รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรม
The Strain Improvement of Industrial Microorganisms

โครงการย่อยที่ ๒ : การปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อรา *Gibberella fugikuroi*

สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
กุมภาพันธ์ ๒๕๓๖

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรม

The Strain Improvement of Industrial Microorganisms

โครงการย่อยที่ ๒ : การปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อรา *Gibberella fugikuroi*

เสนอ

ฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยนี้ ได้รับเงินทุนอุดหนุนจาก

งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ ๒๕๓๓ และ ๒๕๓๔

สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กุมภาพันธ์ ๒๕๓๖

รายนามคณะผู้วิจัย :

๑. รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล

๒. รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ชื่นพานิชการ

๓. นางวาสนา โตเสี้ยง

๔. นางสาวจันทร์ธิรา สัภยพร

บทคัดย่อ

Gibberella fugikuroi C สายพันธุ์ดั้งต้นซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก 560 มิลลิกรัม/ลิตร ในเวลา 13 วัน ในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 °C และเขย่า 300 รอบ/นาที เมื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต คัดเลือกได้ สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูง 3 สายพันธุ์จากทั้งหมด 107 สายพันธุ์ คือ W-6, OCw-1 และ UV4-28 ซึ่งมีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก 589, 593 และ 591 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในสภาวะเดียวกับสายพันธุ์ดั้งต้น ผลผลิตเพิ่มขึ้น 5.1,5.9 และ 5.3เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และเมื่อนำ W-6, OCw-1และ UV4-28 มาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ซ้ำด้วย NTG พบสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก 2 สายพันธุ์ จาก 462 สายพันธุ์ คือ F_4.W-6(9)และ F_5.UV4-28(NO8-19)ซึ่งสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 703 และ 702 มิลลิกรัม/ลิตรตามลำดับ ที่สภาวะดังกล่าวข้างต้น ทั้ง 2 สายพันธุ์ผลิตเพิ่มขึ้น 25.5 เปอร์เซนต์ เมื่อเทียบกับ *Gibberella fugikuroi* C และ F_4.W-6(9)ผลิตได้มากกว่า W-6 19.4 เปอร์เซนต์ ส่วน F_5.UV4-28(NO8-19)ผลิตได้เพิ่มขึ้น 18.8 เปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับ UV4-28 และเมื่อชักนำF_5.UV4-28(NO8-19)ให้เกิดการกลายพันธุ์ซ้ำด้วย NTG คัดเลือกได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูง 4 สายพันธุ์ จากสายพันธุ์กลายพันธุ์ 432 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ N9-34 มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด คือผลิตได้ 891 มิลลิกรัม/ลิตร ที่สภาวะดังกล่าวข้างต้น ผลผลิตเพิ่มขึ้น 59.1 เปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับ *Gibberella fugikuroi* C เพิ่มขึ้น 50.8 เปอร์เซนต์ เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ UV4-28 และเพิ่มขึ้น 20.9 เปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับ F_5.UV4-28(NO8-19)

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญรูป	ง
บทนำ	1-2
วิธีการทดลอง	3-8
ผลการทดลอง	9-105
สรุปและวิจารณ์ผล	106-110
เอกสารอ้างอิง	111-112
ภาคผนวก	113

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 แสดงอัตรารอดตายของ *Gibberella fugikuroi* C เมื่อฉายแสงอุลตราไวโอเลต(UV) ที่ระยะเวลาต่าง ๆ 10

ตารางที่ 3.2 แสดงลักษณะโคโลนีและสีด้านล่างของโคโลนีของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งPDA ผสมแร่ธาตุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง 13-17

ตารางที่ 3.3 แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (Thin layer chromatography,TLC) และวิธีวัดค่าดูดกลืน (Spectrophotometric determination) 19-21

ตารางที่ 3.4 แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (TLC)และวิธีไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC) 23-25

ตารางที่ 3.5 แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต และผ่านการถ่ายเชื้อและตรวจสอบซ้ำเทียบกับสายพันธุ์ดั้งต้นตรวจวิเคราะห์โดย HPLC 26

ตารางที่ 3.6 แสดงอัตรารอดตายของ W-6 เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ 27

หน้า

ตารางที่ 3.7 แสดงอัตรารอดตายของ OCw-1 เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ 29

ตารางที่ 3.8 แสดงอัตรารอดตายของ UV4-28 เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ 31

ตารางที่ 3.9 แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการกลายพันธุ์ W-6, OCw-1และUV4-28 ซ้ำด้วย NTG เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ 33-53

ตารางที่ 3.10 แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา สายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ W-6 ,OCw-1 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG 55-77

ตารางที่ 3.11 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของ สายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการกลายพันธุ์ด้วย NTG และผ่านการคัด เลือกขั้นต้นแล้วเทียบกับสายพันธุ์เดิม

ตารางที่ 3.12 แสดงอัตรารอดตายของ F_s.UV4-28(NO8-19) เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ 80

ตารางที่ 3.13 แสดงลักษณะโคโลนีและความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอ เรลลิกของเชื้อราที่เกิดจากการกลายพันธุ์ F_s.UV4-28 (NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC 82-104

ตารางที่ 3.14 แสดงเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ F_s.UV4-28 (NO8-19) ด้วย NTG และผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงเทียบกับ สายพันธุ์ดั้งเดิม 105

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตรารอดตายของ *Gibberella fugikuroi* C กับระยะเวลาของการฉายแสงอุลตราไวโอเลต 11

รูปที่ 3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตรารอดตายของ W-6 28

รูปที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตรารอดตายของ OCw-1 30

รูปที่ 3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตรารอดตายของ UV4-28 32

รูปที่ 3.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตรารอดตายของ F_s.UV4-28 (N08-19) 81

บทนำ

การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรม มีส่วนสำคัญอย่างมากต่ออุตสาหกรรมหมัก (fermentation industry) เพราะประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อต้นทุนการผลิต

จุลินทรีย์ที่แยกได้จากธรรมชาติโดยทั่วไป จะมีประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตต่ำ ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต เพราะทำให้ต้นทุนการผลิตสูง จุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการหมัก ส่วนมากมักจะเป็นสายพันธุ์ที่ได้ปรับปรุงจากสายพันธุ์เดิมอย่างต่อเนื่อง และในอุตสาหกรรมทั่วไปก็ยังคงปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ต่อไปอย่างไม่หยุดยั้ง เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อลดต้นทุนการผลิตและเพื่อแข่งขันในทางการค้าในที่สุด (1)

การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ทำได้หลายวิธีคือ การกลายพันธุ์ (mutagenesis) การหลอมเซล (protoplast fusion) และการใช้เทคนิคทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์ (genetic engineering) อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมสำคัญ ๆ เท่าที่ผ่านมา ใช้วิธีการกลายพันธุ์และการคัดเลือก (mutation and selection) ซึ่งมีข้อดีคือ สามารถนำมาใช้กับจุลินทรีย์ที่ขาดความรู้พื้นฐานอย่างละเอียดทางพันธุศาสตร์ (genetics) หรือขั้นตอนของการสร้างผลิตภัณฑ์ ตลอดจนระยะควบคุมภายในเซล (biosynthesis and regulation) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารพวกผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีกระบวนการสังเคราะห์ที่สลับซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับยีนมากมาย วิธีการกลายพันธุ์และการคัดเลือกนี้ได้ประสบความสำเร็จอย่างมากในการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสารต่าง ๆ ในทางอุตสาหกรรมการหมัก เช่น ยาปฏิชีวนะต่าง ๆ (antibodies) กรดอะมิโน (amino acid) และสารประเภทฮอร์โมน ซึ่งรวมจิบเบอเรลลินด้วย (2,3,4)

การเกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) มีโอกาสเกิดขึ้นเพียง 10^{-8} - 10^{-9} หรือน้อยกว่า ส่วนการกลายพันธุ์โดยการชักนำ (induced mutation) ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยทางกายภาพ (physical agent) เช่น แสงอุลตราไวโอเลต (ultraviolet), รังสีเอ็กซ์ (X-ray) และรังสีแกมม่า (γ -ray) เป็นต้น หรือปัจจัยทางเคมี (chemical agent) เช่น N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (NTG) diethylsulphate nitrogen mustard gas เป็นต้น จะชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้มากกว่าธรรมชาติถึง 10-100 เท่า สารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ทุกชนิด จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรด

ดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (DNA) ในพลาสมิด (plasmid) หรือในโครโมโซม (chromosome) โดยเกิดการคัดลอกผิดแบบ (misreplication) การจับคู่ผิดปกติของคู่เบสในสาย DNA การขาดหายไปของเบส หรือความผิดปกติที่เกิดระหว่างการซ่อมสาย DNA โดยสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์แต่ละชนิดจะมีกลไกในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ต่าง ๆ กันไป (1,5)

จากความสำเร็จที่ผ่านมาของการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยาปฏิชีวนะ โดยวิธีการกลายพันธุ์และการคัดเลือก สามารถเพิ่มผลผลิตยาเพนนิซิลลิน (penicillin) จาก 20 หน่วย/มิลลิลิตร เมื่อผลิตครั้งแรกเป็น 85,000 หน่วย/มิลลิลิตร ในปัจจุบัน (1) จึงเป็นหลักปฏิบัติกันทั่วไปว่า การพัฒนาอุตสาหกรรมการหมัก มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องปรับปรุงสายพันธุ์ที่ใช้ควบคู่กันไป

โครงการปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อรา *Gibberella fugikuroi* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ผลิตฮอร์โมนพืชจิบเบอเรลลิน จึงต้องมีการทำควบคู่กันไปกับการพัฒนากระบวนการผลิตจิบเบอเรลลิน ซึ่งมีความสำคัญต่อการเกษตรสมัยใหม่อย่างมาก เนื่องจากเกษตรกรสามารถใช้จิบเบอเรลลินในการเร่งหรือควบคุมการออกดอก ติดผล การสุกของผล การงอกของเมล็ด ซึ่งช่วยในการผลิตพืชนอกฤดู พืชเมืองหนาว และผลิตพืชให้มีคุณสมบัติตามความต้องการของตลาดได้ (6) ดังนั้น จิบเบอเรลลินจึงเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งสำหรับการเกษตรของประเทศไทย โดยเฉพาะผลผลิตที่จะต้องส่งออกและแข่งขันกับต่างประเทศ เนื่องจากจิบเบอเรลลินเป็นสารที่มีราคาแพง และประเทศไทยได้นำเข้าสารดังกล่าวทั้ง ๆ ที่สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบภายในประเทศ ดังนั้น สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงได้ดำเนินการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตจิบเบอเรลลิน และได้ประสบผลสำเร็จเป็นที่น่าพอใจในระดับห้องปฏิบัติการ และในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร รวมทั้งพัฒนาวิธีการสกัดและการทำสารให้บริสุทธิ์เป็นผลสำเร็จ ได้มีข้อมูลเพียงพอที่จะผลิตในระดับขยายส่วน งานวิจัยนี้เป็นการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีอยู่ให้มีประสิทธิภาพในการผลิตดียิ่งขึ้น โดยเลือกใช้วิธีการกลายพันธุ์ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต และสาร NTG เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่เสถียรยิ่งขึ้น และคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีโดยเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารสูง เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตต่อไป

วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เพาะเลี้ยงเชื้อ *Gibberella fugikuroi* ในอาหารแข็งเอียง PDA ผสมแร่ธาตุ (ภาคผนวก ก) เป็นเวลา 10 วัน ที่ 25°c เติมสารละลาย 0.1% Tween 80 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วขูดสปอร์เพื่อให้ได้สปอร์แขวนลอย (spore suspension) นำสปอร์ที่ได้เพาะในอาหาร PDA ผสมแร่ธาตุที่บรรจุในขวดแม่โจง (60 มิลลิลิตร/ขวด) บ่มที่ 25°c เป็นเวลา 10 วัน

2.2 การเตรียมสปอร์เพื่อใช้ในการทดลอง

นำ *Gibberella fugikuroi* ที่เพาะเลี้ยงในขวดแม่โจง ตามข้อ 2.1 มาเติมสารละลาย 0.1% Tween 80 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร/ขวด ขูดสปอร์ให้หลุดออกแล้วกรองสปอร์ผ่านผ้าขาวบาง (5 ชั้น) นำสปอร์แขวนลอยที่ได้ไปปั่นแยกเอา 0.1% Tween 80 ออก เพื่อให้สปอร์เข้มข้นมากขึ้น แล้วนับจำนวนสปอร์ด้วย haemacytometer เทียบกับการนับโดยการเพาะเลี้ยง (viable count) ก่อนนำไปทำให้กลายพันธุ์ด้วย NTG หรือ แสงอุลตราไวโอเลต ต่อไป

2.3 การทำ UV survival curve ของ *Gibberella fugikuroi*

1. เตรียมสปอร์ของ *Gibberella fugikuroi* ตามวิธีในข้อ 2.1 และ 2.2

2. ใส่ 10 มิลลิลิตรของสปอร์แขวนลอยที่มีความเข้มข้น 10^4 - 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร (viable count) ลงในจานเลี้ยงเชื้อเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ภายในมีใบกวนที่ทำจากลวดโค้งเป็นรูปตัว Z และทั้งหมดอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ

3. วางจานบน magnetic stirer ที่วางอยู่ใต้แหล่งกำเนิดแสงอุลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร กำลังงาน 20 วัตต์ ระยะห่างจากแหล่งกำเนิดแสง 20 เซนติเมตร

4. ฉายแสงลงไปที่จานซึ่งเปิดฝา และกวนสปอร์แขวนลอยตลอดเวลา เก็บตัวอย่างที่

ระยะเวลาต่าง ๆ กันตั้งแต่ 0,10,20,30,40,50,60,70,80,90,100,105,110,115 และ 120 วินาที ตามลำดับ

5. หาจำนวนสปอร์รอดตายในแต่ละช่วงของการฉายแสงอุลตราไวโอเลต โดยกระจาย 0.1 มิลลิลิตรของสปอร์ที่ผ่านการฉายแสงลงบนอาหารแข็ง PDA ผสมแร่ธาตุ บ่มในที่มืดอุณหภูมิ 25 ° C นับจำนวนโคโลนีที่เจริญ คำนวนเปอร์เซนต์รอดตายที่เวลาต่างๆ

2.4 การเลี้ยงเชื้อราเพื่อหาประสิทธิภาพในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่า

1. ใส่ 1 มิลลิลิตรของสปอร์แขวนลอยที่เตรียมโดยวิธีในข้อ 2.1 และ 2.2 ลงในอาหาร เตรียมหัวเชื้อ (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บรรจุในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงในตู้เขย่า (incubator shaker) ที่อุณหภูมิ 25 °c ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน

2. ใส่ 5 มิลลิลิตรของหัวเชื้อที่เตรียมไว้ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ค) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บรรจุในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงในตู้เขย่า (incubator shaker) ที่อุณหภูมิ 25°c ความเร็ว 300 รอบต่อนาที

3. เก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลาต่างๆมากรอง แล้วนำส่วนน้ำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก ตามวิธีในข้อ 2.5, 2.6 หรือ 2.7 ตามลำดับ

2.5 การหาปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (TLC,Thin layer chromatography)

นำ 2 มิลลิลิตรของน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ ตามข้อ 2.4 มาปรับ พีเอช เป็น 3-3.5 ด้วยกรดเกลือ แล้วเติม 3 มิลลิลิตรของเอธิลอซิเตท จากนั้นนำมาสกัดเป็นเวลา 2 นาที ดูดชั้นเอธิลอซิเตทมา 2 มิลลิลิตร แล้วระเหยจนแห้งภายใต้สูญญากาศ เติม 200 ไมโครลิตรของเอธิลอซิเตทผสมจนละลายหมด นำมา 10 ไมโครลิตร จุดลงบนแผ่น TLC (Silica gel, Kiesel gel $60F_{254}$) develope ในสารละลายผสมที่ประกอบด้วย สารละลายผสม A : สารละลาย B (อัตราส่วน 6 : 4)* หลังจากเป่าให้แห้งแล้ว พ่นแผ่น TLC นั้นด้วย 10 เปอร์เซนต์กรดซัลฟูริกในเอธิลแอลกอฮอล์ แล้วอบที่ 100°c เป็นเวลา 10 - 15 นาที เปรียบเทียบระยะทาง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเคลื่อนที่และความเข้มกับจุดสารมาตรฐาน กรดจิบเบอเรลลิก(GA_3) จะให้สีเหลืองออกน้ำตาล หลังจากอบแล้ว ส่วนสารจิบเบอเรลลินชนิด GA_4 หรือ GA_7 จะให้สีเขียวอมฟ้าหลังจากอบแล้ว

หมายเหตุ # สารละลายผสม A คือ เบนซิน : โพรพิโอนิกแอซิด : น้ำ = 6 : 3 : 1
สารละลาย B คือ เอธิลอซิเตท

2.6 การหาปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยการวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometric determination) (7)

นำ 2 มิลลิลิตรของน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ตามข้อ 2.4 มาปรับพีเอชให้เป็น 3-3.5 ด้วยกรดเกลือ เติมเอธิลอซิเตท 4 มิลลิลิตร แล้วสกัดเป็นเวลา 3 นาที ดูดเอาชั้นเอธิลอซิเตททั้งหมดมาใส่หลอดใหม่ เติม 8 เปอร์เซนต์สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 2 มิลลิลิตร สกัด 3 นาที ดูดเอาชั้นโซเดียมไบคาร์บอเนตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดใหม่ เติมน้ำ 6.25 มิลลิลิตร แล้วเติม 6 นอร์มอล กรดซัลฟูริก 3.75 มิลลิลิตร , 8 เปอร์เซนต์ โซเดียมไบคาร์บอเนต 0.5 มิลลิลิตร และ 5 เปอร์เซนต์ แอมโมเนียมโมลิบเดต 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วต้มในน้ำเดือด 40 นาที นำมาทำให้เย็นและปรับปริมาตรเป็น 12.5 มิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตร

2.7 การหาปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC, high performance liquid chromotography) (8)

นำ 2 มิลลิลิตรของน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมโดยวิธีข้อ 2.4 และปรับพีเอชเป็น 3-3.5 ด้วยกรดเกลือ

↓

เติม 0.15 มิลลิลิตรของอซิตามิโดพีนอล (acetamidophenol)
0.15 มิลลิลิตรของนาโพรเซน (noproxen)
และ 4 มิลลิลิตรของเอธิลอซิเตท

↓

สกัด 4 นาที

ดูดชั้นเอธิลอซิเตทมา 3.5 มิลลิลิตร

ชั้นน้ำที่เหลือ

เติม 4 มิลลิลิตรของเอธิลอซิเตท

สกัด 4 นาที

ดูดชั้นเอธิลอซิเตท 4 มิลลิลิตร

รวมเข้าด้วยกัน

เติม 1 เปอร์เซนต์โซเดียมไบคาร์บอเนต 5 มิลลิลิตร

สกัด 4 นาที

แยกเอาชั้นโซเดียมไบคาร์บอเนตทั้งหมดมาปรับพีเอชเป็น 3-3.5

เติมเอธิลอซิเตท 5 มิลลิลิตร

สกัด 4 นาที

ดูดชั้นเอธิลอซิเตทมาใส่หลอดใหม่
แล้วเติมโซเดียมซัลเฟต จนดูดน้ำออกหมด

ดูดมา 3 มิลลิลิตร แล้วระเหยจนแห้ง

↓

เติม 2 มิลลิลิตรของเมธานอล

↓

นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยฉีดครั้งละ 10 ไมโครลิตร

สภาวะดังนี้ คือคอลัมน์ Spherisorb C_8 (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร ยาว 250 มิลลิเมตร สารละลายตัวพา(mobile phase) ที่ใช้คือ เมธานอลกับสารละลายฟอสฟอริก แอซิด พีเอช 3 อัตราส่วน 35 ต่อ 65 โดยมีอัตราการไหลของสารละลายตัวพา 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดชนิดและปริมาณของจิบเบอเรลลินภายหลังที่แยกผ่านคอลัมน์ด้วยเครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลต(ultraviolet detector) ที่ความยาวคลื่น 208 นาโนมิเตอร์ เวลาที่เหมาะสมของสารที่อยู่ในคอลัมน์(retention time) = 8.6-9.2 นาที

หมายเหตุ อซิตามิโดฟีนอลเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบของ GA_3
นาโพรเซน " " GA_4

ต่อมาได้มีการปรับปรุงวิธีการสกัดและเตรียมสารเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก เพื่อความสะดวกและรวดเร็ว ในขณะเดียวกันก็สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารได้แม่นยำเช่นเดียวกับวิธีเดิม โดยนำ 3 มิลลิลิตรของน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมโดยวิธีข้อ 2.4 มาเติม 0.15 มิลลิลิตรของอซิตามิโดฟีนอล และปรับความเป็นกรดด่างของสารละลายให้มีค่าพีเอช 7 ด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ สกัดส่วนผสมทั้งหมดด้วยเอธิลอซิเตทจำนวน 5 มิลลิลิตร นาน 4 นาที เมื่อแยกชั้นแล้วนำชั้นน้ำมาปรับพีเอชเป็น 3-3.5 ด้วยกรดเกลือ ก่อนสกัดด้วย 4 มิลลิลิตรของเอธิลอซิเตทนาน 4 นาที แล้วแยกชั้นของเอธิลอซิเตทมาขจัดน้ำออกด้วยโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ(sodium sulphate anhydrous) นำสารละลายนี้ปริมาตร 3 มิลลิลิตร มาระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศ เติมเมธานอล 3 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดย HPLC สภาวะดังกล่าวข้างต้น

2.8 วิธีการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วย NTG (9)

1. นำสปอร์แขวนลอยของ *Gibberella fugikuroi* สายพันธุ์ที่ต้องการทำให้

เกิดการกลายพันธุ์ ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^{4} - 10^{5} สปอร์/มิลลิลิตร (โดย viable count) ใส่ในแอปเพนดอร์ฟ(appendorf) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดละ 400 ไมโครลิตร

