T134536

การศึกษาการจัดกลุ่ม *Bradyrhizobia* สายพันธุ์พื้นเมืองในภาคเหนือของไทยจำนวน 60 ตัวอย่าง ด้วยการเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ไพร์เมอร์ที่จับลำดับเบสที่พบซ้ำๆกันในจีโนมสองชนิด คือ repetitive extragenic palindromic elements (REP) และ enterobacterial repetitive intergenic consesus (ERIC) เป็นแม่แบบในการทำ polymerase chain reaction (PCR) พบว่าดีเอ็นเอที่เตรียมด้วยวิธีการแบบง่ายๆ ด้วยการใช้ Tween และการต้ม สามารถใช้เป็นแม่แบบในการทำ PCR ได้ การเปรียบเทียบเดนโดรแกรมที่ได้จากเทคนิค REP- และ ERIC-PCR พบว่าผลการจัดกลุ่มที่ได้จากเทคนิคทั้งคู่ไม่ค่อยสอดคล้องกันมากนัก อย่างไรก็ตามเมื่อรวมข้อมูลที่ได้จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอทั้งสองแบบสามารถใช้จัดกลุ่มและหาเอกลักษณ์ของ *Bradyrhizobia* สายพันธุ์พื้นเมืองและสายพันธุ์อ้างอิงทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองได้ ผลการจัดกลุ่มโดยใช้ข้อมูลร่วม REP - และ ERIC-PCR โดยใช้วิธีการจัดกลุ่มแบบ unweighted pair group method using arithmetic average (UPGMA) ซึ่งให้เดนโดรแกรมที่มีความน่าเชื่อถือที่สุดในการทดลองสามารถจัดกลุ่มเชื้อออกเป็นเจ็ดกลุ่ม และเป็นวิธีเดียวที่ให้ผลการจัดกลุ่มซึ่งค่อนข้างสัมพันธ์กับลักษณะทางกายภาพ คือ สมบัติทางซีโรโลยี และการสร้าง indole acctic acid (IAA) *Bradyrhizobium elkanii* สายพันธุ์อ้างอิง USDA 31 และเชื้อตัวอย่างส่วนมากที่มีลักษณะทางกายภาพสัมพันธ์กับ *B. elkanii* คือ ให้ผลบวกกับ USDA 31 antiserum และ สร้าง IAA ได้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 2 7 และ 5 ซึ่งมีสมาชิกเพียงตัวอย่างเดียวคือ NA6371 สำหรับ *B. japonicum* สายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ คือ USDA 110 USDA 122 และ USDA 123 และเชื้อตัวอย่างส่วนมากที่ไม่สร้าง IAA ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 3 4 และ 6 อย่างไรก็ตามพบว่าตัวอย่างเชื้อบางสายพันธุ์ไม่สามารถถูกจัดกลุ่มตามลักษณะทางกายภาพเพียงอย่างเดียวต้องใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอประกอบ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลทางกายภาพและพันธุกรรมทั้งหมด คือ แหล่งที่มา ชนิดของพืชอาศัย สมบัติทางซีโรโลยี การสร้าง IAA และผลการจัดกลุ่มด้วยเทคนิค REP- และ ERIC-PCR ร่วมกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อ *Bradyrhizobium* พบว่าแต่ละกลุ่มประกอบด้วยสมาชิกเป็นตัวอย่างเชื้อที่มีแหล่งที่มา และหรือพืชอาศัยที่ต่างกัน และผลดังกล่าวสนับสนุนว่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของ *Bradyrhizobium* ไม่สอดคล้องกับแหล่งที่มา ชนิดของพืชอาศัย และลักษณะทางกายภาพเสมอไป

Classification of 60 native *Bradyrhizobia* isolated from northern Thailand was performed by comparison of DNA fingerprints obtained by polymerase chain reaction (PCR). Primer pairs using in PCR reactions were directed to two types of repetitive sequences , repetitive extragenic palindromic elements (REP) and enterobacterial repetitive intergenic consesus (ERIC). The results showed that the genomic DNA prepared by a simple (Tween-boiling) method could be used as templates for PCR. The dendrograms derived from REP- and ERIC-PCR were dissimilar. However, when REP- and ERIC-PCR fingerprint data were combined, they could classify and identify all native *Bradyrhizobial* strains and reference strains used in this study. The clustering analysis using combined DNA fingerprinting data with unweighted pair group method using arithmetic average (UPGMA) method gave the most reliable dendrogram. All isolates could be grouped into 7 clusters. And only this method showed a grouping profile that related to their phenotypic characters, serological properties and capabilities of indole acetic acid (IAA) production. The reference strain of *Bradyrhizobium elkanii* (USDA 31) and most of the isolates that had the same phenotypic characterization as *B. elkanii*, i.e. having positive reaction with USDA 31 antiserum and capable of synthesizing IAA, were classified into cluster 1, 2, 7 and 5 that had only one isolate, NA6371. The three reference strains of *B. japonicum* (USDA 110, USDA 122 and USDA123) and most of the isolates incapable producing IAA were grouped into cluster 3, 4 and 6. It should be noted that some of bacterial isolates could not be grouped according to their phenotypic characters alone but in combination with DNA fingerprints data. All phenotypic and genotypic data available (geographic origin, host plant specificity, serological properties, IAA synthesis and clustering analysis by REP- and ERIC-PCR genomic fingerprints) were extensively examined together in order to reveal information on biodiversity of *Bradyrhizobia* . The result indicated that each cluster was shared by isolates which had different geographic origins and/or host plants, suggesting that the genetic relationship of *Bradyrhizobium* be not absolutely dependent of geographic origin, host plant specificity and phenotypic characters.