

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดถั่งเช่าผสมสายพันธุ์ใหม่โดยวิธี Di-mon mating

Improvement of New Hybrid *Pleurotus* sp. Bhutan Strains

Using Di-mon Mating Technique

รัชฎาภรณ์ ทองเหม^{1/} สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ^{1/} ธาริณี สุโกมล^{1/} อุปลัมภ์ อุ่นใจ^{2/} ชัยชนก นานใจ^{2/}

ศรัทธา บุญโต^{3/} พัททยา เทพเดช^{4/} อานันท์ เลิศรัตน์^{5/} ดนัย นาคประเสริฐ^{1/}

Ratchadaporn Thonghem^{1/} Suvalux Chaichuchote^{1/} Tharinee sukamol^{1/} Upathum Oonjai^{2/} Thanchanok Natai^{2/}

Srirat Bupato^{3/} Phattaya Thepdet^{4/} Anan Lertrat^{5/} Danai Narkprasert^{1/}

ABSTRACT

Improvement of *Pleurotus* sp. mushroom (Bhutan strain) was done by Di-mon mating technique using dikaryotic mycelium from strain No. 3 (P3). and monokaryotic mycelium isolates No. A, B, C, D, E, F, G and H. A total of 18 hybrids strains were obtained. They all produced the fruiting bodies when cultivated in plastic bag containing 800 g. of sawdust substrate at mushroom houses in Bangkok during November 2014 - February 2015 cultivation period. When cultivated during March-June 2015, only 8 hybrid strains produced the fruiting bodies and only 15 hybrid strains produced the fruiting bodies when cultivated during July - October. Three hybrids, P3xSE5, P3xSA6 and P3xSB24 gave higher yield than others and were selected for further trials.

They were cultivated in 3 royal Projects areas and study centers, compared with Bhutan No.3. Results revealed that P3xSB24 was suitable for cultivation in the Royal-initiated Phu Sing Agricultural Development Centre, Srisaket province, producing 216.82 g/bag. The 3 hybrids strains were suitable for cultivation in Pluak Daeng Rayong Province Development Service Center Under His Majesty's Initiatives. Yields of the 3 hybrid strains were significantly higher than P3 in two cultivation periods. When cultivated in Kung Krabaen Bay Royal Development Study Centre,

¹ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Rd. Ladyao, Chatuchack,

² ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง

Pluak Daeng Rayong Province Development Service Center Under His Majesty's Initiatives District, Rayong.

³ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริตำบลคลองขุด อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

Kung Krabaen Bay Royal Development Study Centre, Khlong Khut, Tha Mai District, Chanthaburi

⁴ ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ

Royal-initiated Phu Sing Agricultural Development Centre District, Sri Sa Ket

⁵ กองประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ กรมวิชาการเกษตร

Royal Development Project Coordination Division, Department of Agriculture

Chanthaburi province, P3xSE5 produced the highest yield during December 2015 – March 2016, which was 171.43 g/bag.

Key words : Bhutan Mushroom strain, improvement strain, hybrid strain, monokaryotic mycelium, dikaryotic mycelium, Di-mon mating, clamp connection

บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์เห็ดภูฏานด้วยวิธีการผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดภูฏาน หมายเลข 3 (P3) กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของเห็ดภูฏาน จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ A B C D E F G และ H ด้วยวิธี Di-mon mating พบว่ามี 18 คู่ผสมที่เข้าคู่กันได้ เมื่อนำไปเพาะทดสอบในถุงอาหารเพาะเชื้อเฉลี่ย 800 กรัม ณ โรงเพาะเห็ด กรุงเทพฯ ในช่วงที่ 1 เดือนพฤศจิกายน 2557– กุมภาพันธ์ 2558 ทุกคู่ผสมให้ผลผลิตได้ แต่เพาะในช่วงที่ 2 เดือนมีนาคม – มิถุนายน 2558 มีลูกผสมเพียง 8 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต และในช่วงเดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2558 มีลูกผสม 15 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต เห็ดภูฏานลูกผสม 3 สายพันธุ์ ได้แก่ P3xSE5 P3xSA6 และ P3xSB24 ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ จึงคัดเลือกไปเพาะทดสอบต่อไป เมื่อนำไปเพาะทดสอบในพื้นที่ของศูนย์ศึกษาและศูนย์เครือข่าย โครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ 3 แห่งโดยมีเห็ดภูฏานหมายเลข 3 เป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบกับเห็ดภูฏานลูกผสมที่เหมาะสมในการเพาะ ณ ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ คือ P3xSB24 ให้ผลผลิต 216.82 กรัม/ถุง ในขณะที่เห็ดภูฏานลูกผสมทั้ง 3 สายพันธุ์เหมาะสมในพื้นที่ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดง ตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง โดยให้ผลผลิตสูงกว่าเห็ดภูฏานหมายเลข 3 โดยมีความแตกต่างทางสถิติทั้ง 2 ช่วงเวลาที่เพาะทดสอบ เมื่อเพาะที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี ลูกผสม P3xSE5 ให้ผลผลิตสูงในช่วงเพาะเดือนธันวาคม 2558 - มีนาคม 2559 เท่ากับ 171.43 กรัม/ถุง

คำหลัก : เห็ดภูฏาน การปรับปรุงพันธุ์ ลูกผสม เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว เส้นใยนิวเคลียสคู่ การผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว ข้อยึดต่อระหว่างเซลล์

คำนำ

เห็ดภูฏาน (*Pleurotus* sp. Bhutan strain) เป็นเห็ดที่อยู่ในสกุลนางรมและจัดเป็นเห็ดเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่คนไทยรู้จักและนิยมบริโภคกันมากเนื่องจากเป็นเห็ดที่มีรสชาติอร่อย สามารถปรุงอาหารได้หลายอย่าง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นอกจากนี้ยังมีสารพอลิแซ็กคาไรด์ (Pleurotin polysaccharide) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย มีฤทธิ์ต่อต้านการเกิดมะเร็งและลดอนุมูลอิสระ (Kumara and Edirimanna, 2009; อัญชติ, 2553) เห็ดภูฏานเป็นที่นิยมของเกษตรกรผู้เพาะเห็ดเนื่องจากเห็ดภูฏานเพาะง่าย ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม สามารถเพาะได้ทุกฤดูตลอดปี แต่ในระยะ 4-5 ปีที่ผ่านมา กรมวิชาการเกษตรได้รับเสียงสะท้อนจาก