2. เติม 25 ไมโครลิตร ของ 1 โมลาร์ ทริส มาลิเอต บัฟเฟอร์ (tris maleate buffer) พีเอช 8.0 ทุกหลอด

3. เติมน้ำตามตารางข้างล่าง

4. เติม NTG ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตรตามตารางข้างล่าง จะได้ความเข้มข้นของ NTG ในแต่ละหลอดเป็น 0.06, 0.16, 0.18, 0.24, 0.30 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

5. ทิ้งไว้ 30 นาทีในตู้ควัน

6. นำไปปั่น 14,000 รอบ/นาที แล้วจัดเอา NTG ออกให้หมด

7. เติมบัฟเฟอร์หรือ 0.1 เปอร์เซนต์ทวีน 80 (Tween 80) แล้วนำมาเจือจาง เพื่อนำไปหาสปอร์ที่รอดตาย โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ ที่ 25°c เป็นเวลา 3 วัน

8. เขียนกราฟระหว่างเปอร์เซนต์รอดตายกับความเข้มข้นของ NTG

หลอดที่	น้ำ (ไมโครลิตร)	NTG (ไมโครลิตร)	ปริมาตรรวม (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของ NTG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1	75	-	500	-
2	65	10	-	0.06
3	55	20	-	0.12
4	45	30	-	0.18
5	33	40	-	0.24
6	25	50	-	0.30

หมายเหตุ 1. ความเข้มข้นสุดท้ายของบัฟเฟอร์ในแต่ละหลอด = 0.05 โมลาร์

ผลการทดลอง

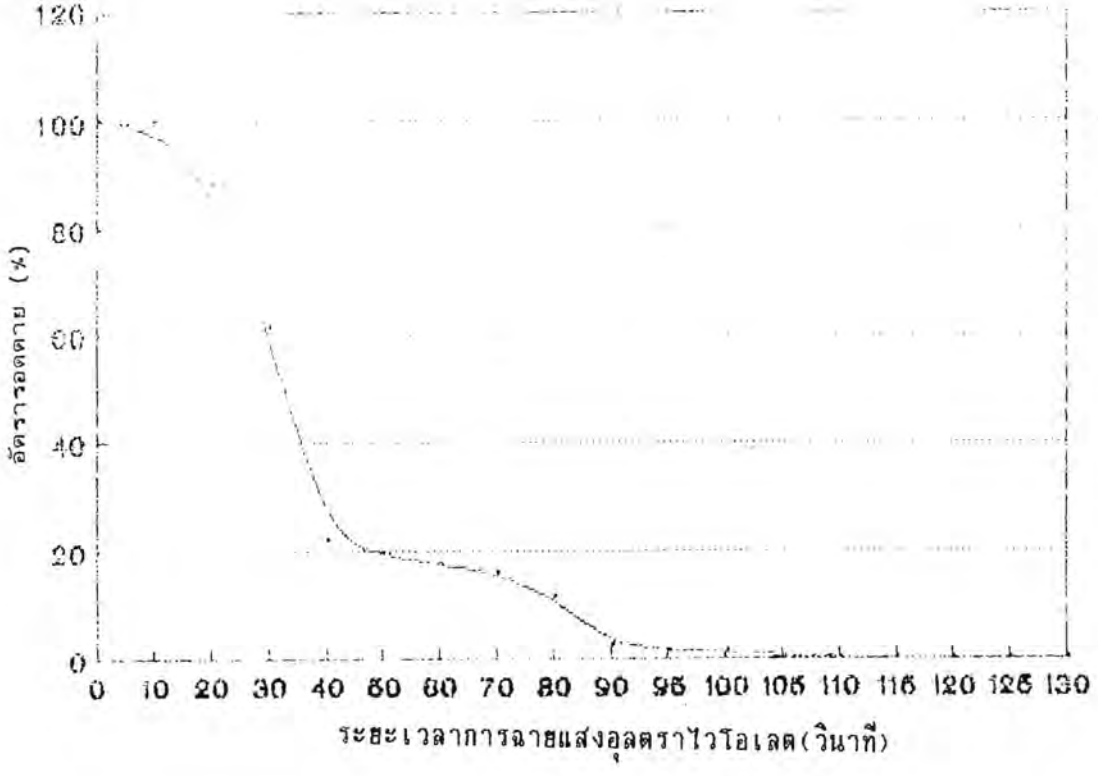
เชื้อราสายพันธุ์ดั้งต้นคือ *Gibberella fugikuroi* C เป็นเชื้อราที่ผ่านการคัดเลือกและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกทั้งในระดับขวดเขย่าและถังหมักขนาด 5 ลิตร และผลการทดลองอยู่ในระดับที่น่าสนใจ จึงนำสายพันธุ์นี้มาเป็นสายพันธุ์ดั้งต้นในการกลายพันธุ์และคัดเลือกต่อไปเพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงขึ้น

3.1 ผลการทดลองหาอัตรารอดตายของ *Gibberella fugikuroi* C เมื่อฉายแสงอุลตราไวโอเลต, UV

จากการทดลองหาอัตรารอดตายของ *Gibberella fugikuroi* C เมื่อได้รับการฉายแสงอุลตราไวโอเลต ที่ระยะเวลาต่างๆ ตามวิธีในข้อ 2.3 ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงอัตรารอดตายของ *Gibberella fugikuroi* C เมื่อฉายแสงอุลตราไวโอเลต(UV) ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ฉายแสง UV (วินาที)	จำนวนโคโลนีที่เจริญ (โคโลนี/มิลลิลิตร)	อัตรารอดตาย (%)
0	8.6×10^4	100.00
10	8.6×10^4	100.00
20	7.6×10^4	88.37
30	5.3×10^4	61.62
40	1.9×10^4	22.09
50	1.7×10^4	19.76
60	1.5×10^4	17.44
70	1.4×10^4	16.27
80	1.0×10^4	11.62
90	2.5×10^3	2.90
95	1.6×10^3	1.86
100	1.3×10^3	1.51
105	7.5×10^2	0.87
110	3.5×10^2	0.40
115	1.7×10^2	0.20
120	70	0.08
125	32	0.04
130	8	0.01



รูปที่ 3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของ *Gibberella fugikuroi* C กับระยะเวลาของการฉายแสงอุลตราไวโอเลต

3.2 การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต(UV)

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.1และรูปที่ 3.1 เลือกเก็บเชื้อราที่ได้ในช่วงเวลาการฉายแสง 90-120 วินาที ซึ่งเปอร์เซนต์รอดตายของ *Gibberella fugikuroi* C เท่ากับ 0.08-2.90 % จำนวน 107 สายพันธุ์ นำมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบ-เบอเรลลิกต่อไป เนื่องจากรายงานของ Tien,W ซึ่งศึกษาการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของ *Pennicillium chrysogenum* โดยใช้แสงอุลตราไวโอเลตเพื่อเพิ่มผลผลิตยาเพนนิซิลลิน พบว่าช่วงเปอร์เซนต์รอดระหว่าง 0.01-5.00 % จะสามารถพบเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดการกลายพันธุ์ได้มากกว่าช่วงเปอร์เซนต์รอดอื่นๆ(10)

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุจำนวน 107 สายพันธุ์ แสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงลักษณะโคโลนีและสีด้านล่างของโคโลนีของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ผสมแร่ธาตุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลำดับที่	ชื่อ	ลักษณะโคโลนี (colony)	สี (pigment)
1	W-1	สายใย สีขาวฟู ,เส้นหยาบ	ไม่มี
2.	W-2	สายใย สีขาวไม่ฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วง
3.	W-3	สายใย สีขาวไม่ฟู ,เส้นละเอียด	ไม่มี
4.	W-4	สายใยสีเหลืองซีดไม่ฟู,เส้นละเอียด	ไม่มี
5	W-5	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีไข่ไก่
6.	W-6	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีม่วงปนเหลือง
7.	W-7	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีม่วงปนเหลือง
8.	W-8	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองเข้ม
9.	W-9	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อน
10.	W-10	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	ไม่มี
11.	W-11	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	ไม่มี
12.	W-12	สายใยสีขาวไม่ฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองเข้ม
13.	W-13	สายใยสีขาวไม่ฟู	ไม่มี
14.	W-14	ไม่เจริญ	ไม่มี
15.	W-15	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อนๆ
16.	W-16	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อนๆ
17.	W-17	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีไข่ไก่
18.	W-18	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองเข้ม
19.	W-19	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	ไม่มี
20.	W-20	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีไข่ไก่
21.	W-21	สายใยสีขาวไม่ฟู,เส้นละเอียด	สีเหลืองน้ำตาล

ตารางที่ 3.2(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีและสีด้านล่างของโคโลนีของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ผสมแร่ธาตุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลำดับที่	ชื่อ	ลักษณะโคโลนี (colony)	สี (pigment)
22.	W-22	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองเข้ม
23.	R-1	สายใย สีขาวไม่ฟู ,เส้นละเอียด	สีส้ม
24.	R-2	สายใย สีขาวไม่ฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองอ่อน
25.	R-3	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองเข้มน้ำตาล
26.	R-4	ไม่เจริญ	ไม่มี
27.	R-5	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีชมพู
28	R-6	สายใยสีชมพูฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองปนชมพู
29.	R-7	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองอ่อน
30.	R-8	สายใยสีขาวไม่ฟู,เส้นละเอียด	สีเหลืองเข้ม
31.	OCw-1	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อนๆ
32.	OCw-2	ไม่เจริญ	ไม่มี
33.	OCp-1	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อน
34.	OCp-2	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อน
35.	OCp-3	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อน
36.	OCp-4	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีเหลืองอ่อน
37.	Nov1.5 (1)	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีม่วงอ่อน
38.	Nov1.5 (2)	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีม่วงเข้ม
39.	Nov1.5 (3)	สายใยสีม่วงไม่ฟู,ชั้นบางๆ	สีน้ำตาล
40.	Nov1.5 (4)	สายใยสีขาวฟู,ชั้นหนาแน่น	สีม่วง
41.	Nov1.5 (5)	สายใยสีขาวฟู,ชั้นหนาแน่น	สีม่วงเข้ม
42.	Nov1.5 (6)	สายใยสีขาวฟู,ชั้นหนาแน่น	สีม่วง
43.	Nov1.5 (7)	สายใยสีขาวฟู,ชั้นหนาแน่น	สีม่วงอ่อนออกน้ำตาล

ตารางที่ 3.2(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนีและสีด้านล่างของโคโลนีของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ผสมแร่ธาตุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลำดับที่	ชื่อ	ลักษณะโคโลนี (colony)	สี (pigment)
44.	Nov1.5 (8)	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง
45.	Nov1.5 (9)	สายใยสีชมพู,ชั้นหนาแน่น	สีม่วง
46.	Nov1.5 (10)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วง
47.	Nov1.5 (11)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงเข้ม
48.	Nov 2 (1)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีม่วงแดงอ่อน
49.	Nov 2 (2)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีม่วงแดงเข้ม
50.	Nov 2 (3)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีม่วงแดง
51.	Nov 2 (4)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีเหลืองอ่อน
52.	Nov 2 (5)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีม่วงแดงอ่อน
53.	Nov2.5 (1)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีม่วงเป็นจุดๆ
54.	Nov2.5 (2)	สายใย สีขาวฟู,เส้นละเอียด	สีม่วงปนแดงอ่อนๆ
55.	Nov2.5 (3)	สายใยสีขาวไม่ฟู,เส้นละเอียด	สีแดงเข้ม
56.	Nov2.5 (4)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงเป็นจุดๆ
57.	Nov2.5 (5)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงปนแดง
58.	Nov2.5 (6)	สายใยสีขาวฟู เส้นหยาบ	สีม่วงเป็นจุดๆ
59.	Dec 1 (1)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงแดง
60.	Dec 1 (2)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงแดง
61.	Dec 2 (1)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองออกชมพู
62.	Dec2.6 (1)	สายใยสีขาวไม่ฟู เส้นหยาบ	สีชมพู
63.	Dec2.7 (1)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลืองปนม่วง
64.	Dec2.7 (2)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงเหลือง
65.	Dec 3 (1)	สายใยสีขาวฟู ,เส้นละเอียด	สีม่วงเข้มเกือบดำ

ตารางที่ 3.2(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนีและสีด้านล่างของโคโลนีของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ผสมแร่ธาตุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลำดับที่	ชื่อ	ลักษณะโคโลนี (colony)	สี (pigment)
66.	Dec 3 (2)	สายใยสีขาวไม่ฟู ,เส้นละเอียด	สีเหลือง
67.	UV4-1	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง
68.	UV4-2	สายใยสีขาว,ไม่ฟู แบนราบ	สีแดง
69.	UV4-3	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง
70.	UV4-4	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง
71.	UV4-5	สายใย สีขาวไม่ฟู แบนราบ	สีม่วงแดง
72.	UV4-6	สายใย สีขาวไม่ฟู	สีม่วง
73.	UV4-7	สายใยฟู	สีม่วง
74.	UV4-8	สายใยสีขาวไม่ฟู	สีม่วงแดง
75.	UV4-9	สายใยสีขาวเป็นก้ามะหยี่	สีม่วงน้ำเงิน
76.	UV4-10	สายใยขาวไม่ฟู แบนราบ	สีน้ำตาล
77.	UV4-11	สายใยขาวฟู	สีม่วงปนแดงอ่อนๆ
78.	UV4-12	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง
79.	UV4-13	สายใยสีขาวเป็นก้ามะหยี่	สีเขียว
80.	UV4-14	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง
81.	UV4-15	สายใยขาวเป็นก้ามะหยี่	สีม่วง
82.	UV4-16	สายใยสีขาวเป็นก้ามะหยี่	สีม่วง
83.	UV4-17	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงแดง
84.	UV4-18	สายใยสีขาวฟูเป็นก้ามะหยี่	สีเหลืองน้ำตาล
85.	UV4-19	สายใยสีขาวฟู	สีชมพู
86.	UV4-20	สายใยสีขาวเป็นก้ามะหยี่	สีเหลืองปนม่วง
87.	UV4-21	สายใยสีครีมเป็นก้ามะหยี่	สีม่วงเหลือง

ตารางที่ 3.2(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนีและสีด้านล่างของโคโลนีของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ผสมแร่ธาตุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลำดับที่	ชื่อ	ลักษณะโคโลนี (colony)	สี (pigment)
88.	UV4-22	สายใยสีครีม เป็นก้ามะหยี่	ไม่มี
89.	UV4-23	สายใยสีครีมไม่ฟู แบนราบ	ไม่มี
90.	UV4-24	สายใยสีขาว เป็นก้ามะหยี่	ไม่มี
91	UV4-25	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงแดงเข้ม
92.	UV4-26	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงอ่อน
93.	UV4-27	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงน้ำเงิน
94.	UV4-28	สายใย สีขาวฟู	สีน้ำเงิน
95.	UV4-29	สายใย สีขาวฟู	สีส้ม
96.	UV4-30	สายใยสีขาวก้ามะหยี่	สีม่วงแดงอ่อน
97.	UV4-31	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงแดง
98.	UV4-32	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงแดงเข้มมาก
99.	UV4-33	สายใยสีขาวฟู	สีแดง
100.	UV4-34	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงอ่อนๆ
101.	UV4-35	สายใยสีขาวฟู	สีน้ำตาลแดง
102.	UV4-36	สายใยสีขาวเป็นก้ามะหยี่	สีเหลืองน้ำตาล
103.	UV4-37	สายใยสีขาวฟู	ไม่มี
104.	UV4-38	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงแดงอ่อน
105.	UV4-39	สายใยสีขาวเป็นก้ามะหยี่	สีม่วงแดงเข้มมาก
106.	UV4-40	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงอ่อนมาก
107.	UV4-41	สายใยสีขาวฟู	สีม่วงอ่อนมาก
108.	สายพันธุ์ตั้งต้น	สายใยสีขาวฟู	สีม่วง

จากการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของสายพันธุ์กลายพันธุ์ทั้ง 107 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิม (*Gibberella fugikuroi* C) พบว่ามีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปพอสรุปได้ดังนี้ คือ

1.การเจริญเติบโต สายพันธุ์ใหม่มีทั้งกลุ่มที่การเจริญเติบโตช้ามาก หรือไม่เจริญเติบโตเลยเมื่อนำมาเลี้ยงต่อ จนถึงกลุ่มที่เจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกับสายพันธุ์เดิม

2.สีของสายใย สีของสายใยส่วนใหญ่จะมีสีขาวเช่นเดียวกับสายพันธุ์ดั้งต้น แต่มีบางสายพันธุ์ที่สีของโคโลนีเปลี่ยนแปลงไป เช่น ชมพู ม่วง เหลืองอ่อน เป็นต้น

3.ลักษณะของสายใย สายใยของสายพันธุ์เดิมจะมีฟูละเอียดขึ้นหนาแน่นพอประมาณ แต่ในสายพันธุ์กลายพันธุ์จะมีทั้งที่ลักษณะเหมือนสายพันธุ์เดิมและสายใยมีลักษณะเป็นเส้นหยาบจนถึงละเอียดมาก ขึ้นหนาแน่นจนถึงบางมากและมีลักษณะฟูจนถึงละเอียดคล้ายก้ามะหยี่

4.สีในอาหารแข็ง สายพันธุ์กลายพันธุ์จะสร้างสีในอาหารแข็งได้ต่างๆกัน ตั้งแต่สีม่วงอ่อนจนเข้มเกือบดำ สีน้ำตาล แดง หรือสีเหลือง

5.สีในอาหารเหลว บางสายพันธุ์สร้างสีลงในอาหารเหลวเป็นสีชมพูเข้มหรือ ม่วงเข้ม ส่วนในสายพันธุ์ดั้งต้นจะสร้างสีในอาหารเหลวเป็นสีชมพูอ่อน

6.การสร้างสปอร์ สายพันธุ์กลายพันธุ์บางสายพันธุ์มีการสร้างสปอร์น้อยมากซึ่งเป็นอุปสรรคในการนำสายพันธุ์นั้นมาคัดเลือกสายพันธุ์ต่อไป

3.3 <u>การหาประสิทธิภาพในการผลิตกรดจิเบอเรลลิกของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต</u>

นำเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตในตารางที่ 3.2 มาเลี้ยงในขวดเขย่าตามวิธีข้อ 2.4 แล้วตรวจสอบประสิทธิภาพในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์กลายพันธุ์ทั้งหมดเทียบกับสายพันธุ์ดั้งต้น โดยวิธีวัดค่าดูดกลืนแสงและ วิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (TLC) ตามวิธีในข้อ 2.5 และ 2.6 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(Thin layer chromotography, TLC) และวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง(Spectrophotometric determination)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	พีเอชของน้ำหมัก	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก	
			TLC	จากการวัดค่าดูดกลืนแสง (มิลลิกรัม/กรัมเซลแห้ง)
1	W-1	3.36	+ ve(+1)	39.38
2	W-2	3.14	+ ve(+2)	26.63
3	W-3	3.05	- ve	12.50
4	W-4	6.55	- ve	-
5	W-5	3.38	+ ve(+3)	16.64
6	W-6	3.39	+ ve(+3)	40.02
7	W-7	3.38	+ ve(+1)	27.84
8	W-8	3.41	+ ve(+3)	20.38
9	W-9	3.33	+ ve(+2)	16.50
10	W-10	3.31	+ ve(+3)	23.55
11	W-11	3.31	+ ve(+3)	20.42
12	W-12	3.42	+ ve(+1)	8.31
13	W-13	3.14	- ve	-
14	W-14	3.46	+ ve(+1)	-
15	W-15	3.40	+ ve(+1)	4.09
16	W-16	3.32	+ ve(+3)	22.21
17	W-17	3.32	+ ve(+3)	17.33
18	W-18	3.45	+ ve(+1)	20.31

ตารางที่ 3.3(ต่อ)แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(Thin layer chromotography, TLC) และวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง(Spectrophotometric determination)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	พีเอชของน้ำหมัก	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก	
			TLC	จากการวัดค่าดูดกลืนแสง (มิลลิกรัม/กรัมเซลแห้ง)
19	W-19	3.36	+ ve(+3)	22.65
20	W-20	3.37	+ ve(+2)	27.58
21	W-21	3.96	+ ve(+3)	30.24
22	W-22	3.58	+ ve(+1)	31.25
23	R-1	3.81	+ ve(+1)	17.11
24	R-2	3.62	+ ve(+3)	25.78
25	R-3	3.46	+ ve(+3)	23.98
26	R-4	3.70	- ve	-
27	R-5	3.81	+ ve(+1)	57.53
28	R-6	3.63	+ ve(+3)	22.57
29	R-7	3.73	+ ve(+1)	40.49
30	R-8	3.70	- ve	-
31	OCw-1	3.51	+ ve(+3)	64.54
32	OCw-2	3.58	+ ve(+3)	32.33
33	OCp-1	3.45	+ ve(+3)	29.08
34	OCp-2	3.39	+ ve(+2)	16.62
35	OCp-3	3.41	+ ve(+3)	31.78
36	OCp-4	3.47	+ ve(+3)	36.51
37	Nov1.5(1)	3.21	+ ve(+2)	25.67

ตารางที่ 3.3 แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(Thin layer chromotography, TLC) และวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง(Spectrophotometric determination)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	พีเอชของน้ำหมัก	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก	
			TLC	จากการวัดค่าดูดกลืนแสง (มิลลิกรัม/กรัมเซลแห้ง)
38	Nov1.5(2)	3.39	+ ve(+3)	31.11
39	Nov1.5(3)	3.41	+ ve(+1)	10.57
39	Nov1.5(3)	3.41	+ ve(+1)	10.57
40	Nov1.5(4)	3.27	- ve	-
41	Nov1.5(5)	3.33	+ ve(+2)	23.21
42	Nov1.5(6)	3.25	+ ve(+1)	10.05
43	Nov1.5(7)	3.47	+ ve(+3)	29.37
44	Nov1.5(8)	3.29	- ve	-
45	Nov1.5(9)	3.24	- ve	-
46	Nov1.5(10)	3.42	+ ve(+1)	8.14
47	Nov1.5(11)	3.34	+ ve(+3)	27.62
48	Nov 2(1)	3.45	+ ve(+3)	28.69
49	Nov 2(2)	3.32	+ ve(+2)	26.53
50	Nov 2(3)	3.24	- ve	-
51	Nov 2(4)	3.34	- ve	-
52	Nov 2(5)	3.21	+ ve(+3)	21.35
53	Nov2.5(1)	3.15	+ ve(+1)	10.21
54	Nov2.5(2)	3.32	+ ve(+3)	31.22
55	Nov2.5(3)	3.41	- ve	-

