บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

การทดลองวิจัยพบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุในดินไม่มีผลต่อปริมาณของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชัน ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดินที่พบแบคทีเรียในกลุ่มดีไนทริฟายเออร์ พบว่าสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชัน คือ อยู่ในช่วงพีเอช 6.47 – 7.26 (Alexander, 1997)

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชัน พบว่ามีจำนวนถึง 16 ไอโซเลต จัดอยู่ใน 6 สกุล คือ *Pseudomonas Alcaligenes Burkholderia Agrobacterium Corynebacterium* และ *Micrococcus* โดยสกุลที่พบมากที่สุด คือ *Agrobacterium* ซึ่งมีจำนวนถึง 8 ไอโซเลต

เมื่อนำแบคทีเรียทั้งหมด 211 ไอโซเลต มาเลี้ยงในอาหาร nitrate agar เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตในภาวะไร้ออกซิเจน พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 49 ไอโซเลต ที่สามารถเจริญบน nitrate agar ในภาวะไร้ออกซิเจนได้ โดยเป็นไอโซเลตเดียวกับที่ได้ทดสอบเบื้องต้นแล้วว่ามีคุณสมบัติในการเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชันจำนวน 7 ไอโซเลต ส่วนที่เหลือจำนวน 9 ไอโซเลต ไม่สามารถเจริญได้

เมื่อนำแบคทีเรียทั้งหมดที่มีคุณสมบัติในการเกิดกระบวนการดีไนทริฟิเคชันมาทดสอบความสามารถในการลดปริมาณไนเทรตในอาหาร nitrate broth พบว่าทุกแบคทีเรียทุกไอโซเลตสามารถลดปริมาณไนเทรตได้ แต่ประสิทธิภาพแตกต่างกันไป โดยแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต คือ *Pseudomonas aeruginosa* (B11-3) *Acaligenes xylosoxydans* (C11-5) *Corynebacterium propinquum* (A31-18) และ *Agrobacterium radiobacter* (C32-2) สามารถลดปริมาณไนเทรตได้เร็วและไม่มีการสะสมไนไทรต์ แบคทีเรีย 1 ไอโซเลต คือ *Burkholderia cepacia* สามารถลดปริมาณไนเทรตได้ช้าและไม่มีการสะสมไนไทรต์ ส่วนอีก 11 ไอโซเลต สามารถลดปริมาณไนเทรตได้ช้าและมีการสะสมไนไทรต์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ 2 คู่ คือ nirK1F-nirK5R และ nirS1F-nirS6R พบแถบดีเอ็นเอขนาดเป้าหมายของทั้ง 2 ยีน คือ 514 bp และ 890 bp ตามลำดับ ผลการศึกษาพบยีน *nirK* ในแบคทีเรีย 9 ไอโซเลต คือ *Acaligenes xylosoxydans* (C11-5) และ *Agrobacterium radiobacter* (C22-18, C23-1, C23-5, C23-15, C32-2, C32-7, C32-13 และ C33-1) และยีน *nirS* ในแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต คือ *Pseudomonas aeruginosa* (B11-4), *Corynebacterium propinquum* (A31-18) และ *Micrococcus lylae* (C32-5 และ C32-6) ส่วนอีก 3

ไอโซเลต คือ *Pseudomonas aeruginosa* (C22-5), *Burkholderia cepacia* (C22-14) และ *Pseudomonas stutzeri* (C22-24) พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 2 คู่นี้ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอขนาดเป้าหมายได้

ในแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตที่คัดเลือกได้พบว่ามียีน *nir* เพียงยีนใดยีนหนึ่งเท่านั้น ไม่พบว่ามีทั้งสองยีนนี้อยู่พร้อมกัน ในการวิจัยนี้ยังพบอีกว่าแบคทีเรียบางไอโซเลตมีแถบดีเอ็นเอที่ไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific band) เกิดขึ้นด้วย

ผลการวิเคราะห์ RFLP สามารถจัดกลุ่มแบคทีเรียที่มียีน *nirK* ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ *Alcaligenes xylosoxidans* และ *Agrobacterium radiobacter* ในส่วนของ *Agrobacterium radiobacter* สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มย่อย สำหรับการจัดกลุ่มของแบคทีเรียที่มียีน *nirS* พบว่าสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ตามสกุล นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ RFLP ของยีน *nirK* และ *nirS* ในแบคทีเรียกลุ่มนี้ ยังมีความสัมพันธ์กับการจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยการทดสอบทางชีวเคมีในระดับสกุลด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย