ผลของไนโตรเจนต่อการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน ซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์

Effect of Nitrogen on the Growth of Nitrogen-Fixing Cyanobacteria Isolated from Organic Agricultural Areas

กันต์กนิษฐ เสือเปลี่ยว ญาวดี แก้วสุกใส กัญญาลักษณ์ สังข์ประไพ นริศรา คล้ายหิรัญ เทพปัญญา เจริญรัตน์ และสุเปญญา จิตตพันธ์*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของไนโตรเจนต่อการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน ซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์ โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02 ในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีไนโตรเจนในรูป $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร BG-11 ที่ไม่มีไนโตรเจน บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมง ตรวจวัดอัตราการเติบโตจากปริมาตรเซลล์อัดตัวและน้ำหนักเซลล์แห้งทุกๆ 4 วัน เป็นระยะเวลา 44 วัน พบว่า *Nostoc* sp. TUBT01 ในสูตรอาหารที่มีไนโตรเจนและไม่มีไนโตรเจนมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.162 และ 0.159 ต่อวัน มีปริมาตรเซลล์อัดแน่นสูงสุดเท่ากับ 15.88 และ 22.26 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.05 และ 1.12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วน *Nostoc* sp. TUBT02 ในสูตรอาหารที่มีไนโตรเจนและไม่มีไนโตรเจนมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 2.688 และ 0.236 ต่อวัน มีปริมาตรเซลล์อัดแน่นสูงสุดเท่ากับ 151.53 และ 210.72 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.30 และ 1.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า *Nostoc* sp. TUBT02 มีอัตราการเติบโตสูงกว่า *Nostoc* sp. TUBT01 ทั้งในสูตรอาหารที่มีและไม่มีไนโตรเจน โดยไนโตรเจนไม่มีผลต่อการเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT01 แต่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT02 ไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์ได้ในอาหารสูตร BG-11 ที่ไม่มีไนโตรเจน

คำสำคัญ : ไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ พื้นที่เกษตรอินทรีย์ อัตราการเจริญเติบโต เซลล์เฮเทอโรซิสต์

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** chittapun@gmail.com

Abstract

Effect of nitrogen on the growth of nitrogen-fixing cyanobacteria isolated from organic agricultural areas was studied. *Nostoc* sp. TUBT01 and *Nostoc* sp. TUBT02 were cultured in BG-11 with and without 3 g L^{-1} of $NaNO_3$ at 25°C on a 120 rpm rotary shaker and 12:12 light-dark cycles. Samples were taken each 4 days for 44 days, and then packed cell volume (PCV) and dry cell weight (DCW) were examined for each sample. Specific growth rates of *Nostoc* sp. TUBT01 were 0.162 and 0.159 d^{-1} in BG-11 with and without nitrogen, respectively. PCV were 15.88 and 22.26 ml L^{-1} and DCW were 1.05 and 1.12 g L^{-1} in BG-11 with and without nitrogen, respectively. Specific growth rates of *Nostoc* sp. TUBT02 were 2.688 and 0.236 d^{-1}, PCV were 151.53 and 210.72 ml L^{-1}, and DCW were 3.30 and 1.04 g L^{-1} in BG-11 with and without nitrogen, respectively. The result shows that *Nostoc* sp. TUBT02 grows at a higher rate than *Nostoc* sp. TUBT01 in both media tested. Thus, nitrogen enhances *Nostoc* sp. TUBT02 growth but not for *Nostoc* sp. TUBT01. In BG-11 without nitrogen culture media, heterocyst cells were observed both in *Nostoc* sp. TUBT01 and *Nostoc* sp. TUBT02.

