



รายงานโครงการวิจัย

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อ
เพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

Impact of Climate Change on Beneficial Soil Microorganism for
Increasing Crop Production Efficiency in Pai River

มนต์ชัย มนัสสิลา

Monchai Manassila

ปี พ.ศ. 2563



รายงานโครงการวิจัย

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อ
เพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

Impact of Climate Change on Beneficial Soil Microorganism for
Increasing Crop Production Efficiency in Pai River

มนต์ชัย มนัสสิลา

Monchai Manassila

ปี พ.ศ. 2563

คำปรารภ

โครงการผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย เป็นการวิจัยเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศที่เกิดขึ้นนี้ทำให้จุลินทรีย์ในดินที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ รวมทั้งการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในดิน เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินถูกควบคุมด้วยหลายปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำฝน ปริมาณธาตุอาหาร และระดับของออกซิเจน แต่การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศส่งผลกระทบต่อโครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ดินไปในทิศทางบวกและลบ ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของประชากรจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ที่ถูกรบกวนจากการเกษตรกรรม เปรียบเทียบกับพื้นที่ป่าที่ยังไม่ได้รับผลกระทบจากการเกษตรกรรม เพื่อบริหารจัดการและนำจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ไปใช้ทางการเกษตร โดยสามารถนำไปปรับใช้กับพืชในชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากสภาวะเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ดินต่อการเพิ่มผลผลิต คุณภาพของผลผลิต ชนิดและปริมาณประชากรจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในระบบนิเวศน์ของพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ รวมทั้งการค้นหาจุลินทรีย์ดินที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตรและจุลินทรีย์ดินที่สร้างสารเร่งการเจริญเติบโตที่เป็นประโยชน์ต่อพืช รวมถึงนิมาโทด อีสาระที่เป็นตัวบ่งชี้สภาพของระบบนิเวศเกษตร เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในการเพิ่มผลผลิตพืช ลดปัญหาการนำเข้าสารเคมีและปุ๋ยเคมีในการผลิตพืช นำไปสู่การทำเกษตรแบบยั่งยืนต่อไป

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
ผู้วิจัย	2
บทนำ	3
บทคัดย่อ	5
กิจกรรมที่ 1 การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย	14
กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย	87
กิจกรรมที่ 3 การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย	156
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	194
บรรณานุกรม	200

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินโครงการผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย สามารถดำเนินการได้สำเร็จครบถ้วนตามวัตถุประสงค์ ด้วยความร่วมมือจากทีมนักวิจัย ได้แก่ นักวิชาการ เจ้าพนักงาน ผู้ช่วยนักวิจัย จากกลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของพื้นที่แปลงทดลอง จังหวัดแม่ฮ่องสอน ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลอง และดูแลแปลงทดลองในการปฏิบัติงานวิจัยครั้งนี้

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย

นายมนต์ชัย มั่นสสิลา	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวจิตรา เกาะแก้ว	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นายอำนาจ เอี่ยมวิจารณ์	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวกัลยกร โปร่งจันทิก	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวอมรรัตน์ ใจยะเสน	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวกนกอร บุญพา	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นายบรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางสาวกิตจเมธ แจ่มศิริกุล	กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวภรณ์ สว่างศรี	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางสาวสุภาวดี งามเหรียญ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ	
นายสุรียนต์ ดีดเหล็ก	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน	

บทนำ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่มีความสำคัญ ในระดับภูมิภาคของโลก หลายภาคส่วนได้ตระหนักถึงความรุนแรงของปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและเตรียมความพร้อมในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ สาเหตุหลักเกิดมาจากสภาวะโลกร้อน (Global warming) ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม เกิดภัยธรรมชาติที่รุนแรงมากขึ้น เช่น น้ำท่วม ฝนแล้ง พายุที่รุนแรง ส่งผลกระทบต่อทั้งการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ภาคการเกษตรเป็นส่วนหนึ่งที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ทำให้ศักยภาพในการผลิตลดลงเนื่องจากสภาพภูมิอากาศเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการทางสรีระวิทยาของพืช ตัวอย่างเช่น ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อระบบการผลิตข้าว พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์มีความอ่อนไหวต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ทำให้อายุข้าวสั้นลงและผลผลิตข้าวลดลง นอกจากนี้ยังมีผลต่อการระบาดของโรคและแมลงศัตรูข้าวด้วย สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงยังส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรต่าง ๆ โดยปัจจัยทางภูมิอากาศ เช่น ปริมาณน้ำฝน การกระจายของน้ำฝน การทิ้งช่วงของฝน พร้อมทั้งอุณหภูมิเฉลี่ย อุณหภูมิสูงสุด ต่ำสุดที่เกิดขึ้นมีผลต่อ แหล่งที่อยู่อาศัย ชนิด และประชากรของจุลินทรีย์ดินทั้งสิ้น การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศอาจทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรบางชนิดไม่สามารถปรับตัวได้ ทำให้เกิดแรงกดดันในการเคลื่อนย้ายเพื่อหาที่อยู่อาศัยใหม่ที่เหมาะสม ซึ่งปัจจุบันมีอุปสรรคจากการทำการเกษตรที่มีการใช้สารเคมี และการบุกรุกพื้นที่ป่าเพื่อทำการเกษตร ทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรหลายชนิดอาจสูญพันธุ์ไปจากแหล่งที่อยู่อาศัยเดิม การศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ดินที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพพื้นที่ ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างพื้นที่ป่า กับพื้นที่ที่ถูกรบกวนจากการเกษตรกรรม ในแต่ละช่วงเวลาในรอบ 1 ปี ซึ่งสามารถระบุชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ดินชนิดต่าง ๆ ที่อาจพบเพิ่มขึ้นหรือลดลงไปจากแหล่งอาศัยในระบบนิเวศนั้นๆ โดยข้อมูลเหล่านี้จะสามารถบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมทั้งการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ดินบางชนิดที่สามารถปรับตัว และยังคงกิจกรรมที่ช่วยสนับสนุนเกื้อกูลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ โดยเฉพาะกลุ่มจุลินทรีย์ดินที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และนิมาโทดอัสระอิกกลุ่มที่เป็นตัวบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมถึงการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินที่แยกได้จากพื้นที่ ที่ทำการศึกษาซึ่งเป็นจุลินทรีย์ดินที่ผ่านการปรับตัวให้มีชีวิตอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณประชากรจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในระบบนิเวศของพื้นที่ ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ รวมทั้งการค้นหาจุลินทรีย์ดินที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตรและจุลินทรีย์ดินที่สร้างสารเร่งการเจริญเติบโตที่เป็นประโยชน์ต่อพืช รวมถึงนิมาโทดอัสระอิกที่เป็นตัวบ่งชี้สภาพของระบบนิเวศเกษตร เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในการเพิ่มผลผลิตพืช ลดปัญหาการนำเข้าสารเคมีและปุ๋ยเคมีในการผลิตพืช นำไปสู่การทำเกษตรแบบยั่งยืนต่อไป

วิธีการวิจัยประกอบด้วย 3 กิจกรรม ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของราดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 1.3 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแอกติโนมัยสีทในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 2.1 การศึกษาศักยภาพของไรโซเปียมที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 2.2 การศึกษาศักยภาพของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 2.3 การศึกษาศักยภาพของราดินที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 2.4 การศึกษาศักยภาพของแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 2.5 การศึกษา ประชากรนีมาโทดอิสระเพื่อบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 2.6 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ Cellulase และ Chitinase ที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

กิจกรรมที่ 3 การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 3.1 การใช้เชื้อไรโซเปียมเพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 3.2 การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 3.3 การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวโพดในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองที่ 3.4 การใช้จุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตกระเทียมในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศอาจทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรบางชนิดไม่สามารถปรับตัวได้ ทำให้เกิดแรงกดดันในการเคลื่อนย้ายเพื่อหาที่อยู่อาศัยใหม่ที่เหมาะสม การศึกษาชนิดและปริมาณประชากรจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในระบบนิเวศของพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ รวมทั้งการค้นหา และคัดเลือกจุลินทรีย์ดินที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตรและจุลินทรีย์ดินที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงนิมาโทดอสิสที่เป็นตัวบ่งชี้สภาพของระบบนิเวศเกษตร เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในการเพิ่มผลผลิตพืช

กิจกรรมที่ 1 การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

จำนวนประชากรและชนิดของแบคทีเรียจากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย ปี 2560 มีจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำจำนวน 1,852 ชนิด ป่าปลายน้ำจำนวน 2,567 ชนิด เกษตรต้นน้ำจำนวน 1,838 ชนิด และป่าต้นน้ำจำนวน 2,511 ชนิด ปี 2561 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 928 ชนิด ป่าปลายน้ำ 987 ชนิด เกษตรต้นน้ำ 941 ชนิด และป่าต้นน้ำ 955 ชนิด ปี 2562 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ เกษตรต้นน้ำ 806 ชนิด ป่าต้นน้ำ 1,199 ชนิด เกษตรปลายน้ำ 955 ชนิด และป่าปลายน้ำ 1,163 ชนิด ซึ่งจำนวนประชากรแบคทีเรียที่พบในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันตามสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียที่พบขึ้นอยู่กับอยู่กับฤดูกาล แต่จำนวนประชากรแบคทีเรียขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน ชุมชนของเชื้อราที่เป็นผลมาจากสภาพภูมิอากาศหรือการเปลี่ยนแปลงการใช้ที่ดินของพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำ พบว่าสามารถจำแนก phylotype เชื้อราที่สำคัญได้ 5 ไฟลัม เรียงตามลำดับดังนี้ Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota ซึ่งพบในทุกพื้นที่ทั้งในดินป่าและดินในแปลงเกษตร กลุ่มเชื้อราในดินที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ Nectriaceae และมีรา *Fusarium* เป็นราชนิดเด่นที่ตรวจพบได้มากในการศึกษาครั้งนี้ ชุมชนของเชื้อราส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ความหลากหลายภายในพื้นที่หรือระบบนิเวศเฉพาะซึ่งโดยปกติจะแสดงด้วยจำนวนของสิ่งมีชีวิต เช่นความอุดมสมบูรณ์ของชนิดพันธุ์ (Alpha diversity) ในระบบนิเวศนั้นจะลดลงตามระยะทางจากต้นน้ำและปลายน้ำซึ่งจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหลากหลายของเชื้อรา ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรีย ตลอดระยะเวลา 3 ปี (2560-2562) มี 92 สกุลที่เป็น Actinobacteria ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียสูงที่สุดในพื้นที่ต้นน้ำโดยเฉพาะในดินเกษตร class เด่นที่พบมีความอุดมสมบูรณ์สูงและพบได้บ่อยในทุกๆ พื้นที่ ได้แก่ class Actinobacteria และ Thermoleophilia ใน class Actinobacteria order Streptomycetales เป็น order ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุด และ family Streptomycetaceae เป็น family ที่มีความอุดมสมบูรณ์ที่สุดของ order นี้ สกุลเด่นที่พบมาก ได้แก่ Streptomyces

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การศึกษาศักยภาพของไรโซเบียมที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย โดยคัดเลือกไรโซเบียม 30 สายพันธุ์ พบไรโซเบียมที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้กับถั่วเหลืองสูงสุด 3 สายพันธุ์ได้แก่ DASA32019 DASA32025 และ DASA32116 เมื่อนำเชื้อผสม 3 สายพันธุ์มาใช้ร่วมกัน พบว่าให้ผลผลิตที่ดีกว่าปุ๋ยชีวภาพสำหรับถั่วเหลืองที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร การศึกษาศักยภาพของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินที่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารวุ้นแข็งได้จำนวน 33 ไอโซเลท และจำแนกด้วยเทคนิคมวลดิทอป (MALDI-TOF) ได้ 2 สกุล คือ *Azospirillum* และ *Azotobacter* เชื้อสกุล *Azotobacter* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าเชื้อสกุล *Azospirillum* แต่มีความสามารถในการผลิต IAA ได้ต่ำกว่า เมื่อนำ *Azospirillum* 5 สายพันธุ์ และ *Azotobacter* 4 สายพันธุ์ มาศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ 999 ข้าวไรพันธุ์พื้นเมือง และกระเทียมพันธุ์พื้นเมือง พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท AP1 มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทดสอบทั้ง 3 ชนิดสูงสุด รองลงมา คือ แบคทีเรียไอโซเลท AT1 ความหลากหลายและประสิทธิภาพของราดิน ด้วยวิธีการแยก ได้แก่ soil dilution plate, soil plate, alcohol treatment และ heat treatment บนอาหาร Glucose Ammonium Nitrate Agar (GAN) พบราดินทั้งหมด 350 สายพันธุ์ จำแนกได้เป็น 18 สกุล 20 ชนิด ชนิด ได้แก่ Zygomycota 4 สกุล (*Absidia*, *Gongronella*, *Mucor* และ *Rhizopus*) Ascomycota 13 สกุล (*Aspergillus*, *Eupenicillium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Hamigera*, *Myrothecium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Verticillium* และ *Xylaria*) Basidiomycota 1 สกุล (*Sclerotium* ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ ความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต การสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต พบราดินจำนวน 24 สายพันธุ์ สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ ราดิน 10 สายพันธุ์สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ ราดิน 53 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างสาร siderophore และพบราดินจำนวน 91 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง Indole acetic acid (IAA) ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิดพบว่ามีราดิน 15 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* ราดิน 11 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Sclerotium rolfsii* ราดิน 15 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* และราดิน 24 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Colletotrichum gloeosporioides* ศักยภาพของแอคติโนมัยสิทที่แยกได้จากดินพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน โดยการทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ การทดสอบการสร้าง siderophore การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต และการทดสอบการสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA) พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีความสามารถในการสร้าง siderophore สูงที่สุด *Streptomyces* sp. WF 10-1 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตสูงสุด มีการสร้างกรดอินโดลอะซีติกมีจำนวนทั้งหมด 42 32 และ 29 ไอโซเลท ตามลำดับ ความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืช *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* และ *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้ดีที่สุดในส่วน *Streptomyces* sp. WA 20-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคพืช *X. campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุดในทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora palmivora*,

Rhizoctonia solani, *Rhizoctonia* sp. และ *Sclerotium rolfsii* พบว่า *Streptomyces* sp. RF 23-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคทดสอบได้ทุกชนิด การคัดเลือกแอคติโนมัยสียที่มีสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อโรโซเบียม พบว่า *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรโซเบียม 3 ชนิด คือ *Bradyrhizobium japonicum* DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 และ *B. daqingense* DASA 03084 การทดลองในระดับโรงเรือนพบว่า ต้นกล้าถั่วเขียวมีอาการเน่าตายเมื่อได้รับการปลูกเชื้อราก่อโรคพืช *S. rolfsii* แม้จะปลูกเชื้อแอคติโนมัยสีย *Streptomyces* sp. WF 4-1 ร่วมด้วย ส่วนต้นกล้าที่มีการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. RF 12-4 มีการเกิดโรคปานกลางในระดับ 2 ส่วนการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช *E. carotovora* pv. *carotovora* ทำให้ต้นกล้าถั่วเขียวเกิดโรคเล็กน้อยในระดับ 1 การศึกษาประชากรนีมาโทดในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน โดยใช้เทคนิค Whitehead tray ในการแยกนีมาโทดออกจากตัวอย่างดิน สามารถแยกได้นีมาโทดแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่กินแบคทีเรีย จำแนกได้เป็นสกุล *Dolichorhabditis* และ *Rhabditis* กลุ่มกินเชื้อราจำแนกเป็นสกุล *Aphelenchus* กลุ่มที่เป็น Predator จำแนกเป็นสกุล *Mononchus* และกลุ่มศัตรูพืชจำแนกเป็นสกุล *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*, *Paratylenchus* และ *Rotylenchus* กลุ่มที่พบจำนวนประชากรนีมาโทดมากที่สุดในตัวอย่างดินต้นน้ำคือ กลุ่มกินแบคทีเรีย รองลงมาคือกลุ่มกินเชื้อรา เท่ากับ 132 และ 98 ตัวต่อดิน 500 กรัม ในช่วงเดือนพฤศจิกายน และในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่พบประชากรนีมาโทดมากที่สุดรวมเท่ากับ 334 ตัวต่อดิน 500 กรัม และพบน้อยที่สุดในช่วงเดือนมีนาคม เท่ากับ 180 ตัวต่อดิน 500 กรัม การคัดเลือกจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และไคติเนส จากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย สามารถคัดเลือกได้เชื้อ *Bacillus velezensis* ไอโซเลท 2CMC-1.1 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และ *Paenibacillus xylanilyticus* ไอโซเลท 1Ch 2.4 ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้ดี

กิจกรรมที่ 3 การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การใช้เชื้อโรโซเบียมที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองจำนวนบมของถั่วเหลืองตาแดงที่ปลูกในช่วงฤดูฝนทั้งสองปีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ น้ำหนักแห้งบม น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น และค่าการตรึงไนโตรเจน ทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ความสูงของต้นระยะเก็บเกี่ยว จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยว และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ ของการทดลองทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จำนวนเมล็ดต่อต้นในปีที่ 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่จำนวนเมล็ดต่อต้นในปีที่ 2 พบว่าจำนวนเมล็ดต่อต้นของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับโรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับโรโซเบียมมีจำนวนเมล็ดต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 124 เมล็ดต่อต้น กระบวนการการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการเพิ่มผลผลิตข้าวในพื้นที่ชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ระหว่างปี พ.ศ. 2562–2563 โดยใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสองสกุลที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปาย คือ *Azospirillum* sp. ไอโซเลท AP1 และ *Azotobacter* sp. ไอโซเลท AT1 เปรียบเทียบกับแบคทีเรียอ้างอิง *Azospirillum brasilense* ไอโซเลท

DASF04005 ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิสิฟิอาร์-ทู สำหรับข้าว ของกรมวิชาการเกษตร ดำเนินการศึกษาในพื้นที่ต้นน้ำ (อำเภอปาย) และปลายน้ำ (อำเภอเมือง) จังหวัดแม่ฮ่องสอน ผลการทดลอง พบว่า การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองสกุลที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปาย (AP1 และ AT1) ในการปลูกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองให้ผลไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างกับแบคทีเรียอ้างอิงของกรมวิชาการเกษตร (DASF04005) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองได้ กระบวนการในการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการเพิ่มผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ผลการทดลองพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปายในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ได้ ผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิตกระเทียมในลุ่มน้ำปาย ผลการศึกษาการพบว่ากระเทียมให้ผลผลิตระหว่าง 1,499 – 3,076 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตสูงสุดที่ 3,076 กิโลกรัมต่อไร่ ในพื้นที่ปลายน้ำ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปาย พบว่า การสะสมไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมมากที่สุดที่ 1.63 เปอร์เซ็นต์ และ 1.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบการสะสมโพแทสเซียม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัสมากที่สุดที่ 0.91 เปอร์เซ็นต์ และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปาย พบว่าการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่การสะสมไนโตรเจนพบว่า กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 สะสมไนโตรเจนมากที่สุดที่ 2.41 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในใบการสะสมโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน ในกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 มากที่สุดที่ 0.94 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมฟอสฟอรัสในกรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มากที่สุดที่ 1.6 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดในการปลูกกระเทียมให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน และให้ผลผลิตกระเทียมใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมี

Abstract

Climate change may prevent some of the beneficial soil microorganisms from adapting. This puts pressure on moving to find suitable new homes. Study of the types and populations of

useful soil microorganisms in the ecosystems of areas affected by climate change. Including screen and select soil microorganisms with potential to produce useful agricultural enzymes and soil microorganisms that promote plant growth Including independent nematodes that are indicators of the condition of agricultural ecosystems to guide the selection of useful soil microorganisms in agriculture to increase crop yields.

Activity 1 Study on biology and ecology of soil microorganisms in areas effected by climate change in Pai River Basin

The population and species of bacteria from areas affected by climate change in Pai River basin in 2017 were 1,852 species of bacteria found in downstream agricultural areas, 2,567 species in downstream forests, 1,838 species in upstream agriculture and 2,511 species in upstream forests. In 2018, the number of bacteria found 928 species in downstream agricultural areas, 987 species in downstream forests, 941 species in upstream agriculture and 955 species in upstream forests. In 2019, the number of bacteria found 806 species in upstream agricultural areas, 1,199 species in upstream forests, 955 species in downstream agriculture and forests. downstream found 1,163 species, where the number of bacterial populations found in each area varied according to land use conditions. In addition, the amount of bacteria found depends on the season. But bacterial populations depends on the land use nature. Fungal communities resulting from climate or land use changes of upstream and downstream areas. The main fungal phylotype was identified in 5 phylums in order as follows: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota and Zygomycota, which were found in all areas both in forest soil and in agricultural plots. The most common soil fungi, Nectriaceae and Fusarium were the predominant types of fungi in this study. Most fungal communities are classified as Ascomycota and Basidiomycota phylum. But with different quantities Diversity within a particular area or ecosystem, usually represented by the number of organisms. For example, the abundance of species (alpha diversity) in ecosystems decreases with distance from upstream and downstream, which positively correlates with fungal diversity. The diversity of actinobacteria over a three-year period (2017-2019) has 92 genus Actinobacteria. The variety of actinobacteria is highest in upstream areas, especially in agricultural soils. The dominant class is highly fertile and is common in all areas: class Actinobacteria and Thermoleophilia. The most fertile, and the family Streptomycetaceae, is the most fertile family of this order. The most common dominant genus is Streptomyces.

Activity 2: Study of the potential of useful soil microorganisms in agriculture in areas effected by climate change in the Pai River basin.

Study of the potential of rhizobium isolated from climate change-affected areas of Pai River Basin. By selecting 30 strains of rhizobium, 3 strains were found suitable and efficient in nitrogen fixation of soybeans, DASA32019, DASA32025 and DASA32116, three strains were used

together. It was found that yields better than bio-fertilizers for soybeans produced by the Department of Agriculture. Studying the potential of bacteria to promote plant growth There were 33 isolates of pure agar cultures from soil that were able to grow on solid agar and classified by the MALDI-TOF technique into two genera: *Azospirillum* and *Azotobacter*. *Azotobacter* genus had the ability to fix. Nitrogen was higher than *Azospirillum* but had lower IAA capacity, when 5 *Azospirillum* and 4 *Azotobacter* were studied for promoting growth of maize cultivars 999, native rice and native garlic. It was found that bacteria isolate AP1 had the highest growth-promoting ability of all three test plants, followed by AT1 bacteria isolate. By separation methods such as soil dilution plate, soil plate, alcohol treatment and heat treatment on food, Glucose Ammonium Nitrate Agar (GAN) found a total of 350 species of soil fungi, classified into 18 genera, 20 species, including 4 genus Zygomycota (*Absidia*, *Gongronella*, *Mucor* and *Rhizopus*) 13 genera Ascomycota (*Aspergillus*, *Eupenicillium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Hamigera*, *Myrothecium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Verticillium* and *Xylaria*) 1 genus Basidiomycota (*Sclerotium*). Phosphate degradability Growth accelerator formation: found 24 soil fungi to produce cellulase enzyme, 10 soil fungi able to degrade phosphate, 53 soil fungi were capable of producing siderophore, and found 91 soil fungi produced Indole acetic acid (IAA). Strains were tested for the ability to inhibit the growth of four plant pathogens and found 15 strains that inhibited the growth of *Rhizoctonia solani*. 11 strains could inhibit *Sclerotium rolfsii*, 15 strains inhibit *Fusarium oxysporum* and 24 soil fungi inhibited growth of *Colletotrichum gloeosporioides*. Potential of actinomycetes were isolated from soil in Pai River Basin, Mae Hong Son Province by testing of plant growth promoting properties, including siderophore formation test, phosphate solubilization and indoleacetic acid formation test (IAA). The result found that *Streptomyces* sp. WF 4-1 had the highest siderophore capacity. *Streptomyces* sp. WF 10-1 had the highest phosphate solubility. Plant growth promoting properties including siderophore formation test, phosphate solubilization and indoleacetic acid formation test the results found that 42, 32 and 29 isolates, respectively. The antagonism to plant pathogens was found that *Streptomyces* sp. WF 4-1 was effective in inhibiting the growth of pathogenic bacteria. *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* and *X. oryzae* pv. *oryzae* were the best, while *Streptomyces* sp. WA 20-3 was effective against plant pathogenic bacteria *X. campestris* pv. *campestris*. The most tested for inhibition of plant pathogenic fungi were *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora palmivora*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia* sp. And *Sclerotium rolfsii*. *Streptomyces* sp. RF 23-1 was found to be effective in inhibiting the test pathogens. Can be of all kinds Selection of actinomycetes with non-antagonistic properties It was found that *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 and RF 23-1 were not antagonistic to the three strains of rhizobium. There were *Bradyrhizobium*

japonicum DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 and *B. daqingense* DASA 03084. Mung bean seedlings had death symptoms when *S. rolfsii* pathogenic fungi were infected. *Streptomyces* sp. WF 4-1. RF 12-4 moderately pathogenic at level 2, cultivation of *E. carotovora* pv. *carotovora* pathogenic bacteria caused mild mung bean seedlings to level 1. Nematode population studies in upstream and downstream areas. Pai, Mae Hong Son Province by using the whitehead tray technique to separate the nematode from the soil samples. Nematode can be divided into 4 groups: those that eat bacteria. Classified as a genus *Dolichorhabditis* and *Rhabditis*, fungal species classified as *Aphelenchus*, Predator group, *Mononchus* and pest group. *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*, *Paratylenchus*, and *Rotylenchulus*. The group that found the highest number of nematodes in upstream soil samples was Bacteria eating group Followed by the group ate 132 and 98 fungi per 500 g of soil during November. In this period, 334 nematode populations were found per 500 g of soil, and the lowest was found in March, equal to 180 nodes per 500 g of soil. Microbial selection to produce enzymes, cellulase and chitines from the soil of the Pai River basin *Bacillus velezensis* isolate 2CMC-1.1 and *Paenibacillus xylanilyticus* isolate 1Ch 2.4 can be selected, which is effective in the production of enzyme.

Activity 3 Utilization of soil microorganisms to increase crop production potential in areas effected by climate change in the Pai River basin.

The use of rhizobium isolated from the Pai Basin to develop it as a bio-fertilizer product to increase soybean yield. The number of nodule of red-eyed soybeans cultivated during the two rainy seasons were not statistically different. Dry weight, nodule fresh weight, root weight, dry weight, fresh weight, plant, dry weight, plant And the nitrogen fixation values for both 2 years were not statistically different. Height of the plant at harvest time Number of pods per plant, weight 100 seeds, yield weight in harvested area and yield weight per rai There was no statistical difference between the 2-year trials. The number of seeds per plant in year 1 was not statistically different. While the number of seeds per plant in the second year, it was found that the number of seeds per plant was 3-3-0 kg N-P2O5-K2O per rai and 3-3-0 kg of chemical fertilizer application. N-P2O5-K2O per rai with rhizobium There was a statistically significant difference. By the process of applying chemical fertilizers at the rate of 3-3-0 kg N-P2O5-K2O per rai together with rhizobium, the number of seeds per plant was the greatest of 124 seeds per plant. To increase rice yield in communities effected by climate change in the Pai River basin Mae Hong Son Province during the year 2019–2020 using growth promoting bacteria of two genus isolated from the Pai River basin area, *Azospirillum* sp. Isolate AP1 and *Azotobacter* sp. AT1 isolate compared with reference bacteria. *Azospirillum brasilense* isolate DASF04005 used in the production of PGPR-II bio-fertilizers for rice of the Department of Agriculture. The study was conducted in upstream (Pai District) and downstream (Muang District), Mae Hong Son Province. The results showed that the

use of bacteria promoted the growth of both genus plants isolated from the Pai River Basin (AP1 and AT1). The indigenous rice cultivar yielded no different and not different from the reference bacteria of the Department of Agriculture (DASF04005). It was also found that the use of bacteria to promote the growth of both genus *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp. together with the application of chemical fertilizers, the recommended rate based on soil analysis values can help increase the yield of indigenous rice cultivars. The process of using bacteria promotes plant growth in increasing the yield of maize in the affected community areas effected by climate change in the Pai River basin Mae Hong Son Province The results of the experiment showed that the two genera of growth-promoting bacteria, *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp., Isolated from the Pai River basin area were not different in cultivation of maize cultivar NH-146 and also found that the use of bacteria promotes the growth of both genera Combined with chemical fertilization, it can improve yield and yield quality of NH-146 maize. The effect of using bacteria promotes plant growth in garlic production in Pai River basin. The results of the study showed that garlic yielded between 1,499 - 3,076 kg / rai. Method 2: Chemical fertilizer 10-5-5 kg. N-P2O5-K2O per rai gave the highest yield at 3,076 kg / rai. In the downstream area Nutrient accumulation in the root, tuber and leaf of garlic from the Pai upstream field showed that the accumulation of nitrogen, phosphorus and potassium in the roots was found. Not statistically different. In the head, phosphorus accumulation was not significantly different. But the accumulation of nitrogen method 4: plant growth-promoting bacteria *Azotobacter* sp. AT9 had nitrogen accumulation. And potassium was the most at 1.63 percent and 1.29 percent, respectively, in the potassium deposition leaves method 4 the growth-promoting bacteria of *Azotobacter* sp. AT9 had the highest nitrogen and phosphorus accumulation at 0.91% and 2.0%. The difference was statistically significant. Nutrient accumulation in the roots, tubers and leaves of garlic from the downstream experiments of Pai found that phosphorus accumulation and root potassium not statistically different. The phosphorus and potassium deposition were not statistically different, but nitrogen accumulation was found that method 4 using bacteria promoted the plant growth *Azotobacter* sp. AT9 the highest nitrogen accumulation at 2.41%. The difference was statistically significant. In the leaves, the potassium accumulation was not significantly different. But the accumulation of nitrogen in the fifth method, the growth promoting bacteria of *Azospirillum* sp. AP1 was applied the most at 0.94 percent. The difference was statistically significant. Phosphorus accumulation in method 4 put the growth promoting bacteria of *Azotobacter* sp. AT9 plant at 1.6%, the most statistically significant difference. From the results of the experiment, each type of growth-promoting bacteria was not different in garlic cultivation. And yielding garlic close to the use of chemical fertilizers

กิจกรรมที่ 1

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพ
ภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

Study on Biology and Ecology of Soil Microorganisms in Areas Effected by Climate Change
in Pai River Basin

ชื่อผู้วิจัย

มนต์ชัย มนัสสิลา จิตรา เกาะแก้ว อำนวย เอี่ยมวิจารย์ กัลยกร โปร่งจันทิก อมรรัตน์ ใจยะเสน
กนกอร บุญพา กิตจเมธ แจ้งศิริกุล บรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์ สุริยนต์ ดีดเหล็ก

Monchai Manassila Jitra Kokaew Amnat Eamvijarn Kunlayakorn Prongjunthuek
Amornrat Chaiyasen Kanokon Bunpha Kitjamate Jangsirikul Bhannapitch Samrit Suriyon
Deedlek

คำสำคัญ (Key words)

สภาวะโลกร้อน การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ชุมชนจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ทางการเกษตร
Global warming, Climate change, Microorganism community, Agricultural Microorganisms

บทคัดย่อ

การศึกษาจำนวนประชากรและชนิดของแบคทีเรียจากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ
บริเวณลุ่มน้ำปาย ทำการทดลองตั้งแต่ ฤดูหนาว ปี 2559 (เดือนธันวาคม 2559) ถึง ฤดูฝน ปี 2562 (เดือนสิงหาคม
2562) เพื่อให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรแบคทีเรียในแต่ละฤดู รวมถึงจำนวนประชากรแบคทีเรียใน
สภาพที่มีการใช้ประโยชน์ต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ปริมาณแบคทีเรียจากตัวอย่างดินปี 2560-2562 ในแต่ละฤดูที่นับได้
บนอาหาร Nutrient agar (NA) มีปริมาณอยู่ระหว่าง $1.36 \times 10^6 - 1.23 \times 10^7$ เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณ
แบคทีเรียมากที่สุดพบในดินป่าต้นน้ำ (UF) ในฤดูหนาวปี 2560 มีปริมาณ 1.23×10^7 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณ
แบคทีเรีน้อยที่สุดพบในดินป่าปลายน้ำ (DF) ในฤดูฝนปี 2560 มีปริมาณ 1.36×10^6 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ความ
หลากหลายของแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ปี 2560 มีจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ
จำนวน 1,852 ชนิด ป่าปลายน้ำจำนวน 2,567 ชนิด เกษตรต้นน้ำจำนวน 1,838 ชนิด และป่าต้นน้ำจำนวน 2,511
ชนิด ปี 2561 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 928 ชนิด ป่าปลายน้ำ 987 ชนิด เกษตรต้นน้ำ 941
ชนิด และป่าต้นน้ำ 955 ชนิด ปี 2562 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ เกษตรต้นน้ำ 806 ชนิด ป่าต้นน้ำ 1,199
ชนิด เกษตรปลายน้ำ 955 ชนิด และป่าปลายน้ำ 1,163 ชนิด ซึ่งจำนวนประชากรแบคทีเรียที่พบในแต่ละพื้นที่มีความ
แตกต่างกันตามสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียที่พบขึ้นอยู่กับอยู่กับฤดูกาล แต่จำนวนประชากรใน
แบคทีเรียขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน ชุมชนของเชื้อราที่เป็นผลมาจากสภาพภูมิอากาศหรือการ
เปลี่ยนแปลงการใช้ที่ดินของพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำ พบว่าสามารถจำแนก phylotype เชื้อราที่สำคัญได้ 5 ไฟลัม
เรียงตามลำดับดังนี้ Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota

ซึ่งพบในทุกพื้นที่ทั้งในดินป่าและดินในแปลงเกษตร กลุ่มเชื้อราในดินที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ Nectriaceae และมีรา *Fusarium* เป็นราชนิดเด่นที่ตรวจพบได้มากในการศึกษาครั้งนี้ ผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นว่ามีเชื้อราที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม incertae sedis จำนวนมากซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อราที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ ความแตกต่างที่โดดเด่นระหว่างพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่ทางการเกษตร ในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ในฤดูหนาวและฤดูร้อนของแต่ละปีมากที่สุดทั้งในดินพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าไม้ ชุมชนของเชื้อราส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ความหลากหลายภายในพื้นที่หรือระบบนิเวศเฉพาะซึ่งโดยปกติจะแสดงด้วยจำนวนของสิ่งมีชีวิต เช่นความอุดมสมบูรณ์ของชนิดพันธุ์ (Alpha diversity) ในระบบนิเวศนั้นจะลดลงตามระยะทางจากต้นน้ำและปลายน้ำซึ่งจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหลากหลายของเชื้อรา ความหลากหลาย และหน้าที่ของแอกติโนแบคทีเรียในสามฤดูได้แก่ หนาว ร้อน ฝน ตลอดระยะเวลา 3 ปี (2560-2562) มี 92 สกุลที่เป็น Actinobacteria ความหลากหลายของแอกติโนแบคทีเรียสูงที่สุดในพื้นที่ต้นน้ำโดยเฉพาะในดินเกษตร class เด่นที่พบมีความอุดมสมบูรณ์สูงและพบได้บ่อยในทุก ๆ พื้นที่ ได้แก่ class Actinobacteria และ Thermoleophilia ใน class Actinobacteria order Streptomycetales เป็น order ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุด และ family Streptomycetaceae เป็น family ที่มีความอุดมสมบูรณ์ที่สุดของ order นี้ สกุลเด่นที่พบมากที่สุด ได้แก่ Streptomyces

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรแบคทีเรีย นอกจากนี้ผลกระทบทางอ้อมของปรากฏการณ์โลกร้อน โดยเฉพาะผลของความชื้นในดินมีผลโดยตรงต่อชุมชนประชากรแบคทีเรียมากกว่าผลกระทบโดยตรงของอุณหภูมิที่อุ่นขึ้น ปริมาณฝนที่ตกควบคู่กับอากาศที่อุ่นขึ้นมีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อชุมชนแบคทีเรีย โครงสร้างชุมชนเชื้อราพบว่าการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของชุมชนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของความอุดมสมบูรณ์ ชุมชนเชื้อราในพื้นที่ต้นน้ำทุกตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากมนุษย์ในพื้นที่ต้นน้ำสามารถส่งผลต่อการมีอยู่และความอุดมสมบูรณ์ ที่อยู่ปลายน้ำ ซึ่งส่งผลให้โครงสร้างชุมชนเชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงจำเป็นต้องรักษาระบบนิเวศของพื้นที่ป่าต้นน้ำเพื่อการอนุรักษ์สายพันธุ์ของเชื้อรา ชีวภูมิศาสตร์ของแอกติโนแบคทีเรียถูกควบคุมโดยตัวแปรที่เกี่ยวกับดินเป็นหลักและมีความแตกต่างจากชีวภูมิศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตพื้นฐาน การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างชุมชนมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของความอุดมสมบูรณ์มากกว่า ซึ่งบ่งชี้ว่ามีชุมชนแอกติโนแบคทีเรียอยู่ทั่วไปบริเวณพื้นที่ต้นน้ำ – ปลายน้ำและพบได้ทั้งในพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรกรรม

Abstracts

Study of population and bacterial species from climate change-affected areas in Pai River Basin. Experiments were conducted from winter 2016 (December 2016) to the rainy season 2019 (August 2019) to determine the change in bacterial population in each season. This includes the number of bacterial populations under conditions of different uses in the Pai River basin. The number of bacteria from soil samples in 2017-2019 in each season was between 1.36×10^6 - 1.23×10^7 cells per 1 gram of soil. The highest bacterial content found in upstream forest soils (UF) in

winter 2017 was 1.23. The amount of bacteria found in the downstream forest (DF) in the rainy season of 2017 was 1.36×10^6 cells per gram of soil. Bacteria found in 1,852 downstream agricultural areas, 2,567 downstream forest species, 1,838 upstream agriculture and 2,511 upstream forests in 2018, the number of bacteria found in 928 downstream agricultural areas, 987 downstream forests, 941 upstream agriculture and 955 upstream forests. Species in 2019 The number of bacteria found in 806 upstream agricultural areas, 1,199 upstream forests, 955 downstream agriculture and 1,163 downstream forests, where as the number of bacterial populations found in each area differs according to land use conditions. In addition, the amount of bacteria found depends on the season but the number of bacterial populations depends on the land use nature. Fungal communities resulting from climate or land use changes of upstream and downstream areas. The main fungal phylotype was identified in 5 phylums in order as follows: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota and Zygomycota, which were found in all areas both in forest soil and in agricultural plots. The most common soil fungi, Nectriaceae and Fusarium, were the predominant types of fungi in this study. The analysis also showed that there were a large number of incertae sedis, most of which were not cultured. Notable differences between forest and agricultural areas in winter, summer and rainy season in winter and summer of each year are the most in soil, agricultural and forest areas. Most fungal communities are classified as Ascomycota and Basidiomycota phylum. But with different quantities Diversity within a particular area or ecosystem, usually represented by the number of organisms For example, the abundance of species (alpha diversity) in an ecosystem decreases with distances from upstream and downstream, which is positively correlated with fungal diversity, diversity and function of actinobacteria over three seasons: Cold, hot and rainy over a period of three years (2017-2019), there are 92 genus Actinobacteria. The variety of actinobacteria is highest in upstream areas, especially in agricultural soils. The dominant class is highly fertile and is common in all areas: class Actinobacteria and Thermoleophilia. The most fertile, and the family Streptomycetaceae, is the most fertile family of this order. The most common dominant genus is Streptomyces.

This study shows that climate change causes changes in bacterial population structure. In addition, indirect effects of global warming. Specifically, the effect of soil moisture has a direct effect on bacterial populations rather than the direct effect of warmer temperatures. The amount of precipitation, coupled with warmer air, has a significant impact on the bacterial community. Fungal community structure It was found that changes in the community structure were related to changes in fertility. Fungal communities in the upstream areas of all samples It shows that potential human impacts in upstream areas can affect their existence and fertility. Downstream Which resulted in significant changes in the structure of the fungal community. It is therefore

necessary to preserve the ecosystem of the watershed forest in order to preserve the species of fungi. The biogeography of actinobacteria is primarily governed by soil-related variables and differs from basic biogeography. Changes in community structure were more related to changes in fertility. This indicates that there is an active community of actinobacteria in the upstream and downstream areas and can be found in both forest and agricultural areas.

บทนำ

ในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน เป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันระหว่างกลางวัน (อุณหภูมิเฉลี่ยย้อนหลัง 10 ปี ตั้งแต่ 2548 ถึงปัจจุบัน เท่ากับ 38.4 องศาเซลเซียส) และกลางคืน (อุณหภูมิเฉลี่ยย้อนหลัง 10 ปี ตั้งแต่ 2548 ถึงปัจจุบัน เท่ากับ 9.8 องศาเซลเซียส) และในปัจจุบันมีการบุกรุกพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำปายที่เคยเป็นป่าอุดมสมบูรณ์มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ดินที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเศษซากอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ ให้เป็นดินที่อุดมสมบูรณ์ โดยการบุกรุกเข้าทำลายพื้นที่ป่าเพื่อทำการเกษตร และสร้างเป็นที่อยู่อาศัย รวมทั้งการพัฒนาเป็นพื้นที่ท่องเที่ยวเพื่อรองรับนักท่องเที่ยวจำนวนมาก สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศที่ดีของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศที่เกิดขึ้นนี้ทำให้จุลินทรีย์ในดินที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ รวมทั้งการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในดิน เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินถูกควบคุมด้วยหลายปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำฝน ปริมาณธาตุอาหาร และระดับของออกซิเจน แต่การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศส่งผลกระทบต่อโครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ดินไปในทิศทางบวกและลบ

ชุมชนจุลินทรีย์ดินจัดเป็นความเชื่อมโยงที่ซับซ้อนในระบบนิเวศเนื่องจากทำหน้าที่สำคัญในวัฏจักรคาร์บอนและไนโตรเจน ในปัจจุบันการศึกษาชุมชนจุลินทรีย์มีการพัฒนาวิธีที่รวดเร็ว แม่นยำ ไม่ต้องเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้สามารถศึกษาทั้งโครงสร้างและหน้าที่ของชุมชนจุลินทรีย์ดินได้ในสภาพที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติโดยส่วนใหญ่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ได้ เมตาจีโนมิกส์จึงเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการศึกษาประชากรของจุลินทรีย์ในธรรมชาติทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้และเพาะเลี้ยงไม่ได้ เช่น จุลินทรีย์ในน้ำ ในดิน ในลำไส้ของมนุษย์ ฯลฯ เพื่อให้สามารถนำมาประยุกต์เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป (Gill, 2006; Jones, 2008; Kurokawa, 2007; Manichanh, 2008; Sartor, 2008) เช่น การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ที่ผลิตเอ็นไซม์ไลเปส และเอสเทอเรส ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารเคมีอินทรีย์และกระบวนการทางอุตสาหกรรม จากดินบริเวณบ่อน้ำพุร้อนแจ้ซ้อน (Tirawongsaroj *et al.*, 2008) การศึกษาชุมชนจุลินทรีย์ดินโดยไม่มี การเพาะเลี้ยง ทำให้ลดข้อจำกัดในกลุ่มของจุลินทรีย์ดินที่ไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้โดยเฉพาะจุลินทรีย์ดินกลุ่มที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ (anaerobic) รวมไปถึงประชากรจุลินทรีย์ดินที่มีความซับซ้อนก็สามารถทำการศึกษาได้ (Bastone and Tyson, 2014) การศึกษาชุมชนจุลินทรีย์ดินโดยใช้ข้อมูลโดยรวมของ 16S rRNA ยีนเป็นวิธีที่นิยมใช้กันโดยมาก เมื่อมีการนำเทคนิค pyrosequencing เข้ามาประยุกต์ใช้ทำให้ความแม่นยำ ความน่าเชื่อถือ และโอกาสที่จะได้ข้อมูลของประชากรที่ต้องการศึกษาเพิ่มมากขึ้น pyrosequencing เป็นวิธีที่สามารถทำซ้ำแม่นยำครอบคลุมโครงสร้างประชากรทั้งหมดของชุมชนจุลินทรีย์ดินในสิ่งแวดล้อมที่ต้องการศึกษา (Pilloni *et al.*, 2012) ชุมชนจุลินทรีย์ดิน

มีความแตกต่างกันอย่างมากเนื่องจากสภาพของดินมีความแตกต่างกันทั้งขนาดอนุภาคดิน ปริมาณน้ำในดิน และช่องว่างภายในดินทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์แตกต่างกัน (Larsen *et al.*, 2012) จุลินทรีย์ในดินมีบทบาทที่สำคัญต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ รวมทั้งการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในดิน กิจกรรมเหล่านี้ถูกควบคุมด้วยหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณธาตุอาหาร และระดับของออกซิเจน อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ดินเพิ่มขึ้น มีการปรับตัวให้เข้ากับอุณหภูมิที่สูงขึ้น และมีอัตราการเจริญที่เร็วขึ้น การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศจึงมีผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินและมีผลต่อวัฏจักรของธาตุอาหาร เพื่อให้เข้าใจถึงการตอบสนองของประชากรจุลินทรีย์ สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชุมชนจุลินทรีย์ดินถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้อย่างแม่นยำถึงผลกระทบที่มีต่อระบบนิเวศและที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของราดินที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพพื้นที่ ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างพื้นที่ป่ากับพื้นที่ที่ถูกรบกวนจากการเกษตรกรรม ในแต่ละช่วงเวลาในรอบ 1 ปี ซึ่งสามารถระบุชนิดและปริมาณราดินชนิดต่าง ๆ ที่อาจพบเพิ่มขึ้นหรือลดลงไปจากแหล่งอาศัยในระบบนิเวศนั้น ๆ โดยข้อมูลเหล่านี้จะสามารถบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมทั้งการดำรงชีวิตของราดินบางชนิดที่สามารถปรับตัว และยังคงกิจกรรมที่ช่วยสนับสนุนเกื้อกูลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ โดยเฉพาะกลุ่มราดินที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงการใช้ประโยชน์จากราดินที่แยกได้จากพื้นที่ ที่ทำการศึกษาซึ่งเป็นราดินที่ผ่านการปรับตัวให้มีชีวิตอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ โครงการวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะผลิตพืชในชุมชนเกษตรของกลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ และเป็นพื้นที่ที่เริ่มมีการบุกเบิกป่าเพื่อทำการเกษตรกรรม นอกจากนี้ยังสามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการผลิตพืชสำหรับพื้นที่อื่น ๆ ที่กำลังจะได้รับผลกระทบจากสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง เพื่อบรรเทาหรือหยุดยั้งผลกระทบและความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นได้อย่างเป็นรูปธรรมและทันต่อเหตุการณ์ โดยกิจกรรมของราดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเป็นองค์ประกอบสำคัญในการนำมาเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืช

แอกติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์ที่มีสารพันธุกรรมคล้ายแบคทีเรีย แต่มีลักษณะผนังเซลล์เหมือนเชื้อราส่วนใหญ่สร้างเส้นใยและรงควัตถุสีต่าง ๆ ดำรงชีพแบบอิสระในน้ำ ดิน และเนื้อเยื่อพืช (Williams *et al.*, 1989) โดยมีบทบาทสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายเศษซากพืช ซากสัตว์และสามารถย่อยสลายสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อน แอกติโนมัยสีทบางชนิดพบอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ทำให้พืชอาศัยแสดงอาการของโรค แต่สามารถป้องกันพืชอาศัยจากการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค และยังส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชอาศัย และพบว่ามีแอกติโนมัยสีทบางชนิดที่อาศัยอยู่ในรากพืชสามารถทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนให้กับพืช (Okazaki, 2003) บางชนิดสามารถผลิตสาร secondary metabolite ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ (antibiotic) มีคุณสมบัติต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคน สัตว์ หรือในพืช เช่น antifungal, antibacterial (Strobel, 2003; Strobel and Daisy, 2003) ในการจัดจำแนกยังคงจัดเป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มักอยู่รวมกันเป็นเส้นสาย สามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่เป็นกรดถึงด่าง ประมาณ 5.5-10.0 ย่อยสลายสารที่แบคทีเรียและเชื้อราย่อยสลายได้ยาก เช่น ไขมัน โคติน จากรายงานของ El-Tarabily *et al.* (2008) รายงานพบแอกติโนมัยสีท *Micromonospora endolithica* ที่แยกได้จากรากและดินบริเวณรอบรากถั่วแขก *Phaseolus vulgaris* สามารถละลายฟอสเฟตในดินให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ยังมีรายงานว่าเมื่อนำมาใช้ร่วมกับ

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอย่างไรโซเปียมจะยิ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มคุณภาพของผลผลิตให้ดียิ่งขึ้น มี การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากเชื้อแอคติโนมัยสีทร่วมกับแบคทีเรียไรโซเปียม (Gregor *et al.*, 2003; Gangwar *et al.*, 2012; Myat *et al.*, 2012; Nimnoi *et al.*, 2014) ในไทยการศึกษาผลกระทบของการ เปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ดินยังมีน้อย ส่วนใหญ่เน้นการศึกษาถึง ผลกระทบต่อการผลิตพืช ระบบนิเวศป่าไม้ และการเปลี่ยนแปลงของวัฏจักรน้ำฝน จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เนื่องจากจุลินทรีย์ดินเป็นอีกกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับผลกระทบและยังส่งผลกระทบต่อระบบการผลิตพืชอีกด้วย

ระเบียบวิธีการวิจัย

1 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแบคทีเรียในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพ ภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การเก็บตัวอย่างดินในแต่ละพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ประกอบด้วย พื้นที่ต้นน้ำ และปลายน้ำ โดยจะเก็บดินในพื้นที่ ทำการเกษตร และดินป่าที่ยังไม่ถูกรบกวนจากการทำเกษตรกรรม โดยจุดดินลึกจากผิวดิน 15 เซนติเมตร ชุดอย่าง น้อย 5 หลุม ในพื้นที่ 25 ตารางเมตร ตักดินมาหุลุมละ 1 กิโลกรัม นำดินที่ได้มาผสมให้เข้ากัน ตักใส่ถุงพลาสติก ประมาณ 2 กิโลกรัม ปิดปากถุงให้แน่น บรรจุในถังน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดินทุกตัวอย่างเก็บ ที่อุณหภูมิต่ำจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ ทุกๆ 4 เดือนในรอบ 1 ปี ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย และบันทึก ข้อมูลพื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ พิกัด เนื้อดิน พีช pH ของดิน อุณหภูมิอากาศ วิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของดิน ได้แก่ ประเภทของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมใน ดิน นับปริมาณของแบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (Nutrient agar) โดยวิธี plate count จำแนกชนิด แบคทีเรียด้วยชุดยีน 16S rRNA อ่านลำดับเบสของดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิค Next generation sequence และจำแนกแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทางการเกษตรออกเป็นกลุ่มต่างๆ ทำการ เปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียที่พบในแต่ละครั้งของการเก็บ วิเคราะห์ข้อมูลของกลุ่มและปริมาณประชากร แบคทีเรียแต่ละชนิดตามพื้นที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา

2 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของราดินในพื้นที่ ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ บริเวณลุ่มน้ำปาย

การเก็บตัวอย่างดินในแต่ละพื้นที่ ต้นน้ำ และปลายน้ำ โดยเก็บดินในพื้นที่ทำการเกษตร และดินป่าที่ยังไม่ถูกร บกวนจากการทำเกษตรกรรม โดยจุดดินลึกจากผิวดิน 15 เซนติเมตร ชุดอย่างน้อย 5 หลุม ในพื้นที่ 25 ตารางเมตร ตักดิน มาหุลุมละ 1 กิโลกรัม นำดินที่ได้มาผสมให้เข้ากัน ตักใส่ถุงพลาสติกประมาณ 2 กิโลกรัม ปิดปากถุงให้แน่น บรรจุในถัง น้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดินทุกตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิต่ำจนกว่าจะทำการวิเคราะห์เก็บตัวอย่างดินใน บริเวณที่ทำการศึกษิตตามกรรมวิธี ทุกๆ 4 เดือนในรอบ 1 ปี ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย และบันทึกข้อมูลพื้นที่ เก็บตัวอย่าง ได้แก่ พิกัด เนื้อดิน แหล่งอาศัย พีช และสภาพอากาศ เช่น อุณหภูมิอากาศและดิน ความชื้นในอากาศ pH ของดิน และปริมาณน้ำฝน วิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของดิน ได้แก่ ประเภทของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ปริมาณ คาร์บอนและไนโตรเจนสะสมในดิน จำแนกชนิดราดินโดยวิธีสกัดดีเอ็นเอโดยตรงจากตัวอย่างดิน เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ ชุดยีน ITS อ่านลำดับเบสของดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิค Next generation sequence และจำแนกราดินที่มี ประโยชน์ทางการเกษตรออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ทำการเปรียบเทียบชนิดของราดินที่พบในแต่ละครั้งของการเก็บ วิเคราะห์

ความสัมพันธ์ของกลุ่มราดินต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Principal components analysis (PCA) เพื่อพิจารณาการกระจายตัวของราดินในแต่ละพื้นที่ วิเคราะห์ข้อมูลของกลุ่มและปริมาณประชากรราดินแต่ละชนิดตามพื้นที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา

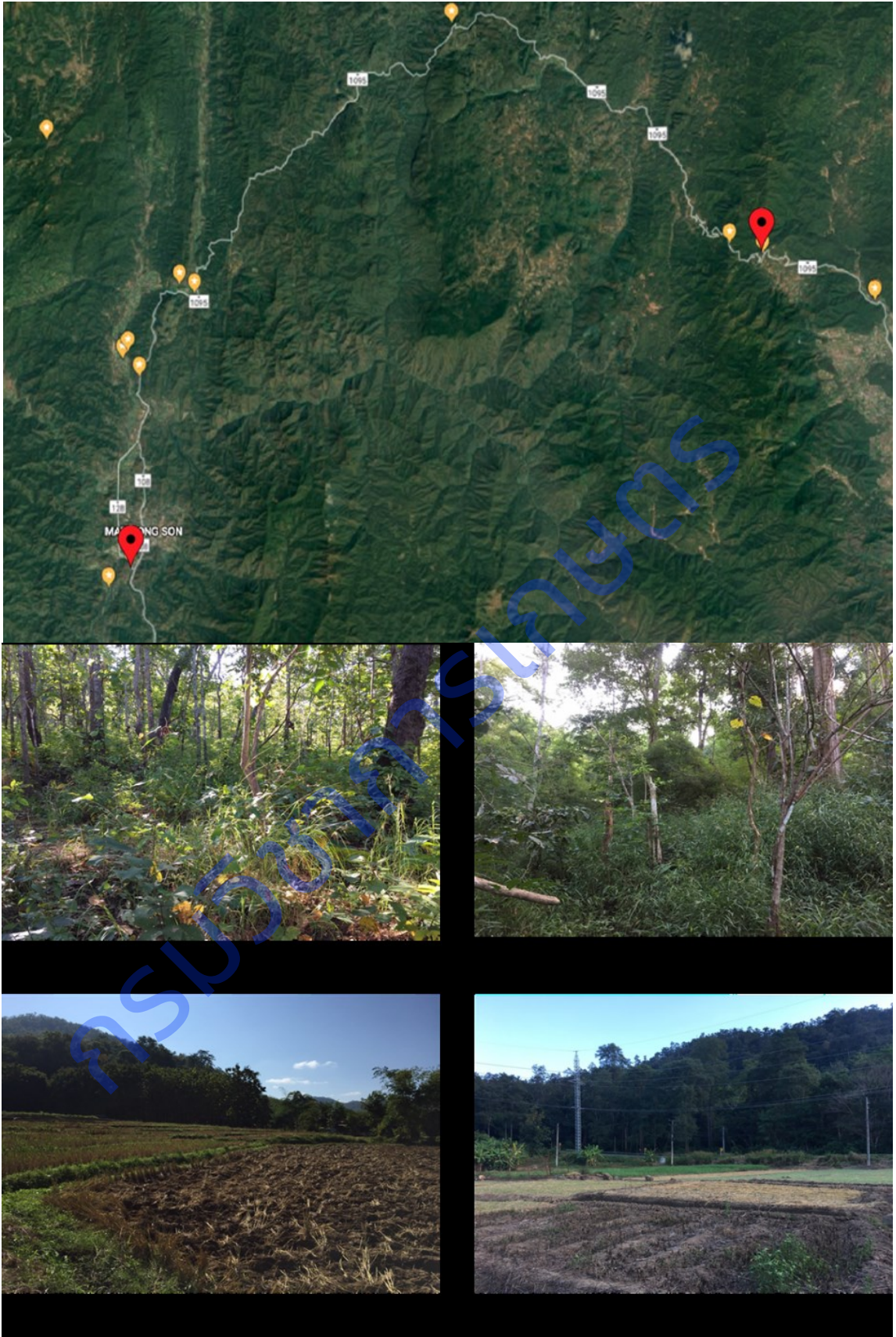
3 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแอกติโนมัยสีทในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การเก็บตัวอย่างดินในแต่ละพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ประกอบด้วย พื้นที่ต้นน้ำ และปลายน้ำ โดยจะเก็บดินในพื้นที่ทำการเกษตร และดินป่าที่ยังไม่ถูกรบกวนจากการทำเขตกรรม โดยชุดดินลึกจากผิวดิน 15 เซนติเมตร ชุดอย่างน้อย 5 หลุม ในพื้นที่ 25 ตารางเมตร ตักดินมาหลุมละ 1 กิโลกรัม นำดินที่ได้มาผสมให้เข้ากัน ตักใส่ถุงพลาสติกประมาณ 2 กิโลกรัม ปิดปากถุงให้แน่น บรรจุในถังน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดินทุกตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าจะทำการวิเคราะห์ ทุกๆ 4 เดือนในรอบ 1 ปี ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย และบันทึกข้อมูลพื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ พิกัด เนื้อดิน พีช pH ของดิน อุณหภูมิอากาศ วิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของดิน ได้แก่ ประเภทของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน จำแนกชนิดแอกติโนมัยสีทโดยวิธีสกัดดีเอ็นเอโดยตรงจากตัวอย่างดิน เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ 16S rRNA อ่านลำดับเบสของดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Next generation sequence และจำแนกแอกติโนมัยสีทที่มีประโยชน์ทางการเกษตรออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ทำการเปรียบเทียบชนิดของแอกติโนมัยสีทที่พบในแต่ละครั้งของการเก็บตัวอย่าง วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกลุ่มแอกติโนมัยสีทต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Principal components analysis (PCA) เพื่อพิจารณาการกระจายตัวของแอกติโนมัยสีทในแต่ละพื้นที่ วิเคราะห์ข้อมูลของกลุ่มและปริมาณประชากรแอกติโนมัยสีทแต่ละชนิดตามพื้นที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ข้อมูลเบื้องต้นของพื้นที่วิจัย

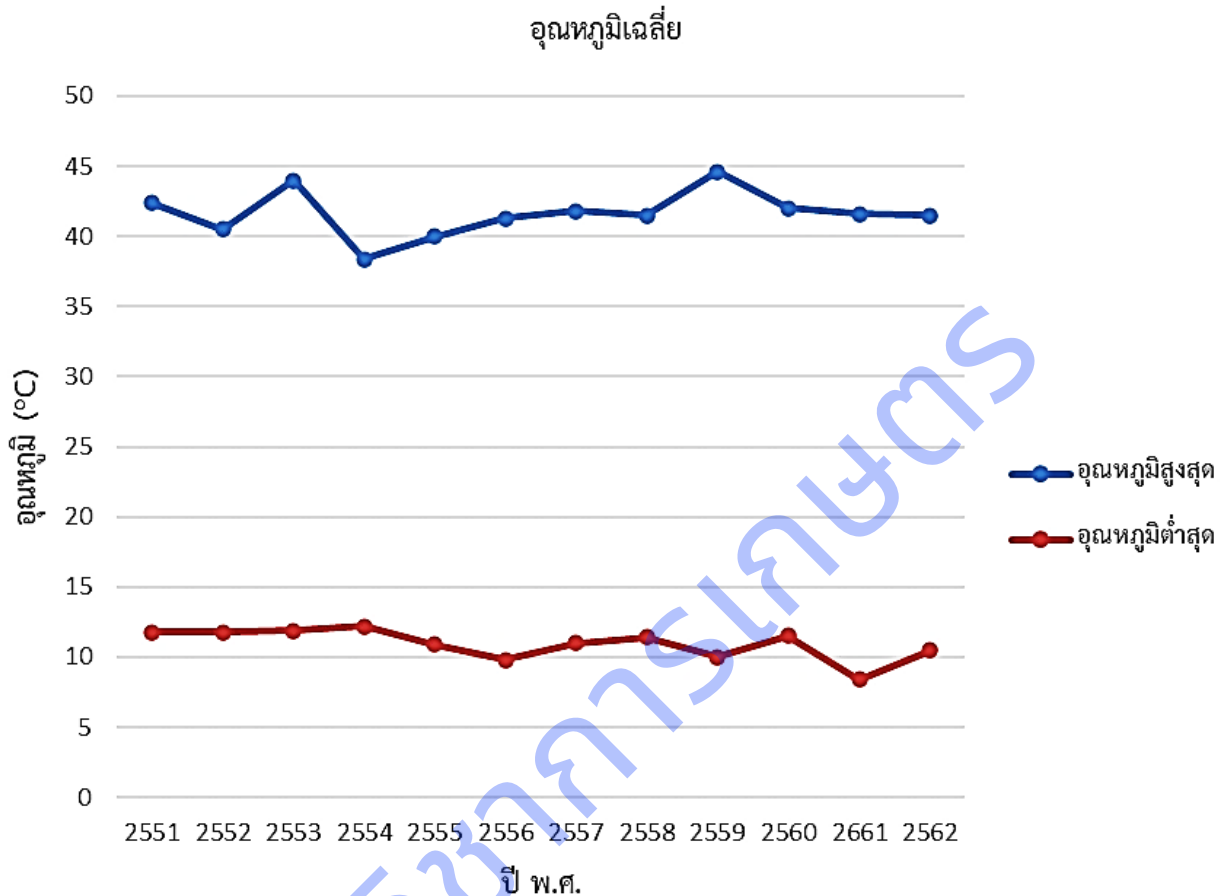
เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ทำการเกษตรและพื้นที่ป่าของบริเวณต้นน้ำ และปลายน้ำของกลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน พื้นที่ป่าต้นน้ำ-เกษตรต้นน้ำ ต. แม่มาตัง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน พื้นที่ป่าปลายน้ำ-เกษตรปลายน้ำ ต. ผาบ่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน (ภาพที่ 1, ตารางที่ 1) นำตัวอย่างดินมาศึกษาสมบัติทางเคมีของตัวอย่างดิน (ตารางที่ 2) สมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 1 พื้นที่ปฏิบัติการทดลอง

สภาพอากาศของพื้นที่ทำการทดลอง

อุณหภูมิสูงสุด-ต่ำสุด ย้อนหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551- 2562 ของลุ่มน้ำปาย อุณหภูมิสูงสุดที่วัดได้คือ 44 °C ในปี 2553 อุณหภูมิต่ำสุดที่วัดได้คือ 8.4 °C ในปี 2561 (ภาพที่ 2)

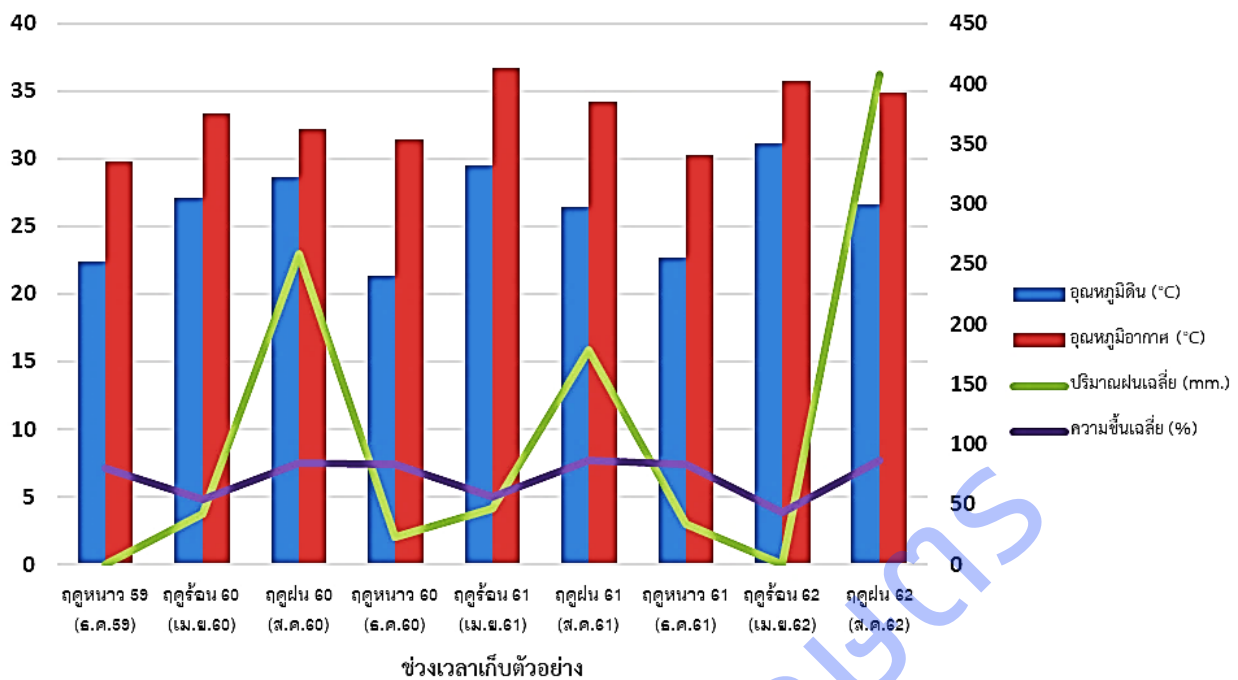


ภาพที่ 2 อุณหภูมิเฉลี่ยของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

*ข้อมูลอุณหภูมิอากาศจากสถานีตรวจอากาศแม่ฮ่องสอน

สภาพอากาศขณะทำการทดลองตั้งแต่ ฤดูหนาว ปี 2559 (เดือนธันวาคม 2559) ถึง ฤดูฝน ปี 2562 (เดือนสิงหาคม 2562) อุณหภูมิขณะเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิอากาศสูงสุด 36.7 °C ต่ำสุด 29.8 °C อุณหภูมิดินสูงสุด 31.1 °C ต่ำสุด 22.4 °C ปริมาณฝนเฉลี่ยในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง ปริมาณสูงสุด 407.8 mm. ต่ำสุด 0 mm. ความชื้นเฉลี่ยสูงสุด 86 % ต่ำสุด 43 % ตามลำดับ (ภาพที่ 3)

สภาพอากาศของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย



ภาพที่ 3 สภาพอากาศของพื้นที่การวิจัย

สมบัติดินในพื้นที่ศึกษา

ตัวอย่างดินจากพื้นที่ทำการเกษตรและพื้นที่ป่าของบริเวณต้นน้ำ และปลายน้ำของกลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน พื้นที่ป่าต้นน้ำ-เกษตรต้นน้ำ ต.แม่ณาเต็ง อ.ปาย จ.แม่ฮ่องสอน พื้นที่ป่าปลายน้ำ-เกษตรปลายน้ำ ต.ผาบ่อง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน ศึกษาสมบัติทางเคมีของตัวอย่างดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2544) ตัวอย่างดินลุ่มน้ำปาย มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 5.92-6.71 จัดเป็นดินกรดปานกลางถึงเป็นกลาง อินทรีย์วัตถุ 1.85-3.11 เปอร์เซ็นต์ จัดว่าเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางถึงสูง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 11.33-75.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 66.97-177.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง ดินป่าต้นน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6.57 จัดว่าเป็นดินกรดอ่อน อินทรีย์วัตถุ 2.29 เปอร์เซ็นต์เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 75.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 168.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง ดินเกษตรต้นน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6.71 จัดว่าเป็นกลาง อินทรีย์วัตถุ 3.11 เปอร์เซ็นต์เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 68.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 177.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง ดินป่าปลายน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6.32 จัดว่าเป็นดินกรดอ่อน อินทรีย์วัตถุ 2.77 เปอร์เซ็นต์เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 11.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับปานกลาง โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง ดินเกษตรปลายน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 5.92 จัดว่าเป็นดินกรดปานกลาง อินทรีย์วัตถุ 1.85 เปอร์เซ็นต์เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 12.43 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 66.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับปานกลาง จากข้อมูลสมบัติทางเคมีของดินลุ่มน้ำปายจัดเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางถึงสูง ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินอยู่ระหว่างกรดปานกลางถึงเป็นกลาง จาก

การสอบถามข้อมูลเบื้องต้นพื้นที่เกษตรต้นน้ำและพื้นที่เกษตรปลายน้ำ พืชที่ปลูกคือข้าวสลับกับพืชชนิดอื่น เช่น กระเทียม ถั่วเหลือง หรือข้าวโพด มีการใช้ทั้งปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างสูง

สมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน พบว่า ดินเป็นดินสีแดงปนเหลือง มีปริมาณ sand, silt และ clay เฉลี่ยอยู่ในช่วง 18-56, 25-41 และ 19-41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดินป่าต้นน้ำเป็นดินร่วนสีแดงปนเหลืองมีปริมาณ sand, silt และ clay อยู่ที่ 38 37 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดินเกษตรต้นน้ำเป็นดินร่วนเหนียวสีแดงปนเหลืองมีปริมาณ sand, silt และ clay อยู่ที่ 36, 39 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดินป่าปลายน้ำเป็นดินร่วนทรายสีแดงปนเหลืองมีปริมาณ sand, silt และ clay อยู่ที่ 56, 25 และ 19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และดินเกษตรปลายน้ำเป็นดินเหนียวสีแดงปนเหลืองมีปริมาณ sand, silt และ clay อยู่ที่ 18, 41 และ 41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 1 พื้นที่ทำการทดลอง

	ลักษณะพื้นที่	พิกัด GPS		ความสูงจากระดับน้ำทะเล
ป่าต้นน้ำ (UF)	ป่า	19° 23' N	97° 57' E	546 m
เกษตรต้นน้ำ (UA)	นาข้าว	19° 23' N	97° 57' E	544 m
ป่าปลายน้ำ (DF)	ป่า	19° 11' N	97° 59' E	270 m
เกษตรปลายน้ำ (DA)	นาข้าว	19° 11' N	97° 59' E	208 m

ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีของตัวอย่างดิน

รายละเอียด	สถานที่	pH (1:1)	Organic Matter.	Available P	Exchangeable K
			(%)	(mg/kg)	(mg/kg)
1. ดินเกษตรต้นน้ำ	จ. แม่ฮ่องสอน	6.71	3.11	68.71	177.10
2. ดินเกษตรปลายน้ำ	จ. แม่ฮ่องสอน	5.92	1.85	12.43	66.97
3. ดินป่าต้นน้ำ	จ. แม่ฮ่องสอน	6.57	2.29	75.71	168.90
4. ดินป่าปลายน้ำ	จ. แม่ฮ่องสอน	6.32	2.77	11.33	150.00

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสนาม และสมบัติทางกายภาพของดิน

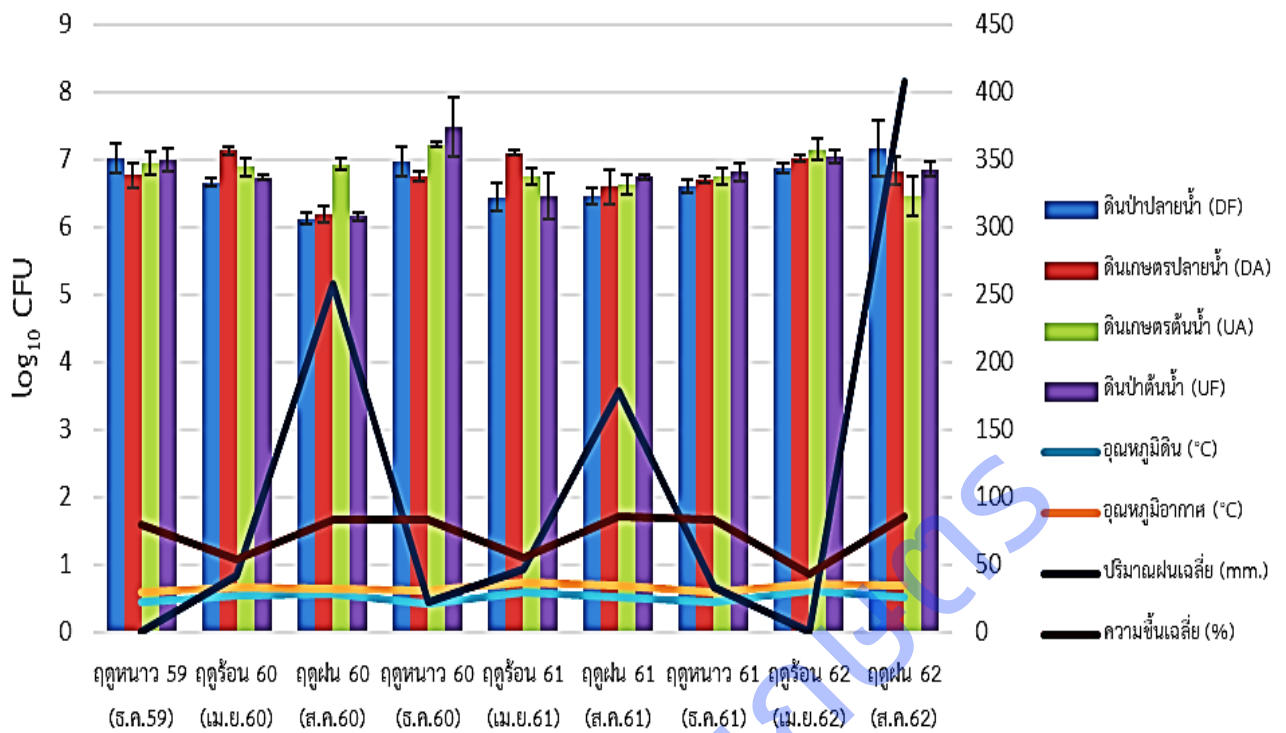
Position	Depth (cm)	Soil Color	structure	Particle size distribution (%)			Textural class
				Sand	Silt	Clay	
ดินเกษตรต้นน้ำ	0-30	10YR 3/2	subangular blocky structure	56	25	19	Sandy loam
ดินเกษตรปลายน้ำ	0-30	10YR 4/3	subangular blocky structure	36	39	25	Clay loam
ดินป่าต้นน้ำ	0-30	10YR 4/3 80% 10YR6/6 20%	subangular blocky structure	38	37	25	Loam
ดินป่าปลายน้ำ	0-30	7.5YR4/3 70% 7.5 YR 4/6 30%	Semi-angular blocky structure	18	41	41	Silty clay

