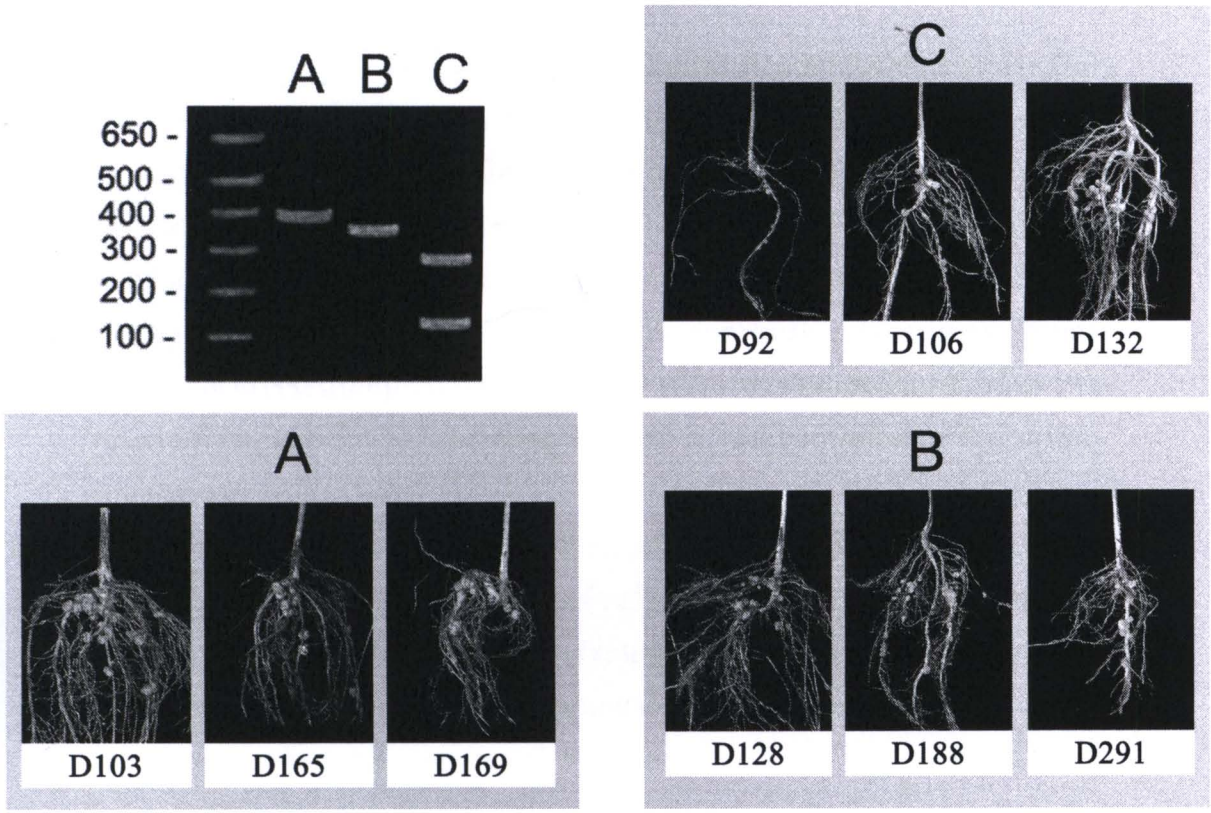
5. วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังจากการใช้วิธีพีซีอาร์โดยใช้ *nodY*F และ *nodY*R เป็นไพรเมอร์เพิ่มจำนวนชิ้นส่วน *nodY* ของไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้าที่แยกจาก 15 ตำบลใน 3 อำเภอ ในจังหวัดพิษณุโลก (อ.ชาติตระการ อ.บางระกำ อ.พรหมพิราม) จำนวน 58 สายพันธุ์ที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอต่างกัน สามารถใช้รูปแบบการเรียงตัวของแถบดีเอ็นเอของชิ้นส่วนระหว่าง *nodD1* และ *nodA* หรือ RFLPs แบ่งไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้าออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มี RFLP แบบ A ซึ่งมีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 395 กิโลเบสที่ไม่มีบริเวณที่เรสทริกชั่นเอ็นไซม์ *sphI* ตัด และกลุ่มที่มี RFLP แบบ B ซึ่งมีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 350 กิโลเบส ที่ไม่มีบริเวณที่เรสทริกชั่นเอ็นไซม์ *sphI* ตัด และกลุ่มที่มี RFLP แบบ C ซึ่งประกอบด้วยไรโซเบียมถั่วเหลืองซึ่งผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มีบริเวณที่เรสทริกชั่นเอ็นไซม์ *sphI* ตัดได้จำนวน 1 แห่ง ทำให้ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอหลังการทำ agarose gel electrophoresis จำนวน 2 แถบได้แก่ ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 120 และ 275 คู่เบส ไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้าทั้ง 3 กลุ่ม มีประสิทธิภาพในการเข้าสร้างปมในระดับต่ำ (1-10 ปมต่อต้น) ถึงระดับปานกลาง (11-20 ปมต่อต้น) ดังตัวอย่างผลการทดลองสรุปในรูปที่ 19 ผลการทดลองไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบ RFLPs กับศักยภาพการเข้าสร้างปมและศักยภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า ซึ่งหาโดยการใช้น้ำหนักแห้งของลำต้น ในปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่ของดีเอ็นเอซึ่งอยู่ระหว่าง *nodD1* และ *nodA* ซึ่งได้แก่ *nodY* ในไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า ดังนั้นผลการทดลองที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบ RFLPs ของ *nodY* กับศักยภาพการเข้าสร้างปมและศักยภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า