Keywords: nitrogen-fixing cyanobacteria, organic agricultural area, growth rate, heterocyst

1. บทนำ

ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสร้างอาหารเองได้ โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง พบได้ทั่วไปทั้งในระบบนิเวศแหล่งน้ำและระบบนิเวศบนบก ไซยาโน-แบคทีเรียบางชนิดมีเซลล์เฮทเทอโรซิสต์ ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ จึงนิยมนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่เกษตรกรรม [1-3] โดยเฉพาะในพื้นที่เกษตรอินทรีย์ซึ่งมีข้อห้ามไม่ให้ใช้ปุ๋ยเคมีใดๆ ในพื้นที่ [4]

การใช้ไซยาโนแบคทีเรียเป็นปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่เกษตรอินทรีย์นั้น ต้องคำนึงถึงสายพันธุ์ไซยา-โนแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ เช่น ต้องไม่ผ่านกระบวนการดัดแปลงทางพันธุกรรม [4] และหากเป็นสายพันธุ์ที่สามารถคัดแยกได้จากพื้นที่เกษตรอินทรีย์เอง จะมีข้อดีคือสามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้นได้ดี [3] อีกทั้งยังลดปัญหาการนำสิ่งมีชีวิตจากแหล่งอื่นเข้าสู่พื้นที่เกษตรอินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงความสามารถในการเจริญเติบโตของไซยาโน-แบคทีเรียที่นำมาใช้ผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพด้วย ซึ่งหากไซยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโต ในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจนได้ดีเทียบเท่ากับสภาวะที่มีไนโตรเจน แสดงให้เห็นว่าไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์นั้น มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน เพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ดี ฉะนั้นงานวิจัยชิ้นนี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาอัตราการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์ ในสูตรอาหารที่มีไนโตรเจนและไม่มีไนโตรเจน รวมทั้งศึกษาการปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์ในไซยาโน-แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ในสภาวะที่มีไนโตรเจนและไม่มีไนโตรเจน

2. วิธีการศึกษา

2.1 สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรีย

ไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มี 2 สายพันธุ์ คือ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02 ซึ่งคัดแยกได้จากพื้นที่เกษตรอินทรีย์ อำเภอสนามชัยเขต จังหวัดฉะเชิงเทรา และเก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ ณ ห้องปฏิบัติการสาหร่ายและแพลงก์-ตอน ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

2.2 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อ Blue green 11 (BG-11) [5] ซึ่งดัดแปลง โดยในสูตรที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบจะเพิ่มความเข้มข้นของ $NaNO_3$ เป็น 3 กรัมต่อลิตร และในสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนจะไม่เติม $NaNO_3$ ลงในอาหาร

2.3 การเพิ่มปริมาณไซยาโนแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณไซยาโน-แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหารสูตร BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ให้แสง 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เปลี่ยนอาหารทุกๆ 15 วัน เป็นเวลา 2 เดือน

จากนั้นนำไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงไว้มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง นำตะกอนไซยาโนแบคทีเรียใส่หลอดพลาสติกฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร สายพันธุ์ละ 7 มิลลิลิตร แล้วเติมอาหารสูตร BG-11 หลอดละ 28 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิ 35 มิลลิลิตร จากนั้นกระจายเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย โดยใช้ sonicate probe ที่ power level เท่ากับ -50 และ repeating duty cycle เท่ากับ 0.5 และเติมอาหารสูตร BG-11 อีก 10 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิของสารละลายไซยาโน-แบคทีเรีย 45 มิลลิลิตรต่อสายพันธุ์ เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการทดลองต่อไป