1 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

1.1 ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

ปริมาณแบคทีเรียจากตัวอย่างดินปี 2560-2562 ในแต่ละฤดูที่นับได้บนอาหาร Nutrient agar (NA) มีปริมาณอยู่ระหว่าง $1.36 \times 10^6 - 1.23 \times 10^7$ เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณแบคทีเรียมากที่สุดพบในดินป่าต้นน้ำ (UF) ในฤดูหนาวปี 2560 มีปริมาณ 1.23×10^7 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณแบคทีเรียน้อยที่สุดพบในดินป่าปลายน้ำ (DF) ในฤดูฝนปี 2560 มีปริมาณ 1.36×10^6 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาพที่ 4) จากรายงานของ Christian *et. al.*, (2008) พบว่าลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินมีผลกระทบต่อสภาพดิน และชุมชนจุลินทรีย์มีแนวโน้มที่จะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน และลักษณะเนื้อดินเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีขององค์ประกอบชุมชนแบคทีเรีย องค์ประกอบของชุมชนแบคทีเรียมีความใกล้ชิดกับคุณลักษณะของดิน แต่ข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดินเพียงอย่างเดียวไม่สามารถใช้ในการทำนายองค์ประกอบของชุมชนจุลินทรีย์ได้ และสมบัติทางดินก็ไม่จำเป็นที่จะต้องสอดคล้องกันในแต่ประเภทการใช้ประโยชน์ที่ดิน นอกจากนี้การใช้วิธีการอ่านลำดับเบสเพื่อวิเคราะห์ประชากรในชุมชนแบคทีเรีย ให้ข้อมูลรายละเอียดของวิวัฒนาการของประชากรในแต่ละชุมชนและเป็นการประเมินรูปแบบทางชีววิทยาของชุมชนจุลินทรีย์นั้น จากการศึกษาของ Kamlesh *et. al.*, (2011) สรุปได้ว่าประวัติของการใช้ประโยชน์ที่ดินเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดองค์ประกอบของชุมชนจุลินทรีย์มากกว่าคุณสมบัติของพืชและดิน นอกจากนี้ชุมชนจุลินทรีย์ในดินที่ถูกบกรบกวนดูเหมือนจะกลับสู่สภาพเดิมเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่ง

ปริมาณแบคทีเรีย และสภาพอากาศของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

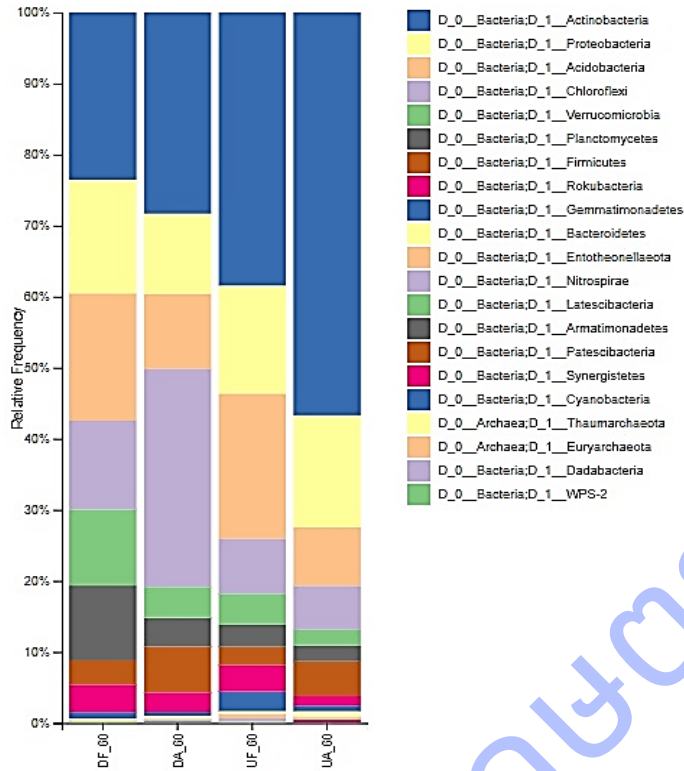


ช่วงเวลาเก็บตัวอย่าง

ภาพที่ 4 ปริมาณแบคทีเรีย และสภาพอากาศของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

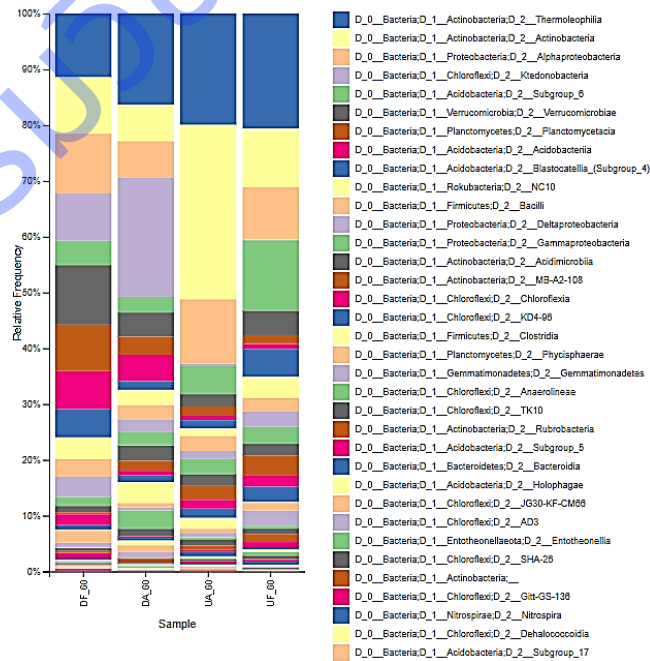
1.2 การศึกษาประชากรของชุมชนแบคทีเรียในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

ผลการจำแนกชนิดของแบคทีเรียด้วย 16S rRNA gene sequence โดยใช้วิธี Next generation sequencing จากตัวอย่างดินในปี 2560 มีจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่พบเมื่อจำแนก 16S rRNA gene พบว่า ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำจำนวน 1,852 ชนิด ป่าปลายน้ำจำนวน 2,567 ชนิด เกษตรต้นน้ำจำนวน 1,838 ชนิด และป่าต้นน้ำจำนวน 2,511 ชนิด โดยที่ประชากรแบคทีเรียในชุมชนจัดอยู่ในไฟลัม Actinobacteria ร้อยละ 56.70, 38.47, 28.31 และ 23.55 โดยพบในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ ส่วนไฟลัม Proteobacteria พบรองลงมาที่ร้อยละ 15.71, 15.14, 11.24 และ 15.96 โดยพบในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 5)



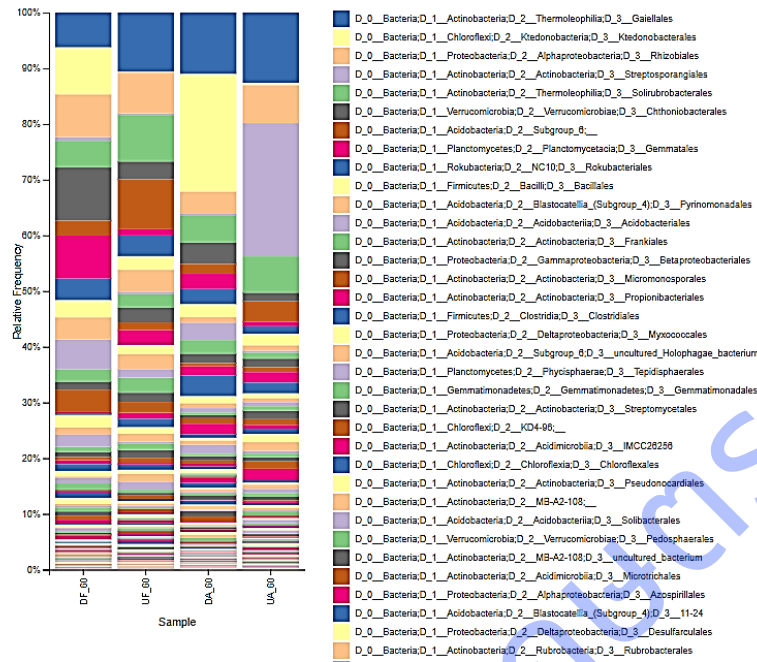
ภาพที่ 5 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับไฟลัมที่พบในปี 2560

แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria พบว่าอยู่ใน class Thermoleophilla ร้อยละ 20.58, 19.92 16.32 และ 11.37 ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ แบคทีเรียใน class Alphatroteobacteria ร้อยละ 9.37, 11.59, 6.56 และ 10.71 ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ(ภาพที่ 6)



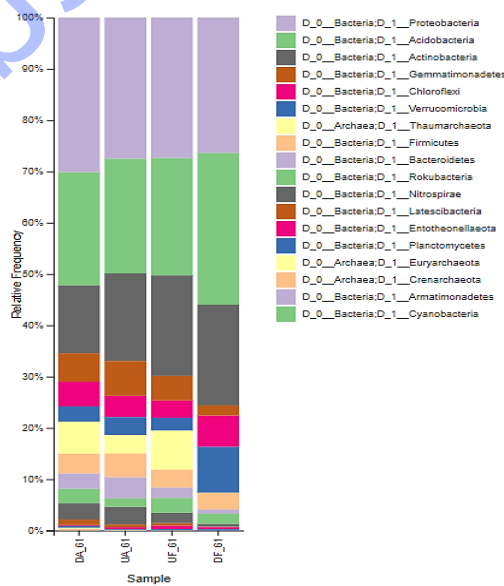
ภาพที่ 6 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับ class ที่พบในปี 2560

นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียใน order Rhizobiales ร้อยละ 7.66, 7.43, 3.97 และ 6.80 ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



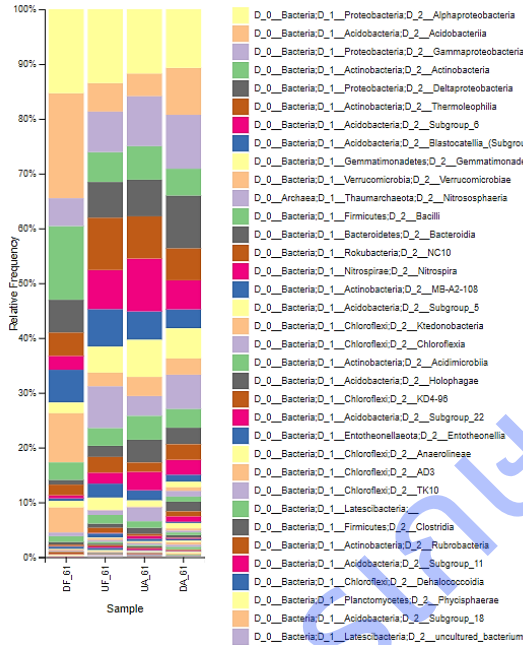
ภาพที่ 7 อัตราส่วนแบคทีเรียระดับ order ที่พบในปี 2560

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียจากตัวอย่างดินปี 2561 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 928 ชนิด ป่าปลายน้ำ 987 ชนิด เกษตรต้นน้ำ 941 ชนิด และป่าต้นน้ำ 955 ชนิด โดยที่ประชากรแบคทีเรียในชุมชนจัดอยู่ในไฟลัม Proteobacteria ร้อยละ 30.12, 27.49, 27.37 และ 26.37 โดยพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำและป่าปลายน้ำ ตามลำดับ ส่วนไฟลัม Acidobacteria พบรองลงมาที่ร้อยละ 22.10, 22.36, 22.89 และ 29.59 โดยพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำและป่าปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 8)



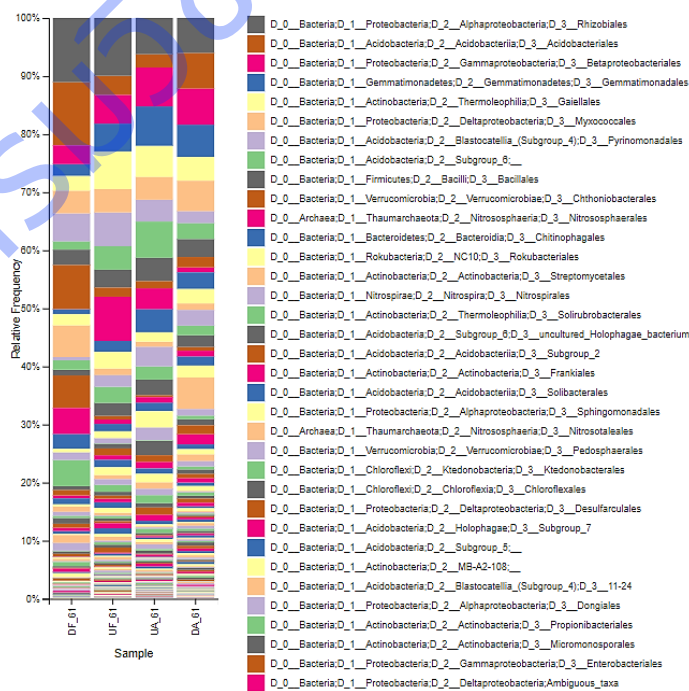
ภาพที่ 8 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับไฟลัมที่พบในปี 2561

แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria พบว่าอยู่ใน class Alphaproteobacteria ร้อยละ 15.33, 13.48, 11.73 และ 10.71 ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรต้นน้ำ และเกษตรปลายน้ำ ตามลำดับ และแบคทีเรียใน class Acidobacteriia ร้อยละ 19.16, 5.24, 4.16 และ 8.56 ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรต้นน้ำ และเกษตรปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 9)



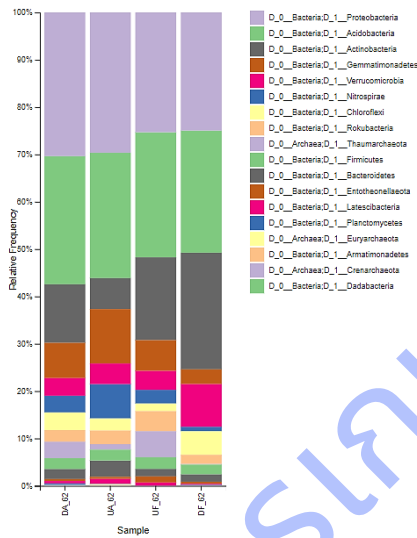
ภาพที่ 9 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับ class ที่พบในปี 2561

นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียใน order Rhizobiales ร้อยละ 11.05, 9.95, 6.24 และ 6.01 ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรต้นน้ำ และเกษตรปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 10)



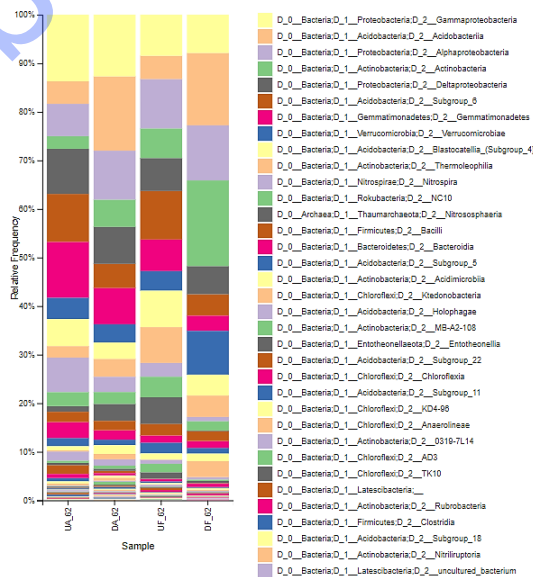
ภาพที่ 10 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับ order ที่พบในปี 2561

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียจากตัวอย่างดินปี 2562 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ เกษตรต้นน้ำ 806 ชนิด ป่าต้นน้ำ 1,199 ชนิด เกษตรปลายน้ำ 955 ชนิด และป่าปลายน้ำ 1,163 ชนิด โดยที่ประชากรแบคทีเรียในชุมชนจัดอยู่ในไฟลัม Proteobacteria ร้อยละ 30.36, 29.64, 25.32 และ 24.96 โดยพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำและป่าปลายน้ำ ตามลำดับ ส่วนไฟลัม Acidobacteria พบรองลงมาที่ร้อยละ 22.10, 22.36, 22.89 และ 29.59 โดยพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำและป่าปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 11)



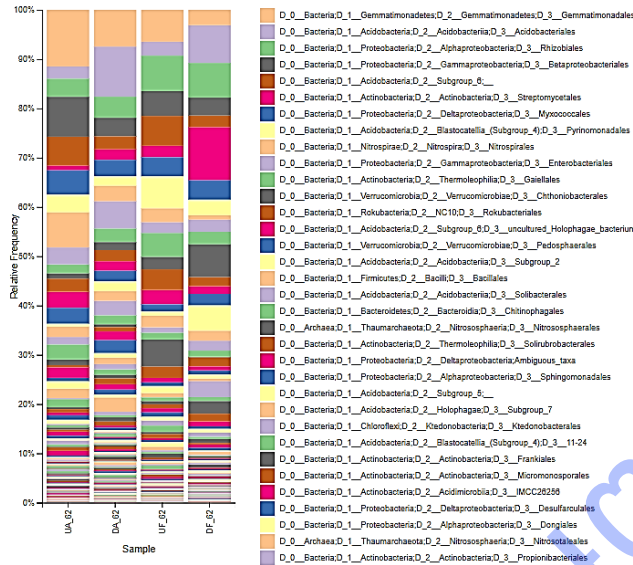
ภาพที่ 11 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับไฟลัมที่พบในปี 2562

แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria พบว่าอยู่ใน class Gammaproteobacteria ร้อยละ 13.72, 12.70, 8.45 และ 8.87 ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ และแบคทีเรียใน class Alphaproteobacteria ร้อยละ 6.64, 10.07, 10.12 และ 11.32 ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรต้นน้ำ และเกษตรปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 12)



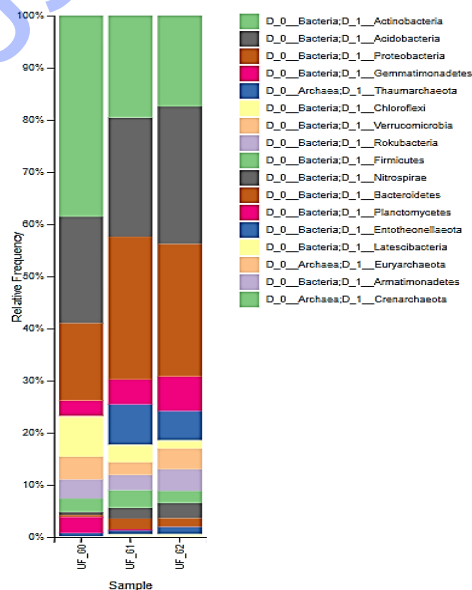
ภาพที่ 12 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับ class ที่พบในปี 2562

นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียใน order Rhizobiales ร้อยละ 3.67, 4.27, 7.19 และ 7.02 ในพื้นที่เกษตร
ต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ และป่าปลายน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 13)



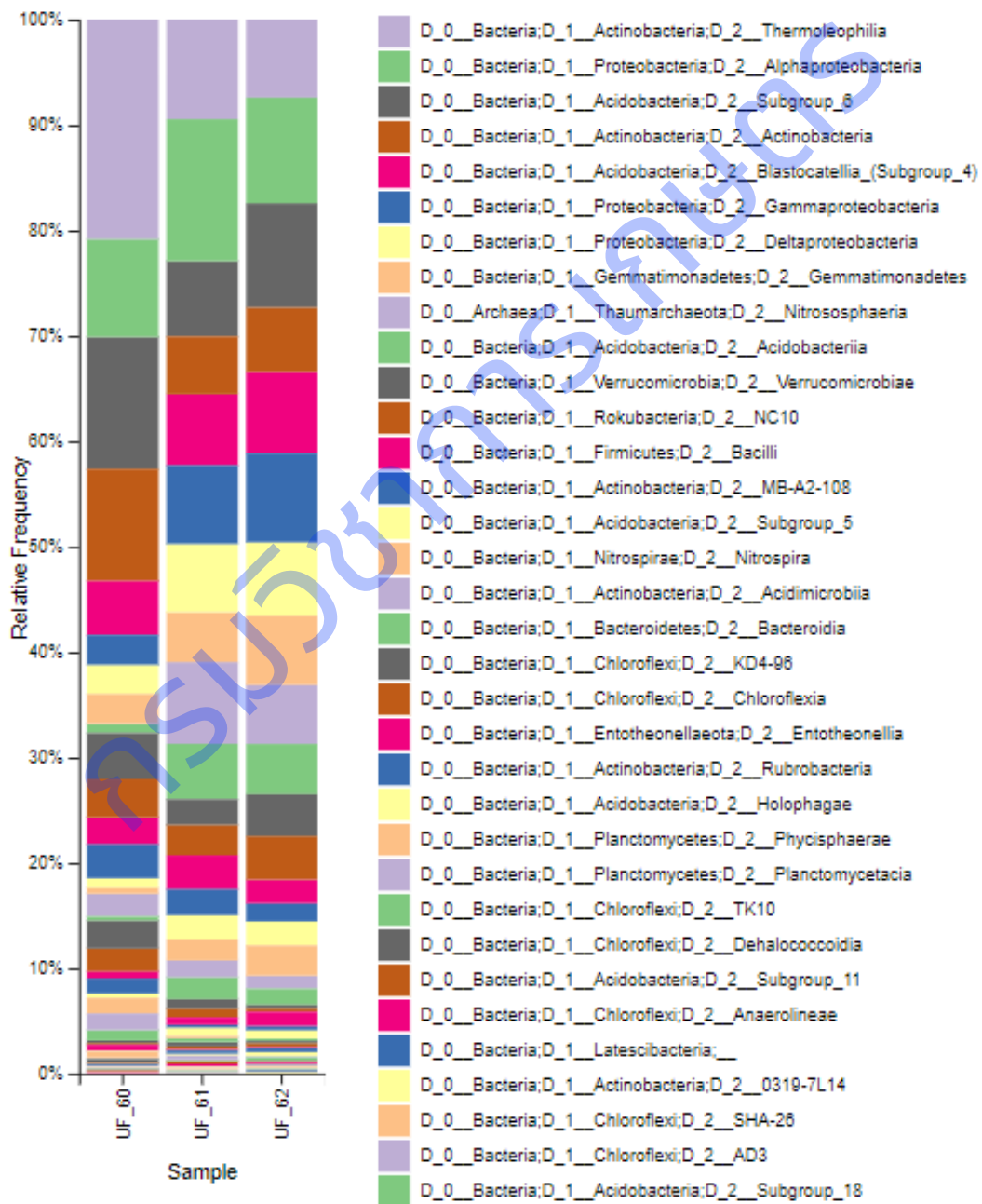
ภาพที่ 13 อัตราส่วนประชากรในชุมชนแบคทีเรียระดับ order ที่พบในปี 2562

การศึกษาประชากรแบคทีเรียในพื้นที่ป่าต้นน้ำระหว่างปี 2560 ถึงปี 2562 พบว่าประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือ แบคทีเรียในไฟลัม Actinobacteria, Acidobacteria และ Proteobacteria โดยมีอัตราส่วนที่พบในประชากรร้อยละ 38.54, 20.47 และ 14.81 ตามลำดับ ในปี 2561 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria, Acidobacteria และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 27.36, 22.88 และ 19.53 ตามลำดับ และในปี 2562 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Acidobacteria, Proteobacteria และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 26.40, 25.39 และ 17.42 ตามลำดับ (ภาพที่ 14)



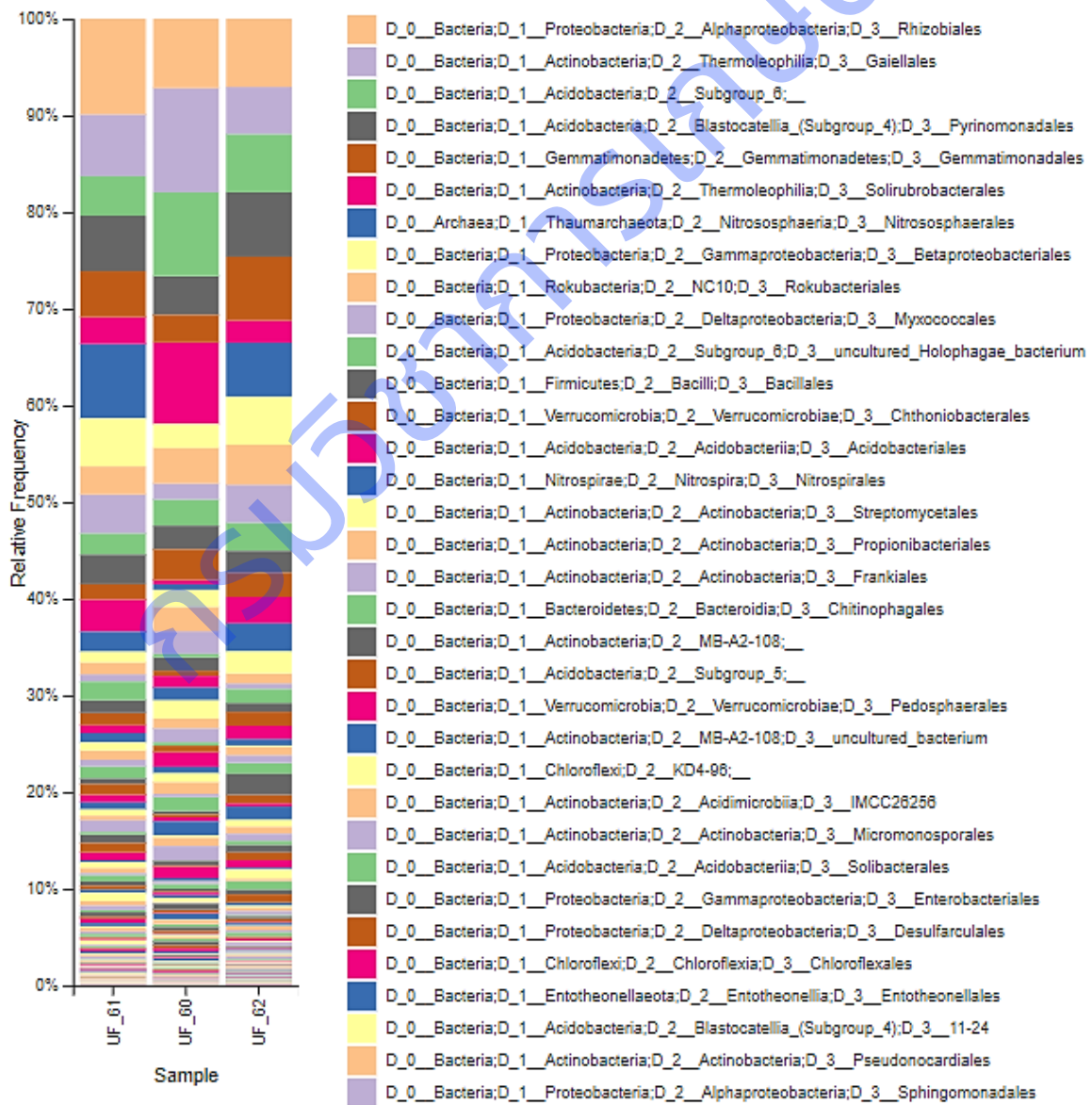
ภาพที่ 14 ประชากรแบคทีเรียระดับไฟลัมในพื้นที่ป่าต้นน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่ป่าต้นน้ำระดับ class พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน class Thermoleophilia, Alphaproteobacteria, Acidobacteria subgroup 6 และ Actinobacteria มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 20.85, 9.24, 12.54 และ 10.59 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน class Alphaproteobacteria, Thermoleophilia, Gammaproteobacteria, Acidobacteria subgroup 6, Blastocatellia, Deltaproteobacteria และ Actinobacteria มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 13.45, 9.45, 7.45, 7.14, 6.73 และ 6.47 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน class Thermoleophilia, Acidobacteria subgroup 6, Actinobacteria, Alphaproteobacteria และ Blastocatellia สัดส่วนประชากรร้อยละ 20.85, 12.52, 10.59 9.24 และ 5.14 ตามลำดับ (ภาพที่ 15)



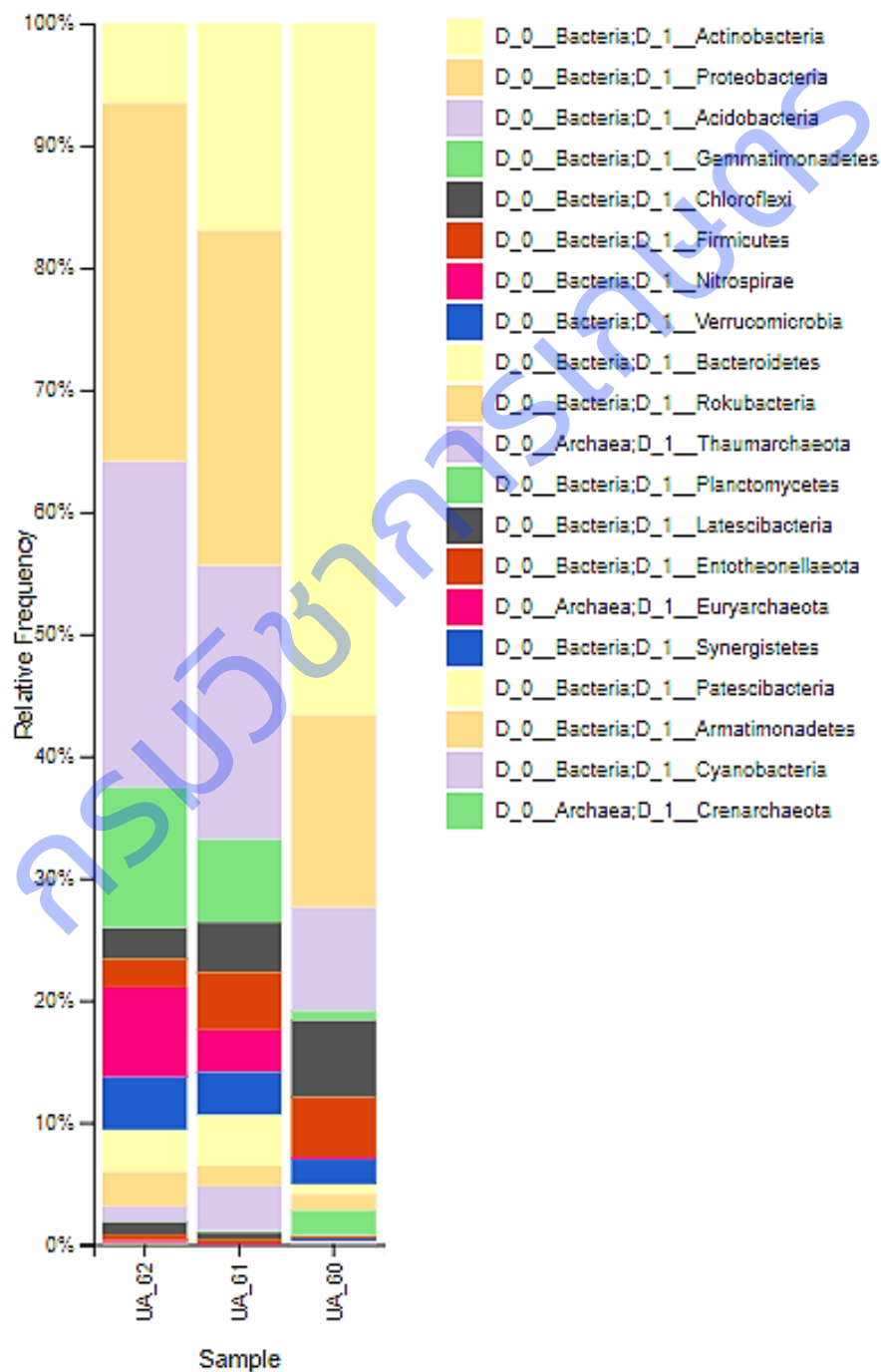
ภาพที่ 15 ประชากรแบคทีเรียระดับ class ในพื้นที่ป่าต้นน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่ป่าต้นน้ำระดับ order พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน order Gaiellales, Acidobacteria subgroup 6, Solirubrobacterales, Rhizobiales, Pyrinomonadales, Rokubacterales, Gemmatimonadales, Betaproteobacteria และ Myxococcales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 10.78, 8.67, 8.41, 7.16, 4.01, 3.65, 2.85, 2.47 และ 1.65 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน order Rhizobiales, Nitrososphaerales, Gaiellales, Pyrinomonadales, Betaproteobacterales, Gemmatimonadales, Acidobacteria subgroup 6, Myxococcales, Rokubacterales และ Solirubrobacterales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 9.88, 7.69, 6.39, 5.74, 4.98, 4.74, 4.08, 4.01, 2.89 และ 2.77 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน order Rhizobiales, Pyrinomonadales, Gemmatimonadales, Acidobacteria subgroup 6, Nitrososphaerales, Betaproteobacterales, Gaiellales, Rokubacterales, Myxococcales และ Solirubrobacterales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 7.04, 6.67, 6.59, 6.03, 5.60, 4.96, 4.87, 4.12, 3.92 และ 2.28 ตามลำดับ (ภาพที่ 16)



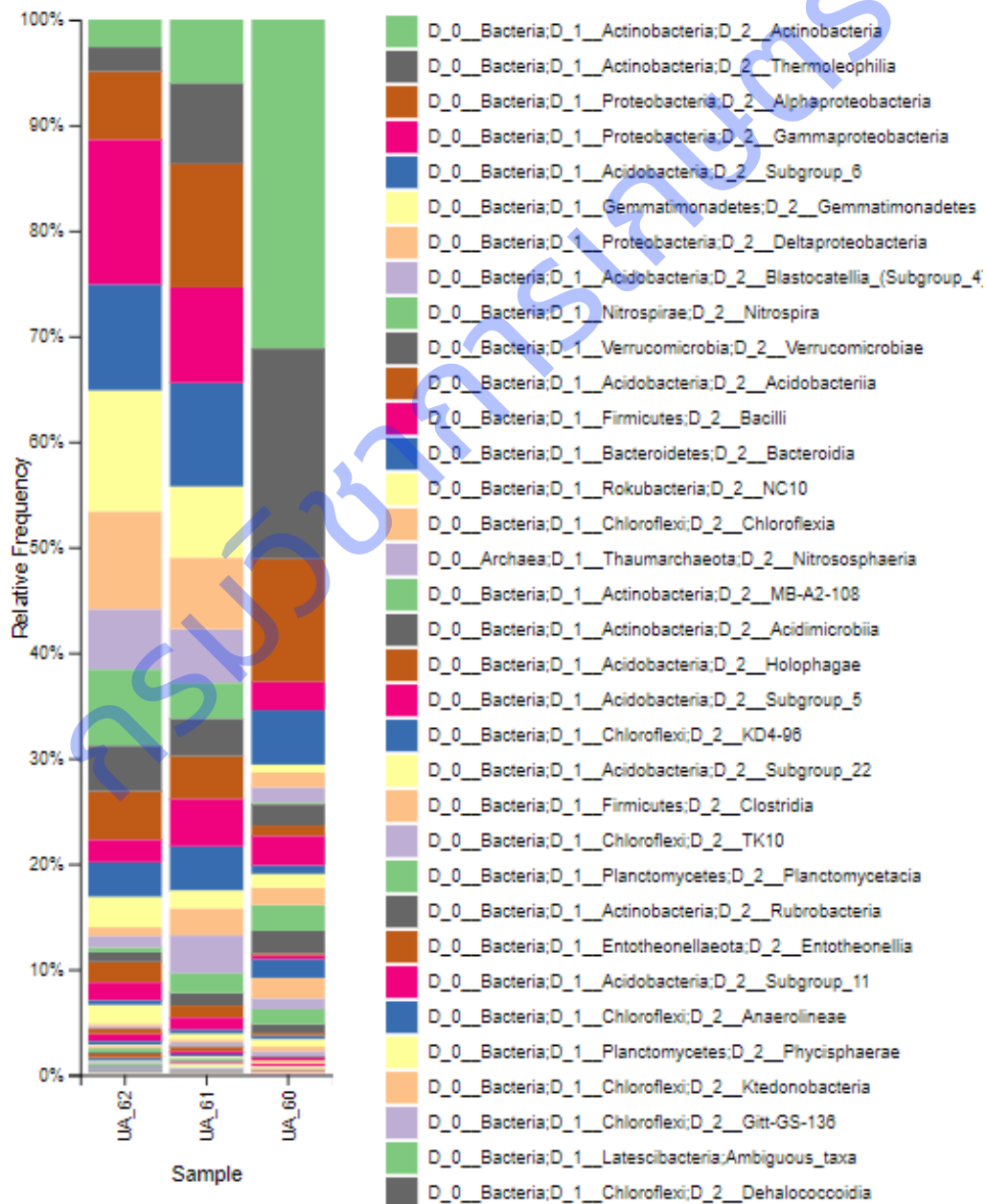
ภาพที่ 16 ประชากรแบคทีเรียระดับ order ในพื้นที่ป่าต้นน้ำระหว่างปี 2560-2562

การศึกษาประชากรแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระหว่างปี 2560 ถึงปี 2562 พบว่าประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือ แบคทีเรียในไฟลัม Actinobacteria, Proteobacteria และ Acidobacteria โดยมีอัตราส่วนที่พบในประชากรร้อยละ 56.64, 15.7 และ 8.50 ตามลำดับ ในปี 2561 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria, Acidobacteria และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 27.48, 22.43 และ 16.93 ตามลำดับ และในปี 2562 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria, Acidobacteria, และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 29.35, 26.72 และ 6.54 ตามลำดับ (ภาพที่ 17)



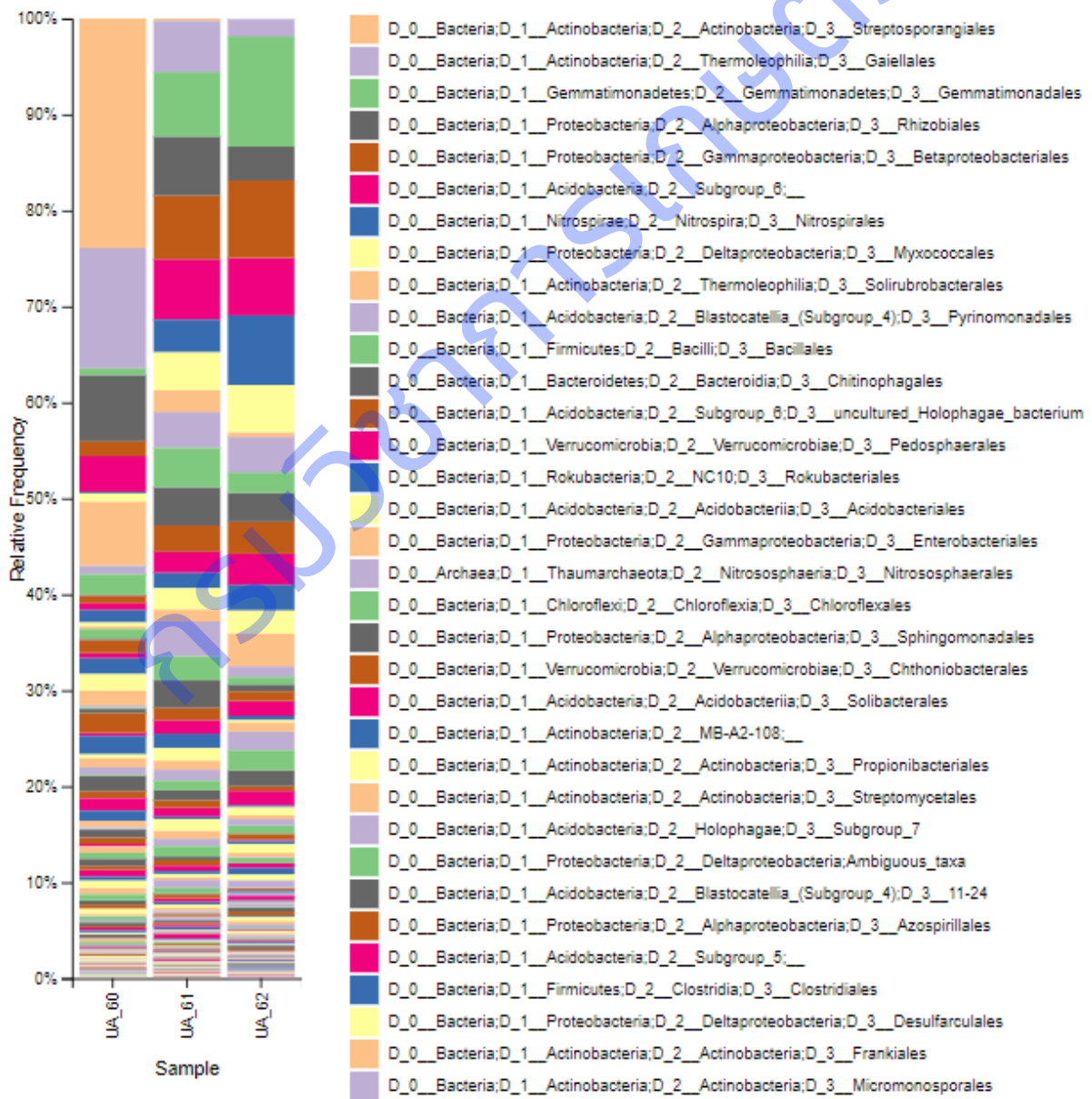
ภาพที่ 17 ประชากรแบคทีเรียระดับไฟลัมในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระดับ class พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน class Actinobacteria, Thermoleophilia, Alphaproteobacteria และ Acidobacteria subgroup 6 มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 31.17, 19.94, 11.67 และ 5.17 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน class Alphaproteobacteria, Acidobacteria subgroup 6, Gammaproteobacteria, Thermoleophilia, Deltaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Actinobacteria และ Blastocatellia มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 11.69, 9.84, 9.03, 7.63, 6.75, 6.74, 6.06 และ 5.10 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน class Gammaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Acidobacteria subgroup 6, Deltaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Blastocatellia, Actinobacteria และ Thermoleophilia สัดส่วนประชากรร้อยละ 13.69, 11.46, 10.08, 9.21, 6.44, 5.71, 2.61 และ 2.33 ตามลำดับ (ภาพที่ 18)



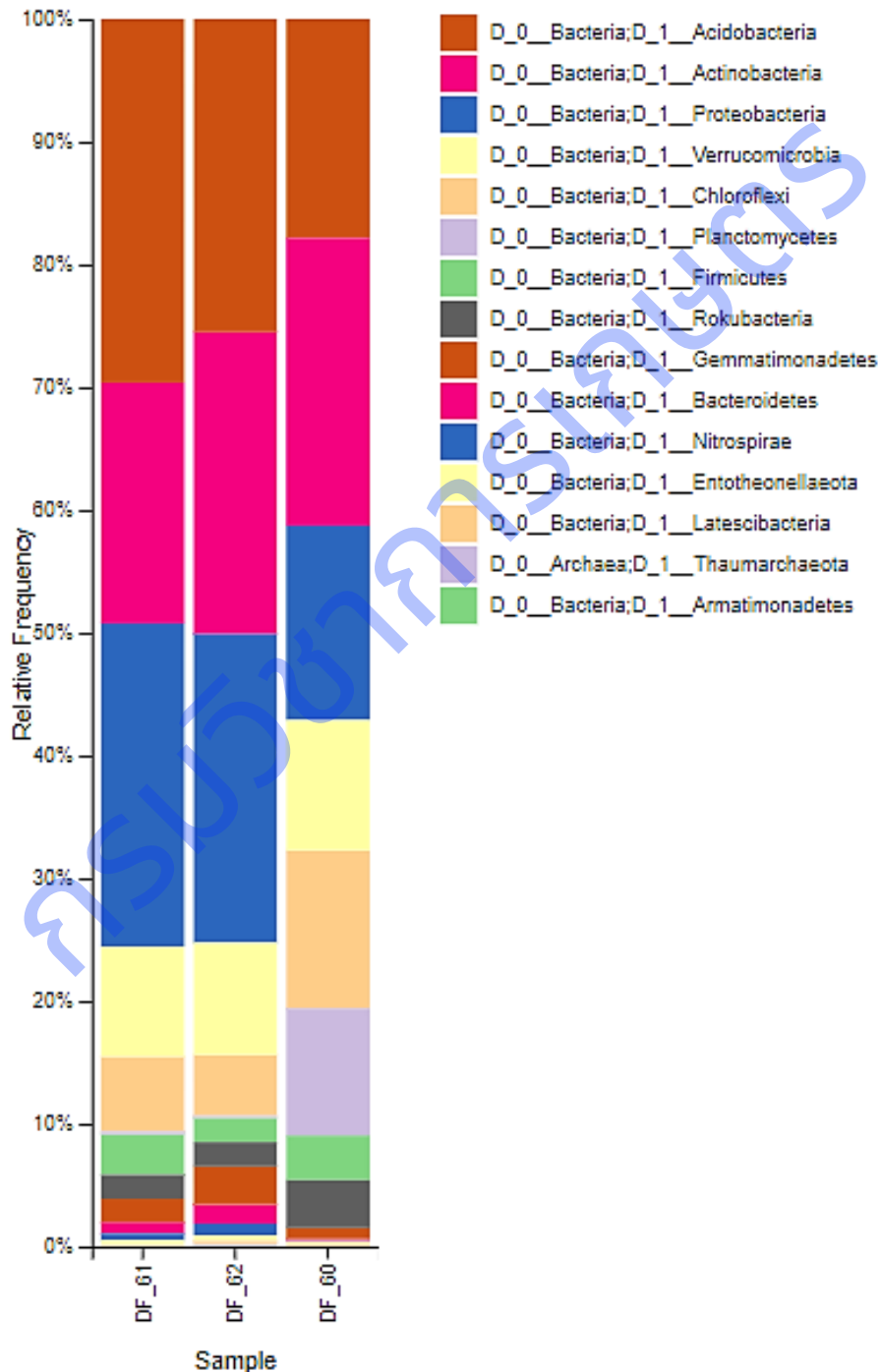
ภาพที่ 18 ประชากรแบคทีเรียระดับ class ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระดับ order พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน order Streptosporangiales, Gaiellales, Rhizobiales, Solirubrobacterales, Acidobacteria subgroup 6, Betaproteobacteria, Pyrinomonadales, Myxococcales และ Gemmatimonadales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 23.91, 12.55, 6.86, 6.68, 3.72, 1.52, 0.92, 0.81 และ 0.74 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน order Gemmatimonadales, Betaproteobacteriales, Acidobacteria subgroup 6, Rhizobiales, Gaiellales, Myxococcales, Pyrinomonadales, Nitrososphaerales, และ Solirubrobacterales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 6.74, 6.59, 6.30, 6.14, 5.34, 3.95, 3.75, 3.40 และ 2.24 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน order Gemmatimonadales, Betaproteobacteriales, Nitrososphaerales, Acidobacteria subgroup 6, Myxococcales, Pyrinomonadales, Rhizobiales, , Gaiellales และ มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 11.46, 8.08, 7.24, 5.99, 4.90, 3.70, 3.52 และ 1.80 ตามลำดับ (ภาพที่ 19)



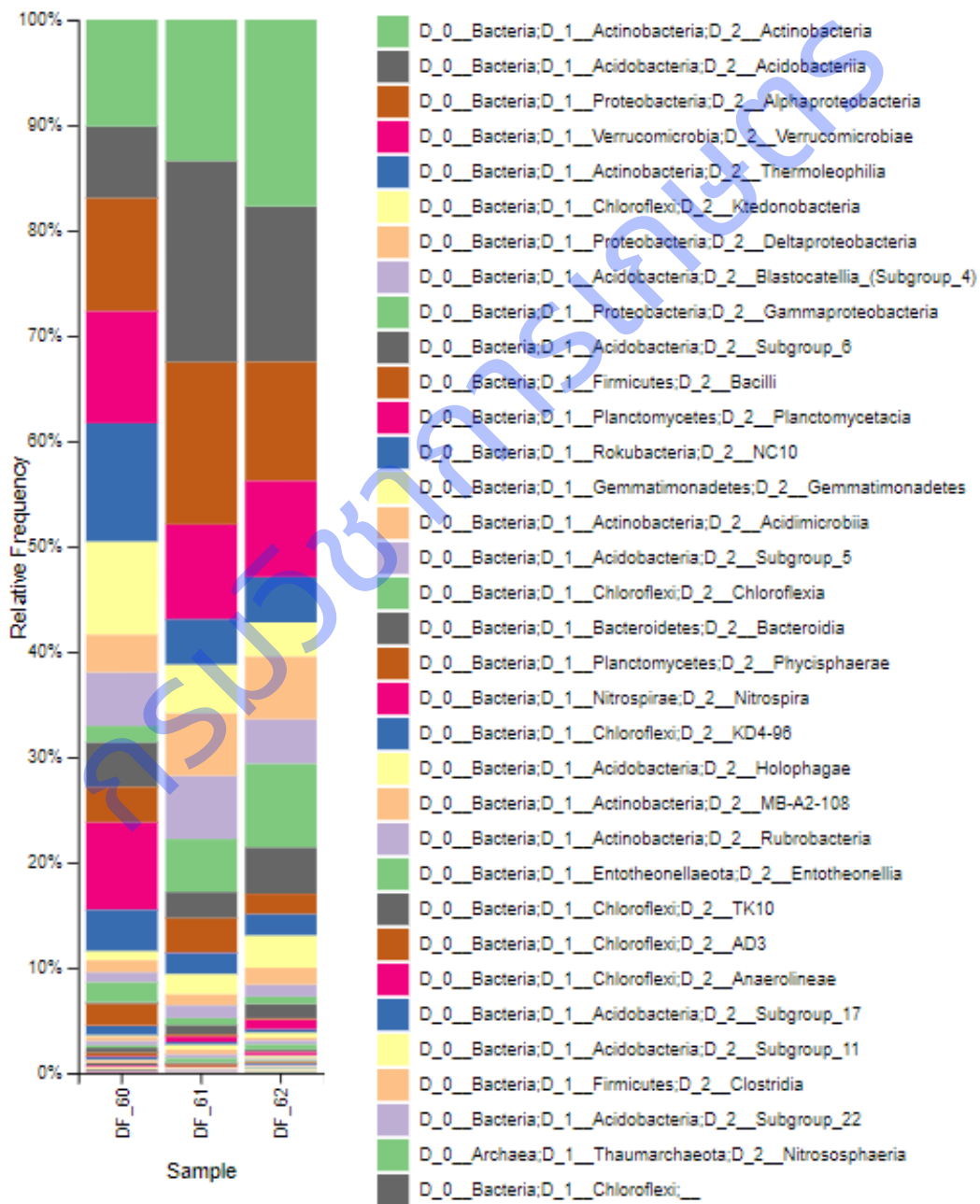
ภาพที่ 19 ประชากรแบคทีเรียระดับ order ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระหว่างปี 2560-2562

การศึกษาประชากรแบคทีเรียในพื้นที่ป่าปลายนํ้าระหว่างปี 2560 ถึงปี 2562 พบว่าประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือ แบคทีเรียในไฟลัม Actinobacteria, Acidobacteria และ Proteobacteria โดยมีอัตราส่วนที่พบในประชากรร้อยละ 23.41, 17.86 และ 15.84 ตามลำดับ ในปี 2561 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Acidobacteria, Proteobacteria และ Actinobacteria 19.62 พบในประชากรร้อยละ 29.62, 26.32 และ 19.62 ตามลำดับ และในปี 2562 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Acidobacteria, Proteobacteria และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 25.52, 25.15 และ 24.58 ตามลำดับ (ภาพที่ 20)



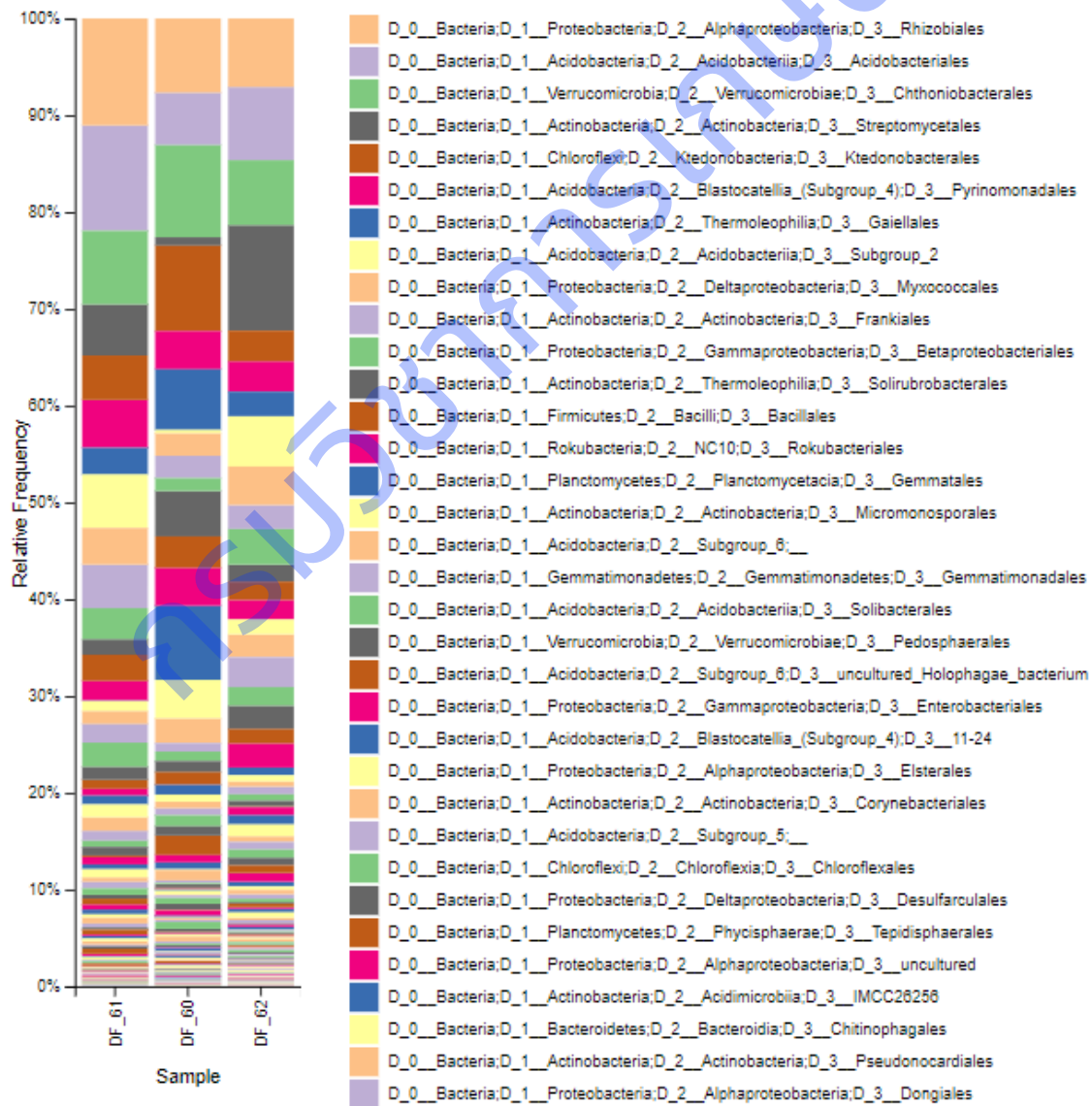
ภาพที่ 20 ประชากรแบคทีเรียระดับไฟลัมในพื้นที่ป่าปลายนํ้าระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่ป่าปลายน้ำระดับ class พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน class Thermoleophilia, Alphaproteobacteria, Verrucomicrobiae, Actinobacteria, Ktedonobacteria และ Acidobacteria มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 11.25, 10.74, 10.61, 10.12, 8.82 และ 6.83 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน class Acidobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobiae, Deltaproteobacteria, Thermoleophilia, และ มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 19.11, 15.40, 13.41, 9.12, 5.90 และ 4.34 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน class Actinobacteria, Acidobacteriia, Alphaproteobacteria 11.30, Verrucomicrobiae, และ Thermoleophilia, สัดส่วนประชากรร้อยละ 17.72, 14.77, 9.12 และ 4.30ตามลำดับ (ภาพที่ 21)



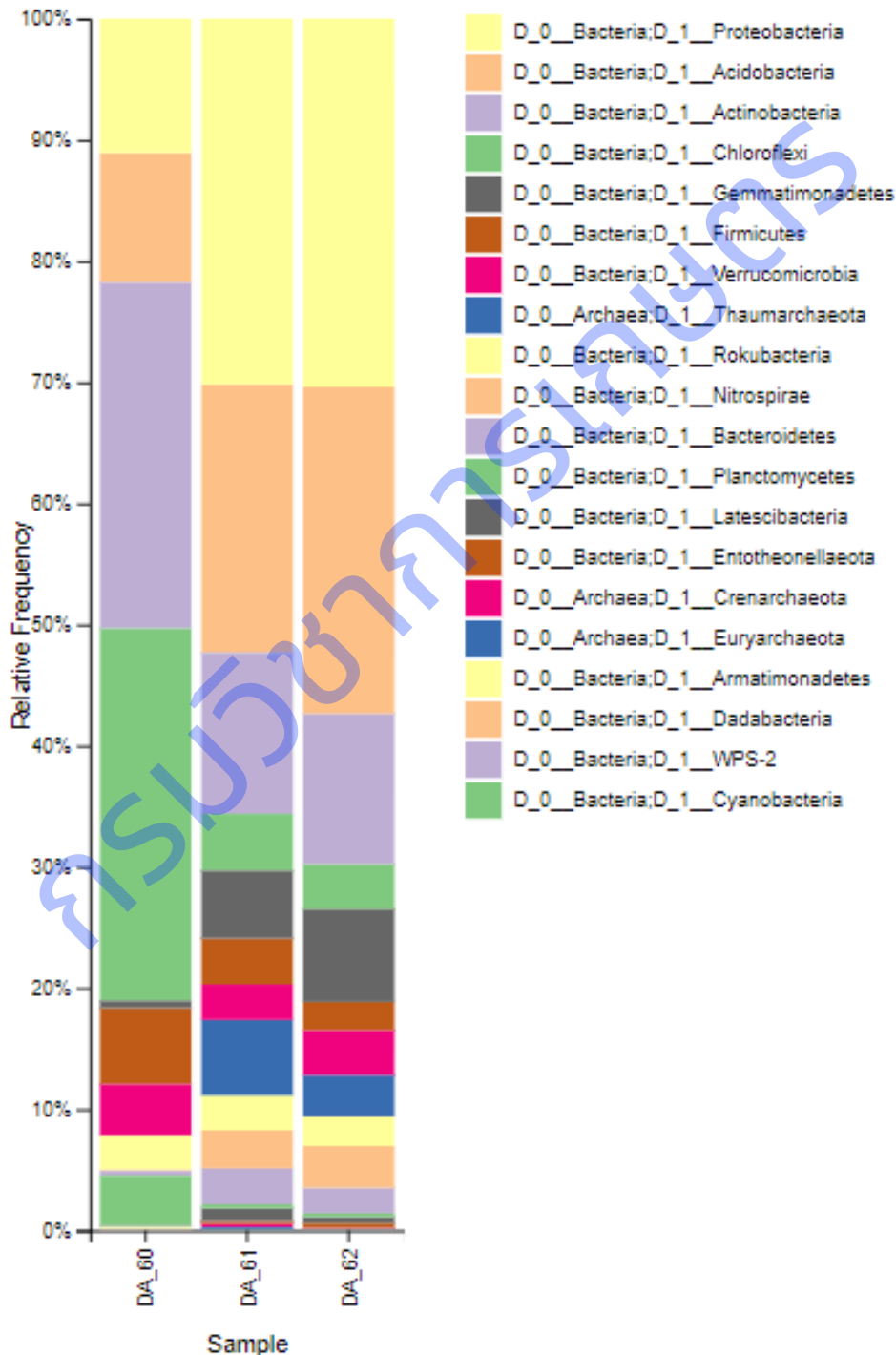
ภาพที่ 21 ประชากรแบคทีเรียระดับ class ในพื้นที่ป่าปลายน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระดับ order พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน order Chthoniobacterales, Ktedonobacterales, Rhizobiales, Gaiellales, Acidobacteriales, Solirubrobacterales, Pyrinomonadales, Frankiales, Myxococcales และ Betaproteobacteria มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 9.51, 8.78, 7.66, 6.21, 5.43, 4.68, 3.98, 2.31, 2.29 และ 1.33 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน order Rhizobiales, Chthoniobacterales, Acidobacteriales, Acidobacteria subgroup 2, Streptomycetales, Pyrinomonadales, Ktedonobacterales, Frankiales, Myxococcales และ Gaiellales 2.71 มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 11.05, 7.60, 7.57, 5.57, 5.27, 4.94, 4.59, 4.50, 3.78 และ ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน order Streptomycetales, Acidobacteriales, Rhizobiales, Chthoniobacterales, Acidobacteria subgroup 2, Myxococcales, Betaproteobacteriales, Ktedonobacterales, Pyrinomonadales, Gaiellales และ Frankiales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 10.89, 7.57, 7.07, 6.70, 5.20, 3.98, 3.66, 3.16, 3.14, 2.53 และ 2.48 ตามลำดับ (ภาพที่ 22)



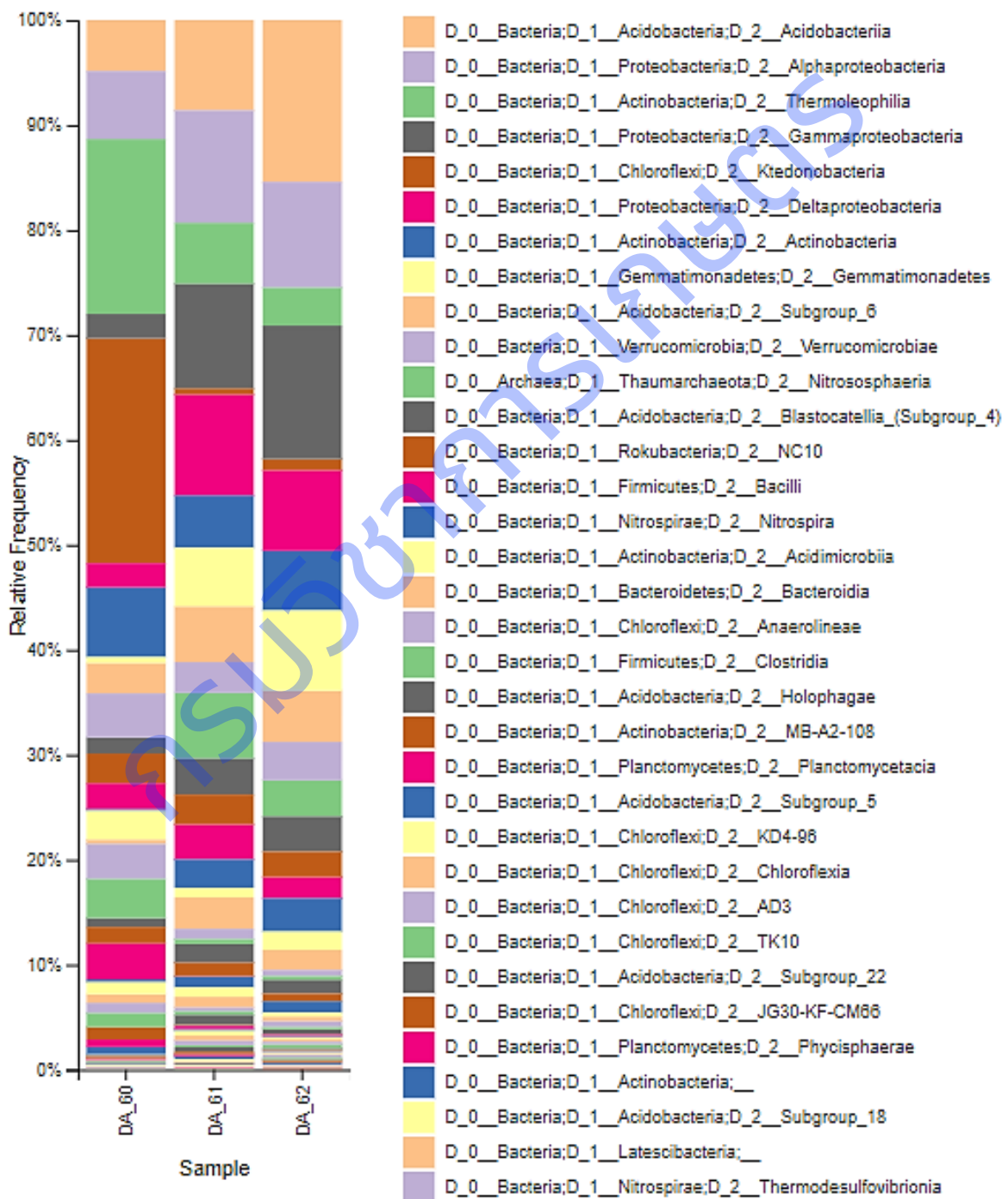
ภาพที่ 22 ประชากรแบคทีเรียระดับ order ในพื้นที่ป่าปลายน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรปลายน้ำระหว่างปี 2560 ถึงปี 2562 พบว่าประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือ แบคทีเรียในไฟลัม Chloroflexi, Actinobacteria, Proteobacteria และ Acidobacteria โดยมีอัตราส่วนที่พบในประชากรร้อยละ 30.72, 28.56, 11.08 และ 10.69 ตามลำดับ ในปี 2561 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria, Acidobacteria และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 30.19, 22.13 และ 13.29 ตามลำดับ และในปี 2562 แบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักคือ แบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria, Acidobacteria และ Actinobacteria พบในประชากรร้อยละ 30.40, 26.99 และ 12.41 ตามลำดับ (ภาพที่ 23)



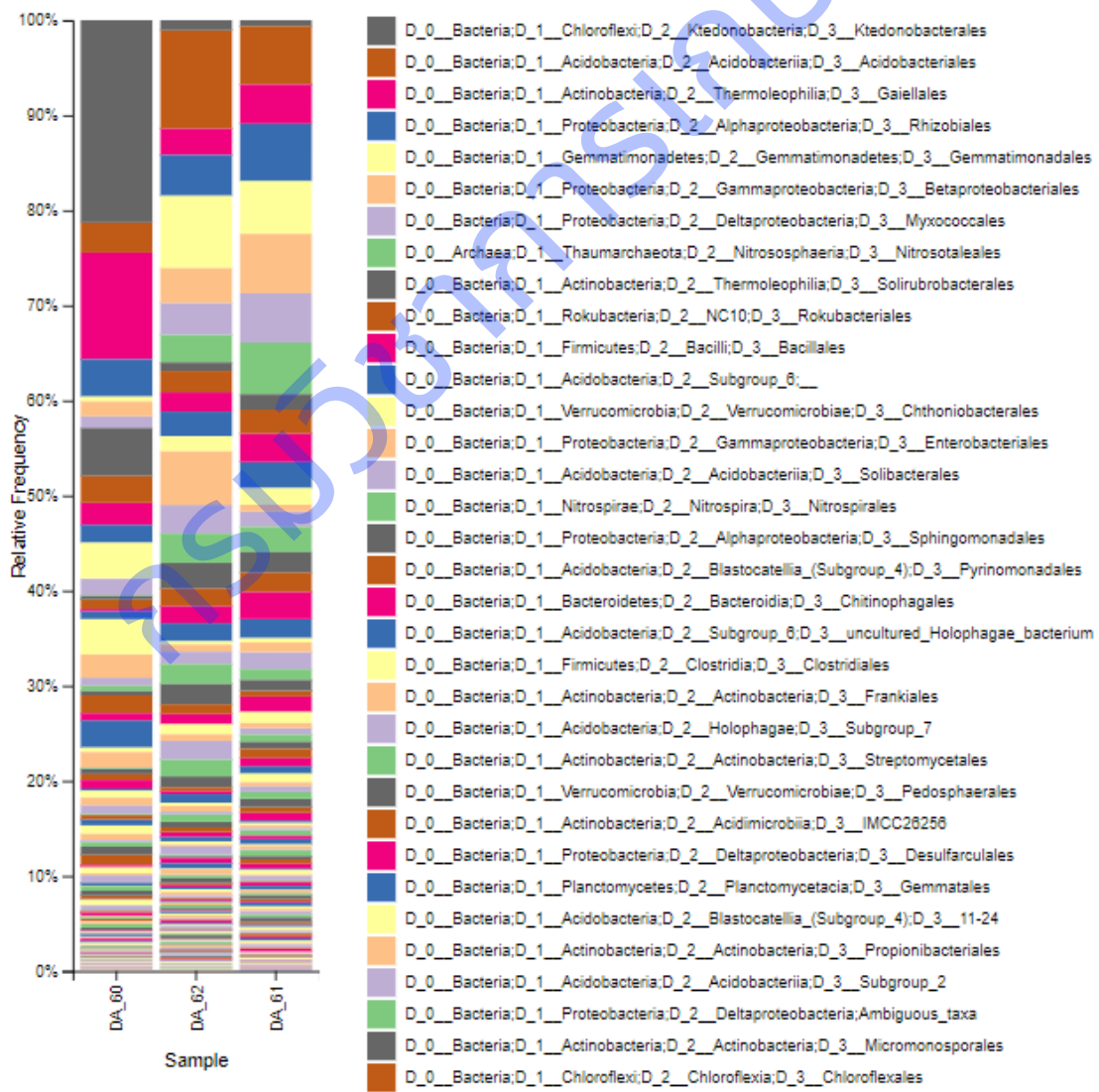
ภาพที่ 23 ประชากรแบคทีเรียระดับไฟลัมในพื้นที่เกษตรปลายน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน class Ktedonobacteria Thermoleophila, Actinobacteria, Alphaproteobacteria และ Acidobacteria มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 21.42, 16.67, 6.65, 6.46 และ 4.85 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน class Acidobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobiae, Deltaproteobacteria, และ Thermoleophila มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 19.11, 15.40, 13.41, 9.12, 5.90 และ 4.34 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน class Actinobacteria, Acidobacteria, Alphaproteobacteria, Verrucomicrobiae, และ Thermoleophila, สัดส่วนประชากรร้อยละ 17.72, 14.77, 11.30, 9.12 และ 4.30 ตามลำดับ (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ประชากรแบคทีเรียระดับ class ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรต้นน้ำระดับ order พบว่า ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2560 คือแบคทีเรียใน order Ktedonobacterales, Gaiellales, Solirubrobacterales, Rhizobiales, Acidobacteriales, Betaproteobacteria และ Myxococcales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 21.29, 11.21, 5.09, 3.88, 3.16, 1.55 และ 1.19 ตามลำดับ ประชากรแบคทีเรียที่เป็นประชากรหลักในปี 2561 คือแบคทีเรียใน order Betaproteobacterales, Acidobacteriales, Rhizobiales, Gemmatimonales, Nitrosotaleales, Acidobacteria subgroup 6, Gaiellales, Rokubacteriales, Chthoniobacterales, Solirubrobacterales และ Ktedonobacterales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 6.24, 6.16, 5.98, 5.58, 5.42, 2.73, 4.13, 2.49, 1.76, 1.62 และ 0.60 ตามลำดับ ประชากรหลักของแบคทีเรียในปี 2562 คือแบคทีเรียใน order Acidobacteriales, Gemmatimonadales, Enterobacteriales, Rhizobiales, Betaproteobacterales, Myxococcales, Solibacterales, Nitrosotaleales, Gaiellales, Acidobacteria subgroup 6, Rokubacteriales, Bacillales, Chthoniobacterales, Ktedonobacterales และ Solirubrobacterales มีสัดส่วนประชากรร้อยละ 10.36, 7.64, 5.68, 4.24, 3.65, 3.33, 2.98, 2.92, 2.75, 2.59, 2.23, 2.03, 1.54, 1.06 และ 0.89 ตามลำดับ (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 ประชากรแบคทีเรียระดับ order ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำระหว่างปี 2560-2562

ประชากรของชุมชนแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ลุ่มน้ำปายมีสัดส่วนขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสภาพพื้นที่ที่ทำการศึกษ การทดลองของ Sheik *et al.*, (2011) ในสภาวะปกติ พบว่า กรรมวิธีที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น 2 °C จำนวนประชากรแบคทีเรียมีขนาดเพิ่มขึ้น 40-150% แต่ความหลากหลายของชนิดแบคทีเรียลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ในสภาวะแห้งแล้ง กรรมวิธีที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น 2 °C ขนาดชุมชนแบคทีเรียมีขนาดลดลง 50-80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรแบคทีเรีย นอกจากนี้ผลกระทบทางอ้อมของปรากฏการณ์โลกร้อน โดยเฉพาะการลดลงของความชื้นในดินมีผลโดยตรงต่อชุมชนประชากรแบคทีเรียมากกว่าผลกระทบโดยตรงของอุณหภูมิที่อุ่นขึ้น ปริมาณฝนที่ตกควบคุมกับอากาศที่อุ่นขึ้นมีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อชุมชนแบคทีเรียและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมจุลินทรีย์ในวัฏจักรคาร์บอนและไนโตรเจน ในขณะเดียวกัน Mellissa *et al.*, (2012) พบว่า ชุมชนแบคทีเรียในฤดูแล้งมีความแตกต่างจากฤดูมรสุม แสดงให้เห็นว่าเมื่อระดับความชื้นในดินในระยะต่าง ๆ ในฤดูมรสุมชุมชนแบคทีเรียมีขนาดใหญ่กว่าฤดูแล้งถึง 4.7 เท่า และยังพบว่าชุมชนแบคทีเรียใต้ต้นสน pinon pine และ juniper มีความแตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฟังก์ชันของจุลินทรีย์ที่อยู่ใต้ต้นไม้เหล่านี้มีความแตกต่างกัน สามารถคาดการณ์การตอบสนองของชุมชนจุลินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศนั้นขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศในระดับพื้นดิน และองค์ประกอบของชุมชนเหนือพื้นดินที่เกี่ยวข้อง สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าชุมชนแบคทีเรียพื้นที่การเกษตรในฤดูฝนมีขนาดและความหลากหลายของแบคทีเรียมากที่สุด และพื้นที่ป่าปลายน้ำในฤดูร้อนมีความหลากหลายของแบคทีเรียน้อยที่สุด จำนวนประชากรแบคทีเรียพื้นที่ป่าปลายน้ำในฤดูหนาวมีปริมาณมากที่สุด และประชากรแบคทีเรียพื้นที่ป่าปลายน้ำฤดูร้อนมีปริมาณน้อยที่สุด

