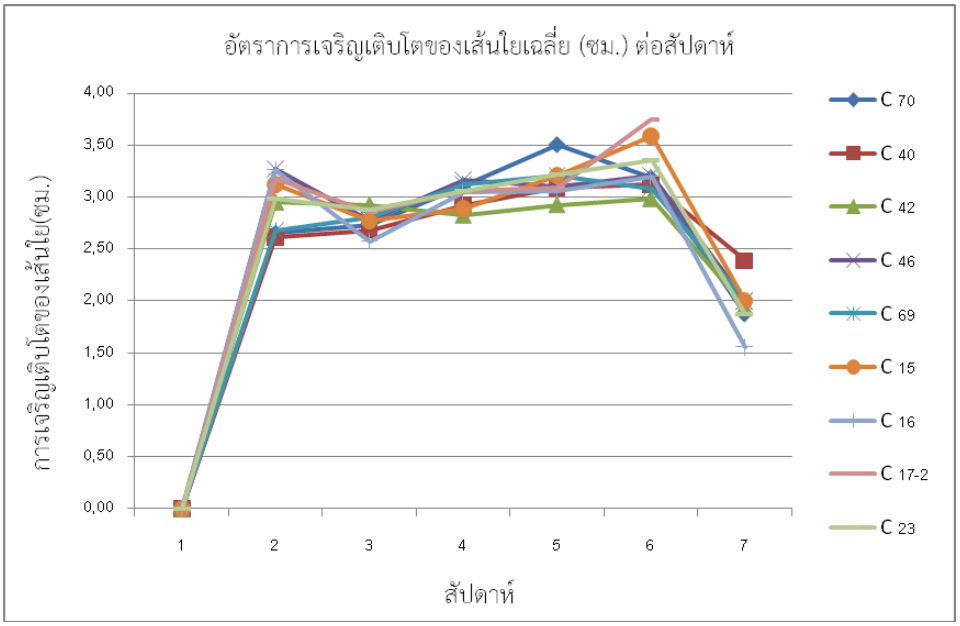


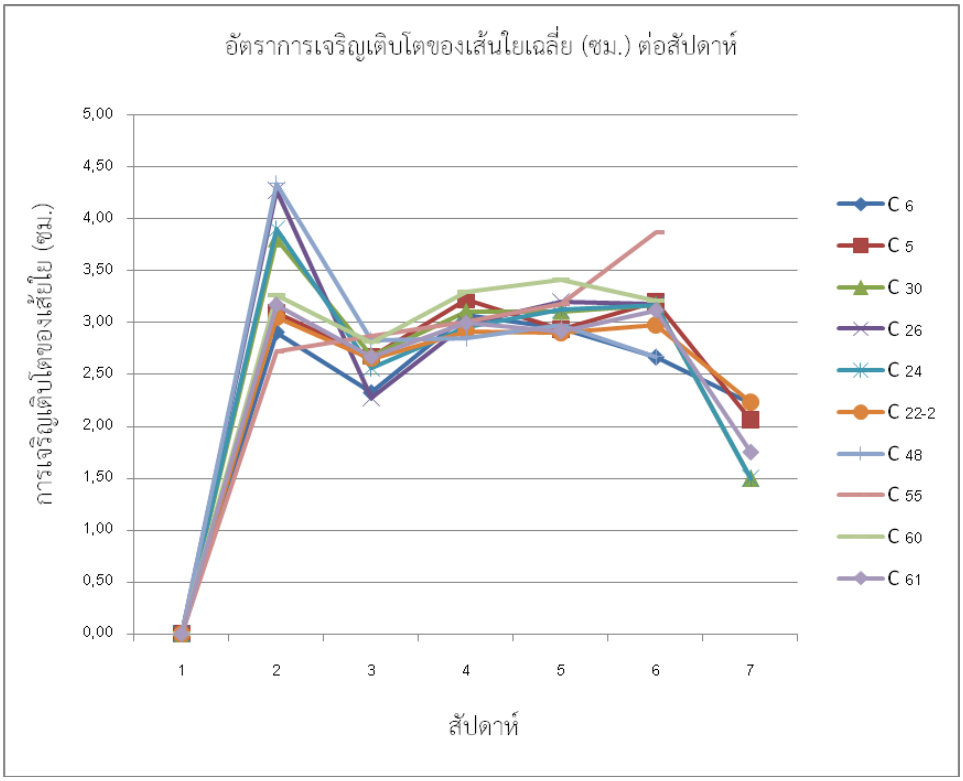


รูปที่ 22. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานาง2 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 7. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ยานางิอ่อน/1									
	C 70	C 40	C 42	C 46	C 69	C 15	C 16	C 17-2	C 23	
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
23-ก.ค.	2.65	2.62	2.95	3.27	2.68	3.13	3.26	3.17	2.99	
30-ก.ค.	2.73	2.68	2.93	2.77	2.81	2.78	2.58	2.85	2.88	
6-ส.ค.	3.11	2.93	2.83	3.16	3.13	2.89	3.04	3.06	3.06	
13-ส.ค.	3.50	3.09	2.93	3.10	3.21	3.21	3.06	3.08	3.23	
20-ส.ค.	3.18	3.13	2.98	3.21	3.08	3.59	3.20	3.74	3.36	
27-ส.ค.	1.88	2.39	1.95	2.00	2.00	2.00	1.56	-	1.88	
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	2.91	3.10	3.81	4.28	3.90	3.05	4.33	2.72	3.26	3.17
30-ก.ค.	2.33	2.68	2.68	2.28	2.56	2.65	2.83	2.87	2.81	2.67
6-ส.ค.	3.08	3.23	3.11	2.99	2.95	2.92	2.84	3.01	3.29	2.99
13-ส.ค.	2.95	2.93	3.11	3.20	3.13	2.90	2.98	3.18	3.41	2.92
20-ส.ค.	2.67	3.20	3.18	3.18	3.17	2.98	2.67	3.87	3.21	3.12
27-ส.ค.	2.23	2.06	1.50	-	1.50	2.23	-	-	-	1.75

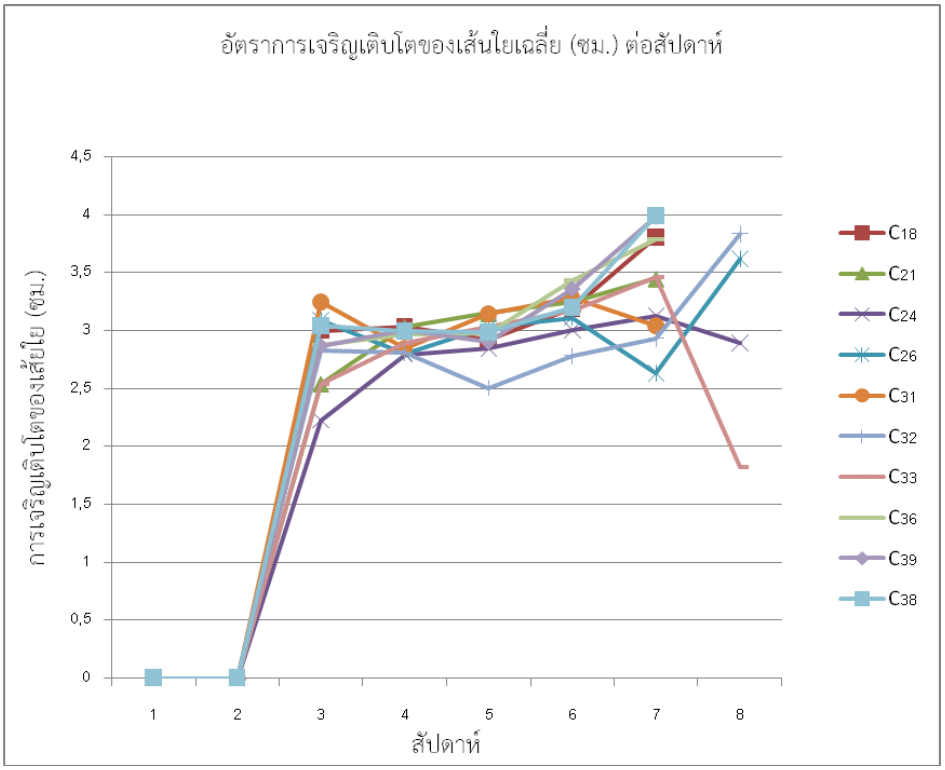


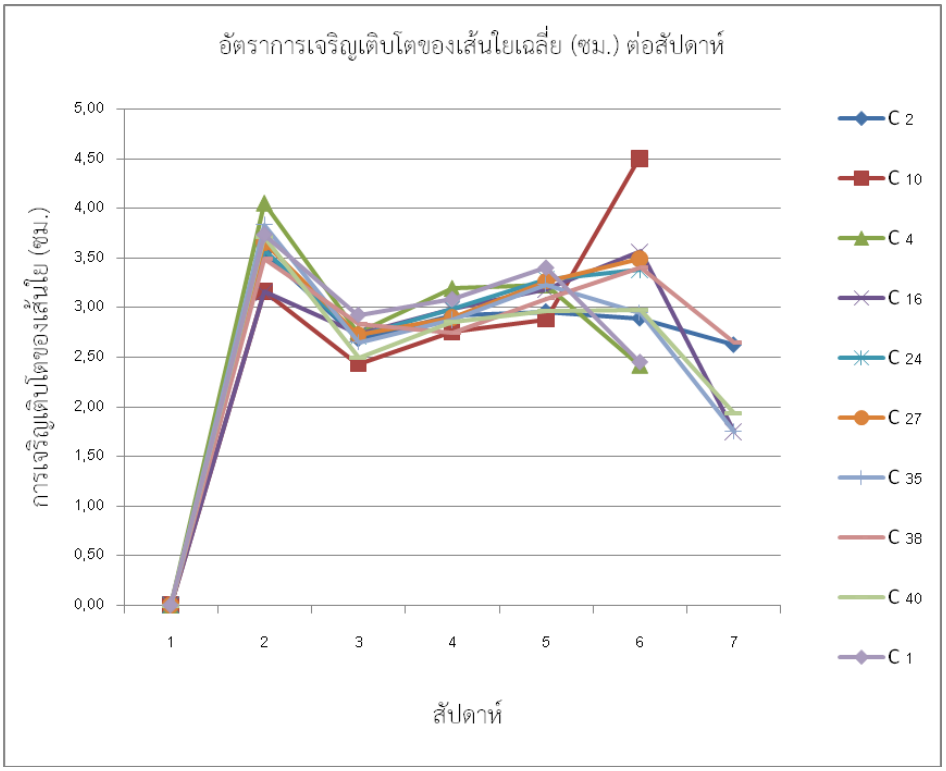


รูปที่ 23. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 8. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ยานางิเผือก/1									
	C 18	C 21	C 24	C 26	C 31	C 32	C 33	C 36	C 38	C 39
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	3.00	2.54	2.23	3.09	3.24	2.83	2.54	2.88	3.04	2.87
30-ก.ค.	3.03	3.03	2.79	2.81	2.85	2.81	2.90	2.98	2.99	3.01
6-ส.ค.	2.93	3.15	2.84	3.03	3.14	2.51	3.03	2.98	2.98	2.90
13-ส.ค.	3.19	3.25	3.00	3.12	3.28	2.78	3.18	3.43	3.20	3.36
20-ส.ค.	3.81	3.45	3.13	2.63	3.04	2.93	3.47	3.79	3.99	3.98
27-ส.ค.	-	-	2.89	3.63	-	3.84	1.83	-	-	-
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	3.73	3.56	4.05	3.17	3.16	3.58	3.66	3.83	3.49	3.71
30-ก.ค.	2.93	2.68	2.75	2.43	2.73	2.72	2.73	2.65	2.83	2.49
6-ส.ค.	3.08	2.93	3.19	2.76	2.98	2.99	2.90	2.88	2.75	2.86
13-ส.ค.	3.40	2.96	3.23	2.88	3.18	3.29	3.27	3.23	3.09	2.97
20-ส.ค.	2.45	2.89	2.42	4.51	3.57	3.38	3.49	2.95	3.40	2.98
27-ส.ค.	-	2.63	-	-	1.75	-	-	1.75	2.65	1.94

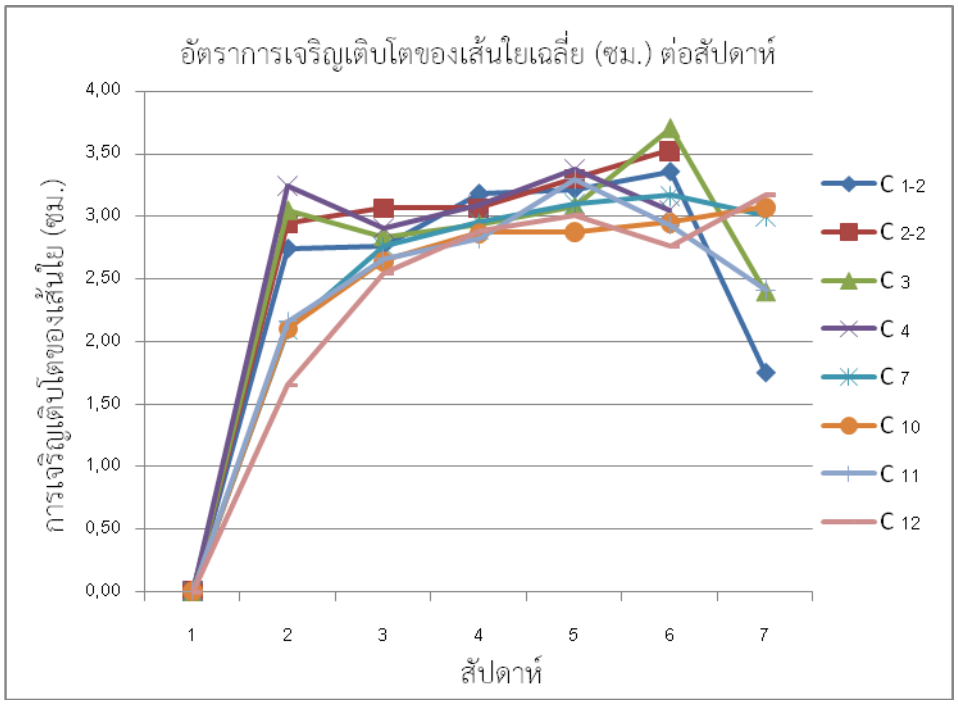




รูปที่ 24. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 9. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ยานางิเข้ม/1							
	C 1-2	C 2-2	C 3	C 4	C 7	C 10	C 11	C 12
7-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23-ก.ค.	2.74	2.94	3.05	3.24	2.09	2.10	2.16	1.65
30-ก.ค.	2.77	3.07	2.84	2.90	2.76	2.64	2.66	2.54
6-ส.ค.	3.18	3.07	2.94	3.09	2.95	2.87	2.82	2.88
13-ส.ค.	3.22	3.30	3.08	3.38	3.10	2.88	3.29	3.01
20-ส.ค.	3.36	3.53	3.71	3.04	3.17	2.95	2.93	2.76
27-ส.ค	1.75	-	2.40	-	3.00	3.08	2.41	3.17