2.4 ขั้นตอนการศึกษา

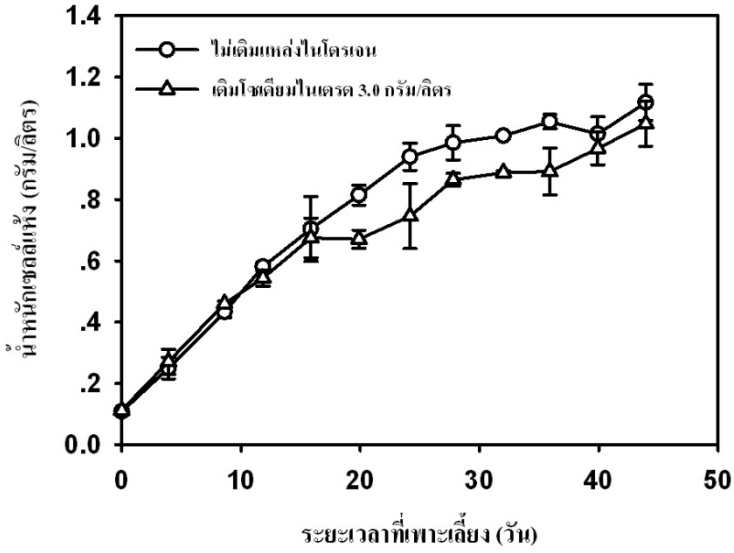
นำขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาเติมอาหารสูตร BG-11 ที่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร และอาหารสูตร BG-11 ที่ไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ ขวดละ 25 มิลลิลิตร จำนวนสูตรอาหารละ 44 ขวด (สูตรอาหารมี $NaNO_3$ 44 ขวด และสูตรอาหารที่ไม่มี $NaNO_3$ 44 ขวด) อาหารแต่ละสูตรนำมาแบ่งเป็นสองส่วนเพื่อเติมกล้าเชื้อไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (*Nostoc* sp. TUBT01 ในสูตรอาหารมี $NaNO_3$ 22 ขวด และสูตรอาหารที่ไม่มี $NaNO_3$ 22 ขวด และ *Nostoc* sp. TUBT02 ในสูตรอาหารมี $NaNO_3$ 22 ขวด และสูตรอาหารที่ไม่มี $NaNO_3$ 44 ขวด) จากนั้นนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ให้แสง 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ศึกษาการเจริญเติบโต โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 วัน เพื่อวัดปริมาตรเซลล์อัดแน่น (packed cell volume; PCV) และน้ำหนักเซลล์แห้ง (dry cell weight; DCW) และสุ่มเก็บตัวอย่างขวดละ 1 มิลลิลิตร เพื่อตรวจนับจำนวนเซลล์ปกติและเซลล์เฮเทอโรซิสต์ต่อเส้นสาย โดยสุ่มนับทั้งสิ้น 30 เส้นสาย

3. ผลการศึกษาและวิจารณ์

3.1 อัตราการเจริญเติบโต

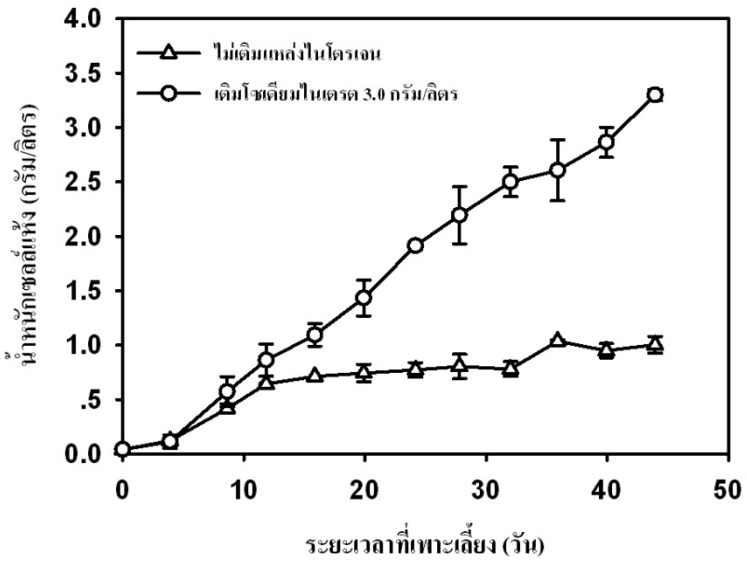
จากการศึกษาผลของไนโตรเจนต่อการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนซึ่งคัดแยกจากพื้นที่เกษตรอินทรีย์ ได้แก่ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02 ใน