2 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของราดินในพื้นที่ ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

2.1 ประชากรราดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

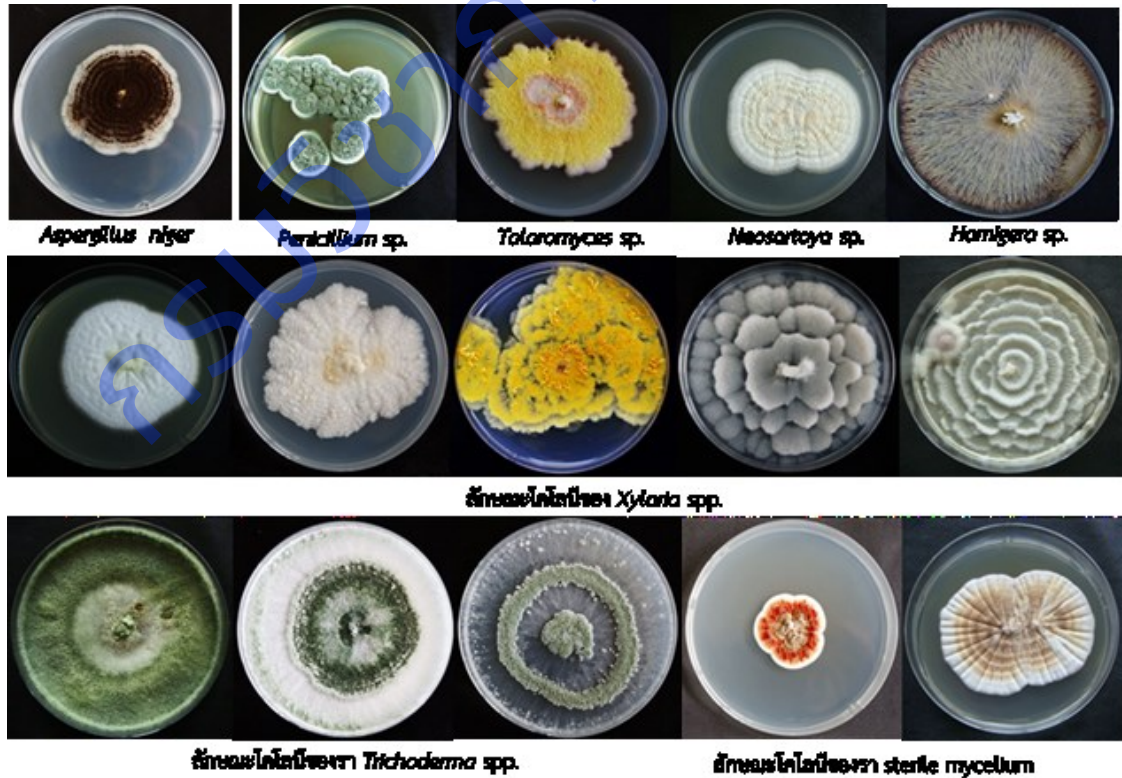
นับปริมาณจำนวนประชากรราดินจากตัวอย่างดินทั้ง 4 จุด โดยวิธี plate count จะเห็นว่าในจำนวนดิน 1 กรัม มีจำนวนประชากรราดินอยู่ค่อนข้างมากโดยพบว่าในปี 2561 ตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่ป่าบริเวณต้นน้ำในฤดูหนาวมีจำนวนประชากรราดินมากที่สุดถึง 8.58×10^4 กล่าวคือ ในดิน 1 กรัมตรวจพบประชากรของราดินจำนวน 85,800 เซลล์ ส่วนตัวอย่างดินที่มีจำนวนประชากรราดินน้อยที่สุดเมื่อตรวจนับโดยวิธี plate count ได้แก่ ตัวอย่างดินจากพื้นที่ป่าบริเวณต้นน้ำในฤดูร้อนที่เก็บในปี 2561 ในดิน 1 กรัมตรวจพบประชากรของแอกติโนมัยสีทจำนวน 1.1×10^3 หรือ 1,100 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนประชากรราดินที่ตรวจนับโดยวิธี plate count จากตัวอย่างดิน 4 จุด 3 ฤดู ในช่วงเวลา 3 ปี

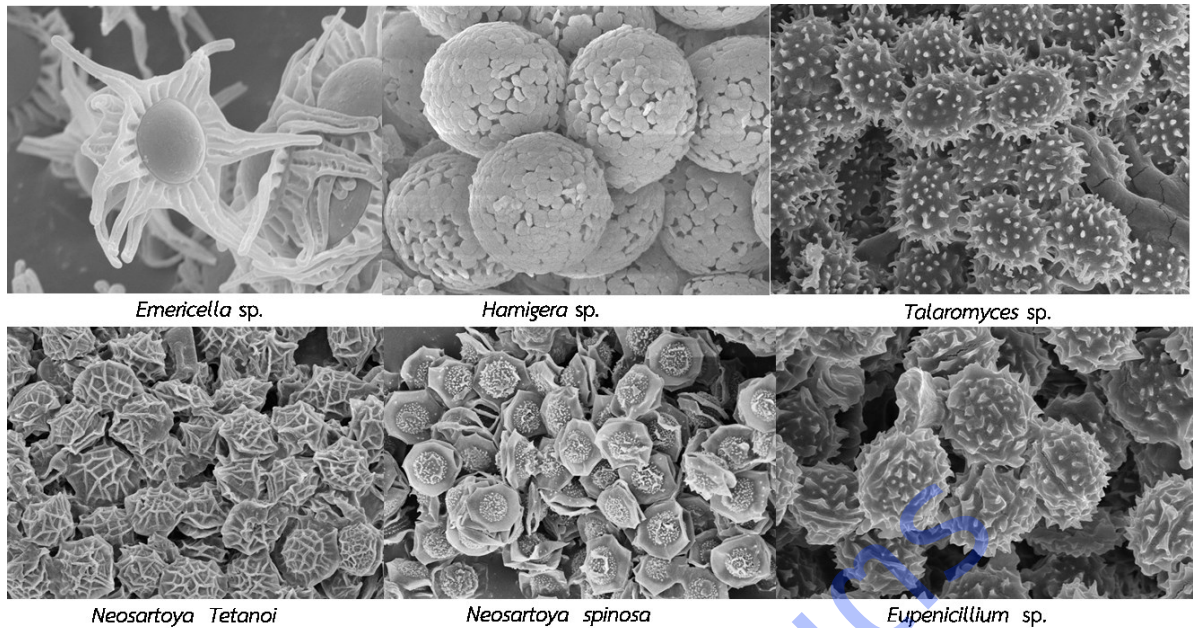
ปี/ฤดู	ป่าปลายน้ำ	เกษตรปลายน้ำ	เกษตรต้นน้ำ	ป่าต้นน้ำ
ปี 2560				
หนาว	3.95×10^4	5.84×10^4	7.05×10^4	7.98×10^4
ร้อน	1.8×10^4	1.6×10^4	5.8×10^3	6.1×10^3
ฝน	2.81×10^4	2.38×10^4	4.10×10^3	2.95×10^3

ปี 2561				
หนาว	4.51×10^4	6.41×10^4	6.35×10^4	8.58×10^4
ร้อน	1.48×10^4	1.26×10^4	3.71×10^3	1.10×10^3
ฝน	1.80×10^4	2.98×10^4	4.46×10^3	3.21×10^3
ปี 2562				
หนาว	2.46×10^4	8.08×10^4	4.81×10^4	1.60×10^4
ร้อน	2.40×10^4	2.10×10^4	2.97×10^3	2.15×10^3
ฝน	2.20×10^4	3.20×10^4	4.56×10^3	2.52×10^3

เมื่อนำราดินที่แยกได้มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าราส่วนใหญ่ที่เลี้ยงได้เป็นราในสกุล *Aspergillus* และ *Penicillium* รวมทั้งระยะสืบพันธุ์ของราทั้ง 2 สกุล เช่น รา *Talaromyces* spp., *Neosartorya* spp., *Emericella* spp., *Eupenicillium* spp. และ *Hamigera* spp. เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามียราที่สำคัญทางการเกษตรอีกหลายชนิดราที่มีประโยชน์ทางการเกษตรที่นำมาใช้เป็นราปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น รา *Trichoderma* spp. ราที่มีรายงานเป็นราสาเหตุโรคกับพืช เช่น รา *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. การศึกษาดังนี้สามารถแยกราที่มีความสำคัญในการช่วยย่อยสลายเศษซากพืชในป่าอย่าง รา *Xylaria* spp. (ภาพที่ 1 และ 2)



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของราที่แยกได้จากดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน



ภาพที่ 2 ลักษณะ ascospore ของราที่แยกได้จากดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

2.2 ภาพรวมชุมชนเชื้อราในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

ตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายในบริเวณต้นน้ำและปลายน้ำสามารถอ่านลำดับเบสได้ 524,008 และ 554,832 ลำดับเบส แบ่งตามพื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ พื้นที่ป่าต้นน้ำ พื้นที่ป่าปลายน้ำ และพื้นที่เกษตรปลายน้ำ สามารถอ่านลำดับเบสได้ประมาณ 3,084 ครั้งต่อพื้นที่ จำนวนรวมทั้งหมดของหน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการ หรือ operational taxonomic unit (OTUs) ที่ตรวจพบลำดับเบสในทุก ๆ ตัวอย่างดินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 30,824 OTUs ที่สามารถระบุได้ในแต่ละตัวอย่างดิน ส่วนใหญ่จัดจำแนกอยู่ใน ไฟล์ม Ascomycota โดยพบว่าพื้นที่ต้นน้ำมีทั้งหมด 57 เพอร์เซ็นต์ และพื้นที่ปลายน้ำ 46 เพอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ ไฟล์ม Basidiomycota ตรวจพบในพื้นที่ต้นน้ำ 20 เพอร์เซ็นต์ และพื้นที่ปลายน้ำ 31 เพอร์เซ็นต์ ตามด้วยไฟล์ม Mortierellomycota ซึ่งพบในพื้นที่ต้นน้ำ 3 เพอร์เซ็นต์และพื้นที่ปลายน้ำ 2 เพอร์เซ็นต์ การศึกษาครั้งนี้พบว่ามีลำดับเบสของราดินที่ไม่ตรงกับฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ซึ่งอาจจะเป็นลำดับเบสของราดินชนิดใหม่ที่ยังไม่มีรายงานไว้ในฐานข้อมูลดังกล่าว โดยพบในพื้นที่ต้นน้ำ 11 เพอร์เซ็นต์ และพื้นที่ปลายน้ำ 11 เพอร์เซ็นต์ ทั้งนี้มีการตรวจพบลำดับเบสที่ไม่สามารถกำหนดหรือไม่สามารถระบุได้ว่าจัดอยู่ในกลุ่มราใดเนื่องมาจากลำดับเบสที่ตรวจพบเป็นสายสั้น ๆ ทำให้ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นราดิน โดยตรวจพบในพื้นที่ต้นน้ำ 9 เพอร์เซ็นต์ และพื้นที่ปลายน้ำ 10 เพอร์เซ็นต์ ชุมชนราดินจากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ต้นน้ำ 3 ปีติดต่อกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่มดังนี้

1) กลุ่ม A (พื้นที่เกษตรต้นน้ำ ปี 2560 มี 105 OTUs) ประกอบด้วย ราใน ไฟล์ม Ascomycota จำนวน 58 เพอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 21 เพอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 11 เพอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Mortierellomycota 7 เพอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 3 เพอร์เซ็นต์

2) กลุ่ม B (พื้นที่เกษตรต้นน้ำ ปี 2561 มี 162 OTUs) ประกอบด้วยราใน ไฟล์ม Ascomycota 62 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 25 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 7 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 3 เปอร์เซ็นต์ และ ไฟล์ม Mortierellomycota 1 เปอร์เซ็นต์

3) กลุ่ม C (พื้นที่เกษตรต้นน้ำ ปี 2562 มี 130 OTUs) ประกอบด้วยลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 47 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 23 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Ascomycota 21 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 4 เปอร์เซ็นต์ และไฟล์ม Glomeromycota 3 เปอร์เซ็นต์

4) กลุ่ม D (พื้นที่ป่าต้นน้ำปี 2560 มี 345 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Ascomycota 48 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 21 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 19 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Mortierellomycota 9 เปอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 1 เปอร์เซ็นต์

5) กลุ่ม E (พื้นที่ป่าต้นน้ำปี 2561 มี 117 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Ascomycota 61 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 15 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 11 เปอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 14 เปอร์เซ็นต์

6) กลุ่ม F (พื้นที่ป่าต้นน้ำปี 2562 มี 126 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Ascomycota 64 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 19 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 15 เปอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 2 เปอร์เซ็นต์

ชุมชนราตินจากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ปลายน้ำ 3 ปีติดต่อกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่มดังนี้

1) กลุ่ม A (พื้นที่เกษตรปลายน้ำ ปี 2560 มี 213 OTUs) ประกอบด้วย ราใน ไฟล์ม Ascomycota จำนวน 38 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 22 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 31 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Glomeromycota 5 เปอร์เซ็นต์ และ ไฟล์ม Mortierellomycota 3 เปอร์เซ็นต์

2) กลุ่ม B (พื้นที่เกษตรปลายน้ำ ปี 2561 มี 266 OTUs) ประกอบด้วยราใน ไฟล์ม Ascomycota 58 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 20 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 11 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 9 เปอร์เซ็นต์ และ ไฟล์ม Chytridiomycota 0.6 เปอร์เซ็นต์

3) กลุ่ม C (พื้นที่เกษตรปลายน้ำ ปี 2562 มี 104 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Ascomycota 81 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 11 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 5 เปอร์เซ็นต์ และไฟล์ม Glomeromycota 2 เปอร์เซ็นต์

4) กลุ่ม D (พื้นที่ป่าปลายน้ำปี 2560 มี 154 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Basidiomycota 60 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 14 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Ascomycota 13 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 7 เปอร์เซ็นต์ และไฟล์ม Mucoromycota 4 เปอร์เซ็นต์

5) กลุ่ม E (พื้นที่ป่าปลายน้ำปี 2561 มี 59 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Ascomycota 29 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Basidiomycota 28 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Chytridiomycota 16 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 14 เปอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 12 เปอร์เซ็นต์

6) กลุ่ม F (พื้นที่ป่าปลายน้ำปี 2562 มี 112 OTUs) ประกอบด้วย ไฟล์ม Basidiomycota 66 เปอร์เซ็นต์ ไฟล์ม Ascomycota 24 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 8 เปอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 2 เปอร์เซ็นต์

2.3 องค์ประกอบชุมชนของเชื้อราและความหลากหลายทางวิวัฒนาการ

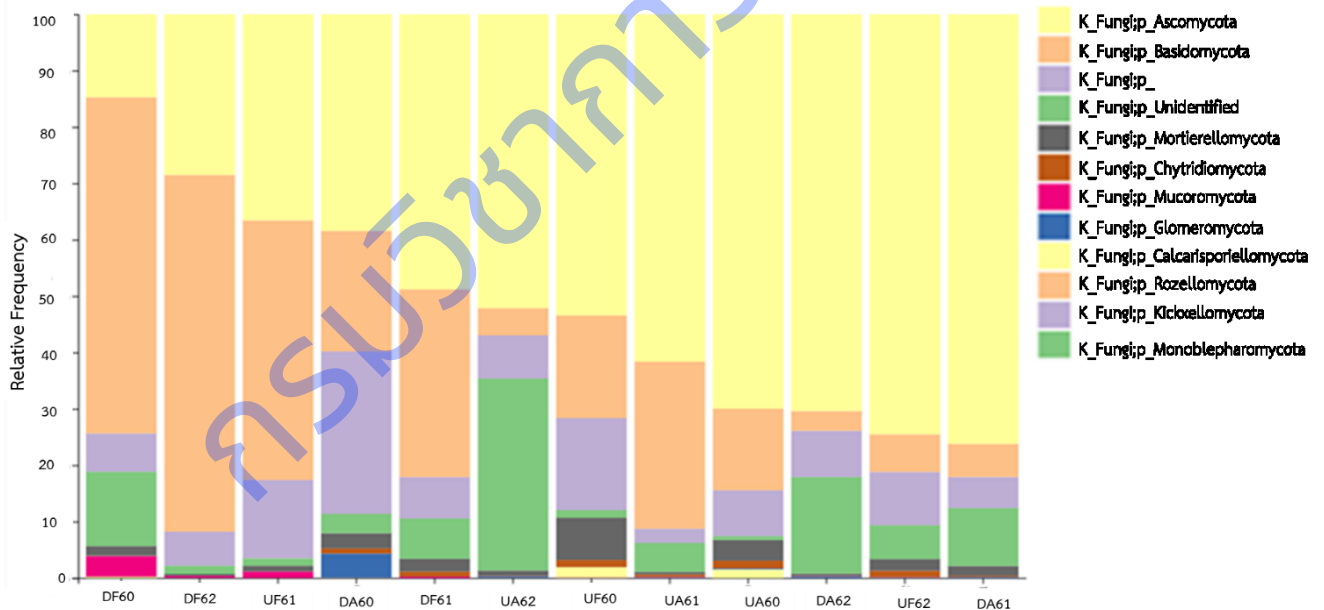
จำนวนรวมทั้งหมดของชุมชนดีเอ็นเอที่แยกได้จากตัวอย่างดินมีน้ำหนักโมเลกุลสูง 231–438 bp โดยการใช้คู่ไพรเมอร์ ITS1-ITS2 ดีเอ็นเอที่แยกได้ถูกทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำไปเพิ่มจำนวน ชิ้นส่วนของ ITS rDNA ได้มาจากตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งหมดที่ผ่านการเพิ่มจำนวนด้วย Polymerase chain reaction (PCR) โดยตรง ลำดับเบสของ ITS rDNA ของเชื้อราส่วนใหญ่ (68 เปอร์เซ็นต์) มีความคล้ายคลึงกันสูงถึง 100% กับเชื้อราทั่ว ๆ ไปที่พบในสิ่งแวดล้อมหรือสายพันธุ์ที่รายงานอยู่ในฐานข้อมูล NCBI อย่างไรก็ตามพบว่า ลำดับเบสจากการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถจับคู่กับลำดับเบสในฐานข้อมูล NCBI ได้มากกว่า 300 bp โดยพบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอ ในปี 2561 ไม่สามารถจับคู่กับลำดับเบสในฐานข้อมูล NCBI 13.5 เปอร์เซ็นต์และตัวอย่างดีเอ็นเอ ในปี 2562 ไม่สามารถจับคู่กับลำดับเบสในฐานข้อมูล NCBI 23.5 เปอร์เซ็นต์ โดยลำดับเบสเหล่านี้ส่วนใหญ่ตรงกับสมาชิกของ Fungi incertae sedis

การกำหนด phylogenetic ของ phylotypes ดำเนินการโดยจับคู่ลำดับเบสที่คล้ายคลึงกันที่สุดโดยอาศัยการวิเคราะห์ BLASTn (การค้นหาคำเหมือนของ nucleotide sequence เปรียบเทียบกับ nucleotide sequence ที่มีรายงานอยู่ในฐานข้อมูล NCBI) การศึกษาในครั้งนี้พบว่า ในปี 2561 มีลำดับเบสของราที่เหมือนกับราที่เคยรายงานไว้ทั่วโลก 4,244 OTUs และ ในปี 2563 มี 3,738 OTUs โดยไฟลัมหลัก ๆ ที่สามารถจัดกลุ่มได้คือ Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota และ Chytridiomycota อย่างไรก็ตามพบลำดับเบสจำนวนมากที่ตรงกับสมาชิกของ Fungi incertae sedis การวิเคราะห์ลำดับเบสพบว่าสมาชิกของไฟลัม Ascomycota เป็นกลุ่มราที่พบมากที่สุดในการศึกษานี้ ในกลุ่ม Ascomycota พบว่า class Sordariomycetes มีมากที่สุดตามด้วย Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Dothideomycetes และ mitosporic Pezizomycetes ตามลำดับ ส่วนไฟลัม Basidiomycota พบมากเป็นอันดับสองในแง่ของความหลากหลายทางวิวัฒนาการ นอกจากนี้ยังตรวจพบ Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota แต่พบได้น้อยในการศึกษานี้ ลำดับเบสที่เหลือส่วนใหญ่เป็นเชื้อราที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้จากสภาพแวดล้อมที่หลากหลายซึ่งจะถูกรายงานเป็นสมาชิกของ Fungi incertae sedis เป็นที่น่าสังเกตว่า class Sordariomycetes มีการแพร่กระจายอยู่ในทุก ๆ ตัวอย่างดินสกุลที่ตรวจพบได้มากที่สุดคือ *Fusarium*

ในปี 2560 พบลำดับเบสทั้งหมด 87,536 ลำดับเบส โดยพบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 17,512 ลำดับเบส พื้นที่ป่าปาลายน้ำมี 39,136 ลำดับเบส พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 6,413 ลำดับเบส พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 24,475 ลำดับเบส ในปี 2561 พบลำดับเบสทั้งหมด 72,199 ลำดับเบส แบ่งเป็นพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 25,161 ลำดับเบส พื้นที่ป่าปาลายน้ำ 11,451 ลำดับเบส พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 29,982 ลำดับเบส และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 5,605 ลำดับเบส ในปี 2562 พบลำดับเบสทั้งหมด 65,830 ลำดับเบส แบ่งเป็นพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 14,313 ลำดับเบส พื้นที่ป่าปาลายน้ำ 27,839 ลำดับเบส พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 16,275 ลำดับเบส และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 7,403 ลำดับเบส

ไฟลัมสำคัญที่ตรวจพบได้มากที่สุดจากการศึกษาในปี 2560 2561 2562 คือ ไฟลัม Ascomycota พบ 61.1 เปอร์เซ็นต์ โดยในปี 2560 ตรวจพบ 38.45 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 14.75 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปาลายน้ำ 69.97 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 53.44 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบ 76.25 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 48.82 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปาลายน้ำ 61.64 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่

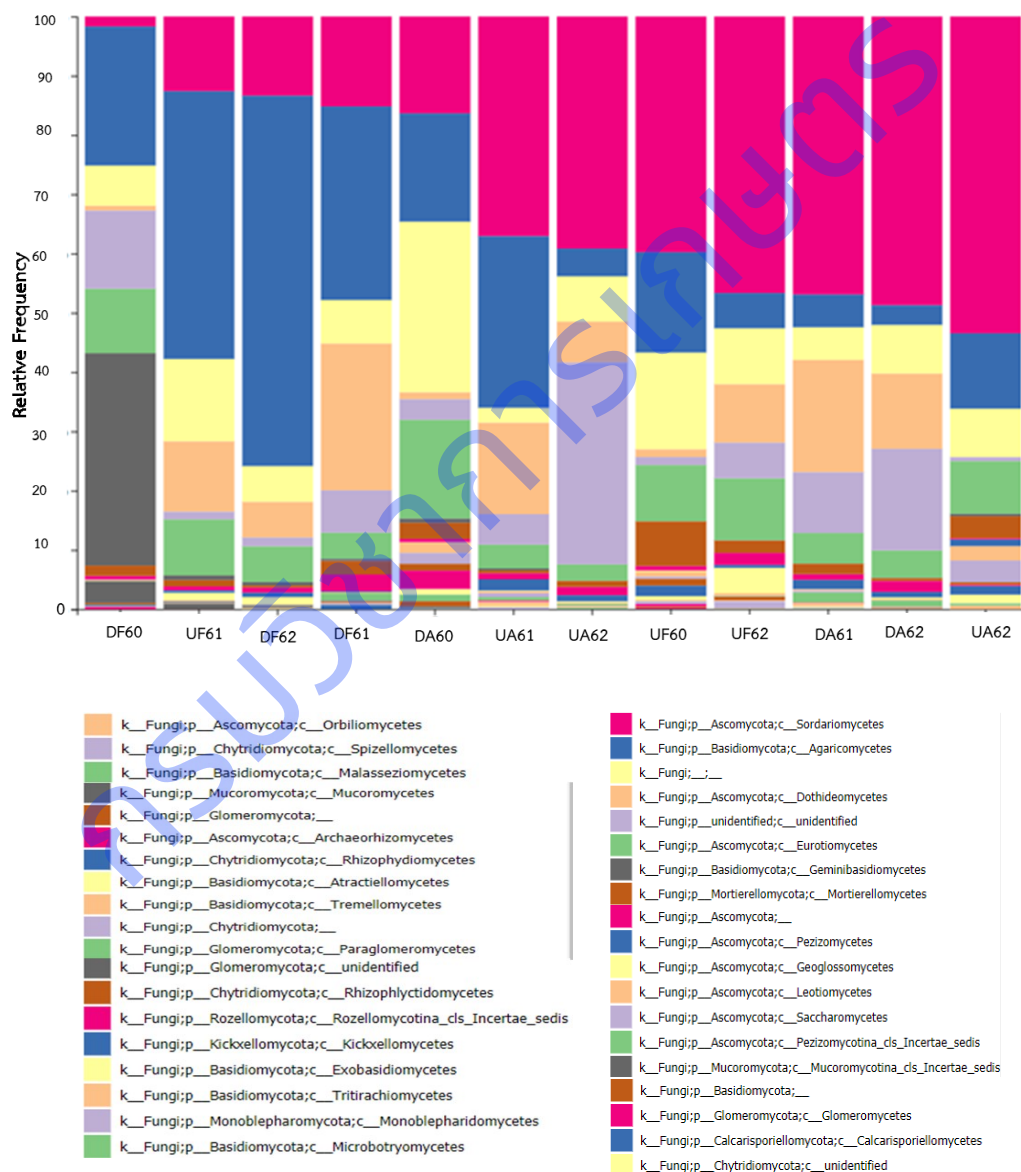
เกษตรต้นน้ำ และ 36.59 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ส่วนปี 2562 ตรวจพบ 70.42 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตร ปลายน้ำ 28.54 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 52.16 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 74.55 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ สำหรับไฟลัม Basidiomycota ที่พบมากเป็นอันดับสองพบว่าในปี 2560 ตรวจพบ 21.36 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 59.60 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 14.47 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 18.18 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบ 5.82 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 33.26 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 29.61 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 46.02 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบ 3.46 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 63.23 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 4.81 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 6.63 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ เชื้อราที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็น รากลุ่มใด เป็นกลุ่มที่มีปริมาณมากที่สุดเป็นอันดับ 3 ประกอบด้วย ปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 28.81 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 6.82 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 8.16 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 16.33 เปอร์เซ็นต์ ปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 5.53 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 7.36 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 2.54 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 13.91 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 8.23 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 6.06 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 7.66 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 9.47 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ ไฟลัม ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณ ลุ่มน้ำปายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

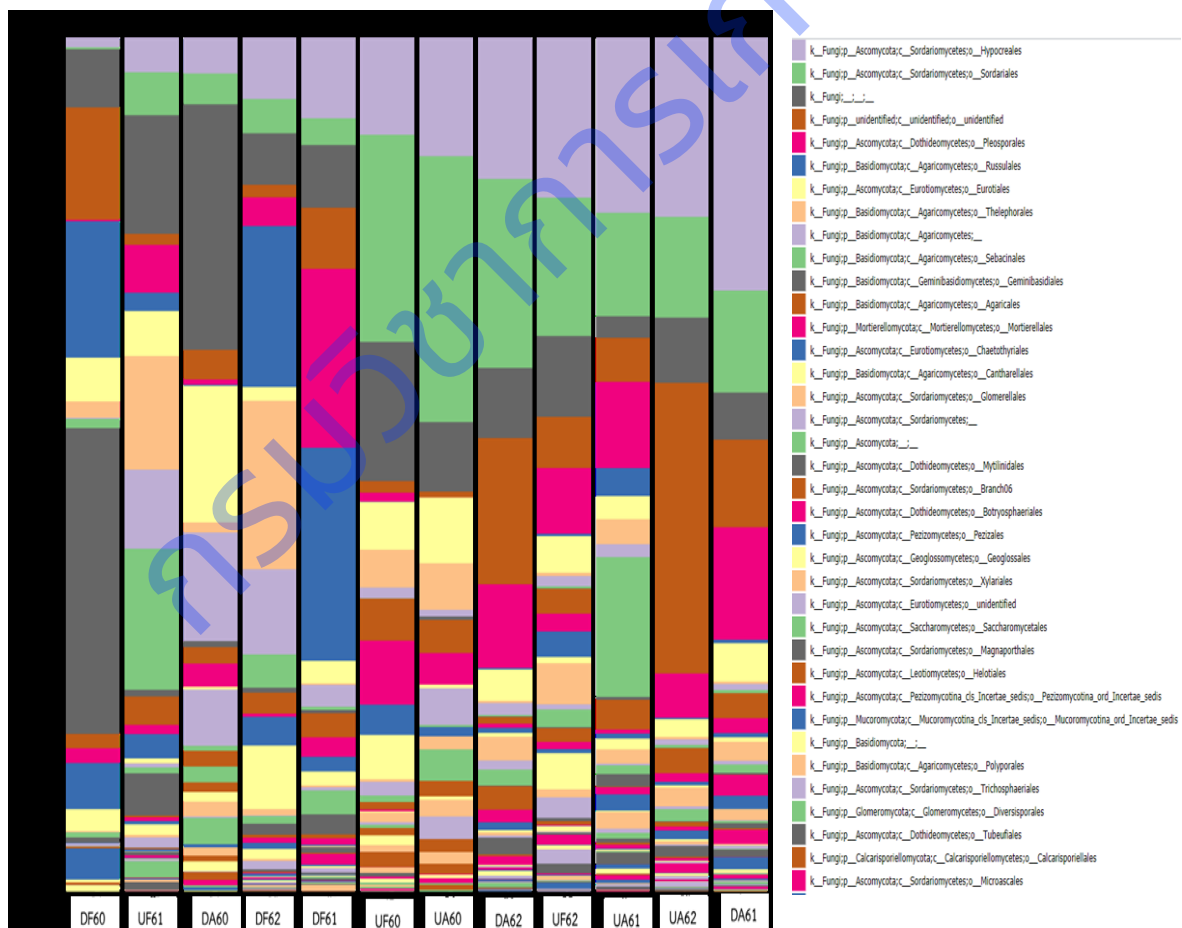
เมื่อพิจารณาภายในไฟลัม Ascomycota พบว่า class Sordariomycetes เป็น class ที่พบมากที่สุดในทุก ๆ ปี (2560-2562) โดยพบว่าในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 16.35 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 1.7 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 53.46 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 39.78 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 46.91 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 15.17 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 37.07 เปอร์เซ็นต์

และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 12.61 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 48.72 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 13.37 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 39.16 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 46.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบมากในพื้นที่เกษตรกรรม ในส่วนของไฟลัม Basidiomycota พบว่า class Agaricomycetes เป็น class ที่พบมากที่สุดในทุก ๆ ปี (2560-2562) โดยพบว่าในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 18.26 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 23.44 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 12.70 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 16.91 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 5.5 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 32.65 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 28.94 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 45.16 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 3.29 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 62.47 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 4.68 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 5.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบมากในพื้นที่ป่า (ภาพที่ 4)



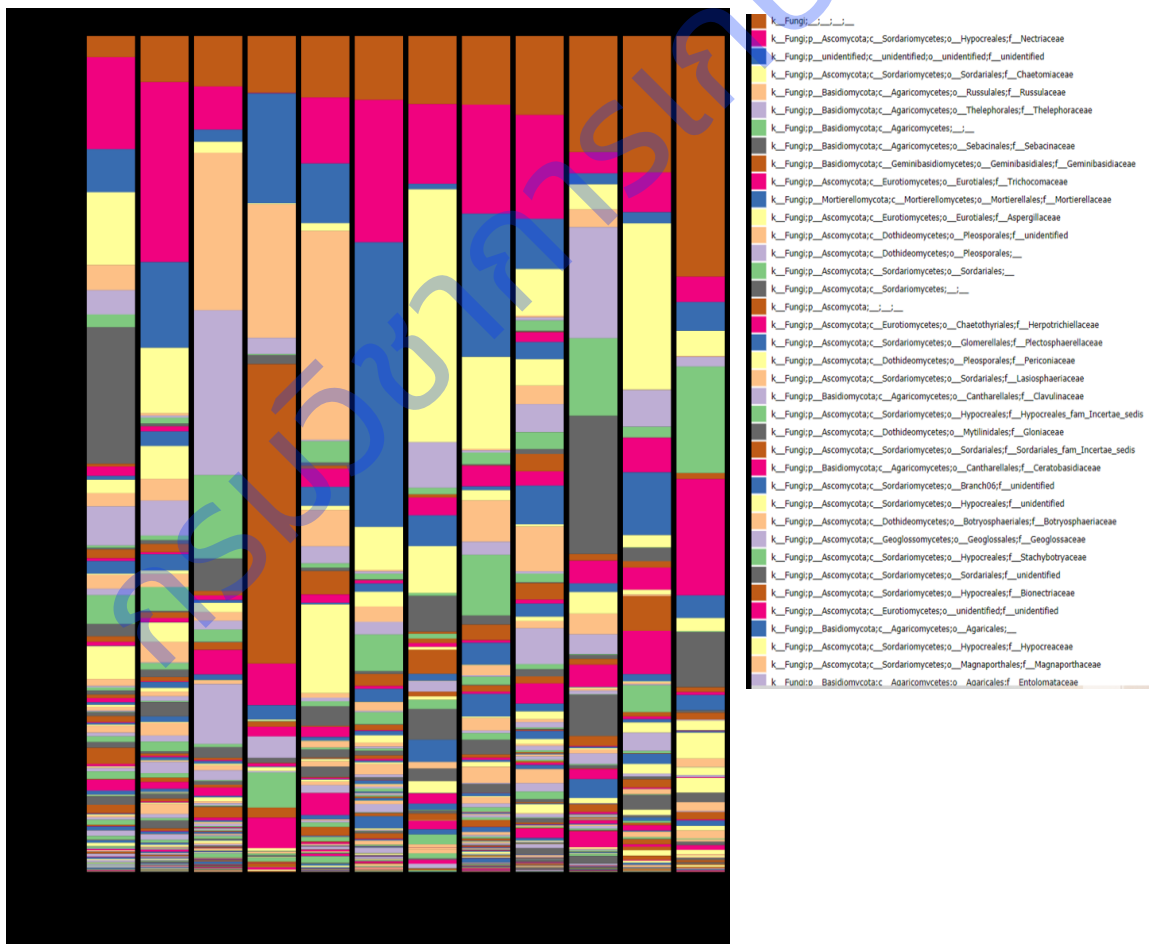
ภาพที่ 4 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ class ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำบายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

ภายใน class Sordariomycetes ของ ไฟลัม Ascomycota พบว่า order Hypocreales เป็น order ที่พบมากที่สุด โดยพบว่าในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 4.11 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 1.05 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 13.81 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 11.3 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 29.57 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 9.36 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 29.57 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 3.98 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 16.48 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 7.11 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 20.91 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 18.66 เปอร์เซ็นต์ ภายใน ไฟลัม Basidiomycota class Agaricomycetes พบว่า order Russulales เป็น order ที่พบมากที่สุด โดยพบว่าในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 15.97 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบในพื้นที่ป่าปลายน้ำ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 0.39 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 24.96 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 3.26 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 2.13 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 0.17 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 18.84 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำ 0.26 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ การศึกษาครั้งนี้ พบ order Russulales ทุก ๆ ฤดูของพื้นที่ป่าปลายน้ำ (ภาพที่ 5)



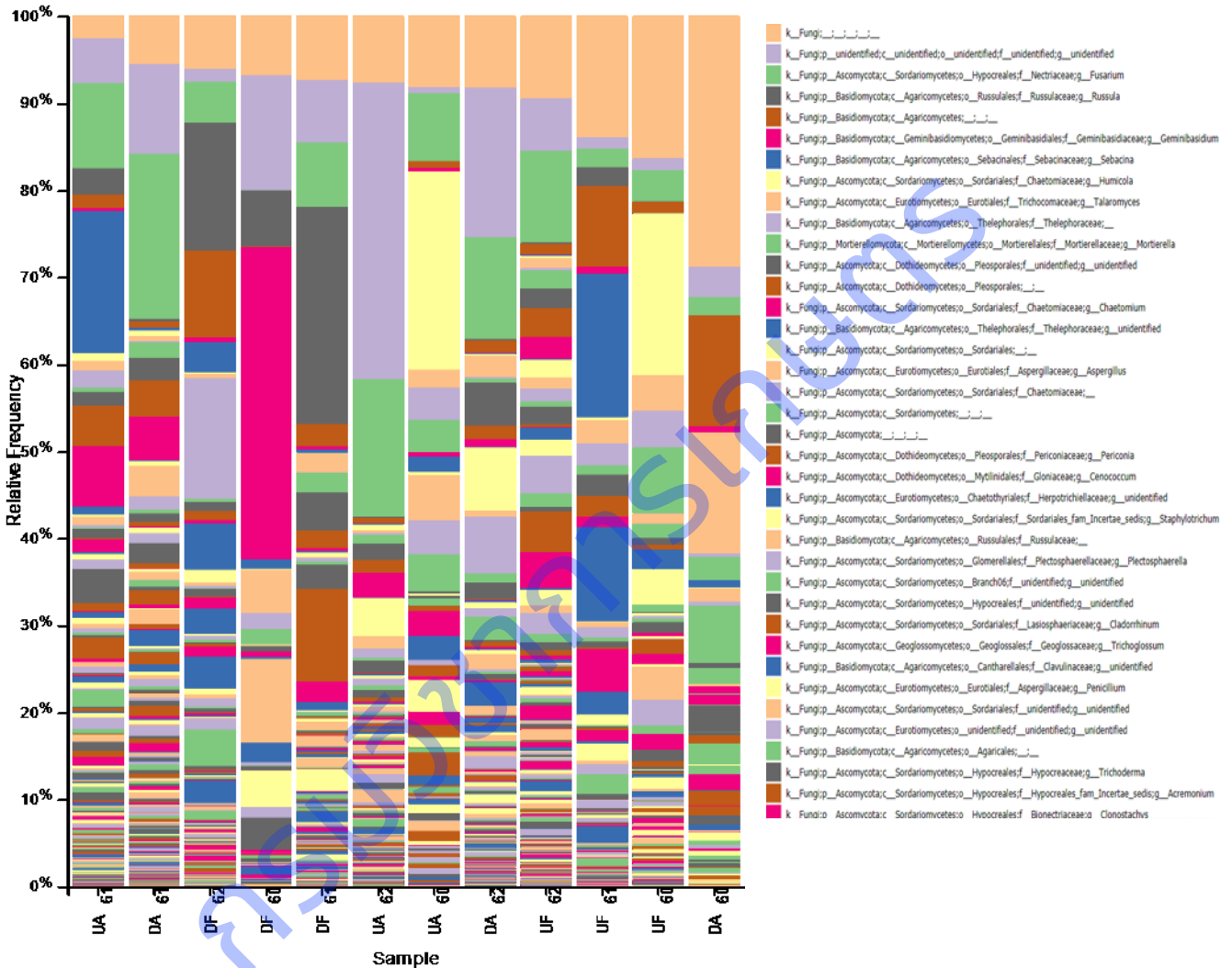
ภาพที่ 5 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ order ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำภายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

เมื่อพิจารณา order Hypocreales และ Sordariales พบว่า family เด่นที่พบมาก ได้แก่ Nectriaceae ตรวจพบจำนวน 10.1 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 3.03 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 9.52 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำ 4.75 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบ Nectriaceae ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 21.52 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 7.89 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 11.02 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 2.54 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 13.02 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 5.15 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 17.02 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 12.41 เปอร์เซ็นต์ โดย family Nectriaceae พบมากสุดในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ order Russulales มี family เด่นที่พบมาก ได้แก่ Russulaceae ในปี 2560 ตรวจพบเฉพาะในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 15.97 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 0.30 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 24.96 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 3.01 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 2.13 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 0.17 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 18.84 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำ 0.21 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ Russulaceae ถูกพบมากในพื้นที่ป่าปลายน้ำในทุก ๆ ฤดู (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ family ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำปายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

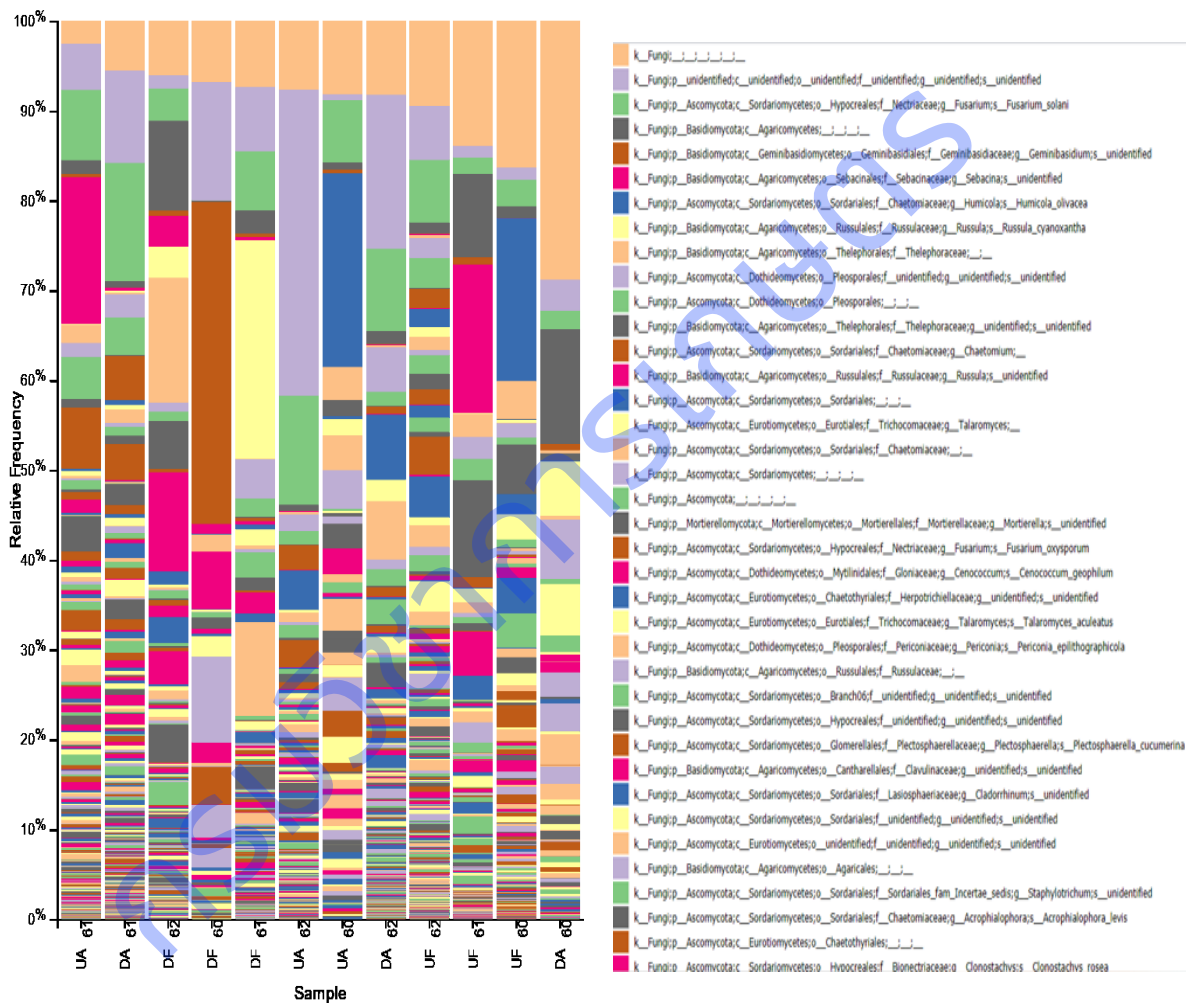
ใน family Russulaceae สกุล (genus) เด่นที่พบมาก ได้แก่ *Russula* ตรวจพบ 0.7 เปอร์เซ็นต์ โดยในปี 2560 ตรวจพบเฉพาะในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 6.41 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 0.29 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 24.96 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 3.01 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 2.13 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 ตรวจพบเฉพาะในพื้นที่ป่าปลายน้ำ 14.64 เปอร์เซ็นต์ รา *Russula* เป็น สกุลที่พบมากในพื้นที่ป่าปลายน้ำและชนิด (species) ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Russula cyanoxantha* (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ genus ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำบายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

สำหรับราดินสกุลที่เด่นที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ราสกุล *Fusarium* ตรวจพบจำนวน 8.6 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 2.11 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 7.85 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำ 3.62 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 18.99 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 7.40 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 9.83 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 2.16 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 11.76 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 4.75

เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 15.81 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 10.55 เปอร์เซ็นต์ ราดินสกุล *Fusarium* พบมากสุดในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ ชนิดที่พบมาก ได้แก่ รา *Fusarium solani* พบว่าในปี 2560 มีรา *Fusarium solani* ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 2.08 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 6.95 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำ 2.96 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2560 ไม่พบรา *Fusarium solani* ในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 13.19 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 6.60 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 7.84 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 1.83 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 9.18 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 3.61 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 12.17 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 6.99 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8)

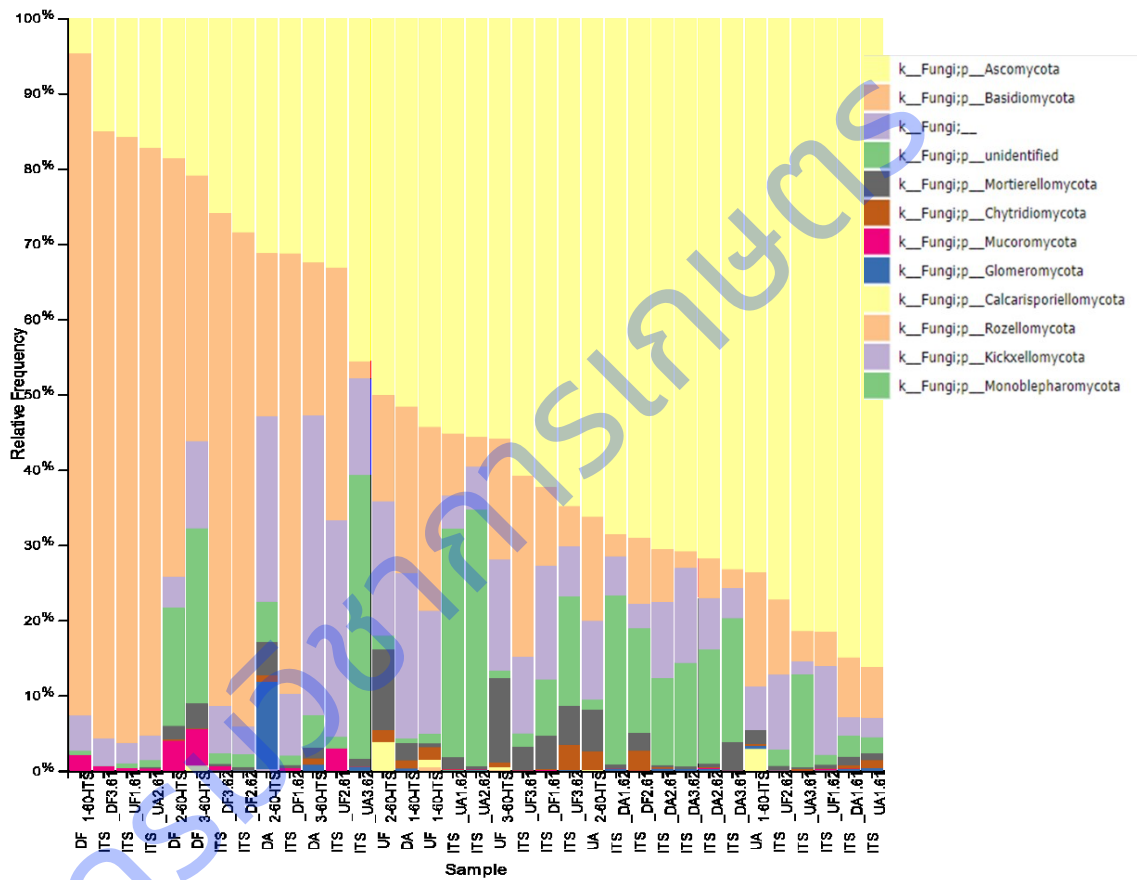


ภาพที่ 8 แสดงสัดส่วนของราเด่นแต่ละ species ที่ตรวจพบเนตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำบายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ระหว่างชุมชนแสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงบางอย่างแม้จะมีฟิล์มที่อุดมสมบูรณ์เหมือนกัน ภายในชุมชนเชื้อรา ฟิล์ม Ascomycota ซึ่งเป็นฟิล์มที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ มีเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์ในแต่ละพื้นที่ แต่ละฤดู ในระยะเวลา 3 ปีที่แตกต่างกันโดยการวิเคราะห์แบบ taxa bar plot พบว่าในปี 60 พื้นที่เกษตรต้นน้ำในฤดูฝนไม่ปรากฏ ดังแสดงในตารางที่ 2 (ภาพที่ 9)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์ของ ไฟล์ม Ascomycota แต่ละพื้นที่ แต่ละฤดู ในระยะเวลา 3 ปี

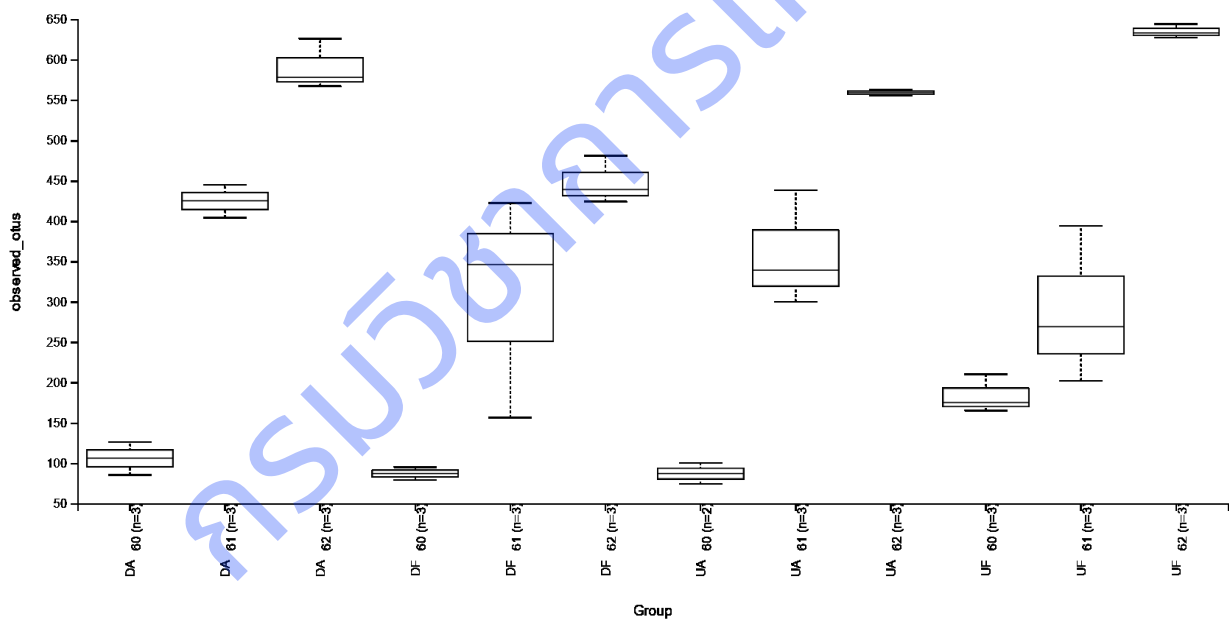
พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ปี 2560			ปี 2561			ปี 2562		
	หนาว	ร้อน	ฝน	หนาว	ร้อน	ฝน	หนาว	ร้อน	ฝน
เกษตรปลายน้ำ (DA)	51.63	31.24	32.48	62.33	69.04	15.09	68.59	71.80	70.86
ป่าปลายน้ำ (DF)	4.71	18.64	20.91	84.95	70.57	73.22	31.27	28.47	25.89
เกษตรต้นน้ำ (UA)	73.65	66.28	-	86.21	17.24	81.46	55.21	55.67	45.60
ป่าต้นน้ำ (UF)	54.33	50.08	55.91	15.82	33.14	60.82	81.55	77.26	64.83



ภาพที่ 9 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ ไฟล์ม ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณ
 ลุ่มน้ำปายในฤดูหนาว(1) ร้อน(2) ฝน(3) ในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA =
 พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

2.4 ความหลากหลายของชุมชนเชื้อรา

นอกจากองค์ประกอบของชุมชนที่โดดเด่นแล้วความหลากหลายของเชื้อราภายในชุมชนเหล่านี้ยังมีความแตกต่างกัน จากการคำนวณที่ระยะวิวัฒนาการ <math><0.03</math> (ความคล้ายคลึงกันของลำดับเบสประมาณ 97 เปอร์เซ็นต์) ด้วยการวิเคราะห์ Shannon และ Principal Co-ordinates Analysis (PCoA) พบว่าความหลากหลายของเชื้อรา มีความคล้ายคลึงกันในแต่ละฤดูกาลในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง ชุมชนป่าต้นน้ำในฤดูฝน (UF3) มีความหลากหลายมากกว่าชุมชนอื่น และพบว่ามีมีความหลากหลายสูงที่สุดจากตัวอย่างดินที่เก็บในฤดูฝน รองลงมาคือตัวอย่างดินที่เก็บในฤดูหนาวและฤดูร้อน ตามลำดับ (ภาพที่ 10) ผลของการประมาณค่า Chao 1 และการวิเคราะห์ rarefaction curve สนับสนุนผลการวิเคราะห์ข้างต้นเช่นเดียวกัน การวิเคราะห์ β -diversity โดยการเปรียบเทียบชุมชนของพล็อต Non-metric Multi-dimensional Scaling (NMDS) ระบุว่ามียุคต่าง ๆ เกิดขึ้นระหว่าง ฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน การวิเคราะห์พล็อต NMDS แสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างชุมชนราดินในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ด้วยเหตุนี้จึงเห็นว่าคุณสมบัติของดินที่แตกต่างกันมีผลต่อชุมชนเชื้อราในพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้ง 4 แหล่งใน 3 ฤดูกาล เมื่อรวมกันแล้วชุมชนราในฤดูหนาวและฤดูร้อนแสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ชุมชนราในฤดูฝนมีการแยกกลุ่มออกมา ผลลัพธ์เหล่านี้สะท้อนถึงการกระจายทางภูมิศาสตร์และองค์ประกอบต่าง ๆ ของดินในฤดูฝน



ภาพที่ 10 แสดงการกระจายตัวของชุมชนเชื้อราแต่ละพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง 3 ปี

จากการสุ่มตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการเกษตรและพื้นที่ป่า โดยสำรวจพื้นที่ 4 แห่ง เป็นเวลา 3 ปี ครอบคลุม 3 ฤดูกาล ทำให้ได้ฐานข้อมูลที่ครอบคลุมเชื้อรามากที่สุด ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ถือเป็นครั้งแรกในการหาลำดับเบสด้วยเทคนิค next generation sequencing (NGS) โดยอาศัยพื้นฐานทางชีวโมเลกุลเพื่อศึกษาความหลากหลายของชุมชนเชื้อราในดินโดยการระบุลักษณะของชุมชนเชื้อราในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำของกลุ่มน้ำป่า จังหวัดแม่ฮ่องสอน การใช้เทคนิค NGS แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของเชื้อราที่สูงมาก phylotypes ของเชื้อราที่ถูกระบุมากที่สุด คือ ไฟล์มไฟล์ม Ascomycota ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุถึงความอุดมสมบูรณ์และการแพร่กระจายของรา ascomycetes ในดินทั่วโลก (Prober *et al.*, 2014)

การศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่กล่าวว่า ไฟลัม Ascomycota เป็นชุมชนเชื้อราในดินที่มีความโดดเด่นและพบได้มากที่สุด (Sterflinger *et al.*, 2012; Abed *et al.*, 2013; Bastida *et al.*, 2013) สำหรับองค์ประกอบชุมชนราดินโดยรวมของพื้นที่ศึกษาในครั้งนี้พบว่าลำดับเบสของเชื้อราส่วนใหญ่แบ่งออกได้ 5 ไฟลัมสำคัญ ได้แก่ Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota ซึ่งคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ ของ OTUs ทั้งหมดที่ตรวจพบ โดย ไฟลัม Ascomycota เป็น ไฟลัมที่พบมากที่สุด (79.3 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ Basidiomycota เป็นชุมชนเชื้อราที่พบรองลงมาเมื่อคิดเป็น 4.32 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการตรวจสอบพบว่าชุมชนของเชื้อรา Ascomycota ในดินถูกพบมากในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าปลายน้ำ และป่าต้นน้ำ

ราดินไฟลัม Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota ตรวจพบได้น้อยมากเมื่อเทียบกับจำนวนลำดับเบสของ ไฟลัม Ascomycota เชื้อราที่มี OTUs มากที่สุดคือ class Sordariomycetes และ Agaricomycetes ซึ่งในอดีตพบเป็น class ที่มีความหลากหลายสูงและสามารถพบได้ในทุก ๆ ตัวอย่างดิน บ่งบอกว่ารากลุ่มนี้มีความคงทนสูงในระบบนิเวศ สมาชิกของราใน class Sordariomycetes มีรายงานว่า เป็นเชื้อก่อโรคร่วมกับพืชและสัตว์ นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นราเอนโดไฟท์ในพืชและเป็นราที่ช่วยย่อยสลายเศษซากพืชซากสัตว์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนของธาตุอาหารในดิน (Qin *et al.*, 2014) การศึกษาครั้งนี้พบว่าลำดับเบสของ OTUs ส่วนใหญ่เป็นของรา class Sordariomycetes ซึ่งตรงกันกับ species ที่อธิบายไว้ก่อนหน้านี้และมีความใกล้เคียงกันกับสกุลดังต่อไปนี้: *Metacordyceps*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Gliocephalotrichum*, *Purpureocillium*, *Xylomyces*, *Lepidosphaeria*, *Trichoglossum*, *Staphylotrichum*, *Plectosphaerella*, *Magnaporthe*, *Remispora*, *Scedosporium*, *Thielavia*, *Conocybe*, *Pholiotina*, *Lactarius*, *Russula* และ *Stephanospora* ส่วนใหญ่ถูกจัดอยู่ใน order Hypocreales, Sordariales, Jahnulales, Pleosporales, Magnaporthales, Microascales, Agaricales และ Russulales เชื้อราในดินเหล่านี้มีบทบาทสำคัญกับพืชทั้งในเรื่องของการช่วยย่อยสลายธาตุอาหาร การอยู่ร่วมกับพืชแบบ symbiotic หรือ mutualistic (Powell *et al.*, 2015) OTUs ของรากลุ่มที่ใหญ่ที่สุดคือ class Sordariomycetes ประกอบด้วยสมาชิกในสกุล *Metacordyceps*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Gliocephalotrichum*, *Purpureocillium*, *Magnaporthe*, *Remispora*, *Scedosporium* และ *Thielavia* ซึ่งจัดอยู่ใน order Hypocreales, Magnaporthales, Microascales และ Sordariales ราเหล่านี้เป็นรายย่อยสลายเซลล์ในดิน รวมทั้งเป็นราที่ทำให้เกิดโรคและไม่ก่อโรค โดยเฉพาะราในสกุล *Fusarium* ซึ่งเป็นราที่โดดเด่นในการศึกษานี้ โดยราสกุลนี้อาจไม่เป็นอันตรายกล่าวคือราชนิดนี้สามารถเป็นประโยชน์กับพืชโดยการเป็นราเอนโดไฟท์ของพืชหรืออาจเป็น saprophytes ในดิน ราสกุลนี้มีหลากหลายสายพันธุ์ เช่น *F. oxysporum* และ *F. solani* เป็นราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่เกษตรกรรม อย่างไรก็ตามพบว่ารา *F. oxysporum* หลายสายพันธุ์เป็นราที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับพืช ดังนั้นจึงมีเหตุผลที่จะสรุปได้ว่ารูปแบบการทำให้เกิดโรบบางอย่างสืบเชื้อสายมาจากบรรพบุรุษที่ไม่ก่อให้เกิดโรค การศึกษาครั้งนี้พบว่ามี 8 OTUs ที่เกี่ยวข้องกับ *F. oxysporum* (ลำดับเบสมีความคล้ายคลึงกัน 98-100%) การมีความสามารถที่หลากหลายอาจมีความสำคัญมากสำหรับเชื้อราในการปรับตัวให้อยู่รอดหรือปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ ตัวอย่างเช่น รา *Fusarium* ที่ถูกพบในสัดส่วนของ OTUs ที่สูงทั้งในดินพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่า ส่วนราใน class Dothideomycetes พบ OTUs ของ 2 สกุล ได้แก่ *Xylomyces* และ *Lepidosphaeria* จัดอยู่ใน order Jahnulales และ Pleosporales ราที่อยู่ใน order นี้พบเป็นราเอนโดไฟท์ในพืช หรือเป็น epiphytes ของพืชที่มีชีวิต และยังเป็นราที่ช่วยย่อยสลายเซลล์ในดิน และคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนอื่น ๆ ในเศษซากพืชที่ตายแล้ว

(Abed *et al.* 2013)

ไฟลัม Basidiomycota ถูกรายงานว่ามีความหลากหลายและตรวจพบได้ทั่วไปในระบบนิเวศของดิน (Buée *et al.*, 2009) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ามี OTUs ของราในไฟลัมนี้อยู่ 21.9 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 โดยลำดับเบสส่วนใหญ่ตรงกับสกุล *Conocybe*, *Pholiotina*, *Lactarius*, *Russula* และ *Stephanospora* สกุลเหล่านี้เป็นที่ทราบกันดีว่าประกอบด้วยสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์หลายชนิด (de Hoog *et al.*, 2000) เช่น เห็ด *Russula cyanoxantha* เป็นเห็ดเโคโตไมคอร์ไรซาที่นิยมนำมารับประทานทั่วเอเชีย ยุโรปและแอฟริกา ในประเทศไทยพบว่าเห็ดชนิดนี้ชาวบ้านเก็บรวบรวมและขายตามท้องตลาดท้องถิ่นในเชิงพาณิชย์เพื่อใช้เป็นอาหารและยา (Wang *et al.*, 2009)

ส่วนใหญ่ลำดับเบสของ OTUs ใน ไฟลัม Zygomycota, Glomeromycota และ Chytridiomycota อยู่ในสกุล *Mortierella* และ *Pizellomyces* ซึ่งมีรายงานว่าเป็นกลุ่มเชื้อราที่พบบ่อยในดิน (Zhang *et al.*, 2014) มีรายงานว่าสมาชิกของราในสกุลนี้ทำให้สารอินทรีย์ที่อยู่ในดินกลายเป็นธาตุอาหารที่มีประโยชน์กับพืชมากกว่าที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายเศษซากในดิน (Brown and Jumpponen, 2014) ในขณะเดียวกันยังพบว่ารากลุ่มนี้สามารถเข้าไปอาศัยภายในสปอร์ของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้ (Daniels, 1981) การศึกษาครั้งนี้สามารถตรวจพบลำดับเบสของ OTUs ที่เป็นสมาชิกของรา chytrids ในพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมแม้ว่าจะมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ (<1% ของ OTUs ทั้งหมด) ลำดับเบสของ OTUs ที่ตรวจพบหลายตัวส่วนใหญ่เป็นราที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้จากสภาพแวดล้อมซึ่งจัดเป็นสมาชิกของ Fungi incertae sedis ลำดับเบสเหล่านี้รวมกันได้ 8 กลุ่ม และมีความสอดคล้องกับ ไฟลัม Ascomycota จึงควรมีการวิเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อสำรวจลักษณะการทำงานของชนิดเชื้อราเหล่านี้เพื่อการจัดจำแนกในระดับสกุลต่อไป

พืชส่วนใหญ่จะหลั่งสารประกอบคาร์บอนหลายชนิดที่เชื้อราสามารถใช้เป็นอาหารได้จึงถือเป็นการสร้างพื้นที่ให้เชื้อราเข้าครอบครองได้มากขึ้นและส่งเสริมให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ของเชื้อราเพิ่มขึ้น (Weber *et al.*, 2011) อย่างไรก็ตามสภาพการเจริญเติบโตของพืชในป่าที่มีสารอาหารที่เป็นประโยชน์อยู่มากสามารถเอื้อต่อการเจริญของประชากรจุลินทรีย์ในดินมากขึ้น ข้อจำกัดเกี่ยวกับธาตุอาหารในกรณีที่ไม่มีการพืชรากไปขัดขวางการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเส้นใยเชื้อราหลายชนิด ดังนั้นจึงมีเชื้อราเพียงบางชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงกับระบบนิเวศวิทยาเท่านั้นที่ถูกพบ (Bates *et al.*, 2012) ข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าโครงสร้างชุมชนราดินมีความซับซ้อนซึ่งเป็นผลจากการพึ่งพาระหว่างความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินกับพรรณพืช แม้ว่าการทดลองนี้ไม่ได้ออกแบบมาเพื่อทดสอบผลกระทบจากคุณสมบัติของดินที่มีต่อชุมชนเชื้อราในดิน แต่ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าคุณสมบัติของดินมีผลกระทบต่อชุมชนเชื้อราในดิน เมื่อเปรียบเทียบกับดินในพื้นที่เกษตรกรรมแล้วชุมชนเชื้อราในดินป่ามีความหลากหลายมากกว่าเนื่องจากความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารและองค์ประกอบอื่น ๆ ในดิน ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ศึกษาถึงภาวะผลกระทบที่เกี่ยวกับดิน (Qin *et al.*, 2014) มีการศึกษาพบว่า การเพิ่มขึ้นของคุณสมบัติทางเคมีของดินช่วยผลักดันให้เกิดชุมชนเชื้อราที่หนาแน่นขึ้น และมีความหลากหลายที่มากขึ้น (McGill *et al.* 2007) การสุ่มตัวอย่างจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการประเมินองค์ประกอบชุมชนเชื้อราให้ถูกต้อง เนื่องจากชุมชนของเชื้อราที่มีความหลากหลายสูง การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสามารถอ่านค่าได้ทั้งหมด 1 ล้านครั้ง (reads) และมีค่าเฉลี่ยของการอ่าน 97,993 ครั้ง (reads) ต่อ 12 phylotype ต่อตัวอย่าง ส่งผลให้บางชนิดที่พบน้อยและ accumulation curve เป็นตัวแทนของสมาชิกที่พบมากที่สุดในการชุมชนจุลินทรีย์ แม้ว่าจะประเมินความหลากหลายที่แท้จริงของเชื้อราที่อยู่ในดินเพียงจุดเล็ก ๆ จึงสรุปได้

ว่าการสุ่มตัวอย่างและวิธีการจำแนกนี้เหมาะสมในการสำรวจจีโนมของจุลินทรีย์ (mycobiome) ในดิน ในการตรวจจับและกำหนดลักษณะของการจัดกลุ่มและหมวดหมู่ (taxa) ของเชื้อราในดินที่พบจำนวนมาก การศึกษาครั้งนี้ได้เลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา (phylotype ที่พบมากที่สุด 10 เปอร์เซ็นต์ โดยเรียงตามเปอร์เซ็นต์ของการอ่านยีนบริเวณ ITS rDNA) ที่ตรวจพบได้บ่อยครั้งและพบได้ในหลายพื้นที่ มีเชื้อราน้อยกว่าหนึ่งร้อย phylotype ที่มีลักษณะเด่นในดินทางการเกษตรและในดินป่า บางครั้งปริมาณและความถี่ของ phylotype มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกโดยมี phylotype ค่อนข้างน้อยที่พบได้บ่อยและมีจำนวนมาก และการจัดกลุ่มหรือหมวดหมู่ของเชื้อราส่วนใหญ่ถูกจำกัดการแพร่กระจายตัว เช่นเดียวกับการศึกษาความหนาแน่นและการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของแบคทีเรียที่โดดเด่นในดิน (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018) ซึ่งให้เห็นว่าชุมชนจุลินทรีย์ในดินทั้ง prokaryote และ eukaryote มีรูปแบบการสร้างชุมชนที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการรายงานในชุมชนพืชและสัตว์ก่อนหน้า (Scheffer *et al.*, 2017) การศึกษาความหลากหลายของราประจำถิ่นมีแนวโน้มการกระจายทางภูมิศาสตร์ที่กว้างขึ้น โดย phylotype ของเชื้อราที่โดดเด่นที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ใน phylum Ascomycota เพียง phylum เดียว สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าที่ระบุถึงความหนาแน่นและการกระจายตัวของ phylum Ascomycota ที่พบในดินทั่วโลก (Tedersoo *et al.*, 2014; Maestre *et al.*, 2015; Prober *et al.*, 2014) สามารถตรวจสอบ phylotype ที่มีอยู่น้อยในดิน โดยพบ phylotype เหล่านี้ได้ในทุก ๆ สภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามความหลากหลายของ taxa ที่โดดเด่นจะถูกจำกัดการเพิ่มจำนวน (amplified) กับคูไพรเมอร์ (primer) ที่ใช้และการสุ่มตัวอย่างดิน เช่น การประเมินการกระจายตัวของเชื้อราบางชนิดที่มีการขยายพันธุ์ซ้ำ โดยการใช้ไพรเมอร์ ITS ซึ่งเป็น primer ที่ใช้กันทั่วไปตัวอย่างเช่นสมาชิกของราในไฟลัม Glomeromycota และ Zygomycota

ชุดข้อมูลของการศึกษานี้มีการศึกษาในพื้นที่จำกัด โดยไม่ได้ทำการศึกษาในภาคอื่น ๆ เช่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งอาจเป็นการจำกัดจำนวนของเชื้อราที่มีลักษณะเด่นในชีวนิเวศนั้น ๆ การศึกษาความหลากหลายของชุมชนราในอนาคตในพื้นที่ที่ไม่ได้เก็บตัวอย่างจะช่วยให้สามารถระบุสมาชิกร่วมกันของ mycobiome ในดินได้มากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า taxa ที่โดดเด่นส่วนใหญ่เป็นของเชื้อราที่มีชีวิตอิสระซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงได้ ซึ่งเห็นว่ารากลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญในการเข้าครอบครองพื้นที่ได้มาก ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่ระบุว่ามีการอยู่หลายสกุลจัดอยู่ในสมาชิกของชุมชนเชื้อราในดินที่มีการรายงานไว้ (Gams 2007) ในทางตรงกันข้ามพบว่ามีเชื้อราที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 13.5 - 23.5 เปอร์เซ็นต์ แต่โดยรวมแล้วมีการกระจายแบบแคบ ๆ ซึ่งบ่งชี้ว่า phylotypes ที่พบจำนวนน้อยเหล่านี้เป็น phylotypes ที่ไม่โดดเด่นและพบอยู่ทั่วไปในดิน เชื้อราที่โดดเด่นที่ระบุในการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความชอบของเชื้อราที่จะเจริญในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันสองชนิด คือ พื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรม คุณสมบัติของดิน (เช่น pH ของดิน) เป็นตัวพยากรณ์ที่ไม่ดีเกี่ยวกับความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของ taxa เชื้อรา แต่ในทางตรงกันข้ามกลับสามารถพยากรณ์ความโดดเด่นของแบคทีเรียได้ (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018) ในความเป็นจริงสภาพอากาศมักถูกรายงานว่าเป็นปัจจัยแวดล้อมที่สำคัญที่สุดในการทำนายองค์ประกอบของเชื้อราในชุมชน ความแตกต่างของแหล่งที่อยู่อาศัยสำหรับเชื้อราที่โดดเด่นเป็นผลมาจากความสำคัญของพืชพรรณและภูมิอากาศ (เช่นดัชนีความแห้งแล้ง การตกตะกอน/ การระเหยของสาร) ในการกำหนดองค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงของชุมชนเชื้อราในดิน (Tedersoo *et al.*, 2014; Maestre *et al.*, 2015; Bahram *et al.*, 2018) รูปแบบการเจริญร่วมกันของ taxa ที่โดดเด่นไม่ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ชัดเจนระหว่างอัตลักษณ์ทางอนุกรมวิธานระดับหยาบ (เช่น class กับ family) และความชอบของเชื้อราในการเจริญในแหล่งต่าง ๆ order

หรือ family ส่วนใหญ่จะพบในระบบนิเวศหลักแต่ละกลุ่ม อย่างไรก็ตามในระดับสกุล (genera) phylotypes ที่โดดเด่นแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างที่ชัดเจนในความชอบของเชื้อราในการเจริญในแหล่งต่าง ๆ และความแตกต่างในสภาพภูมิอากาศ

ผลลัพธ์ดังกล่าวสนับสนุนแนวคิดที่ว่าชุมชนเชื้อราในโลกอาจมีความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงจากสภาพภูมิอากาศมากกว่าชุมชนแบคทีเรียซึ่งมักเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของดิน (de Vries *et al.*, 2018) การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและการกระจายตัวของภูมิทัศน์ที่เพิ่มขึ้นอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการเข้ายึดครองพื้นที่ของชุมชนเชื้อรา (Grime, 1988) ชุมชนเชื้อราในดินของพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมที่ตรวจพบในการศึกษานี้ทั้งหมดถูกครอบครองโดยไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota แต่ความอุดมสมบูรณ์ที่ตรวจพบมีระดับแตกต่างกัน ความหลากหลายของเชื้อรายังแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ในแต่ละปี พื้นที่เกษตรปลายน้ำและพื้นที่เกษตรต้นน้ำมีอุณหภูมิและปริมาณน้ำฝนประจำปีสูงกว่าพื้นที่ป่าปลายน้ำและพื้นที่ป่าต้นน้ำ อุณหภูมิและปริมาณน้ำฝนที่สูงขึ้นอาจทำให้เกิดชุมชนเชื้อราที่มีความหลากหลายมากขึ้นของเชื้อราในดินเขตร้อน สถานที่เก็บตัวอย่างหรือองค์ประกอบภายในดินอาจเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อชุมชนเชื้อราในดิน ความแตกต่างระหว่างชุมชนเชื้อราจากดินในพื้นที่เกษตรปลายน้ำและพื้นที่เกษตรต้นน้ำมีค่อนข้างน้อย ซึ่งให้เห็นว่าพื้นที่เพาะปลูกที่มีพืชอาศัย การไถพรวน และการใส่ปุ๋ยอาจเป็นตัวขับเคลื่อนชุมชนเชื้อราได้มากกว่าตำแหน่งทางภูมิทัศน์ วัสดุต่าง ๆ ในดินสามารถปลดปล่อยสารอาหารต่าง ๆ สู่สภาพแวดล้อมเพื่อให้จุลินทรีย์ในดินนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (Ulrich and Becker, 2006) จากการศึกษาพบปฏิกิริยาแปรผันของสายพันธุ์เชื้อราที่แตกต่างกันและหน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) ที่ร่วมกับ Ascomycota และ Basidiomycota สรุปได้ว่าความหลากหลายของเชื้อราในพื้นที่ป่าปลายน้ำและพื้นที่ป่าต้นน้ำ มีความหลากหลายสูงกว่าดินในพื้นที่เกษตรปลายน้ำและพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ไฟลัมหลักที่สำคัญมีลักษณะคล้ายกัน แต่ความอุดมสมบูรณ์ในแต่ละชุมชนต่างกัน ชุมชนดินในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ และเกษตรปลายน้ำ เกษตรต้นน้ำ ก่อตัวเป็นกลุ่มก้อนที่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์ที่แตกต่างกันกับคุณสมบัติของดิน ผลการวิจัยเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าวัสดุในดินและระยะทางทางภูมิศาสตร์ที่ต่างกันส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติของดินและทำให้องค์ประกอบของเชื้อราและความหลากหลายในป่าและพื้นที่เกษตรกรรมเปลี่ยนแปลงไป

การวิเคราะห์จีโนมทั้งหมดควรได้รับการตรวจสอบว่าข้อมูลของยีนที่ใช้งานได้สามารถอธิบายได้หรือไม่ว่าเหตุใด phylotypes ของไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota จึงมีความโดดเด่นกว่า phylotypes อื่น ๆ และทำไม phylotypes ของไฟลัม Ascomycota บางชนิดจึงมีความโดดเด่นมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ องค์ความรู้ทั้งหมดนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งหากเราจะพัฒนาแนวทางและกลยุทธ์ที่มุ่งรักษาความหลากหลายและการทำงานของจุลินทรีย์ในดินในประเทศไทย ยีน ITS เป็นยีนที่นิยมศึกษาอย่างแพร่หลายที่สุดในนิเวศวิทยาระดับโมเลกุลของเชื้อราและได้รับการแนะนำให้ป็นลำดับดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อราสากล ซึ่งสามารถระบุชนิดได้โดยใช้ฐานข้อมูล Unite INSDC (Bachy *et al.*, 2012; Bengtsson- Findley *et al.*, 2013; Stoeck *et al.*, 2019) การวิเคราะห์ยีนบริเวณอื่นนอกเหนือจากบริเวณ rDNA เป็นสิ่งจำเป็นเช่นกันสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อราในดิน เช่น β -tubulin, actin, Tsr1, MCM7, EF1- α , Calmodulin และ chitin synthase เนื่องจากเป็นบริเวณที่ผ่านการวิวัฒนาการร่วมกันอย่างรวดเร็วโดยผ่านการผสมข้ามสายพันธุ์และการแปลงยีนที่ไม่เท่ากัน อีกทั้งยังมีความแปรผันในระดับสูงแม้กระทั่งระหว่างสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิด ในการศึกษาที่สมมติฐานทางวิวัฒนาการของเชื้อราในดินได้รับการปรับปรุงโดยการประมาณค่าที่อิงตามชุดข้อมูลที่ใหญ่ที่สุดในปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม

ก็ตามความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในระดับที่สูงขึ้นยังคงไม่ชัดเจน สำหรับการศึกษานุกรมวิธานและความหลากหลายของเชื้อราในดินเพิ่มเติมเราจำเป็นต้องมีสมมติฐานทางวิวัฒนาการที่เชื่อถือได้มากขึ้นโดยอาศัยข้อมูลลำดับเบสที่ครอบคลุม

3 การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแอกติโนมัยสีทในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

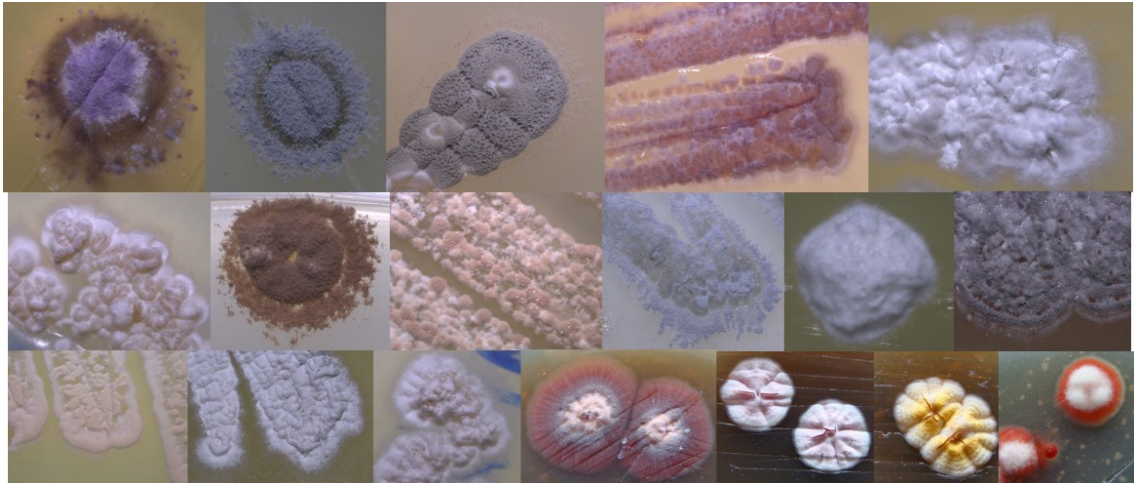
3.1 ประชากรราดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

การนับจำนวนประชากรแอกติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินทั้ง 4 จุด โดยวิธี plate count จะเห็นว่าในจำนวนดิน 1 กรัม มีจำนวนประชากรแอกติโนมัยสีทอยู่ค่อนข้างมากโดยพบว่าในปี 2562 ตัวอย่างดินที่เก็บจากแปลงเกษตรบริเวณต้นน้ำในฤดูร้อนมีจำนวนประชากรแอกติโนมัยสีทจำนวนมากที่สุดถึง 1.17×10^7 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ส่วนตัวอย่างดินที่มีจำนวนประชากรแอกติโนมัยสีทน้อยที่สุดเมื่อตรวจนับโดยวิธี plate count ได้แก่ ตัวอย่างดินจากแปลงเกษตรบริเวณปลายน้ำในฤดูร้อนที่เก็บในปี 2560 ในดิน 1 กรัมตรวจพบประชากรของแอกติโนมัยสีทจำนวน 1.1×10^4 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนประชากรแอกติโนมัยสีทที่ตรวจนับโดยวิธี plate count จากตัวอย่างดิน 4 จุด 3 ฤดู ในช่วงเวลา 3 ปี ในหน่วยเซลล์ต่อดิน 1 กรัม

ปี/ฤดู	ป่าปลายน้ำ	เกษตรปลายน้ำ	เกษตรต้นน้ำ	ป่าต้นน้ำ
ปี 2560				
หนาว	5.9×10^6	1.99×10^6	3.5×10^6	1.97×10^6
ร้อน	6.7×10^4	1.1×10^4	2.4×10^5	1.5×10^4
ฝน	5.3×10^6	1.9×10^6	4.0×10^6	5.4×10^6
ปี 2561				
หนาว	5.5×10^6	1.37×10^6	2.2×10^6	5.9×10^6
ร้อน	2.5×10^6	1.05×10^6	4.6×10^6	8.0×10^5
ฝน	1.89×10^6	1.35×10^6	1.33×10^6	1.19×10^6
ปี 2562				
หนาว	1.68×10^6	9.2×10^5	3.8×10^5	3.3×10^6
ร้อน	3.5×10^6	1.17×10^7	6.6×10^6	3.2×10^6
ฝน	4.1×10^6	6.8×10^6	3.3×10^5	7.0×10^6

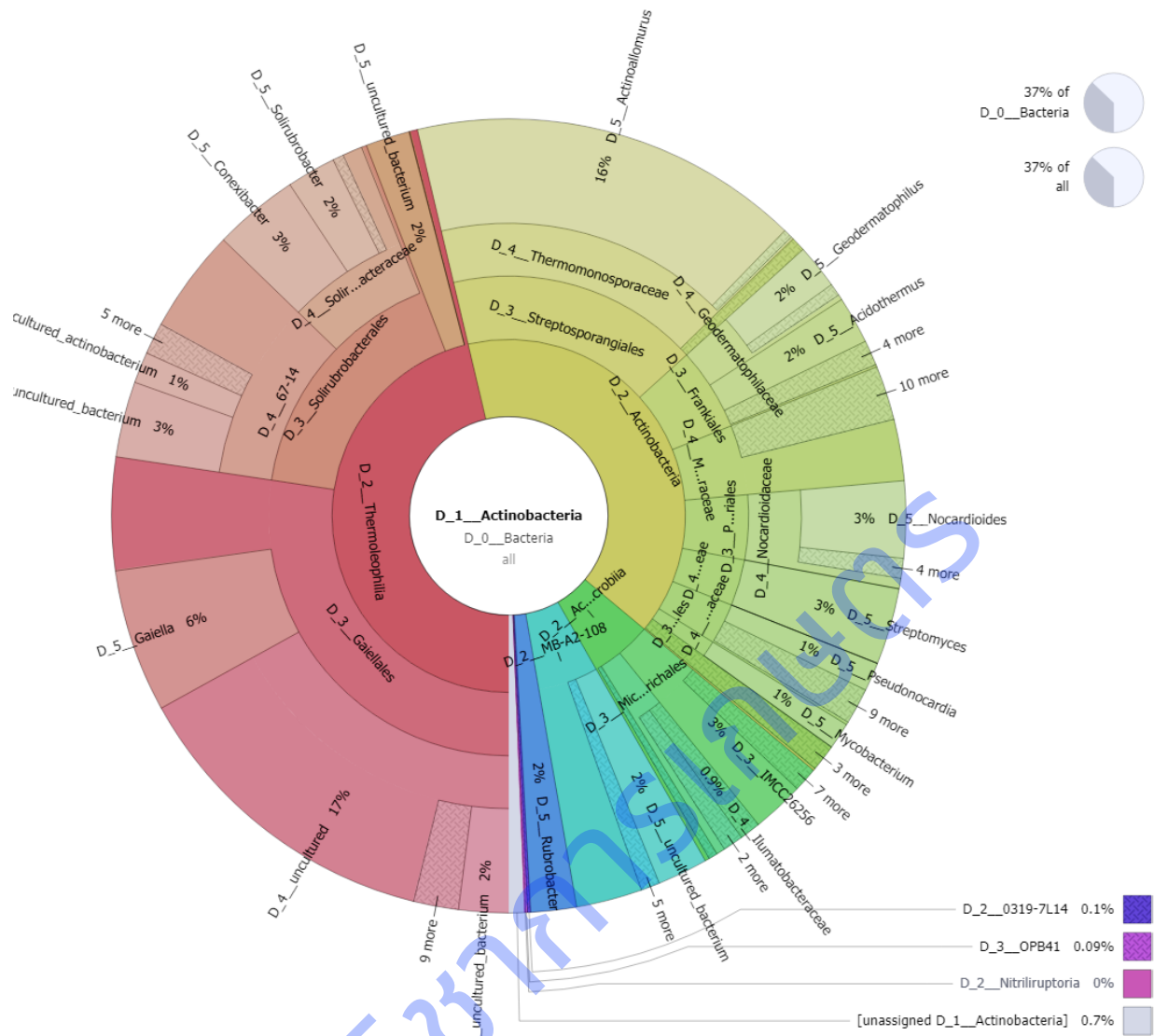
เมื่อนำแอกติโนมัยสีทที่แยกได้มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าจัดเป็น *Streptomyces* sp. สามารถจำแนกได้ 18 สายพันธุ์ ที่มีการเส้นใย การสร้างสปอร์ และสีของรงควัตถุที่แตกต่างกัน ลักษณะของโคโลนีดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยสีทที่เพาะเลี้ยงได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนมัยสีทในพื้นที่ลุ่มน้ำปายด้วยเทคนิค Next generation sequencing

เนื่องจากแอกติโนมัยสีทจัดอยู่ในไฟลัม Actinobacteria ซึ่งเป็นสมาชิกของอาณาจักร Bacteria จึงใช้ยีน 16s rDNA ในการวิเคราะห์ลำดับเบสและจะกล่าวถึงเฉพาะไฟลัม Actinobacteria เท่านั้น ทำการศึกษาในระยะเวลา 3 ปี (2560-2562) เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายบริเวณต้นน้ำและปลายน้ำจำนวน 4 จุด แบ่งเป็นพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูหนาว ร้อน และฝนในแต่ละปีมีตัวอย่างดินจำนวน 12 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสในปี 2560 พบว่า ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 37 เปอร์เซ็นต์ โดยในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Thermoleophilia 46 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ class Actinobacteria 40 เปอร์เซ็นต์ class Acidimicrobiia พบมากเป็นอันดับ 3 มีอยู่ 6 เปอร์เซ็นต์ และ class MB-A2-108 มี 6 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับเบสที่ตรวจพบจำนวนไม่น้อยเป็นลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นแอกติโนมัยสีทกลุ่มใด (Unassigned) หรือไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ (Uncultured) การจัดจำแนกลำดับเบสของแอกติโนมัยสีทในระดับ order family และ genus ในปี 2560 แสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 2 ไฟล์ม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในปี 2560

ตารางที่ 2 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟล์ม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในปี 2560

Class/Oder/Family	Genera
	Rubrobacter (2)
O : OPB41 (0.09)	
C: Thermoleophila (46)	
	uncultured_bacterium (2)
O: Gaiellales (27)	Gaiella (6)
F: uncultured (17)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Rubrobacteriales_bacterium (0.7), uncultured_Conexibacter_sp. (0.3), Ambiguous_taxa (0.3), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.2),

Class/Oder/Family	Genera
	bacterium_Ellin6517 (0.1), bacterium_Ellin6515 (0.1), uncultured_actinobacterium (0.07), metagenome (0.05), Gaiella_sp._EBR4-RS1 (0.04)
F: Unassigned uncultured (13.14)	
O: Unassigned Gaiellales (4)	
O: Solirubrobacterales (17)	
F: 67-14 (10)	uncultured_bacterium (3), uncultured_actinobacterium (1), uncultured_Solirubrobacter_sp. (0.7), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.3), uncultured_Rubrobacteraceae_bacterium (0.2), uncultured_Conexibacteraceae_bacterium (0.06), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.05)
F: Unassigned 67-14 (4.69)	
F: Solirubrobacteraceae (7)	
	Conexibacter (3), Metagenome (0.2), uncultured_Conexibacteraceae_bacterium (0.2), Unassigned bacterium (2.6), Solirubrobacter (2), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.3), uncultured_bacterium (0.12)
F: Unassigned Solirubrobacteraceae (1.58)	
C: Actinobacteria (0.007)	Bifidobacterium (0.02)
F: Streptomycetaceae (3)	Streptomyces (3)
F: Pseudonocardiaceae (3)	Pseudonocardia (1), Ambiguous_taxa (0.5), Crossiella (0.3), Actinophytocola (0.3), Amycolatopsis (0.1), Labedaea_rhizosphaerae (0.04), Saccharopolyspora (0.04), Lechevalieria (0.04), Kibdelosporangium (0.04), Kutzneria (0.01)
F: Unassigned Pseudonocardiaceae (0.63)	
O: Streptosporangiales (17)	
F: Thermomonosporaceae (16)	Actinoallomurus (15.6), Actinomadura (0.4)
F: Streptosporangiaceae (0.6)	Nonomurea (0.2), uncultured_bacterium (0.1), Ambiguous_taxa (0.18), Microbispora (0.07)
F: Unassigned Streptosporangiaceae (0.05)	
O: Frankiales (6)	Uncultured (0.2), Acidothermus (2)
F: Geodermatophilaceae (3)	Geodermatophilus (2), Blastococcus (0.5), Modestobacter (0.04)
F: Unassigned Geodermatophilaceae(0.46)	
F: uncultured (0.5)	uncultured_Sporichthyaceae_bacterium (0.1)

Class/Oder/Family	Genera
F: Unassigned uncultured (0.4)	
F: Frankiaceae (0.3)	Jatrophihabitans (0.28), Frankia (0.02)
F: Micromonosporaceae (5)	uncultured_bacterium (0.9), Luedemannella (0.3), Micromonospora (0.3), Planosporangium (0.3), Dactylosporangium (0.2), Actinoplanes (0.07), Hamadaea (0.05), Actinocatenispora (0.01)
F: Unassigned Micromonosporaceae (2.87)	
O: Propionibacteriales (4) F: Nocardiodaceae (4)	Nocardioides (3), Marmoricola (0.5), Kribbella (0.2), uncultured_bacterium (0.01)
F: Unassigned Nocardiodaceae (0.29)	
O: Corynebacteriales (1)	Mycobacterium (0.98), Nocardia (0.02)
F: Kineosporiaceae (0.6)	uncultured_bacterium (0.31)
F: Unassigned Kineosporiaceae (0.29)	
O: Micrococcales (0.5)	Agromyces (0.06)
F: Micrococcaceae (0.3)	Arthrobacter (0.1), Kocuria_palustris (0.07)
F: Unassigned Micrococcaceae (0.13)	
F: Intrasporangiaceae (0.06)	
F: Unassigned Intrasporangiaceae (0.05)	Oryzihumus_leptocrescens (0.01)
F: Promicromonosporaceae (0.05)	Isoptericola (0.03), Cellulosimicrobium (0.02)
C: Acidimicrobiia (6)	uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.01)
	uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.2)
O: IMCC26256 (3)	Ambiguous_taxa (0.5), uncultured_bacterium (0.14), uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.07), uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.05), Metagenome (0.03)
O: Unassigned IMCC26256 (2.21)	
O: Microtrichales (2)	Iamia (0.09)
F: Ilumatobacteraceae (0.9)	Uncultured (0.6), Ilumatobacter (0.3)
O: Unassigned Microtrichales (0.31)	
F: uncultured (0.7)	uncultured_bacterium, uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.02), Ambiguous_taxa (0.02), uncultured_actinobacterium (0.02)
F: Unassigned uncultured (0.04)	
O:uncultured (0.3)	uncultured_bacterium (0.1), Metagenome (0.1), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.05)
O: Unassigned unculture (0.05)	
C: Unassigned Acidimicrobiia (0.69)	
C: MB-A2-108 (6)	Uncultured bacterium (2)

Class/Order/Family	Genera
O: Ambiguous taxa (0.4)	Uncultured Micromonospora (0.2), Uncultured Actinobacterium (0.1), Uncultured Catenuloplanes (0.03), Uncultured Actinomycetales bacterium (0.3)
O: Unassigned MB-A2-108 (3.24)	
C: 0319-7L14 (0.1)	

หมายเหตุ: C=Class, O=Order, F=Family, ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสในปี 2561 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 18 เปอร์เซ็นต์ ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Actinobacteria ที่ตรวจพบมากที่สุด 43 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 39 เปอร์เซ็นต์ ส่วน class MB-A2-108 พบมากเป็นอันดับ 3 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 9 เปอร์เซ็นต์ class Acidimicrobia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 7 เปอร์เซ็นต์ และ class 0319-7L14 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 3 ไฟลัม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในปี 2561

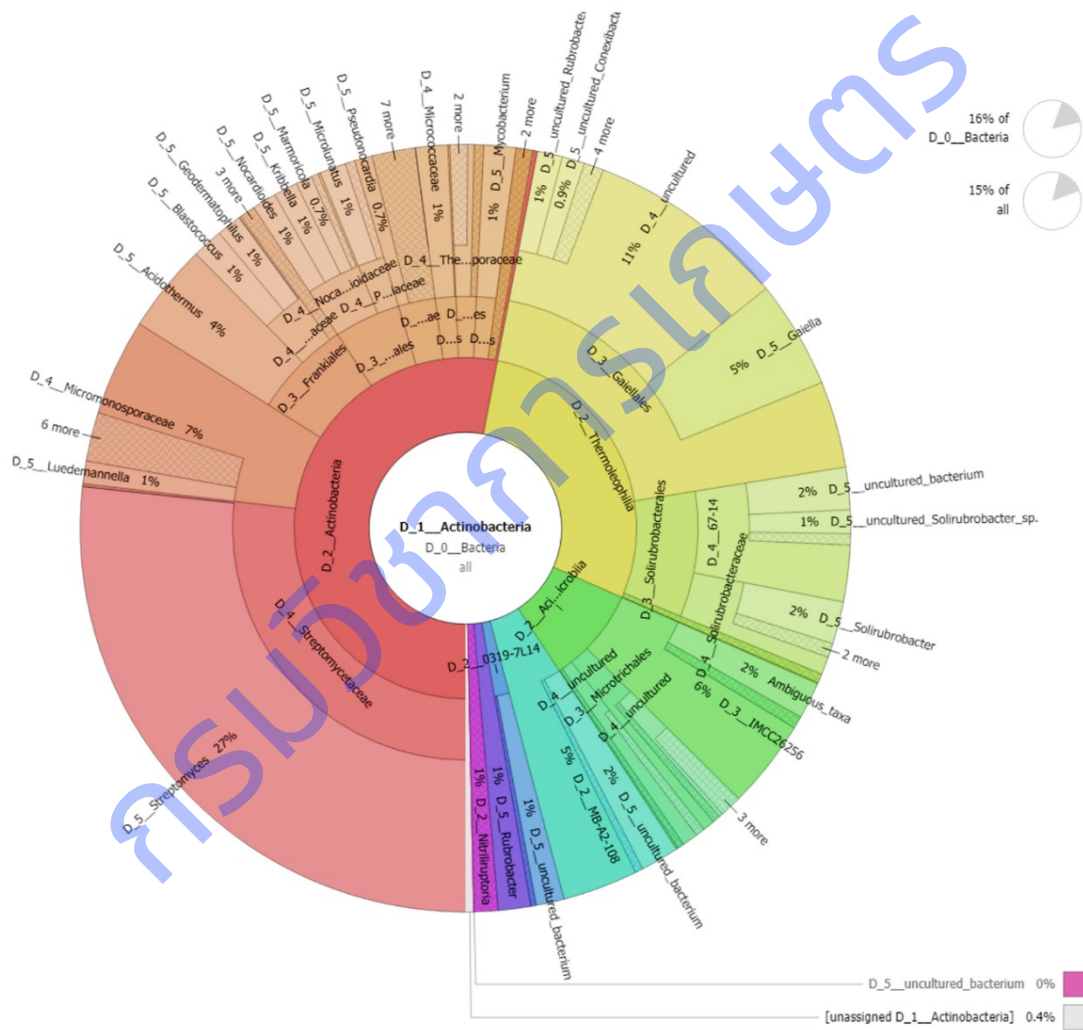
ตารางที่ 3 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในปี 2561

Class/Order/Family	Genera
	Rubrobacter (1)
O: 0319-7L14 (0.4)	
C: Actinobacteria (43)	Bifidobacterium (1)
F: Kineosporiaceae (0.8)	uncultured_bacterium (0.8)
F: Pseudonocardiaceae (3)	uncultured_bacterium (1), Pseudonocardia (0.5), Lechevalieria (0.4), Saccharopolyspora (0.3), Kutzneria (0.2), Actinophytocola (0.1), Kibdelosporangium (0.04)
F: Micromonosporaceae (5)	
F: Unassigned Micromonosporaceae (3.43)	Dactylosporangium (0.7), uncultured_bacterium (0.6), Luedemannella (0.1), Actinoplanes (0.1), Micromonospora (0.07)
F: Streptomycetaceae (12)	Streptomyces (9), Ambiguous_taxa (0.3)
F: Unassigned Streptomycetaceae (2.7)	
O: Frankiales (10)	Acidothermus (9)
F: Geodermatophilaceae (0.5)	Geodermatophilus (0.3), Blastococcus (0.2)
F: Frankiaceae (0.4)	Jatrophihabitans (0.4)
F: uncultured (0.2)	uncultured_bacterium (0.17)
O: Propionibacteriales (5)	
F: Nocardioidaceae (3)	Nocardioides (2), Marmoricola (0.8), Ambiguous_taxa (0.7)
F: Propionibacteriaceae (2)	Microlunatus (2)
C: Actinobacteria (3)	
O: Corynebacteriales (3)	
O: Micrococcales (2)	Agromyces (0.05)
F: Micrococcaceae (1.55)	
F: Intrasporangiaceae (0.4)	
O: Streptosporangiales (0.9)	
O: Thermomonosporaceae (0.7)	
F: Unassigned Thermomonosporaceae (0.1)	Actinomadura (0.5), Ambiguous_taxa (0.1)
F: Streptosporangiaceae (0.2)	Nonomuraea (0.2)
O: Micrococcales (2)	
F: Micrococcaceae (2)	
F: Unassigned Micrococcaceae (1.9)	Arthrobacter (0.1), Agromyces (0.06)
F: Intrasporangiaceae (0.4)	
F: Unassigned Intrasporangiaceae (0.36)	Oryzihumus (0.04)
F: Streptosporangiales (0.9)	

Class/Order/Family	Genera
Thermomonosporaceae (0.7)	Actinomadura (0.5), Actinoallomurus (0.1)
F: Unassigned Thermomonosporaceae (0.1)	
F: Streptosporangiaceae (0.2)	Nonomuraea (0.2)
F: Kineosporiaceae (0.8)	Kineosporia (0.5), Angustibacter (0.3)
C: Thermoleophilia (39)	uncultured_bacterium (0.4)
O: Gaiellales (27)	
O: Unassigned Gaiellales (5)	
F: uncultured (16)	
F: Unassigned uncultured (11.4)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (1), uncultured_Conexibacter_sp. (0.9), bacterium_Ellin6517 (0.4), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.3), Gaiella (6)
O: Solirubrobacterales (12)	
F: 67-14 (7)	
F: Unassigned 67-14 (3.05)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Solirubrobacter_sp. (1), uncultured_actinobacterium (0.8), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.1), uncultured_Rubrobacteraceae_bacterium (0.05)
F: Solirubrobacteraceae (5)	
F: Uncultured Solirubrobacteraceae	Conexibacter (3), Solirubrobacter (1), Uncultured (0.09)
C: MB-A2-108 (9)	uncultured_bacterium (2), Ambiguous_taxa (0.4), uncultured_actinobacterium (0.08)
C: Unassigned MB-A2-108 (6.52)	
C: Acidimicrobiia (7)	
O: IMCC26256 (4)	uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.5), Ambiguous_taxa (0.4), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.4), uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.09), uncultured_organism (0.05)
O: Unassigned IMCC26256 (1.56)	
O: Microtrichales	lamia (0.1)
F: Uncultured (1)	
F: Unassigned uncultured	uncultured_bacterium (0.9), uncultured_actinobacterium (0.07)
F: Ilumatobacteraceae (0.7)	Ilumatobacter (0.5), Uncultured (0.2), Metagenome (0.02)
O: Unassigned Microtrichales (0.2)	
O: uncultured (0.3)	
O: Unassigned uncultured (0.1)	Metagenome (0.2)
C: Unassigned Acidimicrobiia (4.7)	

หมายเหตุ: C=Class, O=Order, F=Family, ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสในปี 2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 16 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 นี้พบว่าลำดับเบสที่อ่านได้ของไฟลัม Actinobacteria มีจำนวนน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับปี 2560 และปี 2561 ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class หลัก ๆ 5 class เมื่อนำมาเรียงลำดับตามเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ พบว่า class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 53 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ class Thermoleophilia ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 29 เปอร์เซ็นต์ ถัดมาได้แก่ class Acidimicrobia ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 9 เปอร์เซ็นต์ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 5 เปอร์เซ็นต์ class 0319-7L14 11 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4, ตารางที่ 4)



ภาพที่ 4 ไฟลัม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในปี 2562

ตารางที่ 4 แสดงความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในปี 2562

Class/Order/Family	Genera
	Rubrobacter (1)
O: Actinobacteria (53)	

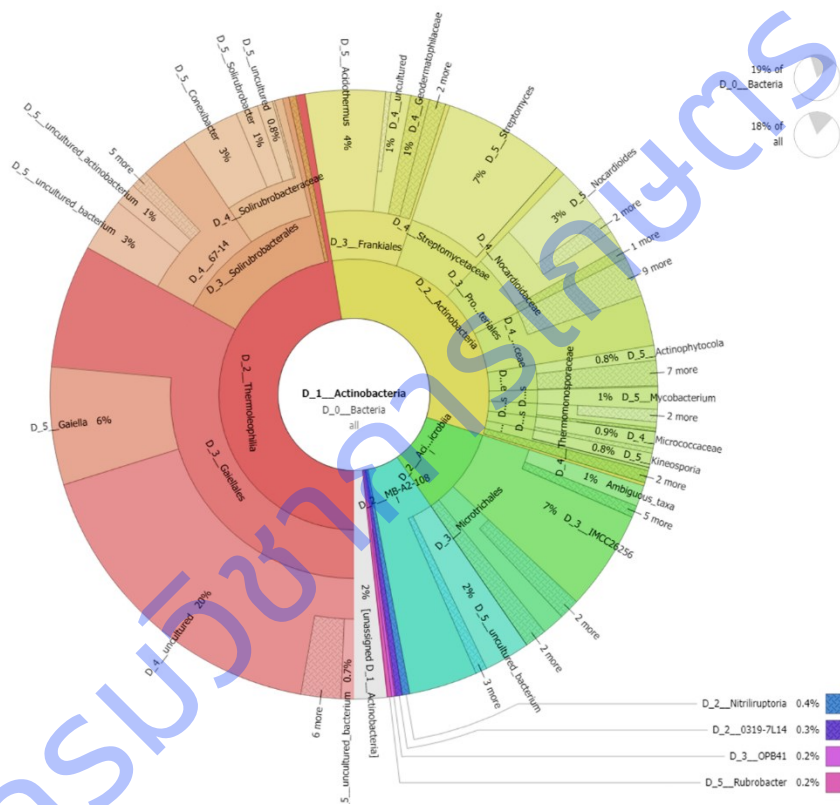
Class/Order/Family	Genera
F: Kineosporiaceae (0.5)	Glycomyces_harbinensis (0.2)
F: Pseudonocardiaceae (3)	Pseudonocardia (0.7), uncultured_bacterium (0.5), Lechevalieria (0.5), Actinophytocola (0.4), Amycolatopsis (0.2), Kibdelosporangium (0.08), Kutzneria (0.08), Ambiguous_taxa (0.07)
F: Micromonosporaceae (7)	
F: Unassigned Micromonosporaceae (4.8)	Luedemannella (0.1), Dactylosporangium (0.6), Micromonospora (0.6), uncultured_bacterium (0.8), Actinoplanes (0.1)
F: Streptomycetaceae (27)	Streptomyces (27)
O: Frankiales	uncultured_bacterium (0.2), Acidothermus (4)
F: Geodermatophilaceae (2)	Blastococcus (1), Geodermatophilus (1)
F: uncultured (0.4)	
F: Frankiaceae (0.06)	
O: Propionibacteriales (5)	
F: ocardioidaceae (3)	
F: Unassigned Nocardiodaceae	Nocardioides (1), Ambiguous_taxa (1), Marmoricola (0.7)
F: Propionibacteriaceae (2)	Micrococcus (1), uncultured_actinobacterium (0.4)
O: Micrococcales (1)	
F: Micrococcaceae (0.92)	Agromyces (0.05)
F: Intrasporangiaceae (0.03)	
O: Micrococcales (2)	Agromyces (0.05)
O: Micrococcaceae (1.55)	
O: Intrasporangiaceae (0.4)	
O: Streptosporangiales (1)	
F: Thermomonosporaceae (0.8)	
F: Unassigned Thermomonosporaceae (0.1)	Actinomadura (0.7), Actinoallomurus (0.08)
F: Streptosporangiaceae (0.3)	Nonomurea (0.2), uncultured_bacterium (0.1)
O: Corynebacteriales (1)	Microbacterium (1)
O: Micrococcales (2)	
F: Micrococcaceae (2)	
F: Unassigned Micrococcaceae (1.9)	Arthrobacter (0.1), Agromyces (0.06)
F: Intrasporangiaceae (0.4)	
F: Unassigned Intrasporangiaceae (0.36)	
O: Streptosporangiales (0.9)	
F: Thermomonosporaceae (0.7)	Actinomadura (0.5), Actinoallomurus (0.1)
F: Unassigned Thermomonosporaceae (0.1)	
F: Streptosporangiaceae (0.2)	Nonomurea (0.2)

Class/Order/Family	Genera
F: Kineosporiaceae (0.8)	Kineosporia (0.5), Angustibacter (0.3)
C: Thermoleophilia	uncultured_bacterium (0.4)
O: Gaiellales (19)	
F: uncultured (11)	uncultured_Rubrobacterales_bacterium (1), uncultured_Conexibacter_sp. (0.9), uncultured_bacterium (0.6), bacterium_Ellin6517 (0.07), Ambiguous_taxa (0.05), Gaiella (5) uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.01)
F: Unassigned uncultured (8.37)	
O: Unassigned Gaiellales (3)	
O: Solirubrobacterales (9)	
F: 67-14 (6)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Solirubrobacter_sp. (1), uncultured_actinobacterium (0.4), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.05)
F: Unassigned 67-14 (2.55)	
F: Solirubrobacteraceae (3)	Solirubrobacter (2), Conexibacter (0.6), Uncultured (0.04)
F: Unassigned Solirubrobacteraceae (0.36)	
C: Acidimicrobiia (9)	uncultured_bacterium (0.06)
F: uncultured (1)	Unassigned uncultured (0.6), Ambiguous_taxa (0.4)
F: IMCC26256 (6)	Ambiguous_taxa (2) uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.2), uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.1), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.1), uncultured_organism (0.04)
O: Unassigned IMCC26256 (3.56)	
O: Microtrichales (2)	
O: Uncultured (1)	uncultured_bacterium (0.3), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.3), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.3)
F: Ilumatobacteraceae (0.3)	Ilumatobacter (0.3)
F: Unassigned uncultured (0.1)	
O: Unassigned Microtrichales (0.7)	
O: uncultured (0.2)	Metagenome (0.1), uncultured_bacterium (0.08)
C: MB-A2-108 (5)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Micromonospora_sp. (0.2), Ambiguous_taxa (0.07), uncultured_actinobacterium (0.06)
O: Unassigned MB-A2-108 (2.67)	
C: 0319-7L14 (1)	uncultured_bacterium (0.8), uncultured_actinobacterium (0.2)
C: Nitriliruptoria (1)	

หมายเหตุ: C=Class, O=Order, F=Family, ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์

การวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนมัยสีทในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง

เมื่อวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนมัยสีทในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ ปี 2560-2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของไฟลัม Actinobacteria ในดินมี 19 เปอร์เซ็นต์ ในจำนวนความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของแบคทีเรียทั้งหมด เมื่อพิจารณาภายในไฟลัม Actinobacteria พบว่าประกอบด้วย class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 47 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 32 เปอร์เซ็นต์ ส่วน class Acidimicrobia พบมากเป็นอันดับ 3 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 11 เปอร์เซ็นต์ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ามี class Nitriiruptoria ซึ่งตรวจพบได้น้อยในครั้งนี้มี ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์เพียง 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ class O319-7L14 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5, ตารางที่ 5)



ภาพที่ 5 ไฟลัม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำปี 2560-2562

ตารางที่ 5 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยืนยันด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำปี 2560-2562

Class/Order/Family	Genera
	Rubrobacter (0.2)
O: OPB41 (0.2)	
C: Thermoleophilia (47)	uncultured_bacterium (0.4)
O: Gaiellales (33)	Gaiella (6)

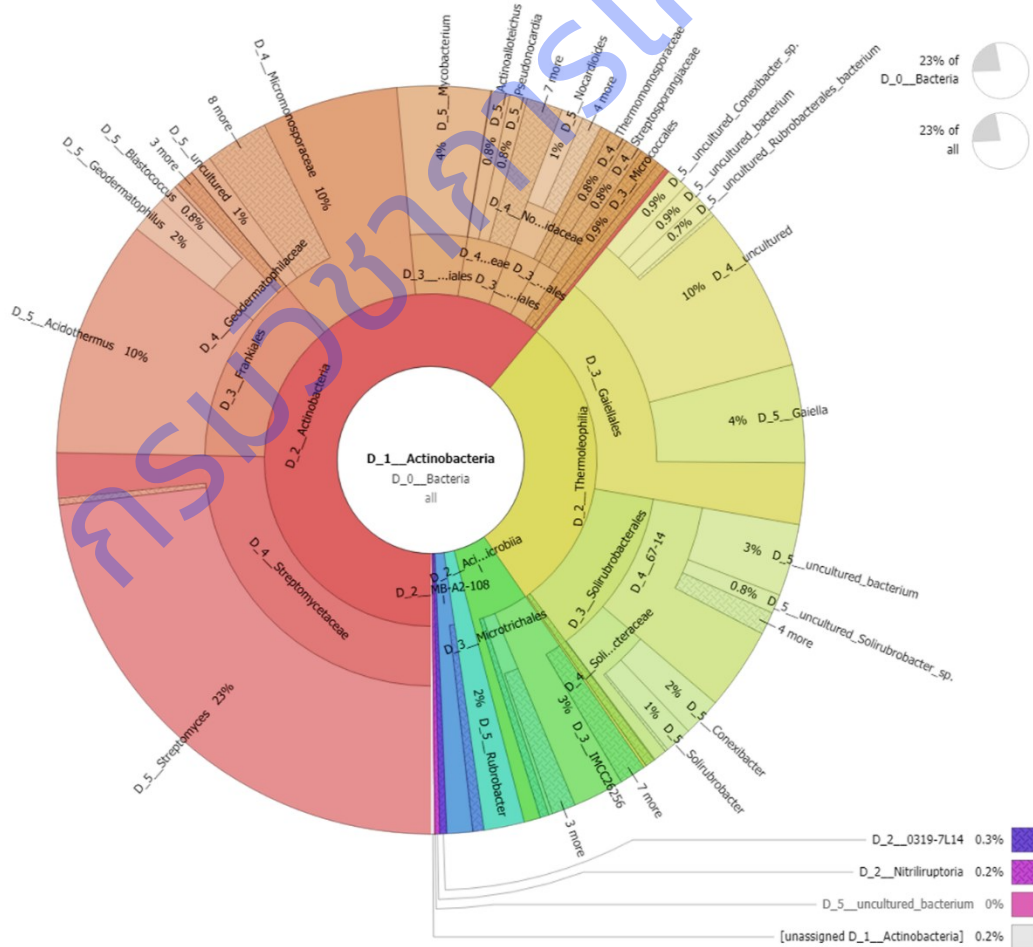
Class/Order/Family	Genera
F: uncultured (20)	uncultured_bacterium (0.7), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.3), uncultured_Conexibacter_sp. (0.6), Ambiguous_taxa (0.6), bacterium_Ellin6517 (0.4), metagenome (0.03)
F: Unassigned uncultured (17.37)	
F: Unassigned Gaiellales (7)	
F: Solirubrobacterales (14)	
F: 67-14 (8)	uncultured_bacterium (3), uncultured_actinobacterium (1), uncultured_Rubrobacteraceae_bacterium (0.4), uncultured_Solirubrobacter_sp. (0.2), uncultured_Conexibacteraceae_bacterium (0.1), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.1), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.05), Unassigned 67-14 (3.15)
F: Solirubrobacteraceae (6)	Conexibacter (3), Solirubrobacter (1), Uncultured (0.8), Parviterribacter (0.1)
F: Unassigned Solirubrobacteraceae (1.1)	
C: Actinobacteria (32)	Bifidobacterium (0.5), Glycomyces (0.1), Streptomyces (7)
F: Streptomycetaceae (7)	
F: Micromonosporaceae (5)	Luedemannella (0.7), Micromonospora (0.4), Virgisporangium (0.3), Dactylosporangium (0.3), Actinoplanes (0.2), Uncultured (0.1), Planosporangium (0.04), Actinocatenispora (0.03), Hamadaea (0.002)
F: Unassigned Micromonosporaceae (2.66)	
F: Pseudonocardiaceae (2)	Actinophytocola (0.8), Crossiella (0.5), Pseudonocardia (0.4), Actinoalloteichus (0.2), Lechevalieria (0.1), Amycolatopsis (0.08), Labedaea (0.04), Kibdelosporangium (0.03)
F: Kineosporiaceae (0.9)	Kineosporia (0.8), Angustibacter (0.02)
F: Unassigned Kineosporiaceae (0.08)	
O: Frankiales (8)	Uncultured (0.5), Acidothermus (4)
F: uncultured (1)	uncultured_Sporichthyaceae_bacterium (0.3), uncultured_Sporichthyaceae_bacterium (0.3)
F: Unassigned uncultured (0.7)	
F: Frankiaceae (0.4)	Jatrophihabitans (0.38), Frankia (0.02)
O: Unassigned Frankiales (1.1)	
O: Propionibacteriales (5)	
F: Nocardioideae (4.4)	Nocardioides (3), Kribbella (0.6), Marmoricola (0.3)

Class/Order/Family	Genera
F: Unassigned Nocardioideae (0.5)	
F: Propionibacteriaceae (0.6)	Microlunatus (0.4), Uncultured (0.2)
O: Corynebacteriales (1)	Mycobacterium (1)
O: Streptosporangiales F: Thermomonosporaceae (1)	Actinoallomurus (0.5), Actinomadura (0.2)
F: unassigned Thermomonosporaceae (0.3)	
F: Streptosporangiaceae (0.2)	Nonomuraea (1.94), Sphaerisporangium (0.006)
O: Micrococcales (1)	
F: Micrococcaceae (0.9)	
F: Unassigned Micrococcaceae (0.1)	
F: Intrasporangiaceae (0.2)	Oryzihumus (0.02)
F: Unassigned Intrasporangiaceae (0.18)	
F: Promicromonosporaceae (0.05)	Cellulosimicrobium (0.03), Isoptericola (0.02)
C: Acidimicrobiia (11)	Rubrobacter (0.2)
O: OPB41 (0.4)	
F: uncultured (0.5)	Ambiguous_taxa (0.1)
F: Unassigned uncultured (0.4)	
O: IMCC26256 (7)	
	Ambiguous_taxa (1), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.08), uncultured_Acidotherrimonas_bacterium (0.07), uncultured_organism (0.07), uncultured_bacterium (0.04), Metagenome (0.02)
O: Unassigned IMCC26256 (5.72)	
O: Microtrichales (2)	
F: uncultured (0.7)	uncultured_bacterium (0.2), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.2), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.08), uncultured_actinobacterium (0.04)
F: Unassigned uncultured (0.18)	
F: Ilumatobacteraceae (0.4)	Uncultured (0.2), Ilumatobacter (0.2)
O: Unassigned Microtrichales (0.9)	
O: uncultured (0.7)	Metagenome (0.3), uncultured_bacterium (0.2), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.02)
O: Unassigned unculture (0.18)	
C: MB-A2-108 (7)	Uncultured bacterium (2), uncultured_actinobacterium (0.3), uncultured_Micromonospora_sp. (0.3), Ambiguous_taxa (0.08)
C: Unassigned MB-A2-108 (4.32)	

Class/Order/Family	Genera
C: Nitriliruptoria (0.4)	
C: 0319-7L14 (0.3)	

หมายเหตุ: C=Class, O=Order, F=Family, ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์

การวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนมัยสีทในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ปี 2560-2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 23 เปอร์เซ็นต์ ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 61 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 29 เปอร์เซ็นต์ class Acidimicrobia พบมากเป็นอันดับ 3 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 6 เปอร์เซ็นต์ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ามี class 0319-7L14 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้จำนวนน้อยมีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6, ตารางที่ 6)



ภาพที่ 6 ไฟลัม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่ป่าปลายน้ำปี 2560-2562

ตารางที่ 6 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่ป่าปลายน้ำปี 2560-2562

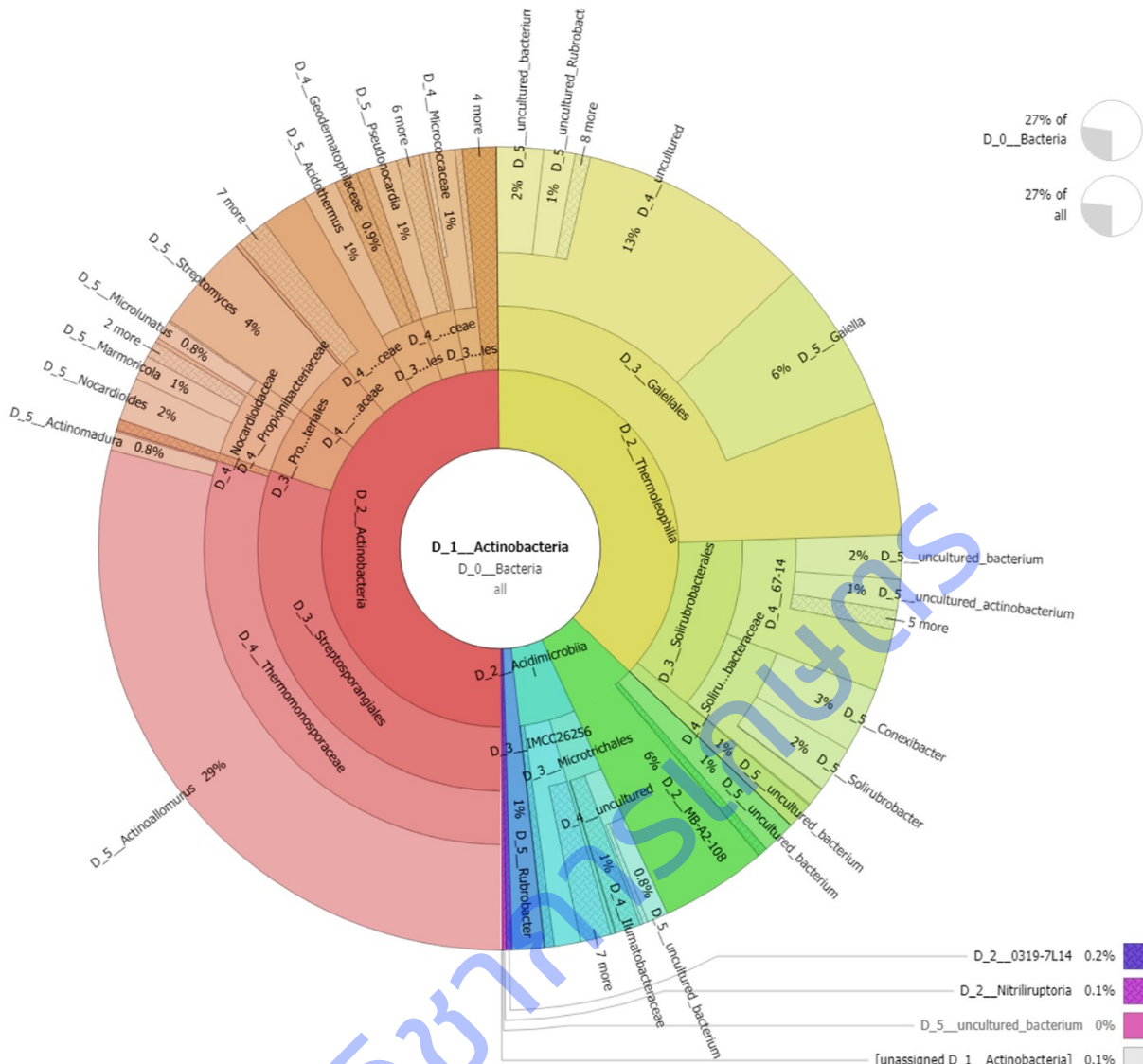
Class/Order/Family	Genera
C: Actinobacteria (61)	Rubrobacter (2), Glycomyces_harbinensis (0.02), Bifidobacterium (0.01)
F: Streptomycetaceae (25)	Streptomyces (23), Ambiguous_taxa (0.3)
F: unassigned Streptomycetaceae (1.7)	
F: Micromonosporaceae (10)	uncultured_bacterium (1), Dactylosporangium (0.7), Micromonospora (0.6), Luedemannella (0.5), uncultured_bacterium (0.3), Planosporangium (0.3), uncultured_bacterium (0.2), Hamadaea (0.1), Actinoplanes (0.09)
F: Unassigned Micromonosporaceae (6.21)	
F: Pseudonocardiaceae (3)	Ambiguous_taxa (0.8), Pseudonocardia (0.8), Actinophytocola (0.4), Crossiella (0.3), Saccharopolyspora (0.2), Amycolatopsis (0.2), Kibdelosporangium (0.1), Lechevalieria (0.1)
F: Kineosporiaceae (0.4)	uncultured_bacterium (0.33)
F: Unassigned Kineosporiaceae (0.07)	
O: Frankiales (14)	Acidothermus (10),
F: uncultured_bacterium (0.05)	
F: Geodermatophilaceae (3)	Geodermatophilus (2), Blastococcus (0.8), Modestobacter (0.03)
F: Unassigned Geodermatophilaceae (0.17)	
F: Frankiaceae (0.7)	Jatrophihabitans (0.7)
O: Corynebacteriales (4)	Mycobacterium (3.96), Nocardia (0.04)
O: Propionibacteriales (2)	
F: Nocardioideae (1.6)	Nocardioides (1), Marmoricola (0.2), Ambiguous_taxa (0.2), Actinopolymorpha (0.2)

Class/Order/Family	Genera
F: Propionibacteriaceae (0.4)	Microlunatus (0.33), uncultured_actinobacterium (0.07)
O: Streptosporangiales (2)	
F: Thermomonosporaceae (0.8)	Actinomadura (0.5), Actinoallomurus (0.3)
F: Streptosporangiaceae (0.8)	uncultured_bacterium (0.3), Ambiguous_taxa (0.22), Microbispora (0.1), Nonomuraea (0.1)
F: Unassigned Streptosporangiaceae (0.08)	
O: Micrococcales (0.9)	Agromyces (0.03)
F: Micrococcaceae (0.7)	Arthrobacter (0.1)
F: Unassigned Micrococcaceae (0.6)	
F: Intrasporangiaceae (0.1)	Unassigned Intrasporangiaceae (0.1)
F: Promicromonosporaceae (0.04)	Cellulosimicrobium (0.03), Isoptericola (0.01)
C: Thermoleophilia (29)	uncultured_bacterium (0.4)
O: Gaiellales (17)	Gaiella (4)
F: uncultured (10)	uncultured_Conexibacter_sp. (0.9) , uncultured_bacterium (0.9), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.9), uncultured_actinobacterium (0.1), bacterium_Ellin6517 (0.03), Ambiguous_taxa (0.02)
F: Unassigned uncultured (7.15)	
O: Unassigned Gaiellales (3)	
O: Solirubrobacterales (12)	
F: 67-14 (8)	uncultured_bacterium (3), uncultured_Solirubrobacter_sp. (0.8), uncultured_actinobacterium (0.6), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.3), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.07), uncultured_Rubrobacteraceae_bacterium (0.03)
F: Unassigned 67-14 (3.2)	
C: Acidimicrobiia (6)	
F: uncultured (0.2)	Ambiguous_taxa (0.1)
F: Unassigned uncultured (0.1)	

Class/Order/Family	Genera
O: IMCC26256 (3)	
	Ambiguous_taxa (0.6), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.2), uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.1), uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.1), uncultured_organism (0.09), uncultured_bacterium (0.02), Metagenome (0.01)
O: Unassigned IMCC26256 (1.88)	
O: Microtrichales (1)	lamia (0.03)
F: uncultured (0.7)	uncultured_bacterium (0.4), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.1), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.03), uncultured_actinobacterium (0.01), uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.005)
F: Ilumatobacteraceae (0.3)	Ilumatobacter (0.2), Uncultured (0.09), Metagenome (0.01)
O: uncultured (0.1)	Metagenome (0.08), uncultured_bacterium (0.92)
C: Unassigned Acidimicrobiia (1.7)	
C: MB-A2-108 (2)	uncultured_bacterium (0.3), Ambiguous_taxa (0.1), uncultured_Micromonospora_sp. (0.005)
C: Unassigned MB-A2-108 (1.59)	
C: 0319-7L14 (0.3)	
C: Nitriliruptoria (0.2)	

หมายเหตุ: C=Class, O=Order, F=Family, ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์

การวิเคราะห์ชุมชนแอคติโนมัยสีทในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ปี 2560-2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 27 เปอร์เซ็นต์ ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Actinobacteria ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ class Thermoleophilia ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 37 เปอร์เซ็นต์ ถัดมา ได้แก่ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 6 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำพบ class นี้มากกว่าพื้นที่ปลายน้ำ class Acidimicrobiia พบเป็นอันดับ 4 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่ามี class 0319-7L14 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้จำนวนน้อยมีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7, ตารางที่ 7)



ภาพที่ 7 ไฟล์ม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำปี 2560-2562

ตารางที่ 7 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟล์ม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยืนยันด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำปี 2560-2562

Class/Order/Family	Genera
C: Actinobacteria (50)	Rubrobacter (1), Bifidobacterium (0.2), Glycomyces_harbinensis (0.05)
F: Streptomycetaceae (4)	
F: Micromonosporaceae (3)	Dactylosporangium (0.5), Luedemannella (0.3), uncultured_bacterium (0.1), Micromonospora (0.1), uncultured_bacterium (0.17)
F: Unassigned Micromonosporaceae (1.83)	

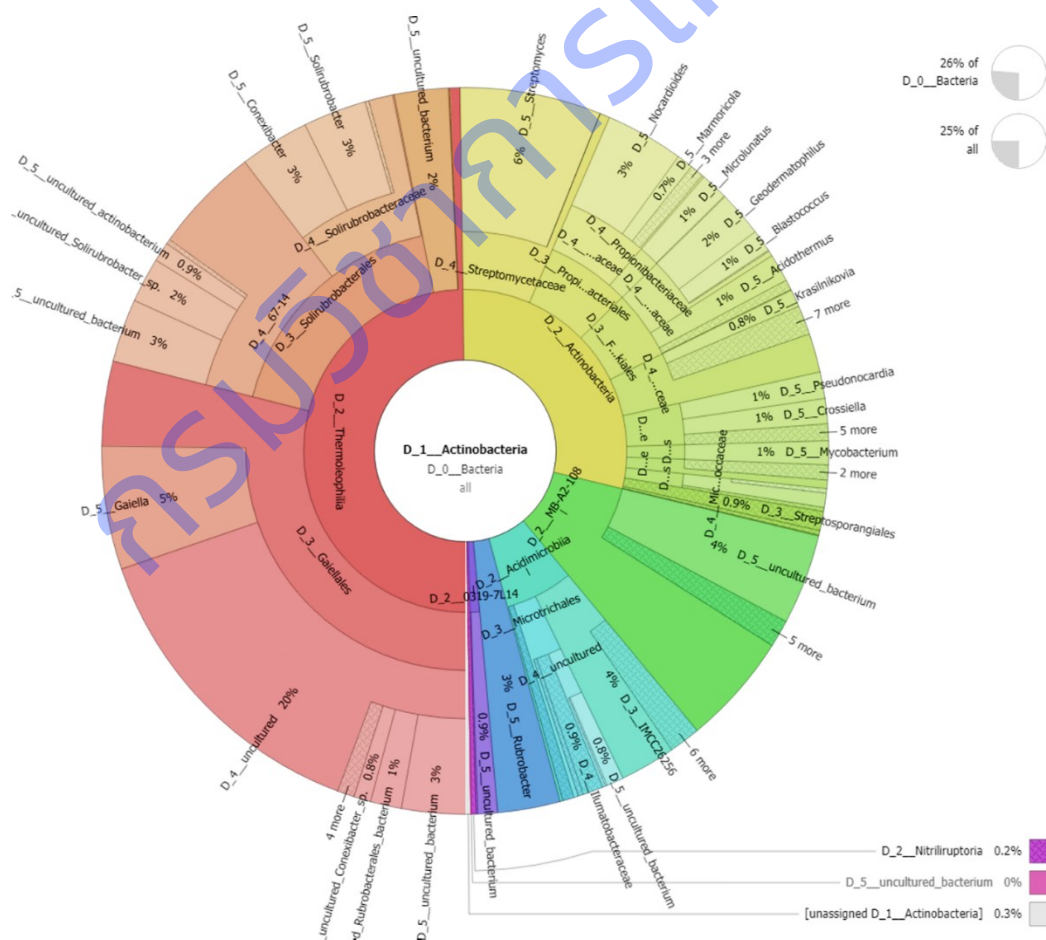
Class/Order/Family	Genera
Family Pseudonocardiaceae (2)	Pseudonocardia (1), Lechevalieria (0.2), Ambiguous_taxa (0.2), Crossiella (0.2), Amycolatopsis (0.1), Kibdelosporangium (0.04), Saccharopolyspora (0.04)
F: Unassigned Pseudonocardiaceae (0.22)	
F: Kineosporiaceae (0.2)	uncultured_bacterium (0.15)
F: Unassigned Kineosporiaceae (1.85)	
O: Streptosporangiales (30)	
F: Thermomonosporaceae (29.6)	Actinoallomurus (28.8), Actinomadura (0.8)
F: Streptosporangiaceae (0.4)	
O: Propionibacteriales (4)	
F: Nocardioidaceae (3.2)	Nocardioides (2), Marmoricola (1), Actinopolymorpha (0.1)
F: Unassigned Nocardioidaceae (0.1)	
F: Propionibacteriaceae (0.8)	
O: Frankiales (3)	Acidothermus (1), Uncultured (0.27)
F: Geodermatophilaceae (0.9)	Geodermatophilus (0.6), Blastococcu (0.2)
F: Unassigned Geodermatophilaceae (0.1)	
F: uncultured (0.1)	Unassigned uncultured (0.1)
F: Frankiaceae (0.1)	Jatrophilhabitans (0.1)
O: Micrococcales (2)	Agromyces (0.07)
F: Micrococcaceae (1)	Kocuria_palustris (0.1), Arthrobacter (0.08)
F: Unassigned Micrococcaceae (0.82)	
F: Intrasporangiaceae (0.2)	Oryzihumus_leptocrescens (0.05)
F: Unassigned Intrasporangiaceae (0.15)	
F: Promicromonosporaceae (0.01)	Isoptericola (0.01)
O: Corynebacteriales (0.05)	Mycobacterium (0.05)
C: Thermoleophilia (37)	uncultured_bacterium (1)
O: Gaiellales (25)	Gaiella (6)
F: uncultured (13)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (1), bacterium_Ellin6517 (0.3), uncultured_Conexibacter_sp. (0.1), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.08), Metagenome (0.08), bacterium_Ellin6515 (0.03), uncultured_actinobacterium (0.03), Gaiella_sp._EBR4-RS1 (0.008)
F: Unassigned uncultured (9.37)	
O: Unassigned Gaiellales (6)	
O: Solirubrobacterales (12)	

Class/Order/Family	Genera
F: 67-14 (6)	uncultured_bacterium (2), uncultured_actinobacterium (1), uncultured_Solirubrobacter_sp. (0.5), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.2), uncultured_Rubrobacteraceae_bacterium (0.02), uncultured_Conexibacteraceae_bacterium (0.02), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.02)
F: Unassigned 67-14 (2.26)	
F: Solirubrobacteraceae (5)	
	Conexibacter (3)
	Solirubrobacter (2)
	uncultured_bacterium (0.04)
C: MB-A2-108 (6)	
	uncultured_bacterium (1)
	Ambiguous_taxa (0.3)
	uncultured_Micromonospora_sp. (0.06)
	uncultured_actinobacterium (0.02)
C: Unassigned MB-A2-108 (4.62)	
C: Acidimicrobiia (5)	
F: uncultured (0.2)	Ambiguous_taxa (0.07)
F: Unassigned uncultured (0.13)	
O: Microtrichales (2)	Iamia (0.04)
F: uncultured (1)	uncultured_bacterium (0.8), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.08), uncultured_actinobacterium (0.05), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.04), uncultured_Acidimicrobiidae_bacterium (0.02), Ambiguous_taxa (0.02)
F: Ilumatobacteraceae (1)	Uncultured (0.5), Ilumatobacter (0.5)
O: IMCC26256 (2)	Ambiguous_taxa (0.7), uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.2), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.2), uncultured_Acidimicrobiidae_bacterium (0.09), uncultured_organism (0.06), Metagenome (0.02), uncultured_bacterium (0.004)
O: Unassigned IMCC26256 (0.73)	
O: uncultured (0.2)	Metagenome (0.06), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.04), uncultured_bacterium (0.03)

Class/Order/Family	Genera
O: Unassigned uncultured (0.07)	
C: 0319-7L14 (0.2)	uncultured_bacterium (0.17), uncultured_actinobacterium (0.03)
C: Nitriliruptoria (0.1)	
F: Nitriliruptoraceae(0.08)	uncultured_bacterium (0.04)

หมายเหตุ: C=Class, O=Order, F=Family, ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์

การวิเคราะห์ชุมชนแอคติโนมัยสีทในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ปี 2560-2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 26 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 29 เปอร์เซ็นต์ ถัดมา ได้แก่ class MB-A2-108 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 10 เปอร์เซ็นต์ class Acidimicrobia พบเป็นอันดับ 4 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 7 เปอร์เซ็นต์ class 0319-7L14 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้จำนวนน้อยในครั้งนี้มี ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8, ตารางที่ 8)



ภาพที่ 9 ไฟลัม Actinobacteria และ class ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่ป่าต้นน้ำปี 2560-2562

ตารางที่ 8 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยืนยันด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่ป่าต้นน้ำปี 2560-2562

Class/Order/Family	Genera
	Rubrobacter (3)
C: Thermoleophilia (50)	uncultured_bacterium (2)
O: Gaiellales (29)	Gaiella (5)
F: uncultured (20)	uncultured_bacterium (3), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (1), uncultured_Conexibacter_sp. (0.8), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.6), Ambiguous_taxa (0.09) Gaiella_sp._EBR4-RS1(0.07), Metagenome (0.004)
F: Unassigned uncultured (14.44)	
O: Unassigned Gaiellales (4)	
O: Solirubrobacterales (18) F: 67-14 (11)	uncultured_bacterium(3), uncultured_Solirubrobacter_sp.(2), uncultured_actinobacterium (0.9), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.2), uncultured_Rubrobacteraceae_bacterium (0.04), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.009)
F: Unassigned 67-14 (4.85)	
F: Solirubrobacteraceae (7)	Conexibacter (3), Conexibacter (3), Uncultured (0.099)
F: Unassigned Solirubrobacteraceae (0.99)	
C: Unassigned Thermoleophili (1)	
C: Actinobacteria (29)	Bifidobacterium (0.2), Glycomyces_harbinensis (0.03) Streptomyces (7)
F: Streptomycetaceae(7)	
F: Micromonosporaceae (4)	uncultured_bacterium (0.8), Planosporangium (0.4), uncultured_bacterium (0.3), Luedemannella (0.2), Micromonospora (0.2), Dactylosporangium (0.1), Actinoplanes (0.08), uncultured_bacterium (0.05)
F: Unassigned Micromonosporaceae (1.87)	
F: Pseudonocardiaceae (3)	Pseudonocardia (1), Crossiella (1), Lechevalieria (0.3), Actinophytocola (0.2), Saccharopolyspora (0.1), Labedaea_rhizosphaerae (0.06), Amycolatopsis (0.04)
F: Kineosporiaceae (1)	uncultured_bacterium (0.5), uncultured_bacterium (0.1)
F: unassigned Kineosporiaceae (0.4)	
O:Propionibacteriales (6)	
F: Nocardiodaceae (5)	Nocardioides (3), Marmoricola (0.7), Kribbella (0.6), Actinopolymorpha (0.04), uncultured_bacterium (0.01)
F: Unassigned Nocardiodaceae (0.65)	

Class/Order/Family	Genera
F: Propionibacteriaceae (1)	MicroLunatus (0.95), uncultured_actinobacterium (0.05)
O: Frankiales (5)	Acidothermus (1), uncultured_bacterium (0.05)
F: Geodermatophilaceae (3)	Geodermatophilus (2), Blastococcus (0.94), Modestobacter (0.06)
F: uncultured (0.4)	
F: Frankiaceae (0.03)	Jatrophihabitans (0.03)
O: Unassigned Frankiales (0.52)	
O: Corynebacteriales (1)	Mycobacterium (1)
O: Micrococcales (1)	Agromyces (0.1)
F: Micrococcaceae (0.8)	Arthrobacter (0.2)
F: unassigned Micrococcaceae (0.6)	
F: Intrasporangiaceae (0.05)	
F: Promicromonosporaceae (0.03)	
O: Streptosporangiales (0.9)	
O: Thermomonosporaceae (0.5)	Actinomadura (0.3), Actinoallomurus (0.02)
F: unassigned Thermomonosporaceae (0.18)	
F: Streptosporangiaceae (0.3)	Nonomuraea (0.26), uncultured_bacterium(0.03), Ambiguous_taxa(0.02), Microbispora(0.009), Ambiguous_taxa(0.004)
C: MB-A2-108(10)	uncultured_bacterium(4), Ambiguous_taxa(0.8), uncultured_Micromonospora_sp. (0.2), uncultured_actinobacterium(0.1), uncultured_Catenuloplanes_sp. (0.05), uncultured_Actinomycetales_bacterium(0.05)
C: Unassigned MB-A2-108 (4.8)	
C: Acidimicrobiia(7)	uncultured_bacterium(0.07)
F: uncultured(0.09)	Ambiguous_taxa(0.05)
F: Unassigned uncultured(0.04)	
O: IMCC26256 (4) O: Unassigned IMCC26256 (2.61)	uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.5), Ambiguous_taxa (0.4), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.3), uncultured_bacterium (0.1), uncultured_Acidimicrobiidae_bacterium (0.09), Metagenome (0.02)
O: Microtrichales (2)	Iamia (0.2)
F: uncultured (1)	uncultured_bacterium (0.8), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.03), Ambiguous_taxa (0.02),

Class/Order/Family	Genera
	uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.02), uncultured_actinobacterium (0.009)
F: Unassigned uncultured (0.12)	
F: Ilumatobacteraceae (0.9)	Ilumatobacter (0.4), Uncultured (0.4), Metagenome (0.1)
O: uncultured (0.3)	Metagenome (0.2), uncultured_bacterium (0.06), uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.04)
C: Unassigned Acidimicrobiia (0.54)	
C: 0319-7L14 (1)	uncultured_bacterium (0.9), uncultured_actinobacterium (0.1)
C: Nitriliruptoria (0.2)	

หมายเหตุ : C=Class, O=Order, F=Family , ตัวเลขที่ปรากฏในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์

พบว่า order Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุดโดยในปี 2560 พบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 6.84 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปาลายน้ำ มี 10.29 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 31.49 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 10.39 เปอร์เซ็นต์ ปี 2561 พบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 4.98 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปาลายน้ำ มี 13.39 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 6.04 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 5.39 เปอร์เซ็นต์ ปี 2562 พบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 5.81 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปาลายน้ำ มี 17.76 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 2.61 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 6.14 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ class Actinobacteria พบว่า order Streptomycetales เป็น order ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุด และ family Streptomycetaceae เป็น family ที่มีความอุดมสมบูรณ์ที่สุดของ order นี้ และพบว่า class Thermoleophilia เป็น class ที่อุดมสมบูรณ์เป็นอันดับสองโดยในปี 2560 พบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 16.33 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปาลายน้ำ มี 11.34 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 19.98 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 21.05 เปอร์เซ็นต์ ปี 2561 พบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 5.82 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปาลายน้ำ มี 4.36 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 7.66 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 9.37 เปอร์เซ็นต์ ปี 2562 พบว่าพื้นที่เกษตรปาลายน้ำมี 3.64 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปาลายน้ำ มี 4.26 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 2.35 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 7.21 เปอร์เซ็นต์

ชุมชนแบคทีเรียในดินส่วนใหญ่มีไฟลัมเด่นอยู่ 3 ไฟลัม ได้แก่ Proteobacteria, Acidobacteria และ Actinobacteria แต่การศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาไฟลัม Actinobacteria เพียงไฟลัมเดียว ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์และความหลากหลายของ Actinobacteria มีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ทั้งในพื้นที่ต้นน้ำ ปาลายน้ำ พื้นที่ป่า และพื้นที่ทำการเกษตร สกุล (genus) เด่นที่พบในการศึกษานี้ ได้แก่ *Streptomyces* โดยเฉพาะในพื้นที่ป่าปาลายน้ำในช่วงฤดูฝน (เดือนสิงหาคม 2562) พบว่ามีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์สูงถึง 10.98 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบความแปรผันของ phylotype และหน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) ที่เกี่ยวข้องกั Actinobacteria ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามี แบคทีเรียแกรมบวกที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในรากของพืช ได้แก่ สกุล *Frankia* พบ 0.1 เปอร์เซ็นต์ พืชที่มีการสร้างปมโดย *Frankia* ถูกเรียกว่า actinorrhizal plants โดยทั่วไปสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งไม่มีผลกระทบต่อแอกติโนมัยสีทเหมือนกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในดิน ส่วนใหญ่พบว่าแอกติโนมัยสีทชอบความชื้นในระดับค่อนข้างต่ำ (Alexander, 1977) แต่การศึกษานี้พบว่ามีแอกติโนมัย

สีหมากที่สุดในพื้นที่ป่าปลายน้ำที่มีความชื้นสูง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการสร้างสปอร์ของแอคตินอไมซีที่ภายใต้สภาวะแห้งแล้ง (Eltarabily and Sivasithamparam, 2006) Actinomycetes มีคุณสมบัติหลายประการที่สามารถนำไปใช้ในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนจากสารอินทรีย์ที่เป็นมลพิษโดยมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนคาร์บอนและสามารถย่อยสลายสารประกอบเชิงซ้อนได้

Actinobacteria ส่วนใหญ่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชและมีปฏิสัมพันธ์กับพืช ความสัมพันธ์ดังกล่าวทำให้สามารถจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อไรโซแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) โดยช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารและแร่ธาตุรวมทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Actinobacteria สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ มีการศึกษากิจกรรมต่าง ๆ ของ Actinobacteria เช่นการละลายฟอสเฟต การผลิต siderophores และการตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้ยังพบว่า Actinobacteria ไม่ก่อให้เกิดโทษกับสิ่งแวดล้อม ในทางตรงกันข้าม Actinobacteria กลับช่วยรักษาสมดุลทางชีวภาพของดินโดยมีส่วนร่วมในการหมุนเวียนสารอาหารในดินซึ่งมีผลโดยตรงต่อคุณภาพและผลิตของพืช มีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์กลุ่มนี้ในด้านต่าง ๆ เช่น การผลิตสารที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช การมีชีวิตอยู่หรือการปรับตัวให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวย และปฏิสัมพันธ์ที่เป็นประโยชน์และเสริมฤทธิ์กับราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (Gomez-Escribano *et al.*, 2016; Katz and Baltz, 2016) มีรายงานการใช้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ทางการเกษตรเช่น ใช้ *Streptomyces griseoviridis* เป็นชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicola*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum* (Tahvonon, 1982a, 1982b) ใช้ในการจุ่มรากหรือการรักษาธาตุอาหารเพื่อการเจริญเติบโตของไม้ตัดดอก ไม้กระถางแตงกวาและผักหลายชนิดที่ปลูกในเรือนกระจก (Mohammadi and Lahdenpera, 1992) นอกจากนี้พบว่าสารฆ่าเชื้อทางชีวภาพที่ชื่อ Mycostop มีการใช้ *S. griseoviridis* เป็นสารออกฤทธิ์ (Ochoa, 1998) มีรายงานการใช้ Actinobacteria สกุล *Streptomyces* ในเชิงพาณิชย์เพื่อควบคุมความเสียหายของพืชจากราหลายสกุลเช่น *Alternaria sp.*, *Pythium aphanidermatum*, *Colletotrichum higginsianum*, *Acremonium lactucum*, และ *Fusarium oxysporum* (Lahdenpera, 1991, Hong *et al.*, 2012) Actinomycetes ได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมเกษตรในฐานะสารควบคุมทางชีวภาพและใช้เป็น PGPRs โดยเฉพาะสกุล *Streptomyces* ในทางการแพทย์ก็เช่นเดียวกันเนื่องจากสกุลนี้ถูกใช้เป็นผลิตภัณฑ์ที่สกัดยาปฏิชีวนะทางการแพทย์ เช่น streptomycin และ aureomycin ในช่วงทศวรรษที่ 1940 (Hillel, 2008) มีผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ใช้ในการผลิตสารป้องกันการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับทางการแพทย์มากกว่า 70% ผลิตมาจาก Actinobacteria (Gomez-Escribano, 2014) จากข้อมูลของ Tanaka และ Omura (1993) พบว่า ประมาณ 60% ของยาฆ่าแมลงและสารกำจัดวัชพืชชนิดใหม่เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังพบว่ามีลักษณะที่ย่อยสลายได้ในขณะที่มีความจำเพาะสูงและเป็นพิษน้อยต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ได้เป็นเป้าหมาย อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการระบุชนิดพันธุ์ตลอดจนกลไกการออกฤทธิ์ของสารชีวภาพเหล่านี้สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ Actinobacteria ที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ให้มีอายุการใช้งานที่นานขึ้น

งานวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดจากธรรมชาติที่ได้จากแอคตินอไมซีมีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้นด้วยการใช้เทคนิค next-generation DNA sequencing (NGS) การใช้เทคนิค NGS ช่วยเพิ่มปริมาณงานของการหาลำดับเบสได้มากในเวลาเดียวกัน (Sogin *et al.*, 2006) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอปริมาณน้อย แต่ใช้ความแปรปรวนสูงของยีน 16S

rDNA ส่งผลให้เกิดการหาลำดับเบสของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียที่ได้ในเชิงลึกมากขึ้น วิธีการนี้ทำให้สามารถระบุถึงประชากรที่หายากและมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำในชุมชนแอกติโนแบคทีเรียได้ (Kysela *et al.*, 2005) วิธีการ NGS ถูกนำมาใช้และประสบความสำเร็จในการกำหนดลักษณะของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในน้ำทะเล (Brown *et al.*, 2009), ดิน (Jones *et al.*, 2009), น้ำเสีย (Sanapareddy *et al.*, 2009) และจุลินทรีย์ในร่างกายมนุษย์หลายชนิด (Hamady and Knight 2009; Peterson *et al.*, 2009) มีลำดับจีโนมใหม่ ๆ หลายร้อยรายการจากแอกติโนแบคทีเรียที่ถูกเผยแพร่ออกมาในทุก ๆ ปีโดยส่วนใหญ่มาจากการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตสารสำคัญ (natural products) ใหม่ ๆ และขบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพผ่านการศึกษาด้านจีโนม (Xiong *et al.*, 2013; Harvey *et al.*, 2015) ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีในช่วงสิบปีที่ผ่านมาไม่เพียงแต่ลดต้นทุนของการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ในสิ่งมีชีวิต (whole genome sequencing) แต่ยังเพิ่มคุณภาพของข้อมูล โดยสามารถตัดลำดับจีโนมเบื้องต้นที่ประกอบด้วยดีเอ็นเอสายสั้น ๆ หลายร้อยชิ้นที่น่าสงสัยออก และเพิ่มความน่าเชื่อถือในความเป็นไปได้ของลำดับโครโมโซมที่เกือบสมบูรณ์และถูกต้อง ทำให้สามารถศึกษาคัลสเตอร์ของยีนได้อย่างละเอียดและการสังเคราะห์คัลสเตอร์ยีนแบบสมบูรณ์ (Bentley *et al.*, 2002)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษาจำนวนประชากรและชนิดของแบคทีเรียจากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย ทำการทดลองตั้งแต่ ฤดูหนาว ปี พ.ศ. 2559 (เดือนธันวาคม 2559) ถึง ฤดูฝน ปี พ.ศ. 2562 (เดือนสิงหาคม 2562) เพื่อให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรแบคทีเรียในแต่ละฤดู รวมถึงจำนวนประชากรแบคทีเรียในสภาพที่มีการใช้ประโยชน์ต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ปริมาณแบคทีเรียจากตัวอย่างดินปี พ.ศ. 2560-2562 ในแต่ละฤดูมีปริมาณอยู่ระหว่าง $1.36 \times 10^6 - 1.23 \times 10^7$ เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณแบคทีเรียมากที่สุดพบในดินป่าต้นน้ำ (UF) ในฤดูหนาวปี 2560 มีปริมาณ 1.23×10^7 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณแบคทีเรียน้อยที่สุดพบในดินป่าปลายน้ำ (DF) ในฤดูฝนปี 2560 มีปริมาณ 1.36×10^6 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ความหลากหลายของแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ปี 2560 มีจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำจำนวน 1,852 ชนิด ป่าปลายน้ำจำนวน 2,567 ชนิด เกษตรต้นน้ำจำนวน 1,838 ชนิด และป่าต้นน้ำจำนวน 2,511 ชนิด ปี 2561 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 928 ชนิด ป่าปลายน้ำ 987 ชนิด เกษตรต้นน้ำ 941 ชนิด และป่าต้นน้ำ 955 ชนิด ปี 2562 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ เกษตรต้นน้ำ 806 ชนิด ป่าต้นน้ำ 1,199 ชนิด เกษตรปลายน้ำ 955 ชนิด และป่าปลายน้ำ 1,163 ชนิด ประชากรแบคทีเรียของชุมชนแบคทีเรียในพื้นที่ลุ่มน้ำปายมีอัตราส่วนที่แตกต่างกันในแต่ละปี ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ สัดส่วนของโครงสร้างประชากรแบคทีเรีย แตกต่างกันตามการใช้ประโยชน์ที่ดิน พื้นที่ป่าที่ไม่ถูกรบกวนจะมีความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียมากกว่าพื้นที่ทำการเกษตร นอกจากนี้ข้อมูลประชากรตามการใช้พื้นที่สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อจัดการใช้ประโยชน์แบคทีเรียให้เหมาะสมในพื้นที่

การศึกษาพบว่าเชื้อราที่พบทั่วไปมีความหลากหลายและยังคงมีความสมบูรณ์ โดยตัวอย่างดินทั้งในป่าและทางการเกษตรมีเชื้อราที่สำคัญ 5 ไฟลัม ได้แก่ Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota ซึ่ง Ascomycota เป็นไฟลัมที่พบมากที่สุดรองลงมาคือไฟลัม Basidiomycota Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota นอกจากนี้มีเชื้อราจำนวนมากที่ไม่

สามารถจำแนกได้ (incertae sedis) ด้วยการศึกษา ITS rDNA กลุ่มเชื้อราในดินที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ Nectriaceae ราชชนิดเด่นที่พบมาก ได้แก่ รา *Fusarium* เห็นได้ชัดว่าข้อมูลทางอนุกรมวิธานที่ละเอียดยังคงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อทำการเปรียบเทียบเชิงปริมาณของ phylotype สัมพัทธ์ของข้อมูล อย่างไรก็ตามการวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยในอนาคตและอาจเป็นประโยชน์ในการกำหนดแนวทางการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราที่มีการตอบสนองต่อสภาพอากาศเย็น ร้อน แห้ง และเปียก

ชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดินส่วนใหญ่มีไฟลัมเด่นอยู่ 3 ไฟลัม ได้แก่ Proteobacteria, Acidobacteria และ Actinobacteria ความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดินจากการเก็บรวบรวมตัวอย่างดิน 12 ตัวอย่างใน 1 ปี ได้หน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) 5,963 หน่วย จำนวนการอ่าน 92,871 ครั้งและจำแนกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 43 phyla 820 สกุล (genera) ในจำนวนนี้มี 92 สกุล ที่เป็นของ Actinobacteria ความหลากหลายของแอกติโนแบคทีเรียสูงที่สุดในพื้นที่ต้นน้ำโดยเฉพาะในดินเกษตร class เด่นที่พบมีความอุดมสมบูรณ์สูงและพบได้บ่อยในทุก ๆ พื้นที่ ได้แก่ class Actinobacteria และ Thermoleophilia ใน class Actinobacteria order Streptomycetales เป็น order ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุด และ family Streptomycetaceae เป็น family ที่มีความอุดมสมบูรณ์ที่สุดของ order นี้ สกุลเด่นที่พบมาก ได้แก่ Streptomyces ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดิน การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างชุมชนมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของความอุดมสมบูรณ์มากกว่าการมี / ไม่มี OTUs ซึ่งบ่งชี้ว่ามีชุมชนแอกติโนแบคทีเรียอยู่ทุก ๆ ที่ทั้งต้นน้ำ - ปลายน้ำทั้งพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรกรรม

กิจกรรมที่ 2

การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

Study of Potential of Useful Soil Microorganisms in Agriculture Effected by climate change in Pai River Basin.