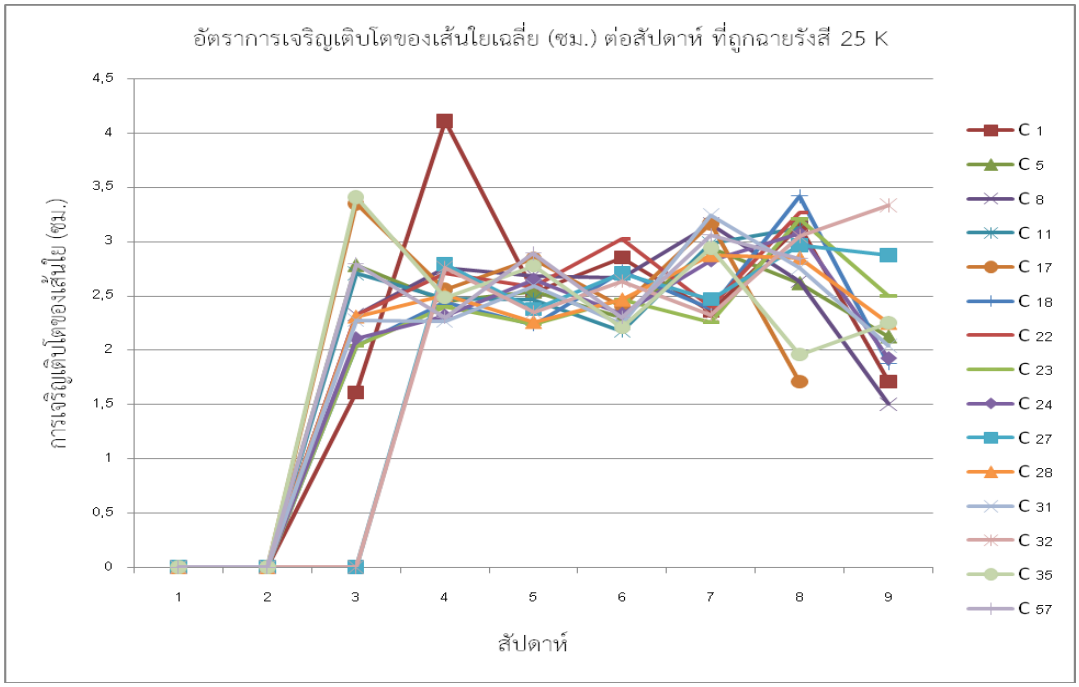


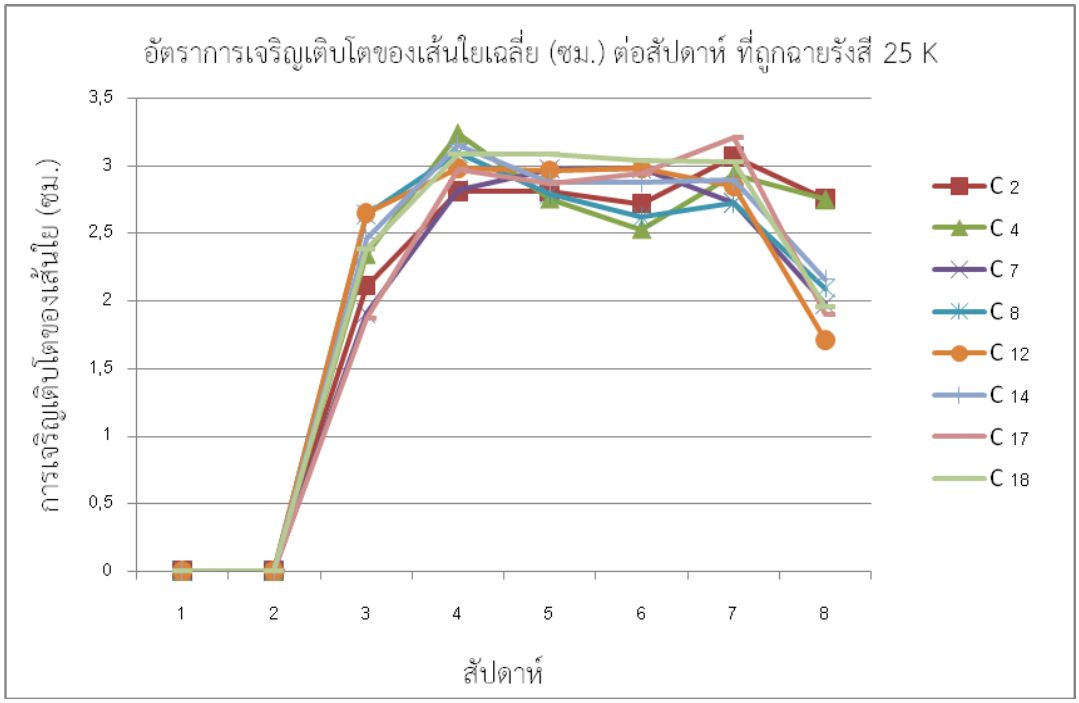
รูปที่ 25. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเข้ม ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 10. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ 1 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ยานางิ1/1														
	C 1	C 5	C 8	C 11	C 17	C 18	C 22	C 23	C 24	C 27	C28	C 31	C 32	C 35	C 57
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	1.61	2.78	2.33	2.71	3.35	2.04	2.33	2.04	2.11	0.00	2.31	2.28	0.00	3.41	2.79
15-ส.ค.	4.11	2.45	2.76	2.48	2.56	2.44	2.71	2.40	2.32	2.79	2.51	2.27	2.76	2.48	2.30
22-ส.ค.	2.53	2.54	2.68	2.47	2.84	2.23	2.58	2.24	2.65	2.98	2.26	2.59	2.55	2.78	2.89
29-ส.ค.	2.85	2.30	2.67	2.18	2.40	2.73	3.03	2.47	2.33	2.71	2.47	2.24	2.63	2.21	2.30
5-ก.ย.	2.36	2.94	3.16	2.98	3.17	2.38	2.40	2.26	2.83	2.47	2.88	3.24	2.33	2.94	3.06

วันที่	ยานางิ1/2							
	C 2	C 4	C 7	C 8	C 12	C 14	C 17	C 18
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.12	2.35	1.91	2.64	2.65	2.47	1.88	2.39
15-ส.ค.	2.82	3.24	2.83	3.10	2.98	3.16	2.98	3.09
22-ส.ค.	2.82	2.76	2.98	2.79	2.97	2.88	2.88	3.09
29-ส.ค.	2.73	2.53	2.98	2.63	2.98	2.88	2.95	3.04
5-ก.ย.	3.08	2.93	2.73	2.73	2.85	2.90	3.22	3.03
12-ก.ย.	2.76	2.75	1.98	2.09	1.71	2.16	1.90	1.96

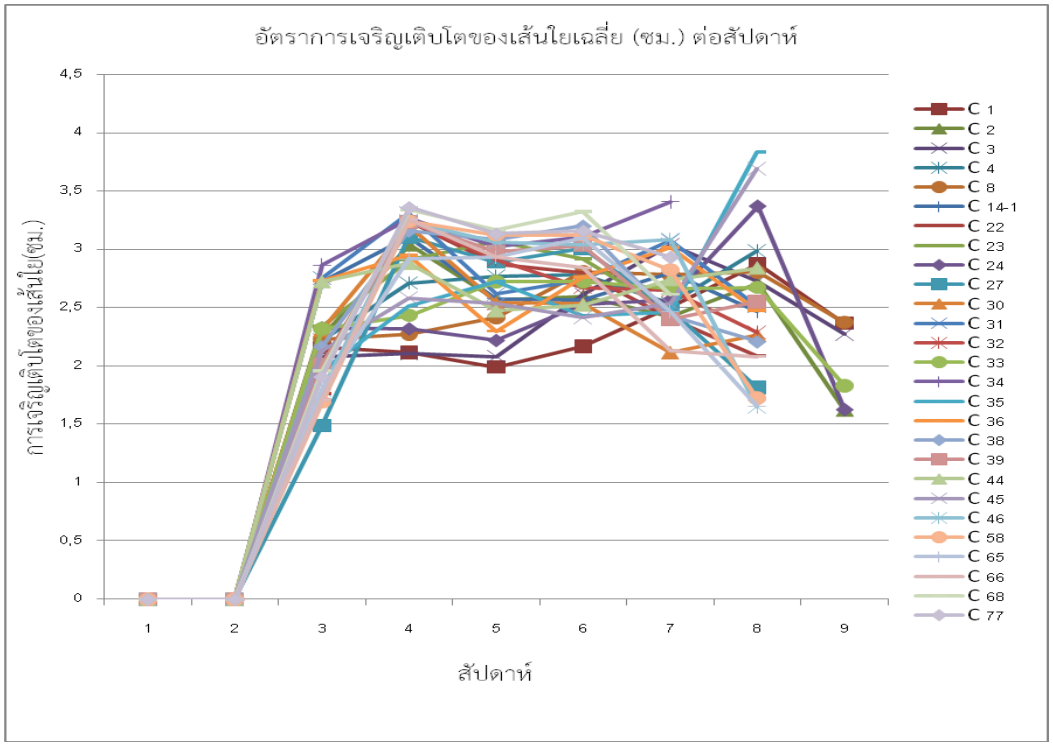




รูปที่ 26. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 11. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ 2 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

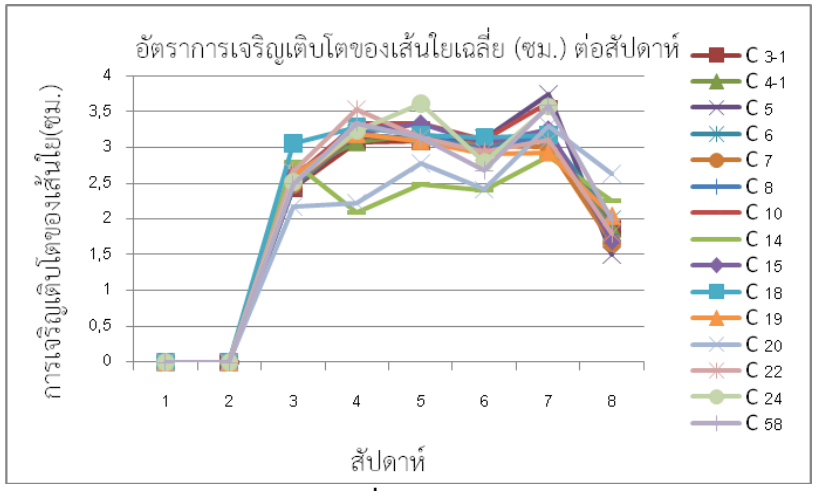
วันที่	ยานางิ2/2												
	C 1	C 2	C 3	C 4	C 8	C 14-1	C 22	C 23	C 24	C 27	C 30	C 31	C 32
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.16	2.26	2.08	2.22	2.23	2.73	1.77	2.34	2.33	1.49	2.31	2.75	2.02
15-ส.ค.	2.12	3.04	2.11	2.71	2.28	3.11	3.24	2.91	2.32	3.11	3.20	3.31	3.24
22-ส.ค.	2.99	2.57	2.08	2.77	2.42	2.58	2.88	3.07	2.22	2.89	2.54	2.62	2.91
29-ส.ค.	2.17	2.60	2.62	2.78	2.81	2.57	2.80	2.92	2.53	3.01	2.53	2.74	2.68
5-ก.ย.	2.51	2.43	3.04	2.53	2.78	2.80	2.41	2.46	2.57	2.48	2.12	3.08	2.65
12-ก.ย.	2.88	2.71	2.73	2.98	2.81	2.47	2.09	-	3.37	1.82	2.27	2.51	2.29
วันที่	**ยานางิ2/2**												
	C 33	C 34	C 35	C 36	C 38	C 39	C 44	C 45	C 46	C 58	C 65	C 66	C 68	C 77
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.32	2.87	1.96	2.73	2.17	2.01	2.73	2.13	1.79	1.69	1.80	1.71	1.96	1.91
15-ส.ค.	2.43	3.27	2.52	2.95	3.16	3.23	2.88	2.58	3.24	3.24	2.92	3.26	3.34	3.36
22-ส.ค.	2.73	3.03	2.73	2.30	3.08	2.98	2.48	2.53	3.06	3.13	2.93	2.93	3.17	3.13
29-ส.ค.	2.73	3.11	2.43	2.76	3.20	3.03	2.53	2.42	3.04	3.13	3.10	2.84	3.33	3.16
5-ก.ย.	2.67	3.41	2.46	3.02	2.43	2.40	2.74	2.53	3.08	2.83	2.47	2.14	2.62	2.93
12-ก.ย.	2.68	-	3.83	2.48	2.21	2.55	2.84	3.69	1.65	1.73	1.66	2.08	-	-



รูปที่ 27. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 12. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ยานางิ อ/1														
	C 3-1	C 4-1	C 5	C 6	C 7	C 8	C 10	C 14	C 15	C 18	C 19	C 20	C 22	C 24	C 58
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.43	2.66	2.62	2.45	2.49	2.46	2.58	2.80	2.63	3.07	2.62	2.18	2.67	2.53	2.50
15-ส.ค.	3.08	3.08	3.16	3.19	3.22	3.38	3.33	2.08	3.21	3.30	3.19	2.23	3.53	3.24	3.35
22-ส.ค.	3.09	3.20	3.15	3.12	3.09	3.18	3.33	2.48	3.34	3.19	3.09	2.78	3.13	3.63	3.15
29-ส.ค.	3.02	3.05	3.13	3.00	3.04	2.98	3.11	2.40	3.06	3.16	2.91	2.42	2.94	2.80	2.68
5-ก.ย.	3.18	3.12	3.75	3.18	3.02	3.18	3.63	2.88	3.26	3.18	2.93	3.31	3.10	3.58	3.59
12-ก.ย.	1.88	1.88	1.50	2.00	1.68	1.80	-	2.25	1.70	-	2.05	2.63	1.80	-	2.00

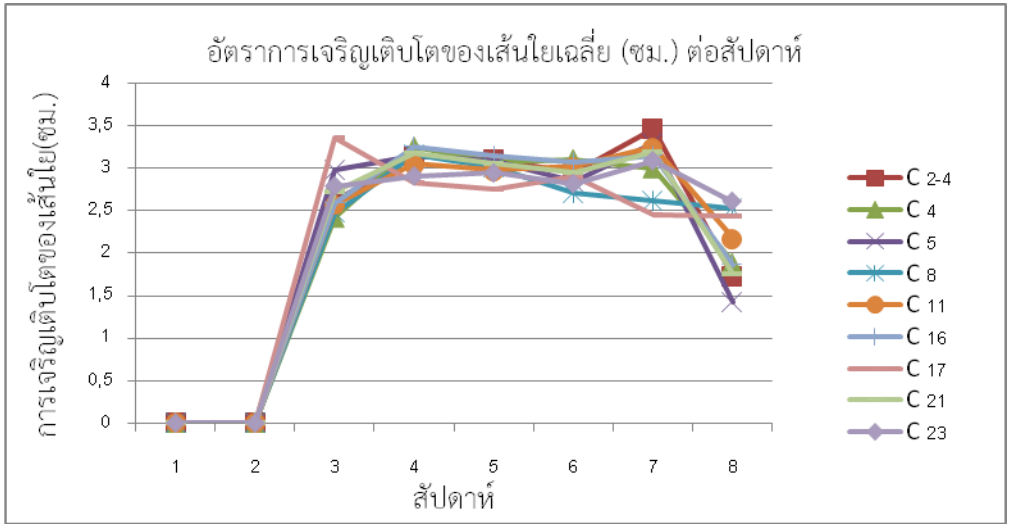


รูปที่ 28. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิอ่อน ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

63

ตารางที่ 12. (ต่อ)

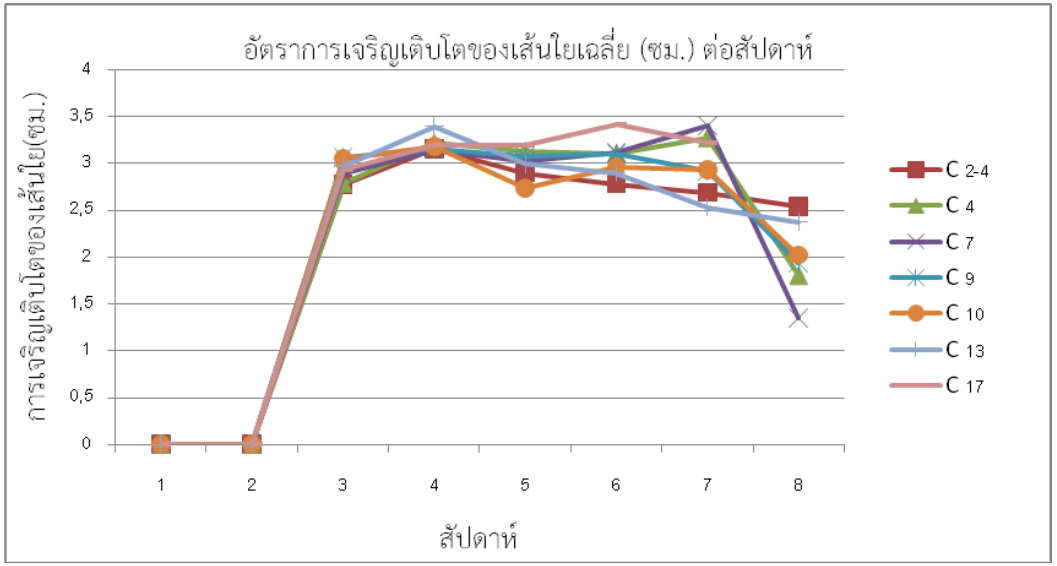
วันที่	ยานางิ อ/2								
	C 2-4	C 4	C5	C 8	C 11	C 16	C 17	C 21	C 23
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.63	2.41	2.98	2.47	2.57	2.58	3.36	2.73	2.79
15-ส.ค.	3.14	3.25	3.14	3.16	3.04	3.25	2.83	3.18	2.91
22-ส.ค.	3.10	3.06	3.08	3.00	2.97	3.14	2.76	3.05	2.95
29-ส.ค.	2.95	3.10	2.84	2.70	3.02	3.07	2.91	2.95	2.82
5-ก.ย.	3.47	2.99	3.30	2.62	3.24	3.14	2.45	3.19	3.09
12-ก.ย.	1.73	1.88	1.43	2.53	2.17	1.86	2.44	1.75	2.61