อาหาร 2 สูตร ได้แก่ สูตรอาหาร BG-11 ที่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร BG-11 ที่ไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ พบว่า *Nostoc* sp. TUBT01 ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร และสูตรอาหาร BG-11 ที่ไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.162 และ 0.159 ต่อวัน และค่า R^2 เท่ากับ 0.9626 และ 0.9708 ตามลำดับ ในวันที่ 44 ของการทดลองมีปริมาตรเซลล์อัดแน่นสูงสุดเท่ากับ 15.88 และ 22.26 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.05 และ 1.12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 1) ส่วน *Nostoc* sp. TUBT02 ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่มีไนโตรเจนและไม่มีไนโตรเจน มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 2.688 และ 0.236 ต่อวัน และ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9811 และ 0.9855 ตามลำดับ ในวันที่ 44 และวันที่ 36 ของการทดลองมีปริมาตรเซลล์อัดแน่นสูงสุดเท่ากับ 151.53 และ 210.72 มิลลิลิตรต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.30 และ 1.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 อัตราการเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT01 ในสูตรอาหารที่ไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ และมีความเข้มข้น $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าไนโตรเจนส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT02 แต่ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT01 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก *Nostoc* sp. TUBT01 ในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจนมีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนได้ดี ทำให้อัตราการจริญเติบโตใกล้เคียงกับในสภาวะที่มีไนโตรเจน ส่วน *Nostoc* sp. TUBT02 ถึงแม้ในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจนจะมีอัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่าในสภาวะที่มีไนโตรเจน แต่มีค่าอัตราการเจริญเติบโตมีค่ามากกว่าสายพันธุ์ *Nostoc* sp. TUBT01 แสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจน ไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนได้ใกล้เคียงกัน



รูปที่ 2 อัตราการเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT02 ในสูตรอาหารที่ไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ และมีความเข้มข้น $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร

3.2 การศึกษาการปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์ของ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02

จากการศึกษาการปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์ของไซยาโนแบคทีเรียในสภาวะที่มีและไม่มีไนโตรเจนตลอดการทดลอง พบว่าเส้นสายของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร ไม่มีการปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์เลย เนื่องจากสภาวะที่มีไนโตรเจนเพียงพอ ไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่ต้องสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์เพื่อใช้ในการตรึงไนโตรเจน แต่ในสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนพบเซลล์เฮเทอโรซิสต์ในเส้นสายของไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ เนื่องจากในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจนไซยาโนแบคทีเรียจะสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์เพื่อช่วยในการตรึงไนโตรเจน และนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (ตารางที่ 1) โดย *Nostoc* sp. TUBT02 มีจำนวนเซลล์เฮเทอโรซิสต์ในเส้นสายมากกว่าใน *Nostoc* sp. TUBT01 ซึ่งอาจเป็นผลให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใน *Nostoc* sp. TUBT02 มากกว่า *Nostoc* sp. TUBT01

การปรากฏของเซลล์เฮเทอโรซิสต์ของ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02 ในสูตรอาหาร BG-11 ที่มีและไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ เพื่อใช้ในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ และนำไปใช้ในการเติบโตนั้น สอดคล้องกับงานวิจัยที่เคยมีรายงานว่าไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดจะสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์เพื่อตรึงไนโตรเจนจากอากาศและนำไปใช้ในการเจริญเติบโตในสภาวะที่ขาดไนโตรเจน [6-7] ซึ่งเซลล์เฮเทอโรซิสต์ของ *Nostoc* sp. TUBT01 มี

ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตสูง เพราะให้ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดในสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนใกล้เคียงกับในสูตรอาหารที่มีไนโตรเจน นอกจากนี้อาหารสูตรที่ไม่มีไนโตรเจนยังช่วยกระตุ้นให้ *Nostoc* sp. TUBT01 สร้างเซลล์พิเศษอีกชนิดที่เรียกว่าอะคินีท โดยจะสร้างเมื่อสาหร่ายอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม และในสภาวะที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นสภาวะที่ทำให้ *Nostoc* sp. TUBT01 เกิดความเครียดจนต้องมีการสร้างเซลล์อะคินีทซึ่งเป็นกลไกการรักษาเซลล์ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า เซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรีย จะสร้างเซลล์อะคินีทเมื่ออยู่ในสภาวะที่ปริมาณธาตุอาหารจำกัด หรือในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต [7]

