

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและการสังเคราะห์ไอเอเอของเอนโดไฟท์แบคทีเรียในปทุมมา

**ผู้เขียน** นางสาวนิภาวัลย์ แหมะไชสง

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชสวน

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

รองศาสตราจารย์ ดร.โสระยา ร่วมรังษี ประธานกรรมการ  
รองศาสตราจารย์ ดร.สมพร ชุนห์ลือชานนท์ กรรมการ

### บทคัดย่อ

การรวบรวมเชื้อเอนโดไฟท์แบคทีเรียจากปทุมมาเพื่อการคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพตรึงไนโตรเจนและการสังเคราะห์ไอเอเอเพื่อใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นปทุมมา สามารถแยกเชื้อเอนโดไฟท์แบคทีเรียจากส่วนของใบ กาบใบ หัวใหม่ และรากของพืช ได้ทั้งหมด 13 ไอโซเลท ซึ่งในจำนวนนี้มี 11 ไอโซเลทที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ในปริมาณระหว่าง 0.0200 – 4.2024 นาโนโมลเอทิลีนต่อ  $10^6$  เซลล์ต่อชั่วโมง และเชื้อทั้ง 13 ไอโซเลท สังเคราะห์ไอเอเอ ได้เฉลี่ย 0.0097 - 0.2960 ไมโครลิตรต่อไมโครกรัม โปรตีน เมื่อนำเชื้อที่ตรึงไนโตรเจนได้มากที่สุด 2 ไอโซเลทคือ ECS203 และ ECS204 และเชื้อที่สังเคราะห์ไอเอเอได้มากที่สุด 2 ไอโซเลทคือ ECS202 และ ECL101 ไปปลูกถ่ายให้กับพืชโดยการจุ่มหัวลงในเชื้อเหลวที่มีปริมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าปทุมมาที่ได้รับการปลูกถ่ายเชื้อมีความสูง ความยาวช่อดอก และเส้นรอบวงช่อดอกมากกว่าต้นที่ไม่ได้ปลูกถ่ายเชื้อเมื่อ 50 วันหลังปลูก ในการศึกษาผลของระยะเวลาในการปลูกถ่ายเชื้อและชนิดของเชื้อต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา (กรณีทำให้หัวพันธุ์และวัสดุปลูกปลอดเชื้อ) พบว่าการปลูกถ่ายเชื้อที่เวลา 60 นาทีทำให้ปทุมมามีความสูงมากกว่าที่เวลา 30 นาที และการปลูกถ่ายเชื้อด้วยไอโซเลท ECL101 และ ECS202 ปทุมมามีความสูงมากกว่ากรรมวิธีอื่น ในส่วนของการเจริญเติบโตทางด้านอื่น พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ การปลูกถ่ายด้วยเชื้อไอโซเลท ECS202 นาน 30 นาที ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมของส่วนเหนือดิน

(ใบและกาบใบ) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาในการปลูกถ่ายเชื้อและชนิดของเชื้อต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา (กรณีไม่ทำให้หัวพันธุ์และวัสดุปลูกปลอดเชื้อ) พบว่าการเจริญเติบโตในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นการปลูกถ่ายด้วยเชื้อไอโซเลท ECL101 และ ECS202 ทำให้ปทุมมามีความยาวก้านดอกมากที่สุด การปลูกถ่ายด้วยเชื้อไอโซเลท ECS203 นาน 60 นาที ทำให้พืชมีความเข้มข้นของไนโตรเจนส่วนใต้ดิน (หัวใหม่และราก) สูงที่สุด การปลูกถ่ายด้วยเชื้อไอโซเลท ECS204 นาน 60 นาที ทำให้พืชมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสส่วนใต้ดินสูงสุด และการปลูกถ่ายด้วยเชื้อไอโซเลท ECS203 นาน 30 นาที ทำให้พืชมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมส่วนใต้ดินสูงสุด เชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ทั้ง 4 ไอโซเลท เมื่อนำไปจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค 16S rDNA Sequencing พบว่าลำดับเบสชนิดีโอไทป์ของ ECL101 ใกล้เคียงกับเชื้อ *Sphingomonas* sp. E-(s)-e-D-4(2) ECS202 ใกล้เคียงกับเชื้อ *Glacial ice bacterium* M3C1.8K-TD1 ECS203 ใกล้เคียงกับเชื้อ *Bacillus* sp. WN559 และ ECS204 ใกล้เคียงกับเชื้อ *Brevibacillus borstelensis* strain IPH701

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

**Thesis Title** Nitrogen Fixation and IAA Synthetic Efficiency of Endophytic Bacteria in *Curcuma alismatifolia* Gagnep.

**Author** Miss. Nipawal Hamtisong

**Degree** Master of Science (Agriculture) Horticulture

**Thesis Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Soraya Ruamrungsri Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Somporn Choonluchanon Member

**Abstract**

Collection of endophytic bacteria in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. in order to select high potential N<sub>2</sub>- fixing and IAA synthetic efficiency bacteria for using as growth promoters in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. showed that thirteen endophytic isolates could be obtained from surface sterilized leaves, pseudostem, newrhizome and roots of plant. Of those, 11 isolates were able to fix nitrogen at 0.0200 – 4.2024 nmole C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/ 10<sup>6</sup> cell/hr. All of the isolated bacteria were IAA producer averaging from 0.0097 – 0.2960 µl/µg protein. When the two isolates of high N<sub>2</sub>- fixing bacteria, i.e ECS203 and ECS204 and two isolates of high IAA-producer, i.e. ECS202 and ECL101 were inoculated to plant by dipping rhizome in liquid bacteria with 10<sup>6</sup> cells/ml, the results showed that inoculated plants gave more plant height, spike length and spike circumference than those uninoculated from plants, at 50 days after planting. Effects of inoculated period and isolate types on growth and development ( in case of surface sterilized rhizome and media). showed that inoculation at 60 minutes gave better plant height than at 30 minutes. Inoculates ECL101 and ECS202 gave better plant height than other treatments. However, the other parameters were not significantly different among treatments. Inoculation with ECS202 for 30 minutes resulting in having the highest phosphorus (P) and potassium (K) concentrations in above ground parts (leaves and pseudostem). The effects of inoculation period and isolate types were

studied (in case of non-surface sterilized of rhizome and media). The results showed that plant growth and development were not significantly different among treatments, except the inoculation with ECS101 and ECS202 resulting in yielding more scape length than other treatments. Inoculation with ECS203 for 60 minutes, the highest N concentration in underground parts (new rhizome and roots) were found. Inoculation with ECS204 for 60 minutes, the highest P concentration in underground part was recorded. Inoculation with ECS203 for 30 minutes, yielding the highest K concentration in underground part. The genetical difference of the bacteria by using 16s rDNA technique found that nucleotide base sequences of ECS101 was similar to *Sphingomonas* sp. E-(s)-e-D-4(2), ECS202 was similar to *Glacial* ice bacterium M3C1.8K-TD, ECS203 was similar to *Bacillus* sp. WN559 and ECS204 was similar to *Brevibacillus borstelensis* strain IPH701.