เกษตรกรว่าเห็ดคุณภาพเริ่มมีปัญหาเรื่องสายพันธุ์ เช่นเชื้อเจริญช้าลงทำให้ใช้ระยะเวลาในการเปิดดอกนานขึ้น ผลผลิตและคุณภาพของดอกเห็ดที่ผลิตได้ในแต่ละรุ่นไม่สม่ำเสมอ ส่งผลให้เกษตรกรได้ผลตอบแทนจากการลงทุนค่อนข้างน้อยหรือบางครั้งไม่คุ้มค่ากับการลงทุน จากสาเหตุดังกล่าวทำให้เกษตรกรมีความต้องการเห็ดคุณภาพสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่มีความแข็งแรง เจริญเร็ว ให้ดอกที่มีคุณภาพและผลผลิตสูง ตลอดจนต้องการสายพันธุ์ที่ให้ดอกในลักษณะที่แตกต่างไปจากสายพันธุ์เดิมและมีลักษณะดอกที่ตลาดต้องการ

การปรับปรุงสายพันธุ์เห็ดเพื่อให้ได้เห็ดลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่มีคุณสมบัติตามความต้องการไม่ว่าจะเป็นวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์จากการกลายพันธุ์หรือการสร้างลูกผสมใหม่เป็นสิ่งที่นักปรับปรุงพันธุ์เห็ดพยายามค้นคว้าอยู่เสมอ (อัญชติ, 2553) การปรับปรุงพันธุ์เห็ดแบบ Di-mon mating เป็นวิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมข้ามอีกวิธีหนึ่ง อาศัยการใช้เส้นใยนิวเคลียสคู่ (dikaryotic mycelium) ซึ่งเป็นเส้นใยระยะที่ 2 ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryotic mycelium) ซึ่งเป็นเส้นใยระยะที่ 1 การผสมพันธุ์ด้วยวิธีการนี้ทำให้นิวเคลียสไดนิวเคลียสหนึ่งของเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่เข้ากันได้กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว เคลื่อนตัวเข้าไปอยู่รวมกันที่ปลายเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว ทำให้ได้เส้นใยนิวเคลียสคู่ โดยเส้นใยนิวเคลียสคู่ที่เกิดขึ้นนี้จะมีนิวเคลียสใหม่ของเส้นใยนิวเคลียสคู่กับนิวเคลียสเดิมของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (สัจชัย, 2521; นันทวดี, 2549) ดังนั้นวิธีการนี้น่าจะเหมาะสมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์เห็ดคุณภาพซึ่งมีวงจรชีวิตแบบผสมข้าม (heterothallic) เพื่อให้ได้ลูกผสมที่มีลักษณะที่แตกต่างไปจากเดิม วิธีการนี้เป็นวิธีที่สะดวกและมีโอกาสที่จะได้ลูกผสมที่ดีมากกว่าการผสมพันธุ์แบบเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (Mon-mon mating) โดยนักวิจัยหลายท่านได้นำวิธีการนี้ไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เห็ดสกุลนางรมและประสบความสำเร็จ เช่น ฉันทฐยา และวิเชียร (2540) ทำการผสมพันธุ์เห็ดนางรม โดยนำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของสายพันธุ์ลูกผสม Py2xA7 ไปผสมแบบ Di-mon mating กับสายพันธุ์ที่เป็นเครือญาติเดียวกัน 5 สายพันธุ์ และลูกผสมที่ให้ผลผลิตเฉลี่ยรองลงมาอีก 5 สายพันธุ์ รวมทั้งผสมกับ สายพันธุ์ตัวเอง (Py2xA7) ได้ลูกผสมทั้งหมด 220 คู่ผสม แต่พบข้อผิดพลาดระหว่างเซลล์ 187 คู่ผสม คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะดีได้ 9 สายพันธุ์ ในขณะที่ ภัทราภรณ์ และวิเชียร (2540) ทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดนางรมสีเทา โดยนำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของ Q1 ไปผสมแบบ Di-mon mating กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ Q1-Q6 และพันธุ์พ่อแม่อื่นอีก 5 สายพันธุ์ คัดเลือกลูกผสมได้ 9 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะและคุณภาพดี และยังพบว่าการผสมพันธุ์แบบ Di-mon mating คู่ผสมที่ได้เกิดเป็นดอกเห็ดคิดเป็น 63 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มผสมทั้งหมดซึ่งให้เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มที่เพาะแล้วสามารถเกิดดอกได้ปริมาณมากกว่าการผสมพันธุ์แบบ Mon-mon mating ซึ่งมีเพียง 6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Carrillo *et al.* (2011) ทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดด้วยวิธีการ Di-mon mating ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่ของ *Pleurotus* spp. กับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวของ *P. eryngii* คัดเลือกลูกผสม 19 สายพันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในวัสดุเพาะเช่นเดียวกับ *P. eryngii* พบว่ามี 16 สายพันธุ์ ให้ค่าเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต (Biological Efficiency; % BE) สูงกว่า

100 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมที่เกิดขึ้นมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลาย เช่น สี ขนาดของก้านและรูปร่างมีขนาดใหญ่ ก้านมีความเหนียว ผลที่ได้นี้มีความเหมาะสมในการนำไปขยายได้ในเชิงพาณิชย์

ดังนั้นเพื่อเป็นแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้น กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งมีพันธกิจในการวิจัยและพัฒนาคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดให้ได้สายพันธุ์ที่ดีเพื่อส่งต่อให้แก่เกษตรกรซึ่งปัจจุบัน กรมวิชาการเกษตรมีเห็ดคุณภาพที่ให้บริการเพียงสามสายพันธุ์คือเห็ดคุณภาพ หมายเลข 1 2 และ 3 โดยให้บริการมานานกว่า 15 ปี จึงจำเป็นต้องทำการปรับปรุงพันธุ์เห็ดคุณภาพด้วยวิธีการผสมพันธุ์ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสคู่ผสมกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว เพื่อให้เกิดลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่มีคุณภาพและให้ผลผลิตที่ดี อันจะเป็นทางเลือกให้แก่เกษตรกรได้เลือกใช้เชื้อพันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่และช่วยสร้างรายได้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การคัดเลือกเห็ดคุณภาพโดยวิธีผสมแบบ Di-mon mating

1.1 การแยกและคัดเลือกเส้นใยสปอร์เดี่ยว นำสปอร์ของเห็ดคุณภาพ จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ A15 A16 A17 A18 A19 A20 A21 และ A22 ที่เก็บรวบรวมไว้ในหน่วยเก็บอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมเห็ด สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร โดยกำหนดรหัสของสายพันธุ์เห็ดเพื่อใช้ในการทดลองดังนี้ A B C D E F G และ H ตามลำดับ นำมาคัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryon) โดยการทำ spore suspension ในน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว และนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Water Agar ด้วยวิธีการ spread plate หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 วัน ตรวจสอบการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องกำลังขยายต่ำ และตัดสปอร์ที่งอกเดี่ยวๆ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เพื่อให้เส้นใยเจริญจำนวนมาก แล้วนำมาตรวจสอบยืนยันว่าเป็นเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวภายใต้กล้องกำลังขยายสูง คัดเลือกเส้นใยที่ไม่พบข้อยึดระหว่างเซลล์ (clamp connection) แยกเก็บสายพันธุ์ละอย่างน้อย 20 สปอร์

1.2 การผสมพันธุ์แบบ Di-mon mating นำเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 แต่ละสายพันธุ์มาจับคู่กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ให้บริการของกรมวิชาการเกษตร เพาะเลี้ยงร่วมกันในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA วางบริเวณกลางจานอาหารห่างกัน 2 เซนติเมตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 วัน ปล่อยให้เส้นใยเจริญมาพบกันนำไปตรวจสอบการสร้าง clamp connection ทางด้านของสายพันธุ์เส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เมื่อพบ clamp connection ตัดเส้นใยไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลอดใหม่ เพื่อนำไปใช้ในการเพาะทดสอบผลผลิตในโรงเรือน

การบันทึกข้อมูล

จำนวนและสายพันธุ์ของเห็ดที่ปลูกที่ไม่พบข้อผิดพลาดระหว่างเซลล์ จำนวนและสายพันธุ์ของเห็ดที่ปลูกที่มีการผสมข้ามเส้นใยกับเห็ดที่ปลูก หมายเลข 3

2. ทดสอบการให้ผลผลิตของเห็ดที่ปลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ 3 ช่วงเวลา

นำเห็ดที่ปลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ที่คัดเลือกจากข้อ 1 มาทดสอบการให้ผลผลิตโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 19 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (20 ก้อนเพาะต่อซ้ำ) กรรมวิธีประกอบด้วย เห็ดที่ปลูกผสม 18 สายพันธุ์ และเห็ดที่ปลูกหมายเลข 3 (สายพันธุ์เปรียบเทียบ) ปฏิบัติในสภาพโรงเรือนเพาะเห็ด กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ใน 3 ช่วงเวลา คือ ช่วงที่ 1 พฤศจิกายน 2557 – กุมภาพันธ์ 2558 ช่วงที่ 2 มีนาคม – มิถุนายน 2558 และช่วงที่ 3 กรกฎาคม – ตุลาคม 2558 ทำการเพาะเชื้อเห็ดในก้อนอาหารเพาะที่ประกอบด้วยขี้เลื่อย 100 กิโลกรัม : รำละเอียด 10 กิโลกรัม : ปุ๋ยขาว 1 กิโลกรัม : ยิปซัม 500 กรัม : ดิกลี 200 กรัม โดยน้ำหนักแห้ง ปรับความชื้นด้วยน้ำให้มีความชื้น 60 – 70 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในถุงพลาสติกทนร้อนน้ำหนัก 800 กรัม ต่อถุง ใส่เชื้อเห็ดสายพันธุ์ที่เตรียมไว้บนเมล็ดข้าวฟ่าง บ่มก้อนเชื้อไว้ในโรงเรือนสภาพไม่ควบคุม อุณหภูมิ เมื่อเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะนำไปเปิดดอกในโรงเรือนเก็บผลผลิต 2 เดือนหลังเปิดดอก

การบันทึกข้อมูล

อุณหภูมิ ความชื้น ในระยะบ่มเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ และระยะเปิดดอก ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเห็ดที่เพาะ ได้แก่ ลักษณะดอก สีของดอก ขนาดหมวกดอกและลักษณะการเกิดดอก น้ำหนักผลผลิตเห็ดสดในแต่ละช่วงเวลา

3. ทดสอบและเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของเห็ดที่ปลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ใน 3 พื้นที่ของโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

นำเห็ดที่ปลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ที่ให้ผลผลิตดีที่สุด จำนวน 3 สายพันธุ์ จากข้อ 2 มาทดสอบในสภาพพื้นที่ 3 พื้นที่ของโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (100 ก้อนเพาะต่อซ้ำ) กรรมวิธีประกอบด้วย เห็ดที่ปลูกผสม 3 สายพันธุ์ และเห็ดที่ปลูก หมายเลข 3 (สายพันธุ์เปรียบเทียบ) ปฏิบัติในพื้นที่ศูนย์ศึกษาและศูนย์เครือข่ายโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ 3 แห่ง ได้แก่ 1) ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ 2) ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง และ 3) ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี ทำการทดสอบ 2 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 ธันวาคม 2558 – มีนาคม 2559 และช่วงที่ 2 กรกฎาคม – กันยายน 2559 ทำการเพาะเชื้อเห็ดในก้อนอาหารเพาะวิธีการเดียวกับข้อ 2 เปิดดอกและเก็บผลผลิตในโรงเรือนเพาะเห็ดของแต่ละพื้นที่ทดสอบ 3 เดือนหลังเปิดดอก