ชื่อผู้วิจัย

จิตรกา เกาะแก้ว กัลยกร โปรงจันทิก อมรรัตน์ ไจยะเสน นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ภรณี สว่างศรี
 รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล สุภาวดี ง้อเหรียญ บุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ มนต์ชัย มนัสสิลา
 Jitra Kokaew Kunlayakorn Prongjunthuek Amornrat Chaiyasen Nuchanart Tangchitsomkid
 Paranee Sawangsri Rungnapa Pitaktansakul Suphawadee Ngorain Boonruanrat Ruangwised
 Amnat Eamvijarn Monchai Manassila

คำสำคัญ (Key words)

เชื้อไรโซเบียม ราดิน แอคติโนมัยสีท แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช นิมาโทด จุลินทรีย์ผลิตเอ็นไซม์
 Cellulase และ Chitinase
 Rhizobium, Soil fungi, Actinomycete, Plant growth promoting rhizobacteria, Nematode, Cellulase
 and Chitinase-producing microorganisms

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพของไรโซเบียมที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย โดยคัดเลือกไรโซเบียม 30 สายพันธุ์ พบไรโซเบียมที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้กับต้นถั่วสูงที่สุด 3 สายพันธุ์ได้แก่ DASA32019 DASA32025 และ DASA32116 นำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ผลผลิตถั่วเหลืองตาแดงที่ปลูกในกระถางทดลอง พบว่าจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด น้ำหนักเมล็ด และ น้ำหนัก 100 เมล็ดในทุก ๆ กรรมวิธีการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อนำเชื้อผสม 3 สายพันธุ์มาใช้ร่วมกัน พบว่าให้ผลผลิตที่ดีกว่าปุ๋ยชีวภาพสำหรับถั่วเหลืองที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร ศักยภาพของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แยกได้จากพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินที่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารวุ้นแข็งได้จำนวน 33 ไอโซเลท และจำแนกด้วยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MALDI-TOF) ได้ 2 สกุล คือ *Azospirillum* และ *Azotobacter* พร้อมทั้งทำการวัดความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและความสามารถในการผลิต IAA ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ ทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตกับพืชทดสอบ ผลการทดลองพบว่า เชื้อสกุล *Azotobacter* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าเชื้อสกุล *Azospirillum* แต่มีความสามารถในการผลิต IAA ได้ต่ำกว่า เมื่อนำ *Azospirillum* 5 สายพันธุ์ และ *Azotobacter* 4 สายพันธุ์ มาศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ 999 ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง และกระเทียมพันธุ์พื้นเมือง พบว่าแบคทีเรียทั้งสองสกุลทุกไอโซเลทมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบแตกต่างกัน โดยแบคทีเรียไอโซเลท AP1 มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิดสูงที่สุด รองลงมา คือ แบคทีเรียไอโซเลท

AT1 ความหลากหลายและประสิทธิภาพของราดินในพื้นที่ทำการเกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำป่าายจังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยใช้ 4 วิธี ในการแยก ได้แก่ soil dilution plate, soil plate, alcohol treatment และ heat treatment บนอาหาร Glucose Ammonium Nitrate Agar (GAN) พบราดินทั้งหมด 350 สายพันธุ์ จำแนกได้เป็น 18 สกุล 20 ชนิด ชนิด ได้แก่ Zygomycota 4 สกุล (*Absidia*, *Gongronella*, *Mucor* และ *Rhizopus*) Ascomycota 13 สกุล (*Aspergillus*, *Eupenicillium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Hamigera*, *Myrothecium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Verticillium* และ *Xylaria*) Basidiomycota 1 สกุล (*Sclerotium*) ราที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile mycelium) ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ ความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต การสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต พบราดินจำนวน 24 สายพันธุ์ สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ ราดิน 10 สายพันธุ์สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ ราดิน 53 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง siderophore และพบราดินจำนวน 91 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง Indole acetic acid (IAA) เมื่อนำราดินที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิดพบว่ามีราดิน 15 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* ราดิน 11 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Sclerotium rolfsii* ราดิน 15 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* และราดิน 24 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Colletotrichum gloeosporioides* ศักยภาพของแอคติโนมัยสิทที่แยกได้จากดินพื้นที่ลุ่มน้ำป่าาย จ. แม่ฮ่องสอน โดยการทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ การทดสอบการสร้าง siderophore การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต และการทดสอบการสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA) พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีความสามารถในการสร้าง siderophore สูงที่สุด *Streptomyces* sp. WF 10-1 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตสูงที่สุด มีการสร้างกรดอินโดลอะซีติกมีจำนวนทั้งหมด 42 32 และ 29 ไอโซเลท ตามลำดับ คัดเลือกแอคติโนมัยสิทที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 10 ไอโซเลทเพื่อทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืช *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* และ *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้ดีที่สุด ส่วน *Streptomyces* sp. WA 20-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคพืช *X. campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุด ด้านการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora palmivora*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia* sp. และ *Sclerotium rolfsii* พบว่า *Streptomyces* sp. RF 23-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคทดสอบได้ทุกชนิด การคัดเลือกแอคติโนมัยสิทที่มีสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเบียม พบว่า *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อไรโซเบียม 3 ชนิด คือ *Bradyrhizobium japonicum* DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 และ *B. daqingense* DASA 03084 การทดลองในระดับโรงเรือนพบว่า ต้นกล้าถั่วเขียวมีอาการเน่าตายเมื่อได้รับการปลูกเชื้อราก่อโรคพืช *S. rolfsii* แม้จะปลูกเชื้อแอคติโนมัยสิท *Streptomyces* sp. WF 4-1 ร่วมด้วย ส่วนต้นกล้าที่มีการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. RF 12-4 มีการเกิดโรคปานกลางในระดับ 2 ส่วนการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช *E. carotovora* pv. *carotovora* ทำให้ต้นกล้าถั่วเขียวเกิดโรคเล็กน้อยในระดับ 1 โดยความสูงของต้น น้ำหนักสด ความยาวรากและจำนวนปมรากของแต่ละกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

การศึกษาประชากรนีมาโทดในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน โดยใช้เทคนิค Whitehead tray ในการแยกนีมาโทดออกจากตัวอย่างดิน สามารถแยกได้นีมาโทดแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่กินแบคทีเรีย จำแนกได้เป็นสกุล *Dolichorhabdites* และ *Rhabdites* กลุ่มกินเชื้อราจำแนกเป็นสกุล *Aphelenchus* กลุ่มที่เป็น Predator จำแนกเป็นสกุล *Mononchus* และกลุ่มศัตรูพืชจำแนกเป็นสกุล *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*, *Paratylenchus* และ *Rotylenchus* กลุ่มที่พบจำนวนประชากรนีมาโทดมากที่สุดในตัวอย่างดินต้นน้ำคือ กลุ่มกินแบคทีเรีย รองลงมาคือกลุ่มกินเชื้อรา เท่ากับ 132 และ 98 ตัวต่อดิน 500 กรัม ในช่วงเดือนพฤศจิกายน และในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่พบประชากรนีมาโทดมากที่สุดรวมเท่ากับ 334 ตัวต่อดิน 500 กรัม และพบน้อยที่สุดในช่วงเดือนมีนาคม เท่ากับ 180 ตัวต่อดิน 500 กรัม เป็นผลจากในช่วงพฤศจิกายนมีอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงมีนาคม สำหรับพื้นที่ปลายน้ำมีจำนวนประชากรนีมาโทดเป็นในทิศทางเดียวกันกับพื้นที่ต้นน้ำ แต่จำนวนประชากรต่ำกว่าเป็นผลจากการทำเกษตรซึ่งมีการไถพรวน พลิกหน้า ส่งผลให้ประชากรนีมาโทดลดลง แต่พบว่าในกลุ่มนีมาโทดที่เป็นศัตรูพืชเพิ่มขึ้นในช่วงพฤศจิกายน และมกราคม การคัดเลือกจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และไคตินเนส จากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย บนอาหารสูตรคัดเลือกที่มีเซลลูเลส และไคตินเป็นองค์ประกอบ ตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ การเกิดวงใสรอบโคโลนี และการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ สามารถคัดเลือกได้เชื้อ *Bacillus velezensis* ไอโซเลท 2CMC-1.1 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี เมื่อทดสอบการแสดงออกในระดับโปรตีน พบว่า รีคอมบิแนนท์เอนไซม์ cellulase ที่ได้มีขนาดประมาณ 55 กิโลดาลตัน การโคลนยีนไคตินเนสจากเชื้อ *Paenibacillus xylanilyticus* ไอโซเลท 1Ch 2.4 ทดสอบการแสดงออกในระดับโปรตีน พบว่า รีคอมบิแนนท์เอนไซม์ chitinase ที่ได้มีขนาดประมาณ 74 กิโลดาลตัน

Abstracts

Study of the potential of rhizobium isolated from climate change-affected areas of Pai River Basin. By selecting 30 strains of rhizobium, 3 strains were found suitable and efficient in nitrogen fixation of pea plants, DASA32019, DASA32025 and DASA32116, were used to produce rhizobium bio-fertilizers. Yield of red-eyed soybeans grown in experimental pots. Found that the number of pods per plant The total number of seeds, seed weight, and 100 seed weights were not statistically different in all treatments. And when using 3 strains of mixed germs to be used together It was found that yields better than bio-fertilizers for soybeans produced by the Department of Agriculture. The potential of bacteria to promote plant growth isolated from climate change-affected areas in the Pai River basin. There were 33 isolates from the soil that could be grown on solid agar food and classified by the malditof technique (MALDI-TOF) into 2 genera, Azospirillum and Azotobacter, and to measure the fixation ability. Nitrogen and IAA production capacity of the isolated pathogen. Test the ability to promote growth with test plants. The results showed that Azotobacter genus had higher nitrogen fixation than Azospirillum, but had lower IAA production ability when 5 Azospirillum and 4 Azotobacter were studied. Maize varieties, 999 farm rice, native varieties. And native garlic It was found that both genus bacteria

and every isolate had different ability to promote the growth of test plants. The bacteria isolate AP1 had the highest growth-promoting ability of the three test plants, followed by the bacteria isolate AT1, diversity and efficiency of soil fungi in agricultural areas and forest areas in the Pai River basin, Province. Mae Hong Son by using 4 methods for separation, namely soil dilution plate, soil plate, alcohol treatment and heat treatment on food. Glucose Ammonium Nitrate Agar (GAN) found all 350 species of soil mold, classified into 18 genera, 20 species, including 4 genera of Zygomycota (Absidia, Gongronella, Mucor and Rhizopus), 13 genera Ascomycota (Aspergillus, Eupenicillium, Eurotium, Fusarium, Hamigera, Myrothecium, Neosartorya, Paecilomyces, Penicillium, Talaromyces, Trichoderma, Verticillium and Xylaria), 1 genus basidiomycotium). (Sterile mycelium) to test the efficiency of building enzymes Phosphate degradability Growth accelerator formation: found 24 soil fungi to produce cellulase enzyme, 10 soil fungi able to degrade phosphate, 53 soil fungi were capable of producing siderophore, and found 91 soil mold. Strains were able to generate Indole acetic acid (IAA) when isolated soil fungi were tested for their ability to inhibit the growth of four plant pathogens. 15 soil fungi were found to inhibit the growth. Of *Rhizoctonia solani*, 11 cultivars that were able to inhibit the growth of *Sclerotium rolfsii*, 15 cultivars that were able to inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* and 24 soil molds that inhibited the growth of fungi. *Colletotrichum gloeosporioides* Potential of actinomycetes were isolated from soil in Pai River Basin, Mae Hong Son Province by testing of plant growth promoting properties, including siderophore formation test, phosphate solubility test. The indoleacetic acid formation test (IAA) found that *Streptomyces* sp. WF 4-1 had the highest siderophore capacity. *Streptomyces* sp. WF 10-1 had the highest phosphate solubility. A total of 42, 32, and 29 isolates were generated indoleacetic acids, respectively. Efficient actinomycetes were selected to promote plant growth, 10 isolates, to test their antagonism to plant growth. Plant pathogens: *Streptomyces* sp. WF 4-1 was found to be effective in inhibiting the growth of pathogenic bacteria *Erwinia carotovora* pv. *Carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines* and *X. oryzae* pv. *Oryzae*. *Streptomyces* sp. WA 20-3 was the most effective in inhibiting plant pathogenic bacteria *X. campestris* pv. *Campestris*. Inhibition testing of plant pathogens were *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora palmivora*, *Rhizoctonia. solani*, *Rhizoctonia* sp. and *Sclerotium rolfsii* found that *Streptomyces* sp. RF 23-1 was effective in inhibiting all types of pathogenic fungi. Selection of actinomycetes with non-antagonistic properties It was found that *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 and RF 23-1 were not antagonistic to the three strains of rhizobium. There were *Bradyrhizobium japonicum* DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 and *B. daqingense* DASA 03084. Green pea seedlings had death symptoms when *S. rolfsii* pathogenic fungi were transplanted despite cultivating *Streptomyces* sp. WF 4-1. RF 12-4 had moderate disease at level 2. Growing of *E. carotovora* pv. *Carotovora* pathogenic bacteria

caused mung bean seedlings to mildly disease level 1 by plant height, fresh weight, root length and number of plants. The roots of each process There was no statistical difference.

Nematode population studies in upstream and downstream areas of Pai River Basin, Mae Hong Son Province, using whitehead tray technique to separate nematode from soil samples. Nematode can be divided into 4 groups: those that, 1) bacteria eating group classified as a genus *Dolichorhabditis* and *Rhabditis* 2) fungal eating group classified as genus *Aphelenchus*, 3) Predator group classified as genus *Mononchus* and 4) pest group classified as genus *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*, *Paratylenchus*, and *Rotylenchus*. The group that found the highest number of nematodes in upstream soil samples was bacteria eating group. Followed by the group ate 132 and 98 fungi per 500 g of soil during November. In this period, 334 nematodes were found to be found per 500 g of soil, and the lowest was found in March of 180 nematodes per 500 g of soil, as a result of November. The temperature is lower than in March. For the downstream area, the Nematode population is in the same direction as the upstream area. But the lower population was the result of farming, which turned around, resulting in a decrease in the Nematode population. But it was found that in the pesticides nematode group increased during November and January, microbial selection to produce cellulase enzyme and chitinase from the soil in the Pai River basin. On selected recipes containing cellulose and chitin as an element Measure the activity of the enzyme The birth of a clear circle around the colonies And analysis of reducing sugar content *Bacillus velezensis* isolate 2CMC-1.1 can be selected, which has good efficacy in cellulase enzyme production. When testing protein expression, it was found that the recombinant enzyme cellulase was approximately 55 kD. *Paenibacillus xylanilyticus* 1Ch 2.4 isolate was tested for protein expression. It was found that the resulting chitinase recombinant was approximately 74 kD.

บทนำ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม เกิดภัยธรรมชาติที่รุนแรงมากขึ้น และส่งผลกระทบต่อภาคการเกษตร สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปยังส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงของแหล่งที่อยู่อาศัย ชนิด และประชากรของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตร จุลินทรีย์บางชนิด/สายพันธุ์ อาจมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ นอกจากนี้การทำเกษตรกรรม และการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชยังส่งผลทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรหลายชนิดมีการเปลี่ยนแปลง แบคทีเรียจัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่พบมากที่สุดเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น มีหน้าที่ย่อยซากพืช ซากสัตว์ ผลิตฮิวมัส เปลี่ยนแปลงแร่ธาตุในดินให้เป็นประโยชน์ จุลินทรีย์ดินที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเป็นอีกกลุ่มที่เป็นตัวบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมถึงการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินที่แยกได้จากพื้นที่ที่ทำการศึกษาคือเป็นจุลินทรีย์ดินที่ผ่านการปรับตัวให้มีชีวิตอยู่รอดใน

สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ แบคทีเรียในดินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีประโยชน์ต่อพืชได้ เช่น แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis N₂-fixing bacteria) ได้แก่ เชื้อไรโซเบียม (*Rhizobium* sp.) กับพืชตระกูลถั่ว (หนึ่ง, 2554; Hartman and Amarge, 1991) แต่เนื่องจากไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงกับพืชตระกูลถั่ว กล่าวคือไรโซเบียมจะถูกจำแนกตามลักษณะความสามารถในการเข้าสร้างปมได้กับชนิดของพืชตระกูลถั่วที่อาศัยอยู่ เช่น *Bradyrhizobium japonicum* จะสร้างปมรากและตรึงไนโตรเจนเฉพาะกับถั่วเหลืองเท่านั้น ซึ่งในสภาพแวดล้อมต่างก็มีอิทธิพลต่อการเป็นอยู่ของไรโซเบียมต่างกัน (Boonkerd and Weaver, 1982; Weaver et al., 1987)

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria or PGPR) เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช สร้างสารซีเดอโรฟอรัส (siderophores) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) และลามินารินเนส (laminarinase) ย่อยเส้นใยเชื้อราโรคพืช สร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เป็นต้น (หนึ่ง, 2548) ซึ่งในแบคทีเรียบางสกุลมีความสามารถหลายอย่างรวมกัน แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตพืชมีหลายสกุลด้วยกัน ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. *Beijerinckia* sp. และ *Gluconacetobacter* sp. เป็นต้น

ราเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากล่องลงมาจากแบคทีเรีย มีความสำคัญอย่างมากในการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ โดยเฉพาะองค์ประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนและย่อยสลายยากเช่น เซลลูโลส แป้ง ลิกนินได้ดีอีกทั้งเส้นใยของรายังสามารถแทงเข้าไปข้างในของวัสดุได้ เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสทำให้การย่อยสลายมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยสิ่งที่ได้จากการย่อยสลายคือคาร์บอนไดออกไซด์ กรดอินทรีย์ แร่ธาตุต่างๆ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และฮิวมัส ซึ่งเป็นการปลดปล่อยธาตุอาหารและองค์ประกอบทางเคมีกลับคืนสู่ดินทำให้ดินอุดมสมบูรณ์และพืชนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541; Foth, 1990 ; Singer and Munns, 1987) นอกจากนี้การยืดยาวของเส้นใยและการแตกกิ่งก้านสาขาเป็นกลไกที่ทำให้เกิดแรงดันทำให้เซลล์ของซากพืชแยกออกจากกันง่ายขึ้น ซึ่งนับว่าเป็นข้อได้เปรียบแบคทีเรียที่จะเจริญอยู่ที่ผิวสัมผัสเท่านั้น (Garrett, 1963 ; Harley, 1971 ; Richards, 1976) ราดินได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการทำการเกษตร เช่น รา *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) สร้างสาร gibberellin เป็นฮอร์โมนพืชทำให้พืชเจริญดีขึ้น รา *Trichoderma* sp. นำมาใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยปุ๋ยหมักเนื่องจากเป็นราที่สร้างเอนไซม์หลายชนิด (เลขา และคณะ, 2555)

แอคติโนมัยซีตซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางในธรรมชาติและสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด มีรายงานจำนวนมากเกี่ยวกับการใช้แอคติโนมัยซีตเป็นสารควบคุมทางชีวภาพในการทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตร (El-Tarabily and Sivasithamparam, 2006; Law et al., 2017)

เนื่องจากแอกติโนไมซีท สร้างสารควบคุมทางชีวภาพที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมเชื้อก่อโรคพืชและไม่มีผลต่อสิ่งแวดล้อมหรือสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายอื่น

ศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและความเป็นปฏิกิริยากับเชื้อสาเหตุโรคพืชของแอกติโนไมซีทที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ

นีมาโทดอิสระ (free-living nematode) อีกกลุ่มที่เป็นตัวบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยพบว่านีมาโทดที่หากินอิสระ ที่อาศัยอยู่ในดิน เป็นองค์ประกอบสำคัญของระบบนิเวศดินซึ่งมีความสัมพันธ์ต่อสารอินทรีย์และกระบวนการย่อยสลายต่างๆ โดยมีความสำคัญต่อห่วงโซ่อาหารของระบบนิเวศในดินเป็นอย่างมาก สามารถเป็นตัวกำจัดเศษซากพืช (root herbivores) กินแบคทีเรีย (bacterivores) และเชื้อรา (fungivores) ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช และยังเป็นผู้ล่า (predators) (Ferris and Bongers, 2006) โดยการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยหากินอิสระในดิน เป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในดิน ความสมดุลของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่รวมกันและความอุดมสมบูรณ์ของดินด้วย (Zhao and Neher, 2014) ยกตัวอย่างเช่น การสะสมของปุ๋ยไนโตรเจนที่ตกค้างในดินมากเกินไป ทำให้มีธาตุอาหาร N (widespread nitrogen enrichment) ที่ไปกระตุ้นให้สิ่งมีชีวิตในดิน ผลิตแอมโมเนียม (Ammonium, NH_4^+) ในดิน นอกจากเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์อื่นๆ แล้วมีผลทำให้จำนวนประชากรไส้เดือนฝอยหากินอิสระในดินลดลงเป็นอย่างมากอีกด้วย (Wei et al., 2012)

จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ cellulase (เซลลูเลส) และ chitinase (ไคตินเนส) บริเวณลุ่มน้ำปาย ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และไคตินเนส ซึ่งเป็นชนิด/สายพันธุ์ที่ผ่านการปรับตัวให้มีความเหมาะสมในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง เป็นแนวทางในการใช้เอนไซม์เซลลูเลส และ ไคตินเนส (Ridout et al., 1988 ; Millati et al., 2005) ในการย่อยสลาย และเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือใช้จำพวกเซลลูโลส (เปลือกหรือแกนสับประรด ทลายปาล์ม น้ำกากสำจากโรงงานสุรา เศษไม้ขี้เลื่อยจากโรงงานทำไม้ ของเสียจากโรงงานทำกระดาษ ของเหลือใช้หลังจากการเก็บเกี่ยว เช่น กากถั่วเหลือง ฟางข้าว ไร่ข้าว ชานอ้อย ขี้เลื่อย ชังและเปลือกข้าวโพด) และของเหลือทิ้งไคติน (เปลือกกุ้ง และกระดองปูที่มีจำนวนมากจากอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ) ให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไป โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส อาทิเช่น *Geobacillus pallidus* *G. debilis* (Lynd et al., 2002) *Bacillus subtilis* (Koide et al., 1986) เอนไซม์ไคตินเนส พบได้ทั่วไปในแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. และ *Bacillus sterothermophilus* (Ueda and Arai, 1992) เป็นต้น ซึ่งนับเป็นการใช้ประโยชน์จากความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายประกอบเหล่านี้นี้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

ระเบียบวิธีการวิจัย

1 การศึกษาศักยภาพของไรโซเปียมที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ บริเวณลุ่มน้ำปาย

คัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเปียมในห้องปฏิบัติการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ นำเชื้อมาเลี้ยงในอาหาร yeast mannitol agar ที่มีการเติม bromthymol blue บ่มเลี้ยงเป็นเวลา 3-7 วัน ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเปียมที่คัดเลือกได้กับถั่วสายพันธุ์ที่มีการปลูกในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย โดยการทดลองสายพันธุ์ถั่วแต่ละชนิดแต่ละพันธุ์ทำแยกจากกันแต่มีวิธีการดำเนินงานเหมือนกัน โดยปลูกถั่วในขวดบรรจุทรายปราศจากเชื้อ

ปนเปื้อนและใส่เชื้อไรโซเบียม เมื่อต้นถั่วออกดอกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ บันทึกประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน จำนวนปม น้ำหนักปมแห้ง และน้ำหนักต้นแห้ง พร้อมทั้งวิเคราะห์ผลทางสถิติและคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อนำไปทดสอบในกระถางทดลองต่อไป

ทดสอบการทำงานของเชื้อไรโซเบียมกับถั่วที่ปลูกในกระถางทดลองในสภาพโรงเรือน การทดสอบในกระถางทดลองจะทำการวิเคราะห์สมบัติของดินก่อนและหลังปลูกถั่ว เปรียบเทียบ กรรมวิธีการใส่เชื้อไรโซเบียม และการใส่ปุ๋ยเคมีสูตรแนะนำ บันทึกข้อมูลเมื่อถั่วออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์โดยบันทึกค่าการตรึงไนโตรเจน จำนวนปม น้ำหนักปมแห้ง และน้ำหนักต้นแห้ง และที่ระยะเก็บเกี่ยวบันทึก ผลผลิตฝักสดและฝักแห้งพร้อมเปลือก วิเคราะห์ผลทางสถิติ เลือกกรรมวิธีที่ให้ผลผลิตสูงเพื่อทำการทดสอบในแปลงทดลอง

2 การศึกษาศักยภาพของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่การผลิตพืชในชุมชนเกษตรของลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน และทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเฉพาะสำหรับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตวัดประสิทธิภาพของเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ ประกอบด้วยประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน การผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การเพิ่มประโยชน์ธาตุอาหารพืช และกิจกรรมอื่นๆ จำแนกสกุลและชนิดโดยวิธีทางสรีระวิทยา ชีวเคมี เคมี และชีววิทยาโมเลกุล ศักยภาพของกิจกรรมกลไกในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ การวัดการตรึงไนโตรเจน การเพิ่มความเป็นประโยชน์ธาตุอาหารพืช การผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในอาหารจำเพาะของเชื้อแต่ละสกุล ศึกษาประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระดับห้องปฏิบัติการ เรือนทดลอง

3 การศึกษาศักยภาพของราดินที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชในอาหาร PDA เป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะโคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์ และเชื้อราสาเหตุโรคพืชวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9.0 เซนติเมตร โดยวางห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร เป็นเวลา 4 วัน หลังจากนั้นนำเชื้อราปฏิปักษ์ที่ต้องการทดสอบมาวางไว้ฝั่งตรงข้ามและห่างจาก ขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกผลการยับยั้ง และหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth-PIRG) คำนวณได้ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

R1 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคพืชในจานควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคพืชในจานทดสอบ

หาค่าเฉลี่ยความยาวรัศมีของโคโลนีแล้วนำมาคำนวณหาค่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งแล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดย Duncan's multiple range ด้วยโปรแกรม SPSS for Windows

ทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร Carboxyl methyl cellulose (CMC) agar ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 3 วัน เทสารละลาย Gram's Iodine ให้ท่วมผิวหน้าอาหาร และโคโลนีเชื้อรา เป็นเวลา 5 นาทีแล้วเทออกจากริมวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใส (clear zone) ในหน่วยเซนติเมตร (cm) โดยในการทดสอบนี้ใช้เอนไซม์ cellulase จาก *Aspergillus niger* (Sigma) 10 mg/ml (2.41 Unit/ml) เป็น positive control และใช้น้ำกลั่นเป็น negative control

ทดสอบศักยภาพในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต

การวัดศักยภาพในการผลิต indole acetic acid (IAA) การวัดศักยภาพในการผลิต IAA โดยการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อและวัดปริมาณ IAA

4 การศึกษาศักยภาพของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

เตรียมแบคทีเรียสำหรับทดสอบโดยเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) นำไปบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับความขุ่นของเซลล์ด้วยเครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่นของเซลล์เท่ากับ 0.25 ทดสอบความสามารถของแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบโดยใช้วิธีราดทับ (agar overlay) ซึ่งเป็นวิธีดัดแปลงของ Anand et al. (2006) เตรียมสปอร์แขวนลอยของ แอคติโนมัยสีท โดยเลี้ยงแอคติโนมัยสีทให้เจริญบนอาหาร ISP medium 3 จากนั้นชุดสปอร์และเซลล์ผสมลงในสารละลาย ¼ Ringer ให้เข้ากัน หยดสปอร์แขวนลอย 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหาร ISP medium 2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นชุดสปอร์แขวนลอยของแบคทีเรียทดสอบที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่มีผงวุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เข้ากัน นำไปเทราดทับโคโลนีของแอคติโนมัยสีท ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยดูจากการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่อยู่รอบโคโลนีของแอคติโนมัยสีท นำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีแอคติโนมัยสีท และคำนวณหาค่าการยับยั้ง ตามสูตรดังนี้

$$\text{ค่าการยับยั้ง} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแอคติโนมัยสีท}}$$

การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

ใช้วิธีของ Yuan and Crawford (1995) โดยเตรียมสปอร์แขวนลอยของแอคติโนมัยสีท ตามวิธีที่กล่าวข้างต้น หยดสปอร์แขวนลอยให้ห่างจากขอบจานอาหาร PDA ประมาณ 1 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เลี้ยงราทดสอบบนจานอาหารแข็ง PDA จนเจริญดี จากนั้นใช้ cork borer เบอร์ 2 (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) เจาะบริเวณปลายเส้นใยรา นำมาวางบริเวณกลางจานอาหารและห่างจากโคโลนีแอคติโนมัยสีทอายุ 7 วัน เป็นระยะ 3 เซนติเมตร ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ส่วนจานอาหารควบคุมให้วางเส้นใยราที่เจาะด้วย cork borer เบอร์ เดียวกันบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

วัดระยะการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราเมื่อรัศมีการเจริญของเส้นใยราในงานอาหารควบคุมมีขนาด 3 เซนติเมตร และคำนวณหาค่าการยับยั้ง ตามสูตรดังนี้

$$\text{ค่าการยับยั้ง} = \frac{\text{รัศมีการเจริญของราในงานอาหารทดลอง}}{\text{รัศมีการเจริญของราในงานอาหารควบคุม}}$$

การคัดเลือกแอสโคดีโนมัยสที่มีสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเปียม เตรียมเชื้อไรโซเปียมสำหรับทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร Yeast Extract-Mannitol (YEM) บ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาปรับความขุ่นของเซลล์ด้วยเครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่นของเซลล์เท่ากับ 0.2 วิธีการทดสอบทำได้โดยหยดสปอร์แขวนลอยของแอสโคดีโนมัยส 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหาร ISP medium 2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันจากนั้นเชื้อไรโซเปียมที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมลงในอาหาร YEM ที่มีผงวุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มผสมให้เข้ากัน นำมาเทราดทับโคโลนีแอสโคดีโนมัยสที่บ่มผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง และเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีแอสโคดีโนมัยส และคำนวณหาค่าการยับยั้ง ตามสูตรดังนี้

$$\text{ค่าการยับยั้ง} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแอสโคดีโนมัยส}}$$

5 การศึกษา ประชากรนีมาโทดิสระเพื่อบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

เก็บตัวอย่างดินในบริเวณที่ทำการศึกษาดินน้ำและปลายน้ำ นำตัวอย่างดินมาแยกนีมาโทดิสระโดยใช้เทคนิค Whitehead tray ตรวจนับจำนวนนีมาโทดิสระภายใต้กล้องจุลทรรศน์. จำแนกกลุ่ม/ชนิด โดยพิจารณาจากลักษณะสำคัญทางสัณฐานวิทยา และถ่ายภาพ เทียบกับคีย์มาตรฐาน.

การทดสอบกลุ่มนีมาโทดิสระกินแบคทีเรีย และกินรา โดยทำการทดสอบจำนวนนีมาโทดในการกินแบคทีเรียและรา ในระดับห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB ประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยที่ 1) จำนวนนีมาโทดิสระ 2 ระดับ (10 และ 100 ตัว) และปัจจัยที่ 2) อุณหภูมิ 3 ระดับ (อุณหภูมิดินที่วัดได้จากพื้นที่ต้นน้ำ กลางน้ำ ปลายน้ำ) รวม 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ บันทึกผล จำนวนแบคทีเรียและราที่ถูกกิน และการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนของนีมาโทดกินแบคทีเรีย และกินรา ทุก 24 ชม. เป็นเวลา 7 วัน

6 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ Cellulase และ Chitinase ที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

เก็บตัวอย่างดิน/เศษวัสดุในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน วิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์เบื้องต้นจากการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ กระตุ้น/คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์ Cellulase และ Chitinase ในอาหาร enrichment medium และ Screening medium ซึ่งมี CMC-Na, Chitin เป็นองค์ประกอบ

วิเคราะห์ความหลากหลายและจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

สกัด Total DNA จากดิน/สารละลายในอาหาร enrichment medium ที่ผ่านการกระตุ้นให้ผลิตเอ็นไซม์ชนิดนั้นๆเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของบริษัท 16S rDNA และ ITS โดยใช้เทคนิค PCR วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเครื่องวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบอัตโนมัติแล้วเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอกับฐานข้อมูล NCBI เพื่อบ่งชี้ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอ็นไซม์ Cellulase หรือ Chitinase รวบรวมข้อมูลลำดับเบสของยีน ออกแบบและสังเคราะห์ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับยีน ใช้ไพรเมอร์ที่สังเคราะห์ได้มาเพิ่มปริมาณในส่วนที่ยีนโดยปฏิกิริยา PCR โคลนยีนที่ได้เข้าสู่เวกเตอร์พาหะและถ่ายฝากชิ้นส่วนของยีนเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (*E. coli*) ตรวจสอบความถูกต้องของชิ้นยีนด้วยเทคนิค PCR, ตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ ตรวจสอบวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน เชื่อมต่อชิ้นยีนเข้าสู่ protein expression vector และถ่ายฝากเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน ทดสอบการแสดงออกของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1 การศึกษาศักยภาพของไรโซเบียมที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษาการใช้เชื้อไรโซเบียมจำนวน 30 สายพันธุ์กับถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ในสภาพไม่มีธาตุอาหารไนโตรเจน ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมทั้งหมด 30 สายพันธุ์ ทำให้รากถั่วมีการติดปม และสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้และเมื่อเปรียบเทียบกับอัตรา การตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ในรากถั่ว กับกรรมวิธีไม่ใส่เชื้อ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดได้จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ DASA 32019 DASA 32025 และ DASA 32116 ซึ่งมีค่าอัตราการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 38.269 41.343 และ 39.288 ไมโครโมลเอธิลีนต่อกระถางต่อชั่วโมงตามลำดับ โดยที่ DASA 32019 มีจำนวนปมเฉลี่ยเท่ากับ 74 ปม/ต้น น้ำหนักสดปม 2.10 กรัม/ต้น น้ำหนักแห้งปม 0.48 กรัม/ต้น และน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 4.50 กรัม/ต้น DASA 32025 มีจำนวนปมเฉลี่ยเท่ากับ 108 ปม/ต้น น้ำหนักสดปม 2.93 กรัม/ต้น น้ำหนักแห้งปม 0.63 กรัม/ต้น และน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 5.92 กรัม/ต้น DASA 32116 มีจำนวนปมเฉลี่ยเท่ากับ 77 ปม/ต้น น้ำหนักสดปม 2.00 กรัม/ต้น น้ำหนักแห้งปม 0.46กรัม/ต้น และน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 6.10 กรัม/ต้น (ตารางที่ 1) ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน การเลือกใช้สายพันธุ์ผสมอาจช่วยลดความเสี่ยงในการติดปมให้กับถั่วเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เนื่องจากในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน เชื้อไรโซเบียมที่คัดเลือกได้อาจมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกันด้วย

ตารางที่ 1 ผลของไรโซเบียม 30 สายพันธุ์ที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ต่อจำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักแห้งปม น้ำหนักแห้งต้น และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน กับถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน

รหัสชื่อ	จำนวนปม (ปม/ต้น)	น้ำหนักสดปม (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้งปม (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้งต้น (กรัม/ต้น)	ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ไมโครโมลเอมิโนต่อตาราง)
Control	0	0.00	0.00	1.39	0.199
DASA32003	33	1.13	0.03	0.95	0.791
DASA32004	7	0.26	0.06	1.58	1.745
DASA32005	12	0.51	0.13	1.98	3.959
DASA32006	8	0.56	0.11	1.92	3.101
DASA32007	5	0.25	0.05	1.27	3.110
DASA32008	7	0.36	0.09	1.67	2.962
DASA32009	16	0.73	0.19	2.59	3.046
DASA32010	25	1.07	0.18	2.49	6.521
DASA32011	49	1.65	0.32	2.14	5.579
DASA32012	109	1.64	0.35	3.24	9.520
DASA32013	92	1.50	0.32	3.42	14.685
DASA32014	86	1.72	0.34	4.73	11.436
DASA32015	6	0.11	0.01	0.75	1.055
DASA32016	38	1.06	0.16	1.94	3.953
DASA32017	67	1.45	0.29	2.93	12.388
DASA32018	97	1.98	0.45	3.77	21.342
DASA32019	74	2.10	0.48	4.50	38.269
DASA32020	111	2.65	0.70	5.05	27.856
DASA32025	108	2.93	0.63	5.92	41.343
DASA32026	184	30.22	0.68	7.15	18.562
DASA32027	99	1.95	0.43	5.92	8.180
DASA32028	53	1.43	0.32	5.37	4.316
DASA32029	84	2.71	0.59	6.44	12.477
DASA32030	85	2.07	0.49	5.89	15.457
DASA32031	97	2.89	0.65	7.53	18.873
DASA32032	97	2.29	0.49	7.21	13.097
DASA32033	118	2.99	0.61	7.64	21.817
DASA32034	104	2.91	0.59	6.96	17.700
DASA32053	110	1.76	0.36	2.60	25.592
DASA32116	77	2.00	0.46	6.10	39.288

1.2 การทดสอบผลของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนต่อกาเจริญเติบโตของถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ในสภาพกระถางทดลอง

ความอุดมสมบูรณ์ของดินก่อนปลูก ผลวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนปลูกที่ระดับ 0-20 เซนติเมตร พบว่าเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) และมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ โดยมีอินทรีย์วัตถุ 2.029 เปอร์เซ็นต์ มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 84.225 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 205.60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 2) ถ้าจะนำมาปลูกถั่วเหลืองให้ได้ผลผลิตดีจะต้องใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับการปลูกพืชตระกูลถั่ว (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนปลูกถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอนในกระถางทดลอง

เนื้อดิน	อินทรีย์วัตถุ (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
ร่วนปนทราย	2.029	84.225	205.60

จากผลการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากดินบริเวณลุ่มน้ำบายโดยวิธี Leonard's jar กับถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการตรึงไนโตรเจนจำนวน 3 สายพันธุ์ จากนั้นได้นำเชื้อไรโซเบียมทั้ง 3 สายพันธุ์มาทดสอบในระดับกระถางโดยปลูกถั่วเหลืองตาแดง ตามกรรมวิธีที่กำหนด และได้ดำเนินการนับจำนวนปมราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากและปมราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลำต้น และวัดค่าการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมในปมรากของต้นถั่วเหลืองตาแดงในระยะออกดอก อายุ 35 วันหลังปลูก ผลการทดลอง พบว่า ในกรรมวิธีที่ 3 (ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสายพันธุ์ C) มีจำนวนปม น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งปม มากที่สุดโดยมีจำนวนปมเท่ากับ 86 ปมต่อต้น น้ำหนักสดปม เท่ากับ 2.61 กรัม และ น้ำหนักแห้งปม เท่ากับ 0.51 กรัม ในทุก ๆ กรรมวิธีของจำนวนปม น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งปม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก ในกรรมวิธีที่ 2 (ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม สายพันธุ์ B) มีน้ำหนักมากที่สุดเท่ากับ 8.69 และ 2.08 ตามลำดับ โดยในกรรมวิธีที่ 2 มีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ 5 (ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมผสม สายพันธุ์ A+B+C) และกรรมวิธีที่ 7 (ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้นในกรรมวิธีที่ 3 (ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสายพันธุ์ C) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 76.83 กรัม และ 17.41 กรัม ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 7 และค่าการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่ 7 (ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีค่าการตรึงไนโตรเจนมากที่สุดเท่ากับ 24.13 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{ต้นพืช/ชั่วโมง}$ รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 4 (ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วเป่าหมาย) กรรมวิธีที่ 3 (ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสายพันธุ์ C) เท่ากับ 23.16 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{ต้นพืช/ชั่วโมง}$ และพบว่ากรรมวิธีที่ 1, 2 และ 6 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 7 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนปมราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก ปมราก และลำต้น และค่าการตรึงไนโตรเจนของไรโซเปียมในปมรากของต้นถั่วเหลืองในระยะออกดอก อายุ 35 วันหลังปลูก

กรรมวิธี	จำนวน ปม/ต้น	น้ำหนัก สด ปม (กรัม)/ ต้น	น้ำหนัก แห้งปม (กรัม)/ ต้น	น้ำหนักสด ราก(กรัม)/ ต้น	น้ำหนัก แห้งราก (กรัม)/ต้น	น้ำหนักสดต้น (กรัม)/ต้น	น้ำหนัก แห้ง ต้น (กรัม)/ต้น	ค่า การ ตรึง ไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4$ /ต้น พืช/ชั่วโมง
ไรโซเปียม A	64	1.26	0.28	6.93 ABC	1.73 ABC	73.80 AB	17.16 AB	12.91 B
ไรโซเปียม B	60	1.41	0.31	8.69 A	2.08 A	64.89 AB	16.30 AB	14.89 B
ไรโซเปียม C	86	2.61	0.51	8.34 AB	2.03 A	76.83 A	17.41 A	23.16 AB
ปุ๋ยชีวภาพ กรม วิชาการฯ	77	1.67	0.43	7.54 AB	1.83 ABC	58.34 AB	13.95 AB	24.13 AB
ไรโซเปียม A+B+C	68	1.53	0.36	6.26 BC	1.30 BC	65.66 AB	15.53 AB	17.65 AB
ไม่ใส่ปุ๋ย	48	1.03	0.24	7.75 AB	1.88 AB	62.09 AB	14.37 AB	12.68 B
ปุ๋ยเคมีตามค่า วิเคราะห์ดิน	78	1.72	0.41	4.98 C	1.14 C	52.50 B	12.61 B	28.14 A
CV	36.44	38.61	40.93	15.47	21.63	17.63	15.71	35.62

ผลผลิตถั่วเหลืองตาแดงที่ปลูกในกระถางทดลอง เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อต้นถั่วมีอายุได้ 105 วัน หลังปลูก พบว่าจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด น้ำหนักเมล็ด และ น้ำหนัก 100 เมล็ดในทุก ๆ กรรมวิธีการใส่ปุ๋ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่ากรรมวิธีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเปียม สายพันธุ์ B ให้จำนวนฝัก/ต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด นน.เมล็ดทั้งหมด มากที่สุด เท่ากับ 67 ฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด 225 เมล็ด และ นน.เมล็ด เท่ากับ 33.15 กรัม และเมื่อนำเชื้อผสม 3 สายพันธุ์มาใช้ พบว่ามีจำนวนฝักต่อต้น เท่ากับ 55 ฝัก จำนวนเมล็ดทั้งหมด เท่ากับ 172 เมล็ด และนน.เมล็ด เท่ากับ 28.69 กรัม ซึ่งให้ผลผลิตที่ดีกว่าปุ๋ยชีวภาพสำหรับถั่วเหลืองที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด น้ำหนักเมล็ดแห้ง น้ำหนัก 100 เมล็ด ของถั่วเหลืองตาแดงเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 105 วันหลังปลูก

กรรมวิธี	จำนวนฝัก/ต้น	จำนวนเมล็ดทั้งหมด	นน.เมล็ดทั้งหมด	นน. 100 เมล็ด
ไรโซเปียม A	52	161	30.57	15
ไรโซเปียม B	67	225	33.15	14.26
ไรโซเปียม C	57	207	29.7	15.01
ปุ๋ยชีวภาพ กรมวิชาการฯ	53	172	26.44	14.91
ไรโซเปียม A+B+C	55	207	28.69	14.33
ไม่ใส่ปุ๋ย	55	195	27.2	14.33
ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน	51	186	25.63	14.42
CV	20.63	17.23	17.23	7.26

2 การศึกษาศักยภาพของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

2.1. การคัดแยกแบคทีเรีย และการศึกษาประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของแบคทีเรียที่แยกได้

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria or PGPR) เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช สร้างสารซีเดอโรฟออร์ (siderophores) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) และลามินารินาส (laminarinase) ย่อยเส้นใยเชื้อราโรคพืช สร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เป็นต้น (หนึ่ง, 2548; รัชชัย, 2550 และ Glick *et al.*, 1999) ซึ่งในแบคทีเรียบางสกุลมีความสามารถหลายอย่างรวมกัน แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตพืชมีหลายสกุลด้วยกัน ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. *Beijerinckia* sp. และ *Gluconacetobacter* sp. เป็นต้น ซึ่งในการทดลองนี้สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างดินที่เก็บช่วงเดือนตุลาคม 2560 ถึงเดือนกันยายน 2562 ที่สามารถเจริญเติบโตได้คืบอาหารวุ้นได้จำนวน 33 ไอโซเลท พร้อมทั้งทำการวัดความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและความสามารถในการผลิต IAA ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ ซึ่งเป็นความสามารถหลักของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1-2 โดยพบว่าแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* (AP) มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.042-0.903 ไมโครโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อหลอด และผลิตฮอร์โมน IAA อยู่ในช่วง 10.42-77.21 ppm ส่วนแบคทีเรียสกุล *Azotobacter* (AT) มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 3.203-9.136 ไมโครโมลเอทิลีนต่อชั่วโมงต่อหลอด และผลิตฮอร์โมน IAA อยู่ในช่วง 15.86-108.43 ppm และจากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่า เชื้อสกุล *Azotobacter* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* แต่มีความสามารถในการผลิต IAA ได้ต่ำกว่ายกเว้นไอโซเลทที่ 1 ที่มีความสามารถในการผลิต IAA สูงถึง 108.43 ppm ซึ่งสอดคล้องกับ Khambalkar and Sridar (2015) ที่รายงานไว้ว่า ปัจจัยทางด้านพันธุกรรมของแบคทีเรียที่สกุลต่างกันทำให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนมากน้อยต่างกันด้วย ส่วนการผลิตฮอร์โมน IAA แต่ละไอโซเลทจะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ ซึ่งประกอบด้วยความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิ (Mohite, 2013) การดูดของสารละลาย การจำกัดของคาร์บอน และปัจจัยทางด้านพันธุกรรมของแบคทีเรียในการผลิตฮอร์โมน IAA แบคทีเรียต่างชนิดกันส่งผลให้การผลิตฮอร์โมน IAA แตกต่างกันได้ (Spaepen *et al.*, 2007)

ตารางที่ 1 ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและผลิต IAA ของเชื้อบริสุทธิ์สกุล *Azospirillum* ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน

ไอโซเลท	ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_2/\text{h}/\text{tube}$)	ความสามารถในการผลิต IAA (ppm)
AP1	0.903 \pm 0.141	77.21
AP3	0.482 \pm 0.253	68.70
AP4	0.640 \pm 0.091	62.24
AP5	0.346 \pm 0.206	57.63
AP6	0.069 \pm 0.025	71.83
AP7	0.096 \pm 0.031	87.54
AP8	0.054 \pm 0.023	71.78
AP9	0.042 \pm 0.031	69.31
AP10	0.071 \pm 0.023	74.46
AP11	0.066 \pm 0.011	53.95
AP12	0.065 \pm 0.015	54.14
AP13	0.049 \pm 0.003	48.58
AP14	0.053 \pm 0.010	72.03
AP20	0.080 \pm 0.020	10.42
AP21	0.700 \pm 0.102	15.83
AP26	0.820 \pm 0.058	17.84
AP27	0.740 \pm 0.017	13.54
AP29	0.712 \pm 0.135	19.96
AP31	0.602 \pm 0.996	15.48

ตารางที่ 2 ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและผลิต IAA ของเชื้อบริสุทธิ์สกุล *Azotobacter* ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน

ไอโซเลท	ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_2/\text{h}/\text{tube}$)	ความสามารถในการผลิต IAA (ppm)
AT1	7.952 \pm 1.546	108.43
AT2	5.782 \pm 1.453	19.48
AT3	5.785 \pm 2.715	15.86
AT4	9.136 \pm 0.542	39.94
AT6	4.410 \pm 0.321	14.02
AT7	4.774 \pm 0.614	16.48
AT9	5.861 \pm 0.714	14.50
AT10	6.016 \pm 1.007	13.50
AT11	3.203 \pm 0.595	44.63
AT32	7.533 \pm 0.548	25.12
AT35	6.214 \pm 0.152	26.70
AT37	6.899 \pm 0.167	32.02
AT38	7.778 \pm 0.220	27.97
AT39	6.562 \pm 0.179	20.00

จากการศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ด้วยวิธี ARA และการผลิตฮอร์โมน IAA ด้วยวิธีการใช้ Salkowski reagent ทำให้สามารถคัดเลือกแบคทีเรียทั้งสองสกุลที่มีประสิทธิภาพและเจริญได้ดีในอาหารสังเคราะห์เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยการนำแบคทีเรียที่คัดเลือกทั้งหมด 9 ไอโซเลท ไปทำการศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตจิบเบอเรลลินและความสามารถในการเพิ่มความชื้นของธาตุอาหารพืชเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ (DASF04003 DASF04005 และ DASF04141) ผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียทั้งสองสกุลสามารถผลิตจิบเบอเรลลินอยู่ในช่วง 153.59–595.52 ppm และมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตในอาหาร SRSM ได้ทุกไอโซเลทแต่ไม่แสดงความสามารถในการละลายฟอสเฟตในอาหาร Pikovskaya's medium (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kapagam and Nagalakshmi (2014) ที่รายงานว่าจุลินทรีย์ดินที่มีความสามารถในการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตมีหลายชนิดทั้งที่เป็นแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น *Azospirillum* sp. *Bacillus* sp. *Pseudomonas* sp. *Rhizobium* sp. *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. เป็นต้น ซึ่งประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์นั้นมีความแตกต่างกันโดยได้รับอิทธิพลจากชนิดของดินและการเกษตรกรรมที่แตกต่างกัน (ธงชัย, 2550) วิธีการที่นิยมใช้ตรวจสอบคุณสมบัติในการสร้างซิเดอโรฟออร์ของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น คือ การทดสอบบนอาหาร CAS ซึ่งสารซิเดอโรฟออร์เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิธรรมชาติ (secondary metabolite) มีความจำเพาะต่อเพอริกไอออนผลิตจากแบคทีเรียและรา เป็นตัวช่วยนำเหล็กเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีปริมาณเหล็กจำกัด โดยชนิดของซิเดอโรฟออร์ที่ผลิตได้ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และความสามารถในการผลิตซิเดอโรฟออร์นั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์ (มานิตา และวสุ, 2557) โดยผลการทดลองในตารางที่ 3 พบว่า แบคทีเรียทั้งสองสกุลที่แยกได้ทุกไอโซเลทไม่สามารถผลิตสารซิเดอโรฟออร์ ซึ่งแตกต่างกับรายงานของ Kapoor and Kar (1989) ที่พบว่า เชื้อสกุล *Azotobacter* สามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโต วิตามิน สารป้องกันเชื้อรา และสารซิเดอโรฟออร์ได้ เช่นเดียวกับเชื้อมาตรฐานไอโซเลท DASF04141 (*Azotobacter vinelandii*) ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่มีความสามารถในการผลิตสารซิเดอโรฟออร์ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ความสามารถในการผลิตจิบเบอเรลลิน (GA₃) ความสามารถในการละลายฟอสเฟต และความสามารถในการผลิตสาร siderophore ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน

ไอโซเลท	ความสามารถในการผลิตจิบเบอเรลลิน (ppm)	ความสามารถในการละลายฟอสเฟต		ความสามารถในการผลิตสารซีเดอโรพอร์
		Pikovskaya' medium	SRSM	
<i>Azopirillum brasilense</i> (DASF04003)	180.77	+	+	+
<i>Azopirillum brasilense</i> (DASF04005)	210.01	+	+	+
<i>Azotobacter vinelandii</i> DASF04141	176.07	-	+	+
<i>Azopirillum</i> (AP1)	153.59	-	+	-
<i>Azopirillum</i> (AP3)	338.32	-	+	-
<i>Azopirillum</i> (AP4)	154.15	-	+	-
<i>Azopirillum</i> (AP5)	184.73	-	+	-
<i>Azopirillum</i> (AP7)	183.21	-	+	-
<i>Azotobacter</i> (AT1)	231.33	-	+	-
<i>Azotobacter</i> (AT4)	156.18	-	+	-
<i>Azotobacter</i> (AT9)	207.42	-	+	-
<i>Azotobacter</i> (AT10)	595.52	-	+	-

หมายเหตุ : + = ให้ผลเป็นบวกในการทดสอบ

- = ให้ผลเป็นลบในการทดสอบ

2.2 จำแนกสกุลและชนิดโดยวิธีทางสรีระวิทยา ชีวเคมี และเทคนิคมวลดิทอป (MALDI-TOF)

2.2.1 การศึกษาทางสรีระวิทยา (Morphology)

Azospirillum

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Azospirillum* โดยการย้อมแกรมติดสีแดง (แกรมลบ) มีรูปร่างเป็นแท่งโค้งเล็กน้อย ขนาดประมาณ 1 ไมโครเมตร มีเพอริทริคัสแฟลกเจลลา (peritrichous flagella) เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ และโพลาร์แฟลกเจลลา (polar flagella) เพื่อใช้ในการแหวกว่าย มีการสะสมแกรนูลของ พอลิ-บีต้า-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (poly-β-hydroxybutyrate; PHB) (Fibach-Paldi *et al.*, 2011) *Azospirillum* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินและมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระ จำนวน 15 species โดย species ที่มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์กับพืชมากที่สุดคือ *A. brasilense* ส่วน *A. lipoferum* *A. amazonense* และ *A. irakense* จะมีการยึดเกาะบริเวณผิวรากพืช (Cassan *et al.*, 2015) สามารถปรับตัวให้เจริญเติบโตได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนน้อย โดยจะดำรงชีวิตแบบ microaerophilic

Azotobacter

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Azotobacter* โดยการย้อมแกรมติดสีแดง (แกรมลบ) เซลล์มีรูปร่างรีหรือทรงกลม สอดคล้องกับรายงาน Jensen (1954) และ Holt *et al.* (1994) ซึ่งบรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Azotobacter* ว่าเซลล์มีขนาด 1-2 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่รูปร่างรี แท่ง หรือทรงกลม เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เซลล์อาจอยู่รวมเป็นกลุ่มหรือต่อกันเป็นสาย มีแฟลกเจลลา (flagella) เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ และสร้างเมือก (mucus) และแคปซูล (capsule) บางชนิดสร้างเม็ดสี (pigment) เช่น สีเขียวอมเหลือง สีม่วง หรือสีน้ำตาลเข้ม

2.2.2 การศึกษาทางชีวเคมี

การศึกษาด้านชีวเคมีของเชื้อสกุล *Azospirillum* จำนวน 5 ไอโซเลทที่แยกได้ โดยใช้ชุดทดสอบ API 20NE ซึ่งใช้ในการทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนรูปไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอนที่เชื้อจุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโต จากผลการทดลองพบว่า เชื้อสกุล *Azospirillum* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยการเปลี่ยนรูป (รีดิวซ์) NO_3^- เป็น N_2O และเปลี่ยนรูป NO_3^- เป็น N_2 สอดคล้องกับรายงานของ Alef and Nannipieri (1995) ที่รายงานว่า ความสามารถในการรีดิวซ์ NO_3^- เป็น NO_2^- พบใน *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens* และ *A. iraken* แต่ความสามารถในการรีดิวซ์ NO_2^- ไปเป็น N_2O นั้นพบเฉพาะใน *A. lipoferum*, *A. brasilense* และ *A. halopraeferens* เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อสกุล *Azospirillum* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถใช้ Esculin ferric citrate, Gelatin (bovine origin), 4-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside และ malic acid ในการเจริญได้ ดังแสดงในตารางที่ 4 นอกจากนี้ยังพบว่า ไอโซเลท AP1 และ AP3 สามารถเจริญได้ในแหล่งคาร์บอนเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อสกุล *Azospirillum* ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ทั้ง 3 ไอโซเลท (DASF 04003, DASF 04008 และ DASF 04141) พบว่า ทุกไอโซเลทที่แยกได้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน การใช้ Esculin ferric citrate และ 4-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside ในการเจริญ และยังพบว่า DASF 04003 และ AP7 สามารถใช้ Esculin ferric citrate, Gelatin (bovine origin), 4-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside ในการเจริญได้ (ตารางที่ 4) ส่วนการศึกษาด้านชีวเคมีของเชื้อสกุล *Azotobacter* จำนวน 4 ไอโซเลท พบว่า มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยการเปลี่ยนรูป NO_3^- เป็น N_2O และเปลี่ยนรูป NO_3^- เป็น N_2 เช่นเดียวกับ DASF04141 ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ จำนวน 3 ไอโซเลท คือ AT1, AT9 และ AT10 (ตารางที่ 5) ซึ่งไม่ตรงกับผลการทดสอบประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเบื้องต้น (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า ทุกไอโซเลทสามารถใช้ D-glucose, L-arginine, Urea และ Esculin ferric citrate ในการเจริญได้เช่นเดียวกับ DASF04141 โดยเฉพาะไอโซเลท AT4 ที่สามารถใช้ 4-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside ได้เช่นเดียวกับเชื้อมาตรฐานดังแสดงในตารางที่ 5 จากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งสองสกุลมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและสามารถใช้ Esculin ferric citrate ในการเจริญได้เหมือนกัน นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียสกุล *Azospirillum* สามารถใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญได้มากกว่าเชื้อสกุล *Azotobacter* แต่ไม่สามารถใช้ D-glucose, L-arginine และ Urea ในการเจริญได้ (ตารางที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 4 ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อสกุล *Azospirillum* โดยใช้ชุดทดสอบ API 20NE

ไอโซเลท	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
DASF04008	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
DASF04003	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DASF04141	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AP1	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AP3	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
AP4	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
AP5	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
AP7	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-

NO₃ = reduction of NO₃ to N₂O and reduction of NO₃ to N₂, TRP = L-tryptophan, GLU = D-glucose, ADH = L-arginine, URE = Urea, ESC = Esculin ferric citrate, GEL = Gelatin (bovine origin), PNG = 4-nitrophenyl-βD-galactopyranoside, GLU = D-glucose, ARA = L-arabinose, MNE = D-mannose, MAN = D-mannitol, NAG = N-acetyl-glucosamine, MAL = D-maltose, GNT = potassium gluconate, CAP = capric acid, ADI = adipic acid, MLT = malic acid, CIT = trisodium citrate and PAC = phenyl acetic acid

ตารางที่ 5 ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อสกุล *Azotobacter* โดยใช้ชุดทดสอบ API 20NE

ไอโซเลท	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
DASF04141	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT1	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT4	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT9	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT10	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NO₃ = reduction of NO₃ to N₂O and reduction of NO₃ to N₂, TRP = L-tryptophan, GLU = D-glucose, ADH = L-arginine, URE = Urea, ESC = Esculin ferric citrate, GEL = Gelatin (bovine origin), PNG = 4-nitrophenyl-βD-galactopyranoside, GLU = D-glucose, ARA = L-arabinose, MNE = D-mannose, MAN = D-mannitol, NAG = N-acetyl-glucosamine, MAL = D-maltose, GNT = potassium gluconate, CAP = capric acid, ADI = adipic acid, MLT = malic acid, CIT = trisodium citrate and PAC = phenyl acetic acid




2.2.3 การจำแนกด้วยเทคนิคมวลดิทอพ (MALDI-TOF)

ผลการทดลองพบว่าค่า score value ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 12 ไอโซเลท อยู่ระหว่าง 1.70. – 1.99 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ให้ผลวิเคราะห์ที่หน้าเชื่อถือการจำแนกในระดับสกุล โดยเชื้อที่ใช้ผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ รหัส DASF 04003 และ DASF 04008 ผลการจำแนกเป็น *Azospirillum brasilense* รหัส DASF 04141 ผลการจำแนกเป็น *Azotobacter vinelandii* ส่วนไอโซเลท AP1 AP3 AP4 AP5 และ AP7 คือ *Azospirillum* spp. และ AT1 AT4 AT9 และ AT10 คือ *Azotobacter* spp. (ตารางที่ 6) การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ด้วยเครื่องแมสสเปคโตรเมทรี

โดยใช้เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MALDI) มีหลักการการทำงานคือ เป็นเครื่องมือวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสาร ซึ่งเป็น การตรึงโปรตีน (ribosomal protein) หรือเปปไทด์กับผลึกของ matrix (crystalline matrix) และยิงแสงเลเซอร์ ลงบนตัวอย่างโปรตีนให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน แล้วเคลื่อนที่ไปตามท่อสุญญากาศที่มีสนามไฟฟ้าเพื่อแยก โมเลกุลของสาร โดยสารที่มีมวลโมเลกุลน้อยจะเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าสารที่มีมวลโมเลกุลมาก และตกกระทบกับตัว ตรวจจับ (detector) ระยะเวลาที่ไอออนเคลื่อนที่ไปตกกระทบกับตัวตรวจจับ เรียกว่า time-of-flight (TOF) มี Software ที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของเครื่อง และใช้ในการประมวลผลทางด้านการวิเคราะห์ บ่งบอก และ จัดจำแนกเชื้อ (Identification and Classification for microorganism) มี Reference Library หรือ In-house Library ของ peptide mass fingerprint (PMF) ของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จาก ตัวอย่าง (Hosseini and Martinez-Chapa, 2017) ในทางเดียวกันมีการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ทางด้านการเกษตร โดยทดสอบศักยภาพของวิธีเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียในวงศ์ Rhizobiaceae ได้แก่ *Rhizobium*, *Ensifer*, *Shinella*, *Mesorhizobium*, และ *Azorhizobium* เปรียบเทียบกับวิธี phylogenetic analyses พบว่าการใช้ เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรีให้ผลการจำแนกเหมือนกัน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้สามารถจำแนก *Bradyrhizobium japonicum* strain G49 *Sinorhizobium fredii* strain NGR234 และ USDA257 ที่เจริญในปมรากของถั่ว (Ferreira et al., 2011; Ziegler et al., 2012; Jia et al., 2015)

ตารางที่ 6 การจำแนกด้วยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (MALDI-TOF)

รหัสเชื้อจุลินทรีย์	ผลการจำแนก	ค่า Score value*
DASF 04003	<i>Azospirillum brasilense</i>	2.35
DASF 04005	<i>Azospirillum brasilense</i>	2.20
DASF 04141	<i>Azotobacter vinelandii</i>	2.28
AP1	<i>Azospirillum</i>	1.75
AP3	<i>Azospirillum</i>	1.78
AP4	<i>Azospirillum</i>	1.72
AP5	<i>Azospirillum</i>	1.86
AP7	<i>Azospirillum</i>	1.19
AT1	<i>Azotobacter</i>	1.85
AT4	<i>Azotobacter</i>	1.81
AT9	<i>Azotobacter</i>	1.90
AT10	<i>Azotobacter</i>	1.80

- *  score ระหว่าง 0.00 - 1.69 แสดงผลเป็นสีแดง แปลผลว่า ไม่สามารถจำแนกได้
-  score ระหว่าง 1.70 - 1.99 แสดงผลเป็นสีเหลือง แปลผลว่า สามารถรายงานระดับสกุล (genus) ของจุลินทรีย์ที่ทำการวิเคราะห์
-  score ระหว่าง 2.00 - 3.00 แสดงผลเป็นสีเขียว แปลผลว่า สามารถรายงานระดับสกุล (genus) และชนิด (species) ของจุลินทรีย์ที่ทำการวิเคราะห์

2.3. การศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสกุลที่แยกได้โดยใช้เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ 999 ข้าวไร้พันธุ์พื้นเมือง และกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองในห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐานที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟาร์-วัน (ข้าวโพด และกระเทียม) และปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟาร์-ทู (ข้าว) เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตสูงสุดไปศึกษาต่อในระดับแปลงทดลอง โดยเบื้องต้นทำการทดลองในหลอดทดลองและเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตเมื่อครบ 7 วัน ผลการทดสอบการใส่เชื้อแบคทีเรียกับข้าวโพดพันธุ์ 999 พบว่า การใช้แบคทีเรียไอโซเลท AT4 ข้าวโพดมีความยาวรากสูงสุดที่สุด คือ 7.89 เซนติเมตร รองลงมาคือ แบคทีเรียไอโซเลท AT4 และ AP1 (7.68 และ 7.11 เซนติเมตร) ในส่วนความสูงต้นข้าวโพดการใช้แบคทีเรียไอโซเลท AP1 ข้าวโพดมีความสูงต้นสูงสุด คือ 10.98 เซนติเมตร รองลงมา คือ แบคทีเรียไอโซเลท AT1 และ AT9 (10.98 และ 9.25 เซนติเมตร) แต่มีความยาวรากและความสูงต้นน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม (8.09 และ 10.60 เซนติเมตร) และเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานไอโซเลท DASF04003 (8.05 และ 12.79 เซนติเมตร) จากผลการทดลองข้างต้นจึงทำการเลือกแบคทีเรียทั้งสองสกุล จำนวน 4 ไอโซเลท คือ AP1 AP4 AT1 และ AT9 ไปทำการทดสอบในขวดแก้วเป็นระยะเวลา 3 อาทิตย์ ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทุกไอโซเลททำให้ข้าวโพดมีความยาวรากและความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยแบคทีเรียไอโซเลท AP1 มีความยาวรากสูงสุดใน 4 ไอโซเลท คือ 6.17 เซนติเมตร แต่น้อยกว่าแบคทีเรียมาตรฐานไอโซเลท DASF04003 และ DASF04141 (6.67 และ 6.46 เซนติเมตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7) ในส่วนของความสูงต้น พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท AP1 ข้าวโพดมีความสูงต้นสูงสุด คือ 40.83 เซนติเมตร รองลงมา คือ แบคทีเรียมาตรฐานไอโซเลท DASF04003 ที่ข้าวโพดมีความสูงต้น 36.17 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแบคทีเรียไอโซเลท AT1 และ AP4 ดังแสดงในตารางที่ 7 เช่นเดียวกับรายงานของ Bandahu and Adhikari (2013) ที่รายงานว่า นอกจาก *Azotobacter* จะสามารถตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และจิบเบอเรลลินได้แล้วยังช่วยเพิ่มการงอกของเมล็ดและส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดด้วย และ Spaepen *et al.* (2008) ที่พบว่า ฮอริโมนพืชที่ผลิตโดยแบคทีเรียส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราก และการใส่เชื้อ *Azospirillum* ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวโพด ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจาก IAA ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย

ตารางที่ 7 ผลของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดในขวดแก้ว

ไอโซเลท	ข้าวโพด	
	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)
Control	5.83 ab	25.67 d
DASF04003	6.67 a	36.17 b
DASF04141	6.46 a	27.83 d
AP1	6.17 a	40.83 a
AP4	4.67 b	33.83 bc
AT1	4.83 b	34.17 bc
AT9	5.67 ab	31.67 c
C.V. (%)	13.31**	5.93**

การทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองในหลอดทดลอง พบว่า แבקที่เรียโอโซเลท AP1 กระเทียมมีความยาวรากสูงสุด คือ 1.53 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าแบกที่เรียมาตรฐาน โอโซเลท DASF04003 ที่กระเทียมมีความยาวราก 1.38 เซนติเมตร รองลงมาคือ แבקที่เรียโอโซเลท AT9 และ AT1 (1.32 และ 1.05 เซนติเมตร) นอกจากนี้ยังพบว่า แבקที่เรียโอโซเลท AP1 กระเทียมมีความสูงต้นสูงที่สุด คือ 2.98 เซนติเมตร สูงกว่าแบกที่เรียมาตรฐานโอโซเลท DASF04003 ที่กระเทียมมีความยาวราก 2.72 เซนติเมตร รองลงมา คือ แבקที่เรียโอโซเลท AT9 และ AT1 จากผลการทดลองข้างต้นได้ทำการเลือกแบกที่เรียทั้งสองสกุล จำนวน 4 โอโซเลท คือ AP1 AP4 AT1 และ AT9 ไปทำการทดสอบในขวดแก้วเป็นระยะเวลา 3 อาทิตย์ ผลการทดลองพบว่า แבקที่เรียทุกโอโซเลททำให้กระเทียมมีความยาวรากและความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 8) โดยแบกที่เรียโอโซเลท AT9 กระเทียมมีความยาวรากสูงสุดใน 4 โอโซเลท คือ 2.83 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแบกที่เรียมาตรฐานโอโซเลท DASF04003 แבקที่เรียโอโซเลท AP1 และกรรมวิธีควบคุม (2.58 2.08 และ 2.07 เซนติเมตร ตามลำดับ) ส่วนผลของแบกที่เรียทั้งสองสกุลต่อความสูงของต้นกระเทียม พบว่า แבקที่เรียโอโซเลท AT9 กระเทียมมีความสูงต้นสูงที่สุด คือ 5.33 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแบกที่เรียมาตรฐานโอโซเลท DASF04003 และกรรมวิธีควบคุมที่กระเทียมมีความสูงต้น 3.83 และ 3.17 เซนติเมตร (ตารางที่ 8) จากผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ Prisa (2019) ที่รายงานว่า การใช้ *Azospirillum brasilense* ในการผลิตกระเทียมทำให้คุณภาพและการเจริญเติบโตของกระเทียมเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลจากฮอร์โมน IAA และ GA ที่ผลิตโดยแบกที่เรีย

ตารางที่ 8 ผลของแบกที่เรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อการการเจริญเติบโตของกระเทียมในขวดแก้ว

โอโซเลท	กระเทียม	
	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)
Control	2.07 ab	3.17 b
DASF04003	2.58 a	3.83 b
AP1	2.08 ab	2.92 b
AP4	1.27 b	1.22 c
AT1	1.12 b	1.18 c
AT9	2.83 a	5.33 a
C.V. (%)	36.03**	23.87**

การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองในหลอดทดลอง พบว่า แבקที่เรียโอโซเลท AP7 ข้าวมีความยาวรากสูงสุด คือ 5.15 เซนติเมตร รองลงมาคือ แבקที่เรียโอโซเลท AT1 และ AP1 (5.11 และ 5.04 เซนติเมตร) ซึ่งสูงกว่าแบกที่เรียมาตรฐานโอโซเลท DASF04005 ที่ข้าวมีความยาวราก 3.83 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่า แבקที่เรียโอโซเลท AT1 ข้าวมีความสูงต้นสูงที่สุด คือ 5.86 เซนติเมตร รองลงมา คือ แבקที่เรียโอโซเลท AP1 และ AP4 (4.76 และ 4.73 เซนติเมตร) ซึ่งสูงกว่าแบกที่เรียมาตรฐานโอโซเลท DASF04005 ที่ข้าวมีความยาวราก 3.69 เซนติเมตร จากผลการทดลองข้างต้นได้ทำการเลือกแบกที่เรียทั้งสองสกุล จำนวน 4 โอโซเลท คือ AP1 AP4 AT1 และ AT9 ไปทำการทดสอบในขวดแก้วเป็นระยะเวลา 3 อาทิตย์ ผลการทดลองพบว่า แבקที่เรียทุกโอโซเลททำให้ข้าวมีความยาวรากและความสูงต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ทางสถิติ (ตารางที่ 9) โดยแบคทีเรียมาตรฐานไอโซเลท DASF04005 ข้าวมีความยาวรากสูงสุด คือ 12.25 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับแบคทีเรียไอโซเลท AP1 AT1 AT9 และกรรมวิธีควบคุม ซึ่งข้าวมีความยาวราก 11.58 11.75 11.25 และ 11.18 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ส่วนผลของแบคทีเรียทั้งสองสกุลต่อความสูงของข้าว พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท AP1 ข้าวมีความสูงต้นสูงสุด คือ 10.58 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแบคทีเรียมาตรฐานไอโซเลท DASF04005 ที่ข้าวมีความสูงต้น 8.67 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 9 นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียไอโซเลท AT1 และ AT9 ข้าวมีความสูงต้น 8.58 เซนติเมตร เท่ากันและไม่แตกต่างทางสถิติกับแบคทีเรียไอโซเลท AP1 (ตารางที่ 9) จากผลการทดลองข้างต้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ พิมพ์ธิดาและคณะ (2552) ที่พบว่าการใช้แบคทีเรียไอโซเลท NK5-5 และ NK12-3 มีผลทำให้การตอบสนองความยาวต้นและความยาวรากอ่อนข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำ และการวิจัยของ เนตรนภาและคณะ (2558) พบว่าการตอบสนองของข้าวโดยการใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวแต่ละพันธุ์ การใช้แบคทีเรียร่วมกับข้าวที่มีผลต่อการตอบสนองของความยาวต้นและความยาวรากอ่อนของข้าวนั้น ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและแบคทีเรียแต่ละชนิดด้วย ลักษณะที่ตอบสนอง ทิศทางการตอบสนองทำให้เห็นถึงความจำเพาะเจาะจงระหว่างแบคทีเรียและพันธุ์ข้าวที่ทำการศึกษา

ตารางที่ 9 ผลของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตของข้าวในขวดแก้ว

ไอโซเลท	ข้าว	
	ความยาวราก (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)
Control	11.18 a	6.83 c
DASF04005	12.25 a	8.67 b
AP1	11.58 a	10.58 a
AP4	8.83 b	4.67 d
AT1	11.25 a	8.58 bc
AT9	11.75 a	8.58 bc
C.V. (%)	6.27**	13.46**

จากการศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในห้องปฏิบัติการจากพืชทดสอบ 3 ชนิด คือ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ 999 ข้าวไร้พันธุ์เมือง และกระเทียมพันธุ์พื้นเมือง พบว่าแบคทีเรียทั้งสองสกุลทุกไอโซเลทมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบแตกต่างกัน โดยแบคทีเรียไอโซเลท AP1 มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิดสูงสุด รองลงมา คือ แบคทีเรียไอโซเลท AT1 เนื่องจากแบคทีเรียทั้งสองสกุลสามารถตรึงไนโตรเจนและผลิตฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซินได้ สอดคล้องกับรายงานของ Shihui *et al.* (2006) ที่รายงานว่า ฮอร์โมน IAA เป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินและยังสามารถช่วยกระตุ้นการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นและรากพืชได้ (Ying, 2012)

3 การศึกษาศักยภาพของราดินที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำป่าาย

นำตัวอย่างดินมาแยกแยะโดยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ Soil dilution plate method, Soil plate method, Alcohol treatment method และ Heat treatment method สามารถแยกราดินได้ทั้งหมด 350 สายพันธุ์ นำมาจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถ จำแนกราดินได้ทั้งหมด 18 สกุล 20 ชนิด แบ่งเป็นราในกลุ่ม Zygomycota 4 สกุล Ascomycota 13 สกุล Basidiomycota 1 สกุล และราที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile mycelium) จำนวน 30 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2) ราที่พบมากในทุกพื้นที่ ได้แก่ *Aspergillus niger* (32 สายพันธุ์) รองลงมาได้แก่รา *Talaromyces* spp. (30 สายพันธุ์) และ *Neosartorya* spp. (23) ตามลำดับ ราที่พบเฉพาะในพื้นที่ทำการเกษตรได้แก่ รา *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfsii* และ *Trichoderma harzianum* ซึ่งราทั้ง 3 ชนิดที่พบในพื้นที่ทำการเกษตรนี้มีความสำคัญกับการทำการเกษตรมากโดยรา *F. solani* และ *S. rolfsii* พบเป็นสาเหตุโรคราพืชที่สำคัญได้แก่โรคเหี่ยวและโรครากเน่าโคนเน่า เป็นต้น ส่วนรา *T. harzianum* เป็นราที่สามารถยับยั้งราสาเหตุโรคราพืชในดินได้หลายชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับแต่ละพื้นที่พบว่าดินในพื้นที่ป่ามีจำนวนชนิดของราดินมากกว่าพื้นที่ทำการเกษตร อาจกล่าวได้ว่าพื้นที่ทำเกษตรในปัจจุบันที่มีการใช้สารเคมีจำนวนมากในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่าง ๆ อาจส่งผลให้ราดินบางชนิดที่ไม่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดได้และมีจำนวนลดน้อยลงหรืออาจหายไปจากพื้นที่นั้น ราดินกลุ่ม Zygomycota เป็นราที่มีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมอย่างมาก เช่น รา *Rhizopus* ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ผลิต tempe จากถั่วเหลืองได้ (นิยม, 2542) นอกจากนี้ยังมีรายงานการสร้างสารที่เป็นประโยชน์ทางอุตสาหกรรมจากราในกลุ่ม Zygomycota เช่น glucose, glutamic acid, serine, glycine และ glutamine (เลขา และคณะ, 2548) รา *Mucor* sp. มีบทบาทในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติ (Domsch et al., 1993) และพบว่าเป็น hyperparasite ของรา *Fusarium solani*, *Sclerotium borealis* และ *Claviceps purpurea* และพบเป็นปรสิตเจริญบนตัวแมลงชนิดต่าง ๆ (คณิงนิจ, 2545)

รากกลุ่ม Ascomycota พบจำนวน 10 สกุล ส่วนใหญ่อยู่ในระยะสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (anamorph) ราที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Aspergillus niger* ราชนิดนี้นำไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมการผลิตกรดอินทรีย์หลายชนิด (นภา, 2540) รองลงมาได้แก่ *Talaromyces* spp. ราคานี้มีรายงานสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ารา *T. flavus* ยับยั้งการเจริญของรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพืชหลายชนิด *F. semitectum* สาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริกและ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง กัญชวย มะละกอได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Dethoup et al., 2007) รา *Neosartorya* spp. พบทั้งหมด 23 สายพันธุ์พบมารองจากรา *Talaromyces* spp. จำแนกได้ 2 ชนิด ได้แก่ รา *Neosartorya fischeri* และ *N. spinosa* ราในสกุลนี้มีรายงานการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดเช่น roquefortine, meleagrins, fumagillin, auranthine, neosartorin, palitanin, pyripyropenes, tryptoquivaline, tryptoquivalone (Samson et al., 2007) ในประเทศไทย Eamvijan et al. (2009) แยกรา *Neosartorya* จากดินแหล่งต่าง ๆ พบรา *Neosartorya* 9 ชนิด ได้แก่ *N. fischeri*, *N. graba*, *N. spinosa*, *N. hiratsukae*, *N. takakii*, *N. tatenoi* และ *Neosartorya* spp. เมื่อนำมาศึกษาความเป็นปฏิปักษ์กับราสาเหตุโรคพืชพบว่า *Neosartorya* spp. ทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Bipolaris maydis*, *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* และ *Pestalotiopsis* sp. ราดินกลุ่ม Ascomycota เป็นราที่มีความสำคัญมากทางด้านการเกษตร เช่น รา *Trichoderma harzianum* ใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เช่น โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากรา *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotium* และ *Rhizoctonia* (จิระเดช, 2552) รา *T. virens* สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคราพืช หลายชนิด เช่น *F. oxysporum*, *Pythium aphanidermatum* เนื่องจากการสร้างเอนไซม์ไคตินเนส และกลูคาเนส (คณิงนิจ, 2545; จิระเดช, 2552) ราชนิดอื่นที่

น่าสนใจ ได้แก่ ราในสกุล *Aspergillus* spp. เนื่องจากมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม เช่น การผลิตกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เช่นรา *Aspergillus niger* ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส เพคตินเนส ไลเปส และโปรตีเอส ได้ (อาภรณ์ และโต รวิทย์, 2537; Smith, 1985; เลอลักษณะ และคณะ, 2535; มานะ, 2531) การผลิต เอนไซม์ไฮลาเนส และไซลอสซิเดส ที่ใช้ในการแยกสกัดไซแลนจากเซลลูโลส ได้มาจาก รา *Aspergillus fumigatus* (วิเชียร และคณะ, 2537) ราที่สำคัญอีกชนิดได้แก่รา *Myrothecium verrucaria* ซึ่งพบในดินป่าแยกโดยวิธี soil plate method ราชนิดนี้มีรายงานการสร้าง สาร trichothecene ที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรีย (Isaka et al., 1999)

ตารางที่ 1 จำนวนสกุลและชนิดของราดินที่แยกด้วยวิธีการต่าง ๆ จากตัวอย่างดินพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

ลำดับ	ชนิด/สกุล	จำนวน (สายพันธุ์)	วิธีการแยก	แหล่งที่มา
1	<i>Absidia corymbifera</i>	4	sd, sp	Agricultural soil, Forest soil
2	<i>Gongronella butleri</i>	5	sd, sp	Agricultural soil, Forest soil
3	<i>Mucor</i> spp.	10	sd, sp	Agricultural soil, Forest soil
4	<i>Rhizopus stolonifer</i>	10	sd,sp,alc	Agricultural soil, Forest soil
5	<i>Aspergillus flavus</i>	17	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
6	<i>Aspergillus fumigatus</i>	15	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
7	<i>Aspergillus niger</i>	32	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
8	<i>Aspergillus terreus</i>	15	sd, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
9	<i>Eupenicillium</i> spp	5	alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
10	<i>Eurotium</i> spp.	6	alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
11	<i>Fusarium</i> spp	19	sd, sp	Agricultural soil, Forest soil
12	<i>Fusarium solani</i>	5	sd, sp	Agricultural soil
13	<i>Hamigera avellanea</i>	5	alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
14	<i>Myrothecium verucaria</i>	8	sp	Forest soil
15	<i>Neosartorya</i> spp.	23	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
16	<i>Neosartorya ficheri</i>	13	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
17	<i>Neosartorya spinosa</i>	10	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
18	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	16	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
19	<i>Penicillium</i> spp.	10	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
20	<i>Sclerotium rolfsii</i>	4	sp	Agricultural soil
21	<i>Talaromyces</i> spp.	30	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
22	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	5	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
23	<i>Talaromyces macrosporus</i>	4	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
24	<i>Talaromyces flavus</i>	11	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil
25	<i>Trichoderma hamatum</i>	8	sp, sd	Agricultural soil, Forest soil
26	<i>Trichoderma harzianum</i>	15	sp, sd	Agricultural soil
27	<i>Trichoderma virens</i>	6	sp, sd	Agricultural soil, Forest soil
28	<i>Xylaria</i> spp.	16	sd, sp	Agricultural soil, Forest soil
29	<i>Verticillium</i> sp.	8	sd, sp	Agricultural soil, Forest soil
30	Sterile mycelium	15	sd, sp, alc, ht	Agricultural soil, Forest soil

*soil dilution plate = sd, soil plate = sp, alcohol treatment=alc และ heat treatment = ht

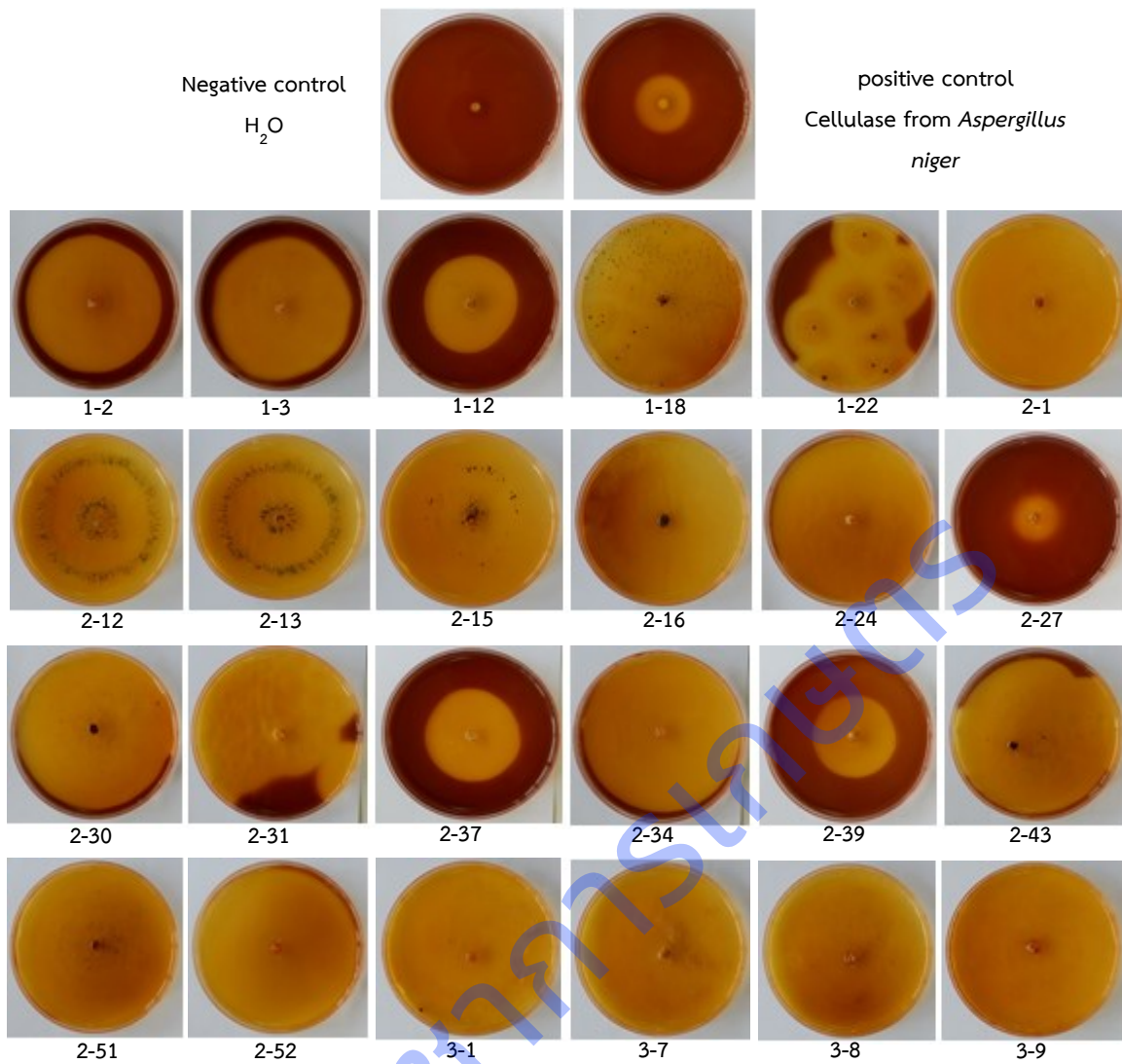
3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของราดิน

3.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยเซลลูโลส

ศักยภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส พบราดินจำนวน 24 สายพันธุ์ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีเมื่อทดสอบในงานเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Carboxyl methyl cellulose (CMC) agar โดยเปรียบเทียบกับเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากรา *Aspergillus niger* (Sigma) 10 mg/ml (2.41 Unit/ml) ซึ่งมีค่าการย่อยเซลลูโลสอยู่ที่ 9 มีราดินจำนวน 5 สายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีกว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากรา *Aspergillus niger* ได้แก่ สายพันธุ์ 2-24, 2-15, 2-16, 2-43 และ 1-18 โดยมีค่าการย่อยเซลลูโลสอยู่ที่ 21.5, 20, 20, 14.3 และ 9.3 ตามลำดับ ผลการทดสอบดังแสดงใน ตารางที่ 2 และภาพที่ 1

ตาราง 2 ประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลสของราดินที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน

สายพันธุ์ราดิน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใส (ซม.)	ประสิทธิภาพ การย่อยเซลลูโลส
Negative control	0	0	0
Positive control	0.3	1.2	9
1-2	0.6	2.5	8.3
1-3	7.4	1.4	5.3
1-12	0.6	4.6	7.7
1-18	0.6	5.6	9.3
1-22	1	5	5
2-1	1	6	6
2-12	1.2	9.2	7.7
2-13	1.2	9.2	7.7
2-15	0.4	8.4	20
2-16	0.4	8.4	20
2-24	0.4	8.6	21.5
2-27	0.2	1.2	6
2-30	1	9	9
2-31	1	9	9
2-33	0.6	4.6	7.7
2-34	1	9	9
2-39	0.6	4.6	7.7
2-43	0.6	8.6	14.3
2-51	1	9	9
2-52	1	9	9
3-1	1	9	9
3-7	1	6	6
3-8	1	5	5
3-13	1	6	6



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลสของราดิน 24 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย บนอาหาร Cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง

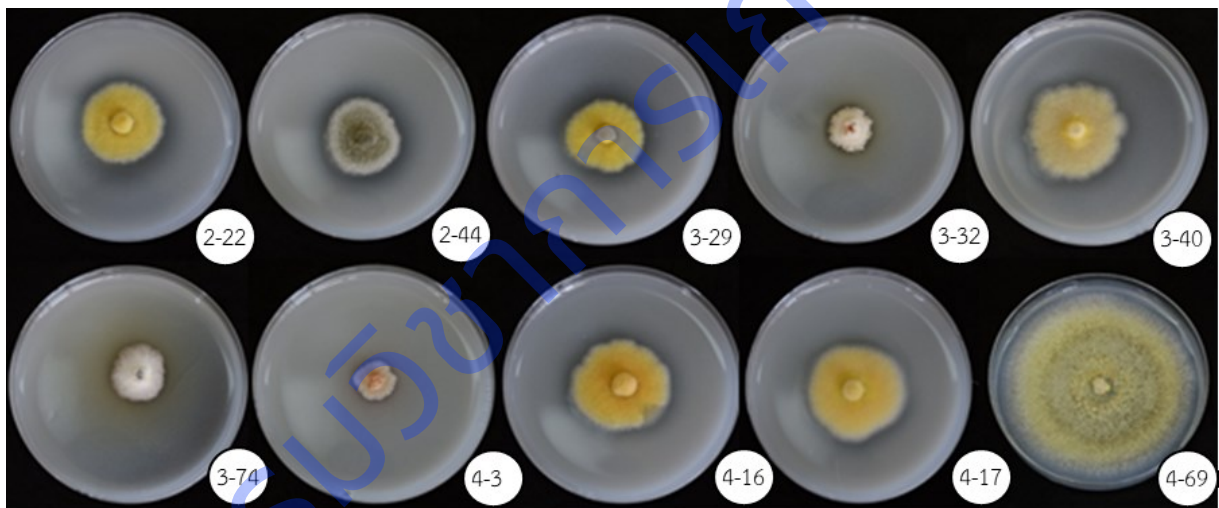
3.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของราดินในการละลายฟอสเฟต

ประสิทธิภาพของราดินในการละลายฟอสเฟต พบราดินจำนวน 10 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ 2-44, 3-29, 3-32 และ 4-3 สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุดเท่ากับ 1.10 (ตารางที่ 3) ซึ่งพบเป็นราในสกุล *Aspergillus* และ รา *Talaromyces* ซึ่งเป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศของรา *Penicillium* โดยราทั้งสองชนิดนี้มีรายงานว่าสามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ (Nopparat *et. al.*, 2013) นอกจากนี้ยังพบราที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile mycelium) สามารถละลายฟอสเฟตได้เช่นเดียวกัน ราดินที่สามารถละลายฟอสเฟตได้อยู่ในระดับ 1-2 (ระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO₄ ของราดินตามความกว้างของวงใส) โดยมีค่าน้อยกว่า 6 มิลลิเมตร โดยการประเมินระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO₄ ของจุลินทรีย์ตามความกว้างของวงใส

ระดับ 1	0	มิลลิเมตร	ระดับ 2	0-3	มิลลิเมตร
ระดับ 3	3-6	มิลลิเมตร	ระดับ 4	6-9	มิลลิเมตร
ระดับ 5	มากกว่า 9	มิลลิเมตร			

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต (CaHPO_4) ของราดินที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน

สายพันธุ์	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	รัศมีโคโลนี (ซม.)	การเกิดวงใส (ซม.)	ค่าการละลายฟอสเฟต
2-22	4.22	2.11	0.17	1.07
2-44	3.65	1.83	0.10	1.10
3-29	3.68	1.84	0.10	1.10
3-32	2.10	1.05	0.10	1.10
3-40	4.03	2.02	0.10	1.03
3-74	2.43	1.22	0.10	1.10
4-3	1.82	0.91	0.10	1.10
4-16	4.05	2.03	0.10	1.03
4-17	4.67	2.33	0.17	1.07
4-69	8.27	4.13	0.17	1.00



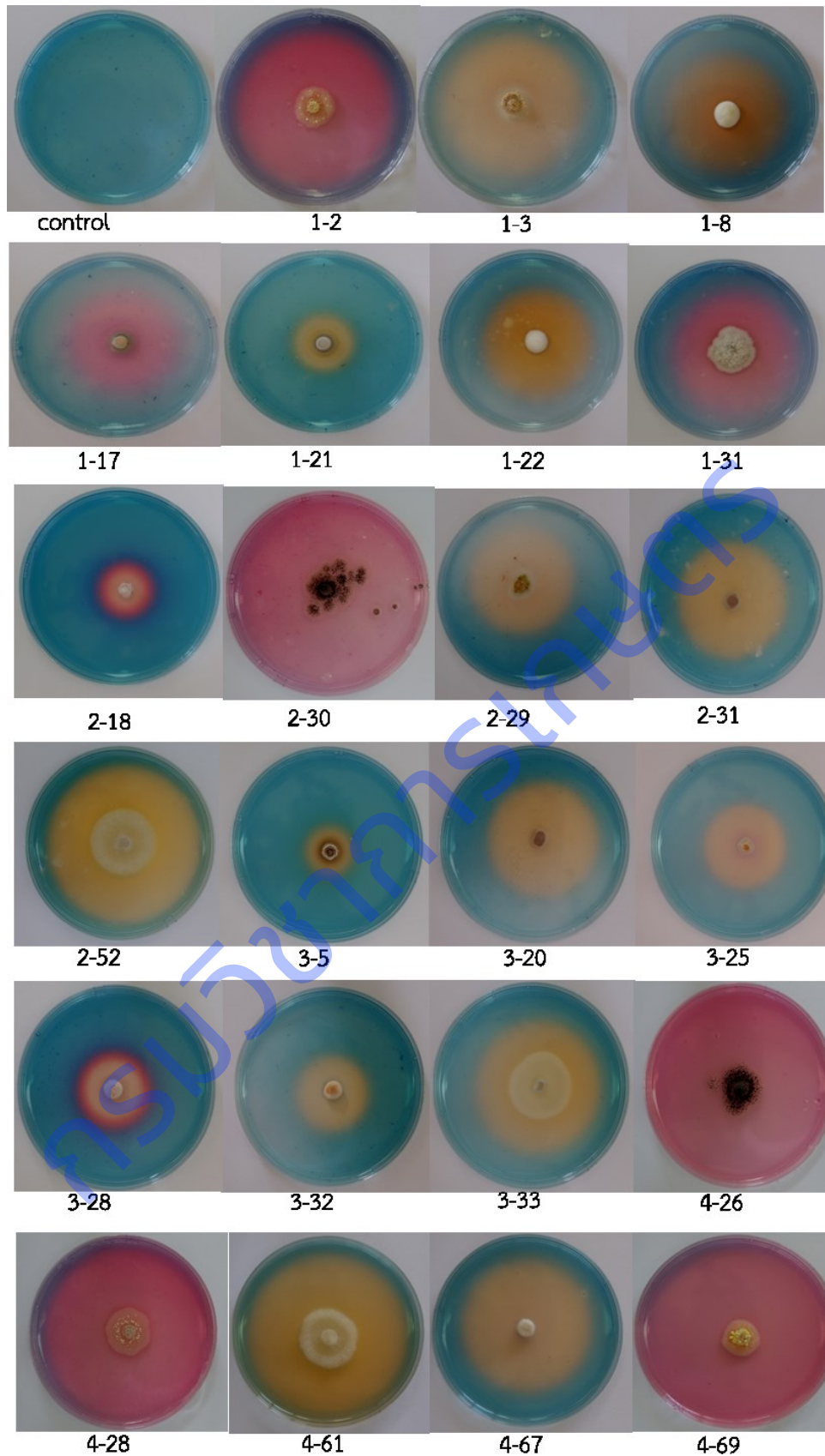
ภาพที่ 2 ลักษณะของราดินที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตบนอาหาร Pikovskaya's agar

3.1.3 การทดสอบศักยภาพในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต

การทดสอบประสิทธิภาพของราดินในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต พบราดินจำนวน 53 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง siderophore สายพันธุ์ที่สร้าง siderophore ได้มากที่สุดได้แก่ 4-69 มีค่าการสร้าง siderophore เท่ากับ 3.5 รองลงมาได้แก่ สายพันธุ์ 4-20 และ 4-26 มีค่าการสร้าง siderophore เท่ากับ 3.0 ดังแสดงในตารางที่ 4 ภาพที่ 3 และพบราดินจำนวน 91 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง Indole acetic acid (IAA) โดยมีจำนวน 18 สายพันธุ์ที่สามารถสร้าง IAA ในระดับสูง (+++) และ 21 สายพันธุ์สามารถสร้าง IAA ในระดับปานกลาง (++) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการก่อสร้าง Siderophore ของราดินที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

สายพันธุ์	เส้นผ่านศูนย์กลาง โคโลนี	รัศมีโคโลนี	ค่าการเกิดวงใส (ซม.)	สายพันธุ์	เส้นผ่านศูนย์กลาง โคโลนี	รัศมีโคโลนี	ค่าการเกิดวงใส (ซม.)
1-1	1.1	0.55	1.0	2-81	0.73	0.37	0.77
1-2	1.73	0.87	2.67	2-82	2.46	1.23	3.0
1-3	1.26	0.63	2.17	3-1	1.1	0.55	1.57
1-5	0.9	0.45	1.0	3-6	0.87	0.43	0.73
1-7	0.9	0.45	1.13	3-7	1.43	0.72	0.70
1-8	1.17	0.58	2.0	3-19	0.8	0.4	0.60
1-9	1.1	0.55	0.4	3-20	0.6	0.3	1.63
1-10	0.9	0.45	0.5	3-25	0.7	0.35	1.37
1-13	1.2	0.6	0.5	3-32	0.7	0.32	1.00
1-17	1.4	0.7	1.57	3-33	2.67	1.33	1.27
1-20	1.0	0.5	0.5	3-48	1.63	0.82	0.5
1-21	1.1	0.55	0.7	3-72	1.0	0.5	0.53
1-22	1.1	0.55	1.93	3-74	1.27	0.63	1.03
1-30	1.57	0.78	1.8	3-53	0.8	0.4	0.97
1-31	2.0	1	1.8	3-28	1.93	0.97	0.5
2-1	0.9	0.45	0.5	4-3	0.6	0.3	1.77
2-2	1.0	0.5	0.6	4-4	1.13	0.57	1.07
2-18	0.7	0.35	0.5	4-5	1.13	0.57	0.6
2-24	0.73	0.4	0.4	4-9	1.1	0.55	1.0
2-29	0.8	0.4	1.1	4-20	0.80	0.4	1.47
2-30	2.0	1	3.0	4-26	2.43	1.22	3.0
2-31	0.6	0.3	2.47	4-28	2.07	1.03	3.0
2-33	0.6	0.3	0.7	4-49	1.27	0.63	2.0
2-39	1.43	0.85	0.97	4-61	2.63	1.32	2.5
2-42	1.23	0.62	0.77	4-67	0.9	0.45	2.4
2-43	0.8	0.4	0.6	4-69	1.63	0.82	3.5
2-52	2.7	1.35	2.23				



ภาพที่ 3 ลักษณะของราดรินที่สร้างสาร siderophore บนอาหาร Chrome azurol S-modified Gaus No.1 (CAS-MGs-1) agar

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพการสร้างสาร Indole acetic acid (IAA) ของราดินที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน

Stain	เปลี่ยนสีชมพู	Stain	เปลี่ยนสีชมพู	Stain	เปลี่ยนสีชมพู
1-1	+	2-52	+++	3-43	+
1-2	++	2-58	++	3-48	+
1-3	++	2-59	+	3-52	+
1-7	+	2-60	+	3-53	+++
1-8	+	2-64	++	3-58	+
1-9	+++	2-65	++	3-59	+
1-10	+	2-71	+	3-64	+
1-13	+	2-79	++	3-74	+
1-14	+	2-81	++	4-3	+
1-20	+++	2-82	+++	4-5	+
1-21	++	2-83	++	4-13	+
1-22	+	2-84	++	4-18	+
1-25	+	2-85	++	4-19	+
1-30	+++	2-88	++	4-20	+
2-1	+	3-1	+	4-21	++
2-2	+	3-6	+++	4-23	+
2-10	+	3-7	+	4-26	+++
2-18	+++	3-8	+++	4-27	+
2-21	++	3-13	+++	4-28	++
2-22	+	3-20	+	4-29	+++
2-24	+	3-22	+	4-34	+
2-27	+++	3-25	++	4-43	++
2-29	++	3-26	+	4-49	+
2-30	+++	3-27	+	4-54	+++
2-31	++	3-32	+	4-57	++
2-33	+	3-33	+++	4-61	+++
2-34	+	3-34	+++	4-62	++
2-39	+	3-36	+	4-67	+
2-43	+	3-37	+	4-69	+++
2-44	+	3-40	+		
2-51	++	3-42	+		

* + = เกิดสีชมพู แสดงว่าสร้าง IAA (+ = ต่ำ, ++ = ปานกลาง, +++ = สูง), - = ไม่เกิดสีชมพู แสดงว่าไม่สร้าง IAA

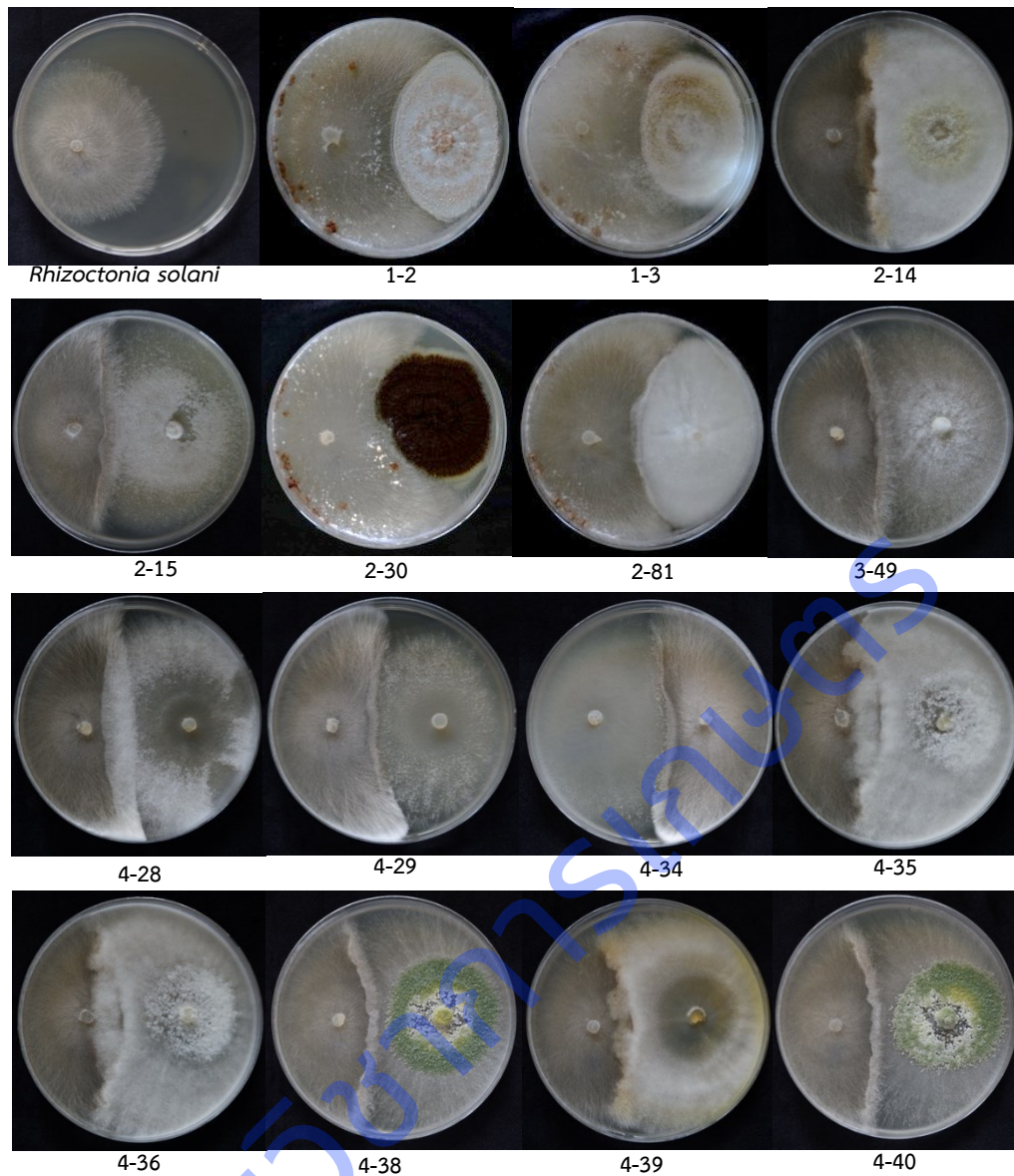
3.1.4 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืช

การคัดเลือกราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด พบว่ามีราดิน 15 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* ได้ โดยมีค่าการยับยั้งตั้งแต่ 40-58 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้ง *R. solani* ได้มากที่สุดได้แก่สายพันธุ์ 2-30 และ 4-34 (ตารางที่ 6 ภาพที่ 4) พบว่ามีราดินในสกุล *Trichoderma* spp จำนวน 11 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Sclerotium rofsiii* ได้ดี มีค่าการยับยั้ง 70-95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 5) นอกจากนี้พบว่ามีราดิน 15 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* ได้ตั้งแต่ 57.69-88.46 เปอร์เซ็นต์ และราดิน 24 สายพันธุ์สามารถยับยั้ง รา *Colletotrichum goeppoioides* ได้ 40.23-89.66 เปอร์เซ็นต์

ราดินสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งรา *R. solani*, *S. rolfsii*, *F. oxysporum* และ *C. gloeosporioides* ได้ในระดับดีมาก เมื่อนำมาตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นราในสกุล *Trichoderma* spp. ซึ่งราชนิดนี้เป็นราที่มีความสำคัญมากทางด้านการเกษตรมีการนำมาใช้ควบคุมโรคพืชหลายชนิดเช่น โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากรา *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotium* และ *Rhizoctonia* (จิระเดช, 2552) (ตารางที่ 8, 9 ภาพที่ 6 , 7)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Rhizoctonia solani* ของราดินที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

สายพันธุ์	รัศมีโคโลนี <i>Rhizoctonia solani</i> (ชม..)	รัศมีโคโลนีของ ราปฏิปักษ์ (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
control	3	-	-
1-2	1.8	2.2	40
1-3	1.8	2.2	40
2-14	1.5	2.5	50
2-15	1.3	2.7	57
2-30	1.9	2.1	58
2-81	1.8	2.2	40
3-49	1.5	2.5	50
4-28	1.5	2.5	50
4-29	1.5	2.5	50
4-34	1.3	2.7	58
4-35	1.5	2.5	51
4-36	1.4	2.6	53
4-38	1.3	2.7	57
4-39	1.5	2.5	49
4-40	1.5	2.5	50

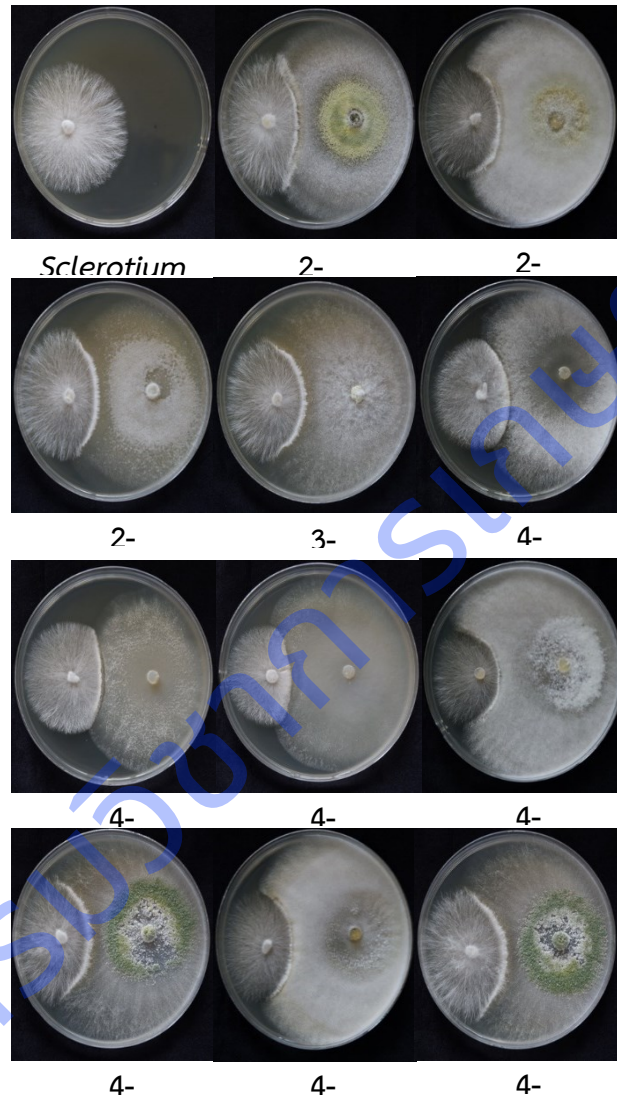


ภาพที่ 4 ราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* ในจานเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Sclerotium rofsiii* ของราดินที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน

สายพันธุ์	รัศมีโคโลนี <i>Sclerotium rofsiii</i> (ชม.)	รัศมีโคโลนีของ ราที่ใช้ทดสอบ (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
control	4	-	-
2-12	0.60	3.07	85
2-14	0.30	3.20	93
2-15	0.50	3.30	88
3-49	1.00	2.87	75
4-28	1.20	2.70	70
4-29	1.20	2.65	70

4-34	0.30	3.20	93
4-35	0.20	3.70	95
4-38	0.30	2.97	93
4-39	0.30	3.48	93
4-40	1.00	2.97	75



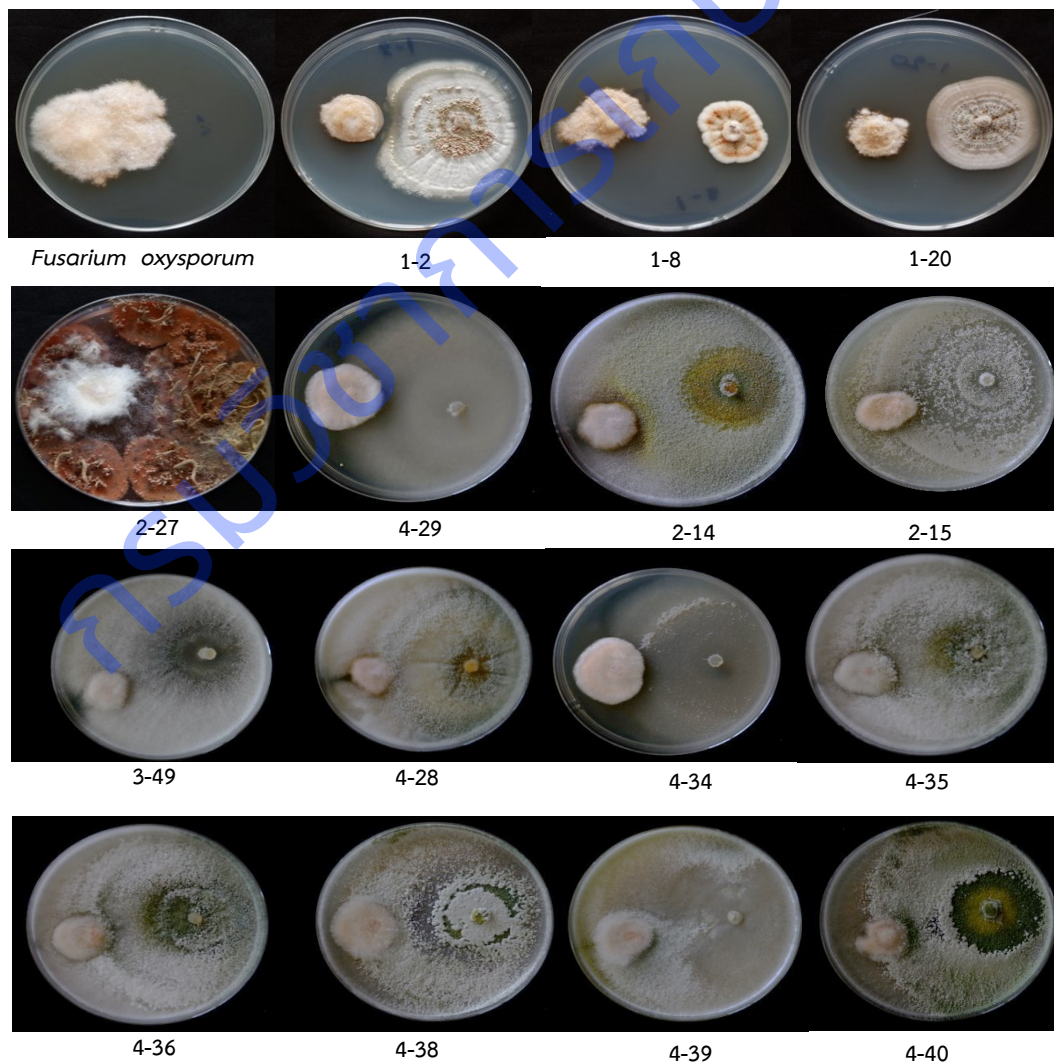
ภาพที่ 5 ราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Sclerotium rolfsii* ในจานเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Fusarium oxysporum* ของราดินที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย แม่ฮ่องสอน

จ.

สายพันธุ์	รัศมีโคโลนี <i>Fusarium oxysporum</i> (ชม..)	รัศมีโคโลนีของ ราปฏิปักษ์ (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
control	2.6	-	-
1-2	1.07	2.50	58.97
1-8	1.10	0.60	57.69

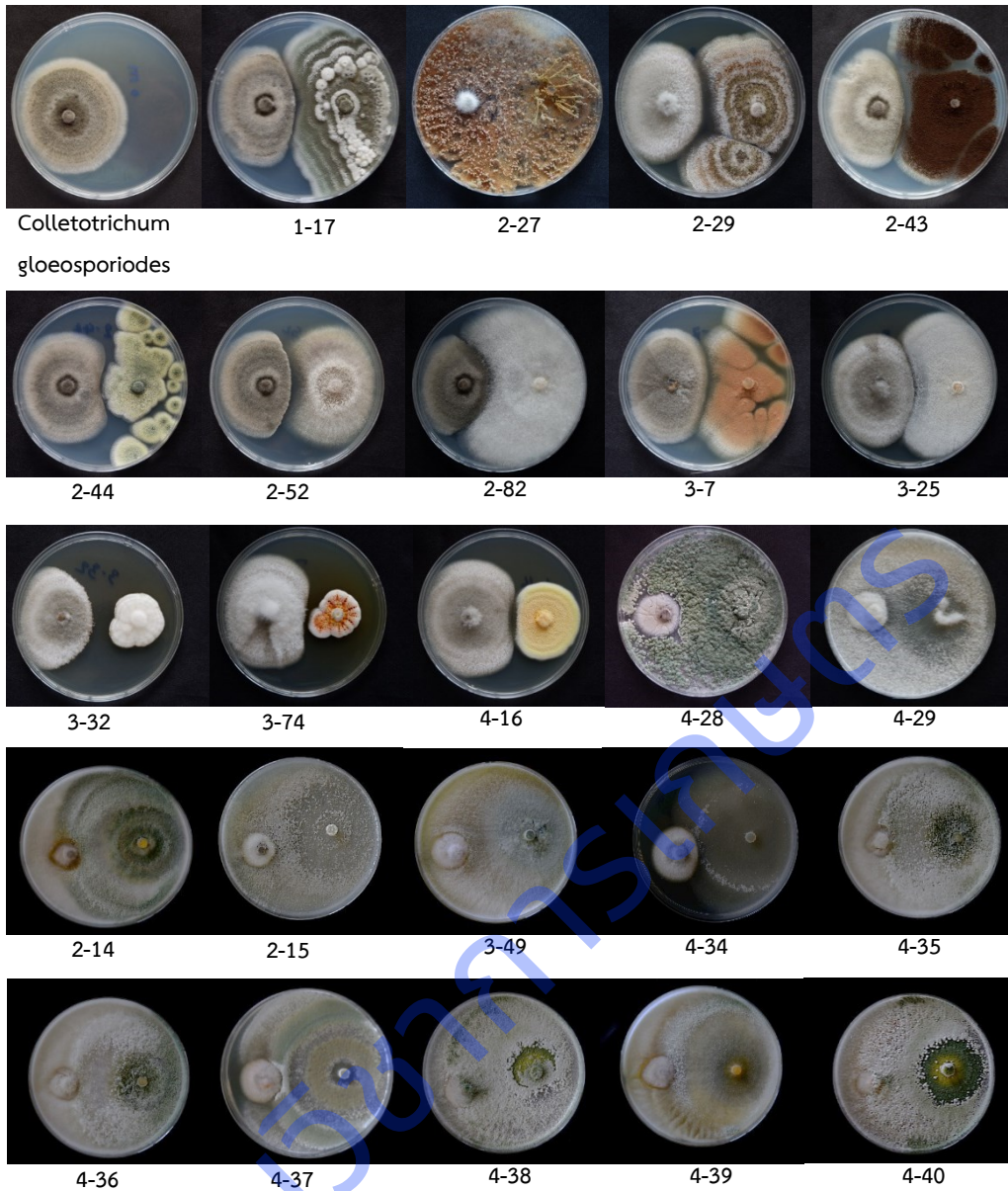
1-20	1.00	2.13	61.54
2-27	1.00	6.00	61.54
4-29	0.70	6.00	73.08
2-14	0.3	6.00	88.46
2-15	0.3	6.00	88.46
3-49	0.3	6.00	88.46
4-28	0.3	6.00	88.46
4-34	0.3	6.00	88.46
4-35	0.3	6.00	88.46
4-36	0.3	6.00	88.46
4-38	0.3	6.00	88.46
4-39	0.3	6.00	88.46
4-40	0.3	6.00	88.46



ภาพที่ 6 ราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum* ในงานเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Colletotrichum goeppoioides* ของราดินที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน

สายพันธุ์	รัศมีโคโลนี <i>Colletotrichum goeppoioides</i> (ชม..)	รัศมีโคโลนีของ ราที่ใช้ทดสอบ (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง
control	2.90	-	-
1-17	1.36	2.23	52.87
2-27	0.30	6.00	89.66
2-29	1.73	2.36	40.23
2-43	1.43	2.30	50.58
2-44	1.50	1.96	48.28
2-52	1.26	2.67	56.32
2-82	1.23	1.33	57.47
3-7	1.73	2.36	40.23
3-25	1.63	2.13	43.68
3-32	1.50	2.20	48.28
3-74	1.13	2.13	60.92
4-16	1.36	3.20	52.87
4-28	0.67	3.00	77.01
4-29	0.67	3.53	77.01
2-14	0.3	6.00	89.66
2-15	0.3	6.00	89.66
3-49	0.3	6.00	89.66
4-34	0.3	6.00	89.66
4-35	0.3	6.00	89.66
4-36	0.3	6.00	89.66
4-37	0.3	6.00	89.66
4-38	0.3	6.00	89.66
4-39	0.3	6.00	89.66
4-40	0.3	6.00	89.66



ภาพที่ 7 ราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในงานเลี้ยงเชื้อบน PDA

อาหาร

4 การศึกษาศักยภาพของแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

4.1 การทดสอบคุณสมบัติของแอกติโนมัยสีท

4.1.1 ทดสอบการสร้าง siderophore]

เชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บในปี 2559/2560 ในช่วงฤดูหนาว (เดือนธันวาคม 2559) ฤดูร้อน (เดือนเมษายน 2560) และฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม 2560) ที่มีความสามารถในการสร้าง siderophore มีจำนวนทั้งหมด 54 59 และ 63 ไอโซเลท ตามลำดับ ส่วนเชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บในปี 2560/2561 ช่วงฤดูหนาว (เดือนธันวาคม 2560) ฤดูร้อน (เดือนเมษายน 2561) และฤดูฝน (เดือนสิงหาคม 2561) ที่มีความสามารถในการสร้าง siderophore มีจำนวนทั้งหมด 85 60 และ 84 ไอโซเลท ตามลำดับ โดยพบว่าแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินจัดอยู่ในกลุ่ม *Streptomyces* ซึ่งจัดเป็นสมาชิกจิ้นส์สำคัญที่มีมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ของแอกติโนมัยสีททั้งหมด *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีการสร้าง siderophore ได้สูงที่สุด โดยมีค่าการสร้างวงสีส้มรอบโคโลนี เท่ากับ 5.63 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากไอโซเลทอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินที่เก็บในฤดูร้อน พบว่า *Streptomyces* sp. HF 37-1 มีการสร้าง siderophore ได้สูงที่สุด รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. HF 36-1, HF 35-1 และ HF 33-1 ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าการสร้างวงสีส้มรอบโคโลนี เท่ากับ 3.10 2.97 2.47 และ 2.37 เซนติเมตร ตามลำดับ (Figure 1) ด้านแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินที่เก็บในฤดูฝน พบว่า *Streptomyces* sp. RF 10-1 สร้าง siderophore ได้สูงที่สุด โดยมีค่าการสร้างวงสีส้มรอบโคโลนี เท่ากับ 3.07 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างจาก *Streptomyces* sp. RF 23-1, RF 22-1 และ RF 12-4 ซึ่งมีค่าการสร้างวงสีส้มรอบโคโลนี เท่ากับ 2.50 2.43 และ 2.33 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Formation of orange zone from siderophore production of *Streptomyces* spp. isolated from Pai river basin soils in winter, summer and rainy seasons

Isolates from winter	Diameter of orange zone* (cm)	Isolates from summer	Diameter of orange zone* (cm)	Isolates from rainy	Diameter of orange zone* (cm)
WF 4-1	5.63 a	HF 37-1	3.10 a	RF 10-1	3.07 a
WF 3-1	3.73 b	HF 36-1	2.97 a	RF 23-1	2.50 ab
WA 20-3	3.20 b	HF 35-1	2.47 ab	RF 22-1	2.43 ab
WA 22-3	3.13 b	HF 33-1	2.37 abc	RF 12-4	2.33 ab
WA 21-3	3.00 b	HF 10-1	2.10 bc	RA 1-3	1.70 b
WF 6-1	1.08 c	HF 26-1	2.00 bc	RF 10-4	1.67 b
WA 22-2	1.02 c	HA 24-3	1.90 bc	RF 19-1	1.63 b
WF 7-1	0.72 c	HF 21-1	1.73 bc	RA 2-2	1.60 b
WF 7-4	0.67 c	HF 9-1	1.67 bc	RA 7-3	1.53 b
WF 1-4	0.63 c	HF 29-4	1.57 c	RF 25-1	1.50 b
CV. (%)	12.93	CV. (%)	12.77	CV. (%)	22.56

* Diameter of orange zone within the same season, means in a column followed by the same letter are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's post hoc multiple mean comparison test.

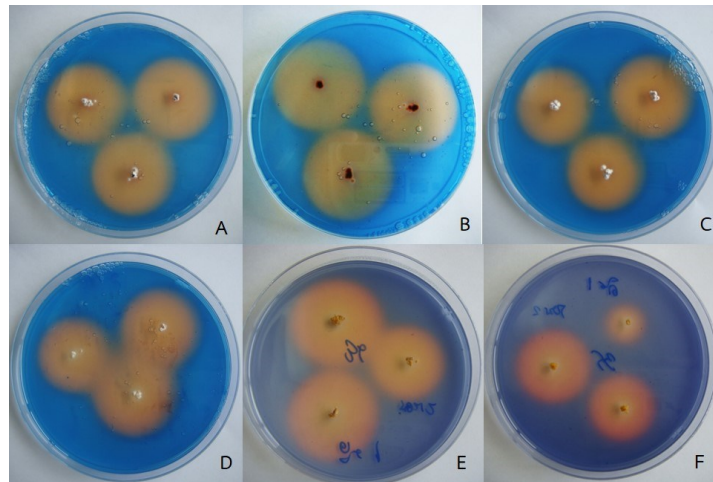


Figure 1 Characteristics of actinomycetes that produce siderophore by creating orange rings around the colonies: A)-B) front and back of petri dishes of *Streptomyces* sp. WA 20-3, C) WA 21-3, D) WA 22-3, E) HF 36-1, and F) HF 35-1

4.1.2 ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

เชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ทั้งในปี 2560 และ 2561 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตอยู่ในระดับ 1-3 (ระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO_4 ของเชื้อแอกติโนมัยซีทตามความกว้างของวงใส) โดยมีค่าน้อยกว่า 6 มิลลิเมตร โดยการประเมินระดับกิจกรรมการละลายตะกอน CaHPO_4 ของจุลินทรีย์ตามความกว้างของวงใส (กรมวิชาการเกษตร, 2551) ประเมินได้ ดังนี้

ระดับ 1	0	มิลลิเมตร
ระดับ 2	0-3	มิลลิเมตร
ระดับ 3	3-6	มิลลิเมตร
ระดับ 4	6-9	มิลลิเมตร
ระดับ 5	มากกว่า 9	มิลลิเมตร

เมื่อเปรียบเทียบไอโซเลทแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินที่เก็บในฤดูหนาวต่อความสามารถในการละลายฟอสเฟต พบว่า ทุกไอโซเลทมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีช่วงการสร้างความกว้างของวงใสตั้งแต่ 1.8-4.0 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตาม พบว่า *Streptomyces* sp. WF 10-1 สามารถสร้างความกว้างของวงใสได้มากที่สุดเท่ากับ 4.0 มิลลิเมตร ส่วนแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินที่เก็บในฤดูร้อน พบว่า ทุกไอโซเลทมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้ไม่แตกต่างกัน โดยมีช่วงการสร้างความกว้างของวงใสตั้งแต่ 2.7-3.3 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตาม พบว่า *Streptomyces* sp. HF 23-1 สามารถความกว้างของวงใสได้มากที่สุด เท่ากับ 3.3 มิลลิเมตร และเมื่อพิจารณาแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินที่เก็บในฤดูฝน พบว่า มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้แตกต่างกัน โดย *Streptomyces* sp. RA 15-3 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุด โดยมีค่าการสร้างความกว้างของวงใสสูงสุด เท่ากับ 3.3 มิลลิเมตร แตกต่างจาก *Streptomyces* sp. RA 5-2 ซึ่งมีค่าการสร้างความกว้างของวงใสน้อยที่สุด เท่ากับ 1.0 มิลลิเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับไอโซเลทอื่น ๆ (Table 3) ผลการ

ทดลองทั้งหมดสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sahu *et al.* (2007) ที่พบว่า แอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากตะกอนดินน้ำเค็มมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตเช่นกัน และพบว่ากิจกรรมการละลายฟอสเฟตมีค่าสูงสุดที่ pH 7 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารทดสอบ Pikovskaya (PVK) ที่ใช้ในการทดลองนี้อยู่ในช่วง 7.2 ± 0.2 เช่นกัน

Table 3 Production of clear zone from phosphate solubilization activity of *Streptomyces* spp. isolated from Pai river basin soils in winter, summer and rainy seasons

Isolates from winter	Diameter of clear zone* (mm)	Isolates from summer	Diameter of clear zone* (mm)	Isolates from rainy	Diameter of clear zone* (mm)
WF 10-1	4.0 a	HF 23-1	3.3 a	RA 15-3	3.3 a
WF 6-4	3.0 a	HF 35-1	3.2 a	RF 12-4	2.7 ab
WA 23-3	3.0 a	HF 37-1	3.0 a	RF 7-1	2.3 ab
WA 2-2	3.0 a	HF 26-4	3.0 a	RF 18-4	2.3 ab
WA 21-3	2.7 a	HF 24-1	3.0 a	RF 1-1	2.0 ab
WA 22-2	2.3 a	HA 23-2	3.0 a	RF 22-1	1.7 ab
WF 5-4	2.3 a	HF 8-1	2.8 a	RA 1-2	1.7 ab
WA 17-3	2.3 a	HF 19-1	2.7 a	RF 23-1	1.3 ab
WF 1-4	2.3 a	HA 7-3	2.7 a	RA 16-3	1.3 ab
WA 18-2	1.8 a	HF 5-4	2.7 a	RA 5-2	1.0 b
CV. (%)	52.0	CV. (%)	15.40	CV. (%)	39.38

* Diameter of clear zone within the same season, means in a column followed by the same letter are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's post hoc multiple mean comparison tests.

4.1.3 ทดสอบการสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA)

เมื่อนำสารละลายส่วนใสจากการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้แต่ละไอโซเลทที่แยกได้มาทำปฏิกิริยากับ Salkowski reagent พบว่า เชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่มีการสร้าง IAA และเมื่อนำผลการทดสอบการสร้าง IAA ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไปพิจารณาร่วมกับคุณสมบัติในการสร้าง siderophore และการละลายฟอสเฟต พบว่า เชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มที่มีการสร้าง siderophore ได้ดี ส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการสร้าง IAA ได้ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ดี ส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการสร้าง IAA ได้ด้วย เช่นกัน (Table 4) ดังนั้นผลการทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นจึงสามารถเป็นข้อมูลในการคัดเลือกไอโซเลทเพื่อนำไปศึกษาความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชและเชื้อไรโซเบียมต่อไป เนื่องจากมีข้อมูลของ Sreevidya *et al.* (2016) ที่พบว่า แอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากกองปุ๋ยหมักเศษซากพืชและดินรอบรากถั่วลูกไก่ สามารถสร้าง siderophore, indole acetic acid, cellulase, lipase, protease, chitinase, hydrocyanic acid และ β -1,3-glucanase และยังช่วยเพิ่มจำนวนปมราก น้ำหนักลำต้น และผลผลิตถั่วด้วย

Table 4 Indole acetic acid (IAA) production of *Streptomyces* spp. isolate that have the ability to produce siderophore and phosphate solubility

Isolates	Diameter of siderophore production (cm)	IAA production*	Isolates	Diameter of phosphate solubility (mm)	IAA production*
WF 4-1	5.63	-	WF 10-1	4.0	+
WF 3-1	3.73	+	HF 23-1	3.3	-
WA 20-3	3.20	+	RA 15-3	3.3	-
WA 22-3	3.13	+	HF 35-1	3.2	+
HF 37-1	3.10	+	HF 37-1	3.0	+
RF 10-1	3.07	+	HF 26-4	3.0	+
WA 21-3	3.00	+	HF 24-1	3.0	+
HF 36-1	2.97	+	HA 23-2	3.0	+
RF 23-1	2.50	-	WF 6-4	3.0	+
HF 35-1	2.47	+	WA 23-3	3.0	+

* + = appearance of pink color indicated IAA production, - = pink color not appear indicated no IAA production

4.2 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช

4.2.1 การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืชทั้ง 5 ชนิด พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคพืชที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุดเกือบทุกชนิด ส่วน *Streptomyces* sp. WA 20-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *X. campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุดในกลุ่ม แต่ไม่แตกต่างจาก *Streptomyces* sp. WF 4-1, WA 21-3 และ WA 22-3 (Table 5, Figure 2) เนื่องจากแอคติโนมัยสีทแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะจำพวก gentamycin streptomycin หรือ nocardicin ที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของแบคทีเรียในระดับที่แตกต่างกัน

Table 5 Average plant pathogenic bacterial growth inhibition of selected *Streptomyces* spp.*

Isolates	Erw	Ral	Xag	Xcc	Xoo
WF 3-1	0.00 c	0.00 c	1.08 d	1.32 b	0.00 b
WF 4-1	3.93 a	3.99 a	2.22 a	2.22 a	2.83 a
WF 10-1	0.00 c	0.00 c	0.00 e	0.00 c	0.00 b
WA 20-3	1.09 b	1.66 b	1.65 b	2.44 a	0.00 b
WA 21-3	1.08 b	0.00 c	1.08 d	2.22 a	0.00 b
WA 22-3	0.00 c	0.00 c	1.35 c	2.35 a	0.00 b
RF 10-1	0.00 c	0.00 c	1.09 d	1.31 b	0.00 b

Isolates	Erw	Ral	Xag	Xcc	Xoo
RF 12-4	0.00 c	0.00 c	1.11 d	1.08 b	0.00 b
RF 22-1	0.00 c	0.00 c	1.05 d	2.01 a	0.00 b
RF 23-1	0.00 c	0.00 c	0.00 e	0.00 c	0.00 b
CV. (%)	8.98	23.72	6.65	14.66	25.00

Note: Erw = *Erwinia carotovora* pv. *Carotovora*, Ral = *Ralstonia solanacearum*, Xag = *Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines*, Xcc = *X. Campestris* pv. *Campestris*, Xoo = *X. Oryzae* pv. *Oryzae*

* Average plant pathogenic bacteria inhibition within the same plant pathogenic bacterial species, means followed by the same letter are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's post hoc multiple mean comparison tests.

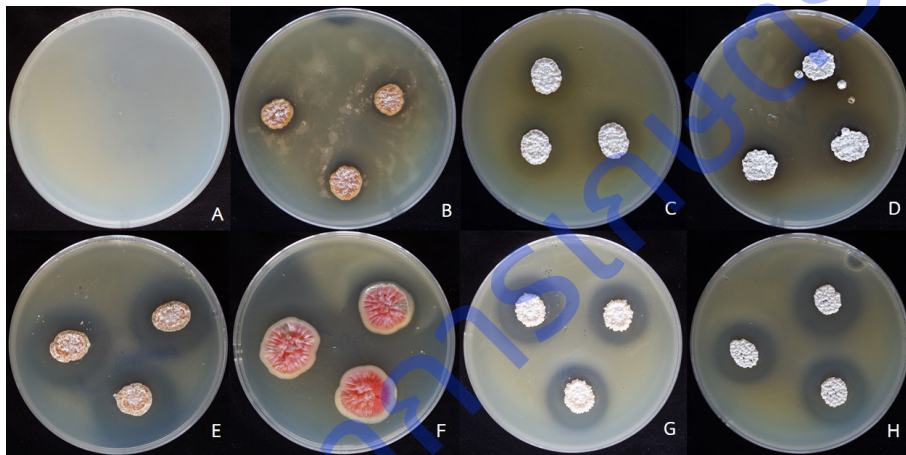


Figure 2 Antagonistic test of actinomycetes with plant pathogenic bacteria: *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*, causes of black rot disease of cauliflower. A) control, *Streptomyces* sp. B) WF 3-1, C) RF 12-4, D) RF 10-1, E) WA 22-3, F) RF 22-1, G) WA 21-3, and H) WF 4-1

4.2.2 การคัดเลือกแอกติโนมัยซีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

การคัดเลือกแอกติโนมัยซีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 6 ชนิด พบว่า *Streptomyces* sp. RF 23-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชได้ทุกไอโซเลท รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. WF 4-1 และ RF 12-4 (Table 6, Figure 3) เนื่องจากแอกติโนมัยซีทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดยการผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา (lytic enzymes) จำพวก α หรือ β -glucanases, proteases, peptidases, cellulases, chitinases และ lipases (El-Gammal *et al.*, 2014) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khamna *et al.* (2009) ซึ่งได้ทำการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากรอบรากพืชสมุนไพรรวม 16 ชนิดในพื้นที่จังหวัดลำพูน และพบว่า แอกติโนมัยซีทกลุ่ม *Streptomyces* สามารถต้านการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชอย่างน้อย 1 ใน 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria brassicicola*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* และ *Sclerotium rolfsii* เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ

Soltanzadeh *et al.* (2016) การใช้แอสคิตินอิมยีสที่แยกได้จากดินสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของถั่วลูกไก่ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* .sp. *pisi* ได้

Table 6 Average plant pathogenic fungal growth inhibition of selected *Streptomyces* spp. *

Isolates	Rhizoc	Rhizoc sol	Sclero	Collecto	Phytoph	Fusarium
WF 3-1	0.00 d	0.00 g	0.00 b	0.00 g	0.00 g	0.00 e
WF 4-1	0.69 b	0.66 b	0.00 b	0.70 c	0.23 f	0.11 d
WF 10-1	0.00 d	0.00 g	0.00 b	0.00 g	0.00 g	0.00 e
WA 20-3	0.00 d	0.47 f	0.00 b	0.54 e	0.84 b	0.00 e
WA 21-3	0.00 d	0.00 g	0.00 b	0.53 e	0.76 c	0.00 e
WA 22-3	0.00 d	0.53 e	0.00 b	0.63 d	0.90 a	0.00 e
RF 10-1	0.00 d	0.53 e	0.00 b	0.56 e	0.52 e	0.28 b
RF 12-4	0.63 c	0.60 d	0.00 b	0.48 f	0.69 d	0.20 c
RF 22-1	0.71 b	0.65 c	0.00 b	0.76 b	0.54 e	0.00 e
RF 23-1	0.84 a	0.91 a	0.80 a	0.90 a	0.67 d	0.73 a
CV. (%)	2.91	0.73	9.68	2.89	3.69	2.38

Note: Rhizoc = *Rhizoctonia* sp., Rhizoc sol = *Rhizoctonia solani*, Sclero = *Sclerotium rolfsii*, Collecto = *Colletotrichum* sp., Phytoph = *Phytophthora palmivora*, Fusarium = *Fusarium* sp.

* Average plant pathogenic fungi inhibition within the same plant pathogenic fungal species, means followed by the same letter are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's post hoc multiple mean comparison tests.

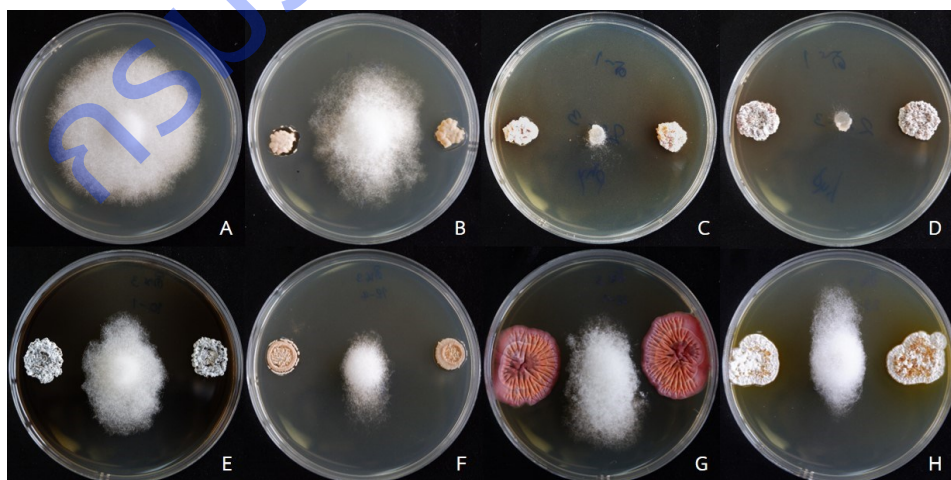


Figure 3 Antagonistic test of actinomycetes with plant pathogenic fungi: *Phytophthora palmivora*, causes of root and stem rot disease. A) control, *Streptomyces* sp. B) WF 4-1, C) WA 20-3, D) WA 22-3, E) RF 10-1, F) RF 12-4, G) RF 22-1, and H) RF 23-1

4.3 การคัดเลือกแอกติโนมัยสีทที่มีสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเบียม

การคัดเลือกแอกติโนมัยสีทที่มีสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเบียม พบว่า *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อไรโซเบียมทั้ง 3 ชนิด คือ *Bradyrhizobium japonicum* DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 และ *B. daqingense* DASA 03084 (Table 7, Figure 4) ในขณะที่ *Streptomyces* sp. WA 21-3 ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. japonicum* DASA 02006 และ *B. daqingense* DASA 03084 ส่วน *Streptomyces* sp. RF 10-1 ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. liaoningense* DASA 03018 และ *B. daqingense* DASA 03084 ดังนั้นจึงสามารถใช้แอกติโนมัยสีทไอโซเลทดังกล่าวร่วมกับการปลูกเชื้อไรโซเบียมได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานเกี่ยวกับการเพิ่มความถี่ของการเกิดปมรากจากเชื้อ *Rhizobium* sp. ในการปลูกเชื้อร่วมกับแอกติโนมัยสีท *Streptomyces lydicus* พบว่า *S. lydicus* เข้าสู่รากและสร้างสปอร์ภายในชั้นผิวของปมราก (Mukerji *et al.*, 2006) การเข้าสู่รากแก้วของแอกติโนมัยสีทตามธรรมชาติ ทำให้ขนาดของปมรากโดยเฉลี่ยใหญ่ขึ้น และเพิ่มความแข็งแรงของแบคทีเรียในปมรากโดยการเสริมการดูดใช้ธาตุเหล็กและสารอาหารอื่น ๆ ในดิน (Tokala *et al.*, 2002)

Table 7 Average rhizobium growth inhibition of selected *Streptomyces* spp. *

Isolates	<i>B. japonicum</i>	<i>B. liaoningense</i>	<i>B. daqingense</i>
	DASA 02006	DASA 03018	DASA 03084
WF 3-1	0.00 a	0.00 a	0.00 a
WF 4-1	0.00 a	0.00 a	0.00 a
WF 10-1	0.00 a	0.00 a	0.00 a
WA 20-3	1.94 c	2.07 c	1.70 d
WA 21-3	0.00 a	1.27 b	0.00 a
WA 22-3	1.38 b	1.40 b	1.36 c
RF 10-1	1.34 b	0.00 a	0.00 a
RF 12-4	0.00 a	0.00 a	0.00 a
RF 22-1	1.22 b	1.91 c	1.17 b
RF 23-1	0.00 a	0.00 a	0.00 a
CV. (%)	15.17	19.05	12.94

* Average rhizobium inhibition within the same rhizobium species, means followed by the same letter are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's post hoc multiple mean comparison tests.