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.3(ต่อ)แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(Thin layer chromotography, TLC) และวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง(Spectrophotometric determination)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	พีเอชของน้ำหมัก	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก	
			TLC	จากการวัดค่าดูดกลืนแสง (มิลลิกรัม/กรัมเซลแห้ง)
56	Nov2.5(4)	3.37	- ve	-
57	Nov2.5(5)	3.26	+ ve(+3)	28.67
58	Nov2.5(6)	3.18	+ ve(+1)	5.09
59	Dec 1 (1)	3.35	+ ve(+1)	11.87
60	Dec 1 (2)	3.26	+ ve(+2)	20.12
61	Dec 2 (1)	3.47	- ve	-
62	Dec2.6(1)	3.32	- ve	-
63	Dec2.7(1)	3.41	+ ve(+3)	22.64
64	Dec2.7(2)	3.32	+ ve(+2)	23.54
65	Dec 3 (1)	3.26	- ve	-
66	Dec 3 (2)	3.31	+ ve(+2)	23.24
67	สายพันธุ์ดั้งต้น	3.27	+ ve(+3)	31.49

ค่า TLC ในตาราง หมายถึง ความเข้มของจุดกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่นที่ใช้ทดสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

-ve หมายถึงไม่สามารถตรวจสอบปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก

+ve หมายถึงตรวจพบกรดจิบเบอเรลิก

ตัวเลขหลังเครื่องหมาย +ve แสดงความเข้มของกรดจิบเบอเรลลิกที่ตรวจพบซึ่งเพิ่มขึ้นตามลำดับจาก 1,2,3 และ 4 เป็นต้น

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.3 ซึ่งแสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตจำนวน 66 สายพันธุ์เทียบกับสายพันธุ์เดิม ตรวจสอบปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี และการวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าสายพันธุ์เดิม(*Gibberella fugikuroi* C) ให้ค่าความเข้มของกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่นที่ใช้ทดสอบ(TLC)เท่ากับ +ve(3) และ ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 31.49 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักเซลแห้ง)เมื่อวิเคราะห์โดยการวัดค่าดูดกลืนแสง

ในการพิจารณาเลือกสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก จากตารางที่ 3.3 จะเลือกสายพันธุ์ที่ให้ค่าความเข้มบนแผ่นทดสอบเท่ากับ +ve (3)และ ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้มากกว่า 31.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักเซลแห้ง(มากกว่าสายพันธุ์เดิม) พบว่ามีเพียง 5 สายพันธุ์ คือ W-6, OCw-1, OCw-2, OCp-3, OCp-4 ที่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้มากกว่าสายพันธุ์เดิมดังนั้น จึงนำเชื้อทั้ง 5 มาหาปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกที่ผลิตได้ โดยวิธีไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC) ซึ่งเป็นวิธีที่ละเอียดและแม่นยำกว่าวิธีดังกล่าวข้างต้นในการตรวจสอบทั้งชนิดและปริมาณของจิบเบอเรลลิน

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.3 จะเห็นได้ว่าในการวิเคราะห์ปริมาณจิบเบอเรลลินโดยวิธีวัดค่าดูดกลืนแสงนั้นมีสายพันธุ์กลายพันธุ์บางตัวที่ให้ค่าสูงมากแต่เมื่อตรวจสอบโดยวิธี TLC แล้วมีค่าความเข้มของจิบเบอเรลลินบนแผ่นทดสอบน้อยกว่า +ve (3) ทั้งนี้เนื่องจาก วิธีนี้วัดค่าดูดกลืนแสงที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างจิบเบอเรลลินกับกรดฟอสโฟโมลิบดิก(phosphomolybdic acid)ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น ดังนั้นในกรณีที่มีจิบเบอเรลลินชนิดอื่นในตัวอย่างก็สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เช่นกัน ซึ่งจะสัมพันธ์กับผลการทดลองโดยวิธี TLC คือ ถ้าพบจุดของจิบเบอเรลลินชนิดอื่นเช่น GA_4 และ GA_7 จะทำให้ค่าที่ได้จากการวัดค่าดูดกลืนแสงสูงกว่าปกติ นอกจากนี้ ในปฏิกิริยายังอาจถูกรบกวนด้วยสารเจือปนอื่นได้เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล เมธานอล เอธานอล และอะซิโตไนตริล (11) ทำให้ผลที่ได้จากการตรวจสอบโดยวิธีดังกล่าวข้างต้นในบางตัวอย่างไม่สัมพันธ์กัน

ดังนั้น สำหรับการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตที่เหลืออีก 41 สายพันธุ์จะคัดเลือกขั้นต้นโดยใช้วิธี TLC เพียงอย่างเดียว ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.4 แล้วคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ค่าความเข้มบนแผ่น TLC +ve(3) ขึ้นไป จำนวน 18 สายพันธุ์ รวมกับสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากผลการทดลองในตารางที่ 3.3 อีก 5 สายพันธุ์ รวมเป็น 23 สายพันธุ์ มาหาประสิทธิภาพในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยเลี้ยงเชื้อราตามวิธีในข้อ 2.4 เป็นเวลา 13 วัน วิเคราะห์ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกโดย HPLC ตามวิธีในข้อ 2.7 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(TLC) และ ไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธีเปรียบเทียบความเข้มของกรดบนแผ่น TLC	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธี HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
1	UV4-1	+ ve(+4)	722
2	UV4-2	+ ve(+2)	-
3	UV4-3	+ ve(+4)	710
4	UV4-4	+ ve(+3)	627
5	UV4-5	+ ve(+2)	-
6	UV4-6	+ ve(+1)	-
7	UV4-7	+ ve(+3)	565
8	UV4-8	+ ve(+1)	-
9	UV4-9	+ ve(+2)	-
10	UV4-10	- ve	-
11	UV4-11	+ ve(+3)	450
12	UV4-12	+ ve(+4)	700
13	UV4-13	+ ve(+3)	600
14	UV4-14	+ ve(+2)	-
15	UV4-15	+ ve(+2)	-
16	UV4-16	+ ve(+2)	-
17	UV4-17	+ ve(+3)	627
18	UV4-18	+ ve(+2)	-
19	UV4-19	+ ve(+3)	619
20	UV4-20	+ ve(+4)	652

ตารางที่ 3.4(ต่อ) แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(TLC) และ ไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธีเปรียบเทียบความเข้มของกรดบนแผ่น TLC	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธี HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
21	UV4-21	+ ve(+1)	-
22	UV4-22	+ ve(+2)	-
23	UV4-23	+ ve(+1)	-
24	UV4-24	+ ve(+1)	-
25	UV4-25	+ ve(+2)	-
26	UV4-26	+ ve(+4)	712
27	UV4-27	+ ve(+4)	693
28	UV4-28	+ ve(+4)	748
29	UV4-29	+ ve(+3)	440
30	UV4-30	- ve	-
31	UV4-31	+ ve(+2)	-
32	UV4-32	+ ve(+1)	-
33	UV4-33	+ ve(+2)	-
34	UV4-34	+ ve(+3)	580
35	UV4-35	+ ve(+1)	-
36	UV4-36	+ ve(+3)	618
37	UV4-37	+ ve(+4)	700
38	UV4-38	+ ve(+1)	-
39	UV4-39	- ve	-

ตารางที่ 3.4(ต่อ) แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ตรวจสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(TLC) และ ไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC)

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธีเปรียบเทียบความเข้มของกรดบนแผ่น TLC	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก โดยวิธี HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
40	UV4-40	+ ve(+2)	-
41	UV4-41	+ ve(+3)	590
42	W-6	+ ve(+4)	710
43	OCw-1	+ ve(+4)	705
44	OCw-2	+ ve(+3)	564
45	OCp-3	+ ve(+3)	508
46	OCp-4	+ ve(+3)	615
47	สายพันธุ์ตั้งต้น	+ ve(+3)	565

จากตารางที่ 3.4 ได้คัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น *Gibberella fugikuroi* C และผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่า 700 มิลลิกรัม/ลิตร มา 6 สายพันธุ์ เพื่อนำมาทดสอบซ้ำในสภาวะเดียวกันและเพื่อตรวจสอบความคงตัวของสายพันธุ์กลายพันธุ์ พบว่าเมื่อถ่ายเชื้อต่อไปหลายๆครั้ง ประสิทธิภาพในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกจะลดลง จึงทำการถ่ายเชื้อซ้ำหลายครั้ง ซึ่งคาดว่าประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อราสายพันธุ์กลายพันธุ์เหล่านี้ไม่เปลี่ยนแปลงอีก แล้วนำมาตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกซ้ำที่สภาวะเดิม ในเวลา 7,10 และ 13 วัน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.5 การที่เชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการกลายพันธุ์ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต อาจเกิดจากการที่เชื้อราสามารถซ่อมแซมส่วนของกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยาที่มีแสงเป็นตัวกระตุ้น(photoreactivation)(12)

ตารางที่ 3.5 แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลตและผ่านการถ่ายเชื้อและตรวจสอบซ้ำเทียบกับสายพันธุ์ดั้งเดิม ตรวจวิเคราะห์โดย HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (มิลลิกรัม/ลิตร)		
		7 วัน	10 วัน	13 วัน
1.	UV4-1	373	464	560
2.	UV4-3	394	488	575
3.	UV4-26	329	450	584
4.	UV4-28	399	525	591
5.	W-6	337	501	589
6.	Ocw-1	359	490	593
7.	สายพันธุ์ดั้งเดิม	337	464	560

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.5 เลือก OCw-1, W-6 และ UV4-28 เป็นสายพันธุ์ดั้งเดิมในการกลายพันธุ์ต่อไปด้วย NTG เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม 5.9 ,5.1 และ 5.5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติของสายพันธุ์ทั้ง 3 ส่วนใหญ่เหมือนกับสายพันธุ์ดั้งเดิม กล่าวคือ

สายพันธุ์ W-6 สายใยสีขาวฟู เจริญเติบโตเร็วเหมือนสายพันธุ์ดั้งเดิม สร้างสีด้านล่างโคโลนีสีม่วงเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจะให้สีชมพู

สายพันธุ์ OCw-1 สายใยสีขาวฟู เจริญเติบโตเร็วเหมือนสายพันธุ์ดั้งเดิม สร้างสีด้านล่างโคโลนีสีม่วงปนเหลือง เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจะให้สีชมพู

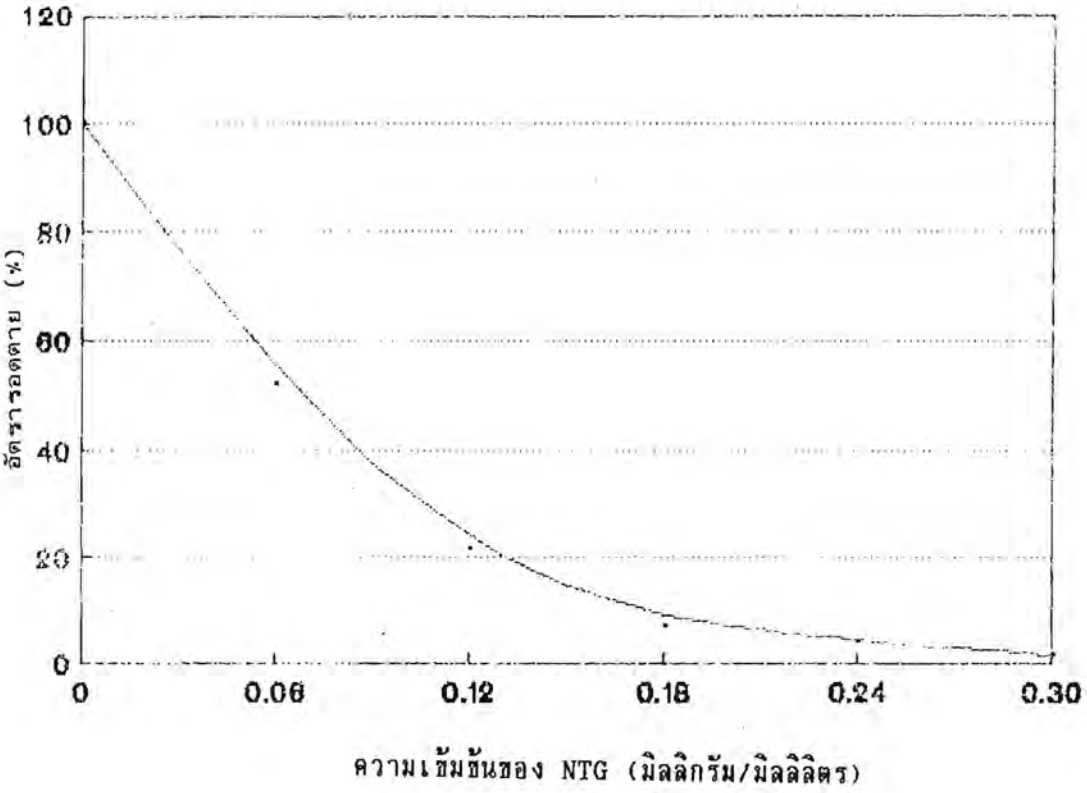
สายพันธุ์ UV4-28 สายใยสีขาวฟู เจริญเติบโตเร็วเหมือนสายพันธุ์ดั้งเดิม สร้างสีด้านล่างโคโลนีสีม่วงปนน้ำเงิน สร้างสีในอาหารเหลวน้อย

3.4 ผลการทดลองหาอัตรารอดตายของ *Gibberella fugikuroi* สายพันธุ์ W-6,OCw-1 และ UV4-28

จากการทดลองหาอัตราการรอดตายของเชื้อราสายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ตามวิธีในข้อ 2.8 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.6, 3.7 ,3.8 และรูปที่ 3.2, 3.3,3.4 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.6 แสดงอัตรารอดตายของ W-6 เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ กัน

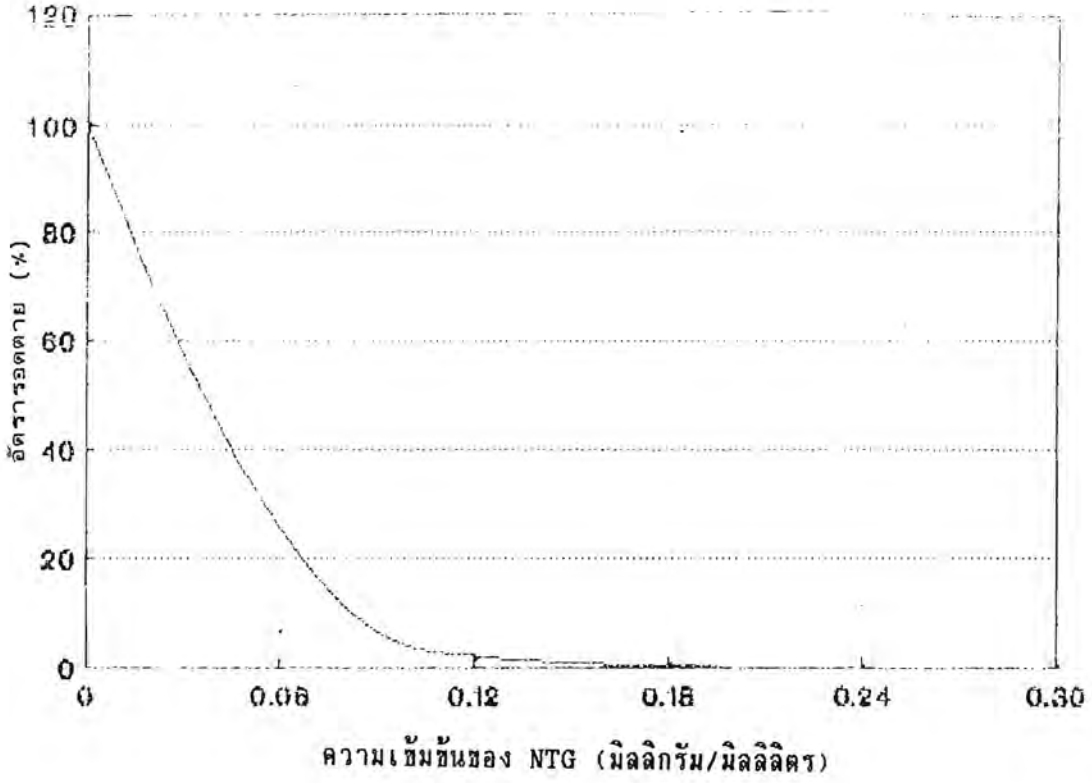
ความเข้มข้นของ NTG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนโคโลนีรอดตาย (โคโลนี/มิลลิลิตร)	อัตรารอดตาย (%)
0	5.85×10^4	100.0
0.06	3.03×10^4	51.8
0.12	1.26×10^4	21.5
0.18	4.20×10^3	7.2
0.24	2.55×10^3	4.4
0.30	1.10×10^3	1.9



รูปที่ 3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตราการรอดตายของ W-6

ตารางที่ 3.7 แสดงอัตรารอดตายของ OCw-1 เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ

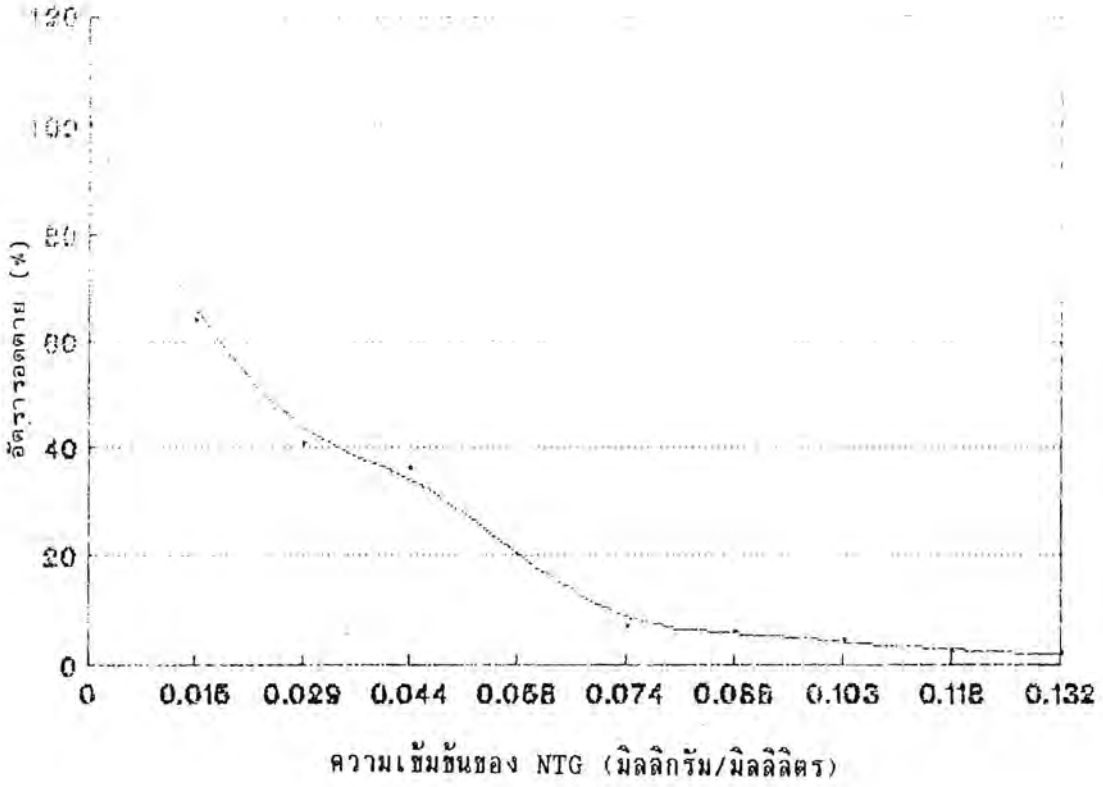
ความเข้มข้นของ NTG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนโคโลนีรอดตาย (โคโลนี/มิลลิลิตร)	อัตรารอดตาย (%)
0	6.50×10^{3}	100.0
0.06	4.40×10^{2}	6.7
0.12	1.00×10^{2}	1.6
0.18	30.00	0.5
0.24	0	0
0.30	0	0



รูปที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตราการอดตายของ OCw-1

ตารางที่ 3.8 แสดงอัตรารอดตายของ UV4-28 เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ NTG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนโคโลนีรอดตาย (โคโลนี/มิลลิลิตร)	อัตรารอดตาย (%)
0	4.7×10^5	100.0
0.015	3.0×10^5	63.8
0.029	1.9×10^5	40.4
0.044	1.7×10^5	36.1
0.058	9.5×10^4	20.2
0.074	3.4×10^5	7.2
0.088	2.9×10^5	6.1
0.103	2.2×10^5	4.6
0.118	1.3×10^5	2.7
0.132	1.1×10^4	2.3



รูปที่ 3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตราการตายของ UV4-28

3.5 การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วย NTG ของ สายพันธุ์กลายพันธุ์ W-6, OCW-1และUV4-28

จากกราฟแสดงเปอร์เซนต์รอดตายของสายพันธุ์ W-6, OCw-1 และ UV4-28 ตามตารางที่ 3.6, 3.7 และ 3.8 และ รูปที่ 3.2, 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ ได้นำเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์มากลายพันธุ์ซ้ำด้วย NTG โดยใช้สภาวะดังนี้ คือ W-6 ใช้ความเข้มข้นของ NTG 0.12-0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร OCw-1 ใช้ความเข้มข้นของ NTG 0.12-0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ UV4-28 ใช้ความเข้มข้นของ NTG 0.058-0.132 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทั้งนี้ Tien,W(10)รายงานว่าความเข้มข้นของ NTG ที่ให้อัตรารอดตายระหว่าง 11-22 % เป็นความเข้มข้นของ NTG ที่มักพบสายพันธุ์กลายพันธุ์สูง