การบันทึกข้อมูล

อุณหภูมิ ความชื้น ในระยะบ่มเส้นใยเจริญเต็มวัสดุเพาะ และระยะเปิดดอก น้ำหนักผลผลิตเห็ดสดในแต่ละพื้นที่เพาะและช่วงเวลา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2556 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2559

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนเพาะเห็ด กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
2. ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ
3. ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง
4. ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดเลือกเห็ดคุณภาพโดยวิธีผสมแบบ Di-mon mating

คัดเลือกเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว (monokaryon) จากรอยพิมพ์สปอร์ของเห็ดคุณภาพ 8 สายพันธุ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Water agar ได้ทั้งสิ้น 268 สปอร์ นำมาผสมพันธุ์แบบ Di-mon mating กับเส้นใยนิวเคลียสคู่ของเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 โดยการจับคู่ผสมที่ละคู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเส้นใยทั้งสองเจริญมาพบกัน (Figure 1A) ตรวจสอบการสร้าง clamp connection ทางด้านของเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Figure 1B) พบว่าสามารถผสมกันได้ 18 คู่ผสม คือ P3xSA2 P3xSA4 P3xSA5 P3xSA6 P3xSA7 P3xSA25 P3xSB14 P3xSB20 P3xSB23 P3xSB24 P3xSB25 P3xSC12 P3xSC18 P3xSE5 P3xSF15 P3xSF30 P3xSG2 และ P3xSG10 ซึ่งสามารถสร้าง clamp connection โดย clamp cell ถูกสร้างขึ้นเพื่อเป็นโครงสร้างสำหรับการเคลื่อนย้ายผ่านของนิวเคลียสไซโทพลาสซึมและไมโทคอนเดรียไปยังเซลล์เส้นใยถัดไปได้ รวมทั้งยังแสดงถึงการเข้าคู่กันได้ (Compatibility) ของคู่ผสมและบ่งบอกถึงการเป็นเส้นใยนิวเคลียสคู่ (Dikaryon) ที่สมบูรณ์ เมื่อใช้วิธีการผสมพันธุ์แบบ Di-mon mating โดยนิวเคลียสใดนิวเคลียสหนึ่งของเส้นใยนิวเคลียสคู่จะเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ในเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว ซึ่งเป็นวิธีการที่รวมลักษณะทางพันธุกรรมของสายพันธุ์เห็ด

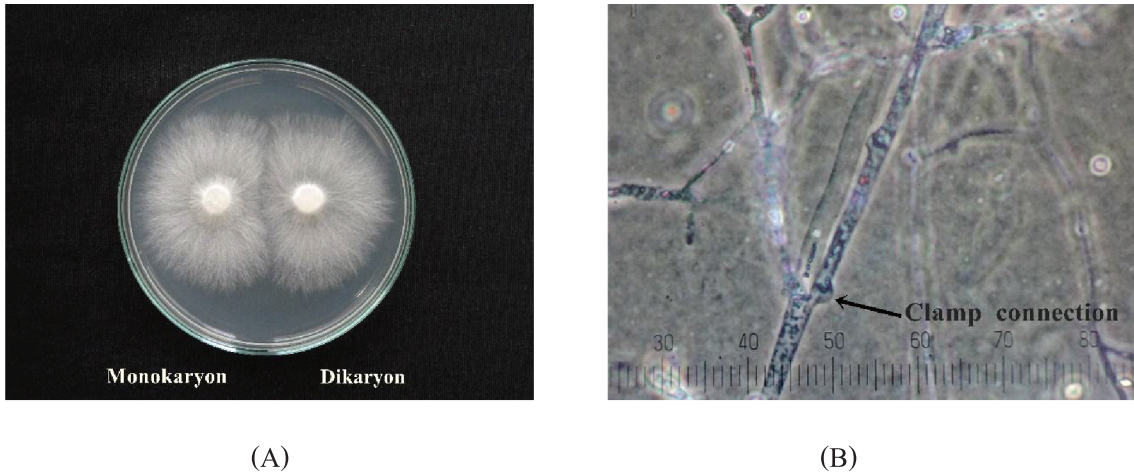


Figure 1 Dikaryon-Monokaryon mating of *Pleurotus* Bhutan Strains A) Cross mating between dikaryon of Bhutan No.3 with Monokaryon of Bhutan strain. B) Clamp connection indicates a compatible interaction and formation of secondary mycelium

2. ทดสอบการให้ผลผลิตของเห็ดภูฏานลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ 3 ช่วงเวลา

จากการเพาะทดสอบการเกิดดอกและให้ผลผลิตของเห็ดภูฏานลูกผสมจำนวน 18 สายพันธุ์ ในช่วงที่ 1 พฤศจิกายน 2557 – กุมภาพันธ์ 2558 พบว่าลูกผสมเกิดดอกทุกสายพันธุ์คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ของลูกผสมที่ได้ โดยที่ในเห็ดนางรมสีเทาใช้วิธีผสมเช่นเดียวกัน เกิดดอก 139 กลุ่มผสม จาก 197 กลุ่มผสม คิดเป็น 70.56 เปอร์เซ็นต์ (ภัทราภรณ์และวิเชียร, 2540) และการผสมกลับแบบ Di-mon mating ระหว่างเครือญาติของเห็ดนางรมชนิดฟลอริดา พบว่าเกิดดอก 143 กลุ่มผสม จาก 187 กลุ่มผสม คิดเป็น 80.34 เปอร์เซ็นต์ (ณัฐญาและวิเชียร, 2540) แต่เมื่อเพาะทดสอบในช่วงที่ 2 เดือนมีนาคม – มิถุนายน 2558 มีเห็ดภูฏานลูกผสมเพียง 8 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต ได้แก่ ลูกผสม P3xSA2 P3xSA6 P3xSB24 P3xSC12 P3xSE5 P3xSF15 P3xSF30 และ P3xSG2 ทั้งนี้เนื่องจากลูกผสมอื่นๆ ได้แก่ P3xSA25 P3xSB14 P3xSC18 และ P3xSG10 เส้นใยไม่สามารถเจริญเต็มถุงอาหารเพาะได้เนื่องจากสายพันธุ์เหล่านี้มีอาการอ่อนไหวต่ออุณหภูมิสูง ซึ่งขณะที่บ่มเส้นใยอยู่นั้นอุณหภูมิในโรงบ่มอยู่ระหว่าง 30 – 33.5 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับประเสริฐ (2539) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยเห็ดภูฏานอยู่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิเกิน 30 องศาเซลเซียส จะมีอัตราการเจริญลดลงอย่างมากทันที ในขณะที่ลูกผสม P3xSA4 P3xSA7 P3xSB20 P3xSB23 และ P3xSB25 เส้นใยเจริญเต็มถุงอาหารเพาะแต่ไม่เกิดดอกให้เห็นเนื่องจากเกิดการปนเปื้อนราเขียวระหว่างการเปิดดอกและเมื่อเพาะทดสอบในช่วงที่ 3 เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2558 มีเห็ดลูกผสมเพียง 15 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิต ได้แก่ P3xSA2 P3xSA5 P3xSA6 P3xSA7 P3xSA25 P3xSB20 P3xSB23 P3xSB24 P3xSB25 P3xSC12 P3xSE5 P3xSF15 P3xSF30 P3xSG2 และ P3xSG10 ทั้งนี้เนื่องจากเห็ดลูกผสม P3xSB14 และ P3xSC18 เส้นใยเห็ดไม่เจริญในถุงอาหารเพาะขี้เลื่อยส่วน