รูปที่ 28. (ต่อ)

ตารางที่ 13. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรดในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

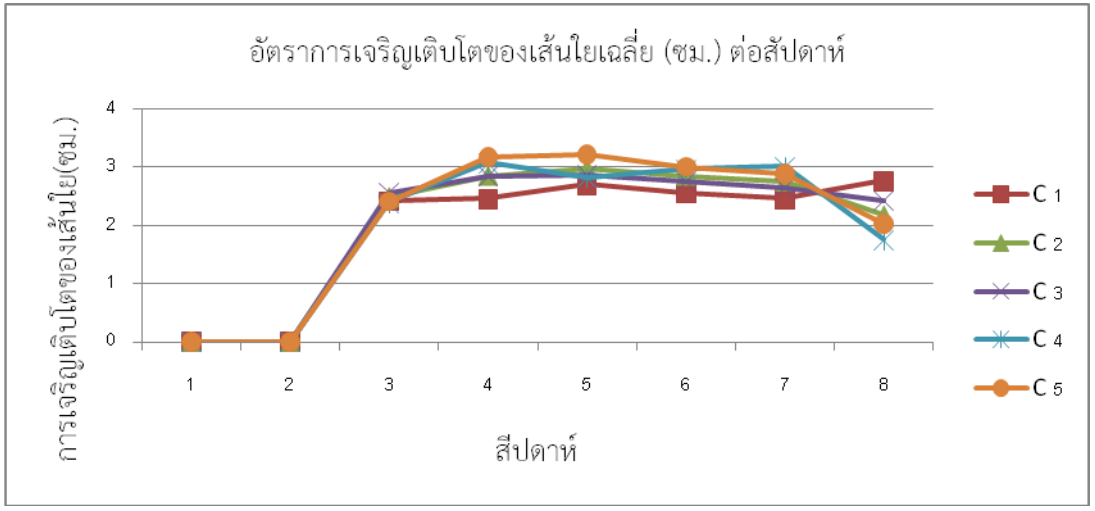
วันที่	ยานางิ ผ/1						
	C 2-4	C 4	C 7	C 9	C 10	C 13	C 17
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.77	2.78	2.89	3.06	3.05	2.98	2.93
15-ส.ค.	3.15	3.21	3.14	3.15	3.18	3.39	3.18
22-ส.ค.	2.89	3.13	3.02	3.08	2.73	3.00	3.18
29-ส.ค.	2.78	3.10	3.11	3.09	2.96	2.90	3.41
5-ก.ย.	2.68	3.27	3.40	2.91	2.93	2.53	3.21
12-ก.ย.	2.54	1.80	1.35	1.94	2.02	2.38	



รูปที่ 29. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 13. (ต่อ)

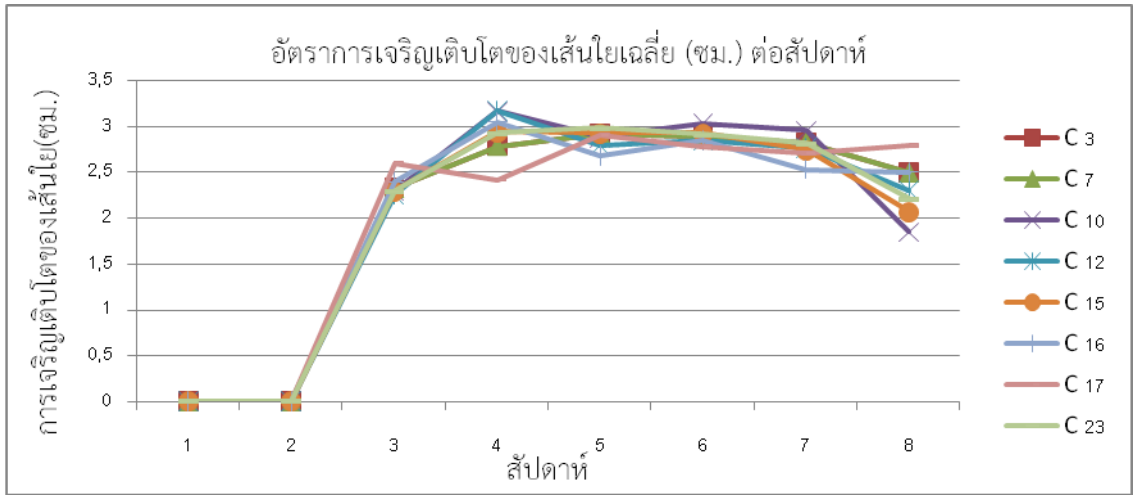
วันที่	ยานาง ผ/2				
	C 1	C 2	C 3	C 4	C 5
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.42	2.48	2.57	2.38	2.41
15-ส.ค.	2.46	2.84	2.84	3.08	3.17
22-ส.ค.	2.70	2.97	2.87	2.82	3.22
29-ส.ค.	2.55	2.84	2.76	2.96	3.00
5-ก.ย.	2.45	2.74	2.64	3.02	2.88
12-ก.ย.	2.77	2.17	2.43	1.75	2.02



รูปที่ 29. (ต่อ)

ตารางที่ 14. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

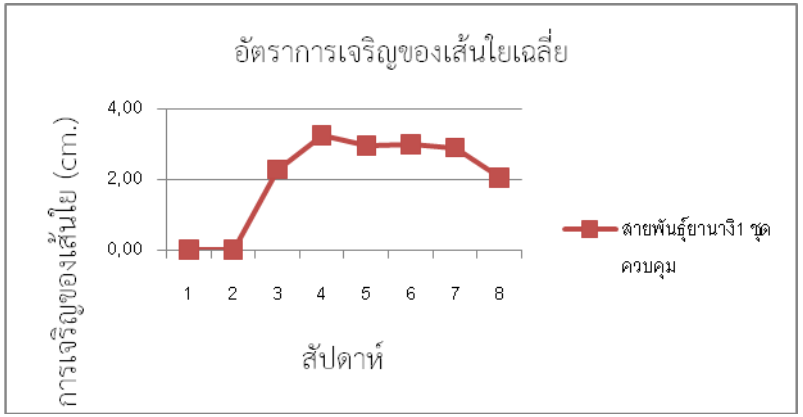
วันที่	ยานางิผง							
	C 3	C 7	C 10	C 12	C 15	C 16	C 17	C 23
24-ก.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8-ส.ค.	2.33	2.33	2.30	2.26	2.29	2.40	2.59	2.29
15-ส.ค.	2.78	2.78	3.17	3.18	2.94	3.05	2.42	2.93
22-ส.ค.	2.92	2.92	2.88	2.79	2.93	2.68	2.90	2.98
29-ส.ค.	2.88	2.88	3.03	2.85	2.93	2.85	2.78	2.92
5-ก.ย.	2.83	2.83	2.95	2.77	2.74	2.53	2.70	2.81
12-ก.ย.	2.49	2.49	1.85	2.30	2.07	2.51	2.79	2.21



รูปที่ 30. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 15. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

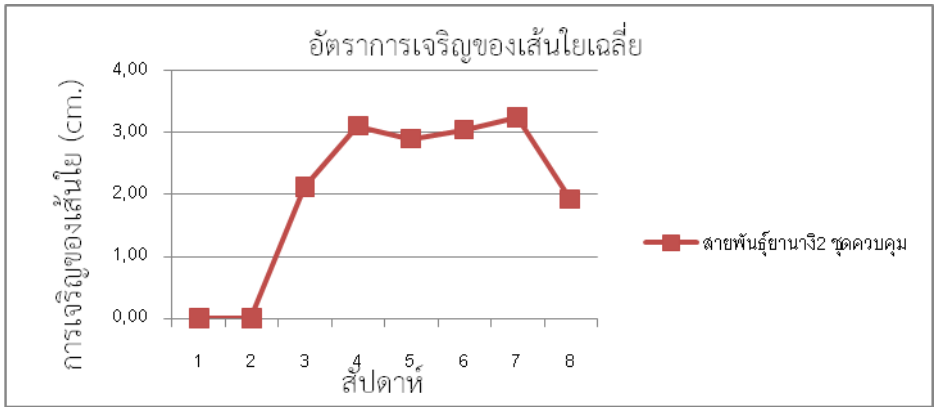
วันที่	ความยาวของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.)			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
8-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
15-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
22-ส.ค.	2.00	2.23	2.63	2.28
29-ส.ค.	3.20	3.18	3.40	3.26
5-ต.ค.	2.98	3.00	2.88	2.95
12-ต.ค.	3.63	2.73	2.61	2.99
19-ต.ค.	3.33	2.88	2.50	2.90
26-ต.ค.	2.17	2.38	1.63	2.06



รูปที่ 31. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ1 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 16. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

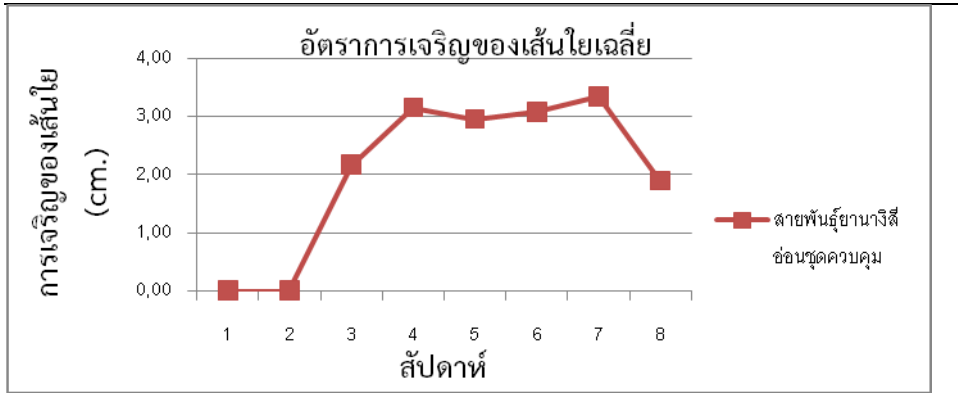
วันที่	ความยาวของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
8-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
15-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
22-ส.ค.	1.55	2.23	2.63	2.13
29-ส.ค.	3.08	2.88	3.40	3.12
5-ต.ค.	2.75	3.10	2.88	2.91
12-ต.ค.	3.70	2.88	2.60	3.06
19-ต.ค.	3.50	3.28	3.00	3.26
26-ต.ค.	1.93	2.25	1.63	1.93



รูปที่ 32. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิ2 ที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 17. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

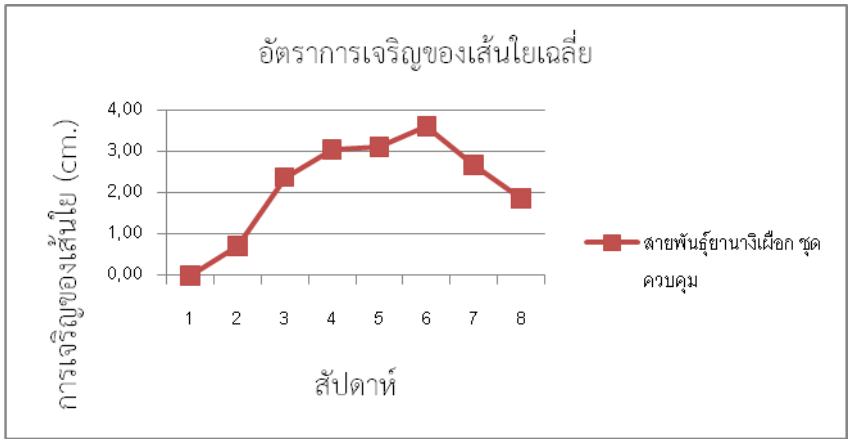
วันที่	ความยาวของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.)			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
8-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
15-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
22-ส.ค.	2.33	2.33	1.88	2.18
29-ส.ค.	3.03	3.33	3.15	3.17
5-ต.ค.	3.08	2.95	2.88	2.97
12-ต.ค.	2.90	2.93	3.45	3.09
19-ต.ค.	3.40	3.48	3.20	3.36
26-ต.ค.	1.83	2.00	1.88	1.90



รูปที่ 33. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิอ่อนที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 18. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 วัน

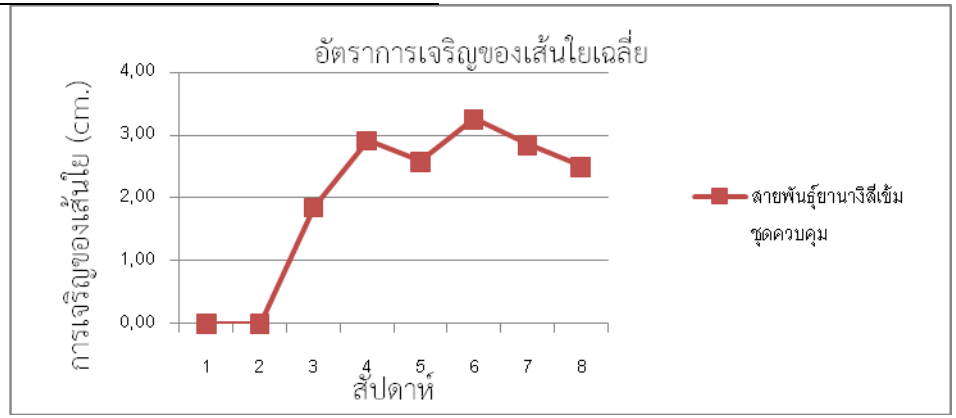
วันที่	ความยาวของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
8-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
15-ส.ค.	2.18	0.00	0.00	0.73
22-ส.ค.	3.15	1.73	2.25	2.38
29-ส.ค.	2.88	3.20	3.05	3.04
5-ต.ค.	2.48	3.03	2.80	3.10
12-ต.ค.	3.78	3.65	3.40	3.61
19-ต.ค.	1.00	4.13	2.88	2.67
26-ต.ค.	1.93	-	1.80	1.86



รูปที่ 34. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเผือกที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

ตารางที่ 19. อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน ที่บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 วัน

วันที่	ความยาวของเส้นใยเฉลี่ย (ซม.)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
8-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
15-ส.ค.	0.00	0.00	0.00	0.00
22-ส.ค.	1.75	1.75	2.05	1.85
29-ส.ค.	2.80	3.03	2.93	2.92
5-ต.ค.	2.60	2.50	2.65	2.58
12-ต.ค.	3.25	3.55	2.98	3.26
19-ต.ค.	2.80	2.98	2.78	2.85
26-ต.ค.	2.63	1.88	3.00	2.50



รูปที่ 35. อัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยเฉลี่ย (เซนติเมตร) ต่อสัปดาห์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยานางิเข้มที่ไม่ได้จากการฉายรังสี (กลุ่มควบคุม) ในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐาน.

การผลิตดอกเห็ดเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นและการจำแนกกลุ่ม

จากการศึกษาผลผลิตของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่เกิดจากการฉายรังสีแกมมาในวัสดุเพาะสูตรมาตรฐานหลังจากนำก้อนเชื้อเห็ดเข้าโรงเรือน เพื่อเปิดดอก ดังแสดงในรูปที่ 36. โดยประมาณ 7-10 วัน จะเกิดตุ่มดอกเห็ดขึ้น หลังจากนั้น ประมาณ 1 สัปดาห์ จึงเริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิต ดังแสดงในรูปที่ 37 ผลผลิตและคุณภาพดอกเห็ด ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า สายพันธุ์แม่ซึ่ง ได้แก่ ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิเข้ม ให้ผลผลิตของดอกเห็ด เท่ากับ 14.00, 13.91, 11.89, 15.75 และ 14.67 กรัมต่อถุงต่อรอบ ตามลำดับ. ในขณะที่เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากกลุ่มของยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิเข้ม หลังการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด ให้ผลผลิต 14.19-30.00, 14.43-20.38, 12.91-30.00, 16.00-24.26 และ 15.00-21.48 กรัมต่อถุงต่อรอบ ตามลำดับ. และพันธุ์กลายที่ได้หลังการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด ให้ผลผลิต 14.14-20.20, 14.00-27.50, 14.36-21.08, 14.44-23.07, 15.71-22.50 กรัมต่อถุงต่อรอบ ตามลำดับ. เมื่อพิจารณาลักษณะของดอกเห็ด พบว่า ในกลุ่มของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากกลุ่มของยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิเข้ม หลังการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด ลักษณะของหมวกดอก มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.14-2.41 เซนติเมตร ก้านดอกเห็ดมีความยาว 4.55-6.68 เซนติเมตร ก้านดอกเห็ดมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.51-0.75 เซนติเมตร และในกลุ่มของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากกลุ่มของยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิเข้ม หลังการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด ลักษณะของหมวกดอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.12-2.80 เซนติเมตร, ก้านดอกเห็ดมีความยาว 4.08-10.14 เซนติเมตร และก้านดอกเห็ดมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.61-1.03 เซนติเมตร ในขณะที่ในกลุ่มของสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ หมวกดอก มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.14-2.41 เซนติเมตร, ก้านดอกเห็ดมีความยาว 4.55-6.68 เซนติเมตร และก้านดอกเห็ดมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.51-0.75 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 20.