อาจชี้ให้เห็นว่า *nodY* อาจไม่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเข้าสร้างปมและกระบวนการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า อย่างไรก็ตาม ผลการจำแนกชนิดไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้าโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA ตามที่รายงานโดยณิชานันท์ กาบเกษรและกาญจนา ชาญสง่าเวช (2552) พบว่าสายพันธุ์ D388 คือ *Bradyrhizobium japonicum* สายพันธุ์ HMS 02 ซึ่งในรายงานการวิจัยนี้พบว่า มี RFLP แบบ A สายพันธุ์ D361, D373, และ D481 คือ *Bradyrhizobium japonicum* สายพันธุ์ USDA 110 ซึ่งในรายงานการวิจัยนี้พบว่า มี RFLP แบบ B และ สายพันธุ์ D467 คือ *Bradyrhizobium liaoningense* สายพันธุ์ LYG2 ซึ่งในรายงานการวิจัยนี้พบว่า มี RFLP แบบ C ดังนั้นจึงอาจทำการทดลองต่อไปโดยใช้ไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้าส่วนที่เหลือ ในการหารูปแบบการเรียงตัวของแถบดีเอ็นเอของ *nodY* หลังจากตัดด้วยเรสทริกชั่นเอนไซม์ *sphI* เพื่อใช้รูปแบบ RFLP ของ *nodY* ระบุความหลากหลายของไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า



รูปที่ 19 ตัวอย่างไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า (D103, D165 และ D169) ที่มี RFLP แบบ A ซึ่งมีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 395 กิโลเบสที่ไม่มีบริเวณที่เรสทริกชั่นเอ็นไซม์ *sphI* ตัด และไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า (D128, D188, และ D291) ที่มี RFLP แบบ B ซึ่งมีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 350 กิโลเบสที่ไม่มีบริเวณที่เรสทริกชั่นเอ็นไซม์ *sphI* ตัด และไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้า ที่มี RFLP แบบ C (D92, D106, และ D132) ซึ่งผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มีบริเวณที่เรสทริกชั่นเอ็นไซม์ *sphI* ตัดได้จำนวน 1 แห่ง ทำให้ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอหลังการทำ agarose gel electrophoresis จำนวน 2 แถบได้แก่ ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 120 และ 275 คู่เบส ไรโซเบียมถั่วเหลืองประเภทเพิ่มจำนวนช้าที่มี RFLP แต่ละรูปแบบมีประสิทธิภาพในการเข้าสร้างปมระดับต่ำ (1-10 ปมต่อต้น) ถึงระดับปานกลาง (11-20 ปมต่อต้น)