P3xSA4 เส้นใยเจริญเต็มถุงอาหารเพาะแต่ไม่เกิดดอกทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากหัวเชื้ออ่อนแอจึงทำให้เส้นใยไม่พัฒนาไปเป็นดอกที่สมบูรณ์ (ปัญหา, 2532) สำหรับลักษณะของดอกเห็ดที่เพาะทั้ง 3 ช่วงเวลาพบว่า ออกดอกเป็นกลุ่ม ดอกเห็ดมีลักษณะที่คล้ายกัน ส่วนใหญ่หมวกดอกมีรูปทรงคล้ายพัด บางสายพันธุ์หมวกดอกกลม ปลายหมวกดอกเรียบ มีเพียงบางสายพันธุ์หมวกดอกหงิกซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ดีทำให้ดอกนี้ได้ง่าย ได้แก่ P3xSA7 P3xSC18 และ P3xSA25 สีของหมวกดอกมีทั้งสีเทาและสีครีมแต่ความเข้มของสีจะเข้มหรือจางต่างกันในแต่ละช่วงเวลาเพาะทดสอบทั้งนี้สอดคล้องกับประเสริฐ (2539) ที่รายงานว่าสีของดอกเห็ดจะเข้มหรือจางลงไปเมื่อเห็ดอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะปัจจัยทางอุณหภูมิที่มีผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนสีดอกอย่างชัดเจน

Table 1 Average fresh weight yields of 7 selected hybrid strains grown during November 2014-February 2015, March – June 2015 and July – October 2015 at mushroom houses of Department of Agriculture, Bangkok.

Strains	Fresh weight yield (g/bag)		
	November - February	March– June	July– October
Bhutan No. 3 (control)	125.47 a ^{1/}	42.84 b	82.48 ab
P3 x SA2	100.61 b	53.99 b	33.65 c
P3 x SA6	113.39 ab	79.03 a	69.94 b
P3 x SB24	71.42 c	76.64 a	92.42 a
P3 x SE5	116.82 ab	80.23 a	88.76 a
P3 x SF15	41.33 d	24.76 c	30.56 c
P3 x SF30	73.90 c	13.39 c	26.40 c
P3 x SG2	33.47 d	75.95 a	94.31 a
CV. (%)		16.6	

^{1/}Means followed by a common letter in the same column are not significantly different at the 5% level by DMRT

จากผลการเพาะทดสอบดังกล่าวข้างต้นมีเห็ดลูกผสมที่ให้ผลผลิตทั้ง 3 ช่วงเวลา 7 สายพันธุ์ (Table 1) จึงคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะดีโดยใช้เกณฑ์ 1) ความสามารถในการให้ผลผลิต 2) การออกดอกเร็วและออกดอกพร้อมกัน 3) ระยะเวลาการบ่มเส้นใยในถุงอาหารเพาะ 4) ดอกมีขนาดและสีตรงตามความต้องการของตลาด (สัญญาชัย, 2521) เป็นเกณฑ์ตัดสิน โดยเปรียบเทียบกับเห็ดภูฏาน หมายเลข 3 เมื่อพิจารณาการให้ผลผลิตพบว่า เห็ดลูกผสม P3xSE5 ให้ผลผลิตเท่ากับ 116.82 80.23

และ 88.76 กรัม/ถุง ลูกผสม P3xSA6 เท่ากับ 113.39 79.03 และ 69.94 กรัม/ถุง ของการเพาะทดสอบ ใน 3 ช่วงเวลา ตามลำดับ เปรียบเทียบกับเห็ดภูฐาน หมายเลข 3 ที่ให้ผลผลิตเท่ากับ 125.47 42.84 และ 82.48 กรัม/ถุง ตามลำดับ เช่นกัน โดยพบว่าผลผลิตของลูกผสม P3xSE5 และ P3xSA6 ในช่วงเพาะที่ 1 และที่ 3 ให้ผลผลิตไม่แตกต่างทางสถิติ แต่ในช่วงที่ 2 ลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงกว่าเห็ดภูฐานหมายเลข 3 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับลูกผสม P3xSB24 และ P3xSG2 ให้ผลผลิตในช่วงที่ 2 76.64 และ 75.95 กรัม/ถุง ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับภูฐาน หมายเลข 3 เช่นกัน และการให้ผลผลิตในช่วงที่ 3 P3xSB24 และ P3xSG2 ให้ผลผลิต 92.42 และ 94.31 กรัม/ถุง ตามลำดับ ซึ่งให้ผลผลิตไม่แตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์เปรียบเทียบแต่การให้ผลผลิตในช่วงที่ 1 นั้นพบว่า P3xSG2 ให้ผลผลิตเพียง 33.47 กรัม/ถุง ดังนั้นการพิจารณาในขั้นต้น โดยใช้เกณฑ์ผลผลิตจึงคัดเลือกเห็ด P3xSE5 P3xSA6 และ P3xSB24

จากนั้นเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการออกดอกเร็วและออกดอกพร้อมกัน พบว่าเห็ดลูกผสมทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ P3xSA6 P3xSB24 และ P3xSE5 ใช้เวลาออกดอกหลังการเปิดดอกน้อยกว่าสายพันธุ์เปรียบเทียบ (Table 2) โดยเห็ดลูกผสมสายพันธุ์ P3xSA6 P3xSB24 และ P3xSE5 ใช้เวลา 5-13 7-11 และ 7-12 วัน ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์เปรียบเทียบใช้เวลา 5 – 21 วันโดยลูกผสม P3xSA6 และ P3xSB24 จะออกดอกพร้อมกันหลังเปิดดอก ข้อดีของการออกดอกพร้อมกันคือ ทำให้ลดเวลาในการดูแลและช่วยให้ประหยัดแรงงานในการเก็บ ในขณะที่ P3xSE5 หลังจากเปิดดอกแล้วดอกเห็ดจะทยอยออกดอกเช่นเดียวกับสายพันธุ์เปรียบเทียบ ข้อดีของการทยอยออกดอกนั้นทำให้เกษตรกรมีรายได้หมุนเวียนจากการเก็บผลผลิตไปจำหน่ายตลอด สำหรับสีของดอกเห็ดลูกผสมทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ P3xSE5 P3xSA6 และ P3xSB24 มีสีเทา (Figure 2) ซึ่งตรงกับความต้องการของตลาดและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหมวกดอกเฉลี่ย 4-8 เซนติเมตร ยกเว้นลูกผสม P3xSE5 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหมวกดอกเฉลี่ย 4-9 เซนติเมตร ซึ่งขนาดของเห็ดลูกผสมทั้ง 3 สายพันธุ์ ตรงตามมาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.1514-2555 เห็ดสกุลนางรม จัดอยู่ในรหัสขนาด 1 เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 7 เซนติเมตร และรหัสขนาด 2 เส้นผ่าศูนย์กลาง 3.6 – 7 เซนติเมตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555)

Table 2 The fruit bodies characteristic of 7 selected hybrid strains.

Hybrid Strain Nos	Spawn run (day)	Fruit bodies primordia formation after bag opening(day)	Color	Shape	Cap diameter (cm)
BhutanNo.3 (control)	27-36	5-21	Gray	Fan	4-9
P3 x SA2	34-52	5-27	Cream	round	5-9
P3 x SA6	30-36	5-13	Gray	Fan	4-8
P3 x SB24	34-44	7-11	Gray	Fan	4-8
P3 x SE5	32-36	7-12	Gray	Fan	4-9
P3 x SF15	37-49	11-21	Gray	Fan	4-8
P3 x SF30	34-52	12-24	Gray	Fan	5-9
P3 x SG2	34-41	7-14	Gray	Fan	4-8



Figure 2 Morphological characteristics of fruiting bodies of 7 selected hybrid strains and Bhutan strain No. 3 (dikaryotic parent)

เมื่อพิจารณาระยะเวลาบ่มเส้นใยในถูงอาหารเพาะพบว่า เห็ดลูกผสม P3xSA6 P3xSB24 และ P3xSE5 ใช้เวลาเฉลี่ยในการเจริญจนเต็มถูงเพาะขึ้นอยู่กับขนาด 800 กรัม 30-36 34-44 และ 32-36 วัน ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์เปรียบเทียบใช้เวลา 27- 36 วัน (Table 2) จากการพิจารณาตามเกณฑ์ดังกล่าวจึงคัดเลือกเห็ดคุณภาพลูกผสม 3 สายพันธุ์ได้แก่ P3xSE5 P3xSA6 และ P3xSB24 ไปเพาะทดสอบและเปรียบเทียบการให้ผลผลิตในพื้นที่ศูนย์ศึกษาและศูนย์เครือข่ายโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริต่อไป

3. ทดสอบและเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของเห็ดคุณภาพลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ใน 3 พื้นที่ของโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

3.1 ผลการเปรียบเทียบผลผลิตเห็ดคุณภาพลูกผสมที่ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ พบว่าในช่วงเดือนธันวาคม 2558 – มีนาคม 2559 เห็ดคุณภาพลูกผสมทุกสายพันธุ์ให้ผลผลิตที่ไม่แตกต่างทางสถิติจากคุณภาพ หมายเลข 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบ (Table 3) แต่เมื่อเพาะทดสอบในช่วงเดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2559 พบว่าเห็ดลูกผสม P3xSB24 มีความเหมาะสมสำหรับการเพาะในพื้นที่ดังกล่าวมากกว่าเห็ดคุณภาพหมายเลข 3 เนื่องจากให้ผลผลิตที่สูงกว่าโดยมีความแตกต่างทางสถิติ โดยเห็ดลูกผสม P3xSB24 ให้ผลผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 216.82 กรัม/ถูง ในขณะที่เห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 ให้ผลผลิตเพียง 156.54 กรัม/ถูง ส่วนเห็ดลูกผสม P3xSA6 และ P3xSE5 ให้ผลผลิต 211.14 และ 196.29 กรัม/ถูง ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับเห็ดลูกผสม P3xSB24 และเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 (Table 3)

3.2 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้ผลผลิตเห็ดคุณภาพที่ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง พบว่า เห็ดลูกผสมทุกสายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงกว่าเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 โดยมีความแตกต่างทางสถิติทั้ง 2 ช่วงเวลา (Table 3) โดยการเพาะในช่วงธันวาคม 2558 – มีนาคม 2559 เห็ดลูกผสม P3xSA6 P3xSB24 และ P3xSE5 ให้ผลผลิตเฉลี่ย 156.26 148.53 และ 146.53 กรัม/ถูง ตามลำดับ ในขณะที่เห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 ให้ผลผลิตเฉลี่ยเพียง 119.11 กรัม/ถูง (Table 3) และเมื่อเพาะทดสอบในช่วงเดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2559 พบว่าเห็ดลูกผสม P3xSB24 P3xSE5 และ P3xSA6 ให้ผลผลิต 135.55 132.14 และ 126.55 กรัม/ถูง ตามลำดับ ในขณะที่เห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 ให้ผลผลิตเพียง 102.68 กรัม/ถูง จากผลการทดลองดังกล่าวอาจกล่าวได้ว่าเห็ดคุณภาพลูกผสมทุกสายพันธุ์มีความเหมาะสมสำหรับการเพาะในพื้นที่ดังกล่าวมากกว่าเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3