จากการทดลอง จะเห็นได้ว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสี ส่วนใหญ่ให้ผลผลิตและคุณภาพของดอกเห็ด ได้แก่ ขนาดของดอกเห็ด, ความยาวและความกว้างของก้านดอกเห็ด ที่ดีกว่าสายพันธุ์แม่ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ควบคุม. นอกจากนี้ ยังพบว่า สีของหมวกดอกรวมถึงสีของก้านดอกเห็ดยังมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยที่สีของหมวกดอกเห็ดและก้านจะมีลักษณะที่ซีดจางลง ดังแสดงในรูปที่ 38 หรือพันธุ์กลายบางสายพันธุ์ หมวกดอกยังมีลักษณะเป็น 2 สี โดยตรงกลางดอกมีลักษะเป็นสีน้ำตาลเข้มและค่อยๆ จางลงจนถึงขอบหมวกดอก ดังแสดงในรูปที่ 39 หรือผิวของหมวกดอก อาจจะมีลักษณะเป็นจีบ ดังแสดงในรูปที่ 40.

รูปที่ 36. ลักษณะการเปิดดอกของเห็ดโคนญี่ปุ่นในโรงเรือนเพาะ.

รูปที่ 37. ผลผลิตดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นหลังจากเปิดดอกในโรงเรือนเพาะ เป็นเวลา 15 วัน.

ยานางิ 2 Control

ยานางิ 2/2 C3 25 k

รูปที่ 38. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์กลาย (ยานางิ 2/2 C3) ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด (ขวา) เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (ซ้าย).

ยานางิเข้ม Control

ยานางิเข้ม C12 10k

รูปที่ 39. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์ยานางิเข้ม C12 ที่ผ่านการฉายรังสี 10 กิโลแรด (ขวา) เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (ซ้าย).

ยานางิ 2/1 C1 25k

ยานางิเผือก/1 C4 25k

รูปที่ 40. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นจากสายพันธุ์ยานางิ 2/1 C1 (ซ้าย) และสายพันธุ์ยานางิ 2/1 C1 (ขวา) ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด.

ตารางที่ 20. การศึกษาสัณฐานวิทยา (น้ำหนัก และคุณภาพของดอกเห็ด) โดยการเพาะในวัสดุเพาะที่เหมาะสมในการผลิตดอกเห็ด

สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง/รอบ)	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของหมวกดอก (ซม.)	ค่าเฉลี่ยของความยาวก้านดอกเห็ด (ซม.)	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของก้านดอกเห็ด (ซม.)
ย1	14.00	2.26	5.41	0.59
ย2	13.91	2.41	4.55	0.63
ยอ	11.89	2.14	5.32	0.55
ยผ	15.75	2.40	5.59	0.51
ยข	14.67	2.24	6.68	0.75
กลุ่มที่ฉายรังสี 10 กิโลแรด	ย1 14.19-30.00	2.23-2.75	3.90-7.00	0.58-1.20
	ย2 14.43-20.38	2.29-2.64	4.00-7.11	0.58-0.81
	ยอ 12.91-30.00	2.09-3.40	5.01-7.83	0.60-1.20
	ยผ 16.00-24.26	2.26-2.46	4.00-6.06	0.63-0.68
	ยข 15.00-21.48	2.18-2.44	5.33-7.75	0.59-0.90
กลุ่มที่ฉายรังสี 25 กิโลแรด	ย1 14.14-20.20	2.54-2.80	4.08-10.14	0.63-0.90
	ย2 14.00-27.50	2.12-2.49	5.18-8.60	0.63-1.03
	ยอ 14.36-21.08	2.15-2.49	5.10-6.51	0.61-0.85
	ยผ 14.44-23.07	2.29-2.50	5.51-7.77	0.61-0.80
	ยข 15.71-22.50	2.13-2.78	5.73-9.17	0.63-0.97

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางชนิดและแร่ธาตุในเห็ดโคนญี่ปุ่น

วิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการบางชนิด ได้แก่ โปรตีนของดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นที่เกิดจากการเพาะจากสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ทั้ง 24 สายพันธุ์ (ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด จำนวน 14 สายพันธุ์ และจากการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด จำนวน 10 สายพันธุ์ โดยวิเคราะห์ค่าโปรตีน, แร่ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), sodium (Na) แร่ธาตุอาหารรอง ได้แก่ iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn) และโลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว (Pb), สารหนู (As)) ตามมาตรฐานของห้องปฏิบัติการดินและพืช สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ดังแสดงในตารางที่ 21.

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในดอกเห็ดโคนญี่ปุ่น พบว่า โปรตีนที่ได้จากเห็ดสายพันธุ์แม่ ซึ่ง ได้แก่ ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิเข้ม มีปริมาณเท่ากับ 32.00, 36.50, 34.56, 25.13 และ 26.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ. ในขณะที่เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด และ 25 กิโลแรด ให้โปรตีนในระหว่าง 29.30-47.50 เปอร์เซ็นต์, 38.00-40.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ. โดยพบว่า เห็ดสายพันธุ์กลาย สายพันธุ์ ยอ/2 C48 ที่ได้จากการฉายรังสี 10 กิโลแรด ให้ปริมาณโปรตีนที่มากที่สุด คือ 47.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ เห็ดสายพันธุ์กลาย สายพันธุ์ ย2/2 C77 ที่ได้จากการฉายรังสี 25 กิโลแรด ให้ปริมาณโปรตีน 40.50 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 22. อย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้ พบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายส่วนใหญ่ ให้ปริมาณโปรตีนที่มากกว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ.

จากการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุในเห็ดโคนญี่ปุ่น ได้แก่ แร่ธาตุอาหารหลักและแร่ธาตุอาหารรองในดอกเห็ดสายพันธุ์แม่และสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง พบแร่ธาตุอาหารในปริมาณสูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของพงษ์สามารถ (2526) ได้รายงานว่า พบแร่ธาตุดังกล่าวในปริมาณที่สูงในเห็ดโคนญี่ปุ่น มากกว่าเห็ดกินได้หลายชนิด เช่น เห็ดเผาะ, เห็ดนางรม และเห็นเป๋าฮื้อ เป็นต้น. จากการทดลองพบว่า เห็ดสายพันธุ์กลายเกือบทุกสายพันธุ์ที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 10 และ 25 กิโลแรด ให้ค่าฟอสฟอรัส (P), แมกนีเซียม (Mg), โซเดียม (Na) และเหล็ก (Fe) ในปริมาณที่สูงกว่าเห็ดสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด และ 25 กิโลแรด ให้ค่าฟอสฟอรัส (P) 940-1,160 และ 990-1,200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, แมกนีเซียม (Mg) พบในปริมาณ 1,263.58-1,573.88 และ 1,034.41-1,285.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โซเดียม (Na) พบในปริมาณ 244.10-473.98 และ 250.19-467.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, เหล็ก (Fe)

พบในปริมาณ 28.79-60.88 และ 23.23-45.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่าแร่ธาตุอาหารหลักซึ่ง ได้แก่ แคลเซียม (Ca) ซึ่งเดิมตรวจพบในปริมาณ 35.67-142.81 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ เมื่อสายพันธุ์เห็ดที่ได้มีกลายพันธุ์เกิดขึ้นจากการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด ปริมาณแร่ธาตุดังกล่าว ตรวจไม่พบ และจากการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในกลุ่มสายพันธุ์ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด ส่วนใหญ่ตรวจไม่พบ สำหรับแมงกานีส (Mn) ก็มีแนวโน้มไปในทำนองเดียวกัน. จากการวิเคราะห์หาโลหะหนักในดอกเห็ดพบว่า ตรวจไม่พบในเห็ดโคนญี่ปุ่นทุกสายพันธุ์ ดังนั้น จากการทดลองในครั้งนี้อาจสรุปได้ว่ารังสีแกมมามีผลทำให้สายพันธุ์เห็ดมีการผลิตองค์ประกอบทางเคมีและแร่ธาตุเปลี่ยนแปลงไปโดยอาจจะเป็นไปได้ว่ามีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่บริเวณยีนหรือโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารอาหารและแร่ธาตุในดอกเห็ด.

ตารางที่ 21. ปริมาณโปรตีน แร่ธาตุอาหารหลัก (macronutrients) และแร่ธาตุอาหารรอง (micronutrients) และโลหะหนักในดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด

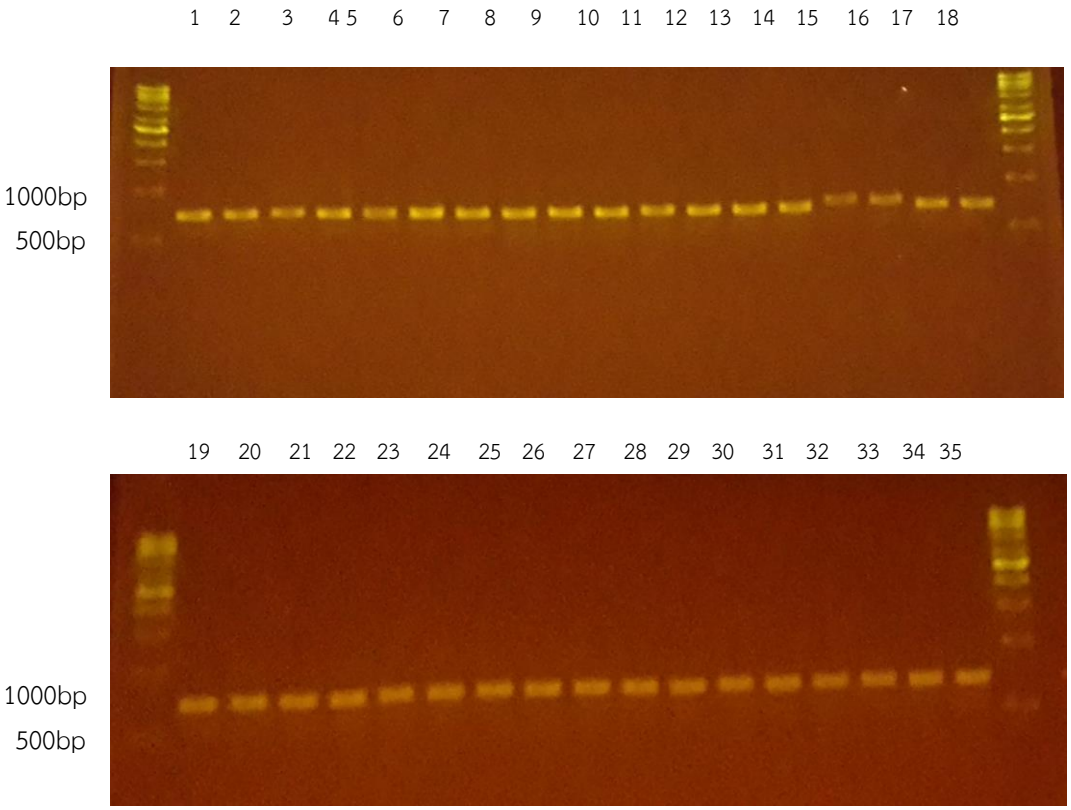
สายพันธุ์	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	แร่ธาตุอาหารหลัก (มก./กก.)				แร่ธาตุอาหารรอง (มก./กก.)					โลหะหนัก	
		P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	As
ย1	32.00	1000	24700	95.96	1029.10	223.02	24.24	88.97	ND	7.90	ND	ND
ย2	36.50	1080	26900	79.56	1105.33	265.77	28.19	99.35	ND	9.85	ND	ND
ยอ	34.56	980	28900	141.15	1119.94	206.78	23.24	108.19	ND	13.05	ND	ND
ยผ	25.13	930	27100	35.67	1127.28	245.46	28.68	94.03	ND	5.68	ND	ND
ยข	26.81	970	28400	142.81	1076.05	175.49	23.04	83.87	ND	8.23	ND	ND
ย1/2 C19	42.50	1160	24800	ND	1187.26	260.04	35..88	78.80	ND	ND	ND	ND
ย1/1 C42	41.38	1100	20100	ND	1263.58	263.27	38.61	71.69	ND	ND	ND	ND
ย2/1 C4	35.94	1140	24000	ND	1306.45	323.53	60.88	99.54	ND	ND	ND	ND
ย2/1 C21	33.19	1110	27000	ND	1301.87	352.51	37.24	69.64	ND	ND	ND	ND
ย2/1 C30	36.50	1170	24500	ND	1415.61	244.10	31.08	106.08	ND	ND	ND	ND
ย2/2 C25	38.19	1140	25700	ND	1573.88	389.89	56.96	56.05	ND	39.52	ND	ND
ยอ/1 C15	29.38	1160	25600	ND	1358.04	315.56	26.73	53.28	ND	25.91	ND	ND
ยอ/1 C46	38.56	1160	27000	ND	1274.67	436.34	30.61	60.21	ND	26.49	ND	ND
ยอ/2 C48	47.50	1130	26300	ND	1193.17	473.98	50.18	66.00	ND	29.94	ND	ND
ยผ/1 C18	39.50	1150	25000	ND	1389.74	293.80	34.30	103.42	ND	ND	ND	ND
ยผ/2 C11	38.00	1140	27800	ND	1340.31	272.25	30.07	112.85	ND	ND	ND	ND
ยผ/2 C27	36.00	1080	24900	ND	1366.06	324.32	28.79	94.09	ND	ND	ND	ND

ตารางที่ 22. ปริมาณโปรตีน แร่ธาตุอาหารหลัก (macronutrients) และแร่ธาตุอาหารรอง (micronutrients) และโลหะหนักในดอกเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด

สายพันธุ์	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	แร่ธาตุอาหารหลัก (มก./กก.)				แร่ธาตุอาหารรอง (มก./กก.)					โลหะหนัก	
		P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	As
ย1	32.00	1000	24700	95.96	1029.10	223.02	24.24	88.97	ND	7.90	ND	ND
ย2	36.50	1080	26900	79.56	1105.33	265.77	28.19	99.35	ND	9.85	ND	ND
ยอ	34.56	980	28900	141.15	1119.94	206.78	23.24	108.19	ND	13.05	ND	ND
ยผ	25.13	930	27100	35.67	1127.28	245.46	28.68	94.03	ND	5.68	ND	ND
ยข	26.81	970	28400	142.81	1076.05	175.49	23.04	83.87	ND	8.23	ND	ND
ย2/1 C1	40.06	1130	30100	98.69	1076.46	282.78	24.76	128.04	ND	ND	ND	ND
ย2/2 C3	38.00	990	31300	78.77	1112.76	467.15	35.57	96.07	ND	ND	ND	ND
ย2/2 C39	34.88	1130	29500	150.06	1034.41	265.36	25.51	113.69	ND	ND	ND	ND
ย2/2 C77	40.50	1090	28100	ND	1285.42	304.08	27.64	118.14	ND	ND	ND	ND
ยอ/1 C8	40.31	1100	29200	ND	1059.87	297.03	45.23	117.92	ND	ND	ND	ND
ยอ/1 C18	38.06	1200	30200	135.93	1051.54	292.84	28.71	129.40	ND	ND	ND	ND
ยอ/2 C16	36.50	1120	30500	ND	1042.88	250.19	24.12	109.45	ND	ND	ND	ND
ยผ/1 C4	39.75	1170	29300	ND	1110.14	311.75	28.46	126.66	ND	ND	ND	ND
ยผ/2 C5	38.56	1110	28500	ND	1072.35	276.91	23.23	116.36	ND	ND	ND	ND
ยข/1 C12	30.44	1060	30300	180.57	1035.48	251.11	31.85	113.68	ND	ND	ND	ND

การวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล (molecular genetic)

จากการสกัด DNA จากเส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่น และเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ITS-PCR โดยนำดีเอ็นเอของเชื้อเห็ดที่สกัดได้มาใช้เป็นต้นแบบสำหรับการเพิ่มปริมาณ โดยปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PRC) ร่วมกับ universal primer ITS 1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') กับ reversal primer ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ตามวิธีการดัดแปลงจาก William *et al*. (1990) และเมื่อนำมาตรวจเช็คปริมาณดีเอ็นเอพบว่าดีเอ็นเอของเห็ดโคนญี่ปุ่นบริเวณ ITS region มีขนาดประมาณ 700-750 bp ดังแสดงในรูปที่ 41.



รูปที่ 41. ดีเอ็นเอของเห็ดโคนญี่ปุ่นบริเวณ ITS region มีขนาดประมาณ 700-750 bp.

จากการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเห็ด โดยการสกัดดีเอนเอจากเส้นใยของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่คาดว่าเป็นสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูงโดย

นำมาตรวจสอบหาความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับเบสบริเวณ ITS โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS1 โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละสายพันธุ์ ดังนี้

ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1-4 บน 18S rDNA ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ยานางิ1, ยานางิ2, ยานางิ สีอ่อน, ยานางิเผือก และยานางิสีเข้ม และสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูงทั้ง 24 สายพันธุ์ ดังนี้

ย1 ITS 612 nucleotides

ACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAAC
CGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTT
AAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATG
CCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAA
ATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCT
AACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACA

ย2 ITS 614 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTC

ยอ ITS 627 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATC

ยผ ITS 616 nucleotides

ACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAAC
CGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTT
AAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATG
CCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAA
ATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCT
AACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTC

ยข ITS 421 nucleotides

GATGCTGGCCCCTTGCCGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCGCTTTCTTTGGCT
TTTGGGTCAGGGTTGGGGATGGCTAAAGGCTATCCCCTACCCTTTGAGACTATGTTTTTTCACTACTCCCCATTGTTACACCTCGAATCTTAGA
GGGTCGAAAGCTCCCTATGTGGACATTTTACAACTATCAGACTCTTTTCAACGGATCTCTTGGTTCTTCGATCGATGAAGAAAAGAGCGAAATG
CGGTAAGTAATGTAAAAATCAGAATTGCGGAATTCATTGAATCTTTGAATGCTCCTTGCGGCCCTTGGTGTTCCGAGGAGCATACGAGCTTGA
GTGTCATTGCATTATCACATTTTTGAGTTTTGAACGGCTTGGACTT

ย1/1 C42 (10 กิโลแรด) ITS 610 nucleotides

GATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCGCTTTCTTTGGCC
TTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAAACCTAGAATGTC
AAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCA
TTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATGCATTAGCTGGTC
GCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAACCGTCCCTTGTGG
ACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTC

ย1/2 C19 (10 กิโลแรด) ITS 614 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTC

ย2/1 C4 (10 กิโลแรด) ITS 646 nucleotides

AAACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGA
ACCGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTG
TTAAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAAC
GCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCA
TGCCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTT
AAATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTT
CTAACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCG

ย2/1 C21 (10 กิโลแรด) ITS 614 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTC

ย2/1 C30 (10 กิโลแรด) ITS 616 nucleotides

ACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAAC
CGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTT
AAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATG
CCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAA
ATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCT
AACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTC

ย2/2 C25 (10 กิโลแรด) ITS 629 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAG

ยอ/1 C15 (10 กิโลแรด) ITS 628 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCA

ยอ/1 C46 (10 กิโลแรด) ITS 629 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAG

ยอ/2 C48 (10 กิโลแรด) ITS 540 nucleotides

GTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTAT
CCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACA
ACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
AATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTG
GACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCT
ATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTC

ยผ/1 C18 (10 กิโลแรด) ITS 633 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTAG

ยผ/2 C11 (10 กิโลแรด) ITS 629 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAG

ยผ/2 C27 (10 กิโลแรด) ITS 623 nucleotides

AGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCGCTTTC
TTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAAACCTA
GAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA
TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTG
AGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATGCATTA
GCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAACCGTCC
CTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCA

ยขC3 (10 กิโลแรด) ITS 441 nucleotides

TCGGTGGGCTCGATGCTGGCCCTTGGCGCATGTGCACCGCCCGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCGC
TTTCTTTGGCCTTTGGGTCAGGGTTGGGAACGGCGGAAAGGGTATCCCCTATCCCTCGAGACTATATTTTTTCACTACACAACACTGTTACACC
TAGAAACTTAAAGGCTCAAAGGGTGCATATGTGGCCATTTTAAAACTATCAGACTCTTTTCAACAGATCTCTTGGTGCTTCCATCGACGAAGAA
AACAGCGAAATGGGATAAGTAATGTAAAATTCAGAATTGCATAAATCATCGAATCTTTGAATGCCCCTTCCGGCCCTGGGTGTTCCGAGGAGG
AAGACGAGCTTGAGTGTCGTTACATTATCACCCTCTTGACTTTTGAACGGCTTGGACGTGGGGGTAC

ยขC12 (10 กิโลแรด) ITS 393 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTTGGGTCAGGGTTGGGGATCGGCTAATGGGTATCCCCCCCCCTTTTAGTCTCTGTTTTTTCACTACACCCCACTGTTAAAA
CTCCAATGTTAAAAGCTCCTTTTGGGCATATTTTAACACCATTCAACTTTTTTCAACGGATCTTCTGGTGCCTCCATCGACGAAGAAAACCGCG
AAAAGCTGTAAGTAATGTAGAATTCAGAATTCTTTGAATCATCGAATCTTTGAATGCACCTTGCGGTCCTTGGTATTCCGAGGAGGATGCCGGC
TTGAGTGTCTTTACAAA

ย2/1 C1 (25 กิโลแรด) ITS 571 nucleotides

CTCGGTGGGTTGGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACC
GCTTTTTTTGGCCTTTGGGTCAGGGTTGGGGATGGCTGATGGGCTATCCCCCCCCCCCTTGAGACTCTGTTTTTTCACCACACCACACTGTTAAA

ACTAGAATGGTGAAAGGCTCTATGTGGGCATATTTAAACACCATTCAACTTTTTGCAACGGATCTCCTGGTGCCTCCCTCGATGAAGAACACAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTTGAATTCAGAATTCTGCGAATCATCGAATCTTTGAATGCCCCTTGCGGCCCTTGGTGTTCCGAGGAGCATGGC
GGCTTGAGTGTCGTTACATTCTTAACCATTTGACTTTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTTGGGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAA
ATCCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGTGCTGACTTGGTGTGATAATTCTATATGCACCGCTTCGGCGTGGATGTTTTTTGGGAGGCTGCTTTCTA
ACCGTCCCT

ย2/2 C3 (25 กิโลแรด) ITS 570 nucleotides

ACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGGCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTTTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAAC
CGCTTTCTTTGGCTTTTGGGTCAGGGTTGGGGACTGGTGAAGGGCTATCCCCCCCCCCTTTAGTCTCTGTTTTTTCACCACTCAACATTGTTGA
AACTCGAATGTTAAAAGGTGCAAGGGTGGATATTTTAACACCTTACAACTTTTTTCAACAGAATCTCTGGGGTTTCGCCTCGTTGAAGAAAACA
GCGAAATGCGATAAGTAATGAAGAATTTAGAATTCTGTGAATCATCGAATCTTTGAATGCCCCTTGCCGTCCTTGGTATTCCGAGGAGGATGGC
GGCTTGAGTGTCGTTACATTCTCACCCGCTTGACTTTTGAACGGCTTGGACGTGGGGGTACTTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTA
AATCCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCCTGCTGACTTGGTGTGATAATTCTATATGCACCGCTTCGGCGTGGAGGATGTTTGGGAGGCTGCTTTCT
AACCGTC

ย2/2 C39 (25 กิโลแรด) ITS 615 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCT

ย2/2 C77 (25 กิโลแรด) ITS 642 nucleotides

CGAATAAACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGG
CTTGAACCGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACAC
CATTGTTAAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGA
AGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAG
GAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCT
CCCCTTAAATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGC
TGCTTTCTAACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTAG

ยอ/1 C8 (25 กิโลแรด) ITS 633 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTAG

ยอ/1 C18 (25 กิโลแรด) ITS 629 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAG

ยอ/2 C16 (25 กิโลแรด) ITS 632 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTA

ยผ/1 C4 (25 กิโลแรด) ITS 633 nucleotides

CTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTGAACCG
CTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATTGTTAA
ACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT
GTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCTTAAATG
CATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTTTCTAAC
CGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTAG

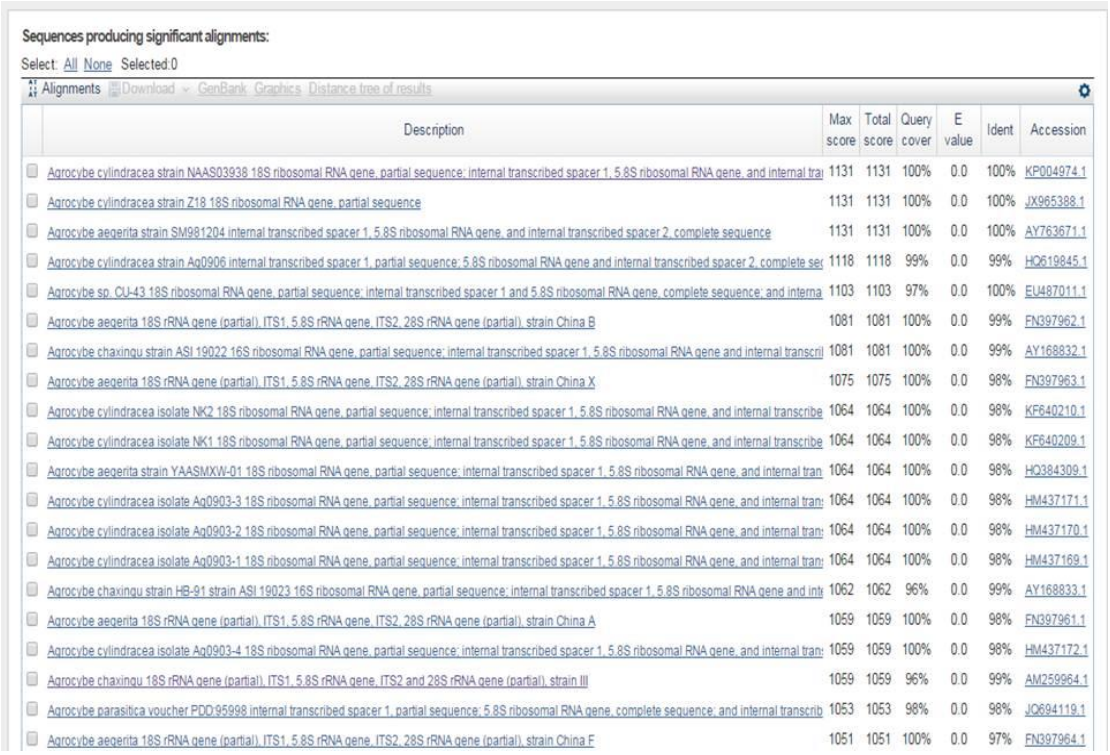
ยผ/2 C5 (25 กิโลแรด) ITS 638 nucleotides

TAAACCTCGGTGGGTTTGATGCTGGCCCCTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACCTGTGCACCCTTTGTAGGCTTG
AACCGCTTTCTTTGGCCTTCGGGTCAGTGTTGGGGACTGCTGAAATGGCTATCCCCTACCGTTCGAGTCTATGTTTTTTACACTACACACCATT
GTTAAACCTAGAATGTCAAAGGCTCTATGTGTGCCTATCTAAACGCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAA
CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGC
ATGCCTGTTTGAGTGTCATTACATTCTCAACCGTTTGAATTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCT
TAAATGCATTAGCTGGTCGCCCCTCTCGCGTTGACTTGGTGTGATAATTCTATTTGCACCGCTTTGGCGTGGATGTTATTTTGGGAGGCTGCTT
TCTAACCGTCCCTTGTGGACAGTAGTCTCTTTCATTAGAAAGAGCAATGACACCTCTTGACCTCAAATCAGGTAG

ยขC12 (25 กิโลแรด) ITS 554 nucleotides

TGGGTTTGATGCTGGCCCGTTGGGGCATGTGCACCGCCTGTCGTTCTTTATTTCTTCTCCACTCTGTGCACCCTTTGTAGGGTAGACTTGAACC
GCTTTCTTTGGCCTTTGGGTCGGTGATTGGGAACTGCTAAAGGGGATCCCCCCCCCCTTTTAGTCTCTGTTTTTTCCCTACACACCACTGTTGAA
ACTACAATGATGAAAGGTGCTCTATGGGTGATTTTATAACCATTATACTTTTTTCAACATCGGATCTCCTGGTTCTTCTCTCAACGAAGAAAAC
AGCGAAAAGCTATAAGAAATGAAGATTGCAGAATTCTGCGAATCATCGAATCTTTGAATGCCCCTTGTCGTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATG
GCGGCTTGAGTGTCGTTACATTATCACCCATTCGACTTTTGAACGGCTTGGACTTGGGGGTACTTTGTGCCGGCCCTAAAGGTCGGCTCCCCT
GAAATCCTTTATCAGGTCGCCCCTCTCGTGCTGACTTGGTGTGATAATTCTATTAGCACCGCTTCGGCGTGGATGATGTTTGGGGG

ผลการจัดจำแนกชนิดของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคอณูชีววิทยา (Molecular Technique) จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลใน GenBank (2 ลำดับแรก) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* หรือ Yangi mushroom เท่า 100 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 42, 43, 44, 45 และ 46.



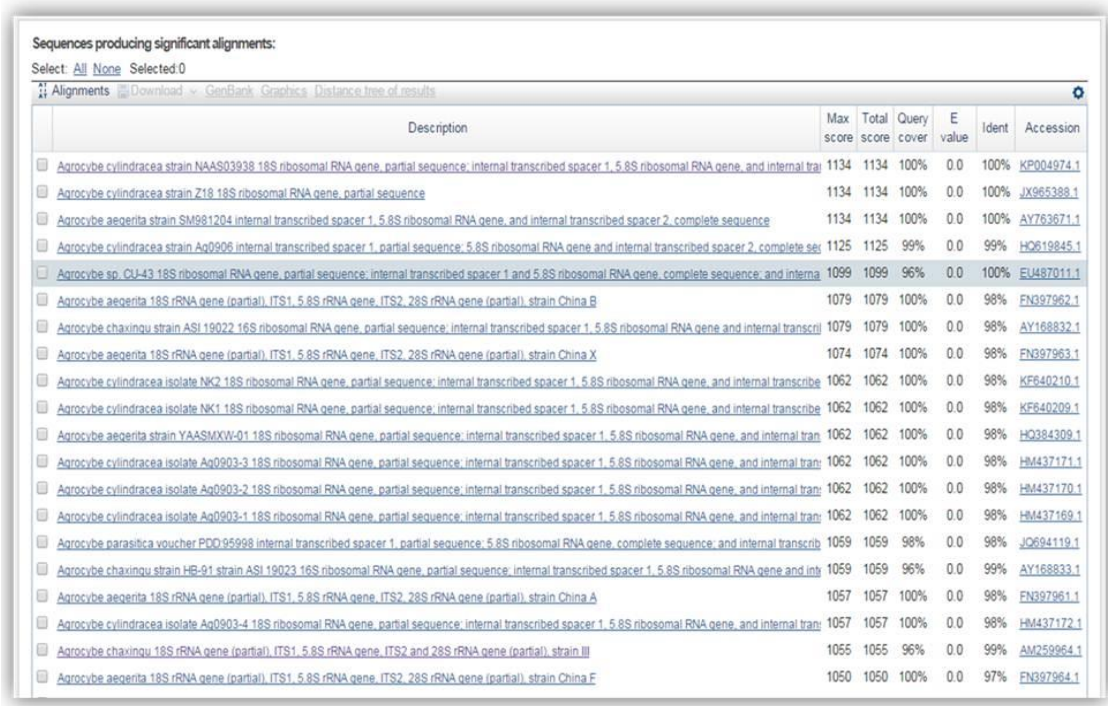
Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	1131	1131	100%	0.0	100%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1131	1131	100%	0.0	100%	JX965388.1
Agrocybe aegerita strain SM981204 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1131	1131	100%	0.0	100%	AY763671.1
Agrocybe cylindracea strain Ag0906 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1118	1118	99%	0.0	99%	HQ619845.1
Agrocybe sp. CU-43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and interna	1103	1103	97%	0.0	100%	EU487011.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	1081	1081	100%	0.0	99%	FN397962.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri	1081	1081	100%	0.0	99%	AY168832.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	1075	1075	100%	0.0	98%	FN397963.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1064	1064	100%	0.0	98%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1064	1064	100%	0.0	98%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASMXW-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1064	1064	100%	0.0	98%	HQ384309.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1064	1064	100%	0.0	98%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1064	1064	100%	0.0	98%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1064	1064	100%	0.0	98%	HM437169.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and int	1062	1062	96%	0.0	99%	AY168833.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China A	1059	1059	100%	0.0	98%	FN397961.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1059	1059	100%	0.0	98%	HM437172.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	1059	1059	96%	0.0	99%	AM259964.1
Agrocybe parasitica voucher PDD:95998 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcrib	1053	1053	98%	0.0	98%	JQ694119.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China F	1051	1051	100%	0.0	97%	FN397964.1

รูปที่ 42. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย1 กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.