เนื่องจากการทำให้กลายพันธุ์ด้วย NTG ได้ทำหลายชุดด้วยกันคือ F_1, F_2, F_3, F_4 และ F_5 ตามลำดับ ดังนั้นในการเรียกชื่อ จะใส่อักษรแสดงรุ่นที่ทำไว้หน้าชื่อ ตามด้วยชื่อของสายพันธุ์ดั้งต้นที่ใช้ในการกลายพันธุ์และเลขแสดงรหัสของเชื้อนั้น

จากโคโลนีที่เก็บ นำมาศึกษาลักษณะโคโลนีเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ เทียบกับสายพันธุ์เดิม ดังแสดงในตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของสายพันธุ์ W-6,OCw-1 และ UV4-28 ซ้ำด้วย NTG เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี (pigment)
1.	F_1.OCw-1 2(1)	สีขาวฟู	ไม่มี
2.	F_1.OCw-1 2(2)	สีม่วงไม่ฟู	สีเหลือง
3.	F_1.OCw-1 2(3)	สีม่วงไม่ฟู	สีเหลืองเกือบดำ
4.	F_1.OCw-1 2(4)	สีม่วงปนขาวไม่ฟู	สีเหลืองเกือบดำ
5.	F_1.OCw-1 2(5)	สีขาวฟู	สีม่วง
6.	F_1.OCw-1 2(6)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
7.	F_1.OCw-1 2(7)	สีขาวฟู	สีเหลือง
8.	F_1.OCw-1 1.5(1)	สีขาวฟู	สีเหลือง,มีสีม่วงปน
9.	F_1.OCw-1 1.5(2)	สีน้ำตาล	สีม่วง

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของสายพันธุ์ W-6, OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี (pigment)
10.	F_1.OCw-1 1.5(3)	สีม่วงฟู	สีม่วง
11.	F_1.OCw-1 1.5(4)	สีขาวฟู	สีม่วงออกน้ำตาล
12.	F_1.W-6 1.5(1)	สีขาวฟู	สีม่วง
13.	F_1.W-6 1.5(2)	สีขาวฟู	สีม่วงเข้ม
14.	F_1.W-6 1.5(3)	สีม่วง	สีม่วง
15.	F_1.W-6 1.5(4)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
16.	F_1.W-6 1.5(5)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
17.	F_1.W-6 1.5(6)	สีขาวฟู	สีเหลือง
18.	F_1.W-6 1.5(7)	สีขาวปนม่วง	สีเหลือง
19.	F_1.W-6 1.5(8)	สีขาวฟู	สีม่วง
20.	F_1.W-6 1.5(9)	สีชมพู	สีส้ม
21.	F_1.W-6 1.5(10)	สีขาวฟู	สีม่วง, เป็นหย่อมๆ
22.	F_1.W-6 2(1)	สีขาวฟู	สีน้ำตาลเข้ม, เป็นหย่อมๆ
23.	F_1.W-6 2(2)	สีขาวฟู	สีน้ำตาลออกเหลือง
24.	F_1.W-6 2(3)	ไม่เจริญ	-
25.	F_1.W-6 2(4)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
26.	F_1.W-6 2(5)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
27.	F_1.W-6 2(6)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
28.	F_1.W-6 2(7)	สีน้ำตาลอ่อน, บางๆ	สีน้ำตาลแก่
29.	F_1.W-6 2(8)	สีขาวฟู	สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ
30.	F_1.W-6 2(9)	สีม่วง, ขนาดเล็ก	ไม่มี
31.	F_1.W-6 2(10)	สีม่วง, ขนาดเล็ก	สีน้ำตาล
32.	F_1.W-6 2(11)	สีชมพูฟู	สีม่วงแก่
33.	F_1.W-6 2(12)	สีขาวฟู	สีน้ำตาลเข้ม

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของสายพันธุ์ W-6, OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี (pigment)
34.	F_2.W-6 1.5(11)	สีขาวฟูขึ้นหนาแน่น	สีเปลือกมังคุด
35.	F_2.W-6 1.5(12)	สีขาวฟูขึ้นหนาแน่น	สีม่วง
36.	F_2.W-6 1.5(13)	สีขาวฟูขึ้นหนาแน่น	สีเปลือกมังคุด
37.	F_2.W-6 1.5(14)	สีขาวฟูขึ้นหนาแน่น	สีน้ำตาล
38.	F_2.W-6 1.5(15)	สีขาวขึ้นบาง	สีน้ำตาล
39.	F_2.W-6 1.5(17)	สีชมพูขึ้นน้อยมาก	สีม่วง
40.	F_2.W-6 1.5(18)	สีขาวไม่ฟูขึ้นหนา	ไม่มี
41.	F_2.W-6 1.5(19)	สีขาวฟูขึ้นน้อย	สีเปลือกมังคุด
42.	F_2.W-6 2(13)	สีขาวฟูเหมือน W-6	สีม่วงเป็นจุดๆ
43.	F_2.W-6 2(14)	สีขาวฟูเหมือน W-6	สีม่วงเป็นจุดๆ
44.	F_2.W-6 2(15)	สีขาวฟูเหมือน W-6	สีม่วงเป็นจุดๆ
45.	F_2.W-6 2(16)	สีขาวไม่ฟูขึ้นบาง	สีม่วงเป็นจุดๆ
46.	F_2.W-6 2(17)	สีขาวไม่ฟูขึ้นบาง	สีม่วง
47.	F_2.W-6 2(18)	สีขาวไม่ฟูขึ้นบาง	สีส้ม
48.	F_2.W-6 2(19)	สีขาวไม่ฟู,บางมาก	สีม่วง
49.	F_2.W-6 2(20)	สีขาวฟู	ไม่มี
50.	F_2.W-6 2(21)	สีขาวฟู	สีม่วง
51.	F_2.W-6 2(22)	สีขาวฟู	สีม่วง
52.	F_2.W-6 2(23)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
53.	F_2.OCw-1 1.5(5)	สีขาวไม่ฟู,บางมาก	สีม่วง
54.	F_2.OCw-1 1.5(6)	สีขาวฟู	สีม่วง
55.	F_2.OCw-1 1.5(7)	สีขาวไม่ฟูบางมาก	สีม่วง
56.	F_2.OCw-1 1.5(8)	สีขาวฟู	ไม่มี

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของ สายพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของสายพันธุ์ W-6, OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี (pigment)
57.	F_2.OCW-1 1.5(9)	สีขาวฟู	สีเหลืองออกส้ม
58.	F_2.Ocw-1 1.5(10)	สีขาวฟู	สีน้ำตาล
59.	F_2.OCw-1 1.5(12)	สีม่วงฟู	สีม่วง
60.	F_2.OCw-1 1.5(13)	สีขาวฟู	สีเปลือกมังคุด
61.	F_2.OCw-1 1.5(14)	สีขาวฟู	สีเขียว
62.	F_2.OCw-1 1.5(15)	สีขาวฟูชั้นหนาแน่น	สีเหลืองอมส้ม
63.	F_2.OCw-1 2(8)	สีขาวฟูเหมือนOCw-1	สีม่วง
64.	F_2.OCw-1 2(9)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	สีม่วง
65.	F_2.OCw-1 2(10)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	สีม่วง
66.	F_2.OCw-1 2(11)	สีส้ม	สีส้ม
67.	F_2.OCw-1 2(12)	สีขาวฟูชั้นหนาแน่น	สีม่วง
68.	F_2.OCw-1 2(13)	สีขาวฟูเหมือนOCw-1	ไม่มี
69.	F_2.OCw-1 2(14)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	สีม่วง
70.	F_2.OCw-1 2(15)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	สีเหลือง
71.	F_2.OCw-1 2(16)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	สีม่วง
72.	F_2.OCw-1 2(17)	สีชมพู	สีเหลือง
73.	F_2.OCw-1 2(18)	สีขาวฟูเหมือนOCw-1	ไม่มี
74.	F_2.OCw-1 2(19)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	ไม่มี
75.	F_2.OCw-1 2(20)	สีขาวฟูเหมือนOCW-1	ไม่มี
76.	F_2.OCw-1 2(21)	สีเหลือง	สีเหลืองออกส้ม
77.	F_2.OCw-1 2(22)	สีม่วงฟู	ไม่มี
78.	F_2.OCw-1 2(23)	สีขาวไม่ฟู	สีเทา
79.	F_2.OCw-1 2(24)	สีขาวฟู	สีเหลือง

ตารางที่ 3.9 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDAผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
80.	F_3.W-6 2(24)	สีขาวฟู	สีม่วงเป็นจุด
81.	F_3.W-6 2(25)	สีขาวไม่ฟูโคโลนีเล็ก	สีม่วงเป็นจุด
82.	F_3.W-6 2(26)	สีขาวฟู	สีม่วงเป็นจุด
83.	F_3.W-6 2(27)	สีขาวฟู	สีม่วงเป็นจุด
84.	F_3.W-6 2(28)	สีเหลืองไม่ฟูโคโลนีเล็ก	สีเหลือง
85.	F_3.W-6 2(29)	สีขาวฟู	สีเหลือง
86.	F_3.W-6 2(30)	สีขาวฟู	ไม่มี
87.	F_3.W-6 2(31)	สีขาวฟู	ไม่มี
88.	F_3.W-6 2(32)	สีขาวฟู	ไม่มี
89.	F_3.W-6 2(33)	สีขาวชมพู,ไม่ฟู	สีเหลือง
90.	F_3.W-6 2(34)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
91.	F_3.W-6 2.5(1)	สีขาวไม่ฟูโคโลนีเล็ก	สีเหลือง
92.	F_3.W-6 2.5(2)	สีขาวฟู	สีเหลือง
93.	F_3.W-6 2.5(3)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วง
94.	F_3.W-6 2.5(4)	สีขาวฟู	สีเหลือง
95.	F_3.W-6 2.5(5)	สีขาวไม่ฟูขึ้นบางๆ	สีเหลือง
96.	F_3.W-6 2.5(6)	สีเหลืองไม่ฟู	ไม่มี
97.	F_3.W-6 2.5(7)	สีเหลืองไม่ฟู	ไม่มี
98.	F_3.OCW-1 2.5(1)	สีขาวฟู	สีม่วง
99.	F_3.OCw-1 2.5(2)	สีเหลืองไม่ฟูโคโลนีเล็ก	ไม่มี
100.	F_3.OCw-1 2.5(3)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีเหลือง
101.	F_3.OCw-1 2.5(4)	สีชมพูอ่อนไม่ฟู	สีเหลือง
102.	F_3.OCw-1 2.5(5)	สีขาวไม่ฟู	สีน้ำตาล

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
103.	F_3.OCW-1 2(25)	สีขาวฟู	ไม่มี
104.	F_3.OCw-1 2(26)	สีขาวฟู	ไม่มี
105.	F_3.OCw-1 2(27)	สีขาวฟู คล้ายOCw-1	สีเหลือง
106.	F_3.OCw-1 2(28)	สีม่วงขึ้นบางมาก	สีม่วงเป็นจุดๆ
107.	F_3.OCw-1 2(29)	สีม่วงขึ้นบางมาก	สีเหลือง
108.	F_3.OCw-1 2(30)	สีม่วงขึ้นบางมาก	สีเหลือง
109.	F_3.OCw-1 2(31)	สีชมพูฟู	ไม่มี
110.	F_4.W-6 (1)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
111.	F_4.W-6 (2)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
112.	F_4.W-6 (3)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
113.	F_4.W-6 (4)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
114.	F_4.W-6 (5)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีม่วง
115.	F_4.W-6 (6)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุดอ่อนๆ
116.	F_4.W-6 (7)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
117.	F_4.W-6 (8)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
118.	F_4.W-6 (9)	สีชมพู,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีเหลือง
119.	F_4.W-6 (10)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาลอ่อน
120.	F_4.W-6 (11)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
121.	F_4.W-6 (12)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
122.	F_4.W-6 (13)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
123.	F_4.W-6 (14)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
124.	F_4.W-6 (15)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีม่วง
125.	F_4.W-6 (16)	สีขาว,ฟู,เป็นเส้นยาว	สีม่วงอ่อน

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
126.	F_4.W-6 (17)	สีเปลือกมังคุด, ไม่ฟู, เส้นสั้นๆ	สีน้ำตาล
127.	F_4.W-6 (18)	สีขาว, ฟู, เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
128.	F_4.w-6 (19)	สีชมพู, ฟู, เป็นเส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
129.	F_4.W-6 (20)	สีขาว, ฟู, เป็นเส้นยาว	สีน้ำตาล
130.	F_4.W-6 (21)	สีขาว, ไม่ฟู, เส้นสั้นๆ	สีเปลือกมังคุดอ่อนๆ
131.	F_4.W-6 (22)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาลจุดเล็กๆ
132.	F_4.W-6 (23)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาลเข้ม
133.	F_4.W-6 (24)	สีส้ม, เส้นยาว, ฟู	สีเหลือง
134.	F_4.W-6 (25)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาลจุดเล็กๆ
135.	F_4.W-6 (26)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาล
136.	F_4.W-6 (27)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาลเข้ม
137.	F_4.W-6 (28)	สีเปลือกมังคุด, ไม่ฟู	สีน้ำตาลเข้ม
138.	F_4.W-6 (29)	สีม่วง, เส้นเล็ก, ไม่ฟู	สีน้ำตาล
139.	F_4.W-6 (30)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีเปลือกมังคุด
140.	F_4.W-6 (31)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีม่วงจุดๆ
141.	F_4.W-6 (32)	สีขาวปนชมพู, ฟู	สีเปลือกมังคุด
142.	F_4.W-6 (33)	สีขาวฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาลเข้ม
143.	F_4.W-6 (34)	สีส้ม, ไม่ฟู, เส้นสั้น	สีเหลืองอ่อนๆ
144.	F_4.W-6 (35)	สีม่วง, ไม่ฟูโคโลนีเล็ก	ไม่มี
145.	F_4.W-6 (36)	สีม่วง, ไม่ฟู	ไม่มี
146.	F_4.W-6 (37)	สีขาวฟู, เส้นยาว	ไม่มี
147.	F_4.W-6 (38)	สีชมพูฟู, เส้นยาว	สีน้ำตาลเข้ม

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
148.	F_4.W-6 (39)	สีขาวฟู,เส้นยาว	สีม่วงเข้ม
149.	F_4.W-6 (40)	สีม่วงฟู	สีม่วงเข้ม
150.	F_4.W-6 (41)	สีขาวฟู	ไม่มี
151.	F_4.W-6 (42)	สีขาวฟู	สีม่วงอ่อน
152.	F_4.W-6 (43)	สีเปลือกมังคุด,ไม่ฟู	สีน้ำตาล
153.	F_4.W-6 (44)	สีม่วงฟู	สีเปลือกมังคุด
154.	F_4.W-6 (45)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีน้ำตาลเข้ม
155.	F_4.W-6 (46)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีน้ำตาลอ่อน
156.	F_4.W-6 (47)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีดำ
157.	F_4.W-6 (48)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีเปลือกมังคุด
158.	F_4.W-6 (49)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วง
159.	F_4.W-6 (50)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงอ่อนๆ
160.	F_4.W-6 (51)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วงเกือบดำ
161.	F_4.W-6 (52)	สีม่วงไม่ฟู	สีน้ำตาลเข้ม
162.	F_4.W-6 (53)	สีม่วงไม่ฟู	สีเหลือง
163.	F_4.W-6 (54)	สีขาวฟู	สีม่วงเข้มเกือบดำ
164.	F_4.W-6 (55)	สีขาวฟู	สีม่วง
165.	F_4.W-6 (56)	สีเหลืองไม่ฟู	สีเหลือง
166.	F_4.W-6 (57)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วงเข้ม
167.	F_4.W-6 (58)	สีชมพูขาว,ฟู	สีม่วง
168.	F_4.W-6 (59)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วง
169.	F_4.W-6 (60)	สีม่วงไม่ฟู	สีเหลืองปนน้ำตาล
170.	F_4.W-6 (61)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วงเข้ม

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
171.	F_4.W-6 (62)	สีขาวฟู	สีม่วงเข้มเป็นจุด
172.	F_4.W-6 (63)	สีขาวฟู	สีม่วงเข้มเป็นจุด
173.	F_4.W-6 (64)	สีขาวไม่ฟู	สีม่วงปนน้ำตาล
174.	F_4.W-6 (65)	สีม่วงน้ำเงิน,ไม่ฟู	สีม่วงเป็นจุด
175.	F_4.W-6 (66)	สีขาวปนม่วงฟู	สีม่วงเข้ม
176.	F_4.W-6 (67)	สีส้ม	สีม่วงปนน้ำตาล
177.	F_4.W-6 (68)	สีขาวฟู	สีม่วง
178.	F_4.W-6 (69)	สีขาวอมชมพู	สีม่วงเป็นจุด
179.	F_4.W-6 (70)	สีม่วงปนเขียวชั้นน้อย	สีน้ำตาล
180.	F_4.W-6 (71)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วงเข้ม
181.	F_4.W-6 (72)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วง
182.	F_4.W-6 (73)	สีขาวอมชมพู,ฟู	สีม่วงเป็นจุด
183.	F_4.W-6 (74)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงเป็นจุด
184.	F_4.W-6 (75)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงเป็นจุด
185.	F_4.W-6 (76)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงเข้ม
186.	F_4.W-6 (77)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงปนส้ม
187.	F_4.W-6 (78)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงเข้ม
188.	F_4.W-6 (79)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงเข้ม
189.	F_4.W-6 (80)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วงเข้ม
190.	F_4.W-6 (81)	สีม่วงฟู	สีม่วงเข้ม
191.	F_4.W-6 (82)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วง
192.	F_4.W-6 (83)	สีขาวปนเหลือง,ฟู	ไม่มี
193.	F_4.W-6 (84)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
194.	F_4.W-6 (85)	สีขาวฟูคล้าย W-6	ไม่มี

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
195.	F_4.W-6 (86)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
196.	F_4.W-6 (87)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วง
197.	F_4.W-6 (88)	สีขาวฟูคล้าย W-6	ไม่มี
198.	F_4.W-6 (89)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วง
199.	F_4.W-6 (90)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
200.	F_4.W-6 (91)	สีเหลืองปนน้ำตาล,ฟู	ไม่มี
201.	F_4.W-6 (92)	สีม่วงปนขาว,ไม่ฟู	ไม่มี
202.	F_4.W-6 (93)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วง
203.	F_4.W-6 (94)	สีขาวฟูคล้าย W-6	สีม่วง
204.	F_4.W-6 (95)	สีขาวไม่ฟู	สีเหลืองน้ำตาล
205.	F_4.W-6 (96)	สีม่วงเข้ม,ไม่ฟู	สีม่วง
206.	F_4.W-6 (97)	สีม่วงน้ำตาล,ไม่ฟู	ไม่มี
207.	F_4.W-6 (98)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วง
208.	F_4.W-6 (99)	สีขาวไม่ฟู	สีม่วงส้ม
209.	F_4.W-6 (100)	สีขาวไม่ฟู	สีม่วงเป็นจุดๆ
210.	F_4.OCw-1 (1)	สีส้มไม่ฟู	สีม่วงเป็นจุดๆ
211.	F_4.OCw-1 (2)	สีขาวฟูคล้าย W-6	ไม่มี
212.	F_4.OCw-1 (3)	สีม่วงฟู	สีม่วง
213.	F_4.OCw-1 (4)	สีชมพูอ่อน,ฟู	ไม่มี
214.	F_4.OCw-1 (5)	สีขาวฟู	สีน้ำตาลปนส้ม
215.	F_4.OCw-1 (6)	สีเหลืองฟู,เส้นสั้นๆ	สีเหลืองอ่อนๆ
216.	F_4.OCw-1 (7)	สีม่วงไม่ฟู	สีม่วง
217.	F_4.OCw-1 (8)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
218.	F_4.OCw-1 (9)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
219.	F_4.OCw-1 (10)	สีส้มอ่อน, ไม่ฟู	สีน้ำตาล
220.	F_4.OCw-1 (11)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
221.	F_4-OCw-1 (12)	สีขาวไม่ฟู	สีม่วง
222.	F_4.OCw-1 (13)	สีขาวฟู	สีม่วง
223.	F_4.OCw-1 (14)	สีขาวฟู, เส้นยาว	ไม่มี
224.	F_4.OCw-1 (15)	สีม่วงไม่ฟู, เส้นสั้น	สีม่วง
225.	F_4.OCw-1 (16)	สีม่วงฟู	สีม่วง
226.	F_4.OCw-1 (17)	สีชมพูปนม่วง, ฟู	สีม่วง
227.	F_4.OCw-1 (18)	สีขาวฟู	สีเหลือง
228.	F_4.OCw-1 (19)	สีขาวฟู	ไม่มี
229.	F_4.OCw-1 (20)	สีส้มฟู	สีส้ม
230.	F_4.OCw-1 (21)	สีเหลืองอ่อนฟู	สีม่วง
231.	F_4.OCw-1 (22)	สีขาวฟู	สีม่วงเป็นจุด
232.	F_4.OCw-1 (23)	สีขาวฟู	สีเหลือง
233.	F_4.OCw-1 (24)	สีขาวฟู	สีม่วง
234.	F_4.OCw-1 (25)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
235.	F_4.OCw-1 (26)	สีชมพู, ส้ม	สีส้ม
236.	F_4.OCw-1 (27)	สีขาวฟู	สีม่วง
237.	F_4.OCw-1 (28)	สีขาวฟู	ไม่มี
238.	F_4.OCw-1 (29)	สีขาวฟู	สีม่วง
239.	F_4.OCw-1 (30)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
240.	F_4-OCw-1 (31)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
241.	F_4.OCw-1 (32)	สีเหลืองฟู	สีม่วง
242.	F_4.OCw-1 (33)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
243.	F_4.OCw-1 (34)	สีขาวม่วงฟู	สีม่วง
244.	F_4-OCw-1 (35)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีเหลือง
245.	F_4.OCw-1 (36)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
246.	F_4.OCw-1 (37)	สีขาวฟู, เส้นสั้นๆ	ไม่มี
247.	F_4.OCw-1 (38)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
248.	F_4.OCw-1 (39)	สีขาวฟู	สีม่วง
249.	F_4.OCw-1 (40)	สีขาวไม่ฟู	สีม่วง
250.	F_4.OCw-1 (41)	สีส้มไม่ฟู	สีม่วง
251.	F_4.OCw-1 (42)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
252.	F_4.OCw-1 (43)	สีขาวฟูคล้าย OCW-1	สีม่วง,น้ำตาล
253.	F_4.OCw-1 (44)	สีขาวไม่ฟู	
254.	F_4.OCw-1 (45)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
255.	F_4.OCw-1 (46)	สีขาวไม่ฟู	
256.	F_4.OCw-1 (47)	สีส้มไม่ฟู	สีม่วง
257.	F_4.OCw-1 (48)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
258.	F_4.OCw-1 (49)	สีม่วงเข้ม,ไม่ฟู	สีส้ม
259.	F_4.OCw-1 (50)	สีขาวไม่ฟู	
260.	F_4.OCw-1 (51)	สีเหลืองฟู	สีม่วง
261.	F_4.OCw-1 (52)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
262.	F_4.OCw-1 (53)	สีขาวไม่ฟู	
263.	F_4.OCw-1 (54)	สีขาวไม่ฟู	สีเหลือง