3.3 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้ผลผลิตเห็ดคุณภาพที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี พบว่า การเพาะเห็ดลูกผสมทั้ง 2 ช่วงเวลาให้ผลผลิตที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 (Table 3)

Table 3 Average fresh weight yield of 3 selected hybridized strains cultivated during December 2015–March 2016 and July – October 2016 at the Royal-initiated Phu Sing Agricultural Development Centre, Srisaket province, Pluak Daeng Rayong Province Development Service Center Under His Majesty's Initiatives and Kung Krabaen Bay Royal Development Study Centre, Chanthaburi province.

Strains	Average fresh weight yield (g/bag)					
	Srisaket		Rayong		Chanthaburi	
	Dec.- Mar.	Jul. - Oct.	Dec.- Mar.	Jul. - Oct.	Dec.- Mar.	Jul. - Oct.
Bhutan No.3 ^{1/}	131.45 ns ^{2/}	156.54 b ^{3/}	119.11 b	102.68 c	154.24 ns	103.27
P3 x SA6	145.58	211.14 ab	156.26 a	126.55 b	164.48	85.38
P3 x SB24	161.33	216.82 a	148.53 a	135.55 a	160.85	93.00
P3 x SE5	139.28	196.29 ab	146.53 a	132.14 ab	171.43	102.75
CV. (%)	22.0	16.9	6.9	3.3	9.2	12.7

^{1/}Bhutan No3 = Control.

^{2/}ns = non significant

^{3/}Means followed by a common letter in the same column are not significantly different at the 5% level by DMRT.

จากผลการเพาะทดสอบหัตถ์ลูกผสมเดือนธันวาคม 2558 – มีนาคม 2559 พบว่าที่ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงฯ จังหวัดระยอง หัตถ์ลูกผสมทุกสายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เปรียบเทียบ โดยมีความแตกต่างทางสถิติ แต่ขณะที่ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์ฯ จังหวัดศรีสะเกษ และศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนฯ จังหวัดจันทบุรี หัตถ์ลูกผสมให้ผลผลิตที่ไม่แตกต่างกับ สายพันธุ์เปรียบเทียบ ทั้งนี้อาจเนื่องจากอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมสำหรับระยะออกดอกของหัตถ์ลูกผสมคือ อุณหภูมิ 25 – 32 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 80 – 90 เปอร์เซ็นต์ (กรมวิชาการเกษตร, 2544) ซึ่งในโรงเรือนเปิดดอกของศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงฯ จังหวัดระยอง มีอุณหภูมิเฉลี่ย 28.49 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 84.09 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในช่วงอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเปิดดอกมากกว่าโรงเรือนของศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนฯ จังหวัดจันทบุรี และศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์ฯ จังหวัดศรีสะเกษ ที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยในโรงเรือนเท่ากับ 30.96 28.46 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความชื้นสัมพัทธ์ 63.72 45.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การที่มีความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือนน้อยส่งผลให้เกิดการระเหยน้ำออกไปจากดอกเห็ด ทำให้ดอกเห็ดแห้งและอาจชะงักการเจริญ (บุญส่ง, 2543) แต่เมื่อเพาะทดสอบเดือนธันวาคม 2558- มีนาคม 2559 พบว่าที่ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์ฯ จังหวัดศรีสะเกษ เห็ดลูกผสมให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เปรียบเทียบโดยมีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเพาะทดสอบในช่วงนี้อุณหภูมิเฉลี่ยในโรงเรือนเปิดดอก 31.3 องศาเซลเซียส ยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับระยะออกดอก ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือนเฉลี่ย 68.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมสำหรับระยะออกดอกของเห็ดคุณภาพมากกว่าการเพาะในช่วงแรก ขณะที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนฯ จังหวัดจันทบุรี ถึงแม้อุณหภูมิเฉลี่ยในโรงเรือน 28.74 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 82.24 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับระยะเปิดดอก แต่ให้ผลผลิตน้อยเนื่องจากหลังจากการเปิดดอกประมาณ 1 เดือน มีการเข้าทำลายของไรซึ่งเป็นศัตรูเห็ดจึงทำให้ต้องมีการนำก้อนเห็ดที่มีการระบาดของไรไปทำลายส่งผลให้การเก็บผลผลิตบางส่วนไม่ครบ 3 เดือนตามระยะเวลาที่กำหนด จากผลการเพาะทดสอบเห็ดคุณภาพลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ใน 3 พื้นที่ของโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ พบว่าดอกเห็ดมีลักษณะรูปร่างที่ไม่แตกต่างจากการเพาะที่กรุงเทพฯ