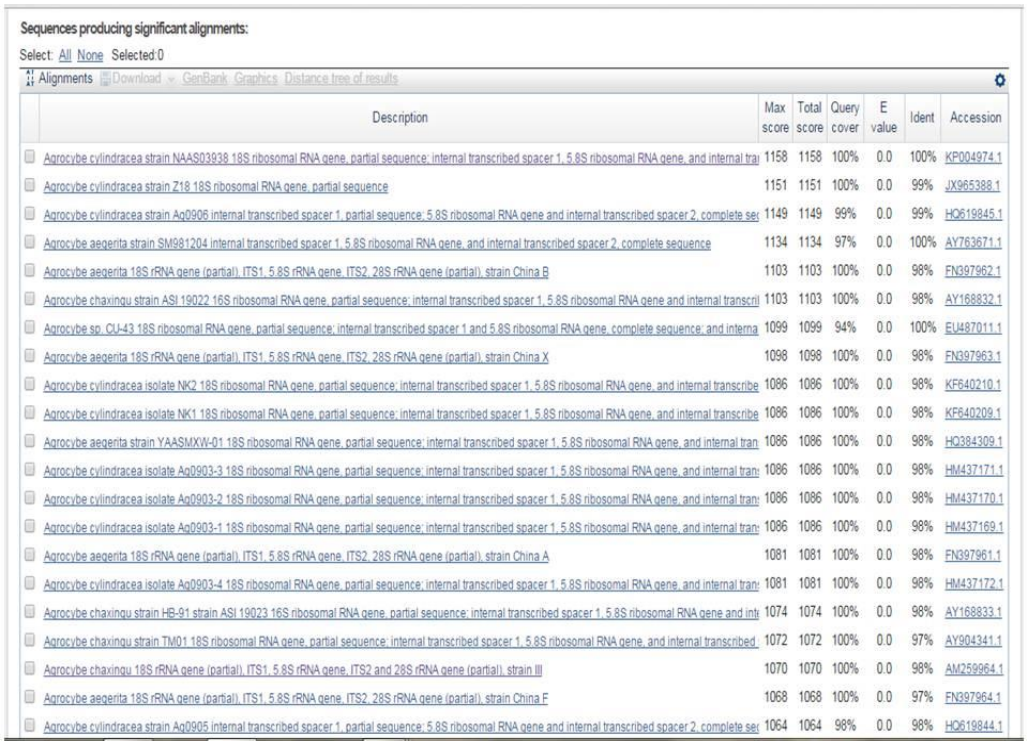
Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	1134	1134	100%	0.0	100%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1134	1134	100%	0.0	100%	JX965388.1
Agrocybe aegerita strain SM981204 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1134	1134	100%	0.0	100%	AY763671.1
Agrocybe cylindracea strain Ag0906 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1125	1125	99%	0.0	99%	HQ619845.1
Agrocybe sp. CU-43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and interna	1099	1099	96%	0.0	100%	EU487011.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	1079	1079	100%	0.0	98%	FN397962.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri	1079	1079	100%	0.0	98%	AY168832.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	1074	1074	100%	0.0	98%	FN397963.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1062	1062	100%	0.0	98%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1062	1062	100%	0.0	98%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASMXW-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1062	1062	100%	0.0	98%	HQ384309.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1062	1062	100%	0.0	98%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1062	1062	100%	0.0	98%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1062	1062	100%	0.0	98%	HM437169.1
Agrocybe parasitica voucher PDD:95998 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcrib	1059	1059	98%	0.0	98%	JQ694119.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and int	1059	1059	96%	0.0	99%	AY168833.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China A	1057	1057	100%	0.0	98%	FN397961.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1057	1057	100%	0.0	98%	HM437172.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	1055	1055	96%	0.0	99%	AM259964.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China F	1050	1050	100%	0.0	97%	FN397964.1

รูปที่ 43. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2 กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.



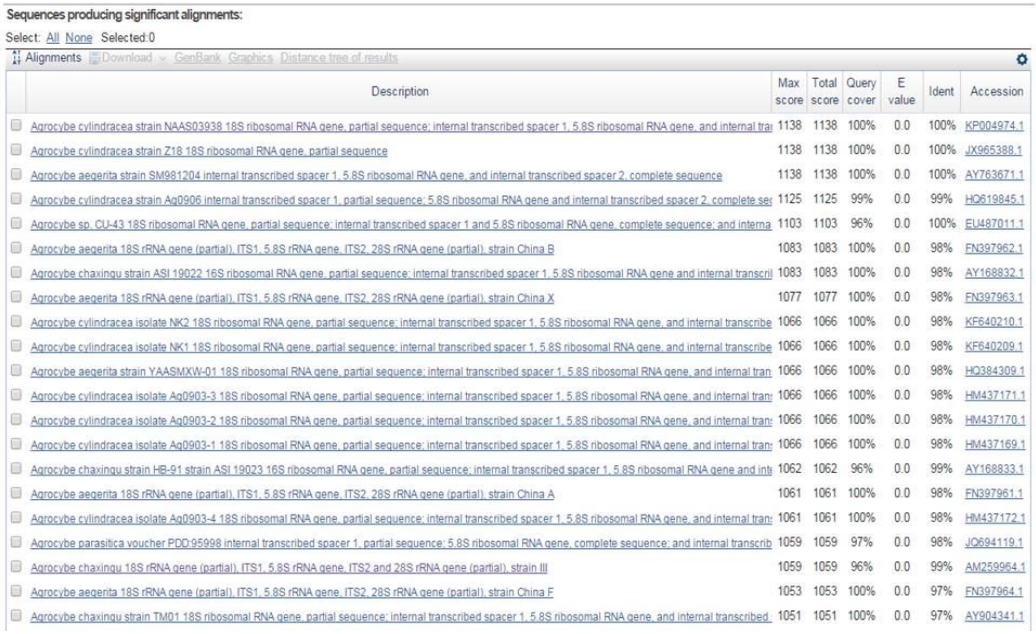
Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	1158	1158	100%	0.0	100%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1151	1151	100%	0.0	99%	JX965388.1
Agrocybe cylindracea strain Aq0906 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1149	1149	99%	0.0	99%	HQ619845.1
Agrocybe aegerita strain SM981204 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1134	1134	97%	0.0	100%	AY763671.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	1103	1103	100%	0.0	98%	FN397962.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri	1103	1103	100%	0.0	98%	AY168832.1
Agrocybe sp. CU-43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and interna	1099	1099	94%	0.0	100%	EU487011.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	1098	1098	100%	0.0	98%	FN397963.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1086	1086	100%	0.0	98%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1086	1086	100%	0.0	98%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASMXW-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1086	1086	100%	0.0	98%	HQ384309.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1086	1086	100%	0.0	98%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1086	1086	100%	0.0	98%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1086	1086	100%	0.0	98%	HM437169.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China A	1081	1081	100%	0.0	98%	FN397961.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1081	1081	100%	0.0	98%	HM437172.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and int	1074	1074	100%	0.0	98%	AY168833.1
Agrocybe chaxingu strain TM01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed	1072	1072	100%	0.0	97%	AY904341.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	1070	1070	100%	0.0	98%	AM259964.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China F	1068	1068	100%	0.0	97%	FN397964.1
Agrocybe cylindracea strain Aq0905 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1064	1064	98%	0.0	98%	HQ619844.1

รูปที่ 44. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์สีอ่อน (ยอ) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.



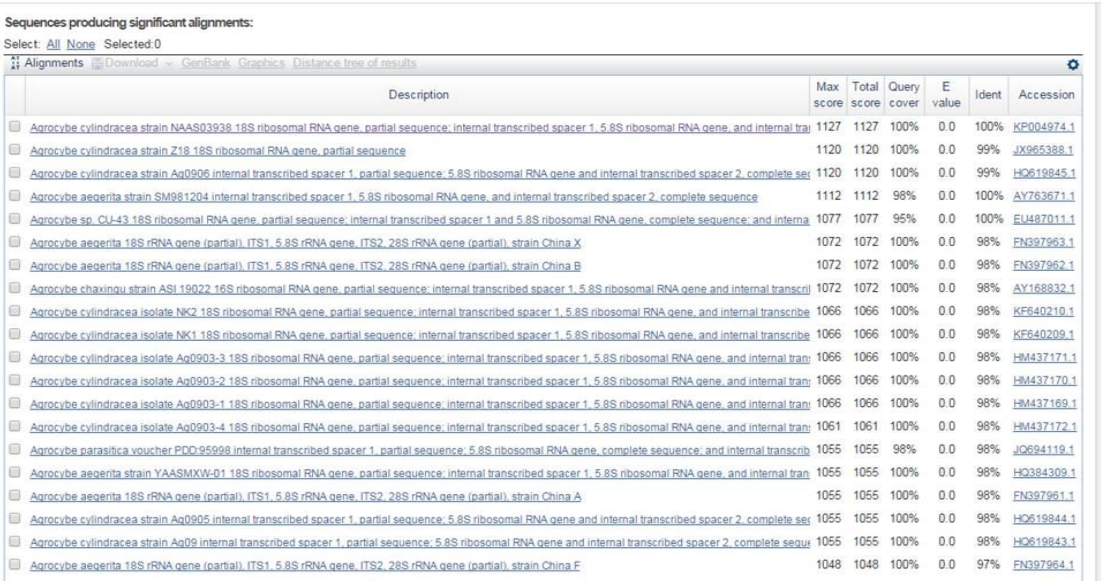
Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	1138	1138	100%	0.0	100%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1138	1138	100%	0.0	100%	JX965388.1
Agrocybe aegerita strain SM981204 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1138	1138	100%	0.0	100%	AY763671.1
Agrocybe cylindracea strain Aq0906 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1125	1125	99%	0.0	99%	HQ619845.1
Agrocybe sp. CU-43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and interna	1103	1103	96%	0.0	100%	EU487011.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	1083	1083	100%	0.0	98%	FN397962.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri	1083	1083	100%	0.0	98%	AY168832.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	1077	1077	100%	0.0	98%	FN397963.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1066	1066	100%	0.0	98%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1066	1066	100%	0.0	98%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASMXW-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HQ384309.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HM437169.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and int	1062	1062	96%	0.0	99%	AY168833.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China A	1061	1061	100%	0.0	98%	FN397961.1
Agrocybe cylindracea isolate Aq0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1061	1061	100%	0.0	98%	HM437172.1
Agrocybe parasitica voucher PDD:95998 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcrib	1059	1059	97%	0.0	98%	JQ694119.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	1059	1059	96%	0.0	99%	AM259964.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China F	1053	1053	100%	0.0	97%	FN397964.1
Agrocybe chaxingu strain TM01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed	1051	1051	100%	0.0	97%	AY904341.1

รูปที่ 45. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์สีเผือก (ยผ) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.



Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

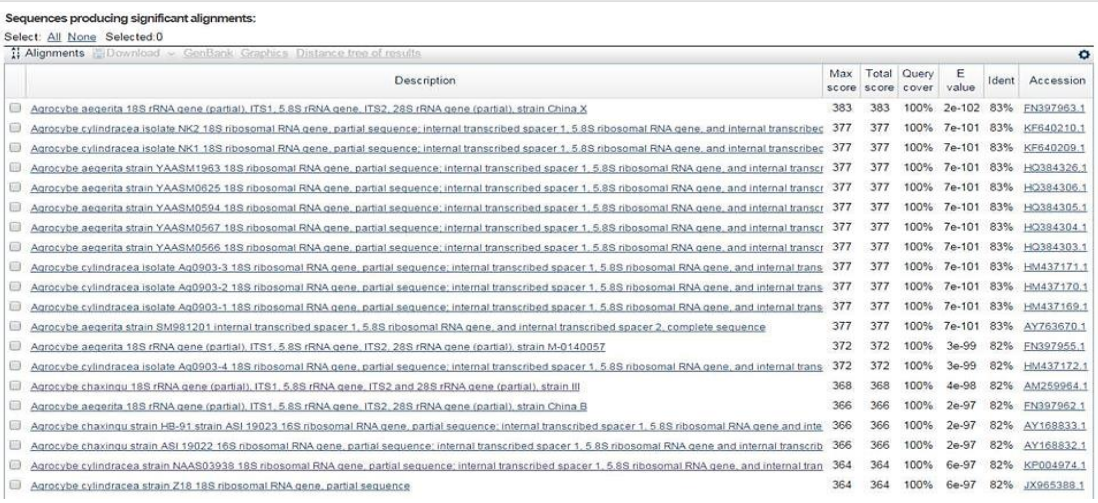
Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	1127	1127	100%	0.0	100%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1120	1120	100%	0.0	99%	JX965388.1
Agrocybe cylindracea strain Ag0906 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1120	1120	100%	0.0	99%	HQ619845.1
Agrocybe aegerita strain SM981204 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1112	1112	98%	0.0	100%	AY763671.1
Agrocybe sp. CU-43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and interna	1077	1077	95%	0.0	100%	EU487011.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	1072	1072	100%	0.0	98%	FN397963.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	1072	1072	100%	0.0	98%	FN397962.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri	1072	1072	100%	0.0	98%	AY168832.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1066	1066	100%	0.0	98%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	1066	1066	100%	0.0	98%	KF640209.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1066	1066	100%	0.0	98%	HM437169.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1061	1061	100%	0.0	98%	HM437172.1
Agrocybe parasitica voucher PDD:95998 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcrib	1055	1055	98%	0.0	98%	JQ694119.1
Agrocybe aegerita strain YAASMXW-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	1055	1055	100%	0.0	98%	HQ384309.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China A	1055	1055	100%	0.0	98%	FN397961.1
Agrocybe cylindracea strain Ag0905 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete se	1055	1055	100%	0.0	98%	HQ619844.1
Agrocybe cylindracea strain Ag09 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequ	1055	1055	100%	0.0	98%	HQ619843.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China F	1048	1048	100%	0.0	97%	FN397964.1

รูปที่ 46. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์สีเข้ม (ยข) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.

การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C3 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด ไปเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* isolate NK2 หรือ Yanagi Matsutake mushroom เท่ากับ 83 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 47.



Sequences producing significant alignments:

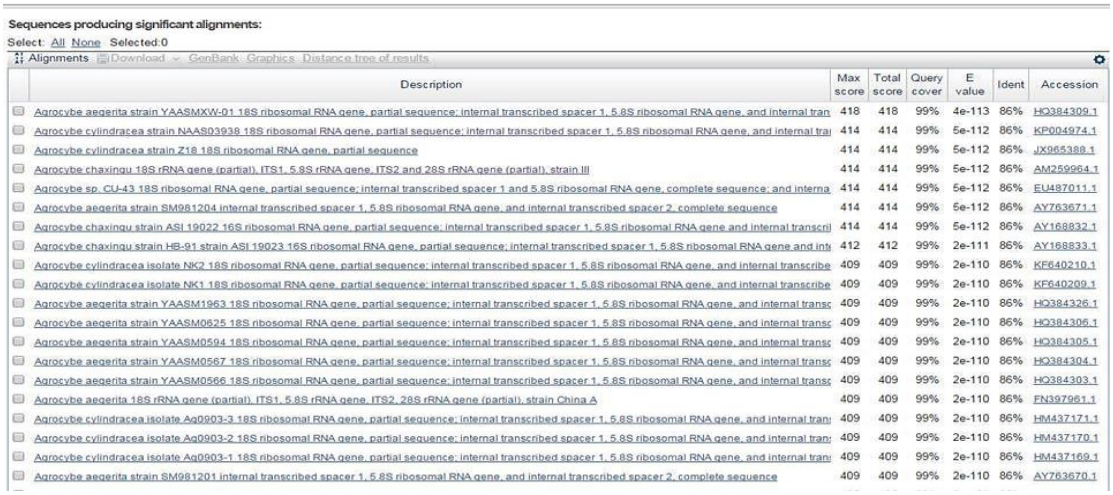
Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	383	383	100%	2e-102	83%	FN397963.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	377	377	100%	7e-101	83%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	377	377	100%	7e-101	83%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASM1963 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	377	377	100%	7e-101	83%	HQ384326.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0625 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	377	377	100%	7e-101	83%	HQ384306.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0594 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	377	377	100%	7e-101	83%	HQ384305.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0567 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	377	377	100%	7e-101	83%	HQ384304.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0566 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	377	377	100%	7e-101	83%	HQ384303.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	377	377	100%	7e-101	83%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	377	377	100%	7e-101	83%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	377	377	100%	7e-101	83%	HM437169.1
Agrocybe aegerita strain SM981201 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	377	377	100%	7e-101	83%	AY763670.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain M-0140057	372	372	100%	3e-99	82%	FN397955.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	372	372	100%	3e-99	82%	HM437172.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	368	368	100%	4e-98	82%	AM259964.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	366	366	100%	2e-97	82%	FN397962.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and inte	366	366	100%	2e-97	82%	AY168833.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	366	366	100%	2e-97	82%	AY168832.1
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	364	364	100%	6e-97	82%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	364	364	100%	6e-97	82%	JX965388.1

รูปที่ 47. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C3 (10 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยข C12 ที่ผ่านการฉายรังสี 10 กิโลแรด ไปเปรียบเทียบความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* isolate NAAS03938 หรือ Yanagi Matsutake mushroom เท่ากับ 86 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 48.



