ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การแยกและการหาลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ตรึงไนโตรเจนในอ้อย

ผู้เขียน นางสาวอัมพิกา เมืองทอง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมจิตร อยู่เป็นสุข อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ศาสตราจารย์ ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อาจารย์ ดร. วสุ ปฐมอารีย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การศึกษาแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ตรึงไนโตรเจนจากส่วนใบ ลำต้น และรากของอ้อยพันธุ์อู่ทอง 3 อ้อยป่า และอ้อยเคี้ยวพันธุ์มะลิชาท รวมทั้งหมด 9 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ได้จำนวน 89 ไอโซเลท โดยใช้อาหาร nitrogen free agar การจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมีบางประการ พบแบคทีเรียลักษณะคล้ายจีนัส *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Xanthobacter*, *Staphylococcus* และ *Bacillus* จำนวน 9, 8, 5, 2, 2 และ 15 ไอโซเลท ตามลำดับ และที่ไม่สามารถระบุจีนัสได้จำนวน 48 ไอโซเลท คัดเลือกแบคทีเรียไอโซเลท *Pseudomonas* (C32ML2), AT3R1, C2HL2, C7HL1 และ C34MR1 ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสค่อนข้างสูงในการทดลองนี้ไว้ศึกษา การตรวจสอบผลของปริมาณ yeast extract ที่ความเข้มข้น 0, 0.005, 0.01 และ 0.05% ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส พบว่าไอโซเลท C2HL2 ที่ทดสอบในอาหาร nitrogen free semi-solid ที่มี yeast extract 0.005% มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสสูงที่สุดเท่ากับ 403.8 nmol C_2H_4/mg protein/h การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียพบว่า yeast extract ปริมาณ 0.005% ที่เติมในอาหาร nitrogen free broth ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียทุกไอโซเลท การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสของยีน 16S rRNA ร่วมกับการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมีบางประการ พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท

AT3R1 และ C7HL1 จัดอยู่ในจีนัส *Ancylobacter* และ *Ochrobactrum* ตามลำดับ แบคทีเรียไอโซเลท C2HL2, C34MR1 และ *Pseudomonas* (C32ML2) จัดอยู่ในสปีชีส์ *Novosphingobium sediminicola*, *Novosphingobium capsulatum* และ *Pseudomonas oryzihabitans* ตามลำดับ

Thesis Title Isolation and Characterization of Endophytic Nitrogen Fixing Bacteria in Sugarcanes

Author Miss Ampika Muangthong

Degree Master of Science (Applied Microbiology)

Thesis Advisory Committee
Asst. Prof. Dr. Somchit Youpensuk — Advisor
Prof. Dr. Benjavan Rerkasem — Co-advisor
Lecturer Dr. Wasu Pathom-aree — Co-advisor

ABSTRACT

Endophytic nitrogen fixing bacteria from leaves, stems and roots of Authong 3, wild and chewing sugarcanes of all nine samples were investigated. Eighty nine isolates of endophytic bacteria were obtained on nitrogen free agar. Some characterizations of morphological and biochemical test were investigated to identify genera of the bacteria. The results showed that they were similar to the genera of *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Xanthobacter*, *Staphylococcus* and *Bacillus* in the number of 9, 8, 5, 2, 2 and 15 isolates, respectively. Forty-eight isolates were unidentified. The bacterial isolates of *Pseudomonas* (C32ML2), AT3R1, C2HL2, C7HL1 and C34MR1 with high nitrogenase activities in this experiment were selected to investigate for further studies. The effect of yeast extract concentrations (0, 0.005, 0.01 and 0.05%) on nitrogenase activity was determined. It was found that the bacterial isolate C2HL2 had the highest nitrogenase activity (403.8 nmol C_2H_4/mg protein/h) in nitrogen free semi-solid with 0.005% yeast extract. Furthermore, nitrogen free broth with 0.005% yeast extract could promote the growth of all bacterial isolates. Analysis of 16S rRNA sequences and morphological and biochemical tests of the bacterial isolates were considered. The results showed that the bacterial isolates of AT3R1 and C7HL1 belonged to the genera of *Ancylobacter* and *Ochrobactrum*,

respectively. Whereas, the bacterial isolates of C2HL2, C34MR1 and *Pseudomonas* (C32ML2) were closely similar to the species of *Novosphingobium sediminicola*, *Novosphingobium capsulatum* and *Pseudomonas oryzihabitans*, respectively.