

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ง
Abstract	จ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
สารบัญตารางภาคผนวก ข	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
2.1 จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (Endophytic microorganisms)	4
2.2 การศึกษาแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่สามารถตรึงไนโตรเจน	5
2.3 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล	13
2.4 การตรวจวิเคราะห์ยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล	15
2.5 การหาลำดับเบสของยีน 16S rRNA	17
2.6 กล้ายไม้	20
2.7 ฮอว์โมนพืช	26
2.8 กล้ายไม้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	31
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	33
3.1 การคัดเลือกและพิสูจน์ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในเนื้อเยื่อกล้ายไม้สกุลหวาย	33
3.1.1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน	33
3.1.2 การพิสูจน์ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่พบในเนื้อเยื่อกล้ายไม้พันธุ์เอื้องสายสามสี	35

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ใน เนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย	43
3.2.1 ปลุกถ่ายเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ให้กับกล้วยไม้สกุลหวายที่มาจาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	43
3.2.2 ประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในกล้วยไม้ที่ได้รับการปลูกเชื้อ	44
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	49
4.1 คัดเลือกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน	49
4.1.1. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน	49
4.1.2. การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่พบในเนื้อเยื่อกล้วยไม้ พันธุ์เอื้องสายสามสี	51
4.2 ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในกล้วยไม้และตรวจหาการเข้าอาศัย ภายในเนื้อเยื่อพืช	81
4.2.1 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในกล้วยไม้ที่ได้รับการปลูกเชื้อ	81
4.2.2 การตรวจสอบการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อพืช จากการตัดเนื้อเยื่อพืช โดยวิธีไมโครเทคนิคทางพืช (Plant michotechnique)	85
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	87
เอกสารอ้างอิง	89
ภาคผนวก ก	95
ภาคผนวก ข	102
ประวัติผู้เขียน	103

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงมูลค่าการส่งออกดอกกล้วยไม้สดและราคาเฉลี่ยช่อดอกกล้วยไม้ตกเกรด	2
2 แสดงเนื้อที่ปลูกกล้วยไม้ ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ พ.ศ. 2537-2544	20
3 แสดงผลผลิตเปรียบเทียบทางวิชาการกับของเกษตรกร และแหล่งเพาะปลูกกล้วยไม้	21
4 มาสเตอร์มิกซ์สำหรับปฏิกิริยา PCR	42
5 การเตรียม dehydrating reagents	45
6 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องสายสามสี ด้วยเทคนิค Most Probable Number (MPN)	50
7 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์แต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากเอื้องสายสามสี	51
8 ลักษณะโคโลนิบนอาหารเลี้ยงเชื้อของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องสายสามสี ชนิด anaerobic bacteria	52
9 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอื้องสายสามสี	53
10 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอื้องสายสามสี	59
11 เปรียบเทียบความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอน 4 ชนิด ของเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่แยกได้จากกล้วยไม้พันธุ์เอื้องสายสามสี เทียบกับเชื้อกลุ่มอื่น	60
12 แสดงปริมาณการตรึงไนโตรเจนของเชื้อจุลินทรีย์เอนโดไฟท์ที่ปลูกถ่ายให้กล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์เอื้องสายสามสี ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	82
13 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของเชื้อเอนโดไฟท์กับตำแหน่งการปลูกถ่ายเชื้อให้กับกล้วยไม้	83
14 แสดงปริมาณการตรึงไนโตรเจนของเชื้อจุลินทรีย์เอนโดไฟท์ที่ปลูกถ่ายให้กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	84

สารบัญภาพ

รูป		หน้า
1	แสดงส่วนประกอบของไรโบโซม	15
2	ส่วนประกอบโปรตีนไรโบโซม	16
3	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย	36
4	ขั้นตอนการย้อมสีแกรม	37
5	ลักษณะตัวอย่างของโคโลนีเอื้องสายสามสี แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลท ESS 1, ESS 2, ESS 3, ESS 4 และ ESS 5 (ตามลำดับ)	53
6	ลักษณะเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม anaerobe ที่แยกได้จากกล้วยไม้พันธุ์เอื้องสายสามสี ไอโซเลท ESS 8, ESS 9 และ ESS 10 (ตามลำดับ)	53
7	ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียเมื่อแยกให้บริสุทธิ์โดยการ streak plate	54
8	แสดงลักษณะเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อย้อมสีแกรม	55
9	ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย	55
10	แสดงลักษณะของเซลล์แบคทีเรียเมื่อย้อมติดสีแกรมลบ มีทั้งลักษณะที่เป็นรูปกลม, รูปแท่งกลมสั้นคล้ายรูปไข่ และรูปแท่ง(เรียงตามลำดับ)	56
11	การพัฒนาสีของตัวอย่างที่มีการสร้างสาร indole เมื่อเทียบกับตัวมาตรฐาน	62
12	ลักษณะการย้อมสีเพื่อตรวจสอบเชื้อที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส	63
13	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 1 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Methylobacterium fujisawae</i> .	67
14	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 2 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Friedmanniella spumicola</i>	69
15	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 3 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i>	71
16	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 4 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Chelatococcus asaccharovorans</i>	73
17	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 5 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Chelatococcus asaccharovorans</i>	75
18	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 6 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Chelatococcus asaccharovorans</i>	77

สารบัญภาพ(ต่อ)

รูป	หน้า
19 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไอโซเลท ESS 7 เปรียบเทียบกับเชื้อ <i>Cellulosimicrobium sp</i>	79
20 รูปแสดงความสัมพันธ์ของลำดับเบสระหว่างเชื้อทั้ง 7 ไอโซเลท	80
21 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ของลำดับเบสระหว่างเชื้อทั้ง 7 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรียเอนโคไฟท์ตรึงไนโตรเจน	81
22 เปรียบเทียบการเข้าอาศัยของเชื้อเอนโคไฟท์ ในเนื้อเยื่อพืชของลำต้นกล้วยไม้	85
23 Anaerobic jar ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อในกลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจน	98

สารบัญตารางภาคผนวก ข

ตาราง

หน้า

- 1 ตาราง Analysis of variance ของอัตราเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ
แบคทีเรียในเนื้อเยื่อกล้วยไม้ที่ได้รับการปลูกเชื้อ

102



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved