

นิตยวรรณ พงศ์ศิลป์ : ลักษณะทางพันธุกรรมของประชากร BRADYRHIZOBIUM (ทั้งที่สามารถสร้างปมและไม่สามารถสร้างปม) จากแหล่งดินในประเทศไทย (GENETIC STRUCTURE OF INDIGENOUS NON-NODULATING AND NODULATING POPULATIONS OF BRADYRHIZOBIUM FROM THAILAND SOILS)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร. นันทกร บุญเกิด, 145 หน้า ISBN 974-533-034-5

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเรื่องนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของการใช้ inoculants และการปลูกพืชตระกูลถั่วต่อลักษณะทางพันธุกรรมของประชากร *Bradyrhizobium* จากแหล่งดินในประเทศไทย และลักษณะทางพันธุกรรมของไรโซเบียมที่มีความสามารถในการสร้างปมและไม่สร้างปม โดยได้ทำการแยกเชื้อ *Bradyrhizobium* โดยตรงจากแหล่งดินในประเทศไทย (ทั้งจากแหล่งที่มีการใช้ inoculants และแหล่งที่ไม่มีการใช้ inoculants) โดยใช้ BJSM selective medium และพบว่าประชากร *Bradyrhizobium* ในตัวอย่างดินจาก 3 พื้นที่ต่างกัน มีทั้งพวกที่เป็น symbiont และ nonsymbiont จากจำนวนที่แยกได้ 130 ไอโซเลทสามารถแบ่งออกได้เป็น 20 กลุ่ม ตามลักษณะทางเซรุ่มวิทยา และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างแหล่งพื้นที่ของไอโซเลทกับกลุ่มทางเซรุ่มวิทยา การศึกษาในระดับพันธุกรรมใช้เทคนิค rep-PCR DNA fingerprinting (โดยอาศัย repetitive sequences BOXA1R primers), ไฮบริไดเซชันโดยใช้ยีนควบคุมการตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation: *nif*) และการสร้างปม (nodulation: *nod*) เป็นดีเอ็นเอตัดตามและการหาลำดับเบสของ 16S rRNA gene ผลการทดลองพบว่า dendrogram ที่สร้างจาก DNA fingerprint ของเชื้อ 94 ไอโซเลทสามารถแยก symbiont และ nonsymbiont ออกจากกันได้อย่างชัดเจน ทำการทดสอบหายีน *nif* และ *nod* ในตัวแทน symbiont และ nonsymbiont จากแต่ละตัวอย่างดินรวม 24 ไอโซเลท พบว่าผลไฮบริไดเซชันสัมพันธ์กับความสามารถการตรึงไนโตรเจน และการสร้างปม ที่ทำการทดสอบกับพืช เพื่อยืนยันว่า nonsymbiont เป็น *Bradyrhizobium* จึงทำการหาลำดับเบสของ 16S rRNA gene และจากฐานข้อมูลของ Genbank แสดงว่าลำดับเบส 16S rRNA gene ของ nonsymbiont ใกล้เคียงกับ *Bradyrhizobium elkanii* (79%-99%) หรือ *Bradyrhizobium japonicum* (96%-100%).

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

NEELAWAN PONGSILP : GENETIC STRUCTURE OF INDIGENOUS NON-NODULATING AND NODULATING POPULATIONS OF BRADYRHIZOBIUM FROM THAILAND SOILS. THESIS ADVISOR : PROF. NANTAKORN BOONKERD, Ph.D. 145 PP. ISBN 974-533-034-5

The objective of this study is to determine the influence of inoculants and the presence of legume host on genetic structure of nodulating and non-nodulating bradyrhizobial populations in Thailand. *Bradyrhizobium* sp. strains were isolated directly from the inoculated and the uninoculated fields in Thailand by using BJSM selective medium. Both symbiotic and nonsymbiotic isolates were obtained from 3 different locations. A total of 130 indigenous isolates could be divided into 20 somatic serogroups. There was no relationship between the geographical origin of isolates and groups made based on serological reaction. Characterization of the genome at the molecular level was evaluated by rep-PCR DNA fingerprinting using repetitive sequences BOXAIR primer, Southern blot hybridization analysis using *nif* (nitrogen fixation) and *nod* (nodulation) gene probes, and analysis of 16S rRNA gene sequences. The DNA fingerprints from 94 field isolates were used to construct a dendrogram. Results from these studies indicated that the symbionts could be almost totally separated from the nonsymbionts based on DNA fingerprint analysis. Twenty four isolates, including representative symbionts and nonsymbionts from each soil sample, were investigated for the presence of *nif* and *nod* genes by DNA-DNA hybridization, indicated that the positive hybridization signals correlated with the phenotype of nitrogen fixation and nodulation when tested on plants. In order to ascertain whether the nonsymbionts belong to the members of genus *Bradyrhizobium*, partial and nearly full-length sequences of 16S rRNA genes of these isolates were determined. Computer searches of GenBank database revealed that the nonsymbionts were closely related to either *Bradyrhizobium elkanii* (79%-99% identity) or *Bradyrhizobium japonicum* (96%-100% identity).

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....