

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างดิน 2 ลักษณะ ได้แก่ แอบชายฝั่งทะเล และแผ่นดินใหญ่พบว่าจำนวนประชากรของ *Frankia* จากดินทรายแอบชายฝั่งทะเลมีจำนวนของ *Frankia* ที่สร้างปมให้กับสนทะเล และสนประดิพัทธ์ ได้มากกว่าจากดินในแผ่นดินใหญ่ โดยจำนวนปมที่พบเมื่อการทำการปลูกสนทั้งสองชนิด ในดินที่มีปริมาณเท่ากันจากบริเวณชายฝั่งทะเล มีจำนวนปมอยู่ในช่วง 7-370 ปม/ต้น ในขณะที่จากแผ่นดินใหญ่พบจำนวนปมอยู่ในช่วง 0-155 ปม/ต้น จากตัวอย่างที่สุ่มเก็บมาจากปมที่สร้างขึ้นในตัวอย่างดินชนิดต่าง ๆ จำนวน 315 ปม/ต้น สามารถนำมาแยกและเพาะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้เพียง 18 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี ARA (Acetylene Reduction Assay) พบว่าให้ประสิทธิภาพอยู่ในช่วง 40-90 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g-dw/h}$ ในการทดลอง cross inoculation กับสนทั้งสองชนิดของเชื้อ *Frankia* ที่แยกได้พบว่าไม่มีนัยที่บอกลถึง host specificity นั่นคือ *Frankia* ที่แยกได้จากสนทะเล สามารถสร้างปมได้ในสนประดิพัทธ์ โดยให้จำนวนปมไม่แตกต่างกัน และเช่นเดียวกันกับเมื่อนำ *Frankia* จากสนประดิพัทธ์ปลูกลงไปบนสนทะเล

จากผลการทดลองทาง DNA พบว่า *Frankia* ในดินประเทศไทยน่าจะมีหลากหลายสูงมาก โดยดูจากจำนวนตัวอย่างที่สุ่มมา และสามารถเพิ่มจำนวนได้ 29 ตัวอย่าง ไม่มีตัวอย่างใดที่ให้แถบ DNA เป็นแบบเดียวกันเลย เมื่อทำการตรวจสอบจาก BOX-PCR เทคนิค และ Dendogram ที่ได้จากการทำ BOX-PCR นี้ไม่สามารถบอกลถึงความสัมพันธ์ของ *Frankia* กับแหล่งอาศัยได้ จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่าง *Frankia* มาอ่านลำดับเบสของยีนชุด 16S rRNA พบว่า *Frankia* ที่แยกได้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ซึ่ง *Frankia* บางสายพันธุ์มีความใกล้เคียงกับ *Frankia* ที่แยกได้จากพืช *Alnus viridis* มากกว่าบางสายพันธุ์ที่แยกได้จากสนทะเล (ที่รวบรวมไว้ใน Genbank) ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ลำดับของ *nifH* gene พบว่า *Frankia* ที่แยกได้จากการทดลองครั้งนี้แยกได้ 2 กลุ่ม ซึ่งคล้ายกับ Phylogenetic tree ที่ได้จากลำดับเบสของ 16S rDNA กลุ่มที่แรกจะมีลำดับเบสของ *nifH* gene ใกล้เคียงกับ *Frankia* ใน Genbank (*Frankia* sp. Nodule FE37 : 0.36252) ในขณะที่อีกกลุ่มจะมีความคล้ายกับ *Frankia* สายพันธุ์อื่น ๆ ตัวอย่างที่ได้จากกลุ่มนี้ เช่น นครสวรรค์ ชุมพร ระยอง กระบี่ และประจวบคีรีขันธ์ จากผลการศึกษาครั้งนี้สิ่งที่แสดงให้เห็นชัดเจน คือ ดินในประเทศไทยมีความหลากหลายของ *Frankia* ที่สร้างปมและตรึงไนโตรเจนให้กับสนทะเล และสนประดิพัทธ์สูงมาก แสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตร และสร้างองค์ความรู้ของ *Frankia* ให้มากขึ้น

Abstract

In order to investigate the population of *Frankia*, the soil samples were collected from both main land and coast sites in Thailand. The population numbers of *Frankia* isolated from coast sites generally showed higher amount than that of mainland sites. The nodule numbers from both *Casuariana equisetifolia* and *C. junghuniana* when trapped in both soil types were also investigated. The amount of nodules formed in soil sample from coast sites was in the range between 7-370 nodules while from mainland sites was 0-155 nodules.

The 315 nodules were obtained from various soil samples, only 18 isolated could be cultured. The nitrogenase activity (on the basis of Acetylene Reduction Assay : ARA) from these isolates was in the range between 40-90 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g-dw/h}$. The cross inoculation between both *Casuarianas* was conducted. The results suggested that host specificity was not significantly observed. In order to, investigate the biodiversity of *Frankia* on basis of DNA technique, BOX-PCR technique was used. The results demonstrated that among 29 nodule samples, their DNA fingerprints were different. When the dendogram was generated along with their DNA fingerprint, the relationship between *Frankia* strain and habitat was not found.

When *Frankia* strains were analyzed on the basis of 16S rDNA, they could be divided into 2 main subgroups. Some strains showed more closely related to *Alnus viridis* Frankia than those of isolated from *C. equisetifolia*. On the other hand, when *nifH* regions were sequenced, it was also found 2 subgroups. The first subgroup was closely related to *Frankia* sp. Nodule FE37:0.36252 while the another subgroup showed similarity with other Frankia strains collected from Nakhonsawan, Chumporn, Rayong, Krabi and Prajuabkirikhan provinces. From this study demonstrated the high diversity of *Frankia* as well as the potential to sue in agriculture practical.