อรวรรณ ปิยะบุญ : ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระในระบบนิเวศวิทยาที่ต่างกันของประเทศไทย
(POLYGENETIC DIVERSITY OF FREE-LIVING NITROGEN FIXING BACTERIA ISOLATED FROM DIVERSED ECOSYSTEMS OF THAILAND)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ศ.ดร. นันทกร บุญเกิด, 137 หน้า ISBN

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่แยกจากดินในระบบนิเวศวิทยาที่ต่างกันจาก 3 ภาคของประเทศไทย ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยในแต่ละภาคจะเก็บตัวอย่างดิน 11 พื้นที่ที่มีระบบนิเวศต่าง ๆ กัน การศึกษาปริมาณประชากรของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระโดยวิธี serial dilution จากตัวอย่างดินแล้วนำมาทดสอบเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ไม่มีแหล่งอาหารไนโตรเจนแล้วมีการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ โดยมีการศึกษาดังนี้ 1) ลักษณะรูปร่างและสรีรวิทยา 2) ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน 3) ลักษณะทางชีวเคมี และ 4) การเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี PCR ชนิด *nif* D และ ERIC ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดย้อมติดสีแบบแกรมลบ ส่วนมากเป็นแกรมลบรูปร่างแบบแท่ง 63.51% และแกรมลบรูปร่างแบบแท่งสั้น 36.49% สำหรับประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในช่วงที่กว้างนั่นคือช่วง 9,001-9,500 nmol C_2H_4 /mg protein/day 1 สายพันธุ์, ช่วง 4,001-4,500 nmol C_2H_4 /mg protein/day 2 สายพันธุ์, ช่วง 3,001-3,500 nmol C_2H_4 /mg protein/day 2 สายพันธุ์, ช่วง 2,001-2,500 nmol C_2H_4 /mg protein/day 1 สายพันธุ์, ช่วง 1,001-1,500 nmol C_2H_4 /mg protein/day 7 สายพันธุ์, ช่วง 501-1,000 nmol C_2H_4 /mg protein/day 15 สายพันธุ์, ช่วง 1-500 nmol C_2H_4 /mg protein/day 194 สายพันธุ์ ผลของการศึกษาลักษณะชีวเคมีพบว่าสามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรยตรึงไนโตรเจนอิสระได้ในระดับจีนัส 56 สายพันธุ์ ดังนี้คือ; *Beijerinckia* sp. 16 สายพันธุ์, *Klebsiella* sp. 4 สายพันธุ์, *Azotobacter* sp. 1 สายพันธุ์, *Azomonas* sp. 18 สายพันธุ์ และ *Azospirillum* sp. 17 สายพันธุ์ ผลของการศึกษาการเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี PCR แบบการใช้ primer *nif* D สามารถแบ่งได้ 48 กลุ่มที่แตกต่างกัน และ primer ERIC พบว่ากลุ่มแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระมีความหลากหลายอยู่สูงมาก และไม่พบว่ามีความสัมพันธ์แบบเจาะจงกับระบบนิเวศแต่ละระบบ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา ……..…...
ปีการศึกษา 2543 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ……...…...
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ……
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ……

ORAWAN PIYABOON : POLYGENETIC DIVERSITY OF FREE-LIVING NITROGEN FIXING BACTERIA ISOLATED FROM DIVERSED ECOSYSTEMS OF THAILAND
THESIS ADVISOR : PROFESSOR DR. NANTAKORN BOONKERD,
137 PP. ISBN

Polygenetic diversity of free-living nitrogen fixing bacteria isolated from various ecosystem in Thai soils from 3 regions; North, Central and North Eastern were investigated. The soil samples in each part were collected from 11 different types of ecosystems. The bacteria were cultured on N-free media. Free-living nitrogen fixing bacteria were randomly selected for studying as following: 1) morphological and physiological methods, 2) effectiveness of N_2-fixation, 3) biochemical methods and 4) DNA amplification by using primer such as *nif* D and ERIC. The results indicated that bacterial isolates were gram negative. The majority of strains were gram negative rod shape 63.51% and gram negative short-rod shape 36.49%. Effectiveness of N_2-fixation of bacterial isolates were wide ranges in N_2-fixing efficiency that 1 isolate of 9,001-9,500 nmol C_2H_4/mg protein/day, 2 isolates of 4,001-4,500 nmol C_2H_4/mg protein/day, 2 isolates of 3,001-3,500 nmol C_2H_4/mg protein/day, 1 isolate of 2,001-2,500 nmol C_2H_4/mg protein/day, 7 isolates of 1,001-1,500 nmol C_2H_4/mg protein/day, 15 isolates of 501-1,000 nmol C_2H_4/mg protein/day and 194 isolates of 1-500 nmol C_2H_4/mg protein/day. The results of biochemical assay could be used to identify 56 isolates in genera level as following; *Beijerinckia* sp. 16 isolates, *Klebsiella* sp. 4 isolates, *Azotobacter* sp. 1 isolate, *Azomonas* sp. 18 isolates and *Azospirillum* sp. 17 isolates. DNA characterization by using *nif*D-PCR could separate these bacteria into 48 different groups. By using ERIC-PCR found that free-living nitrogen fixing bacteria were high diversity and were not specific to any each ecosystems.

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา .....
ปีการศึกษา 2543 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....