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
264.	F_4.OCw-1 (55)	สีขาวปนม่วงฟู	สีม่วง
265.	F_4.OCw-1 (56)	สีขาวชมพูฟู	-
266	F_4.OCw-1 (57)	สีขาวไม่ฟู	-
267.	F_4.OCW-1 (58)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
268.	F_4.OCw-1 (59)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
269.	F_4.OCw-1 (60)	สีชมพูฟู	ไม่มี
270.	F_4.OCw-1 (61)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
271.	F_4.OCw-1 (62)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
272.	F_4.OCw-1 (63)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
273.	F_4.OCw-1 (64)	สีขาวไม่ฟู	สีน้ำตาล
274.	F_4.OCw-1 (65)	สีชมพูฟู	สีม่วง
275.	F_4.OCw-1 (66)	สีม่วงไม่ฟู	สีน้ำตาล
276.	F_4.OCw-1 (67)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
277.	F_4.OCw-1 (68)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
278.	F_4.OCw-1 (69)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
279.	F_4.OCw-1 (70)	สีเหลืองไม่ฟู	สีน้ำตาล
280.	F_4.OCw-1 (71)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
281.	F_4.OCw-1 (72)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
282.	F_4.OCw-1 (73)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
283.	F_4.OCw-1 (74)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	ไม่มี
284.	F_4.OCw-1 (75)	สีขาวฟูคล้าย OCW-1	สีม่วง
285.	F_4.OCw-1 (76)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
286.	F_4.OCw-1 (77)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
287.	F_4.OCw-1 (78)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
288.	F_4.OCw-1 (79)	สีขาวปนม่วงฟู	สีม่วง
289.	F_4.OCw-1 (80)	สีชมพูฟู	ไม่มี
290.	F_4.OCw-1 (81)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
291.	F_4.OCw-1 (82)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
292.	F_4.OCw-1 (83)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วงเป็นจุด
293.	F_4.OCw-1 (84)	สีขาวฟูคล้าย OCW-1	สีน้ำตาล
294.	F_4.OCw-1 (85)	สีขาวฟูคล้าย OCW-1	สีม่วง
295.	F_4.OCw-1 (86)	สีขาวไม่ฟู	สีม่วงเป็นจุด
296.	F_4.OCw-1 (87)	สีชมพูฟู	สีน้ำตาลเป็นจุด
297.	F_4.OCw-1 (88)	สีขาวไม่ฟู	สีน้ำตาล
298.	F_4.OCw-1 (89)	สีขาวไม่ฟู	สีส้ม
299.	F_4.OCw-1 (90)	สีม่วงปนขาวฟู	สีม่วงเป็นจุดๆ
300.	F_4.OCw-1 (91)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
301.	F_4.OCw-1 (92)	สีม่วงฟู	สีม่วง
302.	F_4.OCw-1 (93)	สีม่วงไม่ฟู	สีเขียว
303.	F_4.OCw-1 (94)	สีขาวฟูคล้าย OCw-1	สีม่วง
304.	F_4.OCw-1 (95)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
305.	F_4.OCw-1 (96)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
306.	F_4.OCw-1 (97)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
307.	F_4.OCw-1 (98)	สีขาวไม่ฟู	ไม่มี
308.	F_4.OCw-1 (99)	สีส้มไม่ฟู	สีส้ม
309.	F_4.OCw-1 (100)	สีม่วงไม่ฟู	ไม่มี

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
310.	F_5.UV4-28 (NO4-1)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
311.	F_5.UV4-28 (NO4-2)	สีม่วงเข้มไม่ฟูเจริญเร็ว	สีแดง
312.	F_5.UV4-28 (NO4-3)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
313.	F_5.UV4-28 (NO4-4)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
314.	F_5.UV4-28 (NO4-5)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
315.	F_5.UV4-28 (NO4-6)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
316.	F_6.UV4-28 (NO4-7)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
317.	F_5.UV4-28 (NO4-8)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
318.	F_5.UV4-28 (NO4-9)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีเหลือง
319.	F_5.UV4-28 (NO4-10	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
320.	F_5.UV4-28 (NO4-11)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
321.	F_5.UV4-28 (NO4-12)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
322.	F_5.UV4-28 (NO4-13)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
323.	F_5.UV4-28 (NO4-14)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
324.	F_5.UV4-28 (NO4-15)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
325.	F_5.UV4-28 (NO4-16)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีเหลือง
326.	F_5.UV4-28 (NO4-17)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
327.	F_5.UV4-28 (NO4-18)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
328.	F_5.UV4-28 (NO4-19)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
329.	F_5.UV4-28 (NO4-20)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
330.	F_5.UV4-28 (NO4-21)	สีม่วงไม่ฟูขนาดเล็กโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
331.	F_5.UV4-28 (NO4-22)	สีม่วงอ่อน,ฟูโตช้ามาก	สีม่วงเหมือน UV4-28
332.	F_5.UV4-28 (NO4-23)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
333.	F_5.UV4-28 (NO4-24)	สีขาวไม่ฟูมาก,ขนาดเล็ก	สีม่วงเหมือน UV4-28
334.	F_5.UV4-28 (NO4-25)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
335.	F_5.UV4-28 (NO5-1)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
336.	F_5.UV4-28 (NO5-2)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
337.	F_5.UV4-28 (NO5-3)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
338.	F_5.UV4-28 (NO5-4)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
339.	F_5.UV4-28 (NO5-5)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
340.	F_5.UV4-28 (NO5-6)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
341.	F_5.UV4-28 (NO5-7)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
342.	F_5.UV4-28 (NO5-8)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
343.	F_5.UV4-28 (NO5-9)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
344.	F_5.UV4-28 (NO5-10)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
345.	F_5.UV4-28 (NO5-11)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีแดง
346.	F_5.UV4-28 (NO5-12)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
347.	F_5.UV4-28 (NO5-13)	สีขาวไม่ฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
348.	F_5.UV4-28 (NO5-14)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
349.	F_5.UV4-28 (NO5-15)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
350.	F_5.UV4-28 (NO5-16)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
351.	F_5.UV4-28 (NO5-17)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
352.	F_5.UV4-28 (NO5-18)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
353.	F_5.UV4-28 (NO5-19)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
354.	F_5.UV4-28 (NO5-20)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
355.	F_5.UV4-28 (NO5-21)	สีม่วงไม่ฟูโคโลนีเล็กโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
356.	F_5.UV4-28 (NO5-22)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
357	F_5.UV4-28 (NO5-23)	สีชมพู,ไม่ฟูมากเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
358.	F_5.UV4-28 (NO5-24)	สีขาวไม่ฟูมากเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
359.	F_5.UV4-28 (NO5-25)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีแดง
360.	F_5.UV4-28 (NO6-1)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
361.	F_5.UV4-28 (NO6-2)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
362.	F_5.UV4-28 (NO6-3)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
363.	F_5.UV4-28 (NO6-4)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
364.	F_5.UV4-28 (NO6-5)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
365.	F_5.UV4-28 (NO6-6)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
366.	F_5.UV4-28 (NO6-7)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
367.	F_5.UV4-28 (NO6-8)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
368.	F_5.UV4-28 (NO6-9)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
369.	F_5.UV4-28 (NO6-10)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
370.	F_5.UV4-28 (NO6-11)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
371.	F_5.UV4-28 (NO6-12)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
372.	F_5.UV4-28 (NO6-13)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
373.	F_5.UV4-28 (NO6-14)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
374.	F_5.UV4-28 (NO6-15)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีเหลือง
375.	F_5.UV4-28 (NO6-16)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
376.	F_5.UV4-28 (NO6-17)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
377.	F_5.UV4-28 (NO6-18)	สีขาวไม่ฟูขนาดเล็กโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
378.	F_5.UV4-28 (NO6-19)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
379.	F_5.UV4-28 (N06-20)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
380.	F_5.UV4-28 (N06-21)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
381.	F_5.UV4-28 (N06-22)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
382.	F_5.UV4-28 (N06-23)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีน้ำตาล
383.	F_5.UV4-28 (N06-24)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีครีม
384.	F_5.UV4-28 (N06-25)	สีน้ำตาลไม่ฟูโตช้ามาก	สีน้ำตาล
385.	F_5.UV4-28 (N07-1)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
386.	F_5.UV4-28 (N07-2)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
387.	F_5.UV4-28 (N07-3)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
388.	F_5.UV4-28 (N07-4)	สีขาวไม่ฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
389.	F_5.UV4-28 (N07-5)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
390.	F_5.UV4-28 (N07-6)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
391.	F_5.UV4-28 (N07-7)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
392.	F_5.UV4-28 (N07-8)	สีครีมขนาดเล็กแบนโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
393.	F_5.UV4-28 (N07-9)	สีขาวฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
394.	F_5.UV4-28 (N07-10)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
395.	F_5.UV4-28 (N07-11)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
396.	F_5.UV4-28 (N07-12)	สีม่วงคราม เจริญเร็ว	สีม่วงเข้ม
397.	F_5.UV4-28 (N07-13)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
398.	F_5.UV4-28 (N07-14)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
399.	F_5.UV4-28 (N07-15)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
400.	F_5.UV4-28 (N07-16)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
401.	F_5.UV4-28 (N07-17)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
402.	F_5.UV4-28 (NO7-18)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
403.	F_5.UV4-28 (NO7-19)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
404.	F_5.UV4-28 (NO7-20)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
405.	F_5.UV4-28 (NO7-21)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
406.	F_5.UV4-28 (NO7-22)	สีขาวขนาดเล็กแบนโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
407.	F_5.UV4-28 (NO7-23)	สีม่วงเข้มฟูโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
408.	F_5.UV4-28 (NO7-24)	สีชมพู,ฟูโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
409.	F_5.UV4-28 (NO7-25)	สีขาวไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
410.	F_5.UV4-28 (NO8-1)	สีม่วงไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
411.	F_5.UV4-28 (NO8-2)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
412.	F_5.UV4-28 (NO8-3)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
413.	F_5.UV4-28 (NO8-4)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
414.	F_5.UV4-28 (NO8-5)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
415.	F_5.UV4-28 (NO8-6)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
416.	F_5.UV4-28 (NO8-7)	สีม่วงอ่อนไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
417.	F_5.UV4-28 (NO8-8)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
418.	F_5.UV4-28 (NO8-9)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
419.	F_5.UV4-28 (NO8-10)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
420.	F_5.UV4-28 (NO8-11)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
421.	F_5.UV4-28 (NO8-12)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
422.	F_5.UV4-28 (NO8-13)	สีขาวฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
423.	F_5.UV4-28 (NO8-14)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
424.	F_5.UV4-28 (NO8-15)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
425.	F_5.UV4-28 (N08-16)	สีขาวไม่ฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
426.	F_5.UV4-28 (N08-17)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
427.	F_5.UV4-28 (N08-18)	สีม่วงอ่อนไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
428.	F_5.UV4-28 (N08-19)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
429.	F_5.UV4-28 (N08-20)	สีม่วงเข้มไม่ฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
430.	F_5.UV4-28 (N08-21)	สีขาวไม่ฟูมากโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
431.	F_5.UV4-28 (N08-22)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
432.	F_5.UV4-28 (N08-23)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
433.	F_5.UV4-28 (N08-24)	สีชมพูอ่อน ฟู เจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
434.	F_5.UV4-28 (N08-25)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
435.	F_5.UV4-28 (N08-26)	สีขาวไม่ฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
436.	F_5.UV4-28 (N08-27)	สีม่วงอ่อนไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
437.	F_5.UV4-28 (N08-28)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
438.	F_5.UV4-28 (N09-1)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
439.	F_5.UV4-28 (N09-2)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
440.	F_5.UV4-28 (N09-3)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
441.	F_5.UV4-28 (N09-4)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
442.	F_5.UV4-28 (N09-5)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
443.	F_5.UV4-28 (N09-6)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
444.	F_5.UV4-28 (N09-7)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
445.	F_5.UV4-28 (N09-8)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
446.	F_5.UV4-28 (N09-9)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
447.	F_5.UV4-28 (N09-10)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28

ตารางที่ 3.9(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์สายพันธุ์ W-6 , OCw-1และ UV4-28 ด้วย NTG เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	สี(pigment)
448.	F_8.UV4-28 (NO9-11)	สีเหลืองอ่อนฟูโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
449.	F_8.UV4-28 (NO9-12)	สีม่วงขนาดเล็กแบนโตช้า	สีน้ำตาล
450.	F_8.UV4-28 (NO9-13)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
451.	F_8.UV4-28 (NO9-14)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
452.	F_8.UV4-28 (NO9-15)	สีม่วงอ่อนไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
453.	F_8.UV4-28 (NO9-16)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
454.	F_8.UV4-28 (NO9-17	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
455.	F_8.UV4-28 (NO9-18)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
456.	F_8.UV4-28 (NO9-19)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
457.	F_8.UV4-28 (NO9-20)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
458.	F_8.UV4-28 (NO9-21)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
459.	F_8.UV4-28 (NO9-22)	สีม่วงอ่อนไม่ฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
460.	F_8.UV4-28 (NO9-23)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
461.	F_8.UV4-28 (NO9-24)	สีขาวไม่ฟูมากโตเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
462.	F_8.UV4-28 (NO9-25)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
463.	F_8.UV4-28 (NO9-26)	สีขาวไม่ฟูโตช้า	สีม่วงเหมือน UV4-28
464.	F_8.UV4-28 (NO9-27)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28
465.	F_8.UV4-28 (NO9-28)	สีขาวฟูเจริญเร็ว	สีม่วงเหมือน UV4-28

เชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ W-6 , OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG ส่วนใหญ่จะมีลักษณะคล้ายสายพันธุ์ดั้งต้น คือ สายใยสีขาว ฟู สีใต้โคโลนีมีสีม่วง หรือม่วงปนเหลือง แต่มีลักษณะหลายประการที่เปลี่ยนแปลงไปจากสายพันธุ์เดิม คือ

1. สีของเส้นใย สายพันธุ์ใหม่มีสีต่างๆเช่น ชมพู ม่วง เหลือง น้ำตาล เป็นต้น ซึ่งแตกต่างจากสายพันธุ์เดิมชัดเจน

2. ลักษณะของเส้นใย ลักษณะของเส้นใยจะมีทั้งที่เป็นเส้นสั้นๆขึ้นเป็นกระจุกหนาแน่น หรือ หรือเป็นเส้นยาว หยาบ ขึ้นหนาแน่น หรือ ขึ้นน้อย หรือโคโลนีแบนราบ หรือลักษณะคล้ายก่ามะหยี่

3. การเจริญเติบโต สายพันธุ์ใหม่บางสายพันธุ์เจริญเติบโตช้ามาก หรือ ไม่เจริญเติบโตเลย เมื่อนำมาเลี้ยงต่อ หรือเจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกับสายพันธุ์เดิม

4. สีด้านใต้ของโคโลนี สายพันธุ์ใหม่มีการสร้างสีด้านใต้ของโคโลนีต่างๆกัน เช่น สีแดง น้ำตาล ส่วนใหญ่จะมีสีม่วงเช่นเดียวกับสายพันธุ์เดิมโดยมีความเข้มของสีต่างๆกัน

5. สีในอาหารเหลว เมื่อเลี้ยงสายพันธุ์กลายพันธุ์เหล่านี้ในอาหารเหลว จะสร้างสีแดงในอาหารเหลวความเข้มต่างๆกัน ตั้งแต่แดงเข้ม จนถึง ชมพู หรือไม่สร้างสีในอาหารเหลว

6. การสร้างสปอร์ สายพันธุ์ใหม่บางสายพันธุ์มีการสร้างสปอร์น้อยมาก ซึ่งเป็นอุปสรรคในการนำมาคัดเลือกสายพันธุ์ต่อไป

3.6 การคัดเลือกสายพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ W-6,OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG

นำเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการกลายพันธุ์เชื้อรา W-6 ,OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG ทั้งหมด 465 สายพันธุ์ตามตารางที่ 3.9 มาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูง โดยเลี้ยงในอาหารเหลวตามวิธีในข้อ 2.4 เป็นเวลา 13 วัน แล้วนำมาตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (TLC)ตามวิธีในข้อ 2.5 เพื่อคัดเลือกขั้นต้น แล้วนำเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่ให้ค่าความเข้มของจุดกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่นทดสอบ(TLC)มากกว่าหรือเท่ากับ +ve(+3) มาตรวจวิเคราะห์ซ้ำด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC)ตามวิธีข้อ 2.7 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
1.	F_1.W-6 1.5(1)	+ve(+2)	-
2.	F_1.W-6 1.5(2)	+ve(+2)	-
3.	F_1.W-6 1.5(3)	+ve(+2)	-
4.	F_1.W-6 1.5(4)	+ve(+4)	756
5.	F_1.W-6 1.5(5)	+ve(+2)	-
6.	F_1.W-6 1.5(6)	+ve(+3)	608
7.	F_1.W-6 1.5(7)	+ve(+2)	-
8.	F_1.W-6 1.5(8)	+ve(+1)	-
9.	F_1.W-6 1.5(9)	+ve(+1)	-
10.	F_1.W-6 1.5(10)	+ve(+1)	-
11.	F_1.W-6 2(1)	+ve(+4)	695
12.	F_1.W-6 2(2)	+ve(+2)	-
13.	F_1.W-6 2(3)	+ve(+1)	-
14.	F_1.W-6 2(4)	+ve(+2)	-
15.	F_1.W-6 2(5)	+ve(+2)	-
16.	F_1.W-6 2(6)	+ve(+3)	664
17.	F_1.W-6 2(7)	+ve(+2)	-
18.	F_1.W-6 2(8)	+ve(+2)	-
19.	F_1.W-6 2(9)	+ve(+2)	-
20.	F_1.W-6 2(10)	+ve(+1)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
21.	F_1.W-6 2(11)	+ve(+2)	-
22.	F_1.W-6 2(12)	+ve(+2)	-
23.	F_1.OCw-1 1.5(1)	+ve(+2)	-
24.	F_1.OCw-1 1.5(2)	+ve(+2)	-
25.	F_1.OCw-1 1.5(3)	+ve(+2)	-
26.	F_1.OCw-1 1.5(4)	+ve(+1)	-
27.	F_1.OCw-1 2(1)	+ve(+2)	-
28.	F_1.OCw-1 2(2)	+ve(+2)	-
29.	F_1.OCw-1 2(3)	+ve(+2)	-
30.	F_1.OCw-1 2(4)	+ve(+1)	-
31.	F_1.OCw-1 2(5)	+ve(+2)	-
32.	F_1.OCw-1 2(6)	+ve(+1)	-
33.	F_1.OCw-1 2(7)	+ve(+2)	-
34.	F_2.W-6 1.5(11)	+ve(+2)	-
35.	F_2.W-6 1.5(12)	+ve(+2)	-
36.	F_2.W-6 1.5(13)	+ve(+3)	664
37.	F_2.W-6 1.5(14)	+ve(+2)	-
38.	F_2.W-6 1.5(15)	+ve(+3)	394
39.	F_2.W-6 1.5(17)	+ve(+2)	-
40.	F_2.W-6 1.5(18)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
41.	F_2.W-6 1.5(19)	+ve(+2)	-
42.	F_2.W-6 2(13)	+ve(+1)	-
43.	F_2.W-6 2(14)	+ve(+2)	-
44.	F_2.W-6 2(15)	+ve(+2)	-
45.	F_2.W-6 2(16)	+ve(+3)	446
46.	F_2.W-6 2(17)	+ve(+3)	381
47.	F_2.W-6 2(18)	+ve(+2)	-
48.	F_2.W-6 2(19)	+ve(+1)	-
49.	F_2.W-6 2(20)	+ve(+2)	-
50.	F_2.W-6 2(21)	+ve(+1)	-
51.	F_2.W-6 2(22)	+ve(+1)	-
52.	F_2.W-6 2(23)	+ve(+4)	760
53.	F_2.OCw-1 1.5(5)	+ve(+2)	-
54.	F_2.OCw-1 1.5(6)	+ve(+2)	-
55.	F_2.OCw-1 1.5(7)	+ve(+2)	-
56.	F_2.OCw-1 1.5(8)	+ve(+2)	-
57.	F_2.OCw-1 1.5(9)	+ve(+3)	642
58.	F_2.OCw-1 1.5(10)	+ve(+2)	-
59.	F_2.OCw-1 1.5(12)	+ve(+2)	-
60.	F_2.OCw-1 1.5(13)	+ve(+4)	747

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
61.	F_2.OCw-1 1.5(14)	+ve(+3)	285
62.	F_2.OCw-1 1.5(15)	+ve(+2)	-
63.	F_2.OCw-1 2(8)	+ve(+2)	-
64.	F_2.OCw-1 2(9)	+ve(+1)	-
65.	F_2.OCw-1 2(10)	+ve(+2)	-
66.	F_2.OCw-1 2(11)	+ve(+2)	-
67.	F_2.OCw-1 2(12)	+ve(+2)	-
68.	F_2.OCw-1 2(13)	+ve(+2)	-
69.	F_2.OCw-1 2(14)	+ve(+1)	-
70.	F_2.OCw-1 2(15)	+ve(+2)	-
71.	F_2.OCw-1 2(16)	+ve(+2)	-
72.	F_2.OCw-1 2(17)	+ve(+2)	-
73.	F_2.OCw-1 2(18)	+ve(+2)	-
74.	F_2.OCw-1 2(19)	+ve(+1)	-
75.	F_2.OCw-1 2(20)	+ve(+1)	-
76.	F_2.OCw-1 2(21)	+ve(+3)	372
77.	F_2.OCw-1 2(22)	+ve(+2)	-
78.	F_2.OCw-1 2(23)	+ve(+2)	-
79.	F_2.OCw-1 2(24)	+ve(+2)	-
80.	F_3.W-6 2(24)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
81.	F_3.W-6 2(25)	+ve(+4)	812
82.	F_3.W-6 2(26)	+ve(+2)	-
83.	F_3.W-6 2(27)	+ve(+2)	-
84.	F_3.W-6 2(28)	+ve(+1)	-
85.	F_3.W-6 2(29)	+ve(+2)	-
86.	F_3.W-6 2(30)	+ve(+2)	-
87.	F_3.W-6 2(31)	+ve(+2)	-
88.	F_3.W-6 2(32)	+ve(+2)	-
89.	F_3.W-6 2(33)	+ve(+3)	464
90.	F_3.W-6 2(34)	+ve(+2)	-
91.	F_3.W-6 2.5(1)	+ve(+3)	608
92.	F_3.W-6 2.5(2)	+ve(+2)	-
93.	F_3.W-6 2.5(3)	+ve(+1)	-
94.	F_3.W-6 2.5(4)	+ve(+2)	-
95.	F_3.W-6 2.5(5)	+ve(+2)	-
96.	F_3.W-6 2.5(6)	+ve(+3)	503
97.	F_3.W-6 2.5(7)	+ve(+2)	-
98.	F_3.OCw-1 2.5(1)	+ve(+2)	-
99.	F_3.OCw-1 2.5(2)	+ve(+2)	-
100.	F_3.OCw-1 2.5(3)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
101.	F_3.OCw-1 2.5(4)	+ve(+2)	-
102.	F_3.OCw-1 2.5(5)	+ve(+3)	451
103.	F_3.OCw-1 2(25)	+ve(+2)	-
104.	F_3.OCw-1 2(26)	+ve(+1)	-
105.	F_3.OCw-1 2(27)	+ve(+2)	-
106.	F_3.OCw-1 2(28)	+ve(+2)	-
107.	F_3.OCw-1 2(29)	+ve(+2)	-
108.	F_3.OCw-1 2(30)	+ve(+2)	-
109.	F_3.OCw-1 2(31)	+ve(+4)	608
110.	F_4.W-6(1)	+ve(+3)	396
111.	F_4.W-6(2)	+ve(+3)	287
112.	F_4.W-6(3)	+ve(+2)	-
113.	F_4.W-6(4)	+ve(+2)	-
114.	F_4.W-6(5)	+ve(+2)	-
115.	F_4.W-6(6)	+ve(+2)	-
116.	F_4.W-6(7)	+ve(+3)	554
117.	F_4.W-6(8)	+ve(+3)	422
118.	F_4.W-6(9)	+ve(+4)	762
119.	F_4.W-6(10)	-ve	-
120.	F_4.W-6(11)	-ve	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
121.	F_4.W-6(12)	+ve(+4)	641
122.	F_4.W-6(13)	+ve(+3)	279
123.	F_4.W-6(14)	-ve	-
124.	F_4.W-6(15)	+ve(+3)	374
125.	F_4.W-6(16)	+ve(+3)	484
126.	F_4.W-6(17)	-ve	-
127.	F_4.W-6(18)	+ve(+4)	738
128.	F_4.W-6(19)	+ve(+4)	669
129.	F_4.W-6(20)	-ve	-
130.	F_4.W-6(21)	-ve	-
131.	F_4.W-6(22)	+ve(+3)	325
132.	F_4.W-6(23)	+ve(+4)	628
133.	F_4.W-6(24)	-ve	-
134.	F_4.W-6(25)	+ve(+4)	681
135.	F_4.W-6(26)	+ve(+4)	599
136.	F_4.W-6(27)	+ve(+1)	-
137.	F_4.W-6(28)	+ve(+3)	338
138.	F_4.W-6(29)	+ve(+1)	-
139.	F_4.W-6(30)	+ve(+3)	541
140.	F_4.W-6(31)	+ve(+3)	447

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
141.	F_4.W-6(32)	+ve(+3)	574
142.	F_4.W-6(33)	+ve(+3)	437
143.	F_4.W-6(34)	+ve(+2)	-
144.	F_4.W-6(35)	+ve(+2)	-
145.	F_4.W-6(36)	+ve(+2)	-
146.	F_4.W-6(37)	+ve(+3)	459
147.	F_4.W-6(38)	+ve(+3)	398
148.	F_4.W-6(39)	+ve(+3)	404
149.	F_4.W-6(40)	+ve(+2)	-
150.	F_4.W-6(41)	+ve(+3)	509
151.	F_4.W-6(42)	+ve(+2)	-
152.	F_4.W-6(43)	-ve	-
153.	F_4.W-6(44)	+ve(+3)	507
154.	F_4.W-6(45)	+ve(+4)	641
155.	F_4.W-6(46)	-ve	-
156.	F_4.W-6(47)	+ve(+3)	425
157.	F_4.W-6(48)	+ve(+3)	339
158.	F_4.W-6(49)	-ve	-
159.	F_4.W-6(50)	+ve(+2)	-
160.	F_4.W-6(51)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
161.	F_4.W-6(52)	-ve	-
162.	F_4.W-6(53)	+ve(+2)	-
163.	F_4.W-6(54)	-ve	-
164.	F_4.W-6(55)	-ve	-
165.	F_4.W-6(56)	-ve	-
166.	F_4.W-6(57)	+ve(+2)	-
167.	F_4.W-6(58)	+ve(+3)	348
168.	F_4.W-6(59)	-ve	-
169.	F_4.W-6(60)	+ve(+2)	-
170.	F_4.W-6(61)	-ve	-
171.	F_4.W-6(62)	+ve(+2)	-
172.	F_4.W-6(63)	+ve(+2)	-
173.	F_4.W-6(64)	+ve(+1)	-
174.	F_4.W-6(65)	+ve(+1)	-
175.	F_4.W-6(66)	+ve(+1)	-
176.	F_4.W-6(67)	+ve(+2)	-
177.	F_4.W-6(68)	+ve(+3)	378
178.	F_4.W-6(69)	+ve(+3)	334
179.	F_4.W-6(70)	+ve(+1)	-
180.	F_4.W-6(71)	+ve(+1)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
181.	F_4.W-6(72)	+ve(+1)	-
182.	F_4.W-6(73)	+ve(+3)	-
183.	F_4.W-6(74)	+ve(+1)	-
184.	F_4.W-6(75)	+ve(+3)	567
185.	F_4.W-6(76)	+ve(+1)	-
186.	F_4.W-6(77)	+ve(+1)	-
187.	F_4.W-6(78)	+ve(+3)	310
188.	F_4.W-6(79)	+ve(+2)	-
189	F_4.W-6(80)	+ve(+1)	-
190.	F_4.W-6(81)	+ve(+3)	445
191.	F_4.W-6(82)	+ve(+2)	-
192.	F_4.W-6(61)	+ve(+3)	567
193.	F_4.W-6(84)	+ve(+3)	456
194.	F_4.W-6(85)	+ve(+4)	720
195.	F_4.W-6(86)	+ve(+3)	594
196.	F_4.W-6(87)	+ve(+2)	-
197.	F_4.W-6(88)	+ve(+2)	-
198.	F_4.W-6(89)	+ve(+3)	525
199.	F_4.W-6(90)	+ve(+2)	-
200.	F_4.W-6(91)	+ve(+3)	447

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 และ W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG.

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		TLC	HPLC (มิลลิกรัม/ลิตร)
201.	F_4.W-6(92)	+ve(+2)	-
202.	F_4.W-6(93)	+ve(+2)	-
203.	F_4.W-6(94)	+ve(+1)	-
204.	F_4.W-6(95)	+ve(+3)	398
205.	F_4.W-6(96)	+ve(+2)	-
206.	F_4.W-6(75)	+ve(+2)	-
207.	F_4.W-6(98)	+ve(+3)	338
208.	F_4.W-6(99)	+ve(+2)	-
209.	F_4.W-6(100)	+ve(+2)	-
210.	F_4.OCW-1(1)	+ve(+3)	425
211.	F_4.OCW-1(2)	+ve(+3)	312
212.	F_4.OCW-1(3)	+ve(+3)	443
213.	F_4.OCW-1(4)	+ve(+3)	285
214.	F_4.OCW-1(5)	+ve(+4)	718
215.	F_4.OCW-1(6)	+ve(+1)	-
216.	F_4.OCW-1(7)	+ve(+4)	600
217.	F_4.OCW-1(8)	+ve(+4)	599
218.	F_4.OCW-1(9)	+ve(+1)	-
219.	F_4.OCW-1(10)	+ve(+1)	-
220.	F_4.OCW-1(11)	-ve	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
221.	F_4.OCw-1(12)	+ve(+4)	698
222.	F_4.OCw-1(13)	+ve(+2)	-
223.	F_4.OCw-1(14)	+ve(+3)	447
224.	F_4.OCw-1(15)	+ve(+3)	406
225.	F_4.OCw-1(16)	+ve(+3)	437
226.	F_4.OCw-1(17)	-ve	-
227.	F_4.OCw-1(18)	+ve(+3)	642
228.	F_4.OCw-1(19)	+ve(+3)	626
229.	F_4.OCw-1(20)	+ve(+1)	-
230.	F_4.OCw-1(21)	+ve(+3)	352
231.	F_4.OCw-1(22)	+ve(+2)	-
232.	F_4.OCw-1(23)	+ve(+3)	241
233.	F_4.OCw-1(24)	+ve(+3)	369
234.	F_4.OCw-1(25)	+ve(+1)	-
235.	F_4.OCw-1(26)	+ve(+4)	648
236.	F_4.OCw-1(27)	+ve(+1)	-
237.	F_4.OCw-1(28)	+ve(+1)	-
238.	F_4.OCw-1(29)	+ve(+1)	-
239.	F_4.OCw-1(30)	+ve(+3)	567
240.	F_4.OCw-1(31)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
241.	F_4.OCw-1(32)	+ve(+2)	-
242.	F_4.OCw-1(33)	+ve(+3)	342
243.	F_4.OCw-1(34)	+ve(+2)	-
244.	F_4.OCw-1(35)	+ve(+2)	-
245.	F_4.OCw-1(36)	+ve(+3)	485
246.	F_4.OCw-1(37)	+ve(+3)	421
247.	F_4.OCw-1(38)	-ve	-
248.	F_4.OCw-1(39)	+ve(+1)	-
249.	F_4.OCw-1(40)	+ve(+2)	-
250.	F_4.OCw-1(41)	+ve(+2)	-
251.	F_4.OCw-1(42)	+ve(+4)	585
252.	F_4.OCw-1(43)	+ve(+1)	-
253.	F_4.OCw-1(44)	-ve	-
254.	F_4.OCw-1(45)	+ve(+4)	617
255.	F_4.OCw-1(46)	+ve(+3)	582
256.	F_4.OCw-1(47)	+ve(+3)	582
257.	F_4.OCw-1(48)	+ve(+3)	470
258.	F_4.OCw-1(49)	+ve(+1)	-
259.	F_4.OCw-1(50)	-ve	-
260.	F_4.OCw-1(51)	+ve(+3)	443

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
261.	F_4.OCw-1(52)	+ve(+3)	582
262.	F_4.OCw-1(53)	-ve	-
263.	F_4.OCw-1(54)	+ve(+3)	392
264.	F_4.OCw-1(55)	+ve(+3)	395
265.	F_4.OCw-1(56)	+ve(+1)	-
266.	F_4.OCw-1(57)	+ve(+3)	599
267.	F_4.OCw-1(58)	+ve(+3)	461
268.	F_4.OCw-1(59)	+ve(+3)	420
269.	F_4.OCw-1(60)	-ve	-
270.	F_4.OCw-1(61)	-ve	-
271.	F_4.OCw-1(62)	+ve(+3)	491
272.	F_4.OCw-1(63)	+ve(+1)	-
273.	F_4.OCw-1(64)	-ve	-
274.	F_4.OCw-1(65)	+ve(+4)	644
275.	F_4.OCw-1(66)	+ve(+1)	-
276.	F_4.OCw-1(67)	+ve(+3)	302
277.	F_4.OCw-1(68)	+ve(+1)	-
278.	F_4.OCw-1(69)	-ve	-
279.	F_4.OCw-1(70)	+ve(+3)	501
280.	F_4.OCw-1(71)	+ve(+3)	473

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
281.	F_4.OCw-1(72)	+ve(+1)	-
282.	F_4.OCw-1(73)	+ve(+3)	504
283.	F_4.OCw-1(74)	+ve(+1)	-
284.	F_4.OCw-1(75)	+ve(+3)	389
285.	F_4.OCw-1(76)	+ve(+1)	-
286.	F_4.OCw-1(77)	+ve(+1)	-
287.	F_4.OCw-1(78)	+ve(+1)	-
288.	F_4.OCw-1(79)	-ve	-
289.	F_4.OCw-1(80)	+ve(+1)	-
290.	F_4.OCw-1(81)	-ve	-
291.	F_4.OCw-1(82)	+ve(+4)	656
292.	F_4.OCw-1(83)	+ve(+4)	600
293.	F_4.OCw-1(84)	+ve(+1)	-
294.	F_4.OCw-1(85)	+ve(+3)	519
295.	F_4.OCw-1(86)	+ve(+3)	452
296.	F_4.OCw-1(87)	+ve(+1)	-
297.	F_4.OCw-1(88)	+ve(+3)	307
298.	F_4.OCw-1(89)	+ve(+3)	429
299	F_4.OCw-1(90)	+ve(+3)	500
300.	F_4.OCw-1(91)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
301.	F_4.OCw-1(92)	+ve(+3)	374
302.	F_4.OCw-1(93)	+ve(+1)	-
303.	F_4.OCw-1(94)	+ve(+4)	738
304.	F_4.OCw-1(95)	+ve(+3)	394
305.	F_4.OCw-1(96)	-ve	-
306.	F_4.OCw-1(97)	+ve(+1)	-
307.	F_4.OCw-1(98)	+ve(+3)	333
308.	F_4.OCw-1(99)	+ve(+2)	-
309.	F_4.OCw-1(100)	+ve(+1)	-
310	F_5.UV4-28(N04-1)	+ve(+2)	-
311.	F_5.UV4-28(N04-2)	+ve(+1)	-
312.	F_5.UV4-28(N04-3)	+ve(+4)	580
313.	F_5.UV4-28(N04-4)	+ve(+4)	619
314.	F_5.UV4-28(N04-5)	+ve(+2)	-
315.	F_5.UV4-28(N04-6)	+ve(+2)	-
316.	F_5.UV4-28(N04-7)	+ve(+2)	-
317.	F_5.UV4-28(N04-8)	+ve(+4)	610
318.	F_5.UV4-28(N04-9)	+ve(+2)	-
319.	F_5.UV4-28(N04-10)	+ve(+4)	635
320.	F_5.UV4-28(N04-11)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
321.	F_5.UV4-28(NO4-12)	+ve(+2)	-
322.	F_5.UV4-28(NO4-13)	+ve(+2)	-
323.	F_5.UV4-28(NO4-14)	+ve(+2)	-
324.	F_5.UV4-28(NO4-15)	+ve(+2)	-
325.	F_5.UV4-28(NO4-16)	+ve(+2)	-
326.	F_5.UV4-28(NO4-17)	+ve(+2)	-
327.	F_5.UV4-28(NO4-18)	+ve(+2)	-
328.	F_5.UV4-28(NO4-19)	+ve(+2)	-
329.	F_5.UV4-28(NO4-20)	+ve(+2)	-
330.	F_5.UV4-28(NO4-21)	-ve	-
331.	F_5.UV4-28(NO4-22)	+ve(+2)	-
332.	F_5.UV4-28(NO4-23)	+ve(+4)	648
333.	F_5.UV4-28(NO4-24)	+ve(+2)	-
334.	F_5.UV4-28(NO4-25)	+ve(+4)	642
335.	F_5.UV4-28(NO5-1)	+ve(+2)	-
336.	F_5.UV4-28(NO5-2)	+ve(+2)	-
337.	F_5.UV4-28(NO5-3)	+ve(+4)	618
338.	F_5.UV4-28(NO5-4)	+ve(+2)	-
339.	F_5.UV4-28(NO5-5)	+ve(+1)	-
340.	F_5.UV4-28(NO5-6)	+ve(+4)	618

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
341.	F_5.UV4-28(NO5-7)	+ve(+2)	-
342.	F_5.UV4-28(NO5-8)	+ve(+2)	-
343.	F_5.UV4-28(NO5-9)	+ve(+4)	548
344.	F_5.UV4-28(NO5-10)	+ve(+1)	-
345.	F_5.UV4-28(NO5-11)	+ve(+4)	765
346.	F_5.UV4-28(NO5-12)	+ve(+4)	546
347.	F_5.UV4-28(NO5-13)	+ve(+2)	-
348.	F_5.UV4-28(NO5-14)	+ve(+2)	-
349.	F_5.UV4-28(NO5-15)	+ve(+2)	-
350.	F_5.UV4-28(NO5-16)	+ve(+1)	-
351.	F_5.UV4-28(NO5-17)	+ve(+2)	-
352.	F_5.UV4-28(NO5-18)	+ve(+1)	-
353.	F_5.UV4-28(NO5-19)	+ve(+1)	-
354.	F_5.UV4-28(NO5-20)	+ve(+2)	-
355.	F_5.UV4-28(NO5-21)	-ve	-
356.	F_5.UV4-28(NO5-22)	+ve(+2)	-
357.	F_5.UV4-28(NO5-23)	+ve(+4)	564
358.	F_5.UV4-28(NO5-24)	+ve(+3)	498
359.	F_5.UV4-28(NO5-25)	+ve(+3)	481
360.	F_5.UV4-28(NO6-1)	+ve(+2)	-
361.	F_5.UV4-28(NO6-2)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
362.	F_5.UV4-28(NO6-3)	+ve(+2)	-
363.	F_5.UV4-28(NO6-4)	+ve(+2)	-
364.	F_5.UV4-28(NO6-5)	+ve(+2)	-
365.	F_5.UV4-28(NO6-6)	+ve(+2)	-
366.	F_5.UV4-28(NO6-7)	+ve(+2)	-
367.	F_5.UV4-28(NO6-8)	+ve(+2)	-
368.	F_5.UV4-28(NO6-9)	+ve(+2)	-
369.	F_5.UV4-28(NO6-10)	+ve(+2)	-
370.	F_5.UV4-28(NO6-11)	+ve(+2)	-
371.	F_5.UV4-28(NO6-12)	+ve(+2)	-
372.	F_5.UV4-28(NO6-13)	+ve(+2)	-
373.	F_5.UV4-28(NO6-14)	+ve(+2)	-
374.	F_5.UV4-28(NO6-15)	+ve(+4)	607
375.	F_5.UV4-28(NO6-16)	+ve(+2)	-
376.	F_5.UV4-28(NO6-17)	+ve(+1)	-
377.	F_5.UV4-28(NO6-18)	+ve(+2)	-
378.	F_5.UV4-28(NO6-19)	+ve(+2)	-
379.	F_5.UV4-28(NO6-20)	+ve(+3)	379
380.	F_5.UV4-28(NO6-21)	+ve(+2)	-
381.	F_5.UV4-28(NO6-22)	+ve(+2)	-
382.	F_5.UV4-28(NO6-23)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
383.	F_5.UV4-28(N06-24)	+ve(+2)	-
384.	F_5.UV4-28(N06-25)	-ve	-
385.	F_5.UV4-28(N07-1)	+ve(+2)	-
386.	F_5.UV4-28(N07-2)	+ve(+2)	-
387.	F_5.UV4-28(N07-3)	+ve(+2)	-
388.	F_5.UV4-28(N07-4)	+ve(+2)	-
389.	F_5.UV4-28(N07-5)	+ve(+2)	-
390.	F_5.UV4-28(N07-6)	+ve(+2)	-
391.	F_5.UV4-28(N07-7)	+ve(+2)	-
392.	F_5.UV4-28(N07-8)	+ve(+1)	-
393.	F_5.UV4-28(N07-9)	+ve(+4)	627
394.	F_5.UV4-28(N07-10)	+ve(+2)	-
395.	F_5.UV4-28(N07-11)	+ve(+2)	-
396.	F_5.UV4-28(N07-12)	+ve(+2)	-
397.	F_5.UV4-28(N07-13)	+ve(+2)	-
398.	F_5.UV4-28(N07-14)	+ve(+2)	-
399.	F_5.UV4-28(N07-15)	+ve(+4)	549
400.	F_5.UV4-28(N07-16)	+ve(+2)	-
401	F_5.UV4-28(N07-17)	+ve(+2)	-
402.	F_5.UV4-28(N07-18)	+ve(+2)	-
403.	F_5.UV4-28(N07-19)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
404.	F_5.UV4-28(NO7-20)	+ve(+2)	-
405.	F_5.UV4-28(NO7-21)	+ve(+1)	-
406.	F_5.UV4-28(NO7-22)	-ve	-
407.	F_5.UV4-28(NO7-23)	-ve	-
408.	F_5.UV4-28(NO7-24)	+ve(+4)	549
409.	F_5.UV4-28(NO7-25)	+ve(+4)	577
410.	F_5.UV4-28(NO8-1)	+ve(+2)	-
411.	F_5.UV4-28(NO8-2)	+ve(+2)	-
412.	F_5.UV4-28(NO8-3)	+ve(+4)	536
413.	F_5.UV4-28(NO8-4)	+ve(+2)	-
414.	F_5.UV4-28(NO8-5)	+ve(+2)	-
415.	F_5.UV4-28(NO8-6)	+ve(+4)	429
416.	F_5.UV4-28(NO8-7)	+ve(+2)	-
417.	F_5.UV4-28(NO8-8)	+ve(+2)	-
418.	F_5.UV4-28(NO8-9)	+ve(+2)	-
419.	F_5.UV4-28(NO8-10)	+ve(+2)	-
420.	F_5.UV4-28(NO8-11)	+ve(+2)	-
421.	F_5.UV4-28(NO8-12)	+ve(+2)	-
422.	F_5.UV4-28(NO8-13)	+ve(+4)	598
423.	F_5.UV4-28(NO8-14)	+ve(+2)	-
424.	F_5.UV4-28(NO8-15)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก (13 วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
425.	F_5.UV4-28(N08-16)	+ve(+1)	-
426.	F_5.UV4-28(N08-17)	+ve(+2)	-
427.	F_5.UV4-28(N08-18)	+ve(+1)	-
428.	F_5.UV4-28(N08-19)	+ve(+4)	708
429.	F_5.UV4-28(N08-20)	+ve(+1)	-
430.	F_5.UV4-28(N08-21)	+ve(+4)	713
431.	F_5.UV4-28(N08-22)	+ve(+2)	-
432.	F_5.UV4-28(N08-23)	+ve(+2)	-
433.	F_5.UV4-28(N08-24)	+ve(+2)	-
434.	F_5.UV4-28(N08-25)	+ve(+2)	-
435.	F_5.UV4-28(N08-26)	+ve(+1)	-
436.	F_5.UV4-28(N08-27)	+ve(+2)	-
437.	F_5.UV4-28(N08-28)	+ve(+4)	678
438.	F_5.UV4-28(N09-1)	+ve(+2)	-
439.	F_5.UV4-28(N09-2)	+ve(+2)	-
440.	F_5.UV4-28(N09-3)	+ve(+4)	611
441.	F_5.UV4-28(N09-4)	+ve(+4)	512
442.	F_5.UV4-28(N09-5)	+ve(+2)	-
443.	F_5.UV4-28(N09-6)	+ve(+2)	-
444.	F_5.UV4-28(N09-7)	+ve(+2)	-
445.	F_5.UV4-28(N09-8)	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.10(ต่อ)แสดงความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการทำให้ OCw-1 W-6 และ UV4-28 กลายพันธุ์ด้วย NTG

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก(13วัน)	
		โดย TLC	โดย HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
446.	F_5.UV4-28(N09-9)	+ve(+2)	-
447.	F_5.UV4-28(N09-10)	+ve(+4)	568
448.	F_5.UV4-28(N09-11)	+ve(+4)	533
449.	F_5.UV4-28(N09-12)	+ve(+2)	-
450.	F_5.UV4-28(N09-13)	+ve(+2)	-
451.	F_5.UV4-28(N09-14)	+ve(+2)	-
452.	F_5.UV4-28(N09-15)	+ve(+1)	-
453.	F_5.UV4-28(N09-16)	+ve(+2)	-
454.	F_5.UV4-28(N09-17)	+ve(+2)	-
455.	F_5.UV4-28(N09-18)	+ve(+2)	-
456.	F_5.UV4-28(N09-19)	+ve(+2)	-
457.	F_5.UV4-28(N09-20)	+ve(+2)	-
458.	F_5.UV4-28(N09-21)	+ve(+4)	505
459.	F_5.UV4-28(N09-22)	-ve	-
460.	F_5.UV4-28(N09-23)	+ve(+2)	-
461.	F_5.UV4-28(N09-24)	+ve(+2)	-
462.	F_5.UV4-28(N09-25)	+ve(+2)	-
463.	F_5.UV4-28(N09-26)	+ve(+2)	-
464.	F_5.UV4-28(N09-27)	+ve(+2)	-
465.	F_5.UV4-28(N09-28)	+ve(+2)	-

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.10 ได้คัดเลือกสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ W-6, OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG และมีความสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้เท่ากับ +4 ทดสอบโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (TLC) และมากกว่า 700 มิลลิกรัม/ลิตรทดสอบโดยไฮเปอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี(HPLC) ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ และนำมาคัดเลือกซ้ำเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงสุดที่สภาวะเดียวกัน โดยเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกกับสายพันธุ์ดั้งต้น (*Gibberella fugikuroi* C),OCw-1,W-6 และ UV4-28 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวในเวลา 13 วัน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.11

ตารางที่ 3.11 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการกลายพันธุ์ด้วย NTG และผ่านการคัดเลือกขั้นต้นแล้วเทียบกับสายพันธุ์เดิม

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	กรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) มิลลิกรัม/ลิตรโดย HPLC
1	สายพันธุ์ดั้งต้น(C)	560
2	OCw-1	580
3	W-6	593
4	UV4-28	580
5	F_1.W-6 1.5(4)	636
6	F_4.W-6(9)	703
7	F_4.OCw-1 (94)	658
8	F_5. UV4-28(N05-11)	772
9	F_5. UV4-28(N08-19)	702
10	F_5. UV4-28(N08-21)	648

จากตารางที่ 3.11 พบว่าสายพันธุ์ F_5.UV4-28(NO5-11) มีความสามารถสูงสุดในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก คือผลิตได้ 772 มิลลิกรัม/ลิตร แต่สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตสารสีแดงเข้มของไบคาเวอริน (bicaverin) ในน้ำหมักมากทำให้เป็นปัญหาในขั้นตอนการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์จึงไม่เหมาะที่จะนำมาเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงได้พิจารณาอีก 2 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตรองลงมา คือ F_4.W-6(9) และ F_5.UV4-28(NO8-19) ซึ่งผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 703 และ 702 มิลลิกรัม /ลิตร ตามลำดับ

สายพันธุ์ F_4.W-6(9)ลักษณะเส้นใยมีสีขาวฟู ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเติบโตได้ดีและมีลักษณะทั่วไปคล้ายกับสายพันธุ์ตั้งต้น คือสายพันธุ์ C และสายพันธุ์ W-6 เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวจะสร้างสีในอาหารเป็นสีชมพูอ่อน และเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุในสภาวะที่มีแสงสว่างจะมีสีส้ม ฟูและด้านล่างโคโลนีมีสีม่วงเข้ม ในสภาวะที่มีแสงสว่างจะสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้เพิ่มขึ้นโดยผลิตได้ถึง 835 มิลลิกรัม/ลิตร

ส่วนสายพันธุ์ F_5.UV4-28(NO8-19) ลักษณะเส้นใยมีสีขาว ฟู ด้านล่างโคโลนีมีสีม่วงเจริญเติบโตได้ดีและมีลักษณะทั่วไปคล้ายกับสายพันธุ์ตั้งต้น คือสายพันธุ์ C และสายพันธุ์ UV4-28 ลักษณะเด่นคือเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจะสร้างสีในอาหารเหลวน้อยมาก น้อยกว่า F_4.W-6(9)

งานที่ทำต่อไปนี้จึงแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มแรกจะศึกษาและปรับปรุงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของ F_4.W-6(9) ในระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งอยู่ในระหว่างการดำเนินงาน

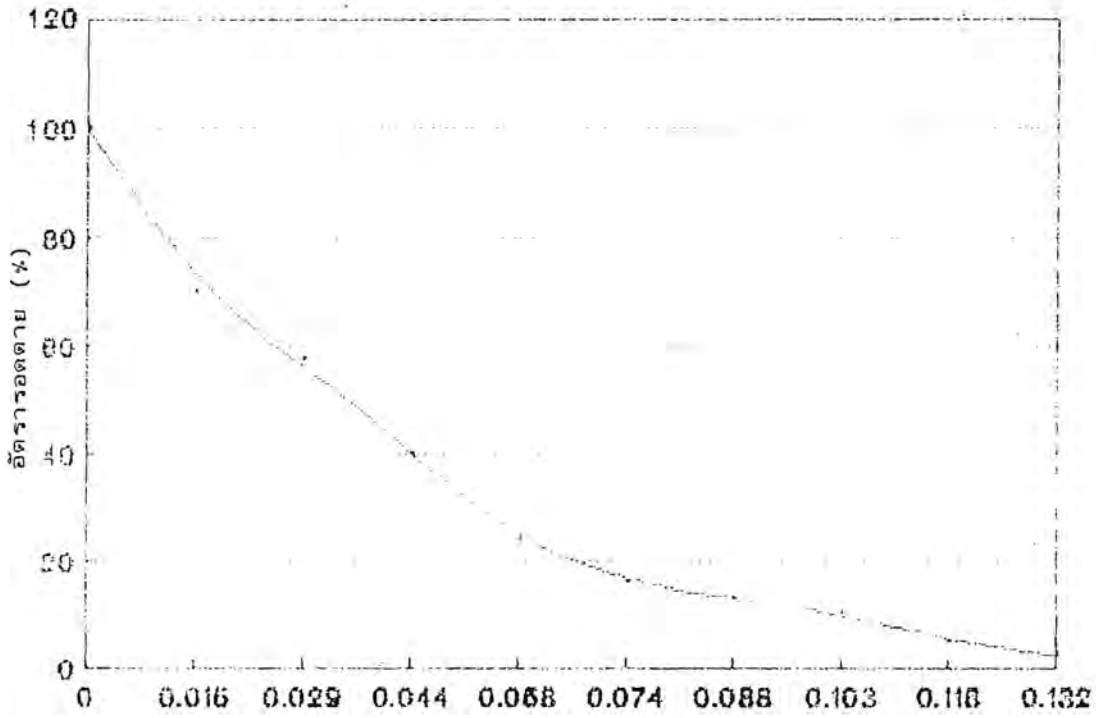
ส่วนกลุ่มที่สอง นำ สายพันธุ์ F_5.UV4-28(NO8-19)มาเป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการกลายพันธุ์ด้วย NTG ต่อไป

3.7 การหาอัตรารอดตายของ F_5.UV4-28(NO8-19)

จากการทดลองหาอัตรารอดตายของ F_5.UV4-28(NO8-19) เมื่อใช้ NTG ความเข้มข้นต่างๆตามวิธีในข้อ 2.8 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.12 และ รูปที่ 3.5

ตารางที่ 3.12 แสดงความสัมพันธุ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตรารอดตายของ F_5.UV4-28(NO8-19)

ความเข้มข้นของNTG (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	จำนวนโคโลนีรอดตาย (โคโลนี/มิลลิลิตร)	อัตรารอดตาย (%)
0	4.0×10^5	100.0
0.015	2.8×10^5	70.0
0.029	2.3×10^5	57.5
0.044	1.6×10^5	40.0
0.058	9.7×10^4	24.2
0.074	6.5×10^4	16.2
0.088	5.2×10^4	13.0
0.103	4.3×10^4	10.7
0.118	2.1×10^4	5.2
0.132	1.0×10^4	2.5



รูปที่ 3.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ NTG และอัตราการตายของสปอร์ F_5.UV4-28(NO8-19)

3.8 การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของ F_5.UV4-28 (NO8-19)

จากกราฟแสดงอัตรารอดตายของ F_5.UV4-28(NO8-19)ในรูปที่ 3.5 ได้คัดเลือกเชื้อราที่ได้จากการกลายพันธุ์ในช่วงความเข้มข้นของ NTG ตั้งแต่ 0.0749-0.132 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีอัตรารอดตายระหว่าง 2.5 -16.2 % มาทั้งหมด 432 สายพันธุ์ มาเลี้ยงในอาหาร PDA ผสมแร่ธาตุ และศึกษาลักษณะเส้นใย สี การเจริญเติบโต จากนั้นได้นำสายพันธุ์กลายพันธุ์ทั้งหมดมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด โดยเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 13 วัน ตามวิธีในข้อ 2.4 และตรวจสอบปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกโดยวิธีทินเลเยอร์-โครมาโตกราฟฟี(TLC)ตามข้อ 2.5 เพื่อคัดเลือกขั้นต้น

แล้วนำสายพันธุ์ที่ให้ค่าความเข้มของจุดกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่นทดสอบ (TLC)เท่ากับ +ve(+5) มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกในน้ำหมักโดย วิธีไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี (HPLC) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อราที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_5.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
1.	N5-1	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
2.	N5-2	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
3.	N5-3	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
4.	N5-4	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
5.	N5-5	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	630
6.	N5-6	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
7.	N5-7	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
8.	N5-8	ก่ามะหยี่สีขาวด้านล่างสีม่วงโตช้า	-ve	-
9.	N5-9	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
10.	N5-10	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
11.	N5-11	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
12.	N5-12	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
13.	N5-13	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
14.	N5-14	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
15.	N5-15	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
16.	N5-16	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
17.	N5-17	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
18.	N5-18	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	778
19.	N5-19	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
20.	N5-20	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
21.	N5-21	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
22.	N5-22	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
23.	N5-23	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
24.	N5-24	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
25.	N5-25	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_5.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
26.	N5-26	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
27.	N5-27	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
28.	N5-28	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
29.	N5-29	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
30.	N5-30	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+)	-
31.	N5-31	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
32.	N5-32	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
33.	N5-33	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
34.	N5-34	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
35.	N5-35	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
36.	N5-36	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
37.	N5-37	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
38.	N5-38	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
39	N5-40	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
40.	N5-41	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	782
41.	N5-42	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
42.	N5-43	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
43.	N5-44	สีม่วงแบนราบด้านล่างโคโลนีสีม่วงโตช้า	+ve(+3)	-
44.	N5-45	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญช้า	-ve	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
45.	N5-46	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
46.	N5-47	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	806
47.	N5-48	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
48.	N5-49	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
49.	N5-50	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
50.	N5-51	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
51.	N5-52	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
52.	N5-53	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
53.	N5-54	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
54.	N5-55	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
55.	N5-56	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
56.	N5-57	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
57.	N5-58	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
58.	N5-59	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
59.	N5-60	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
60.	N5-61	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
61.	N5-62	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
62.	N5-63	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
63.	N5-64	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
64.	N5-65	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
65.	N5-66	ก่ามะหยี่สีแดงด้านล่างสีแดงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
66.	N5-67	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
67.	N5-68	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
68.	N5-69	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	824
69.	N5-70	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
70.	N5-71	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
71.	N5-72	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
72.	N5-73	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
73.	N5-74	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	815
74.	N5-75	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
75.	N5-76	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
76.	N5-77	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
77.	N5-78	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
78.	N5-79	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
79.	N5-80	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
80.	N5-81	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
81.	N5-82	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
82.	N5-83	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_5.UV4-28(N08-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
83.	N5-84	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญช้า	+ve(+3)	-
84.	N5-85	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
85.	N5-86	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีเหลืองเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
86.	N5-87	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
87.	N5-88	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
88.	N5-89	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
89.	N5-90	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
90.	N5-91	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีครีมเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
91.	N5-92	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
92.	N5-93	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
93.	N5-95	สีม่วงฟู,ด้านล่างสีม่วงแดงโตเร็ว	+ve(+3)	-
94.	N5-97	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
95.	N5-98	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
96.	N5-99	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
97.	N5-100	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
98.	N5-101	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีเหลืองเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
99.	N5-102	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
100.	N6-1	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
101.	N6-2	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
102.	N6-3	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	861
103.	N6-4	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
104.	N6-5	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
105.	N6-6	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
106.	N6-7	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
107.	N6-8	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
108.	N6-9	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
109.	N6-10	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
110.	N6-11	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
111.	N6-12	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
112.	N6-13	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
113.	N6-14	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
114.	N6-15	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
115.	N6-16	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
116.	N6-18	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
117.	N6-19	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
118.	N6-20	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
119.	N6-21	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
120.	N6-22	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
121.	N6-23	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
122.	N6-24	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	815
123.	N6-25	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
124.	N6-26	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
125.	N6-27	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
126.	N6-28	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
127.	N6-29	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
128.	N6-30	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
129.	N6-31	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
130.	N6-32	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
131.	N6-33	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
132.	N6-34	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงโตช้า	-ve	-
133.	N6-35	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
134.	N6-36	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
135.	N6-37	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
136.	N6-38	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
137.	N6-39	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
138.	N6-40	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
139.	N6-41	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
140.	N6-42	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
141.	N6-43	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีเหลืองเจริญเร็ว	-ve	-
142.	N6-44	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
143.	N6-45	สีขาวฟูด้านล่างสีม่วงโตช้า	+ve(+3)	-
144.	N6-46	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
145.	N6-48	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
146.	N6-49	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	695
147.	N6-50	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
148.	N6-51	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
149.	N6-52	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
150.	N6-53	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
151.	N6-54	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
152.	N6-55	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
153.	N6-56	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
154.	N6-57	สีม่วงฟู,ด้านล่างโคโลนีสีขาวเจริญเร็ว	+ve(+5)	834
155.	N6-58	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
156.	N6-59	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
157.	N6-60	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
158.	N6-61	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
159.	N6-62	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
160.	N6-65	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	704

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
161.	N6-66	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
162.	N6-67	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
163.	N6-70	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
164.	N6-71	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
165.	N6-72	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
166.	N6-73	กำมะหยี่สีแดงด้านล่างโคโลนีสีแดงโตช้า	-ve	-
167.	N6-74	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
168.	N6-75	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
169.	N6-76	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
170.	N6-77	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
171.	N6-78	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	704
172.	N6-79	สีขาวฟูมด้านล่างโคโลนีสีแดงเจริญเร็ว	+ve(+5)	778
173.	N6-80	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
174.	N6-81	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
175.	N6-82	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
176.	N6-83	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
177.	N6-84	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
178.	N6-85	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
179.	N6-86	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
180.	N6-87	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(N08-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
181.	N6-88	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
182.	N6-89	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
183.	N6-90	ก้ามะหยี่สีม่วงด้านล่างสีม่วงโตช้า	+ve(+1)	-
184.	N7-1	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
185.	N7-2	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	778
186.	N7-3	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
187.	N7-4	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
188.	N7-5	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
189.	N7-6	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
190.	N7-7	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
191.	N7-8	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
192.	N7-9	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
193.	N7-10	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
194.	N7-11	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
195.	N7-12	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
196.	N7-14	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
197.	N7-15	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	713
198.	N7-17	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	-ve	-
199.	N7-18	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
200.	N7-19	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ)แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_s.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และHPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน (13วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
201.	N7-20	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
202.	N7-21	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
203.	N7-22	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
204.	N7-24	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
205.	N7-25	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
206.	N7-26	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
207.	N7-27	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
208.	N7-29	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
209.	N7-30	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
210.	N7-31	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
211.	N7-32	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
212.	N7-33	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	853
213.	N7-36	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
214.	N7-37	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
215.	N7-38	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	778
216.	N7-39	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
217.	N7-40	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
218.	N7-41	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
219.	N7-42	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
220.	N7-43	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(N08-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
261.	N7-90	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
262.	N8-2	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
263.	N8-3	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
264.	N8-4	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
265.	N8-5	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
266.	N8-6	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
267.	N8-7	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
268.	N8-8	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
269.	N8-9	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
270.	N8-10	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
271.	N8-11	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
272.	N8-12	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
273.	N8-13	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
274.	N8-14	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
275.	N8-15	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
276.	N8-16	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	732
277.	N8-17	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
278.	N8-18	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
279.	N8-19	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
280.	N8-20	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_5.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
281.	N8-21	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
282.	N8-22	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
283.	N8-23	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
284.	N8-24	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
285.	N8-25	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
286.	N8-26	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
287.	N8-27	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
288.	N8-28	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
289.	N8-29	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
290.	N8-30	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
291.	N8-31	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
292.	N8-32	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
293.	N8-33	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
294.	N8-34	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
295.	N8-35	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
296.	N8-36	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
297.	N8-38	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
298.	N8-39	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
299.	N8-40	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
300.	N8-42	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
301.	N8-43	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
302.	N8-46	กำมะหยี่สีม่วงอ่อนด้านล่างสีน้ำเงินโตช้า	+ve(+3)	-
303.	N8-49	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
304.	N8-50	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
305.	N8-51	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
306.	N8-52	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
307.	N8-53	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
308.	N8-54	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
309.	N8-57	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
310.	N8-58	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
311.	N8-59	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
312.	N8-60	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
313.	N8-61	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
314.	N8-62	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
315.	N8-63	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	787
316.	N8-65	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
317.	N8-66	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีแดงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
318.	N8-67	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
319.	N8-68	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
320.	N8-69	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(N08-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
321.	N8-70	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
322.	N8-71	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
323.	N8-72	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
324.	N8-73	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
325.	N8-74	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีแดงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
326.	N8-75	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	-ve	-
327.	N8-76	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
328.	N8-78	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
329.	N8-79	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
330.	N8-80	สีม่วงไม่ฟูมากด้านล่างสีน้ำเงินโตเร็ว	+ve(+3)	-
331.	N8-82	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
332.	N8-83	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
333.	N8-84	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
334.	N8-85	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
335.	N8-86	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
336.	N8-87	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
337.	N8-88	สีขาวแบนราบด้านล่างสีเขียวโตช้า	+ve(+2)	-
338.	N8-89	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
339.	N8-90	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	769
340.	N8-1C	สีม่วงฟู,ด้านล่างโคโลนีสีน้ำเงินโตช้า	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_5.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
341.	N8-2C	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีแดงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
342.	N8-3C	กำมะหยี่สีม่วงด้านล่างสีม่วง โตช้า	+ve(+1)	-
343.	N8-1S	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีน้ำเงินโตเร็ว	+ve(+3)	-
344.	N8-2S	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีแดงเจริญเร็ว	-ve(+3)	-
345.	N8-2F	สีขาวฟูมาก,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงโตเร็ว	+ve(+1)	-
346.	N8-3F	กำมะหยี่สีแดงเข้มโตช้าสีแดงเจริญเร็ว	-ve	-
347.	N8-1W	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีขาวโตเร็ว	-ve	-
348.	N8-4W	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีเขียวโตเร็ว	+ve(+4)	-
349.	N8-5W	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีขาวเจริญเร็ว	-ve(+5)	806
350.	N9-1	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
351.	N9-2	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีม่วงครามโตเร็ว	+ve(+4)	-
352.	N9-3	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
353.	N9-4	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
354.	N9-5	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีขาวเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
355.	N9-6	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
356.	N9-7	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
357.	N9-8	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
358.	N9-9	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
359.	N9-10	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
360.	N9-11	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
361.	N9-12	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
362.	N9-13	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
363.	N9-14	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
364.	N9-15	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
365.	N9-16	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
366.	N9-17	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
367.	N9-18	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
368.	N9-19	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
369.	N9-20	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
370.	N9-21	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
371.	N9-22	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
372.	N9-23	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
373.	N9-24	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	695
374.	N9-25	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
375.	N9-26	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
376.	N9-27	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
377.	N9-28	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
378.	N9-29	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	713
379.	N9-31	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
380.	N9-32	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_s.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
381.	N9-33	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
382.	N9-34	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	843
383.	N9-35	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	-ve	-
384.	N9-36	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	-ve	-
385.	N9-37	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	797
386.	N9-38	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
387.	N9-39	กำมะหยี่สีขาวด้านล่างสีม่วงโตช้า	+ve(+2)	-
388.	N9-40	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
389.	N9-41	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
390.	N9-42	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
391.	N9-43	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
392.	N9-44	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
393.	N9-45	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
394.	N9-48	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
395.	N9-49	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
396.	N9-50	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
397.	N9-51	สีม่วงฟูด้านล่างโคโลนีสีน้ำเงินโตเร็ว	+ve(+2)	-
398.	N9-52	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
399.	N9-53	สีม่วงฟู,ด้านล่างโคโลนีสีแดงเจริญช้า	+ve(+1)	-
400.	N9-54	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
401.	N9-55	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
402.	N9-57	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
403.	N9-58	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
404.	N9-59	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
405.	N9-60	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
406.	N9-61	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
407.	N9-62	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
408.	N9-63	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
409.	N9-64	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
410.	N9-65	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
411.	N9-67	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
412.	N9-68	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
413.	N9-69	สีขาวฟูด้านล่างสีเหลืองโตเร็วปานกลาง	+ve(+2)	-
414.	N9-70	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
415.	N9-71	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+1)	-
416.	N9-72	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
417.	N9-73	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
418.	N9-74	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	787
419.	N9-75	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
420.	N9-77	สีม่วงฟูด้านล่างโคโลนีสีน้ำเงินโตเร็ว	+ve(+5)	797

