

ชื่อโครงการ ศึกษาสภาวะเหมาะสมเพื่อเพิ่มการผลิตกรดอินโดลแอซิดจากแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากข้าวไร่พื้นเมือง

บทคัดย่อ

ไอโซเลท RD4-1-1 เป็นแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่คัดแยกจากข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง สามารถผลิตกรดอินโดลแอซิดได้ 49.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *Curvularia* sp. ที่ 52.14 ± 3.92 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบ 16s rRNA gene และการสร้างลำดับวิวัฒนาการถูกระบุว่าเป็น *Enterobacter cancerogenus* RD4-1-1 ซึ่งถูกคัดเลือกเพื่อเพิ่มการผลิตกรดอินโดลแอซิด หลังการหาสภาวะที่เหมาะสมภายใต้การเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth (NB) ที่ประกอบด้วย 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแอลทริปโตเฟน แมนนิทอล 1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยความเป็นกรดต่าง 6.5 ความเข้มข้นเชื้อ 1 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส 150 รอบต่อนาที นาน 3 วัน แบคทีเรียผลิตกรดอินโดลแอซิดได้เพิ่มขึ้นถึง 161.39 ± 2.52 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ยังสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กรดอินโดลแอซิดที่ผ่านการฆ่าเชื้อได้นานถึง 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กรดอินโดลแอซิดถูกยืนยันจากการสกัดและวิเคราะห์ผ่านโครมาโทกราฟีแผ่นบาง รอยจุดสีของตัวอย่าง RD4-1-1 มีความใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐานกรดอินโดลแอซิดที่ R_f 0.79 และ 0.80 ตามลำดับ นอกจากนี้กรดอินโดลแอซิดจากแบคทีเรียความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลเมื่อทดสอบกับข้าวพันธุ์ กข 31 สามารถแสดงการกระตุ้นต่อรากข้าวได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า *E. cancerogenus* RD4-1-1 สามารถเพิ่มผลผลิตกรดอินโดลแอซิดได้หลังผ่านการหาสภาวะเหมาะสม โดยกรดอินโดลแอซิดที่ได้มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้เพื่อกระตุ้นการเจริญของข้าวพันธุ์ กข 31

คำสำคัญ : แบคทีเรียเอนโดไฟท์ กรดอินโดลแอซิด สภาวะการเลี้ยงแบคทีเรีย *Enterobacter cancerogenus*

Research Title Study on the optimization for increase production of indole acetic acid from bacterial endophyte isolated from indigenous upland rice

Abstract

The RD4- 1- 1 was endophytic bacteria isolated from the indigenous upland rice seed, which produced indole acetic acid (IAA) as 49.21 µg/ml and evaluated against *Curvularia* sp. as 52.14%±3.92. The isolate was selected for increase IAA production, which was identified as *Enterobacter cancerogenus* RD4- 1- 1 by nucleotide sequence of 16S rRNA gene and phylogenetic tree. After optimization, IAA production increased as 161.39±2.52 µg/ml when the Nutrient broth (NB) medium was supplemented with L-tryptophan 500 µg/ml, mannitol 1 % at pH 6.5, 1% of inoculum and incubated at 30 °C, 150 rpm for 3 days. That, the sterile IAA product was stored for 1 month at 4 °C. IAA was confirmed by extraction and subsequent thin layer chromatography analysis. The color spot of RD4-1-1 sample was found to close with a spot of standard IAA with R_f value at 0.79 and 0.80, respectively. Further, IAA of bacteria at 2.5 µM concentration was demonstrated to display stimulatory effect on growth of rice RD 31, which could significantly enhance root emergence of rice over the control treatment. Overall, the results of this study indicate that *E. cancerogenus* RD4-1-1 can produce IAA up-scale after optimization and had potential for stimulatory effect on growth of rice RD 31.

Keywords : Endophytic bacteria, Indole-3- acetic acid, Bacterial culture conditions, *Enterobacter cancerogenus*