229140

กลุ่มแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแบคทีเรีย KOT และ กลุ่มแบคทีเรีย RN ถูกคัดแยกจากตัวอย่างดิน บริเวณรางรถไฟ จ.นครราชสีมา และบริเวณริมถนนราชดำเนิน ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ KOTLB จากกลุ่มแบคทีเรีย KOT และ แบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ RN402 จากกลุ่มแบคทีเรีย RN ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปราศจากคาร์บอน (CFMM) ที่มีไพรีนความเข้มข้นสุดท้าย 100 มล.ต่อลิตร เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่ามีปริมาณไพรีนเหลืออยู่ 8.77% และ 34.37% ตามลำดับ นอกจากนี้ แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถย่อยสลายฟีแนนทรีนได้ จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16เอส ไรโบโซมอลอาร์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถจำแนกสายพันธุ์ KOTLB และ RN402 ได้เป็นสกุล *Diaphorobacter* และ *Pseudoxanthomonas* ตามลำดับ การเพิ่มดีเอ็นเอของสายพันธุ์ KOTLB และ RN402 ที่สกัดจากอาหารเหลว CFMM ที่เติมไพรีน ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) โดยใช้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อยีนที่ประมวลรหัสหน่วยย่อยแอลฟาของเทอร์มินัลไดออกซิจีเนสของ *Mycobacterium vanbaalenii* สายพันธุ์ PYR-1 (*nidA*) ได้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาดที่คาดหวังคือ 508 bp ผลการทำนายลำดับกรดอะมิโนจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์ PCR พบว่าคล้ายกับ NidA ใน *Mycobacterium* sp. สายพันธุ์ JLS ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายไพรีน การทดลองเซาท์เทิร์นไฮบริไดซ์เซชั่น โดยใช้ผลิตภัณฑ์ PCR ของยีน *nidA* จากแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์เป็นดีเอ็นเอติดตาม พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ มียีน *nidA* อยู่บนเมกะพลาสมิด รายงานนี้คือรายงานแรกที่แสดงว่า แบคทีเรียในสกุล *Diaphorobacter* และ *Pseudoxanthomonas* สามารถย่อยสลายสารประกอบ PAHs ได้ ยิ่งไปกว่านั้น *Diaphorobacter* sp. สายพันธุ์ KOTLB และ *Pseudoxanthomonas* sp. สายพันธุ์ RN402 มียีน *nid* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบ PAHs และตำแหน่งของยีน *nidA* อยู่บนเมกะพลาสมิด

229140

Two bacterial consortia, KOT-consortium and RN-consortium were isolated from the soil samples near the railway Nakorn Ratchasrima province and from roadside of Ratchadumnern Road, Bangkok, respectively. When cultured the purified isolates strain KOTLB from KOT-consortium and RN402 from RN-consortium in carbon free mineral medium (CFMM) supplemented with pyrene to the final concentration 100 mg/l for 20 days, percentage of pyrene remaining were 8.77% and 34.37%, respectively. In addition, both strains could degrade phenanthrene. On the basis of 16S rDNA nucleotide sequence of both strains, the strain KOTLB and RN402 were belong to the genus *Diaphorobacter* and *Pseudoxanthomonas*, respectively. DNA amplification of the strain KOTLB and RN402 which extracted from CFMM supplemented with pyrene by Polymerases Chain Reaction (PCR) with primers specified to gene encoding alpha subunit of terminal dioxygenase of *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 (*nidA*) was conducted. The expected PCR product size was 508 bp. The result exhibited that amino acid sequences of PCR product were similar to NidA of *Mycobacterium* sp. JLS which could degrade pyrene. Southern hybridization by using PCR product of *nidA* from both strains as a probe found that both have *nidA* located on megaplasmid. This is the first report showing that genus *Diaphorobacter* and *Pseudoxanthomonas* could degrade PAHs. Moreover, it also inferred that *Diaphorobacter* sp. KOTLB and *Pseudoxanthomonas* sp. RN402 had *nid* catabolic genes involved in PAHs degradation and the location of *nidA* was on megaplasmid.