Sequences producing significant alignments:

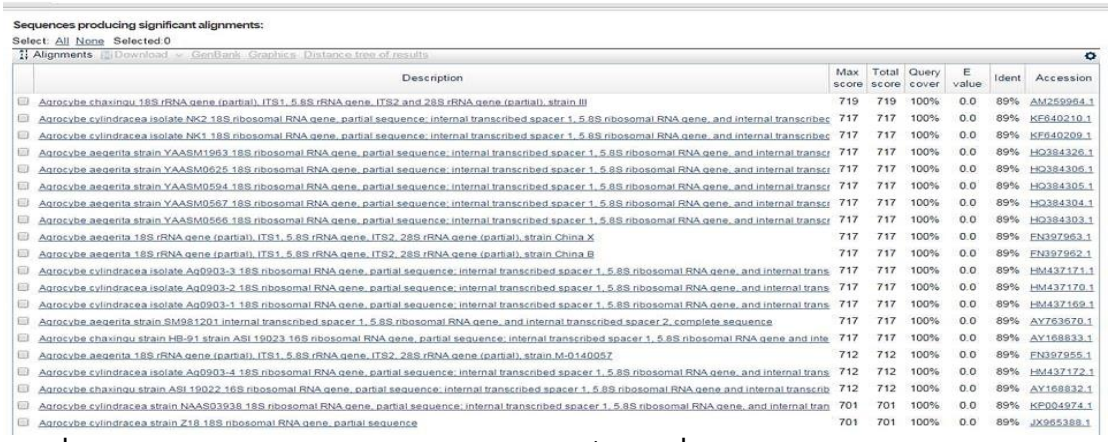
Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe aegerita strain YAASMXW-01 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	418	418	99%	4e-113	86%	HQ384309.1
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	414	414	99%	5e-112	86%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	414	414	99%	5e-112	86%	JX965388.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	414	414	99%	5e-112	86%	AM259964.1
Agrocybe sp. CU-43 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and interna	414	414	99%	5e-112	86%	EU487011.1
Agrocybe aegerita strain SM981204 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	414	414	99%	5e-112	86%	AY763671.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri	414	414	99%	5e-112	86%	AY168832.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and int	412	412	99%	2e-111	86%	AY168833.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	409	409	99%	2e-110	86%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribe	409	409	99%	2e-110	86%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASM1963 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transc	409	409	99%	2e-110	86%	HQ384326.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0625 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transc	409	409	99%	2e-110	86%	HQ384306.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0594 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transc	409	409	99%	2e-110	86%	HQ384305.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0567 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transc	409	409	99%	2e-110	86%	HQ384304.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0566 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transc	409	409	99%	2e-110	86%	HQ384303.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China A	409	409	99%	2e-110	86%	FN397961.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	409	409	99%	2e-110	86%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	409	409	99%	2e-110	86%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	409	409	99%	2e-110	86%	HM437169.1
Agrocybe aegerita strain SM981201 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	409	409	99%	2e-110	86%	AY763670.1

รูปที่ 48. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ยข C12 (10 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2/1 C1 ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด ไปเปรียบเทียบความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* isolate NK2 หรือ Yanagi Matsutake mushroom เท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 49.



Sequences producing significant alignments:

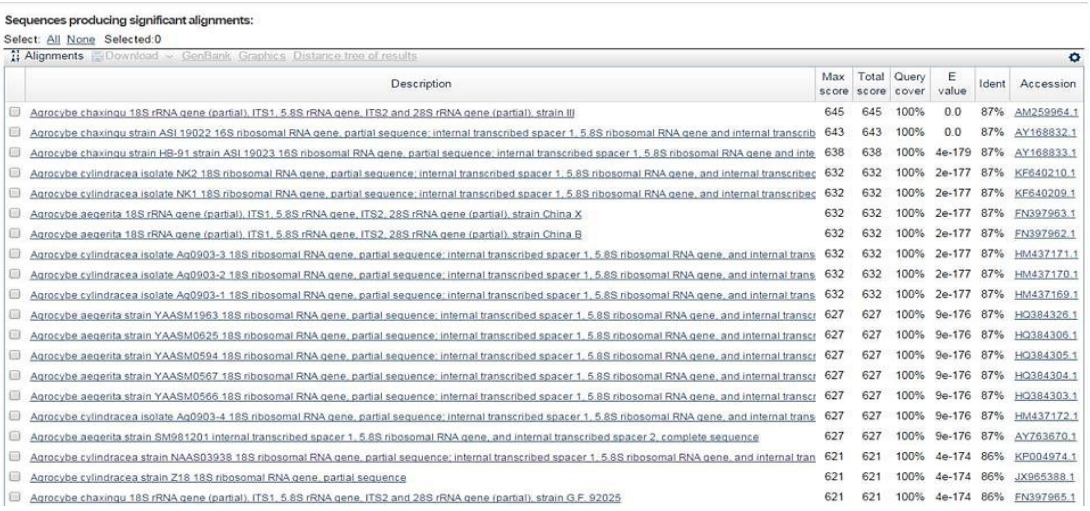
Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	719	719	100%	0.0	89%	AM259964.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	717	717	100%	0.0	89%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	717	717	100%	0.0	89%	KF640209.1
Agrocybe aegerita strain YAASM1963 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	717	717	100%	0.0	89%	HQ384326.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0625 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	717	717	100%	0.0	89%	HQ384306.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0594 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	717	717	100%	0.0	89%	HQ384305.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0567 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	717	717	100%	0.0	89%	HQ384304.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0566 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	717	717	100%	0.0	89%	HQ384303.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	717	717	100%	0.0	89%	FN397963.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	717	717	100%	0.0	89%	FN397962.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	717	717	100%	0.0	89%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	717	717	100%	0.0	89%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	717	717	100%	0.0	89%	HM437169.1
Agrocybe aegerita strain SM981201 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	717	717	100%	0.0	89%	AY763670.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and inte	717	717	100%	0.0	89%	AY168833.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain M-0140057	712	712	100%	0.0	89%	FN397955.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	712	712	100%	0.0	89%	HM437172.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	712	712	100%	0.0	89%	AY168832.1
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	701	701	100%	0.0	89%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	701	701	100%	0.0	89%	JX965388.1

รูปที่ 49. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2/1C1 (25 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2/2 C3 ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด ไปเปรียบเทียบความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* isolate NK2 หรือ Yanagi Matsutake mushroom เท่ากับ 87 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 50.



Sequences producing significant alignments:

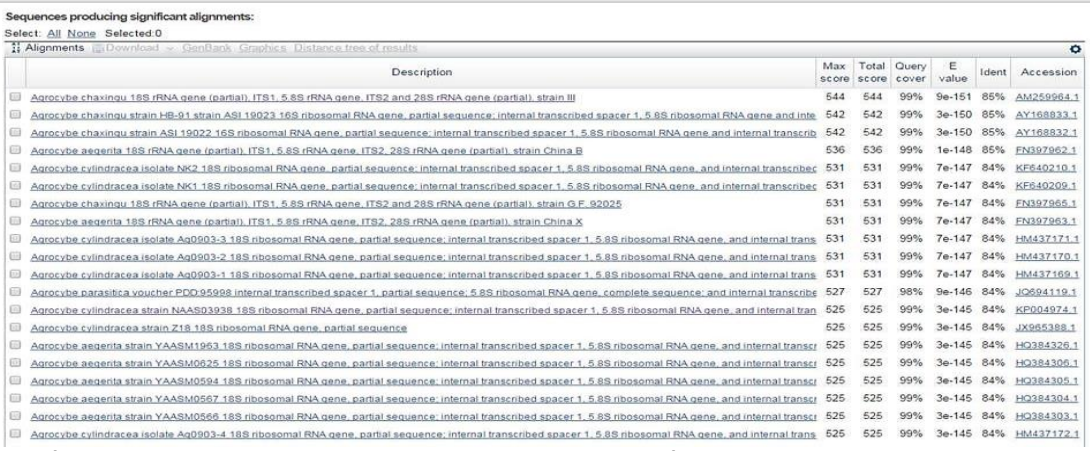
Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	645	645	100%	0.0	87%	AM259964.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	643	643	100%	0.0	87%	AY168832.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and inte	638	638	100%	4e-179	87%	AY168833.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	632	632	100%	2e-177	87%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	632	632	100%	2e-177	87%	KF640209.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	632	632	100%	2e-177	87%	FN397963.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	632	632	100%	2e-177	87%	FN397962.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	632	632	100%	2e-177	87%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	632	632	100%	2e-177	87%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	632	632	100%	2e-177	87%	HM437169.1
Agrocybe aegerita strain YAASM1963 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	627	627	100%	9e-176	87%	HQ384326.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0625 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	627	627	100%	9e-176	87%	HQ384306.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0594 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	627	627	100%	9e-176	87%	HQ384305.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0567 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	627	627	100%	9e-176	87%	HQ384304.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0566 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	627	627	100%	9e-176	87%	HQ384303.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	627	627	100%	9e-176	87%	HM437172.1
Agrocybe aegerita strain SM981201 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	627	627	100%	9e-176	87%	AY763670.1
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	621	621	100%	4e-174	86%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	4e-174	86%	JX965388.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain G.F. 92025	621	621	100%	4e-174	86%	FN397965.1

รูปที่ 50. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ย2/2 C3 (25 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C12 ที่ผ่านการฉายรังสี 25 กิโลแรด ไปเปรียบเทียบความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* isolate NK2 หรือYanagi Matsutake mushroom เท่ากับ 84 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 51.



Sequences producing significant alignments:

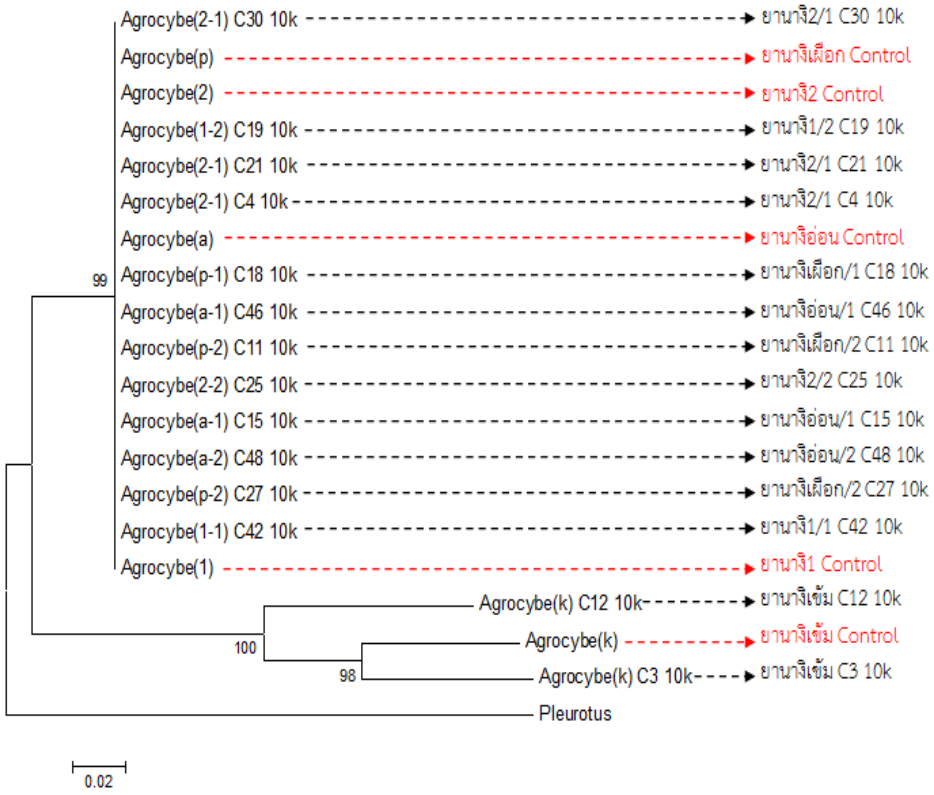
Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain III	544	544	99%	9e-151	85%	AM259964.1
Agrocybe chaxingu strain HB-91 strain ASI 19023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and inte	542	542	99%	3e-150	85%	AY168833.1
Agrocybe chaxingu strain ASI 19022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	542	542	99%	3e-150	85%	AY168832.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China B	536	536	99%	1e-148	85%	FN397962.1
Agrocybe cylindracea isolate NK2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	531	531	99%	7e-147	84%	KF640210.1
Agrocybe cylindracea isolate NK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribec	531	531	99%	7e-147	84%	KF640209.1
Agrocybe chaxingu 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain G.F. 92025	531	531	99%	7e-147	84%	FN397965.1
Agrocybe aegerita 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene (partial), strain China X	531	531	99%	7e-147	84%	FN397963.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	531	531	99%	7e-147	84%	HM437171.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	531	531	99%	7e-147	84%	HM437170.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	531	531	99%	7e-147	84%	HM437169.1
Agrocybe parasitica voucher PDD:95998 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribe	527	527	98%	9e-146	84%	JQ694119.1
Agrocybe cylindracea strain NAAS03938 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	525	525	99%	3e-145	84%	KP004974.1
Agrocybe cylindracea strain Z18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	525	525	99%	3e-145	84%	JX965388.1
Agrocybe aegerita strain YAASM1963 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	525	525	99%	3e-145	84%	HQ384326.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0625 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	525	525	99%	3e-145	84%	HQ384306.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0594 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	525	525	99%	3e-145	84%	HQ384305.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0567 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	525	525	99%	3e-145	84%	HQ384304.1
Agrocybe aegerita strain YAASM0566 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	525	525	99%	3e-145	84%	HQ384303.1
Agrocybe cylindracea isolate Ag0903-4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal trans	525	525	99%	3e-145	84%	HM437172.1

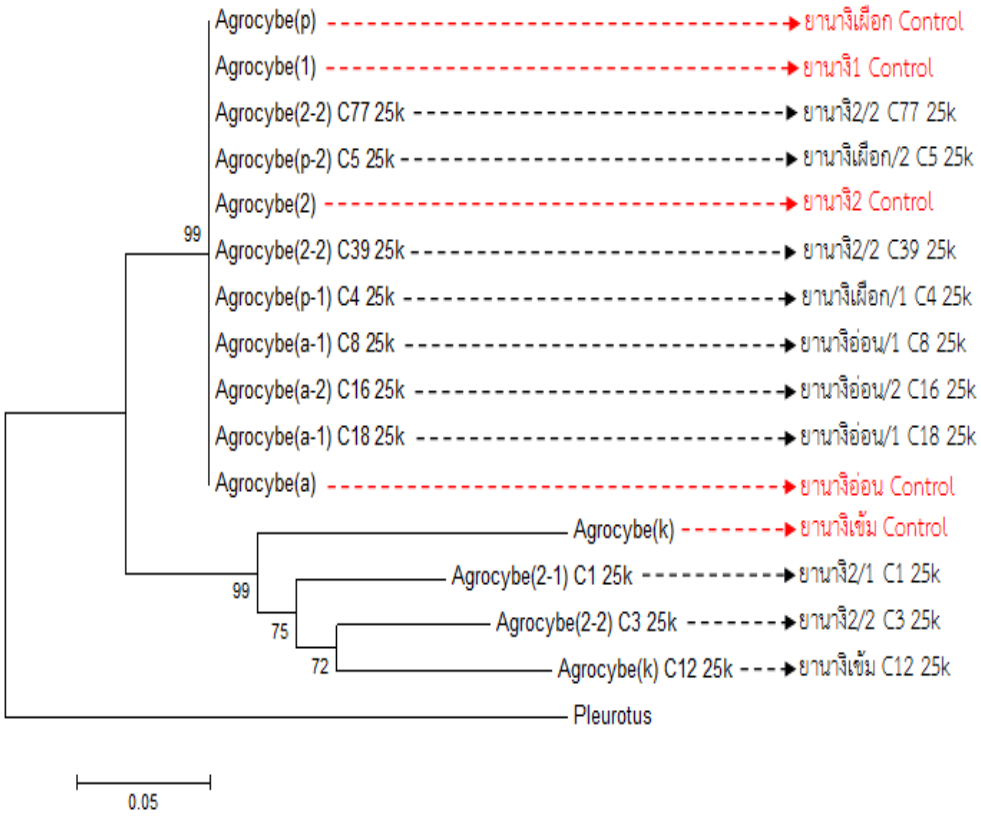
รูปที่ 51. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ ยข C12 (25 กิโลแรด) กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank.

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10 และ 25 กิโลแรด บางสายพันธุ์กับลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลใน GenBank พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับ *Agrocybe cylindracea* isolate NK2 หรือ Yanagi Matsutake mushroom เท่ากับ 83-89 เปอร์เซ็นต์. ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าสายพันธุ์กลายดังกล่าว เป็นเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์ใหม่ เนื่องจากมีลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Yanagi Matsutake mushroom จากฐานข้อมูลใน GenBank มาก และเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการทางสายพันธุ์ พบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 10 กิโลแรด ที่คาดว่าจะเป็นพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ทั้ง 14 สายพันธุ์ สามารถแยกได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ บางสายพันธุ์จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์แม่ ด้วย bootstrap 99 เปอร์เซ็นต์ และอีกกลุ่มที่แยกออกไปจากสายพันธุ์แม่ (กลุ่มควบคุม) ได้แก่ สายพันธุ์ ยานางิเข้ม C3 และ C12 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10 กิโลแรด ดังแสดงในรูปที่ 52, ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่น โดยใช้รังสีแกมมาปริมาณ 10 กิโลแรด ทำให้ได้เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ยานางิเข้ม C3 และ C12.



รูปที่ 52. Phylogenetic tree ของสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ผ่านฉายรังสีปริมาณ 10 กิโลแรด ที่ให้ผลผลิตสูง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ควบคุม.

สำหรับกลุ่มของสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 25 กิโลแรด ที่คาดว่าจะเป็นพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตสูง ทั้ง 10 สายพันธุ์ สามารถแยกได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ เช่นกัน คือ สายพันธุ์ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์แม่ ด้วย bootstrap 99 เปอร์เซ็นต์ และอีกกลุ่มที่แยกออกไปจากสายพันธุ์แม่ (กลุ่มควบคุม) ได้แก่ สายพันธุ์ยานางิ2/1C1, ยานางิ2/2C3 และยานางิเข้ม C12 ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 25 กิโลแรด ดังแสดงในรูปที่ 53, ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นโดยใช้รังสีแกมมาปริมาณ 25 กิโลแรด ทำให้ได้เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลาย จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ยานางิ2/1C1, ยานางิ2/2C3 และยานางิเข้ม C12.



รูปที่ 53. Phylogenetic tree ของสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ผ่านฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด ที่ให้ผลผลิตสูง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ควบคุม.

4. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นด้วยรังสีแกมมาเพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบ โดยคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่ให้ผลผลิตสูงจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ย1, ย2, ยอ, ยผ และ ยข แล้วนำไปปรับปรุงพันธุ์โดยการฉายรังสีในอัตราปริมาณรังสีต่างๆ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่า ได้สายพันธุ์เห็ดซึ่งคาดว่าจะกลายพันธุ์และทนร้อนได้จำนวนทั้งหมด 186 ไอโซเลต เห็ดสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา 10 และ 25 กิโลแรด เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่า มีอัตราการเจริญของเส้นใยที่เร็วกว่าสายพันธุ์แม่ และเมื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานที่ เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า โดยสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี 10 และ 25 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดเฉลี่ยเท่ากับ 2.48 และ 2.32 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ ตามลำดับ ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยในก้อนเชื้อเห็ดสูตรมาตรฐานเร็วกว่าสายพันธุ์เห็ดในกลุ่มควบคุม (2.06 เซนติเมตรต่อสัปดาห์) สำหรับการเปรียบเทียบผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการบางชนิด และแร่ธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบของเห็ดโคนญี่ปุ่น พบว่า เห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีส่วนใหญ่ให้ผลผลิตและปริมาณโปรตีนมากกว่าเห็ดโคนญี่ปุ่นสายพันธุ์แม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงคุณภาพของดอกเห็ด ได้แก่ ขนาดของดอกเห็ด, ความยาวและความกว้างของก้านดอกเห็ดที่ดีกว่าสายพันธุ์แม่และยังพบว่า ในกลุ่มสายพันธุ์กลาย สีของหมวกดอกและสีของก้านดอกเห็ดยังมีการเปลี่ยนแปลงไปและเมื่อนำมาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเห็ดโคนญี่ปุ่น 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ยานางิเข้ม C3 และ C12 ที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 10 กิโลแรด และ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ยานางิ2/1C1, ยานางิ2/2C3 และยานางิเข้ม C12 ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 25 กิโลแรด แตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Yanagi Matsutake mushroom จากฐานข้อมูลใน GenBank มาก ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่า รังสีแกมมาสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นให้ทนร้อน เพาะได้ในเขตพื้นที่ราบ และให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ นอกจากนี้ ยังทำให้เกิดรูปร่างลักษณะใหม่ของดอกเห็ดด้วย.

5. แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากความสำคัญที่กล่าวมาข้างต้น ประกอบกับความจำเป็นที่จะต้องศึกษา พัฒนา เทคโนโลยีการเพาะเห็ดโคนญี่ปุ่น และเห็ดเขตร้อนอื่นๆ รวมทั้งการศึกษาวิธีการเพาะและการดูแลรักษาเห็ดอย่างเหมาะสม ตลอดจนการจัดการข้อมูลเกี่ยวกับเห็ดอย่างมีระบบเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพ ก่อให้เกิดแนวคิดในการศึกษาการวิจัยและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นเพื่อเพาะในเขตพื้นที่ราบขึ้น โดยการพัฒนาสายพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นให้เป็นสายพันธุ์ที่แข็งแรง และสามารถเจริญเติบโตในสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิสูง ทั้งสามารถให้คุณภาพและผลผลิตที่สูงก็จะเป็นประโยชน์ในการผลิตเพื่อการค้า ลดการนำเข้าเห็ดจากต่างประเทศเป็นการสร้างศักยภาพและความสามารถเพื่อการพัฒนาทางเศรษฐกิจ และเป็นการพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชน.

มูลค่าทางเศรษฐกิจ

- เป็นแหล่งเชื้อพันธุ์เห็ดโคนญี่ปุ่นที่น่าเชื่อถือ และมีคุณภาพตรงตามความต้องการของท้องตลาด สามารถจำหน่ายให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดได้.
- ก่อให้เกิดรายได้จากการจำหน่ายผลผลิตในรูปดอกเห็ดสด โดยสายพันธุ์ที่ได้จะให้ผลผลิตต่อก้อนสูงขึ้น รวมถึงสามารถนำมาเพาะได้ในเขตพื้นที่ราบที่มีสภาพอากาศค่อยร้อนปัจจุบันเห็ดโคนญี่ปุ่นกำลังเป็นที่นิยมของท้องตลาด เนื่องจากมีรสชาติที่อร่อย บริเวณหมวกของเห็ดโคนญี่ปุ่นจะมีความเหนียวนุ่มส่วนขาจะกรอบอร่อยสามารถทำอาหารได้หลายอย่าง ให้คุณค่าทางอาหารสูงไม่แพ้เห็ดชนิดอื่นๆ ราคาของเห็ดโคนญี่ปุ่นในปัจจุบันอยู่ที่กิโลกรัมละ 150-200 บาท ก็ถือว่าเป็นราคาที่ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดทั่วๆ ไป ปัจจุบันมีคนต้องการบริโภคเห็ดโคนญี่ปุ่นเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับแต่ก่อน.
- ก่อให้เกิดรายได้แก่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดและกลุ่มผู้ประกอบการนำดอกเห็ดเพื่อแปรรูป.
- เป็นแหล่งอาหารโปรตีนทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคที่ไม่รับประทานเนื้อ เช่น ผู้บริโภคในเทศกาลถือศีลกินผัก.

คุณค่าเชิงสังคม

- พัฒนาคุณภาพชีวิตให้ดีขึ้น โดยเพิ่มแหล่งโปรตีนที่มีประโยชน์ และกระจายรายได้ให้แก่ชุมชน.
- เป็นการใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุ์เห็ดที่มีการนำเข้า แล้วนำมาพัฒนาให้เพาะได้ในประเทศไทย โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ราบที่มีอุณหภูมิสูง ทำให้ได้สายพันธุ์ที่ทนร้อน เกษตรกรผู้เพาะเห็ดมีทางเลือกในการใช้สายพันธุ์ทนร้อน เพิ่มโอกาสและอาชีพการเพาะเห็ดโคนญี่ปุ่นมากยิ่งขึ้น.

หน่วยงานที่จะนำไปใช้ประโยชน์

หน่วยงานที่จะนำองค์ความรู้ไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ ผู้ประกอบการในภาคอุตสาหกรรมหรือเอกชนกลุ่มผู้ผลิตก้อนเชื้อเห็ด และผู้เพาะเห็ด ผู้ประกอบการเพื่อการแปรรูปผลิตภัณฑ์ต่างๆ และหน่วยงานราชการ เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร, กรมวิชาการเกษตรกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ รวมถึงนักวิจัย หรือนักวิชาการในสาขาวิจัยที่เกี่ยวข้อง.

6. ข้อเสนอแนะ

การเพาะเห็ดให้ได้ผลผลิตสูง เริ่มต้นโดยใช้พันธุ์ดีนั้นเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งเพราะการใช้พันธุ์ดีย่อมได้รับผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพสูง ได้รับผลตอบแทนที่แน่นอน ดังนั้น จึงควรพยายามปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่มีอยู่ เพื่อจะได้ผลประโยชน์อย่างเต็มที่และยังเป็นการพึ่งพาตนเองอีกส่วนหนึ่งด้วย อย่างไรก็ตาม ในเรื่องของการปรับปรุงพันธุ์ สิ่งที่ต้องพึงคำนึงอยู่เสมอ คือ ความคงตัวของพันธุกรรม จำเป็นต้องมีการทดสอบหลายๆ รุ่น เพื่อดูความคงตัวของพันธุกรรมตลอดจนลักษณะทางสัณฐานที่แสดงออกมาให้เห็นด้วยตาเปล่า. นอกจากนี้ การเลือกใช้วิธีการในการปรับปรุงพันธุ์ก็มีผลต่อความยากง่ายในการประสบความสำเร็จ, งบประมาณ และระยะเวลาในการศึกษา, ดังนั้น การเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพจะทำให้โอกาสในการปรับปรุงพันธุ์มีมากขึ้น สำหรับโครงการวิจัยนี้ใช้การปรับปรุงพันธุ์ โดยการฉายรังสีแกมมา วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ง่าย, รวดเร็ว. แต่อย่างไรก็ตาม มีเปอร์เซ็นต์ในการประสบความสำเร็จต่ำ เนื่องจากการฉายรังสีจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพันธุ์กรรมของสิ่งมีชีวิตแบบสุ่ม ทำให้โอกาสในการได้พันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างไปจากเดิมมีน้อย สำหรับการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสายพันธุ์นั้น อาจจำเป็นต้องใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลหลายๆ วิธี เพื่อยืนยันความถูกต้อง เนื่องจากการเลือกใช้เพียงเทคนิคใดเทคนิคหนึ่งอาจทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ได้.

7. เอกสารอ้างอิง

คำบุญรัตน์, ณัฐยา และภู่สว่าง, วิเชียร. 2540. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนางรมฟลอริดาโดยการผสมพันธุ์. *วารสารเกษตร*, **13**(1), หน้า 19-28.

จอมพุก, พีรนุช. 2553. เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับการเกษตร. กรุงเทพฯ: ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 288 หน้า.

ดวงดี, งามจิตร. 2550. การปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดโคนน้อยเพื่อการผลิตภายใต้อุณหภูมิต่ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 72 หน้า.

ตลาดกลางผักและผลไม้จังหวัดราชบุรี. 2558. รายงานราคาขายส่งผักและผลไม้ อาคารผัก ล่าสุด [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.taladsrimuang.com/product/report.php?id=1, [เข้าถึงเมื่อ 27 มิถุนายน 2558].

ตรีรัตน์, สุทธพรรณ และชิโนรักษ์, พรรณี. 2529. การศึกษาลักษณะเห็ดหอมพันธุ์ต่างๆ ที่มีการเพาะในจังหวัดเชียงใหม่. รายงานประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 24, ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน วันที่ 27-29 มกราคม 2529 สาขาวิทยาศาสตร์, กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 223-232.

เทวสิงห์, มังกร. 2540. การแยก และการรวมโพรโตพลาสต์ของเห็ดหอม และเห็ดนางรม. เชียงใหม่: วิทยาศาสตร์นิพนธ์เกษตรศาสตร์มหาบัณฑิต, เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 150 หน้า.

นำภานนท์, หทัยกาญจน์ และภู่สว่าง, วิเชียร. 2544. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดหอมโดยการผสมพันธุ์แบบสปอร์เดี่ยว. *วารสารเกษตร*, **17**(3), หน้า 185-195.

พงษ์สามารถ, สุนันท์; อัศวมั่นคง, สุรางค์; สุรินทร์รัฐ, ปิยะวรรณ์; เศวตมาลย์, ลำดวน; ปานม่วง, ธิติรัฐ; ว่องพินัยรัตน์, จงดี; มารคแมน, นรานินทร์; ภักดีดินแดน, พันธุ์ทวี และวุฒิคัมภีร์, ประเสริฐ. 2526. การสำรวจคุณค่าอาหารของเห็ด. รายงานการวิจัย. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 55 น.

พรเจริญโรจน์, ขนิษฐา และภู่สว่าง, วิเชียร. 2543. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดฟางโดยการผสมพันธุ์. *วารสารเกษตร*, **16**(2), หน้า 148-157.

พลาวุฑฒ์, วิฑูลย์. 2527. การทำเชื้อและการเพาะเห็ด. กรุงเทพฯ: กรุงสยามการพิมพ์. 191 หน้า.

พิชญางกูล, สุมาลี. 2541. เห็ดโคน และลูกผสมฟิวแสนท์. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 179 หน้า.

รัตนชัย, อนุวัฒน์. 2548. การผสมพันธุ์เห็ดเพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่. *ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด*, **10**(2), หน้า 9-12.

หิรัญประดิษฐ์, ศุภนิตย์. 2547. งานวิจัยเห็ดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเป็นการค้า. *จดหมายข่าวเพื่อชาวฟาร์มเห็ด*, **13**(2), หน้า 6-19.

Chang, S. T., 1982. Sexuality and Strain Improvement in Edible Mushroom. *Newsletter for the Thopics*, **6**(1), pp. 2-6.

Eger, G., 1978. Biology and breeding of *Pleurotus*. *In*: Chang, S.T. eds. The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. New York: Academic Press, pp. 497-519.

Garraway, M.O. and Evans, R. C., 1984. Fungal Nutrition and Thysiology. New York: John wiley and Sons, Inc. 401 p.

Hansen, J. and Moller, I., 1975. Percolation of starch and soluble carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with anthrone. *Analytical Biochemistry*, **68**, pp. 87-94.

IAEA., 1977. Manual on Mutation Breeding. Technical Report Series No. 119. 2nd ed. Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agricultural p. 288.

Kjeldahl, J., 1883. Neue Methodezur Bestimmung des Stickstoffs inorganischen. Körpern, *Z. Anal. Chem*., **22**, pp. 366-382.

Miles, P.G., 1993. Biological background for mushroom breeding *In:* Chang S.T., Buswell J.A. and Miles, P.G. eds. Genetics and breeding of Edible Mushroom, Philadelphia : Gordon and Breach Science, pp. 37-64.

Rogers, S. O. and Bendich, A. J., 1994. Extraction of total celluar DNA from plants, algae and fungi. *In*: Gelvin S. eds. Plant Molecular Biology Manual. Boston: Kluwer Academic Publishers, pp. D1: 1-8.

Stadler, L.J., 1928. Genetic effects of X-rays in maize. *Proc. Nat. Acad. Sciences*. **14**, pp. 69175.

Westerman, R.L., ed., 1990. Soil testing and plant analysis, 3rd ed. Madison, Wl, United States Censun Bureau. States Iensun Bureau, WI: Soil Science Society of America. 512 p.

Willard, H. H., Merrill, L. L. and Dean, J.A., 2001. Laboratory Work Instrumental Methods of Analysis, New York: pp. 105-106.

Williams, J. G. K. *et al*., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid* Res. **18**, pp. 6531-6535.

White, T. J. *et al*., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: Innis M.A. eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press, Inc. pp. 315-322.

Zervakis, G., Sourdis, J. and Balis, C., 1994. Genetic variability and systematics of eleven *Pleurotus*species based on isozyme analysis. *Mycological Research*. **98**, pp. 329-341.