ตารางที่ 3.13(ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนี และความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อรา ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG วิเคราะห์โดย TLC และ HPLC

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลักษณะโคโลนี	ปริมาณจิบเบอเรลลิน(13 วัน)	
			TLC	HPLC มิลลิกรัม/ลิตร
421.	N9-78	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
422.	N9-79	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+2)	-
423.	N9-80	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3	-
424.	N9-81	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
425.	N9-82	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
426.	N9-83	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+4)	-
427.	N9-84	สีม่วงฟูด้านล่างโคโลนีสีแดงโตเร็ว	+ve(+3)	-
428.	N9-85	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีม่วงเจริญเร็ว	+ve(+5)	667
429.	N9-86	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีเหลืองเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
430.	N9-88	สีขาวฟู,ด้านล่างโคโลนีสีน้ำเงินโตเร็ว	-ve	-
431.	N9-89	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีน้ำเงินเจริญเร็ว	+ve(+3)	-
432.	N9-91	สีขาวฟูด้านล่างโคโลนีสีเหลืองเจริญเร็ว	+ve(+3)	-

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.13 พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการกลายพันธุ์ F_8.UV4-28(NO8-19) ด้วย NTG ทั้งหมด 432 สายพันธุ์เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 13 วันและตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกขั้นต้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (TLC) พบว่ามีสายพันธุ์จำนวน 32 สายพันธุ์ที่ให้ค่าความเข้มของจุดกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่นทดสอบ(TLC) มากกว่า +5 และเมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกโดยวิธีไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี พบว่า มี 26 สายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้

มากกว่าสายพันธุ์เดิม F_5.UV4-28 (N08-19) ซึ่งผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 710 มิลลิกรัม/ลิตร และคัดเลือกเชื้อรา 8 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูง คือ มากกว่า 820 มิลลิกรัม/ลิตร มาคัดเลือกซ้ำโดยตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในอาหารเหลวที่ 7,10,13 วัน วิเคราะห์ผลโดยไฮเพอร์ฟอมานซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟีพบว่า มี 4 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.14

ตารางที่3.14 แสดงเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ F_5.UV4-28(N08-19)ด้วย NTG และผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูง

ชื่อสายพันธุ์	ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก มิลลิกรัม/ลิตร วิเคราะห์โดย HPLC		
	7วัน	10วัน	13วัน
N5-69	524	672	865
N6-3	560	688	872
N7-54	622	721	878
N9-34	655	754	891
สายพันธุ์ดั้งเดิม F_5.UV4-28(N08-19)	480	604	737

จากตารางที่ 3.14 พบว่า สายพันธุ์ N9-34 เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงสุด คือผลิตได้ 891 มิลลิกรัม/ลิตร และผลิตได้เพิ่มขึ้น 20.90% จากสายพันธุ์ F_5.UV4-28(N08-19) ซึ่งผลิตได้ 737 มิลลิกรัม/ลิตรในเวลา 13 วัน

สรุปผลการทดลอง

Gibberella fugikuroi สายพันธุ์ C สายพันธุ์ตั้งต้นสำหรับการกลายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก และปรับปรุงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่าและในถังหมัก ขนาด 5 ลิตรแล้ว และเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงขึ้นจึงได้นำมาปรับปรุงสายพันธุ์ โดยวิธีการกลายพันธุ์ และการคัดเลือก (mutation and selection) โดยใช้ปัจจัยทางกายภาพคือ แสงอุลตราไวโอเลต (UV) ร่วมกับปัจจัยทางเคมี คือ NTG (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoquanidine)

การใช้แสง UV (ช่วงคลื่น 253.7 nm) เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก เนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณแสงได้ง่าย โดยแปรผันเวลาและความเข้มของแสง (intensity) นอกจากนี้ยังปลอดภัยในการใช้อีกด้วย (1,2) สำหรับการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C โดยใช้แสงอุลตราไวโอเลต เลือกเก็บสายพันธุ์กลายพันธุ์ในช่วง 90-120 วินาที ซึ่งมีอัตรารอดตายระหว่าง 0.08-2.9% ซึ่งมีอัตราการกลายพันธุ์สูงจำนวน 107 สายพันธุ์ นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุเพื่อศึกษาลักษณะโคโลนีและลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น เช่น ลักษณะของเส้นใย, สีของเส้นใย, ความหนาแน่นของเส้นใย และการผลิตสีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงนำมาศึกษาความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกระดับขวดเขย่าโดยเลี้ยงในอาหารเหลวในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25°c, ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที ติดตามผลโดยหาปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกที่เชื้อผลิต โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี(TLC)และ วิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometric determination) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.2 และ 3.3 ซึ่งพบว่า ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกโดยวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสงไม่สัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์โดยวิธี TLC โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างที่ตรวจพบ GA_4 โดย TLC ทั้งนี้เป็นเพราะวิธีนี้จะวัดค่าดูดกลืนแสงที่เกิดปฏิกิริยาระหว่างจิบเบอเรลลินกับกรดฟอสโฟโมลิบดิก (phosphomolybdic acid) ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น ดังนั้นในกรณีที่มีจิบเบอเรลลินชนิดอื่นในตัวอย่างก็จะเกิดปฏิกิริยาด้วยเช่นกัน การวิเคราะห์วิธีนี้ยังถูกรบกวนด้วยสารเจือปนอื่นได้ด้วย เช่น กรดอะมิโน, น้ำตาล, เมทานอล, เอทานอล และอะซิโตไนตริล (11) ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะคัดเลือกสายพันธุ์ขั้นต้น โดยตรวจวัดความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกขั้นต้นโดยวิธี TLC แล้วคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงมาตรวจวิเคราะห์ซ้ำ โดยวิธี HPlC ซึ่งเป็นวิธีที่แม่นยำและมีประสิทธิภาพสูง ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกดังแสดงในตารางที่ 3.4 ผลการทดลองการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Gibberella fugikuroi* C ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต พบว่า สายพันธุ์ W-6,OCw-1 และ UV4-28 มีความสามารถสูงในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกคือผลิตได้ 589 593 และ 591 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับที่สภาวะเดียวกับสายพันธุ์ตั้งต้น

ผลิตเพิ่มขึ้น 5.1,5.9 และ 5.5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และได้นำมาใช้เป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการกลายพันธุ์ต่อไป

สำหรับการกลายพันธุ์โดยใช้แสงอุลตราไวโอเลตเป็นการกลายพันธุ์โดยทำให้เกิดไทมีนไดเมอร์(Thymine dimer)ของกรดนิวคลีอิกในดีเอนเอของจุลินทรีย์ บางครั้งจุลินทรีย์สามารถซ่อมแซมให้กลับสู่สภาพเดิมได้ ทำให้สายพันธุ์กลายพันธุ์ที่ได้ไม่เสถียรจึงได้นำเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์มากลายพันธุ์ซ้ำ โดยใช้ NTG อีกครั้งหนึ่ง NTG เป็นสารเคมีที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง เมื่อใช้ในสภาวะที่เหมาะสมโดยเป็นผลระหว่าง เวลา และสภาวะที่ใช้เช่น พีเอช อุณหภูมิ เป็นต้น กับความเข้มข้นของ NTG โดยจะไปมีผลช่วงการคัดลอกดีเอ็นเอ(replication) ทำให้เกิด alkylation ของเบส และเกิดการเปลี่ยน (transition) จากเบส GC (Guanine Cytocine) เป็น AT (Adenine Thymine) (1,8) เก็บเชื้อราที่ได้จากการการกลายพันธุ์ W-6,OCw-1 และ UV4-28 ด้วย NTG จำนวน 465 สายพันธุ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ ศึกษาลักษณะโคโลนีและลักษณะที่ต่างจากสายพันธุ์เดิม ดังตารางที่ 3.9 จากนั้น นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่าสภาวะเดียวกับที่กล่าวข้างต้น ติดตามผลด้วยวิธี TLC และคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงคือให้ค่าความเข้มของจุดกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่น TLC +3 ขึ้นไปไปตรวจวิเคราะห์ซ้ำ ด้วยวิธี HPLC ดังตารางที่ 3.10

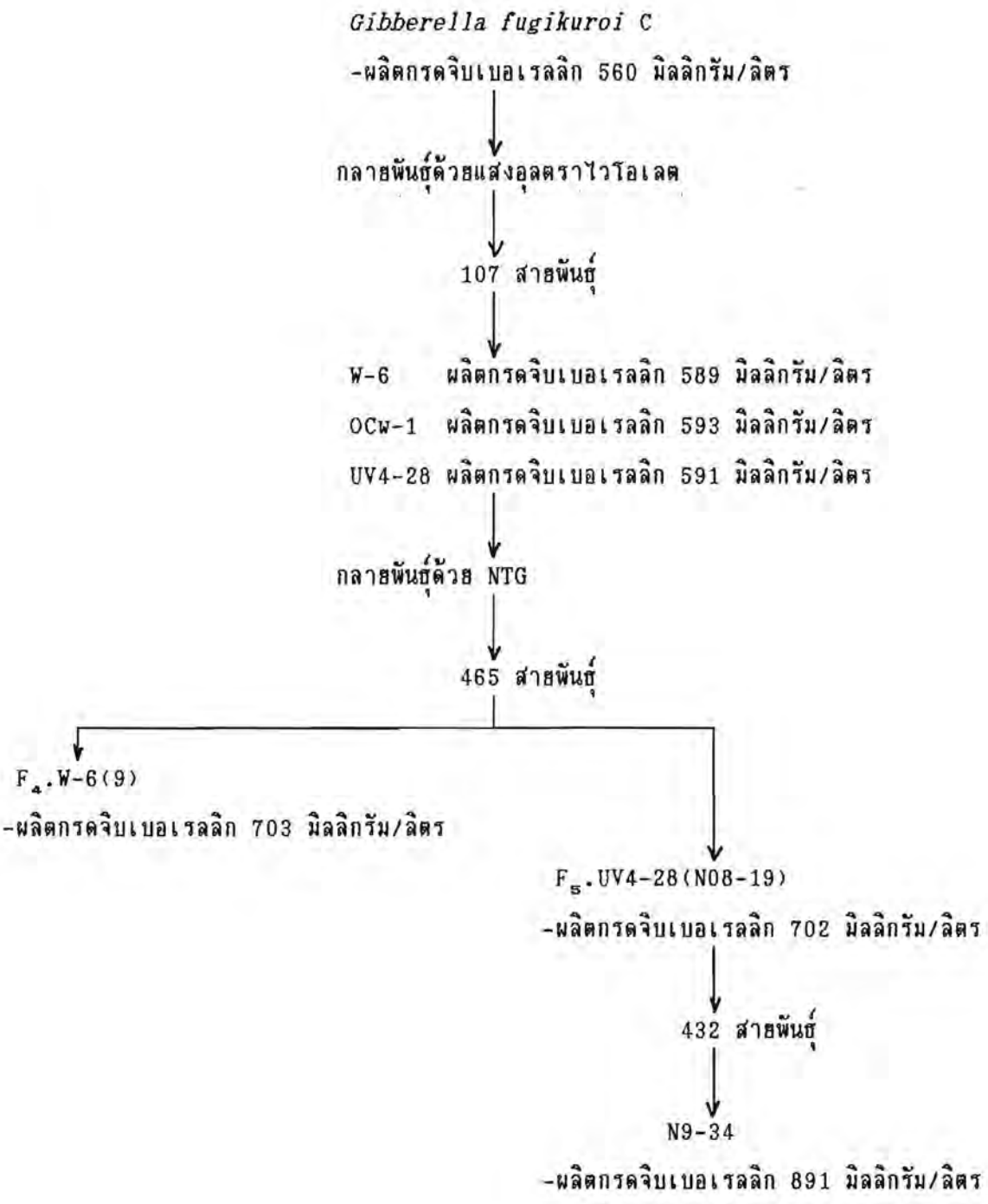
จากผลการทดลองตามตารางที่ 3.10ได้ คัดเลือก สายพันธุ์ ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่า 700 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ 6 สายพันธุ์ มาทดสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกซ้ำอีกครั้งหนึ่ง เทียบกับสายพันธุ์เดิม (C, OCw-1 , W-6 และ UV4-28) ที่สภาวะดังกล่าวข้างต้น ผลการทดลองในตารางที่ 3.11 พบว่า F_8.UV4-28(NO8-19)มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด คือผลิตได้ 772 มิลลิกรัม/ลิตร แต่สายพันธุ์นี้ผลิตไบคาเวอริน (bicarverin) ซึ่งเป็นสารสีแดงเข้มในน้ำหมักไม่เหมาะที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมเนื่องจากสารสีแดงนี้จะเป็นอุปสรรคในขั้นตอนการสกัด และการทำกรดจิบเบอเรลลิกให้บริสุทธิ์ ดังนั้นจึงพิจารณาอีก 2 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตรองลงมา คือ F_4.W-6(9) และ F_8.UV4-28(NO8-19)ซึ่งผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 703 และ 702 มิลลิกรัม/ลิตร ผลิตได้เพิ่มขึ้น 25.5เปอร์เซนต์เมื่อเทียบกับสายพันธุ์เดิม(C) และ F_4.W-6(9)ผลิตได้มากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น W-6 18.5 เปอร์เซนต์ ส่วน F_8.UV4-28(NO8-19)ผลิตได้มากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้นคือ UV4-28 21.0 เปอร์เซนต์

ลักษณะโคโลนีของสายพันธุ์กลายพันธุ์ทั้งสองไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสายพันธุ์เดิม(C) W-6 และ UV4-28 คือ สายใยมีสีขาว ฟู เจริญเติบโตได้ดี สำหรับ F_4.W-6(9) มีการตอบสนองต่อแสงสว่างในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ดี คือผลิตได้ 835 มิลลิกรัม/ลิตร

จึงนำมาปรับปรุงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่า และถังหมักขนาด 5 ลิตรต่อไป ส่วน F_8.UV4-28(NO8-19) มีลักษณะเด่น คือ สร้างสีในอาหารเหลวน้อยมาก จึงนำมาเป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการกลายพันธุ์ด้วย NTG ต่อไป

สายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ F_8.UV4-28(NO8-19)ด้วย NTG ทั้งหมด 432 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะโคโลนีเหมือนสายพันธุ์เดิม คือ สายใยสีขาว ฟู และเมื่อนำมาตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่าโดยเลี้ยงในอาหารเหลวที่สภาวะดังกล่าวข้างต้น ติดตามผลโดยวัดปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกที่ผลิตในเวลา 13 วัน ด้วยวิธี TLC เปรียบเทียบความเข้มของจุดกรดจิบเบอเรลลิกบนแผ่น TLC แล้วเลือกสายพันธุ์ที่ให้ค่าความเข้มบนแผ่นทดสอบมากกว่า +5 มาตรวจวิเคราะห์ซ้ำโดย HPLC พบว่า มี 26 สายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ได้มากกว่า F_8.UV4-28(NO8-19) จึงคัดเลือกสายพันธุ์ที่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงกว่า 820 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 8 สายพันธุ์มาตรวจสอบความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกซ้ำด้วยวิธีเดียวกัน พบว่า มี 4 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน และสายพันธุ์ N9-34 มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด คือ ผลิตได้ 891 มิลลิกรัม/ลิตร ในเวลา 13 วันผลิตได้เพิ่มขึ้น 59.1 เปอร์เซนต์จาก *Gibberella fugikuroi* C , 50.7 เปอร์เซนต์จาก UV4-28 และ 20.90 เปอร์เซนต์จาก F_8.UV4-28(NO8-19)และสายพันธุ์ N9-34 ซึ่งผ่านการกลายพันธุ์และคัดเลือกแล้วนี้จะนำมาปรับปรุงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่าและระดับขยายส่วนต่อไป

ขั้นตอนการดำเนินงานพอสรุปได้ดังนี้



งานที่จะทำต่อไปคือ

1. ปรับปรุงการเตรียมสปอร์ *Gibberella fugikuroi* สายพันธุ์กลายพันธุ์ ส่วนใหญ่สร้างสปอร์ได้น้อย จึงเป็นอุปสรรคอย่างมากในเตรียมหัวเชื้อในขั้นตอนการผลิต การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณสปอร์จะมีประโยชน์มากในการทำงานขั้นต่อไป

2. ปรับปรุงสภาวะเหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของ สายพันธุ์กลายพันธุ์ในระดับขวดเขย่าและขยายส่วนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Sikyta, B.," Genetics of Industrial Microorganism," Method in Industrial Microbiology,pp. 215-226. Ellis Horwood Limited Publisher 1983.
2. Kelhy, S.L.," Industrial Strain Improvement", Biotecnology for Engineers:Biological System in Tecnological Process,(Scragg., ed.) pp. 218-226. Ellis Horwood Limited Publisher.1988.
3. Calam, C.T.," Improvement of Microorganism by Mutation, Hybridization and Selection,"Method in Microbiology(Norris, J.R. and D.W.Ribbons., eds.) Vol 3 A,pp. 435-459. Academic Press, New York.1970
4. Crueger, W and A. Crueger.," Strain Development"Biotecnology: A Texbook of Industrial Microbiology,(Brock,D., ed.)Chap 3.pp.9-15 Science Tech., USA.1984.
5. Alikhanian, S.I.," Induced Mutagenesis in the Selection of Microorganious."Adv. Apl.Microbiol. 4 , 1-50,1962
6. พีรเดช ทองอำไพ " ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย" หน้า 93-132. ไดนามิกการพิมพ์, กรุงเทพมหานคร.2529
7. Shen, N. and F. Chang.," Gibberellins Determination by Spectro photometer using molybdemum blue,"Yaoxue Xuebae. 16(5),397-400,1981
8. Jensen, E.,Crozier, A and A.M. Monteiro.," Analysis of Gibberellins and Gibberellin Conjugates by Im-Suppression Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography,"J.Chromatogr. 367, 377-384,1986.
9. Avalos, J., Casadesus, J. and EC. Olmedo.," Gibberella fugikuroi Mutants Obtained with UV Radiation and N-Meltye-N-Nitro-N-Nitrosoquanidine,"Appl. and Environ.Microbiol. 49, 187-191,1985.

10. TIen,W.,"Isolation of Penicillium chrysogenum Mutants by Mutation and Selection Technique," Proc. Natl. Sci. Counc.ROC (A), 5(4),256-261,1981.

11. Kumur,'P.K.R. and B.K. Lonsane.," Microbial Production of Gibberellins : State of the Art, " Advance in Applied Microbiology, Vol.34, pp. 31-37,Academic press,Newyork,1989.

12. Davies,O.L.,"Screening for Improved mutants in Antibiotic research," Biometrics,20,576-591,1964.

ภาคผนวก

ก อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมแร่ธาตุ (Potato dextrose agar + trace element)
ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	g	
Dextrose	20	g	
Agar	20	g	
Al_2O_3	0.5	g	
$Znce_2$	0.5	g	
$CuSC_4$	0.1	g	
H_2O	1	lit	pH 5.6

ข อาหารเตรียมหัวเชื้อ

Sucrose	100	g	
$(NH_4)_2SC_4$	1.89	g	
Defatted soy bean meal	1.90	g	
KH_2PO_4	5.0	g	
$MgSC_4$ $7H_2O$	1.0	g	
Al_2O_3	0.1	g	
H_2O	1	lit	pH 7.0

ค อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเตรียมหัวเชื้อที่เติม 0.2% น้ำมันพืช