

ชื่อเรื่อง	อนุกรมวิธานของแบคทีเรียรูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะแอโรบิก แยกจากดินป่าไม้ของอุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน
ผู้วิจัย	กฤษณา พุกอินทร์
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย สุ่มประดิษฐ์
กรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.รสริน ว่องวิไลรัตน์
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2553
คำสำคัญ	แบคทีเรียรูปท่อนสร้างเอนโดสปอร์ อนุกรมวิธานแบบนิวเมอริคัล ARDRA

### บทคัดย่อ

แบคทีเรียรูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะแอโรบิก (aerobic endospore-forming rod bacteria) มีความหลากหลายทางชีวภาพระดับสูงในแหล่งอาศัยตามธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ของสารอาหารและปัจจัยเกื้อหนุนการเจริญ เช่น ดิน แบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ คือ เป็นผู้ย่อยสลายซากพืชซากสัตว์และอินทรีย์วัตถุชนิดต่างๆ ทำให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารสำคัญที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด และคงความสมดุลของระบบนิเวศ เป็นที่ทราบดีว่าแบคทีเรียรูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะแอโรบิก สามารถสร้างสารเมตาบอไลซ์ปฐมภูมิและทุติยภูมิหลายชนิดที่มีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม การแพทย์ การเกษตร และสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามการศึกษาอนุกรมวิธานของแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ โดยเฉพาะดินในเขตพื้นที่อนุรักษ์เช่น อุทยานแห่งชาติ และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าของประเทศไทย ยังไม่มีข้อมูลปรากฏทั้งที่ดินในแหล่งอาศัยข้างต้นได้รับการคาดคะเนว่ามีความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ในระดับสูง โดยเฉพาะแบคทีเรียรูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะแอโรบิก ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้ นอกจากจะได้รับข้อมูลด้านความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ของประเทศไทยครั้งแรกอย่างเป็นระบบตามหลักอนุกรมวิธานแบบนิวเมอริคัล และระดับโมเลกุลของแบคทีเรีย ยังได้รับสายพันธุ์ใหม่ของแบคทีเรียรูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะแอโรบิกที่สามารถนำไปศึกษาวิจัยด้านต่างๆ ต่อไป รวมถึงการประยุกต์ใช้ทางเทคโนโลยีชีวภาพด้านต่างๆ จากผลการวิจัยสามารถคัดแยกแบคทีเรียรูปท่อน สร้างเอนโดสปอร์ เจริญในสภาวะแอโรบิก จำนวน 183 สายพันธุ์ จากตัวอย่างดินป่าดิบแล้งของอุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน โดยวิธี dilution plate count ร่วมกับเทคนิค heat treatment และจัดจำแนกแบคทีเรียตามหลักการอนุกรมวิธานแบบนิวเมอริคัล โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ simple matching ( $S_{SM}$ ) และจัด

กลุ่มข้อมูลด้วย unweighted pair-group method (UPGMA) เลือกค่า species cut-off line จากเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 83 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการจัดกลุ่มด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา คือ amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) โดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ Dice ( $S_D$ ) และจัดกลุ่มข้อมูลด้วย UPGMA โดยใช้ค่า species cut-off line จากเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 90 เปอร์เซ็นต์ จากผลการจัดจำแนกแบคทีเรียที่คัดแยกได้พบ *Bacillus cereus* และสปีชีส์ใกล้เคียง จำนวน 58 สายพันธุ์ *B. megaterium* จำนวน 28 สายพันธุ์ *B. mycoides* จำนวน 13 สายพันธุ์ *B. simplex* จำนวน 40 สายพันธุ์ *Paenibacillus polymyxa* จำนวน 15 สายพันธุ์ และ *Lysinibacillus fusiformis* จำนวน 29 สายพันธุ์



Title TAXONOMY OF AEROBIC ENDOSPORE-FORMING ROD BACTERIA  
ISOLATED FROM FOREST SOIL OF KAENG KRACHAN NATIONAL  
PARK

Author Grissana Pook-In

Advisor Assistant Professor Tawatchai Sumpradit, Ph.D.

Co - Advisor Associate Professor Rosarin Vongwilairat, Ph.D.

Academic Paper Thesis M.S. in Microbiology, Naresuan University, 2010

Keywords Endospore-forming bacteria, Bacterial identification, ARDRA

#### ABSTRACT

Aerobic endospore-forming rod bacteria are the highly diverse group of prokaryotic microorganisms inhabiting in natural habitats such as soil that contains certain kinds of nutrients for their growth. They play an important role in the ecosystem as the major saprophyte or the organic decomposer to make the nutrient cycling that is essential to growth of living organisms and ecological balances. They also produce many kinds of primary and secondary metabolites applied to different fields of biotechnological application, including industry, medicine, agriculture and environment. However, taxonomic studies of aerobic endospore-forming rod bacteria in the nutrient-rich forest soils of all of national park and wildlife sanctuary in Thailand expected as the high biological diversity of living forms were limited and could not find the taxonomic data of these bacterial groups on the basis of numerical and molecular approaches. In this study, the data of biological diversity of aerobic endospore-formers were not only generated, but also many novel bacterial strains were collected. Additionally, they might be considered as the high potential strains for biotechnological applications. From the results obtained, a total of 183 strains of aerobic endospore-formers were isolated from soil samples collected from many sites of the dry evergreen forest in Kaeng Krachan National Park by dilution plate count and heat treatment. They were identified on the basis of numerical taxonomy and amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA). Based on simple matching coefficient ( $S_{SM}$ ) and unweighted pair-group method

(UPGMA) at 83 % similarity inferred as the species cut-off line value in numerical approach, and the Dice coefficient and UPGMA at 90 similarity, 183 strains of aerobic endospore-formers were identified as 6 species, including *Bacillus cereus* and relatives (58 strains), *B. megaterium* (28 strains), *B. mycoides* (13 strains), *Paenibacillus polymyxa* (15 strains) and *Lysinibacillus fusiformis* (29 strains).

