

**ASSESSING MICROBIAL DIVERSITY FROM LOCAL SOIL  
ENVIRONMENTS AT MAHIDOL UNIVERSITY, SALAYA  
CAMPUS AND BOR KHLUENG HOT SPRING, RATCHABURI**

**SUPAVADEE CHANAPAN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(MOLECULAR GENETICS AND GENETIC ENGINEERING)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2004**

**ISBN 974-04-4506-3  
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การประเมินความหลากหลายของจุลชีพในดินบริเวณมหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลา  
ยา และบ่อน้ำร้อนบ่อคลึง จังหวัดราชบุรี (ASSESSING MICROBIAL DIVERSITY FROM  
LOCAL SOIL ENVIRONMENTS AT MAHIDOL UNIVERSITY, SALAYA CAMPUS AND  
BOR KHLUENG HOT SPRING, RATCHABURI)

สุภาวดี ชนะพาล 4436426 MBMG/M

วท.ม. (อนุพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กุศล ภูธนกิจ, Ph.D., ลีลี่ เอื้อวิไลจิตร, Ph.D.,  
วิภา จิงจตุพรชัย, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

จากการศึกษาการประเมินความหลากหลายของจุลชีพ (microorganisms) ในดินบริเวณ  
มหาวิทยาลัยมหิดล (วิทยาเขตศาลายา) และบ่อน้ำร้อนบ่อคลึง จ.ราชบุรี โดยการวิเคราะห์ลำดับ  
เบสของยีน 16S rRNA (16S rDNA sequence) โดยสกัด ดีเอ็นเอ (DNA) จากดิน เพิ่มจำนวนยีน 16S  
rRNA โดยใช้ universal primer ที่จำเพาะต่อ แบคทีเรีย (*Bacteria*) หรือ *Archaea* จากนั้น โคลนยีนที่  
ได้เข้าใน เวกเตอร์ pGEM-T Easy และหาลำดับเบสของยีน แล้วเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับ  
ลำดับเบสในฐานข้อมูลและสร้าง phylogenetic tree พบว่า ดินในบริเวณวิทยาเขตศาลายามีความ  
หลากหลายของแบคทีเรียต่ำ ซึ่งพบว่า โคลนทั้งหมดอยู่ในกลุ่ม *Gammaproteobacteria* ส่วน  
*Archaea* พบว่ามี 2.5% ของโคลนที่ศึกษา กระจายตัวอยู่ในกลุ่ม *Euryarchaeota* และ 87.5% อยู่ใน  
กลุ่ม *Crenarchaeota* สำหรับการศึกษาความหลากหลายของจุลชีพในดินจากบ่อน้ำร้อนบ่อคลึง  
พบว่า จุลชีพมีการกระจายตัวอยู่ใน 11 กลุ่มของแบคทีเรีย จาก 95 โคลน พบว่า 24.2% อยู่ในกลุ่ม  
*Acidobacteria* 18.95% อยู่ในกลุ่ม *Bacteroides* 12.6% อยู่ในกลุ่ม *Nitrospira* 11.6% อยู่ในกลุ่ม  
*Proteobacteria* 10.5% อยู่ในกลุ่ม *Deinococcus-Thermus* 5.3% อยู่ในกลุ่ม *Planctomycetes* 5.3%  
อยู่ในกลุ่ม *Verrucomicrobia* 4.2% อยู่ในกลุ่ม Green non-sulfur bacteria 3.2% อยู่ในกลุ่ม  
*Cyanobacteria* 2.11% อยู่ในกลุ่ม *Actinobacteria* 1.1% อยู่ในกลุ่ม candidate division OP10 และ  
1 clone (1.1%) ไม่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มใด (unknown) ส่วนการศึกษา *Archaea* นั้น พบว่า จาก 45  
โคลนที่ได้จากการศึกษา 20% จัดอยู่ในกลุ่ม *Euryarchaeota* 80% จัดอยู่ในกลุ่ม *Crenarchaeota*

82 หน้า ISBN 974-04-4506-3

ASSESSING MICROBIAL DIVERSITY FROM LOCAL SOIL ENVIRONMENTS  
AT MAHIDOL UNIVERSITY, SALAYA CAMPUS AND BOR KHLUENG HOT  
SPRING, RATCHABURI

SUPAVADEE CHANAPAN 4436426 MBMG/M

M.Sc. (MOLECULAR GENETICS AND GENETIC ENGINEERING)

THESIS ADVISORS: KUSOL POOTANAKIT, Ph.D., LILY EURWILAICHITR,  
Ph.D., WIPA CHUNGJATUPORNCHAI, Ph.D.

ABSTRACT

The culture-independent method based on sequence analysis of gene encoding 16S rRNA was employed to assess microbial diversity from local soil within Mahidol University, Salaya Campus and Bor Khlueng hot spring in Ratchaburi. The DNA was extracted using sodium dodecyl sulfate (SDS)-based DNA extraction method. Universal 16S rRNA primers of both *Bacterial* and *Archaeal* domains were used to amplify extracted DNA. The PCR products were cloned into pGEM-T Easy vector, and sequenced. Results from Salaya soil DNA showed that all of the *Bacterial* clones belonged to the *Gammaproteobacteria* lineage. For the *Archaeal* clones, 2.5% of clones were grouped into the *Euryarchaeota* division while the remaining 87.5% of clones were grouped within the *Crenarchaeota* division. Microbial diversity from the Bor Khlueng hot spring soil revealed more complexity than that of Salaya. Of the 95 *Bacterial* 16S rDNA clones, 24.2% were affiliated with the *Acidobacteria* group, 19.0% with *Bacteroides* group, 12.6% with the *Nitrospira* group, 11.6% with the *Proteobacteria* group, 10.5% with the *Deinococcus-Thermus* group, 5.3% with the *Planctomycetes* group, 5.3% with the *Verrucomicrobia* group, 4.2% with the Green non-sulfur bacteria group, 3.2% with the *Cyanobacteria* group, 2.1% with the *Actinobacteria* group, 1.1% with the candidate division "OP10", and 1 clone could not be placed into any of bacterial divisions. Of 45 *Archaeal* 16S rDNA clones, 20% were grouped into the *Euryarchaeota* division and 80% of clones were grouped into the *Crenarchaeota* division.

KEY WORDS: SOIL/HOT SPRING/MICROBIAL DIVERSITY/16S rRNA GENE/  
CULTURE-INDEPENDENT METHOD

82 pp. ISBN 974-04-4506-3