

ภาวิณี สุทธิวิริยะ 2553: การคัดแยกแอสคิโนมัยซีทเอนโดไฟต์ที่ผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid และหาชนิดที่เกี่ยวข้อง ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต, Ph.D. 90 หน้า

ศึกษาแอสคิโนมัยซีทเอนโดไฟต์ 57 สายพันธุ์จาก Genetics-Microbiology Kasetsart University (GMKU) Culture Collection พบว่ามีความสามารถในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญของพืช ได้แก่การละลายฟอสเฟต ผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) ผลิตแอมโมเนีย และผลิตไซโตโครฟอร โดยสายพันธุ์ GMKU 103 มีสมบัติครบทั้ง 4 แบบ ขณะที่สายพันธุ์ GMKU 134 ไม่มีสมบัติดังกล่าว เมื่อเลือกสายพันธุ์ที่ผลิต IAA ในระดับสูงคือ GMKU 118 มาหาลำดับเบสบางส่วนของยีน 16S rRNA พบว่าอยู่ในสกุล *Streptomyces* เลือกศึกษายีน amino oxidase ที่มีความคล้ายคลึงกับยีน tryptophane-2-monooxygenase (*iaaM*) ในวิถี Indole-3-acetamide (IAM) ซึ่งเป็นวิถีหนึ่งในการสังเคราะห์ IAA โดยออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ เพื่อเพิ่มปริมาณยีนด้วยวิธีพีซีอาร์และหาลำดับเบสแล้วพบว่า ได้ยีนขนาด 926 คู่เบส แปลเป็นกรดอะมิโนได้ 308 กรดอะมิโน ซึ่งโปรตีนนี้มีความคล้ายคลึงกับ tryptophan-2-monooxygenase ของ *Pseudomonas syringae* pv. tomato T1 (ความเหมือน 46 เปอร์เซ็นต์ ความคล้าย 62 เปอร์เซ็นต์) และ *Agrobacterium tumefaciens* str. C58 (ความเหมือน 22 เปอร์เซ็นต์ ความคล้าย 43 เปอร์เซ็นต์) และคล้ายคลึงกับ amino oxidase ของ *Streptomyces* sp. C (ความเหมือน 79 เปอร์เซ็นต์ ความคล้าย 85 เปอร์เซ็นต์) เมื่อตรวจสอบหน้าที่ของยีนด้วยการทำยีนดิสรัปชันโดยส่งถ่ายพลาสมิด pATT502 (ที่มียีนพีซีอาร์ยีน amino oxidase) เข้าสู่โครโมโซมของ *Streptomyces* sp. GMKU118 โดยอาศัยวิธีคอนจูเกชันต่างสกุล ด้วยสภาวะที่เหมาะสมคือกระตุ้นการงอกของสปอร์ของ *Streptomyces* sp. GMKU 118 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ก่อนทำคอนจูเกชันกับ *E. coli* ET12567 (pUZ8002/pATT502) บนอาหารแข็ง MS ที่มี MgCl<sub>2</sub> 10 มิลลิโมลาร์ เมื่อตรวจสอบการผลิตฮอร์โมน IAA ของสายพันธุ์ก็พบว่ายังคงสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ปกติ จึงเป็นไปได้ว่า *Streptomyces* sp. GMKU118 สังเคราะห์ IAA ผ่านวิถีอื่นที่ไม่ใช่วิถี IAM