ตารางที่ 1 จำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อเส้นสาย (n=30) และตำแหน่งของเซลล์เฮทเทอโรซิสต์ของไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ไม่มีความเข้มข้นของ $NaNO_3$ และมีความเข้มข้น $NaNO_3$ 3 กรัมต่อลิตร

ชั่วโมงที่ตรวจนับ	สายพันธุ์ *Nostoc* sp. TUBT01				สายพันธุ์ *Nostoc* sp. TUBT02			
	สูตรอาหารที่ไม่มี $NaNO_3$		สูตรอาหารที่มี $NaNO_3$		สูตรอาหารที่ไม่มี $NaNO_3$		สูตรอาหารที่มี $NaNO_3$	
	จำนวนเซลล์ทั้งเส้นสาย	ตำแหน่งของเฮเทอโรซิสต์	จำนวนเซลล์ทั้งเส้นสาย	ตำแหน่งของเฮเทอโรซิสต์	จำนวนเซลล์ทั้งเส้นสาย	ตำแหน่งของเฮเทอโรซิสต์	จำนวนเซลล์ทั้งเส้นสาย	ตำแหน่งของเฮเทอโรซิสต์
94	28	1	22	-	45	1,18,21,26,29, 33,40	37	-
94	28	1	22	-	45	1,18,21,26,29, 33,40	37	-
284	50	1,41	65	-	68	1,11,14,26,37, 42,44	53	-
308	51	1	83	-	77	1,26,44,50,58	55	-
477	50	1,28,31,34, 38,41,46,49	71	-	63	1,35,42,44	58	-
580	60	1,49,57	127	-	60	1,26,31,39,44	62	-
667	59	1	80	-	63	1,11,14	57	-
768	51	1,24,37,40, 44,48	58	-	56	1,35,44	66	-
861	43	1	72	-	62	1,37,44	46	-
958	49	1	62	-	52	1,37	54	-
1054	49	1,4,23,32,39	55	-	58	1,37	38	-

4. สรุปผลการศึกษา

ไนโตรเจนไม่มีผลต่อการเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT01 แต่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Nostoc* sp. TUBT02 ไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์ได้ในอาหารสูตร BG-11 ที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เซลล์เฮเทอโรซิสต์ของ *Nostoc* sp. TUBT01 และ *Nostoc* sp. TUBT02 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2554 และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Irisarri, P., Gonnet, S. and Monza, J., 2001, Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen, J. Biotechnol. 91: 95-103.

[2] Karthikeyan, N., Prasanna, R., Nain, L., and Kaushik, B.D., 2007, Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat, Eur. J. Soil Biol. 43: 23-30.

[3] Pereira, I., Ortega, R., Barrientos, L., Moya, M., Reyers, G. and Kramm V., 2009, Development of a biofertilizer based on filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria for rice crops in Chile, J. Appl. Phycol. 21: 135-144.

[4] สำนักงานมาตราฐานเกษตรอินทรีย์ (มกท.), มาตรฐานเกษตรอินทรีย์, ฉบับปรับปรุงปี 2011, แหล่งที่มา : http://www.actorganiccert.or.th/download/ACTstandard2011_TH_FINAL.pdf, 5 กันยายน 2554.

[5] Andersen, R.A., 2005, Algal Culturing Techniques, Elsevier, Inc., China, 578 p.

[6] Fiore, M.D.F., Neilan, B.A., Copp, J.N., Rodrigues, J.L.M., Tsai, S.M., Lee, H. and Trevors, J.T., 2005, Characterization of nitrogen-fixing cyanobacteria in the Brazilian Amazon floodplain, Water res. 39: 5017-5026.

[7] Hense, I. and Beckmann, A., 2006, Toward a model of cyanobacteria life cycle-effects of growing and resting stages on bloom formation of N_2-fixing species, Ecol. Model. 195: 205-218.