สรุปผลการทดลอง

ผลการปรับปรุงพันธุ์เห็ดคุณภาพด้วยวิธีการผสมพันธุ์แบบ Di-mon mating ระหว่างเส้นใยนิวเคลียสของเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ให้บริการของกรมวิชาการเกษตรกับเส้นใยนิวเคลียสเดี่ยว 268 สปอร์ ที่มาจากเห็ดคุณภาพสายพันธุ์ต่างๆ ได้กลุ่มผสมทั้งหมด 268 กลุ่มผสมมี 18 กลุ่มผสมที่เข้าคู่กันได้นำเห็ดลูกผสมที่ได้ทั้ง 18 สายพันธุ์ไปเพาะทดสอบในถุงอาหารเพาะเชื้อเห็ด ณ โรงเรือนเพาะเห็ดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 3 ช่วงเวลา ได้แก่ พฤศจิกายน 2557 – กุมภาพันธ์ 2558 มีนาคม – มิถุนายน 2558 และ กรกฎาคม – ตุลาคม 2558 คัดเลือกได้เห็ดลูกผสมที่มีลักษณะดี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ P3xSE5 P3xSA6 และ P3xSB24 โดยใช้เกณฑ์ 1) ความสามารถในการให้ผลผลิต 2) การออกดอกเร็วและออกดอกพร้อมกัน 3) ระยะเวลาการบ่มเส้นใยในถุงอาหารเพาะ 4) มีขนาดและสีตรงตามความต้องการของตลาดเป็นเกณฑ์ตัดสิน เปรียบเทียบกับเห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 จากนั้นนำไปเพาะทดสอบและเปรียบเทียบการให้ผลผลิตในพื้นที่ศูนย์ศึกษาและศูนย์เครือข่ายโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ 3 แห่ง ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ ระยอง และจันทบุรี โดยใช้เห็ดคุณภาพ หมายเลข 3 เป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบ พบว่าที่ศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ P3xSB24 ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เปรียบเทียบ เมื่อเพาะในเดือน มิถุนายน-ตุลาคม 2559 ในขณะที่เห็ดลูกผสมทั้ง 3 สายพันธุ์เหมาะสมในพื้นที่ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง โดยให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์เปรียบเทียบทั้ง 2 ช่วงเวลาที่ทดสอบ และเมื่อเพาะที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี ลูกผสม P3xSE5 ให้ผลผลิตสูงกว่าลูกผสมสายพันธุ์อื่น ในช่วงเพาะเดือนธันวาคม 2558 -

มีนาคม 2559 แต่อย่างไรก็ตามการเพาะเห็ดในประเทศไทยยังอาศัยสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติเป็นส่วนใหญ่ ประกอบกับเห็ดเป็นจุลินทรีย์ที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม สายพันธุ์เห็ดที่ดีเพียงอย่างเดียวไม่อาจทำให้การเพาะเห็ดประสบความสำเร็จได้เสมอไป จำเป็นต้องอาศัยปัจจัยหลายประการทั้งอาหาร อิทธิพลของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น แสง ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้การจัดการโรงเรือนให้ถูกสุขลักษณะก็เป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตเห็ดให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

กรมวิชาการเกษตร ขับเคลื่อนผลงานสายพันธุ์เห็ดภูฏานลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ที่ให้ผลผลิตสูง และมีลักษณะดอกตรงตามความต้องการของตลาด จำนวน 3 สายพันธุ์ ขยายผลให้กับเกษตรกร ผู้เพาะเห็ดในโครงการพระราชดำริฯ และเกษตรกรที่สนใจ ผ่านศูนย์พัฒนาการเกษตรภูสิงห์ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดศรีสะเกษ ศูนย์บริการการพัฒนาปลวกแดงตามพระราชดำริ จังหวัดระยอง และศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริจังหวัดจันทบุรี เพื่อให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น รวมทั้งนำไปเพาะทดสอบคัดเลือกเพิ่มเติม ณ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริจังหวัดสกลนคร เพื่อเลือกชนิดของลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพและมีความเหมาะสมต่อการให้ผลผลิตในพื้นที่ของแต่ละช่วงเวลา เป็นทางเลือกให้เกษตรกร ได้ใช้อย่างเหมาะสม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.สัตยชัย ดันตยาภรณ์ ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรด้านความร่วมมือระหว่างประเทศ ที่ให้คำแนะนำปรึกษาในการทำการทดลองครั้งนี้ ดร.นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ผู้เชี่ยวชาญด้านจุลชีววิทยา และนางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ผู้เชี่ยวชาญด้านอนุรักษพันธุกรรม ที่ให้คำปรึกษาในการจัดทำเอกสารวิจัยเรื่องเดิม ข้าราชการและพนักงานราชการ กลุ่มวิจัยและพัฒนาเห็ด และกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กองแผนงานและวิชาการ ที่ให้คำปรึกษาและวิเคราะห์สถิติ

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2544. *การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ*. กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์.
กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 146 หน้า
- ณัฐธยา คำบุญรัตน์และวิเชียร ภู่อ่าง. 2540. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนางรมชนิดฟลอริดาโดยการผสมพันธุ์. *วารสารการเกษตร* (13)1: 19-28.
- นันทวลี คำสงฆ์. 2549. *การสร้างและตรวจลูกผสมระหว่างเห็ดหอม เห็ดขอนขาวและเห็ดคบด โดยวิธี Mon-mon Mating และ Di-mon Mating*. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท.
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร. 2543. *เห็ดนางฟ้า*. เกษตรบุ๊ค นนทบุรี. 103 หน้า.
- ประเสริฐ วุฒิกัมภีร์. 2539. *การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและผลผลิตของเห็ดนางฟ้าภูฏานและเห็ดนางรมสีทอง*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2532. *เทคโนโลยีการเพาะเห็ด*. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 590 น.
- ภัทรารักษ์ อิศระทะ และวิเชียร ภู่อ่าง. 2540. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดนางรมสีเทาโดยการผสมพันธุ์. *วารสารเกษตร*. (13)1: 9-18
- สัจชัย ตันตยาภรณ์. 2521. *แนวทางการปรับปรุงพันธุ์เห็ด. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย*. หน้า 31-39. ใน: *ที่ระลึกในพิธีเปิดป้ายสมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย*. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2555. *มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 1514-2555 เห็ดสกุลนางรม*. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- อัญชลี เชียงกุล. 2553. การปรับปรุงพันธุ์เห็ดภูฏานโดยวิธีการผสมสปอร์เดี่ยวและการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอเห็ดลูกผสม. หน้า 344 – 352. ใน: *รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม 2 สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ*. กรมวิชาการเกษตร.
- Carrillo, R.R., C.M. Carona and H. Leal. 2011. Strain Improvement of Edible Fungi With *Pleurotus eryngii* Neohaplonts. Page 62 – 70. *Section: Gemomics, Genetics and Breeding. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7)*. Mexico.
- Kumara, K.L.W. and I.C.S. Edirimanna. 2009. Improvement of Strains of Two Oyster Mushroom Cultivars Using Duel Culture Technique. *World Applied Science J.*7(5):654-660.