ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การจำแนกลักษณะทางฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากส้มและศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของส้ม

ผู้เขียน นางสาวยุพา จอมแก้ว

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปฐพีศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง	ประธานกรรมการ
รศ.ดร. สมพร ชุนห์ลือชานนท์	กรรมการ
อ. ดร. วสุ ปฐมอารีย์	กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จาก ใบ กิ่ง และราก ของส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่ปลูกในพื้นที่ ที่กำลังปรับเปลี่ยนเป็นระบบเกษตรอินทรีย์ 3 พื้นที่ ในเขตอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 101 ไอโซเลท โดยแยกได้จากใบ 25 ไอโซเลท จากกิ่ง 33 ไอโซเลท และ จากราก 43 ไอโซเลท มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางเคมี อยู่ใน 7 จีนัส ได้แก่ *Streptomyces, Spirillospora, Nocardia, Nocardioides, Nocardiopsis, Microbispora,* และ *Micromonospora* คิดเป็น 65.35, 4.95, 3.96, 0.99, 3.96, 3.96, 7.92 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ คัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทที่จัดจำแนกได้ 6 ไอโซเลทไปตรวจสอบและวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ และจำแนกชนิดด้วยเทคนิค 16S rDNA Sequencing เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องในการจัดจำแนกสกุล และตรวจสอบเชื้อบางตัวที่ไม่สามารถจัดจำแนกโดยสองวิธีการดังกล่าวข้างต้น พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ไอโซเลท TGsL-02-05 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อในจีนัส *Nocardiopsis* ไอโซเลท TGsR-01-08 และ ไอโซเลท TGsR-02-11 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อในจีนัส *Microbispora* ไอโซเลท TGsR-02-01, ไอโซเลท TGsR-02-17 และไอโซเลท TGsR-02-18 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อในจีนัส *Micromonospora* หลังจากการใช้วิธีการจัดจำแนกดังกล่าวแล้ว ยังคงมีเชื้อที่ไม่สามารถระบุสกุล (unidentified isolates) อีก 8.91 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาศักยภาพของเชื้อในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เมื่อทดสอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความสามารถของเชื้อในการสังเคราะห์ออกซิน โดยการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในอาหารที่มี tryptophan เป็นส่วนประกอบ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ทั้งหมดมีความสามารถในการผลิต IAA 94.34 เปอร์เซ็นต์ โดยจีนัส *Nocardiopsis* ไอโซเลท TGsL-02-05 มีความสามารถในการผลิต IAA มากที่สุด 178.66 mmole/g. of cell นอกจากนี้ยังทดสอบความสามารถในการย่อยละลายฟอสฟอรัส โดยเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในอาหาร Czapek's solution agar พบเชื้อที่สามารถย่อยละลายฟอสฟอรัส ได้ทั้งหมด 80.36 เปอร์เซ็นต์ จีนัส *Nocardia* ไอโซเลทที่ TGsR-02-22 มีค่า clear zone ratio เท่ากับ 2.25 และทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ที่ใช้ในการย่อยละลายเซลลูโลส โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ (CMC) พบเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ทั้งหมด 81.13 เปอร์เซ็นต์ จีนัส *Microbispora* ไอโซเลท TGsR-01-08 มีค่า clear zone ratio เท่ากับ 6.13 ซึ่งมีค่าสูงที่สุด และจากการนำเชื้อทั้งหมด 56 ไอโซเลท มาทดสอบการเข้าอาศัยในกล้าส้ม พบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ทุกไอโซเลท สามารถเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อของรากส้มได้ และจากนั้นคัดเลือกเชื้อสอง ไอโซเลท คือ ไอโซเลท TGsR-02-01 และ ไอโซเลท TGsL-02-05 มาทดสอบศักยภาพในกล้าส้ม พบว่า ทำให้กล้าส้มเจริญเติบโตในด้านความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งได้มากกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้ใส่เชื้อเอนโดไฟท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Phenotypic and Genotypic Characterization of Endophytic Actinomycetes Isolated from Tangerines and Their Potential for Plant Growth Promotion

Author Miss Yupa Chromkaew

Degree Master of Science (Agriculture) Soil Science

Thesis Advisory Committee

Dr. Arawan Shutsrirung	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Somporn Choonluchanon	Member
Lect. Dr. Wasu Pathom-aree	Member

Abstract

Endophytic actinomycetes were isolated from surface sterilized leaves, branches and roots of the healthy tangerines (*Citrus reticulate*) grown in three sites of organic/sustainable orchards in Fang Distric, Chiang Mai Province. A total of 101 isolates were obtained, 25 of them from leaves, 33 from branches and 43 from roots. The morphological and chemotaxonomic methods could classify isolates them in to 7 genera, *Streptomyces* (65.35%); *Spirillospora* (4.95%); *Nocardia* (3.96%); *Nocardioides* (0.99%); *Nocardiopsis* (3.96%); *Microbispora* (3.96%); and *Micromonospora* (7.92%). Six representative isolates were identified using 16S rDNA sequencing and phylogenetic analysis to confirm their genera and examine some isolates that could not be clearly identified by the two methods mentioned. DNA sequences data indicated the similarity of one isolate, TGsL-02-05 to genus *Nocardiopsis*; two isolates, TGsR-01-08 and TGsR-01-11 to genus *Microbispora*; and three isolates TGsR-02-01, TGsR-02-17 and TGsR-02-18 to genus *Micromonospora*. Unidentified isolates were remained after all methods applied and accounted for 8.91%. IAA synthesis and phosphate sulubilizing activity were examined to evaluate the potential of plant growth promotion. Cellulase production was also evaluated. The highest value of IAA synthesis in medium containing

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

tryptophan was obtained from TGsL-02-05 (*Nocardiopsis*) (178.66 µmole/g of cell). Positive phosphate solubilizing activity and cellulase production accounted for 80.36% and 81.13%, respectively. Highest phosphate solubilizing activity was obtained from isolate TGsR-02-022 (*Nocardia*) with the clear zone ratio of 2.25. Isolate TGsR-01-08 (*Microbispora*) gave highest cellulase activity with the clear zone ratio of 6.13. Fifty six isolates were tested for their root infection ability and plant growth promotion using tangerine seedlings. All root samples were infected by each inoculated isolates. Then only two isolate (TGsR-02-21, TGsL-02-05) were selected for tangerine seedlings growth promotion. The results showed that root and shoot growth promotion was observed and the plant hight, fresh and dry weight of shoots and roots were significantly higher in endophyte inoculated-seedlings compared to an uninoculated control ($P \leq 0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved