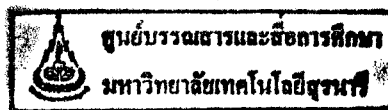
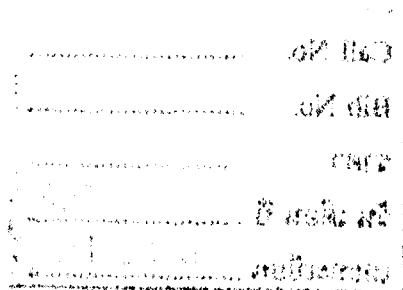


รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางระบบนิเวศ
ต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน
(รหัสโครงการ BRT240001)

อภิธานศัพท์



ศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

โดยการสนับสนุนของ

โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพใน
ประเทศไทย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
(สกว./ศช.-สวทช.)

โครงการ ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางระบบนิเวศต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน
(รหัสโครงการ BRT240001)

คณะผู้วิจัย

1. ศาสตราจารย์ ดร. นันทกร บุญเกิด	หัวหน้าโครงการ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หนึ่ง เตียอำรุง	ผู้ร่วมวิจัย	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
3. ดร. สมศักดิ์ โคตรพงศ์	ผู้ร่วมวิจัย	กรมวิชาการเกษตร
4. ดร. อัจฉรา นันทกิจ	ผู้ร่วมวิจัย	กรมวิชาการเกษตร
5. ดร. สมพร ชุนห์ลือชานนท์	ผู้ร่วมวิจัย	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
6. ดร. เศรษฐา ศิริพิณฑุ์	ผู้ร่วมวิจัย	มหาวิทยาลัยแม่โจ้

โดยการสนับสนุนของ

โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สกว./ศช.-สวทช.)

บทคัดย่อ

ผลการศึกษากำหนดประชากร พลวัตประชากร และระบบนิเวศที่เหมาะสมรวมไปถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากตัวอย่างดินของประเทศไทยในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2540 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2542 โดยประเภทของดินที่เก็บตัวอย่างในแต่ละภาค ได้แก่ บริเวณยอดเขา กลางเขา เขิงเขา พื้นที่ทำการเกษตรที่ปลูกเพียงพืชไร่ พื้นที่นา พื้นที่ปลูกพืชไร่สลับข้าว พื้นที่รกร้างว่างเปล่า ในส่วนของวัตถุประสงค์ที่ต้องการทราบถึงเมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนไปจะมีผลกระทบต่อประชากรจุลินทรีย์เหล่านี้มากน้อยเพียงใด ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ป่า พื้นที่ที่มีการเริ่มเปิดป่าในปีที่ 1-2 พื้นที่ที่เพาะปลูกแล้ว 3 ปี และพื้นที่ที่มีการใช้ปุ๋ยและยากำจัดศัตรูพืชในอัตราสูงอย่างต่อเนื่อง (เช่นแปลงผัก) พบว่าในกลุ่มของไรโซเบียมมีประชากรเฉลี่ยสูงสุดในระบบนิเวศตามธรรมชาติบริเวณเชิงเขา และในระบบนิเวศที่ทำการเกษตรที่มีการปลูกข้าวสลับพืชไร่ตระกูลถั่วของทุกภาค ปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลสำคัญต่อจำนวนประชากรของไรโซเบียม ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น และยังพบว่าพื้นที่บริเวณที่มีพืชตระกูลถั่วจะมีประชากรไรโซเบียมสูง ในขณะที่เดียวกันพบว่าบางพื้นที่ เช่น แปลงผักที่ทำการเก็บตัวอย่างจากบริเวณภาคกลาง บางครั้งพบว่าประชากรไรโซเบียมน้อยมากถึงไม่พบเลยในบางครั้ง ในส่วนของความหลากหลายพบว่าประชากรไรโซเบียมในดินของประเทศไทย ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มจีโนส *Bradyrhizobium* sp. ที่สามารถสร้างปมได้ในถั่วกลุ่ม cow peas มากกว่าถั่วเหลือง และพบว่าในกลุ่มดังกล่าวมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันมาก และบางสายพันธุ์พบว่าสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ตลอดทั้งปีในพื้นที่ใกล้เคียงกันในแต่ละภาคเมื่อทำการศึกษาด้วยเทคนิค RAPD-PCR ในขณะที่จุลินทรีย์กลุ่มไซยาโนแบคทีเรียพบว่าระบบนิเวศที่พบจำนวนประชากรมากที่สุดในทุกภาคคือพื้นที่ปลูกข้าวสลับพืชไร่ ปัจจัยที่มีอิทธิพลสำคัญต่อจำนวนประชากร ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นและอินทรีย์วัตถุ ในส่วนของความหลากหลายพบว่าไซยาโนแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนที่ทำการแยกได้ทั้งหมด เป็นกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นเส้นสายและสร้าง heterocyst โดยที่กลุ่มจีโนส *Anabaena* และ *Nostoc* มีจำนวนมากที่สุดและมีความหลากหลายในระดับสปีชีส์มากที่สุด เมื่อทำการทดสอบยืนยันด้วยเทคนิคการผนวกรวม DAF8.7b, DAF10.6F และ STRR-PCR ในส่วนของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระพบว่ามีการพบประชากรสูงสุดในพื้นที่ที่ทำการเกษตรและพบว่ามีมากกว่าพื้นที่บริเวณภูเขาและบริเวณรกร้างว่างเปล่า นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรโดยภาพรวม ไม่มีผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลมากนักยกเว้นแต่จะพบมากเป็นพิเศษในช่วงฤดูฝน ในส่วนของความหลากหลายพบว่าประชากรส่วนใหญ่ทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยจีโนส *Azospirillum*, *Azomonas* เป็นต้น นอก

จากนี้ ยังพบว่าทั้งสองจีโนมนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ทุกฤดูกาล เมื่อทำการจัดจำแนกตามลักษณะของ ยีน *nifD* เมื่อถูกเพิ่มจำนวนพบว่าสามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้ 48 กลุ่ม และเมื่อนำแต่ละกลุ่มของ *nifD* ไปวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค ERIC-PCR พบว่าความหลากหลายของ แบคทีเรียกลุ่มนี้มีสูงมากทั้งในระดับจีโนมและสปีชีส์

Abstract

The investigation of N₂-fixing microbes was conducted in terms of population number, population dynamics and appropriated habitats as well as their genic diversity. The microbial strains were isolated from various soil samples from the North, Central and North-East of Thailand during July 1997 to November 1999. Site selections in each region were collected from the highest elevation as on the top of mountain, in the middle and at the foot hill of mountain. Soil samples also were collected from the flat area of agricultural practice as field crop cultivation, rice cultivation, rice in rotation with other crops and uncultivated area. For the purpose as what will be occurred to the population of each group of these bacteria upon changing the environment and cropping system. Soil samples were collected from undisturbed forest, forest clearance for crop cultivation for 1, 2 and 3 years and from the areas where intensive agricultural production using high rate of pesticides and fertilizers as vegetable plantation. In case of Rhizobia, it was found that highest population persisted at foot hill of mountain and under the agricultural area of rice in rotation with leguminous plants. The important main factors affecting the population were temperature and moisture. Moreover, the areas under legume plantation were also the appropriate habitat for rhizobia. However, in some areas as vegetable plantation in central was investigated that less amount or non-detectable of rhizobial population was found. It was also found that the dominant native genus was *Bradyrhizobium* sp. which mainly nodulate only cow peas not soybean. When these strains were analysed with RAPD-PCR technique, the results suggested that these group of *Bradyrhizobia* contained closely relations among the group. According to RAPD-PCR technique, some native *bradyrhizobial* strains were also confirmed the persistence ability across the season throughout the year. For cyanobacteria, the suitable ecosystem was rice in rotation with other crops. The important factors affecting the population were temperature, moisture and organic matters. Most of N₂-fixing cyanobacterial strains found in this study were heterocystous form. The dominant genera were *Nostoc* and *Anabaena*. From the results of combination of DAF8.7b, DAF10.6F- and STRR-PCR analyses, they were presented the great diversity among the genus. For the free-living bacterial group, the most suitable area was agricultural area. The population was high under the mountain or forest area. In addition, seasonal changing did not effect to population dynamics except in the rainy season which could promote higher growth. Most of N₂ fixing bacteria were gram negative. The two important genera mainly found were *Azopirillum* and *Azomonas* which were able to persist across the seasons throughout this study. For the biodiversity in this group, very high divergent was found in both of genera and species levels. This was confirmed by analyses of *nif* D-PCR pattern which could be differentiated into 48 different groups. In addition, in each group of *nif* D-PCR pattern was found the high diversity when using ERIC-PCR analysis.

บทนำ