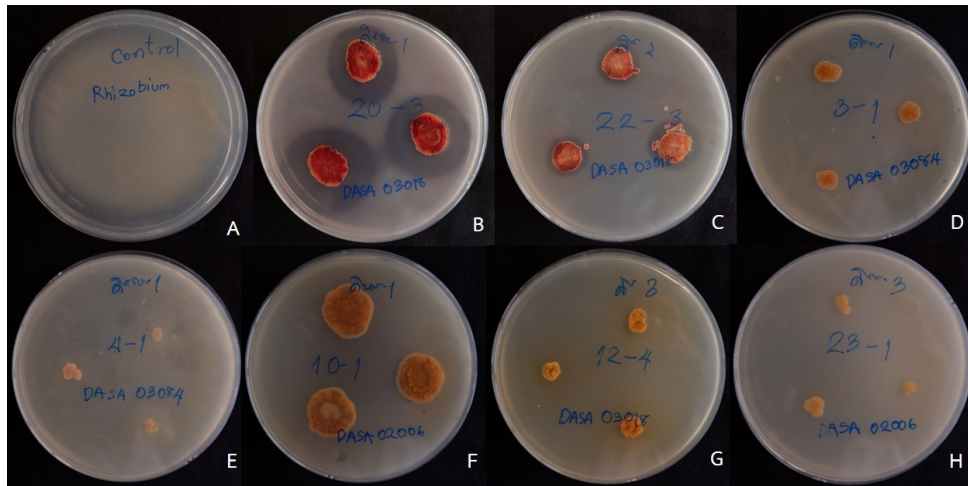


Figure 4 Antagonistic test of actinomycetes with rhizobium: A) control, rhizobium inhibition of *Streptomyces* sp. B) WA 20-3, C) WA 22-3, D) WF 3-1, E) WF 4-1, F) WF 10-1, G) RF 12-4, and H) RF 23-1

4.4 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชและเชื้อไรโซเบียมในระดับโรงเรือน

เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ของ *Streptomyces* sp. WF 4-1 และ *Streptomyces* sp. RF 12-4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, SEM) พบว่ามีการสร้างสปอร์แบบเวียนเกลียว (spiral) (Figure 5) เมื่อนำ *Streptomyces* sp. WF 4-1 และ *Streptomyces* sp. RF 12-4 มาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชคือ รา *Sclerotium rolfsii* และแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* ร่วมกับการปลูกเชื้อไรโซเบียม พบว่า ต้นกล้าถั่วเขียวมีอาการเน่าตายเมื่อได้รับการปลูกเชื้อรา *S. rolfsii* แม้จะปลูกเชื้อแอกติโนมัยซีท *Streptomyces* sp. WF 4-1 ร่วมด้วย ส่วนต้นกล้าที่มีการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. RF 12-4 มีการเกิดโรคปานกลางในระดับ 2 ส่วนการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช *E. carotovora* pv. *carotovora* ทำให้ต้นกล้าถั่วเขียวเกิดโรคเล็กน้อยในระดับ 1 แต่ความสูงของต้น น้ำหนักสด ความยาวรากและจำนวนปมรากของแต่ละกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 8) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ara *et al.* (2012) พบว่า เมื่อทำการทดลองในกระถางประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชของเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความแปรผัน จึงต้องทำการทดสอบการปลูกเชื้อในรูปแบบน้ำเลี้ยง หรือสารสกัดแบบหยาบร่วมด้วย เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแอกติโนมัยซีทให้ครอบคลุมมากกว่าขึ้นว่าสารปฏิชีวนะที่เชื้อสร้างขึ้นอยู่ในส่วนน้ำเลี้ยง สารสกัดแบบหยาบ หรือชีวมวลของเชื้อแอกติโนมัยซีท

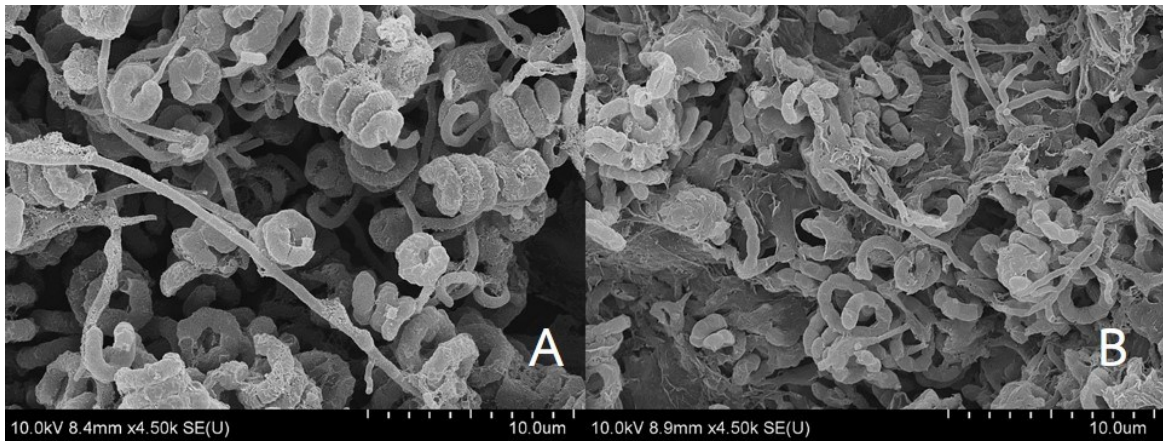


Figure 5 Characteristics of hyphae and spores of actinomycetes A) *Streptomyces* sp. WF 4-1 and B) *Streptomyces* sp. RF 12-4 under scanning electron microscope.

Table 8 Antagonistic testing of plant pathogens and rhizobium in greenhouse

Treatment	Height (cm)	Fresh weight (gram)	Root length (cm)	Number of root nodule	Disease severity index*
1. Rhizobium	17.94	1.01	5.52	17.78	0
2. Rhizobium + WF 4-1	19.33	1.04	6.64	14.22	0
3. Rhizobium + RF 12-4	18.31	1.00	6.87	16.11	0
4. Rhizobium + Sclerotium	0	0	0	0	4
5. Rhizobium + Sclerotium + WF 4-1	0	0	0	0	4
6. Rhizobium + Sclerotium + RF 12-4	14.50	0.76	6.32	8.55	2
7. Rhizobium + Erwinia	17.31	0.91	6.37	13.78	1
8. Rhizobium + Erwinia + WF 4-1	17.68	0.90	5.58	12.00	1
9. Rhizobium + Erwinia + RF 12-4	17.89	0.91	4.66	16.00	1
CV. (%)	16.8	15.0	26.6	40.19	-
Sig.	ns	ns	ns	ns	-

Note: Sclerotium = *Sclerotium rolfsii*, Erwinia = *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, ns = means are not significantly different at $\alpha = 0.05$ by Tukey's post hoc multiple mean comparison tests

* Disease severity index: 0 = 2% (Healthy seedling), 1 = 3 - 30% (Mild), 2 = 31 - 60% (Moderate), 3 = 61 - 90% (Severe) and 4 = > 91% (Dead plants)

5. การศึกษา ประชากรนีมาโทดอิสระเพื่อบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน 4 ช่วงต่อปี ได้แก่ ช่วงที่ 1 เดือนพฤศจิกายน 2559 ช่วงที่ 2 เดือนมกราคม 2560 ช่วงที่ 3 เดือนมีนาคม 2560 และช่วงที่ 4 เดือนพฤษภาคม 2560 ในแต่ละช่วงการเก็บนำตัวอย่างดินมาแยกนึ่งมาโทดที่หากินอิสระโดยใช้เทคนิค Whitehead tray พบว่า ทั้ง 4 ช่วงเวลาการเก็บ สามารถแยกได้นีมาโทดในกลุ่มที่กินแบคทีเรีย กลุ่มที่กินเชื้อรา และกลุ่มที่เป็น Predator รวมทั้งที่เป็นศัตรูพืช ซึ่งมีจำนวนของประชากรนีมาโทดที่แตกต่างกัน โดยในช่วงเดือนพฤศจิกายน มีจำนวนผลรวมของประชากรสูงที่สุดทั้งในพื้นที่ต้นน้ำและ ปลายน้ำ เท่ากับ 334 และ 132 ตัวต่อดิน 500 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ในช่วงเดือนมีนาคม มีจำนวนผลรวมน้อยที่สุด เท่ากับ 180 และ 39 ตัวต่อดิน 500 กรัม ตามลำดับ ซึ่งพบว่าในช่วงเดือนมีนาคม สภาพอากาศร้อน ดินแห้ง อุณหภูมิดินสูงระหว่าง 37-40 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ประชากรนีมาโทดลดลง ในขณะที่ช่วงเก็บตัวอย่างดินเดือนพฤศจิกายน 2559 อุณหภูมิดินระหว่าง 26-35 องศาเซลเซียส จากการนับจำนวนของนีมาโทดในแต่ละช่วงการเก็บตัวอย่างดินพบจำนวนประชากรในตัวอย่างดินต้นน้ำสูงกว่าปลายน้ำในทุกช่วงเวลา โดยตัวอย่างดินในพื้นที่ต้นน้ำมีจำนวนนีมาโทดอิสระแบ่งตามกลุ่มการกินอาหาร คิดเป็นค่าเฉลี่ยในกลุ่มกินแบคทีเรีย กลุ่มกินเชื้อรา กลุ่มที่เป็น Predator และกลุ่มที่เป็นศัตรูพืช เท่ากับ 40.0 28.4 20.1 และ 11.5 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างดิน 4 ช่วงเวลา ตามลำดับ และตัวอย่างดินปลายน้ำคิดเป็นค่าเฉลี่ย เท่ากับ 36.2 17.8 10.6 และ 35.3 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างดิน 4 ช่วงเวลา ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรนีมาโทด 4 กลุ่ม ในแต่ละช่วงเวลา และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ 4 ช่วงเวลา แบ่งเป็นต้นน้ำ และปลายน้ำ

แบ่งกลุ่มนีมาโทด	ค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรนีมาโทดในแต่ละช่วงเวลา (ต้นน้ำ และปลายน้ำ)								% ค่าเฉลี่ยของ 4 ช่วงเวลา	
	เดือนพฤศจิกายน		เดือนมกราคม		เดือนมีนาคม		เดือนพฤษภาคม		ต้นน้ำ	ปลายน้ำ
	ต้นน้ำ	ปลายน้ำ	ต้นน้ำ	ปลายน้ำ	ต้นน้ำ	ปลายน้ำ	ต้นน้ำ	ปลายน้ำ		
กลุ่มกินแบคทีเรีย	132.0	52.0	118.0	42.0	62.0	10.0	90.0	22.0	40.0	36.2
กลุ่มกินเชื้อรา	98.0	22.0	72.0	16.0	55.0	10.0	60.0	14.0	28.4	17.8
กลุ่ม Predator	68.0	18.0	54.0	15.0	38.0	1.0	42.0	3.0	20.1	10.6
กลุ่มศัตรูพืช	36.0	40.0	28.0	40.0	25.0	18.0	26.0	25.0	11.5	35.3
ผลรวม/ดิน 500 ก.	334	132	272	113	180	39	218	64		

จากการจำแนกนีมาโทดในระดับสกุล (Genera) ตามการแบ่งกลุ่ม โดยดูรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ากลุ่มกินแบคทีเรีย คือ Dolichorhabditis และ Rhabditis กลุ่มกินเชื้อรา ได้แก่ Aphelenchus กลุ่มที่เป็น Predator คือ Mononchus และกลุ่มศัตรูพืช ได้แก่ Helicotylenchus, Hoplolaimus, Paratylenchus และ Rotylenchus (ภาพที่ 1-7) โดยนีมาโทดกลุ่มกินแบคทีเรียพบจำนวนมากที่สุด เท่ากับ 132 ตัวต่อดิน 500 กรัม พื้นที่ต้นน้ำในช่วงเดือนพฤศจิกายน และน้อยที่สุดเท่ากับ 10 ตัวต่อดิน 500 กรัม ในช่วงเดือนมีนาคม ของพื้นที่ปลายน้ำจากผลของการศึกษาจำนวนประชากรนีมาโทดในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย โดยใช้เทคนิค Whitehead tray แยกดิน สามารถแยกได้นีมาโทด 4 กลุ่ม พบประชากรนีมาโทดในพื้นที่ต้นน้ำมากกว่าปลายน้ำในทุกช่วง การเก็บ ซึ่งพื้นที่ต้นน้ำส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ป่า ดินยังมีความชุ่มชื้น และอุณหภูมิต่ำกว่าพื้นที่ปลายน้ำ และพื้นที่ปลายน้ำมีการ

ทำการเกษตร การไถพรวน พลิกดิน ส่งผลให้ประชากรนีมาโทดกลุ่มกินแบคทีเรีย รา และพวก Predator ลด ประชากรลง แต่จะพบประชากรของกลุ่มที่เป็นศัตรูพืชสูงขึ้นเล็กน้อย

6 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ Cellulase และ Chitinase ที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

6.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ Cellulase และ Chitinase จากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย

จากการดำเนินการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคตินเนสจากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย จำนวน 4 แหล่ง ได้แก่ พื้นที่ป่าปลายน้ำ พื้นที่เกษตรปลายน้ำ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ พื้นที่ป่าธรรมชาติต้นน้ำ บ้านแม่ณะ ในช่วงฤดูกาลต่างๆ พบว่า สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคตินเนส บนอาหาร selective medium ที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลส และไคติน ดังภาพที่ 1 โดยสามารถคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งสิ้น 296 ไอโซเลท แบ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จำนวน 198 ไอโซเลท และจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนส จำนวน 98 ไอโซเลท ดังตารางที่ 1



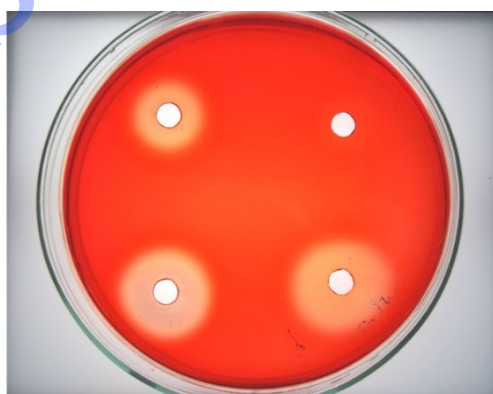
ภาพที่ 1 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคตินเนสของเชื้อจุลินทรีย์ โดยสังเกตการสร้างวงใสรอบโคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ ก.) อาหารสังเคราะห์ที่มี cellulose เป็นองค์ประกอบ ข.) อาหารสังเคราะห์ที่มี chitin เป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย จำนวน 4 แหล่ง

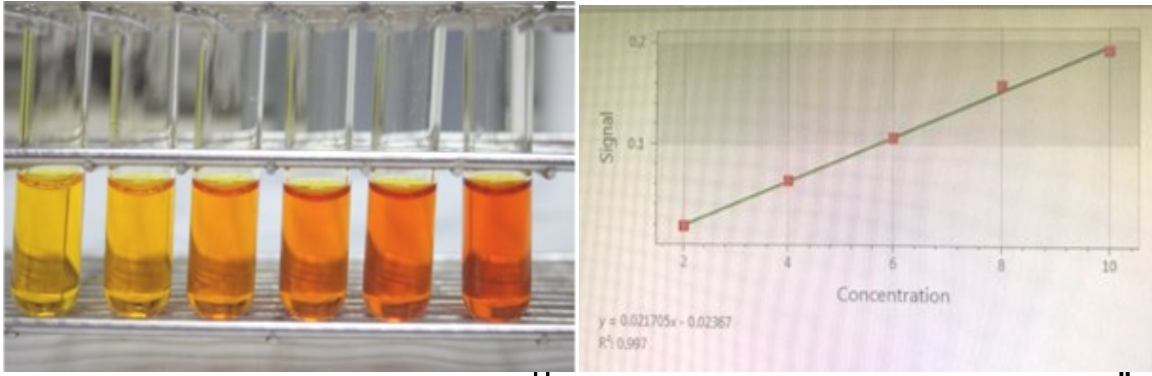
สถานที่เก็บ	จำนวนเชื้อ (ไอโซเลท)	
	Chitin medium	CMC medium
ป่าปลายน้ำ	20	43
พื้นที่เกษตรปลายน้ำ	23	43
พื้นที่เกษตรต้นน้ำ	29	56
ป่าธรรมชาติต้นน้ำ	26	56
รวมทั้งสิ้น	98	198

6.1.1 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ Cellulase

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้บนอาหาร selective medium ที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ จำนวนทั้งสิ้น 198 ไอโซเลท เมื่อนำมาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ Cellulase ได้ดี โดยการนำมาทดสอบเลี้ยงกระตุ้นการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารเหลว enrichment medium แล้วนำส่วนใส (supernatant) มาทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ Cellulase บนอาหาร Screening medium ที่มี CMC-Na 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบ ทดสอบการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 14-16 ชั่วโมง พบว่า สามารถคัดเลือกได้จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี ดังภาพที่ 2 โดยให้ผลของปฏิกิริยาการเกิดวงใสรอบโคโลนี ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง >20 มิลลิเมตร จำนวน 20 ไอโซเลท และเมื่อนำไปทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการย่อยสลายเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic colorimetric method (DNS method) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 ก, ข ตารางที่ 2 พบว่า ไอโซเลท 2CMC-1.1 ให้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลาง เกิดวงใสรอบโคโลนี และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ดีที่สุด เท่ากับ 0.6380 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางที่ 2



ภาพที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์ ให้ผลของปฏิกิริยาการเกิดวงใสบนอาหารแข็งที่มีเซลลูโลส 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบ หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 14-16 ชั่วโมง



ภาพที่ 3 ก. ปริมาณสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml ตามลำดับ

ข. กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่าน้ำตาลรีดิวซ์

การจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการสกัดสารพันธุกรรมแล้วนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนบริเวณ 16S ribosomal DNA เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทางชีวสารสนเทศ NCBI พบว่า เชื้อไอโซเลท 2CMC-1.1 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Bacillus velezensis*

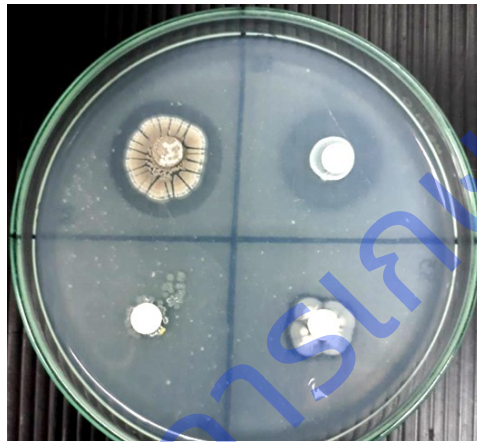
ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์จำแนกชนิดโดยเทคนิคชีวโมเลกุล การผลิตเอนไซม์ Cellulase (สร้างวงใส) และค่าการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 20 ไอโซเลท

ไอโซเลท	Genus/ species	เส้นผ่านศูนย์กลาง วงใส (มม.)	Reducing sugar (mg/ml)
1CMC-1.6	<i>Bacillus cereus</i>	20	0.5850
2CMC-1.1	<i>Bacillus velezensis</i>	23	0.6380
3CMC-2.4	<i>Bacillus cereus</i>	20	0.5541
3CMC-2.6	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	20	0.6191
3CMC-2.7	<i>Streptomyces</i>	20	0.5707
3CMC-3.5	<i>Streptomyces cellostaticus</i>	20	0.5357
3CMC-4.2	<i>Bacillus luciferensis</i>	20	0.5329
4CMC-2.3	<i>Streptomyces</i>	20	0.4795
4CMC-2.9	<i>Duganella nigrescens</i>	22	0.5361
4CMC-3.5	<i>Bacillus aryabhatai</i>	20	0.4970
4CMC-3.7	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	20	0.5274
4CMC-3.9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	20	0.4325
4CMC-3.13	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	23	0.5444
4CMC-3.15	<i>Bacillus cereus</i>	20	0.5385
4CMC-3.16	<i>Streptomyces cinereospinus</i>	20	0.6061
4CMC-4.3	<i>Pseudomonas brenneri</i>	20	0.5265
4CMC-4.14	<i>Pseudomonas brenneri</i>	20	0.5458
7CMC-1.2	<i>Pseudomonas brenneri</i>	20	0.5140
8CMC-3.4	<i>Streptomyces griseovariabilis</i>	20	0.5569
8CMC-3.6	<i>Streptomyces griseovariabilis</i>	20	0.5624

6.1.2 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ Chitinase จากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย

การคัดเลือกได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้ดี จากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ จำนวนทั้งสิ้น 98 ไอโซเลท สามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนี บนอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ > 20 มิลลิเมตร ดังภาพที่ 4 จำนวนทั้งสิ้น 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 1Ch 2.4, 3Ch-2.1, 6Ch-2.2, 6Ch-2.4, 6Ch-3.5 และ 6Ch-4.2 ซึ่ง ไอโซเลท 1Ch 2.4 สามารถผลิตเอนไซม์ไคตินเนส ได้ดีที่สุดในค่าการสร้างวงใสบนอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบสูงสุด 23 มม. ดังตารางที่ 3

เมื่อนำจุลินทรีย์ไอโซเลท 1Ch 2.4 ไปจำแนกชนิด โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S ribosomal DNA แล้วเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทางชีวสารสนเทศ NCBI พบว่า เชื้อไอโซเลท 1Ch 2.4 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Paenibacillus xylanilyticus*



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสที่ผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์ และให้ผลของปฏิกิริยาการเกิดวงใสบนอาหารแข็งที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ หลังจากบ่มให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปฏิกิริยาการสร้างวงใสบนอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ

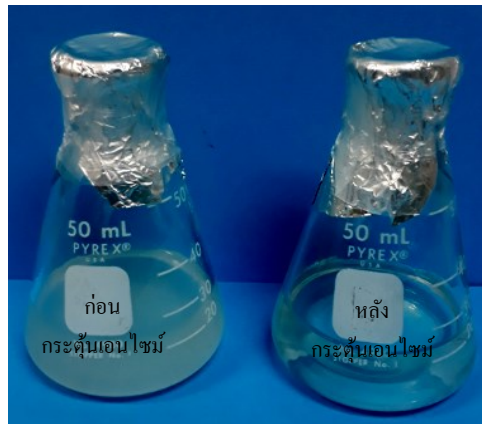
ไอโซเลท	Genus/ species	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.)
1Ch 2.4	<i>Paenibacillus xylanilyticus</i>	23
3Ch-1.4	<i>Paenibacillus xylanilyticus</i>	20
6Ch-2.1	<i>Duganella nigrescens</i>	22
6Ch-2.2	<i>Paenibacillus terrigena</i>	20
6Ch-2.4	<i>Paenibacillus kobensis</i>	20
6Ch-3.5	<i>Streptomyces bambusae</i>	21
6Ch-4.2	<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	20

6.2. การโคลนยีน และการแสดงออกในระดับโปรตีน

6.2.1 การโคลนยีนที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ Cellulase

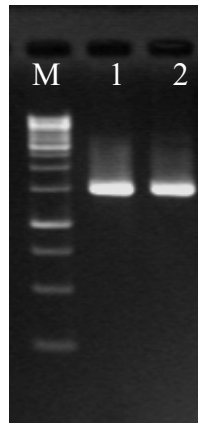
การเลี้ยงเชื้อลงในอาหารเหลวที่มี CMC-Na เพื่อกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ Cellulase เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 180 รอบ/นาที นาน 3-5 วัน จะสามารถสังเกตเห็นอาหารมีลักษณะใสขึ้น เนื่องจากมีกิจกรรม

ของเอนไซม์ Cellulase ดังภาพที่ 1 เมื่อนำเชื้อที่เลี้ยงใน Flask ใส่หลอด 50 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บตะกอนที่ได้แล้วนำไปสกัดดีเอ็นเอ ดังภาพที่ 5

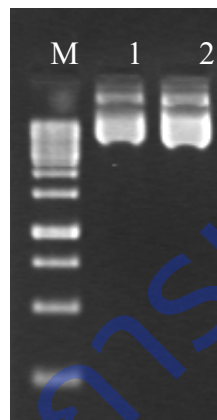


ภาพที่ 5 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ Cellulase ก่อนและหลังการย่อย Cellulose ของเชื้อจุลินทรีย์ ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มี CMC-Na เป็นองค์ประกอบ นาน 3-5 วัน

การสังเคราะห์ Cellulase gene จาก genomic DNA ด้วยวิธี PCR Amplification โดยนำไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะกับยีน มาทดสอบกับกรดนิวคลีอิกของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เทคนิค PCR ได้ชิ้นส่วนของ Cellulase gene ที่มีขนาดประมาณ 1,500 bp ดังภาพที่ 6 จากนั้นทำการโคลนชิ้นยีนเข้าสู่เวกเตอร์พาหะ (T&A cloning vector) และถ่ายชิ้นส่วนของยีนเข้าสู่เซลล์ *E. coli* (DH5 α) คัดเลือกโคลนที่มีชิ้นยีน และเลี้ยงเพิ่มปริมาณเซลล์ในอาหารเหลว LB ที่มีสารปฏิชีวนะ ampicillin 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัดพลาสมิดดีเอ็นเอได้ ดังภาพที่ 7 ตรวจสอบการปรากฏของชิ้นยีนด้วยเทคนิค PCR พบว่าเมื่อนำผลผลิต PCR มาแยกบน 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel electrophoresis ย้อมเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide (ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV Transilluminators เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb DNA ladder marker (Fermentas) สามารถตรวจพบชิ้นยีนที่มีขนาดประมาณ 1,500 bp ดังภาพที่ 8 และเมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Cellulase gene ที่โคลนได้ ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของยีน endoglucanase gene ของเชื้อ *Bacillus velezensis* (Accession [no. KY427020.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 9 และเมื่อแปลรหัสเป็นลำดับของกรดอะมิโน พบว่า มีความคล้ายคลึงกับอะมิโนแอซิดของยีน cellulase family glycosylhydrolase [Bacillus] (Accession [No. WP_025851060.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 10

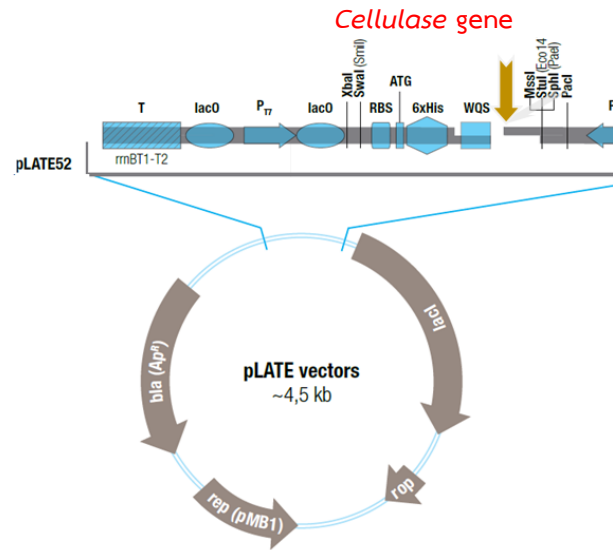


ภาพที่ 6 ผลผลิต PCR ของยีน Cellulase Lane M; DNA Marker 1 kb, Lane 1-2; ผลผลิต PCR ขนาดประมาณ 1,500 bp

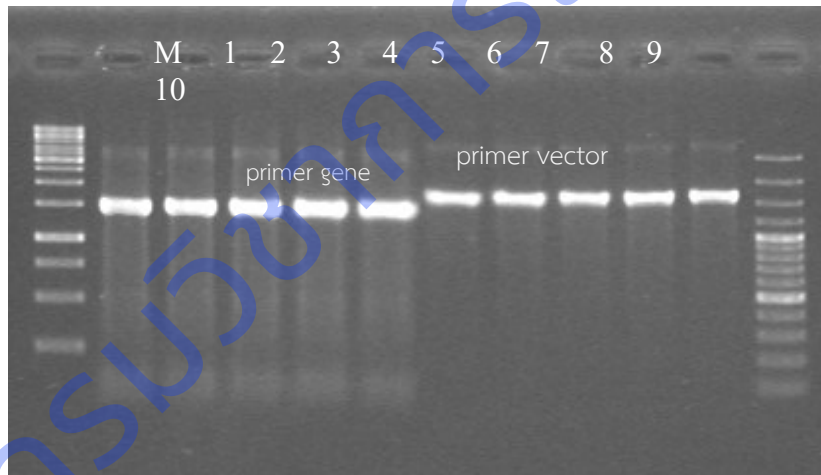


ภาพที่ 7 แสดงพลาสมิดดีเอ็นเอลูกผสมของ T&A Cloning vector ที่มียีน Cellulase M; DNA Marker 1 kb, Lane 1-2; พลาสมิดดีเอ็นเอลูกผสมที่มียีน Cellulase ซึ่งได้รับการถ่ายฝากเข้าสู่เซลล์ *E. coli* สายพันธุ์ DH5 α

6.2.2 การเชื่อมต่อชิ้นยีน cellulase เข้าสู่ protein expression vector และถ่ายฝากเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียเจ้าบ้าน ทำการเชื่อมต่อชิ้นยีน cellulase เข้ากับ Protein Expression Vector (aLICator LIC Cloning and Expression system) ซึ่งมีแผนที่แสดงตำแหน่งของยีน cellulase ดังภาพที่ 8 โดยออกแบบไพรเมอร์ที่มีตำแหน่งของปลาย 5' ที่สามารถเชื่อมต่อกับส่วนของเวคเตอร์ แล้วจึงถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน cellulase เข้าสู่เซลล์ *E. coli* สายพันธุ์ BL21 (DE3) เพื่อการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน ได้พลาสมิดดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 5.7 กิโลเบส และสามารถตรวจพบการปรากฏของยีน cellulase ในพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมด้วยเทคนิค PCR ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 8 แผนที่ตำแหน่งของยีน cellulase ที่สอดแทรกอยู่ใน Expression Vector (aLICator LIC Cloning and Expression system)



ภาพที่ 9 การตรวจสอบการปรากฏของยีน Cellulase ในพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสม โดยใช้เทคนิค PCR Lane M; DNA Marker 1 kb, Lane 1-5; ผลผลิต PCR จากไพรเมอร์ยีน Cellulase, Lane 6-10; ผลผลิต PCR จากไพรเมอร์เวคเตอร์ (LIC Forward, LIC Reverse)

Bacillus velezensis strain RS1 endoglucanase (eglS) gene, complete cds
 Sequence ID: [KY427020.1](#) Length: 1500 Number of Matches: 1
 Range 1: 1 to 1499 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match
 Alignment statistics for match #1

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
	2675 bits(1448)	0.0	1482/1499 (99%)	0/1499 (0%)	Plus/Plus	
Query	1		ATGAAACGGTCAATTCTATTTTATTACGTGTTTATTGATTACGGTATTGACAATGGAC			60
Sbjct	1		ATGAAACGGTCAATTCTATTTTATTACGTGTTTATTGATTACGGTATTGACAATGGGC			60
Query	61		GGCTTGCAGGCTTCGCCGGCATCTGCAGCAGGGACAAAAACGCCAGCAGCCAAGAATGGA			120
Sbjct	61		GGCTTGCAGGCTTCGCCGGCATCTGCAGCAGGGACAAAAACGCCAGTAGCCAAGAATGGG			120
Query	121		CAGCTTAGCATAAAAAGGAACACAGCTCGTAAACCGGGACGGCAAAGCGGTACAATTGAAA			180
Sbjct	121		CAGCTTAGCATAAAAAGGAACACAGCTCGTAAACCGGGACGGCAAAGCGGTACAATTGAAA			180
Query	181		GGGATCAGTTCTCATGGATTGCAATGGTATGGCGATTTTGTCAATAAAGACAGCTTAAAA			240
Sbjct	181		GGGATCAGTTCACATGGATTGCAATGGTATGGCGATTTTGTCAATAAAGACAGCTTAAAA			240
Query	241		TGGCTGAGAGACGATTGGGGCATAACCGTTTCCGCGCGCGGATGTATACCGCAGATGGC			300
Sbjct	241		TGGCTGAGAGACGATTGGGGCATAACCGTTTCCGCGCGCGGATGTATACGGCAGACGGC			300
Query	301		GGTTATATTGACAACCCCTTCCGTGAAAAATAAAGTAAAAGAAGCGGTTGAAGCGGCAAAA			360
Sbjct	301		GGTTATATTGATAATCCGTCCGTGAAAAATAAAGTAAAAGAAGCGGTTGAAGCGGCAAAA			360
Query	361		GAACCTGGGATATATGTCATCATTGACTGGCATATCTTAAATGACGGCAACCCAAACCAA			420
Sbjct	361		GAACCTGGGATATATGTCATCATTGACTGGCATATCTTAAATGACGGCAACCCAAACCAA			420
Query	421		AACAAAGAGAAGGCCAAAAGAATTTTTTAAGGAAATGTCAAGTCTTTACGGAAACACGCCA			480
Sbjct	421		AATAAAGAGAAGGCCAAAAGATTTTTTAAGGAAATGTCAAGTCTTTACGGAAACACGCCA			480
Query	481		AACGTCATTTATGAAATTGCAAACGAACCAACCGTGATGTGAACTGGAAGCGGATATT			540
Sbjct	481		AACGTCATTTATGAAATTGCAAACGAACCAACCGTGATGTGAACTGGAAGCGTATATT			540
Query	541		AAACCGTATGCGGAAGAAGTGATTTCCGTTATCCGCAAAAATGATCCAGACAACATCATC			600
Sbjct	541		AAACCGTATGCGGAAGAAGTGATTTCCGTTATCCGCAAAAATGATCCAGACAACATCATC			600
Query	601		ATTGTCGGAACCGGTACATGGAGCCAAAGATGTGAATGATGCAGCCGATGATCAGCTAAAA			660
Sbjct	601		ATTGTCGGAACCGGTACATGGAGCCAAAGATGTGAATGATGCAGCCGATGATCAGCTAAAA			660
Query	661		GATGCAAACGTCATGTACGCGCTTCATTTTTATGCCGGCACACACAGCCAATCTTTACGG			720
Sbjct	661		GATGCAAACGTCATGTACGCGCTTCATTTTTATGCCGGCACACACAGCCAATCTTTACGG			720
Query	721		GATAAAGCAAACATATGCACTCAGTAAAGGAGCGCCTATTTTCGTGACGGAATGGGGAACA			780
Sbjct	721		GATAAAGCAAACATATGCACTCAGTAAAGGAGCGCCTATTTTCGTGACGGAATGGGGAACA			780
Query	781		AGCGACGCGTCTGGAAATGGCGGTGTATTCCTTGACCAGTCGCGGAATGGCTGAATTAT			840
Sbjct	781		AGCGACGCGTCTGGAAATGGCGGTGTATTCCTTGACCAGTCGCGGAATGGCTGAATTAT			840
Query	841		CTCGACAGCAAGAACATCAGCTGGGTGAACTGGAATCTTTCTGATAAGCAGGAATCATCC			900
Sbjct	841		CTCGACAGCAAGAACATCAGCTGGGTGAACTGGAATCTTTCTGATAAGCAGGAATCATCC			900

ภาพที่ 10 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่วิเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่ามีความคล้ายคลึงกับส่วนของยีน endoglucanase (eglS) gene ของเชื้อ *Bacillus velezensis* (Accession [no. KY427020.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์

```

Query 901 TCAGCGTTAAAGCCGGGAGCATCTAAACAGGCGGCTGGCCGCTTACAGATTTAACTGCT 960
          |||
Sbjct 901 TCAGCGTTAAAGCCGGGAGCATCTAAACAGGCGGCTGGCCGCTTACAAAATTTAACTGCT 960

Query 961 TCAGGAACATTCGTAAGAGAAAACATTTCTCGGCAACAAGATTCAACGAAAAGAACGCCCT 1020
          |||
Sbjct 961 TCAGGAACATTCGTAAGAGAAAACATTTCTCGGCAACAAGATTCAACGAAAAGAACGCCCT 1020

Query 1021 GAAACGCCAGCACAGAATAACCCCGCACAGAAAACGGCATTCTGTACAATACAAAGCA 1080
          |||
Sbjct 1021 GAAACGCCAGCACAGAATAACCCCGCACAGAAAACGGCATTCTGTACAATACAAAGCA 1080

Query 1081 GGGGATGGGGGTGTGAACAGCAACCAAATCCGCCCGCAGCTTCACGTAAAAAATAACGGC 1140
          |||
Sbjct 1081 GGGGATGGGGGTGTGAATAGCAACCAAATCCGCCCGCAGCTTCACATAAAAAAATAACGGC 1140

Query 1141 AATGCGACGGTTGATTTAAAGATGTCACCTGCCCGTTACTGGTATAACGCGAAAAACAAG 1200
          |||
Sbjct 1141 AATGCGACGGTTGATTTAAAGATGTCACCTGCCCGTTACTGGTATAACGCGAAAAACAAA 1200

Query 1201 GGCCAAAACTTTGACTGTGACTACGCGCAGATTGGATGCGGCAATCTGACCCACAAATTT 1260
          |||
Sbjct 1201 GGCCAAAACTTTGACTGTGACTACGCGCAGATTGGATGCGGCAATCTGACCCACAAATTT 1260

Query 1261 GTGACGCTGCATAAACCTAAGCAAGGTGCAGATACCTATCTGGAACCTGGGTTTTAAAACA 1320
          |||
Sbjct 1261 GTGACGCTGCATAAACCTAAGCAAGGTGCAGATACCTATCTGGAACCTGGGTTTTAAAACA 1320

Query 1321 GGAACGCTGTCAACGGGAGCAAGCACAGGGAATATTCAGCTTCGTCTTCACAATGATGAC 1380
          |||
Sbjct 1321 GGAACGCTGTCAACGGGAGCAAGCACAGGGAATATTCAGCTTCGTCTTCACAATGATGAC 1380

Query 1381 TGGAGTAGTTATGCACAAAGCGGTGATTATTCCTTTTTTCAATCAATACGTTTAAAACA 1440
          |||
Sbjct 1381 TGGAGTAGTTATGCACAAAGCGGTGATTATTCCTTTTTTCAATCAATACGTTTAAAACA 1440

Query 1441 ACGaaaaaaaaTTACATTATATCATCAAGGAAAACGATTTGGGGAACAGAACCCAATTAG 1500
          |||
Sbjct 1441 ACGAAAAAAATTACATTATATCATCAAGGAAAACGATTTGGGGAACAGAACCCAATTAG 1500

```

ภาพที่ 10 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่วิเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่ามีความคล้ายคลึงกับส่วนของยีน endoglucanase (eglS) gene ของเชื้อ *Bacillus velezensis* (Accession [no. KY427020.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์

MULTISPECIES: cellulase family glycosylhydrolase [Bacillus]
 Sequence ID: [WP_025851060.1](#) Length: 499 Number of Matches: 1
 Range 1: 1 to 499 [GenPeptGraphics](#) Next Match Previous Match

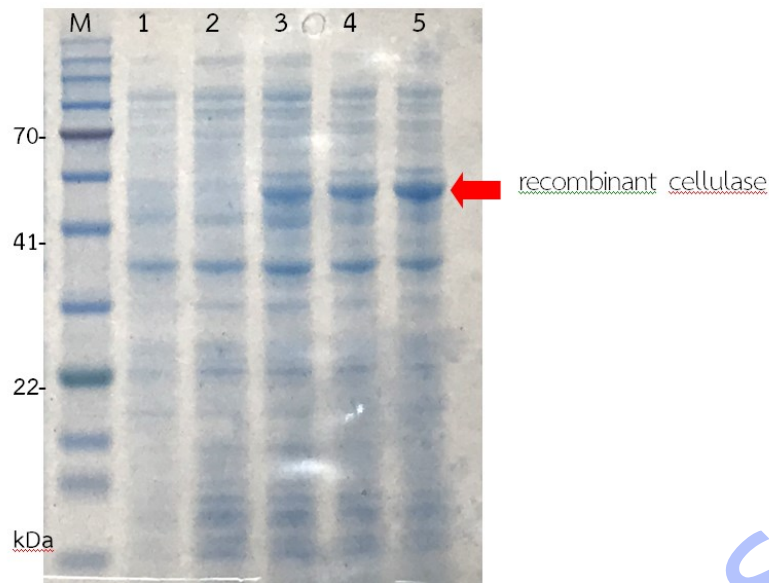
Alignment statistics for match #1

	Score	Expect	Identities	Positives	Gaps	
	992 bits (2565)	0.0	494/499 (99%)	496/499 (99%)	0/499 (0%)	
Query	1		MKRSISIFITCLLITVLTMGGLQASPASAAGTKTPAAKNGQLSIKGTQLVNRDQKAVQLK			60
Sbjct	1		MKRSISIFITCLLITVLTMGGLQASPASAAGTKTPAAKNGQLSIKGTQLVNRDQKAVQLK			60
Query	61		GISSHGLQWYGDFVFNKDSLKWLRRDDWGITVFRAMYTADGGYIDNPSVknkvkeaveaak			120
Sbjct	61		GISSHGLQWYGDFVFNKDSLKWLRRDDWGITVFRAMYTADGGYIDNPSVKNKVKEAVEAAK			120
Query	121		eLGIYVIIDWHILNDGNPNQNKEKAKEFFKEMSSLYGNTPNVIYEIANEPNGDVNWKRDI			180
Sbjct	121		ELGIYVIIDWHILNDGNPNQNKEKAKDFKEMSSLYGNTPNVIYEIANEPNGDVNWKRDI			180
Query	181		KPYAEVVISVIRKNDPDNIIIVGTGTWSQDVNDAADDQLKDANVMYALHFYVTHGQSLR			240
Sbjct	181		KPYAEVVISVIRKNDPDNIIIVGTGTWSQDVNDAADDQLKDANVMYALHFYAGTHGQSLR			240
Query	241		DKANYALSKGAPIFVTEWGTSDASNGGVFLDQSREWLNYLDSKNI SWVNWNLSDKQESS			300
Sbjct	241		DKANYALSKGAPIFVTEWGTSDASNGGVFLDQSREWLNYLDSKNI SWVNWNLSDKQESS			300
Query	301		SALKPGASKTGGWPLTDLTASGTFVRENILGNKDKSTKERPETPAQDNPAQENGISVQYKA			360
Sbjct	301		SALKPGASKTGGWPLTDLTASGTFVRENILGNKDKSTKERPETPAQDNPAQENGISVQYKA			360
Query	361		GDGGVNSNQIRPQLHIKNNGNATVDLKDVTARYWYNAKNKGQNFDCDYAQIGCGNLTHKF			420
Sbjct	361		GDGGVNSNQIRPQLHIKNNGNATVDLKDVTARYWYNAKNKGQNFDCDYAQIGCGNLTHKF			420
Query	421		VTLHKPKQGVDTYLELGFKTGTLSPGASTGNIQLRLHNDWSSYAQSGDYFFQSNTFKT			480
Sbjct	421		VTLHKPKQGADTYLELGFKTGTLSPGASTGNIQLRLHNDWSSYAQSGDYFFQSNTFKT			480
Query	481		TKKITLYHQGKLIWGTEPN	499		
Sbjct	481		TKKITLYHQGKLIWGTEPN	499		

ภาพที่ 11 การเปรียบเทียบลำดับของอะมิโนแอซิดของยีน cellulase ที่ได้จากการโคลนเทียบกับฐานข้อมูลโปรตีน NCBI ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับยีน cellulase family glycosylhydrolase [Bacillus] (Accession [No. WP_025851060.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์

6.2.3 การทดสอบการแสดงออกในระดับโปรตีนของ recombinant enzyme cellulase

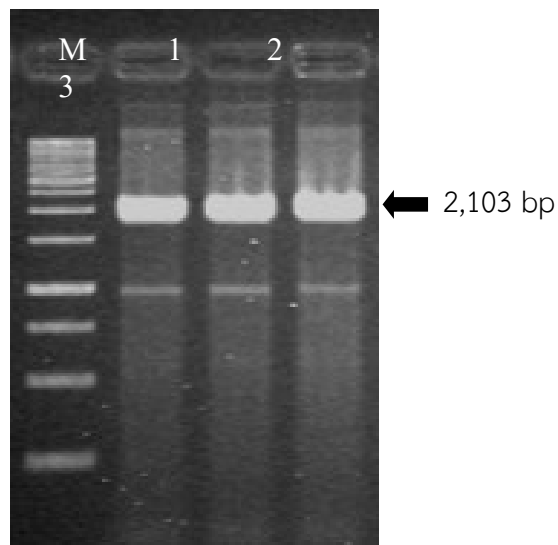
การถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน cellulase เข้าสู่เซลล์ *E. coli* สายพันธุ์ BL21 (DE3) เพื่อการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน เปรียบเทียบการชักนำการแสดงออกของยีนด้วยสาร IPTG ที่ความเข้มข้น 3 mM เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง เก็บเซลล์ทุก 2 ชั่วโมง เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบการแสดงออกของโปรตีนสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 โดยรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ cellulase ที่ได้มีขนาดประมาณ 55 กิโลดาลตัน ดังภาพที่ 12



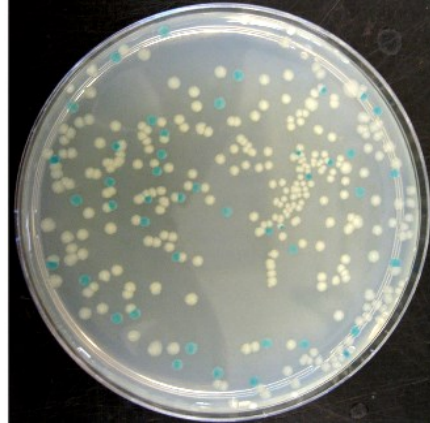
ภาพที่ 12 การแสดงออกของโปรตีน fusion protein (ลูกศรชี้) ที่ได้รับการชักนำการแสดงออกของยีน cellulase โดย 3mM IPTG Lane M; protein marker Lane 1; *E. coli* BL21 (DE3) Lane 2-5; *E. coli* BL21 (DE3) ได้รับการถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน cellulase ที่ได้รับการกระตุ้นนาน 0, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

6.3 การโคลนยีน Chitinase

การสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณยีน chitinase จากเชื้อไอโซเลท 1Ch 2.4 ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ chitinase ได้ดี ด้วยวิธี PCR Amplification โดยนำไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะกับยีน chitinase มาทดสอบกับกรดนิวคลีอิกของเชื้อแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค PCR ได้ชิ้นส่วนของยีน chitinase ที่มีขนาดประมาณ 2,103 bp ดังภาพที่ 13 จากนั้นทำการโคลนชิ้นยีน chitinase เข้าสู่เวกเตอร์พาหะ (T&A cloning vector) และถ่ายชิ้นส่วนของยีนเข้าสู่เซลล์ *E. coli* (DH5 α) คัดเลือกโคลนที่มีชิ้นส่วนของยีน chitinase สอดแทรกอยู่ (โคโลนีลักษณะสีขาว) ดังภาพที่ 14



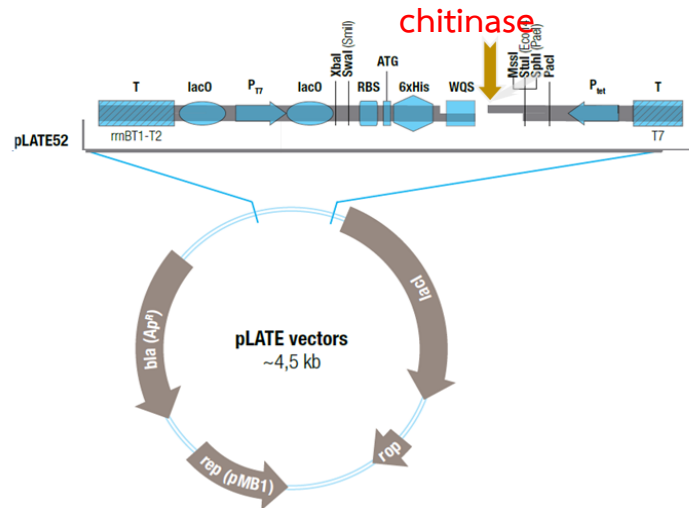
ภาพที่ 13 ผลผลิต PCR ของยีน chitinase Lane M; DNA Marker 1 kb, Lane 1-3; ผลผลิต PCR ขนาดประมาณ 2,103 bp



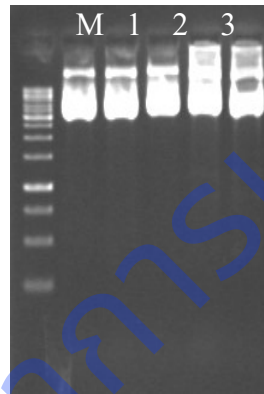
ภาพที่ 14 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. coli* (DH5α) (สีขาว) ที่มีการถ่ายฝากของยีน chitinase เข้าสู่เวกเตอร์พาหะ T&A cloning vector

6.3.1 การเชื่อมต่อยีน chitinase เข้าสู่ protein expression vector และถ่ายฝากเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียเจ้าบ้าน

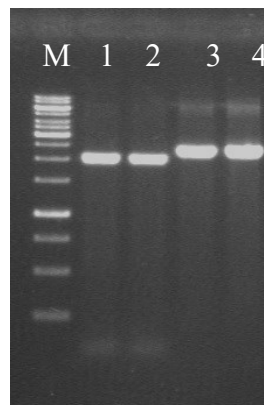
ทำการเชื่อมต่อยีน chitinase เข้ากับ Protein Expression Vector (aLICator LIC Cloning and Expression system) ซึ่งมีแผนที่แสดงตำแหน่งของยีน chitinase ดังภาพที่ 15 แล้วจึงถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน chitinase เข้าสู่เซลล์ *E. coli* สายพันธุ์ BL21 (DE3) เพื่อการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน ได้ พลาสมิดดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 6.6 กิโลเบส และสามารถตรวจพบการปรากฏของยีน chitinase ในพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมด้วยเทคนิค PCR และเลี้ยงเพิ่มปริมาณเซลล์ในอาหารเหลว LB ที่มีสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัดพลาสมิดดีเอ็นเอ ดังภาพที่ 16 และตรวจสอบการปรากฏของยีนด้วยเทคนิค PCR พบว่าเมื่อนำผลผลิต PCR มาแยกบน 1.5 เปอร์เซ็นต์ agarose gel electrophoresis ย้อมเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide (ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นนำไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV Transilluminators เปรียบเทียบขนาดของแถบดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb DNA ladder marker (Fermentas) สามารถตรวจพบยีนที่มีขนาดประมาณ 2,103 bp ดังภาพที่ 17 และเมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน chitinase ที่โคลนได้ ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของยีน chitinase type II gene ของเชื้อ *Paenibacillus xylanilyticus* (Accession [no. MN597082.1](#)) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 18 และเมื่อแปรรหัสเป็นลำดับของกรดอะมิโน พบว่า มีความคล้ายคลึงกับอะมิโนแอซิดของยีน chitinase (*Paenibacillus* sp.) (Accession [No. WP_095290735.1](#)) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 15 แผนที่ตำแหน่งของยีน chitinase ที่สอดแทรกอยู่ภายใน Expression vector



ภาพที่ 16 พลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน chitinase ที่แทรกอยู่ใน Expression Vector (aLICator LIC Cloning and Expression system) Lane M; DNA Marker 1 kb, Lane 1-5; พลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน chitinase ที่แทรกอยู่ใน Expression Vector



ภาพที่ 17 การตรวจสอบการปรากฏของยีน chitinase ในพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสม โดยใช้เทคนิค PCR Lane M; DNA Marker 1 kb, Lane 1-2; ผลผลิต PCR จากไพรเมอร์ยีน chitinase, Lane 3-4; ผลผลิต PCR จากไพรเมอร์เวคเตอร์ (LIC Forward, LIC Reverse)

Paenibacillus xylanilyticus strain W4 chitinase type II gene, complete cds
 Sequence ID: [MN597082.1](#) Length: 2103 Number of Matches: 1
 Range 1: 1 to 2103 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
3685 bits (1995)	0.0	2067/2103 (98%)	0/2103 (0%)	Plus/Plus	
Query	1	ATGTCATATAAAGCCAAACCCATGGATTTCAAAAAAGTCGGTAAGGTTCTCCTCGGTGTG			60
Sbjct	1	ATGTCATATAAAGCCAAACACATGGGTTTCAAAAAAGTCGGTAAGGTTCTCCTCGGTGTG			60
Query	61	GTCCTGCTCTTATCAGTCATCATCCCTTCATTTACACTTCAATCTCGAACGGCCGAAGCA			120
Sbjct	61	GTCCTGCTCTTATCTGTATCATCCCTTCATTTACCCTTCAATCTCGAACGGCCGAAGCA			120
Query	121	GCAGATGCCTATAAAAATTGTTGGTTACTATCCTGCCTGGGCGGCATACGGACGAAACTAC			180
Sbjct	121	GCAGAAGCCTATAAAAATTGTCGGTTACTATCCTGCCTGGGCGGCATACGGACGAAACTAC			180
Query	181	AATGTGACGGATATTGATCCCACCAAGGTGACGCATATCAACTATGCCTTTGCGTATATT			240
Sbjct	181	AATGTGACGGATATTGATCCCACCAAGGTGACGCATATCAACTATGCCTTTGCCGATATT			240
Query	241	TGTTGGAACGGCATTTCATGGGAATCCAGACCCCTTCGGGCCCAATCCGGTGACTTGGAGC			300
Sbjct	241	TGTTGGAACGGCATTTCATGGGAATCCAGACCCCTTCGGGCCCAATCCGGTGACTTGGAGC			300
Query	301	TGCCAGAATGAGAAGAGCCAGACAATCAATGTACCGAATGGAACGATTGTTCTCGGAGAC			360
Sbjct	301	TGCCAGAATGAGAAGAGCCAGACAATCAATGTACCGAATGGAACGATTGTTCTCGGAGAC			360
Query	361	CCCTGGATCGACACAGGCAAAACAATTTGCCGGGGACACATGGGATCAGCCCTATGCAGGG			420
Sbjct	361	CCCTGGATCGACACAGGCAAAACAATTTGCCGGGGACACATGGGATCAGCCCTATGCAGGG			420
Query	421	AATATCAATCAGCTCAACAAGCTGAAGCAGGTCAATCCGAATCTGAAAACAATCATCTCC			480
Sbjct	421	AATATTAATCAGCTCAACAAGCTGAAGCAGGTCAATCCGAATCTGAAAACAATCATCTCC			480
Query	481	GTTGGAGGATGGACGTGGTCCAACCGTTTCTCTGATGTAGCCGCAACTTCAGCTACCCGT			540
Sbjct	481	ATTGGAGGATGGACGTGGTCCAACCGTTTCTCCGATGTAGCCGCAACATCAGCTACCCGT			540
Query	541	GAGGTCTTTGCCAACTCTGCCGTCGATTTCTCGCGAAATACAACTTTGACGGAGTGGAT			600
Sbjct	541	GAGGTCTTTGCCAACTCTGCCGTCGATTTCTCGCGAAATACAACTTTGACGGAGTGGAT			600
Query	601	CTCGACTGGGAATACCCGGTATCAGGCGGGCTGGATGGTAAACAGCAAGCTCCAGAAGAT			660
Sbjct	601	CTTGACTGGGAATATCCGGTATCAGGCGGGCTGGATGGCAACAGCAAGCTCCAGAAGAT			660
Query	661	AAGCAAAATTATACCCTTCTCCTAAGCAAAATCCGCGAGAAGCTGGATGCGGCAGAAGCC			720
Sbjct	661	AAGCAAAATTATACCCTTCTCCTAAGCAAAATCCGCGAGAAGCTGGATGCGGCAGAAGCC			720
Query	721	GTTGACGGCAAAGAGTACCTGCTTACGATTGCAAGCGGAGCATCTCCAACCTATGCTGCC			780
Sbjct	721	GTTGACGGCAAAGAGTACCTGCTTACGATTGCAAGCGGAGCATCTCCAACCTATGCTGCC			780
Query	781	AATACGGAGCTTGCGAACATCGCTTCCATCGTTGACTGGATTAACATCATGACCTACGAT			840
Sbjct	781	AATACGGAGCTTGCGAACATCGCTTCCATCGTTGACTGGATTAACATCATGACCTACGAT			840
Query	841	TTTAACGGAGCCTGGCAGAAAATCAGTGCACACAATGCACCGCTGAATGCGGATCCTGCC			900
Sbjct	841	TTTAACGGAGCCTGGCAGAAAATCAGCGCACACAATGCACCGCTGAATGCGGATCCTGCC			900
Query	901	GCTGCAAGTGCAGGGGTACCAGATAGCAATACTTTTAATGTGGCTGCCGGAGCCCAAGGG			960
Sbjct	901	GCTGCAAGTGCAGGGGTACCAGATAGCAATACTTTTAATGTGGCTGCCGGAGCACAAAGGA			960
Query	961	CATCTGAATGCAGGAGTACCGGCTGCCAAGCTGGTGTGGGTGTTCCATTTTACGGTCTGA			1020
Sbjct	961	CATCTGAATGCAGGAGTACCGGCTGCCAAGCTGGTGTGGGTGTTCCATTTTACGGTCTGA			1020

ภาพที่ 18 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่วิเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่ามีความคล้ายคลึงกับส่วนของยีน chitinase type II gene ของเชื้อ *Paenibacillus xylanilyticus* (Accession [no. MN597082.1](#)) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์


```

Query 1021 GGCTGGGATGGATGTGCACAGGCGAATAACGGCCAGTATCAAACGTGTTCCGGTGGTTCT 1080
          |||
Sbjct 1021 GGCTGGGATGGATGTGCACAGGCGAATAACGGCCAGTATCAAACGTGTTCCGGTGGTTCT 1080

Query 1081 TCTGTAGGAACCTGGGAGGCAGGCTCCTTTGATTTTACGATCTGGAAGCGAACTACATT 1140
          |||
Sbjct 1081 TCTATAGGAACCTGGGAGGCAGGCTCCTTTGACTTTTACGATCTGGAAGCGAACTATATT 1140

Query 1141 AATAAGAATGGATACACACGCTATTGGAACGACACAGCCAAAGTGCCGTTTCTCTATAAC 1200
          |||
Sbjct 1141 AATAAGAATGGATACACACGCTATTGGAACGACACAGCCAAAGTGCCGTTTCTCTATAAC 1200

Query 1201 GCCTCCAACAAGCGCTTCATCAGCTATGACGATGCGGAGTCCATTGGACACAAAACCGCA 1260
          |||
Sbjct 1201 GCCTCCAACAAGCGCTTCATCAGCTATGACGATGCGGAGTCCATTGGACACAAAACCGCA 1260

Query 1261 TATATCAAGAGCAAAGGGCTTGGCGGAGCGATGTTCTGGGAGCTCAGTGGGGACCGCAAC 1320
          |||
Sbjct 1261 TATATCAAGAGCAAAGGGCTTGGCGGAGCGATGTTCTGGGAGCTCAGTGGGGACCGCAAC 1320

Query 1321 AAGACTCCAAAACAAGTTGAAATCGGATCTGTTAACGGGGGTACAGTGCCTCCTGCG 1380
          |||
Sbjct 1321 AAGACTCCAAAACAAGTTGAAATCGGATCTGTTAACGGGGGTACAGTGCCTCCTGCG 1380

Query 1381 GATACGACGGCACCAGTGTACCGGTAATGCCCGTTCGACAGGAGTAACGGCAAGCTCC 1440
          |||
Sbjct 1381 GATACGACGGCACCAGTGTACCGGTAATGCCCGTTCGACAGGAGTAACGGCAAGCTCC 1440

Query 1441 GTAACCTTGGCCTGGAATGCTTCGACGGATAACGTTGGCGTTACCGGTTATAACGTCTAC 1500
          |||
Sbjct 1441 GTAACCTTGGCCTGGAATGCTTCGACGGATAACGTTGGCGTTACCGGTTATAACGTCTAC 1500

Query 1501 AATGGCACTAGTCTCGTGACTTTCGTTACTGGAACAACCTGCAACAATTAGCGGGCTTGCA 1560
          |||
Sbjct 1501 AATGGCACTAGCTAGTCTCGTGACTTTCGTTACTGGAACAACCTGCAACAATTAGCGGGCTTGCA 1560

Query 1561 TCAGGTACTTCTATACCTTACCGTAAAAGCAAAGGATGCCGAGGCAATCTATCCGCA 1620
          |||
Sbjct 1561 CCAGGTACTTCTATACCTTACCGTAAAAGCAAAGGATGCCGAGGCAATCTATCCGCA 1620

Query 1621 GCTAGTAATAGCGTTACAGTAAGCACTACGGTTCAGCCGGGGGAGATACCCAAGCACCA 1680
          |||
Sbjct 1621 GCTAGTAATAGCGTTACAGTAAGCACTACGGTTCAGCCGGGGGAGATACCCAAGCACCA 1680

Query 1681 ACCGTGCCGACCAACCTCACATCAACTGCCAAAACCTCATCTACGATTACCCTTAGCTGG 1740
          |||
Sbjct 1681 ACCGTGCCGACCAACCTCACATCAACTGCCAAAACCTCATCTACGATTACCCTTAGCTGG 1740

Query 1741 GCGGCCTCCGAGGACAACGTTGGTGTAAACGGGTATGAGGTATACAACGGAAGTGCCTTG 1800
          |||
Sbjct 1741 GCAGCCTCCAGGACAACGTTGGTGTAAACGGGTATGAGGTATACAACGGAAGTGCCTTG 1800

Query 1801 GTGACAACCGTTAGTGAACATCGGCAACTGTTACGGGCCTAACGGCAGACACCTCTTAT 1860
          |||
Sbjct 1801 GTGACAACCGTTAGTGAACATCGGCAACTGTTACGGGCCTAACGGCAGACACCTCTTAT 1860

Query 1861 ACGTTTACAGTAAAAGCGAAGGATGCGGCAGGCAACCTGCTGCTGCGAGCAGTGCCTTG 1920
          |||
Sbjct 1861 ACGTTTACAGTAAAAGCGAAGGATGCGGCAGGTAACCTGCTGCTGCGAGCAGTGCCTTG 1920

Query 1921 ACGGTGAAAACCGAAGTGGGTACGACGAATCCCGCGCTCTCCGCTTGGCAGGCAATACG 1980
          |||
Sbjct 1921 ACGGTGAAAACCGAAGTGGGTACGACGAATCCCGCGCTCTCCGCTTGGCAGGCAATACG 1980

Query 1981 GCTTATGTGTTAGGGCAGCTGGTTACGTATAATGGAAAAACGTATAAATGCCTGCAATCC 2040
          |||
Sbjct 1981 GCTTATGTGTTAGGGCAGCTGGTTACGTATAATGGAAAAACGTATAAATGCCTGCAATCC 2040

Query 2041 CATACCTCCTTAAACGGGGTGGGAGCCTTCCAATGTGGCTGCATTGTGGCAGCTTCAACCG 2100
          |||
Sbjct 2041 CATACCTCCTTAAACGGGGTGGGAGCCTTCCAATGTGGCTGCATTGTGGCAGCTTCAACCG 2100

Query 2101 TAA 2103
          |||
Sbjct 2101 TAA 2103

```

ภาพที่ 18 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่วิเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่ามีความคล้ายคลึงกับส่วนของยีน chitinase type II gene ของเชื้อ *Paenibacillus xylanilyticus* (Accession [no. MN597082.1](#)) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์

chitinase [Paenibacillus sp. 7516]
Sequence ID: WP_095290735.1 Length: 700 Number of Matches: 1
Range 1: 1 to 700 [GenPeptGraphics](#) Next Match Previous Match

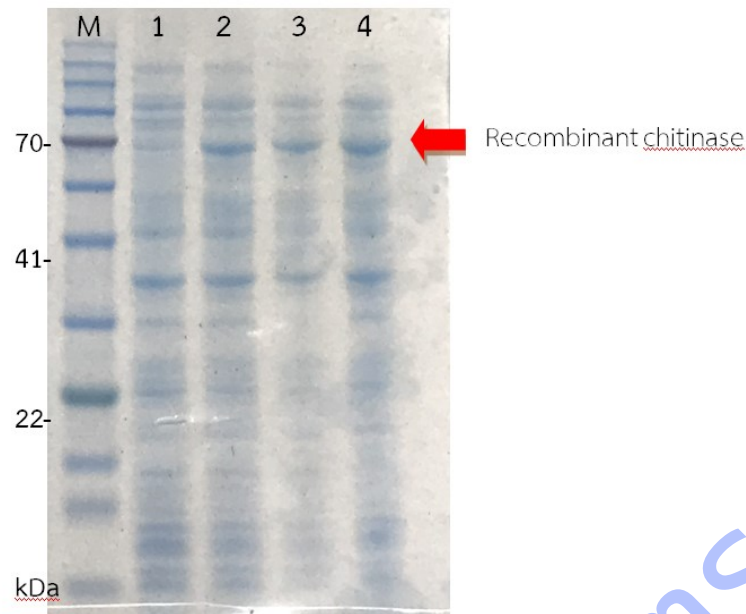
Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Positives	Gaps
1258 bits (3256)	0.0	685/700 (98%)	694/700 (99%)	0/700 (0%)
Query 1	MSYKAKPMDfKkvgkvlllgvllllsvIIPSFTLQSR TAEAADAYKIVGYPPAWAAYGRNY			60
Sbjct 1	MSYKAKHMDfKkvgkvlllgvllllsvIIPSFTLQSR TAEAADAYKIVGYPPAWAAYGRNY			60
Query 61	NVTDIDPTKVTHINYAFADICWNGIHGNPDPSPGNPVTWSCQNEKSQTINVPNGTIVLGD			120
Sbjct 61	NVTDIDPTKVTHINYAFADICWNGIHGNPDPSPGNPVTWSCQNEKSQTINVPNGTIVLGD			120
Query 121	PWIDTGKQFAGD TWDQPYAGNINQLNKLKQVNP NLKTIISVGGWTWSNRFS DVAATSATR			180
Sbjct 121	PWIDTGKQFAGD TWDQPYAGNINQLNKLKQVNP NLKTIISGGWTWSNRFS DVAATSATR			180
Query 181	EVFANS AVDFLRKYNFDGVDLDWEYVPSGGLDGNSKRPE DKQNYTLLLSKIREKLDAAEA			240
Sbjct 181	EVFANS AVDFLRKYNFDGVDLDWEYVPSGGLDGNSKRPE DKQNYTLLLSKIREKLDAAEA			240
Query 241	VDGKEYLLTIASGASPTYAANTELANIASIVDWINIMTYDFNGAWQKISahnapl nadpa			300
Sbjct 241	ADGKEYLLTIASGASPTYAANTELANIASIVDWINIMTYDFNGAWQKISAHNAPLNADPA			300
Query 301	aasaGVPDSNTFNVAAGA QGHLNAGVPAAKLV LGVPPFYGRGWDGCAQANNGQYQTCSSGGS			360
Sbjct 301	AASAGVPDNTFNVAAGA QGHLNAGVPAAKLV LGVPPFYGRGWDGCAQANNGQYQTCSSGGS			360
Query 361	SVGTWEAGSFDFYDLEANYINKNGYTRYWNDTAKVPFLYNASNKRFI SYDDAESIGHKTA			420
Sbjct 361	SIGTWEAGSFDFYDLEANYINKNGYTRYWNDTAKVPFLYNASNKRFI SYDDAESIGHKTA			420
Query 421	YIKSKGLGGAMFWELSGDRNKTLQNKLSDDL TGGTVPPADTTAPSVPGNARSTGVTASS			480
Sbjct 421	YIKSKGLGGAMFWELSGDRNKTLQNKLSDDL TGGTVPPADTTAPSVPGNARSTGVTASS			480
Query 481	VTLAWNASTDNVGVGTGYNVYNGTSLVTFVTGT TATISGLASGTSYTFVTKAKDAAGNLSA			540
Sbjct 481	VTLAWNASTDNVGVGTGYNVYNGTSLVTSVTGT TATISGLASGTSYTFVTKSKDAAGNLSA			540
Query 541	AsnsvtvsttvQPGGDTQAPT VPTNLSTAKTSSTITLSWAASEDNVGVGTGYEVYNGTAL			600
Sbjct 541	ASNSITVSTTVQPGGDTQAPT VPTSLTSTAKTSSTITLSWAASTDNVGVGTGYEVYNGTAL			600
Query 601	vttvsgtsatvtgltADTSYTFVTKAKDAAGNLSaassaLTVKTEVGT TNPVSAWQANT			660
Sbjct 601	VTTVSGT+ATVTGLTADTSYTFVTKAKDAAGNLSAASSALTVKTEVGT TNPVSAWQANT			660
Query 661	AYVVGQLVTTYNGKTYKCLQSHTSLTGWEP SNVAALWQLQP 700			
Sbjct 661	AYVVGQLVTTYNGKTYKCLQSHTSLTGWEP SNVAALWQLQP 700			

ภาพที่ 19 การเปรียบเทียบลำดับของอะมิโนแอซิดของยีน chitinase ที่ได้จากการโคลนเทียบกับฐานข้อมูลโปรตีน NCBI ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับยีน chitinase [*Paenibacillus* sp.] (Accession No. WP_095290735.1) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์

6.3.2. การทดสอบการแสดงออกในระดับโปรตีนของ recombinant enzyme chitinase

การถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน chitinase เข้าสู่เซลล์ *E. coli* สายพันธุ์ BL21 (DE3) เพื่อการผลิตรีคอมบิแนนท์โปรตีน เปรียบเทียบการชักนำการแสดงออกของยีนด้วยสาร IPTG ที่ความเข้มข้น 3 mM เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง เก็บเซลล์ทุก 2 ชั่วโมง เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบการแสดงออกของโปรตีนสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 โดยรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ chitinase ที่ได้มีขนาดประมาณ 74 กิโลดาลตัน ดังภาพที่ 9

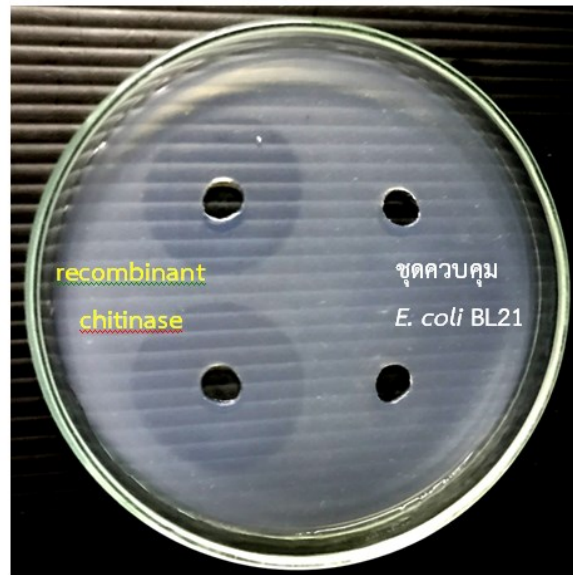


ภาพที่ 20 การแสดงออกของโปรตีน fusion protein (ลูกศรชี้) ที่ได้รับการชักนำการแสดงออกของยีนด้วย 3mM IPTG Lane M; protein marker Lane 1 - 4; *E. coli* BL21 (DE3) ได้รับการถ่ายฝากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน chitinase ที่ได้รับการกระตุ้นนาน 0, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

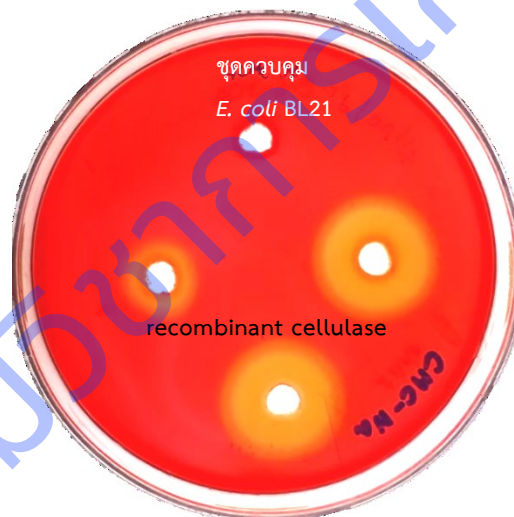
6.4 การทดสอบกิจกรรมของ crude protein โดยวิธี Bioassay technique

การทดสอบกิจกรรมของ recombinant chitinase โดยวิธี Bioassay plate technique โดยใช้ crude protein หรือ crude enzyme ที่ได้จากการนำ recombinant *E. coli* ที่ได้รับการถ่ายยีน มากระตุ้นการทำงานของยีนด้วย 3mM IPTG นาน 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบในอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน ในปริมาตร 20 ไมโครลิตรเท่ากัน เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง พบว่า เอนไซม์มีกิจกรรมที่ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม *E. coli* BL21 (DE3) ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน ซึ่งไม่พบกิจกรรมการย่อยบนอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ ดังภาพที่ 21

ส่วนการทดสอบกิจกรรมของ recombinant cellulase สามารถทดสอบในอาหารที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ นำ recombinant *E. coli* ที่ได้รับการถ่ายยีน มาทำการกระตุ้นการทำงานของยีนด้วย 3mM IPTG นาน 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน ในปริมาตร 20 ไมโครลิตรเท่ากัน เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้อมด้วยสี congo red พบว่า เอนไซม์มีกิจกรรมที่ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม *E. coli* BL21 (DE3) ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน ซึ่งไม่พบกิจกรรมการย่อยบนอาหารที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ดังภาพที่ 22



ภาพที่ 21 เปรียบเทียบกิจกรรมของ recombinant chitinase (crude enzyme) ที่ได้จากการทำพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน chitinase โดยวิธี Bioassay technique ในอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 22 เปรียบเทียบกิจกรรมของ recombinant cellulase (crude enzyme) ที่ได้จากการทำพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมของยีน cellulase โดยวิธี Bioassay technique ในอาหารที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบ ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

1. การคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมกับถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน โดยทำการคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมมีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนให้แก่ถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน พบว่ามีสายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมจำนวน 3 สายพันธุ์ จาก 30 สายพันธุ์ ได้แก่ DASA 32116 DASA 32019 และ DASA 32025 เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ในสภาพกระถางทดลอง ผลปรากฏว่ากรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสายพันธุ์ DASA 32025 มีจำนวนปม น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งปม มากที่สุด น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก ในกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม สายพันธุ์ DASA 32019 มีน้ำหนักมากที่สุดและ มีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ 5 ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมผสม สายพันธุ์ DASA 32116 DASA 32019 และ DASA 32025 และกรรมวิธีที่ 7 (ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้นในกรรมวิธีที่ 3 (ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสายพันธุ์ c) มีค่ามากที่สุด โดยกรรมวิธีที่ 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 7 และค่าการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่ 7 (ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีค่าการตรึงไนโตรเจนมากที่สุด รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 4 (ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วเป่าหมาย) กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสายพันธุ์ DASA 32025 และพบว่ากรรมวิธีที่ 1, 2 และ 6 ค่าการตรึงไนโตรเจนน้อยและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 7 ผลผลิตของถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 105 วันหลังปลูกจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด น้ำหนักเมล็ด และ น้ำหนัก 100 เมล็ดในทุก ๆ กรรมวิธีการใส่ปุ๋ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การใส่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ B เพียงอย่างเดียวให้จำนวนฝัก/ต้น จำนวนเมล็ดทั้งหมด นน.เมล็ดทั้งหมด มากที่สุด และพบว่าการนำเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปายมาผสม 3 สายพันธุ์ พบว่าให้ผลผลิตที่ดีกว่าปุ๋ยชีวภาพสำหรับถั่วเหลืองที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร

2. เชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเติบโตของพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารวุ้นได้จำนวน 33 ไอโซเลท และจำแนกเป็น 2 สกุล คือ สกุล *Azospirillum* และ สกุล *Azotobacter* ผลของการวัดความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและความสามารถในการผลิต IAA ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ชี้ให้เห็นว่า เชื้อสกุล *Azotobacter* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าเชื้อสกุล *Azospirillum* แต่มีความสามารถในการผลิต IAA ได้ต่ำกว่า ส่วนการศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ 999 ข้าวไร้พันธุ์พื้นเมือง และกระเทียมพันธุ์พื้นเมือง แบคทีเรียทั้งสองสกุลทุกไอโซเลทมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบแตกต่างกัน โดยแบคทีเรียไอโซเลท AP1 มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิดสูงที่สุด รองลงมา คือ แบคทีเรียไอโซเลท AT1

3. การศึกษาความหลากหลายของราดินในพื้นที่ป่าและพื้นที่ทำการเกษตรบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน พบราทั้งหมด 350 สายพันธุ์ จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ทั้งหมด 18 สกุล 20 ชนิด แบ่งเป็นราในกลุ่ม Zygomycota 4 สกุล Ascomycota 13 สกุล Basidiomycota 1 สกุล ราที่พบมากในทุกพื้นที่ ได้แก่ *Aspergillus niger* (32 สายพันธุ์) รองลงมาได้แก่รา *Talaromyces* spp. (30 สายพันธุ์) และ *Neosartorya* spp. (23) ตามลำดับ ราที่พบเฉพาะในพื้นที่ทำการเกษตรได้แก่ รา *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfsii* และ *Trichoderma harzianum* ราที่พบเฉพาะในดินป่าได้แก่รา *Myrothecium verucaria* ผลการทดสอบประสิทธิภาพของราดิน พบราดินจำนวน 10 สายพันธุ์สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ ราดินจำนวน 53 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างสาร siderophore และพบ

ราดินจำนวน 91 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง Indole acetic acid (IAA) นอกจากนี้ยังพบว่ามีราดินหลายสายพันธุ์สามารถยับยั้งราสาเหตุโรครากเน่าของพืชหลายชนิด อย่างรา *R. solani* พบราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญได้จำนวน 15 สายพันธุ์ รา *S. rolfsii* พบราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญได้จำนวน 11 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีราดินจำนวน 15 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งรา *F. oxysporum* และ ราดิน 24 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งการเจริญของรา *C. gloeosporioides* ได้ ซึ่งราดินส่วนใหญ่ที่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรครากเน่าได้ในระดับดีเป็นราในสกุล *Trichoderma* spp.

4. เชื้อ *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีความสามารถในการสร้าง siderophore ดีที่สุด *Streptomyces* sp. WF 10-1 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตดีที่สุด ส่วนแอกติโนมัยสิตที่แยกได้จากดินในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝนที่มีการสร้างกรดอินโดลอะซีติกมีจำนวนทั้งหมด 42 32 และ 29 ไอโซเลท ตามลำดับ เมื่อคัดเลือกแอกติโนมัยสิตที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 10 ไอโซเลทมาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรครากเน่า พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรครากเน่า *E. carotovora* pv. *carotovora*, *R. solanacearum*, *X. axonopodis* pv. *glycines* และ *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้ดีที่สุดในส่วน *Streptomyces* sp. WA 20-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *X. campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุดใน การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรครากเน่า พบว่า *Streptomyces* sp. RF 23-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าได้ทุกชนิด และพบว่า *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อไรโซเบียมทั้ง 3 ชนิด คือ *B. japonicum* DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 และ *B. daqingense* DASA 03084 ดังนั้นจึงสามารถใช้ *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ร่วมกับการใช้ไรโซเบียมทั้ง 3 ชนิดได้ เมื่อคัดเลือกแอกติโนมัยสิต *Streptomyces* sp. WF 4-1 และ *Streptomyces* sp. RF 12-4 ไปทำการทดสอบในระดับโรงเรือน พบว่า ต้นกล้าถั่วเขียวมีอาการเน่าตายเมื่อได้รับการปลูกเชื้อรา *S. rolfsii* แม้จะปลูกเชื้อแอกติโนมัยสิต *Streptomyces* sp. WF 4-1 ร่วมด้วย ส่วนต้นกล้าที่มีการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. RF 12-4 มีการเกิดโรคปานกลางในระดับ 2 ส่วนการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครากเน่า *E. carotovora* pv. *carotovora* ทำให้ต้นกล้าถั่วเขียวเกิดโรคเล็กน้อยในระดับ 1 แต่ความสูงของต้น น้ำหนักสด ความยาวรากและจำนวนปมรากของแต่ละกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ข้อมูลจากการทดลองนี้สามารถนำไปพัฒนาและทดสอบรูปแบบของการนำแอกติโนมัยสิตไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญของพืชหรือการยับยั้งเชื้อก่อโรครากเน่าในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลองต่อไปได้

5. ผลการสำรวจประชากรนีมาโทดในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน 4 ช่วงต่อปี ได้แก่ ช่วงที่ 1 เดือนพฤศจิกายน 2559 ช่วงที่ 2 เดือนมกราคม 2560 ช่วงที่ 3 เดือนมีนาคม 2560 และช่วงที่ 4 เดือนพฤษภาคม 2560 โดยใช้เทคนิค Whitehead tray ในการแยกนีมาโทดออกจากตัวอย่างดิน สามารถแยกได้นีมาโทดแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่กินแบคทีเรีย กลุ่มที่กินเชื้อรา กลุ่มที่เป็น Predator และกลุ่มที่เป็นศัตรูพืช กลุ่มที่พบจำนวนประชากรนีมาโทดมากที่สุดในตัวอย่างดินต้นน้ำ คือ กลุ่มกินแบคทีเรีย รองลงมาคือกลุ่มกินเชื้อรา เท่ากับ 132 และ 98 ตัวต่อดิน 500 กรัม ในช่วงเดือนพฤศจิกายน และในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่พบประชากรนีมาโทดมากที่สุดรวมเท่ากับ 334 ตัวต่อดิน 500 กรัม และพบน้อยที่สุดในช่วงเดือนมีนาคม เท่ากับ 180 ตัวต่อดิน 500 กรัม เป็นผลจากในช่วงพฤศจิกายน มีอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงมีนาคม สำหรับพื้นที่ปลายน้ำมีจำนวนประชากรนีมาโทดเป็นในทิศทางเดียวกันกับพื้นที่ต้นน้ำ แต่จำนวนประชากรต่ำกว่า เป็นผลจากการทำเกษตรซึ่งมีการไถพรวน

พลิกหน้า ส่งผลให้ประชากรนีมาโทดลดลง แต่พบว่าในกลุ่มนีมาโทดที่เป็นศัตรูพืชเพิ่มขึ้นในช่วงพฤศจิกายน และ มกราคม ผลการจำแนกสกุลของนีมาโทดของ 4 กลุ่ม พบว่ากลุ่มกินแบคทีเรีย คือ Dolichorhabdites และ Rhabdites กลุ่มกินเชื้อรา ได้แก่ Aphelenchus กลุ่มที่เป็น Predator คือ Mononchus และกลุ่มศัตรูพืช ได้แก่ Helicotylenchus, Hoplolaimus, Paratylenchus และ Rotylenchus

6. การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคติเนสจากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย จำนวน 4 แหล่ง ได้แก่ พื้นที่ป่าปลายน้ำ พื้นที่เกษตรปลายน้ำ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ พื้นที่ป่าธรรมชาติต้นน้ำบ้านแม่ณะ ในช่วงฤดูกาลต่างๆ พบว่า สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคติเนส บนอาหาร selective medium ที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลส และไคติเนส สามารถคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งสิ้น 296 ไอโซเลท แบ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จำนวน 198 ไอโซเลท และจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส จำนวน 98 ไอโซเลท การโคลนยีน chitinase สามารถเพิ่มปริมาณในส่วนของยีน ที่มีขนาดประมาณ 2,103 bp เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของยีน chitinase type II gene ของเชื้อ *Paenibacillus xylanilyticus* (Accession [no. MN597082.1](#)) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแปรรหัสเป็นลำดับของกรดอะมิโน พบว่า มีความคล้ายคลึงกับอะมิโนแอซิดของยีน chitinase (*Paenibacillus* sp.) (Accession [No. WP_095290735.1](#)) ที่ identity 98 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการทดสอบการแสดงออกในระดับโปรตีนของเอนไซม์ chitinase พบว่า รีคอมบิแนนท์เอนไซม์ chitinase ที่ได้มีขนาดประมาณ 74 กิโลดาลตัน การโคลนยีน cellulase สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีน cellulase ที่มีขนาดประมาณ 1,500 bp เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI พบว่า มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของยีน endoglucanase gene ของเชื้อ *Bacillus velezensis* (Accession [no. KY427020.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแปรรหัสเป็นลำดับของกรดอะมิโน พบว่า มีความคล้ายคลึงกับอะมิโนแอซิดของยีน cellulase family glycosylhydrolase [*Bacillus*] (Accession [No. WP_025851060.1](#)) ที่ identity 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการทดสอบการแสดงออกในระดับโปรตีนของเอนไซม์ cellulase พบว่า รีคอมบิแนนท์เอนไซม์ cellulase ที่ได้มีขนาดประมาณ 55 กิโลดาลตัน ซึ่งตรวจพบกิจกรรมของรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ cellulase มีผลทำให้ recombinant *E. coli* สามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้

กิจกรรมที่ 3

การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

Utilization of Soil Microorganisms to Enhance Crop Production Potential in Areas Effected by Climate Change in Pai River basin.

ชื่อผู้วิจัย

มนต์ชัย มนัสสิลา จิตรา เกาะแก้ว กัลยกร โปรงจันทิก อำนาจ เอี่ยมวิจารย์ อมรรัตน์ ใจยะเสน
กิตจเมธ แจ้งศิริกุล สุรียนต์ ดีตเหล็ก

Monchai Manassila Jitra Kokaew Kunlayakorn Prongjunthuek Amnat Eamvijarn
Amornrat Chaiyasen Kitjamate Jangsirikul Suriyon Deedlek

คำสำคัญ (Key words)

เชื้อไรโซเบียม แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ถั่วเหลือง ข้าว ข้าวโพด กระเทียม
Rhizobium, Plant growth promoting rhizobacteria, Soybean, Rice, Maize, Garlic

บทคัดย่อ

การใช้เชื้อไรโซเบียมที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย ที่แปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน ผลการทดลองพบว่าจำนวนปมของถั่วเหลืองตาแดงที่ปลูกในช่วงฤดูฝนทั้งสองปีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ น้ำหนักสดปมในปีที่ 1 มีความแตกต่างทางสถิติโดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม ในขณะที่ปีที่ 2 น้ำหนักสดปมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ น้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้น และค่าการตรึงไนโตรเจน ทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ความสูงของต้นระยะเก็บเกี่ยว จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยว และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ ของการทดลองทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จำนวนเมล็ดต่อต้นในปีที่ 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่จำนวนเมล็ดต่อต้นในปีที่ 2 พบว่าจำนวนเมล็ดต่อต้นของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียมมีจำนวนเมล็ดต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 124 เมล็ดต่อต้น กระบวนการการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการเพิ่มผลผลิตข้าวในพื้นที่ชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2563 โดยใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสองสกุลที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปาย คือ *Azospirillum* sp. ไอโซเลท AP1

และ *Azotobacter* sp. ไอโซเลท AT1 เปรียบเทียบกับแบคทีเรียอ้างอิง *Azospirillum brasilense* ไอโซเลท DASF04005 ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิสิกส์-ทูล สำหรับข้าว ของกรมวิชาการเกษตร ดำเนินการศึกษาในพื้นที่ต้นน้ำ (อำเภอปาย) และปลายน้ำ (อำเภอเมือง) จังหวัดแม่ฮ่องสอน ผลการทดลอง พบว่า การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองสกุลที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปาย (AP1 และ AT1) ในการปลูกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองให้ผลไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างกับแบคทีเรียอ้างอิงของกรมวิชาการเกษตร (DASF04005) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองได้ กระบวนการในการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการเพิ่มผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ผลการทดลองพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปายในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ได้ และควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากขึ้น ผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิตกระเทียมในลุ่มน้ำปาย ผลการศึกษากการพบว่ากระเทียมให้ผลผลิตระหว่าง 1,499 – 3,076 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตสูงสุดที่ 3,076 กิโลกรัมต่อไร่ ในพื้นที่ปลายน้ำ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปาย พบว่า การสะสมไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมมากที่สุดที่ 1.63 เปอร์เซ็นต์ และ 1.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในใบการสะสมโพแทสเซียม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัสมากที่สุดที่ 0.91 เปอร์เซ็นต์ และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปาย พบว่าการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสม ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่การสะสมไนโตรเจนพบว่า กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 สะสมไนโตรเจนมากที่สุดที่ 2.41 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในใบการสะสมโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน ในกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 มากที่สุดที่ 0.94 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมฟอสฟอรัสในกรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มากที่สุดที่ 1.6 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดในการปลูกกระเทียมให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน และให้ผลผลิตกระเทียมใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยเคมี

Abstracts

The use of rhizobium isolated from the Pai river basin to develop it as a bio-fertilizer product to increase soybean yield in areas affected by climate change in the Pai River basin. At

the Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center, Mae Hong Son District, Mae Hong Son Province, the results showed that the number of knots of red-eyed soybeans planted during the two rainy seasons were not statistically different. The nodule fresh weight in first year was statistically different by chemical fertilizer application at the rate of 0-3-0 N-P₂O₅-K₂O per rai with rhizobium. There was a statistically significant difference compared to the control process. The process of applying chemical fertilizer at the rate of 3-3-0 kg N-P₂O₅-K₂O per rai and the process of applying chemical fertilizer at the rate of 3-3-0 kg N-P₂O₅-K₂O per rai with rhizobium. While in the second year, the live weight of the knot had no statistical difference. Dry weight, nodulet fresh weight, root weight, dry weight, fresh weight, plant, dry weight, plant and the nitrogen fixation values for both 2 years were not statistically different. Height of the plant at harvest time Number of pods per plant, 100 seeds weight, yield weight in harvested area and yield weight per rai. There was no statistical difference between the 2-year trials. The number of seeds per plant in year 1 was not statistically different. While the number of seeds per plant in the second year, it was found that the number of seeds per plant was 3-3-0 kg N-P₂O₅-K₂O per rai and 3-3-0 kg of chemical fertilizer application. N-P₂O₅-K₂O per rai with rhizobium There was a statistically significant difference. By the process of applying chemical fertilizers at the rate of 3-3-0 kg N-P₂O₅-K₂O per rai together with rhizobium, the number of seeds per plant was the greatest of 124 seeds per plant. To increase rice yield in communities affected by climate change in the Pai River basin Mae Hong Son Province during the year 2019–2020 using growth promoting bacteria of two genus isolated from the Pai River basin area, *Azospirillum* sp. Isolate AP1 and *Azotobacter* sp. AT1 isolate compared with reference bacteria. *Azospirillum brasilense* isolate DASF04005 used in the production of PGPR-II bio-fertilizers for rice of the Department of Agriculture. The study was conducted in upstream (Pai District) and downstream (Muang District), Mae Hong Son Province. The results showed that the use of bacteria promoted the growth of both genus plants isolated from the Pai River Basin (AP1 and AT1). The indigenous rice cultivar yielded no different and not different from the reference bacteria of the Department of Agriculture (DASF04005). It was also found that the use of bacteria to promote the growth of both genus *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp. Together with the application of chemical fertilizers, the recommended rate based on soil analysis values can help increase the yield of indigenous rice cultivars. The process of using bacteria promotes plant growth in increasing the yield of maize in the affected community areas by climate change in the Pai River basin Mae Hong Son Province. The results of the experiment showed that two genera of growth-promoting bacteria, *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp., isolated from the Pai River basin area were not different in cultivation of maize cultivar NH-146. And also found that the use of bacteria promotes the growth of both genera in conjunction with chemical fertilization, it can improve the yield and

yield quality of NH-146 maize, and further studies should be carried out in the long term to get more clear results. Effects of Plant Growth Promoting Bacteria in Garlic Production in Pai River Basin. The results of the study showed that garlic yielded between 1,499 - 3,076 kg / rai. Method 2: Chemical fertilizer 10-5-5 kg. N-P₂O₅-K₂O per rai gave the highest yield at 3,076 kg / rai. In the downstream area Nutrient accumulation in the root, tuber and leaf of garlic from the Pai upstream field showed that the accumulation of nitrogen, phosphorus and potassium in the roots was found. Not statistically different. In the head, phosphorus accumulation was not significantly different. But the accumulation of nitrogen Method 4: Plant growth-promoting bacteria *Azotobacter* sp. AT9 had nitrogen accumulation. And potassium was the most at 1.63 percent and 1.29 percent, respectively, in the potassium deposition leaves Method 4 The growth-promoting bacteria of *Azotobacter* sp. AT9 had the highest nitrogen and phosphorus accumulation at 0.91% and 2.0%. The difference was statistically significant. Nutrient accumulation in the roots, tubers and leaves of garlic from the downstream experiments of Pai. Found that phosphorus accumulation and root potassium not statistically different. The phosphorus and potassium deposition were not statistically different, but nitrogen accumulation was found that method 4 using bacteria promoted the plant growth *Azotobacter* sp. AT9 the highest nitrogen accumulation at 2.41%. The difference was statistically significant. In the leaves, the potassium accumulation was not significantly different. But the accumulation of nitrogen In the fifth method, the growth promoting bacteria of *Azospirillum* sp. AP1 was applied the most at 0.94 percent. The difference was statistically significant. Phosphorus accumulation in method 4 put the growth promoting bacteria of *Azotobacter* sp. AT9 plant at 1.6%, the most statistically significant difference. From the results of the experiment, each type of growth-promoting bacteria was not different in garlic cultivation. And yielding garlic close to the use of chemical fertilizers.

บทนำ

พื้นที่ลุ่มน้ำปาย ตั้งอยู่ในจังหวัดแม่ฮ่องสอน ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพหลัก คือ เกษตรกรรม ได้แก่ การทำนา ทำไร่ ประมาณ 88.5% พืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ได้แก่ ข้าวซึ่งเป็นหนึ่งในอาหารหลักและเป็นแหล่งโภชนาการสำหรับพลเมืองไทยส่วนใหญ่ ข้าวยังเป็นส่วนสำคัญในการส่งออกของไทย ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกจำนวน 131 ล้านไร่ เป็นพื้นที่ปลูกข้าวจำนวน 63,707 ไร่ สามารถผลิตข้าวได้มากเป็นอันดับ 6 ของโลก รองจาก จีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ และเวียดนาม จากข้อมูลการผลิตข้าวในปี 2550 - 2551 ผลผลิตข้าวที่ได้มีประมาณ 29.9 ล้านตัน ข้าวสายพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดในประเทศคือ ข้าวหอมมะลิ ซึ่งเป็นข้าวประเภทที่มีคุณภาพสูง อุตสาหกรรมข้าวของไทยในปัจจุบันเผชิญกับภัยคุกคามใหญ่ๆ 3 ประการ ได้แก่ 1) การแข่งขันในตลาดระหว่างประเทศที่เพิ่มมากขึ้น 2) การแข่งขันกับกิจกรรมทางเศรษฐกิจอื่นที่เพิ่มมูลค่าการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นทุนค่าแรงงาน และ 3) การเสื่อมคุณภาพของสภาพระบบนิเวศ เมื่อการผลิตข้าวทั่วโลกแข่งขันกันมากขึ้น จึงทำ

ให้เป็นการยากยิ่งขึ้นสำหรับประเทศไทยที่จะรักษาข้อได้เปรียบในการแข่งขันและขอบเขตที่ผู้ผลิตข้าวไทยเคยชิน สำหรับภัยคุกคามที่สองการพัฒนาประเทศให้ทันสมัยนำไปสู่การเพิ่มความมั่งคั่งและต้นทุนค่าแรงงาน ทำให้ชาวนาซึ่งใช้แรงงานมนุษย์ราคาถูกมีต้นทุนสูงขึ้น อย่างที่สาม ที่ดินขนาดใหญ่ซึ่งใช้ปลูกข้าวสามารถมีผลกระทบในทางที่ไม่ดีระยะยาวต่อผลผลิตต่อพื้นที่ได้

ถั่วเหลือง เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งที่เป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายสำหรับเกษตรกรที่ปลูกพืชไร่ตระกูลถั่ว ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองลดลงจาก 2.7 ล้านไร่ เหลือเพียง 1.5 ล้านไร่ ในระหว่างปี 2537-2542 เป็นต้นมา แต่ผลผลิตเฉลี่ยของถั่วเหลืองที่ได้เพิ่มขึ้นจาก 213 กิโลกรัมต่อไร่ เนื่องจากเทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลืองมีคุณภาพสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตถั่วเหลืองก็ยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาดในประเทศไทย เนื่องจากการผลิตถั่วเหลืองภายในตอบสนองความต้องการของภายในประเทศ ได้เพียงร้อยละ 30 เท่านั้น ต้นทุนการผลิตถั่วเหลืองของไทย สูงกว่าราคาถั่วเหลืองนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นการเพิ่มขีดความสามารถของการให้ผลผลิตถั่วเหลือง จึงมีความสำคัญ และจำเป็นอย่างยิ่งในสถานะที่มีการแข่งขันของตลาดค่อนข้างสูงในปัจจุบัน และต้องยอมรับกันว่าการที่จะเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลือง ให้มากขึ้นโดยส่งเสริมให้มีการขยายเนื้อที่เพาะปลูกให้มากขึ้น นั้น เป็นไปได้ค่อนข้างน้อยเนื่องจากพื้นที่เพาะปลูกลดลงเกือบครึ่งของพื้นที่ทั้งหมด ดังนั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่สำคัญ ได้แก่ การใส่ปุ๋ยและการจัดการดินให้เหมาะสมที่จะปลูกถั่วเหลือง โดยปกติแล้วการใส่ปุ๋ยเคมีให้กับถั่วเหลืองจะทำให้มีค่าใช้จ่ายในการลงทุนมากพอสมควร และปุ๋ยเคมี มีราคาแพงขึ้นมาก เกษตรกรส่วนใหญ่ต้องมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนมาก เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่จำเพาะเจาะจงกับพืชตระกูลถั่ว ซึ่งไรโซเบียมจะถูกจำแนกตามลักษณะความสามารถในการเข้าสร้างปมกับชนิดของพืชตระกูลถั่วที่อาศัยอยู่ เช่น *Bradyrhizobium japonicum* จะสร้างปมรากและตรึงไนโตรเจนเฉพาะกับถั่วเหลืองเท่านั้น ในสภาพแวดล้อมต่างก็ก็มีอิทธิพลต่อการเป็นอยู่ของไรโซเบียมต่างกัน (Boonkerd and Weaver, 1982; Weaver *et al.*, 1987) Boonkerd and Promsiri (1993) พบว่าอิทธิพลของระบบการปลูกพืชมีส่วนเกี่ยวข้องกับประชากรและความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม ในการผลิตพืชตระกูลถั่วการปลูกเชื้อไรโซเบียมให้กับรากถั่วสามารถเพิ่มผลผลิตได้ จากรายงานของ Duzan *et al.* (2004) พบว่าเมื่อมีการปลูกเชื้อ *B. japonicum* ให้กับถั่วเหลืองที่ปริมาณเซลล์ตั้งแต่ 10^3 ถึง 10^6 เซลล์ต่อเมล็ด ทำให้มีจำนวนปม น้ำหนักปม และน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้นตามปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการปลูกเชื้อ *B. japonicum* สามารถเพิ่มจำนวนฝัก จำนวนเมล็ด น้ำหนักต่อ 100 เมล็ด ปริมาณโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลือง (Zhang *et al.*, 2002) ในการปลูกพืชตระกูลถั่ว ไรโซเบียมจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ซึ่งไรโซเบียมสามารถผลิตปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืชตระกูลถั่วได้อย่างเพียงพอ ความต้องการไนโตรเจนของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น การผลิตถั่วเหลือง 3 ต้นต้องใช้ไนโตรเจน 300 กิโลกรัมในพื้นที่ 6.25 ไร่ การใส่ปุ๋ยชีวภาพเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มคุณภาพของผลผลิต

การเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศเพิ่มมากขึ้น ดังรายงานของ Kaur *et al.* (2018) ที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มตรึงไนโตรเจนอิสระในการผลิตข้าวสาลีเพื่อลดผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ โดยปลูกข้าวสาลีต่างระยะเวลากันร่วมกับการใช้เชื้อ *Azotobacter* sp. และพบว่า ความสูง จำนวนเมล็ด น้ำหนักเมล็ด และความยาวของเมล็ดมากกว่าไม่ใส่เชื้อ ซึ่งเป็นผลมาจากการผลิตออกซิน จิบเบอเรลลิน ความสามารถละลายฟอสเฟต และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

กระเทียมเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศอีกชนิดหนึ่ง นอกจากจะใช้ประกอบอาหารแล้วยังใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาโรคได้หลายชนิดอีกด้วย ประเทศที่ผลิตกระเทียมได้มาก คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน เกาหลีใต้ และอินเดีย สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกระเทียม 150,000 – 190,000 ไร่ ผลผลิตประมาณ 9,000 ตัน/ปี ผลผลิตสดเฉลี่ย 1,700 – 1,900 กิโลกรัม แต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ ต้องมีการนำเข้ากระเทียมจากต่างประเทศ โดยการปลูกกระเทียมจะใช้กลีบเป็นพันธุ์ปลูก และสามารถปลูกได้ดีในดินร่วนปนทรายที่ระบายน้ำดี กระเทียมจะลงหัวในช่วงที่มีอากาศหนาว ดังนั้นจึงปลูกได้ดีเฉพาะในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ พื้นที่ปลูกสำคัญ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย ลำปาง พะเยา อุตรดิตถ์ แม่ฮ่องสอน และศรีสะเกษ กระเทียมเป็นพืชอีกชนิดที่มีการใช้ปุ๋ยในปริมาณสูง ปุ๋ยเคมีสูตรที่นิยมใช้ 10-10-15 หรือ 13-13-21 อัตรา 50-100 กิโลกรัมต่อไร่ นอกจากนี้ในการเตรียมดินก่อนปลูกเกษตรกรนิยมใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการรองพื้นในอัตรา 2-3 ตันต่อไร่ แต่ผลผลิตที่ได้นอกจากจะน้อยแล้ว ยังมีคุณภาพที่ไม่ได้มาตรฐานเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้เกษตรกรยังพบปัญหาเกี่ยวกับโรคระบาดในการปลูกกระเทียมบางพื้นที่ เช่น โรคใบเน่าหรือแอนแทรกโนส โรคใบจุดสีม่วง และโรคหัวและรากเน่า

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินที่คัดเลือกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ในการนำไปใช้ผลิตพืชในพื้นที่หรือระบบนิเวศที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ

ระเบียบวิธีการวิจัย

1 การใช้เชื้อไรโซเบียมเพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ทดลองในสภาพไร่ที่แปลงเกษตรกร จ.แม่ฮ่องสอน โดยเตรียมแปลงทดลอง เพื่อปลูกถั่วเหลือง ขนาดแปลงทดลอง 4x6 เมตร ระยะปลูก 50 x 25 เซนติเมตร 2 ต้นต่อหลุม แปลงละ 6 แถว คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ที่ผลิตจากเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูง น้ำหนักรวม เป็นต้น หลังเก็บเกี่ยวบันทึกข้อมูล น้ำหนักฝักรวม น้ำหนักต้นแห้ง จำนวนปม และน้ำหนักปม ทั้งสดและแห้ง บันทึกข้อมูลการวิเคราะห์การสะสมไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในต้น และใบ หากการสะสมธาตุอาหารในต้นและผลผลิต บันทึกข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตต่าง ๆ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ กรรมวิธี 1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม) กรรมวิธี 2. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว กรรมวิธี 3. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ กรรมวิธี 4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ + ไรโซเบียม กรรมวิธี 5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ กรรมวิธี 6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ + ไรโซเบียม

2. การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ปลูกข้าวในแปลงทดลองขนาด 6x5 เมตร และใส่จุลินทรีย์ตามกรรมวิธีพร้อมปลูก 1 ครั้ง พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้น และใส่ปุ๋ยแต่งหน้า ทำการเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 110 – 125 วัน ในพื้นที่ 3x2 เมตร บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด น้ำหนักผลผลิตสด และจำนวนรวง หลังเก็บเกี่ยวหา

น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง การสะสมไนโตรเจนในต้น และเมล็ด และอัตราการตรึงไนโตรเจน บันทึกข้อมูล การวิเคราะห์การสะสมไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในต้น และเมล็ด อัตราการตรึงไนโตรเจน นับปริมาณแบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชรอบๆราก และองค์ประกอบผลผลิตอื่นๆ วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารดินก่อนปลูก และหลังปลูก

3 การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวโพดในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ปลูกข้าวโพดในแปลงทดลองขนาด 6X5 เมตร ระยะปลูก 75X25 ซม. แปลงละ 8 แถวๆละ 20 หลุมๆละ 1 ต้น และใส่จุลินทรีย์ตามกรรมวิธีพร้อมปลูก 1 ครั้ง พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้น และใส่ปุ๋ยแต่งหน้าเมื่ออายุ 15 วัน ทำการ เก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 55-65 วัน ในพื้นที่ 3X2 เมตร บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด น้ำหนักผลผลิตสด และจำนวนฝัก หลังเก็บเกี่ยวบันทึกข้อมูล น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง และน้ำหนักผลผลิตแห้ง การสะสมไนโตรเจนในต้น และเมล็ด และอัตราการตรึงไนโตรเจน บันทึกข้อมูลการ วิเคราะห์การสะสมไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในต้น และเมล็ด อัตราการตรึงไนโตรเจน นับปริมาณแบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชรอบๆราก และองค์ประกอบผลผลิตอื่นๆ วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารดินก่อนปลูก และหลังปลูก

4 การใช้จุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตกระเทียมในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ บริเวณลุ่มน้ำปาย

ปลูกกระเทียมในแปลงทดลองต้นน้ำ ต. แม่มาติง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน แปลงทดลองปลายน้ำ ต. ผา บ่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน แปลงทดลองขนาด 6X5 เมตร ระยะปลูก 10 X 10 เซนติเมตร และใส่แบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชตามกรรมวิธี พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้น ½ N-P-K ก่อนปลูก และใส่ปุ๋ย ½ N หลังจากปลูก 30 วัน หลังปลูก 45-50 วัน วัดอัตราการเจริญเติบโตของกระเทียม ทำการเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 110 – 125 วัน ในพื้นที่ 2X2 เมตร วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำประกอบด้วย กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. บันทึก ข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด บันทึกข้อมูล ผลผลิต เช่น น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง น้ำหนักผลผลิตสด และน้ำหนักผลผลิตแห้ง

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1 การใช้เชื้อไรโซเบียมเพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ บริเวณลุ่มน้ำปาย

ปีที่ 1

ปลูกถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน เมื่อวันที่ 20 มิถุนายน 2562 โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียม ซึ่งผลิตจากเชื้อโรโซเปียมที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปายทำการทดลองเปรียบเทียบการใช้ปุ๋ย 6 รูปแบบ ก่อนปลูกถั่วเหลืองตาแดง ได้เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เพื่อนำมาวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินและนับปริมาณเชื้อโรโซเปียมในดินโดยวิธี Most Probable Number (MPN) ก่อนปลูกถั่ว ผลการนับปริมาณเชื้อโรโซเปียมในดินพบว่า แปลงทดลองที่ อ. เมือง จ.แม่ฮ่องสอนมีปริมาณเชื้อโรโซเปียมเท่ากับ 52 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินพบว่า ดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร มีค่าอินทรีย์วัตถุ 2.29 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 84.225 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 205.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม(ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินก่อนปลูกถั่วในแปลงทดลอง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

ความลึก (ซม.)	pH ดิน	อินทรีย์วัตถุ (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
0-20	6.59	2.29	84.225	205.60

เมื่อต้นถั่วออกดอกได้ 80 เปอร์เซ็นต์ที่อายุ 48 วัน ดำเนินการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเมื่อวันที่ 7 สิงหาคม 2562 ผลการทดลองพบว่าจำนวนปมในทุก ๆ กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีจำนวนปมมากที่สุดเท่ากับ 264 ปมต่อต้น ในขณะที่น้ำหนักสดปมของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับโรโซเปียม มีน้ำหนักสดปมมากที่สุด 2.74 กรัมต่อต้น และกรรมวิธีดังกล่าวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ เพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียม ส่วนน้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี และค่าการตรึงไนโตรเจนของทุก ๆ กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับโรโซเปียม มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 90.37 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนปมราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก ปมราก และลำต้น และค่าการตรึงไนโตรเจนของโรโซเปียมในปมรากของต้นถั่วเหลืองในระยะออกดอก อายุ 48 วันหลังปลูก แปลงทดลอง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

กรรมวิธี	จำนวนปม/ต้น	น้ำหนักสดปม (กรัม)/ต้น	น้ำหนักแห้งปม (กรัม)/ต้น	น้ำหนักสดราก (กรัม) / ต้น	น้ำหนักแห้งราก (กรัม) / ต้น	น้ำหนักสดต้น (กรัม) / ต้น	น้ำหนักแห้งต้น (กรัม)	ค่าการตรึงไนโตรเจน (µmol C ₂ H ₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง)
กรรมวิธีควบคุม	147	1.56 bc	0.32	22.32	4.80	264 b	48.82	57.04
ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียม	200	2.50 ab	0.48	23.84	5.12	268 ab	45.72	77.66
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	134	1.28 c	0.25	23.61	4.65	267 b	43.17	49.37
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่ + โรโซเปียม	135	1.08 c	0.26	22.27	4.60	247 b	42.66	40.20

ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	264	1.96 abc	0.38	23.54	5.08	268 ab	45.67	66.16
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่ + โรโซเปียม	194	2.74 a	0.53	26.93	6.00	332 a	57.32	90.37
CV (%)	44.90	50.26	48.48	17.4	18.29	19.87	20.15	48.77

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ 5% โดย DMRT

ความสูงของต้นถั่วในระยะเก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่มีความสูงมากที่สุดได้แก่ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงเท่ากับ 63.9 เซนติเมตร จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่มีจำนวนฝักและจำนวนเมล็ดต่อต้นมากที่สุดได้แก่ กรรมวิธีที่ 4 เท่ากับ 94 ฝัก/ต้น และ 183 เมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมเพียงอย่างเดียวมีน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุดเท่ากับ 15.28 กรัม น้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 2 x 4 เมตร และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่มีน้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวมากที่สุดได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 เท่ากับ 1,700 กรัม และมีน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ เท่ากับ 340 กิโลกรัม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ข้อมูลความสูงต้นที่ระยะเก็บเกี่ยว จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักผลผลิตต่อพื้นที่เก็บเกี่ยว และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ของถั่วเหลืองตาแดง ณ วันเก็บเกี่ยว อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

กรรมวิธี	ความสูงต้น ระยะเก็บเกี่ยว (ซม.)	จำนวน ฝัก/ต้น	จำนวน เมล็ด/ ต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	น้ำหนักผลผลิต /พื้นที่เก็บเกี่ยว (กรัม)	น้ำหนั ก ผลผลิต/ไร่ (กก.)
กรรมวิธีควบคุม	57.7	85	161	14.65	1,700	340
ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียม	55.9	86	162	15.28	1,660	332
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	58.5	90	179	14.14	1,523	305
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่ + โรโซเปียม	55.6	94	183	14.10	1,447	289
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	63.9	78	140	14.19	1,490	298
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ ไร่+ โรโซเปียม	63.8	93	168	14.58	1,560	312
CV (%)	13.01	19.04	19.54	7.38	12.67	12.67

ปีที่ 2

ดำเนินการปลูกถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน เมื่อวันที่ 24 มิถุนายน 2563 โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมซึ่งผลิตจากเชื้อโรโซเปียมที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปายทำการทดลองเปรียบเทียบการใช้ปุ๋ย 6 รูปแบบ

ก่อนปลูกถั่วเหลืองตาแดง ได้เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เพื่อนำมาวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินและนับปริมาณเชื้อโรโซเปียมในดินโดยวิธี Most Probable Number (MPN) ก่อนปลูกถั่ว ผลการนับปริมาณเชื้อโรโซเปียมในดินพบว่าแปลงทดลองที่ อ. เมือง จ.แม่ฮ่องสอนมีปริมาณเชื้อโรโซเปียมเท่ากับ 840 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินพบว่า ดินที่ระดับความลึก 0-20 ซม. มีค่าอินทรีย์วัตถุ 2.40 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 83.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 210.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินก่อนปลูกถั่วในแปลงทดลอง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

ความลึก (ซม.)	pH ดิน	อินทรีย์วัตถุ (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
0-20	6.72	2.40	83.5	210.05

เมื่อต้นถั่วออกดอกได้ 80 เปอร์เซ็นต์ที่อายุ 43 วัน ดำเนินการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเมื่อวันที่ 6 สิงหาคม 2562 ผลการทดลองพบว่าจำนวนปมในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมเพียงอย่างเดียวมีจำนวนปมมากที่สุดเท่ากับ 191 ปมต่อต้น รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับโรโซเปียม มีจำนวนปมเท่ากับ 165 ปมต่อต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งปมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 1.27 กรัม และ 0.24 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักสดรากและน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี ซึ่งพบว่ากรรมวิธีควบคุมมีน้ำหนักสดรากมากที่สุดเท่ากับ 19.97 กรัมต่อต้น ในขณะที่น้ำหนักแห้งรากพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมเพียงอย่างเดียวมีน้ำหนักแห้งรากมากที่สุดเท่ากับ 3.84 กรัมต่อต้น เช่นเดียวกับน้ำหนักต้นสดและน้ำหนักต้นแห้งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมเพียงอย่างเดียวมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 187 กรัมต่อต้นและ น้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 31.56 กรัมต่อต้น ค่าการตรึงไนโตรเจนของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพโรโซเปียมเพียงอย่างเดียว มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 52.33 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับโรโซเปียม มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 49.99 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง อย่างไรก็ตามพบว่าค่าการตรึงไนโตรเจนในทุก ๆ กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวนปมราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก ปมราก และลำต้น และค่าการตรึงไนโตรเจนของ ไรโซเบียมในปมรากของต้นถั่วเหลืองในระยะออกดอก อายุ 48 วันหลังปลูก แปลงทดลอง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

กรรมวิธี	จำนวน ปม/ต้น	น้ำหนัก สด ปม (กรัม)/ต้น	น้ำหนักแห้ง ปม (กรัม) / ต้น	น้ำหนัก สดราก (กรัม) / ต้น	น้ำหนัก แห้งราก (กรัม/ต้น)	น้ำหนัก สด ต้น (กรัม) / ต้น	น้ำหนัก แห้งต้น (กรัม)	ค่าการตรึง ไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4$ ต่อต้น พืชต่อชั่วโมง)
กรรมวิธีควบคุม	144	1.12	0.23	19.97	3.39	172	30.54	44.84
ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	191	0.86	0.22	13.84	3.84	187	31.56	52.33
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	142	1.26	0.24	13.58	3.08	152	25.32	31.15
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่ + ไรโซเบียม	141	1.01	0.24	12.74	3.33	163	26.74	41.51
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	163	1.22	0.24	11.13	2.85	133	20.88	35.89
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่+ ไร โซเบียม	165	1.04	0.2	12.86	3.49	179	29.85	49.99
CV (%)	34.67	41.24	44.80	25.20	27.39	35.59	33.28	35.22

ความสูงของต้นถั่วในระยะเก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่มีความสูงมากที่สุดได้แก่ กรรมวิธีควบคุมมีความสูงเท่ากับ 50.9 ซม. จำนวนฝักต่อต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 72.2 ฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้นของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีจำนวนเมล็ดต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 124 เมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี พบว่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีน้ำหนัก 100 เมล็ดสูงที่สุดอยู่ที่ 14.1 – 14.4 กรัม น้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 2 x 4 เมตร และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี กรรมวิธีที่มีน้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวและน้ำหนักผลผลิตต่อไร่มากที่สุดได้แก่ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักผลผลิตเท่ากับ 1,280 กิโลกรัม และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ เท่ากับ 256 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ข้อมูลความสูงต้นที่ระยะเก็บเกี่ยว จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนัก ผลผลิตต่อพื้นที่เก็บเกี่ยว และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ของถั่วเหลืองตาแดง ณ วันเก็บเกี่ยว อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน

กรรมวิธี	ความสูงต้นระยะ เก็บเกี่ยว (ซม.)	จำนวน ฝัก/ต้น	จำนวนเมล็ด /ต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	น้ำหนักผลผลิต /พื้นที่เก็บเกี่ยว (กรัม)	น้ำหนั ก ผลผลิต /ไร่ (กก.)
ไม่ใส่ปุ๋ย(ควบคุม)	50.9	63.6	114 ab	13.8	1,213.0	242.6
ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม	48.5	67.2	110 ab	14.4	1,144.0	228.8
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก.N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	49.9	59.4	97 b	14.1	1,148.3	229.7
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่ + ไรโซเบียม	48.2	72.2	124 a	14.1	1,162.3	232.5
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ไร่	46.9	64.8	112 ab	13.8	1,280.0	256.0
ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กก. N-P ₂ O ₅ -K ₂ O/ ไร่+ ไรโซเบียม	50.1	70.1	123 ab	14.1	1,199.3	239.9
CV	10.53	14.2	12.51	3.26	13.5	13.54

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ 5% โดย DMRT

ผลการทดลองใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ในระยะเวลา 2 ปี พบว่าจำนวนปมของถั่วเหลืองตาแดงที่ปลูกทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในปีแรกกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีจำนวนปมมากที่สุดเท่ากับ 264 ปมต่อต้น รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวมีจำนวนปม 200 ปมต่อต้น น้ำหนักสดปมของปีที่ 1 พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ไรโซเบียม มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 2.74 กรัมต่อต้น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และทุก ๆ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ในขณะที่ปีที่ 2 น้ำหนักสดปมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ น้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้น ทั้งสองปีไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี ค่าการตรึงไนโตรเจนของทั้ง 2 ปี เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี โดยพบว่าในปีที่ 1 กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 90.37 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวมีค่าการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 77.66 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง ในปีที่ 2 พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวมีค่าการตรึงไนโตรเจนมากที่สุดเท่ากับ 52.33 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีค่าการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 49.99 ไมโครโมล C₂H₄ ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง ข้อมูลความสูงของต้นระยะเก็บเกี่ยว จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยว และน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ ของการทดลองทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จำนวนเมล็ดต่อต้นในปีที่ 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่จำนวนเมล็ดต่อต้นในปีที่ 2 พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่

ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-0 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีจำนวนเมล็ดต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 124 เมล็ดต่อต้น

เมื่อทำการเปรียบเทียบกรรมวิธีการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมที่ผลิตจากเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมของกรมวิชาการเกษตรในระดับกระถางทดลองผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและผลผลิตถั่วเหลืองตาแดงในระดับกระถางไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในการทดลองระดับแปลงทดลองจึงได้นำเชื้อไรโซเบียม 3 สายพันธุ์ซึ่งเป็น *Bradyrhizobium elkanii* ที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปายมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อใช้ในการทดลองระดับแปลงทดลองเมื่อนำมาทำการทดลองเปรียบเทียบการใช้ปุ๋ย 6 รูปแบบ พบว่าผลการทดลองในระยะเวลา 2 ปี ผลผลิตถั่วเหลือง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยเฉพาะกรรมวิธีควบคุมซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยใด ๆ แต่กลับให้ผลผลิตเทียบเท่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากในดินที่ใช้ปลูกถั่วมีจำนวนเชื้อไรโซเบียมในดินอยู่ค่อนข้างมากและจากผลการวิเคราะห์ดินก่อนปลูกพบว่าดินในแปลงปลูกถั่วเป็นดินที่มีค่าอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในปริมาณที่สูงซึ่งถ้าจะนำมาปลูกถั่วเหลืองให้ได้ผลผลิตดีจะต้องใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามอัตราแนะนำสำหรับการปลูกพืชตระกูลถั่ว ซึ่งสามารถคำนวณอัตราการใช้ปุ๋ยในการทดลองครั้งนี้ได้ดังนี้ ปุ๋ยยูเรีย(46-0-0) ในอัตรา 0 กิโลกรัมต่อไร่ ปุ๋ยทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) ในอัตรา 6.25 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ในอัตรา 0 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552) เป็นที่ทราบดีว่าอิทธิพลของธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในดินมีผลต่อการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมดินที่มีระดับไนโตรเจนสูงประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจะลดลง (สำเนา, 2539) เช่นเดียวกับการทดลองของ พรพิมลและคณะ (2540) ที่พบว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลทำให้จำนวนปมที่เกิดขึ้นลดลง ทั้งกรรมวิธีที่มีการคลุกเชื้อไรโซเบียมและกรรมวิธีที่ไม่มีการคลุกเชื้อไรโซเบียม นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เชื้อไรโซเบียมในการปลูกถั่วเหลืองจะไม่ได้ผลมากนัก หากมีการใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีไนโตรเจน เพราะไนเตรทจากการใช้ปุ๋ยทำให้การสร้างปมรากถั่ว ช้าลง และมีปริมาณน้อยลง (จิระศักดิ์, 2545) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่ชี้ให้เห็นว่าในกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยยูเรียในอัตรา 3 กิโลกรัมต่อไร่จะมีจำนวนปมที่น้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยยูเรีย ในส่วนของธาตุฟอสฟอรัสพบว่าธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์กับพืชถือเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม ในดินที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ไม่เพียงพอจะจำกัดจำนวนของไรโซเบียม และจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับผลผลิตของถั่วเหลือง (สำเนา, 2539) การผลิตถั่วเหลืองโดยอาศัยการตรึงไนโตรเจนจากเชื้อไรโซเบียม นับว่ามีความสำคัญมากเนื่องจากการผลิตที่มีต้นทุนต่ำ การใช้เชื้อไรโซเบียมคลุกเมล็ดถั่วเหลืองในพื้นที่ซึ่งไม่เคยปลูกถั่วมาก่อน สามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดได้มากกว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน (Boonkerd and Weaver, 1982) สำหรับพื้นที่ซึ่งปลูกถั่วเหลืองมานานจะไม่ให้ผลตอบสนองต่อการคลุกเชื้อไรโซเบียมอย่างเด่นชัด (Ellis *et al.*, 1984) เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวมีเชื้อไรโซเบียมในดินโดยธรรมชาติปริมาณมาก หากเชื้อไรโซเบียมที่ใช้คลุกเมล็ดถั่วเหลืองไม่สามารถแข่งขันกับเชื้อที่มีอยู่ในดินได้ ผลผลิตของถั่วเหลืองที่ปลูกโดยการคลุกเชื้อไรโซเบียมจะไม่มี ความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่คลุกเชื้อ ไรโซเบียม ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อการเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลืองและทดแทนการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนจะประสบความสำเร็จหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญอันดับแรกคือ เชื้อไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพต้องมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของการปลูกถั่วเหลืองได้ดี ได้แก่ สร้างปม และการตรึงไนโตรเจนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับไรโซเบียมดั้งเดิมที่อยู่ในธรรมชาติ (ศิริลักษณ์และศพิษา, 2553)

2 การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

2.1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0–20 เซนติเมตรปี 2562 ในแปลงเกษตรกร อำเภอปาย เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.21 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 210 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552) และในแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 2.20 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.81 ฟอสฟอรัส (Bray-II) 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โปแทสเซียม 285 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552)

ปี 2563 ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0–20 เซนติเมตร ในแปลงเกษตรกร อำเภอปาย เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.20 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.15 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 201 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1) และในแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 2.10 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.78 ฟอสฟอรัส (Bray-II) 35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โปแทสเซียม 258 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของทั้งสองแปลงใช้อัตราเดียวกับปี 2562 (กรมวิชาการเกษตร, 2552) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์ดินแปลงทดลองข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง ปี 2562–2563 ของ แปลงเกษตรกร อำเภอปายและ อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน

ตัวอย่าง	pH ¹ (water 1:1)	อินทรีย์วัตถุ ² (%)	ฟอสฟอรัส ³ (Bray II-P มก./กก.)	โปแทสเซียมที่สกัดได้ ⁴ (มก./กก.)	ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ (กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่)
แปลงที่ 1 อำเภอปาย					
ปี 2562	7.21	1	60	210	6-3-3
ปี 2563	7.15	1.2	65	201	6-3-3
แปลงที่ 2 อำเภอเมือง					
ปี 2562	6.81	2.2	30	285	3-3-3
ปี 2563	6.78	2.1	35	258	3-3-3

หมายเหตุ : วิธีการวิเคราะห์

¹Peech (1965)

²Walkley and Black (1934)

³Bray and Kurtz (1945)

⁴Thomas (1982)

2.2. ความสูงของต้นที่วันเก็บเกี่ยว

ปี พ.ศ. 2562 ความสูงของต้น ณ วันเก็บเกี่ยวของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองที่ปลูก ณ แปลงเกษตรกรอำเภอ ปายและอำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอนด้วยกรรมวิธีทดลองต่าง ๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองของแปลงทดลองที่ 1 (อำเภอปาย) ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีความสูงสูงกว่าแปลงทดลองที่ 2 (อำเภอเมือง) และทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า ในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปายกรรมวิธีที่ 5 AT1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีความสูงสูงสุด คือ 130.6 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยเคมี 6-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) และกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีความสูง 128.7 และ 122.7 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง พบว่า ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกด้วยกรรมวิธีที่ 3 DASF04005 + ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีความสูงวันเก็บเกี่ยวสูงสุด คือ 112.7 เซนติเมตร และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ผลการทดลองในปี พ.ศ. 2563 พบว่า ความสูง ณ วันเก็บเกี่ยวของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองทั้งสองแปลง ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปาย กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีความสูงสูงสุด คือ 149.1 เซนติเมตร ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมืองกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีความสูงสูงสุด คือ 115.8 เซนติเมตรแต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 2 3 และ 5 นอกจากนี้ยังพบว่า กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้ง 3 กรรมวิธีร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำช่วยส่งเสริมให้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 2

2.3. ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

2.3.1 ผลผลิต

จากรายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืชระดับตำบล (รต.) กรมส่งเสริมการเกษตร (2560) รายงานว่า ค่าเฉลี่ยข้าวนาปีการปลูกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองอื่น ๆ ปี 2559/2560 ของจังหวัดแม่ฮ่องสอนมีผลผลิตเฉลี่ย/เนื้อที่ให้ผลผลิตเท่ากับ 392 กิโลกรัม และจากผลการทดลองในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปาย พบว่า กรรมวิธีที่ 5 AT1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ให้ผลผลิตข้าวสูงที่สุด คือ 395 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าที่กรมส่งเสริมการเกษตร (2560) รายงาน แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยเคมี 6-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) ที่ให้ผลผลิต 337 กิโลกรัมต่อไร่ นอกจากนี้ทุกกรรมวิธีทดลองยังแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองให้ผลผลิตข้าวต่ำกว่าแปลงทดลองที่ 1 และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 5 AT1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ให้ผลผลิตข้าวสูงที่สุด คือ 207 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีผลผลิตต่ำที่สุด คือ 75 กิโลกรัมต่อไร่ ดังแสดงในตารางที่ 2 ผลการทดลองในปี 2563 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีผลผลิตสูงกว่าปี พ.ศ. 2562 โดยในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปาย พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวพันธุ์พื้นเมืองให้ผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีผลผลิตอยู่ระหว่าง 323-360 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งต่ำกว่าที่กรมส่งเสริมการเกษตร (2560) รายงาน ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง ทุกกรรมวิธีทดลองทำให้ข้าวไร่พันธุ์

พื้นเมืองมีผลผลิตข้าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีผลผลิตอยู่ระหว่าง 252–350 กิโลกรัมต่อไร่ และต่ำกว่ารายงานของกรมส่งเสริมการเกษตร (2560) ดังแสดงในตารางที่ 2

2.3.2 น้ำหนัก 100 เมล็ด

จากการสุ่มนับเมล็ดข้าวจำนวน 100 เมล็ด แล้วชั่งน้ำหนัก พบว่า น้ำหนัก 100 เมล็ดของทุกกรรมวิธีทดลองในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปาย ทั้ง 2 ปี ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.9–3.2 กรัม และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนัก 100 เมล็ด สูงที่สุด คือ 3.2 กรัม ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง ปี พ.ศ. 2562 ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.2–2.6 กรัม และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปี พ.ศ. 2563 ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.8–3.4 กรัม ซึ่งสูงกว่าปี พ.ศ. 2562 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 2

2.3.3 จำนวนต้นตอก

จำนวนต้นตอกเป็นหนึ่งในองค์ประกอบผลผลิตที่จะชี้ให้เห็นถึงปัจจัยที่ส่งผลไปในการทดลองว่ามีผลต่อผลผลิตข้าวอย่างไร จากตารางที่ 2 ชี้ให้เห็นว่า ในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปาย ในปี พ.ศ. 2562 กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) ทำให้ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนต้นตอกสูงที่สุด คือ 14 ต้น แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 3 DASF04005 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ที่ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนต้นตอก 12 และ 13 ต้น ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่ 3 DASF04005 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ซึ่งใช้เชื้อสกุล *Azospirillum* เหมือนกัน มีจำนวนต้นตอกเท่ากัน คือ 11 ต้น ส่วนในปี พ.ศ. 2563 พบว่าให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับปี พ.ศ. 2562 และทุกกรรมวิธีทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

การทดลองแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง ปี พ.ศ. 2562 พบว่า ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในทุกกรรมวิธีมีจำนวนต้นตอกสูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ทำให้ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนต้นตอกสูงที่สุด คือ 35 ต้น รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 3 DASF04005 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ที่มีจำนวนต้นตอกเท่ากัน คือ 28 ต้น ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังพบว่า การทดลองในปี พ.ศ. 2563 ทุกกรรมวิธีทดลองมีจำนวนต้นตอกน้อยกว่าปี พ.ศ. 2562 โดยกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่มีจำนวนต้นตอกสูงสุด คือ 7 ต้น

2.3.4 จำนวนรวงตอก

จากตารางที่ 2 พบว่า ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปาย ในปี พ.ศ. 2562 ทุกกรรมวิธีมีปริมาณจำนวนรวงตอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) มีจำนวนรวงตอกสูงที่สุด คือ 14 รวงตอก แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกรรมวิธีที่ 2 ปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 3 DASF04005 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 6-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ที่มีจำนวนรวงตอก เท่ากับ 12 และ 13 รวง ตามลำดับ ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 4 AP1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนรวงตอกสูงที่สุด คือ 22 รวง รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 5 AT1

ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ที่มีจำนวนรวงต่อกอ 20 รวง ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังพบว่าทุกกรรมวิธีทดลองของแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนรวงต่อกอสูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 อำเภอปายดังแสดงในตารางที่ 2

การทดลองปี พ.ศ. 2563 พบว่า การทดลองในแปลงที่ 1 อำเภอปาย ให้ผลใกล้เคียงกับการทดลองในปี พ.ศ. 2562 โดยกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) มีจำนวนรวงต่อกอสูงที่สุด คือ 13 รวงต่อกอแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2 ความสูงวันเก็บเกี่ยว ผลผลิต น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนต้นตอกอ จำนวนรวงตอกอ และจำนวนเมล็ดตอรวง ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูก ณ แปลงเกษตรกร อำเภอบางบาล และอำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน ปี พ.ศ. 2562-2563

กรรมวิธีทดลอง	ความสูงวันเก็บเกี่ยว		ผลผลิต		น้ำหนัก 100 เมล็ด		จำนวนต้น/กอ		จำนวนรวง/กอ	
	เซนติเมตร		กิโลกรัม/ไร่		กรัม					
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
แปลงที่ 1 อำเภอบางบาล										
1. ไม้ใส่ปุ๋ย	119.3 b	149.1 a	241 b	332	3.1	3.1	14 a	14	14 a	13
2. ใส่ปุ๋ยเคมี 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	128.7 a	122.9 b	337 ab	360	3.0	3.2	12 ab	14	12 ab	11
3. DASFO4005 + 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	116.2 b	116.9 b	219 b	323	3.1	3.2	11 b	12	11 b	10
4. AP1 + 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	122.7 ab	111.7 b	266 b	347	3.2	3.2	11 b	10	11 b	8
5. AT1 + 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	130.6 a	112.7 b	395 a	339	2.9	3.0	13 a	12	13 a	10
CV (%)	4.49*	9.40*	20.76**	9.00	6.79	10.37	9.73*	20.44	9.69**	19.24
แปลงที่ 2 อำเภอเมือง										
1. ไม้ใส่ปุ๋ย	90.7 b	94.6 b	170	252 b	2.4 a	2.8	25	6	17	3
2. ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	91.4 b	113.1 a	128	343 a	2.4 a	3.4	28	6	17	5
3. DASFO4005 + 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	112.7 a	108.8 ab	205	309 ab	2.5 a	3.0	28	5	19	4
4. AP1 + 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	89.6 b	115.8 a	75	350 a	2.2 b	3.3	35	7	22	5
5. AT1 + 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	92.2 b	108.1 ab	207	346 a	2.6 a	3.3	26	5	20	4
CV (%)	6.84**	4.77**	42.58	11.24*	4.27**	9.47	19.77	23.10	21.01	23.08

หมายเหตุ : * ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT

** ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดย DMRT

2.4. ประชากรแบคทีเรีย

การทดลองนี้ก่อนเริ่มทำการทดลองได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้งสองชนิด คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. โดยในปี พ.ศ. 2562 ผลการทดลองการนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* sp. ก่อนการทดลองของทั้งสองแปลงทดลองนั้นไม่สามารถตรวจนับได้ นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนประชากรของ *Azospirillum* sp. ของทั้งสองแปลงทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.53–5.12 Log₁₀CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งเมื่อตรวจนับจำนวนประชากรของแบคทีเรียหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า เกือบทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* sp. เพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.77–4.80 Log₁₀CFU/ml และไม่สามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* sp. ได้ ส่วนประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.016–0.039 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2/\text{hr}$ (ตารางที่ 3) การทดลองในปี พ.ศ. 2563 พบว่า จำนวนประชากรของ *Azospirillum* sp. ก่อนการทดลองของทั้งสองแปลงทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.78–5.45 Log₁₀CFU/ml และจำนวนประชากรของ *Azospirillum* sp. หลังการเก็บเกี่ยว พบว่า ในแปลงทดลองที่ 1 อําเภอปาย ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* sp. ลดลงโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.16–3.82 Log₁₀CFU/ml และสามารถตรวจนับปริมาณ *Azotobacter* sp. ได้ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.53–3.92 Log₁₀CFU/ml และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.022–0.047 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2/\text{hr}$ (ตารางที่ 3) ซึ่งสูงกว่าปี พ.ศ. 2562 จากผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ Bashan and Levany, (1990), Meunchang *et al.*, (2006a), Meunchang *et al.*, (2006b) ที่รายงานว่า โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมากส่วนการทดลองในแปลงที่ 2 อําเภอเมือง พบว่า ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* sp. เพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 5.18–6.08 Log₁₀CFU/ml และสามารถตรวจนับปริมาณ *Azotobacter* sp. ได้ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.62–5.03 Log₁₀CFU/ml และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.018–0.038 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_2/\text{hr}$ (ตารางที่ 3) และจากผลการทดลองข้างต้นขัดแย้งกับรายงานของ Bashan and Levany, (1990), Meunchang *et al.*, (2006a), Meunchang *et al.*, (2006b) ที่รายงานว่า โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก

ตารางที่ 3 ปริมาณประชากรแบคทีเรียและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน แพลงเกษตรกร อำเภอปาย และอำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน ปี พ.ศ. 2562–2563

กรรมวิธีทดลอง	ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_2$ /hr)		ปริมาณประชากรแบคทีเรียในดิน ($\text{Log}_{10}\text{CFU/ml}$)							
			<i>Azospirillum</i> sp.				<i>Azotobacter</i> sp.			
			ก่อนปลูก		หลังปลูก		ก่อนปลูก		หลังปลูก	
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
แปลงที่ 1 อำเภอปาย										
1. ไม้ไผ่ปุ๋ย	0.022 ± 0.005	0.047 ± 0.008	5.12	4.80	4.04	3.16	-	-	-	3.53
2. ไม้ไผ่ปุ๋ยเคมี 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.027 ± 0.009	0.022 ± 0.005	4.82	5.19	3.87	3.79	-	-	-	3.77
3. DASF04005 + 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.034 ± 0.007	0.024 ± 0.004	4.92	5.38	4.80	3.18	-	-	-	3.59
4. AP1 + 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.032 ± 0.002	0.027 ± 0.007	4.79	5.51	4.51	3.82	-	-	-	3.77
5. AT1 + 6-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.030 ± 0.020	0.028 ± 0.002	4.53	4.80	3.85	3.18	-	-	-	3.92
แปลงที่ 2 อำเภอเมือง										
1. ไม้ไผ่ปุ๋ย	0.023 ± 0.008	0.018 ± 0.004	4.91	4.78	3.85	5.65	-	-	-	4.62
2. ไม้ไผ่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.034 ± 0.012	0.028 ± 0.012	4.75	5.41	3.77	5.47	-	-	-	4.89
3. DASF04005 + 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.029 ± 0.019	0.038 ± 0.003	4.86	5.45	4.72	6.08	-	-	-	5.03
4. AP1 + 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.039 ± 0.013	0.034 ± 0.011	4.76	5.44	4.48	5.55	-	-	-	4.59
5. AT1 + 3-3-3 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.016 ± 0.013	0.032 ± 0.011	4.86	5.05	4.71	5.18	-	-	-	4.95

หมายเหตุ: - ไม่สามารถตรวจนับได้

3 การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวโพดในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

3.1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0–20 เซนติเมตร ปี 2562 แปรลงทดลอง ณ แปลงเกษตรกร อำเภอปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.60 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.1 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 145 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552) ส่วนในปี 2563 ผลวิเคราะห์ดิน พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.50 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.12 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 135 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 11) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552)

แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ในปี 2562 ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0–20 เซนติเมตร พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.90 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.85 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 131 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552) ส่วนในปี 2563 พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 2.60 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.80 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 257 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 11) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552)

Table 1 Basic soil properties at 0-20 cm. depth before planting

Year	pH ^{1/} (water 1:1)	Organic Matter ^{2/} (%)	Available P ^{3/} (Bray II-P mg/kg)	Exchangeable K ^{4/} (mg/kg)	Chemical fertilizer recommendation (kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai)
Field 1 at Pai District, Mae Hong Son province					
2562	7.10	1.60	64	145	15-5-5
2563	7.12	1.50	70	135	15-5-5
Field 2 at Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center					
2562	6.85	1.90	55	131	10-5-5
2563	6.80	2.60	12	257	10-5-5

Remark: ^{1/}Analytical method followed by Peech (1965)

^{2/} Analytical method followed by Walkley and Black (1934)

^{3/} Analytical method followed by Bray and Kurtz (1945)

^{4/} Analytical method followed by Thomas (1982)

3.2. ความสูงของต้นที่วันเก็บเกี่ยว

การทดลองปี 2562 ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ณ วันเก็บเกี่ยว ของทั้งสองแปลง พบว่าทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยความสูงของแปลงทดลองที่ 2 (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน) สูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 (แปลงเกษตรกร อำเภอปาย) ดังแสดงใน Table 2 อาจจะเป็นผลมาจากแปลงทดลองที่ 2 มีความอุดมสมบูรณ์ของดินสูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 (ค่าวิเคราะห์ดิน) โดยพบว่าในแปลงทดลองที่ 1 กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดสูงที่สุด คือ 249.8 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) และกรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดมีความสูง 225.4, 247 และ 246 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดสูงที่สุด คือ 306.4 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน *A. brasilense* (DASF04003) (แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอ้างอิง) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดมีความสูง 294.4, 291.6 และ 304.4 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) และจากการทดลองปี 2563 พบว่า ความสูงของข้าวโพด ณ วันเก็บเกี่ยว ของทั้ง 2 แปลง ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ความสูงของแปลงทดลองที่ 1 อยู่ในช่วง 279.3-314.3 เซนติเมตร โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดสูงที่สุด ส่วนความสูงข้าวโพดแปลงทดลองที่ 2 อยู่ในช่วง 260.7-278.7 เซนติเมตร โดยกรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ทำให้ข้าวโพดสูงที่สุด เช่นเดียวกับรายงานของ Bandahu and Adhikari (2013) ที่รายงานว่า *Azotobacter* จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด เนื่องจากสามารถตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และจิบเบอเรลลิน

3.3. ผลผลิตและคุณภาพผลผลิต

3.3.1 ความยาวฝัก

การทดลองในปี 2562 ทุกกรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ (กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5) ทั้ง 2 แปลงทดลอง ข้าวโพดเลี้ยงมีความยาวฝักเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยในแปลงที่ 1 แปลงเกษตรกร อำเภอปาย พบว่า กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีความยาวฝัก เท่ากับ 17.3 เซนติเมตร โดยที่กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน *A. brasilense* (DASF04003) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความยาวฝัก 15.1, 16.4 และ 17.1 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) ส่วนแปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม

N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีความยาวฝัก เท่ากับ 19.4 เซนติเมตร โดยที่กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5 มีความยาวฝัก 18.6, 19.0 และ 18.7 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) ส่วนการทดลองในปี 2563 พบว่า ให้ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปี 2562 คือ ทุกกรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ (กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5) ของแปลงทดลองทั้ง 2 แห่ง ข้าวโพดมีความยาวฝักไม่แตกต่างกันทางสถิติและไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) และกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

3.3.2. น้ำหนักฝักสด

ข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 แปลงเกษตรกร ณ อำเภอปาย ปี 2562 และปี 2563 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฝักสดอยู่ระหว่าง 270-358 กิโลกรัมต่อไร่ และ 193-307 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) ส่วนผลการทดลองในแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ปี 2562 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฝักสดอยู่ระหว่าง 488-539 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่ในปี 2563 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยข้าวโพดมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักฝักสดอยู่ระหว่าง 146-196 กิโลกรัมต่อไร่ โดยกรรมวิธี 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดข้าวโพดสูงที่สุด เท่ากับ 196 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ กรรมวิธี 3, 2 และ 4 มีน้ำหนักฝักสด 186, 179 และ 153 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่กรรมวิธี 1 มีน้ำหนักฝักสดข้าวโพดต่ำที่สุด (Table 2) ทั้งนี้พบว่า ปริมาณผลผลิตข้าวโพดในปี 2563 ต่ำกว่าปี 2562 อาจเนื่องมาจากภัยแล้ง โดยข้อมูลสภาพภูมิอากาศจากกรมอุตุนิยมวิทยารายสัปดาห์เดือนมิถุนายน-ตุลาคม ปี 2562 พบว่า อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 30.31-35.67 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.08-25.34 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.2-19.08 มิลลิเมตร ขณะที่ปี 2563 อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 30.28-38.72 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.05-25.23 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0-20.48 มิลลิเมตร ซึ่งปริมาณน้ำฝนในปี 2562 มีปริมาณสูงกว่าปี 2563

3.3.3. น้ำหนักเมล็ด

ข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 แปลงเกษตรกร ณ อำเภอปาย ปี 2562 และปี 2563 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของผลผลิตเมล็ดข้าวโพดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ อยู่ระหว่าง 195-225 กิโลกรัมต่อไร่ และ 164-261 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) ส่วนผลการทดลองในแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ปี 2562 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของผลผลิตเมล็ดข้าวโพดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ อยู่ระหว่าง 350-388 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนผลการทดลองในปี 2563 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยข้าวโพดมีน้ำหนักเมล็ด 124-167 กิโลกรัมต่อไร่ โดยกรรมวิธี 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักเมล็ดสูงที่สุด เท่ากับ 167 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2) ทั้งนี้ น้ำหนักเมล็ดในกรรมวิธีที่ 5 สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อาจจะเป็นผลของเชื้อ *A. beijerinckii* มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและผลิตสารเร่งการเจริญเติบโตให้กับพืช เช่นเดียวกับรายงานของ Bandahu and Adhikari (2013) พบว่า *Azotobacter* จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด เนื่องจากสามารถตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และจิบเบอเรลลิน

3.3.4. น้ำหนัก 100 เมล็ด

น้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าวโพดในปี 2562 ของทั้งสองแปลงทดลองในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตในกรรมวิธี 3, 4 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย ซึ่งในแปลงทดลองที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) มีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 33.6 กรัม (Table 2) ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพด 100 เมล็ด มีน้ำหนัก เท่ากับ 37.2 กรัม ส่วนการทดลองในปี 2563 พบว่า ในแปลงทดลองที่ 1 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย มีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 38.0 กรัม แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตในกรรมวิธี 3, 4 และ 5 โดยมีน้ำหนัก 100 เมล็ด 36.7, 37 และ 36.7 ตามลำดับ ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ Peng *et al.* (2013) และ Revolti *et al.* (2018) ที่พบว่า *Azotobacter* และ *Azospirillum* สามารถเพิ่มความสูง น้ำหนักสด และผลผลิตข้าวโพด และผลการทดลองในแปลงที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยข้าวโพด 100 เมล็ดมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 32.3-34.8 กรัม (Table 2)

Table 2 Height, ear length, yield with husk, yield without husk, grain weight and 100-grain weight of maize variety NH-146 in field during 2562-2563 in Mae Hong Son province

Treatment	Height (cm)		Ear length (cm)		Ear weight with husk (kg/rai)		Grain weight ^{1/} (kg/rai)		100-grain weight (g)	
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
Field 1 at Pai District, Mae Hong Son province										
1. Control	225.4 ab	279.3	16.3	17.9	287	193	209	164	33.6	38.0 a
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	247.0 a	314.3	17.3	17.0	358	246	246	210	33.4	35.2 b
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	203.4 b	297.3	15.1	18.6	270	274	195	233	30.8	36.7 ab
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	249.8 a	312.3	16.4	17.2	313	243	216	206	33.0	37.0 ab
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	246.0 a	299.7	17.1	18.5	318	307	225	261	33.2	36.7 ab
CV (%)	5.20**	8.04	6.21	3.71	22.22	23.48	19.97	23.38	4.73	10.59*
Field 2 at Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center										
1. Control	285.9 b	263.3	18.5	17.2	488	146 c	350	124 c	35.6	34.8
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	294.2 ab	266.0	19.4	17.8	539	179 abc	381	152 abc	35.0	34.8
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	291.6 ab	260.7	18.6	17.6	537	186 ab	388	158 ab	35.8	35.0
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	304.4 a	267.7	19.0	17.2	536	153 bc	384	130 bc	34.9	33.1
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	306.4 a	278.7	18.7	16.9	533	196 a	367	167 a	37.2	32.3
CV (%)	2.52**	4.02	2.55	4.31	13.04	10.52*	14.55	10.59*	4.81	8.04

Remark : * mean followed by the same letter in column are not significantly different at the 95% confidence level by DMRT

** mean followed by the same letter in column are not significantly different at the 99% confidence level by DMRT

^{1/} indicate 14% grain moisture

3.4. ประชากรแบคทีเรีย

ในปี 2562 ก่อนเริ่มทำการทดลองได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. โดยจำนวนประชากรของ *Azotobacter* sp. ก่อนการทดลองของทั้งสองแปลงทดลองนั้นไม่สามารถตรวจนับได้ นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนประชากรของ *Azospirillum* sp. ของทั้งสองแปลงทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.37–4.02 Log₁₀CFU/g ดังแสดงใน Table 3 ซึ่งเมื่อตรวจนับจำนวนประชากรของแบคทีเรียหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า เกือบทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* sp. เพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.85–5.26 Log₁₀CFU/ml และไม่สามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* sp. ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน Bashan and Levany (1990), Meunchang *et al.* (2006a) และ Meunchang *et al.* (2006b) ที่รายงานว่า โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก ส่วนประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.025–0.039 ไมโครโมลเอทีลิตต่อชั่วโมง ในแปลงที่ 1 กรรมวิธี 4 แบคทีเรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด ขณะที่กรรมวิธี 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนต่ำที่สุดทั้ง 2 แปลงทดลอง (Table 3) ส่วนผลการทดลองในปี 2563 พบว่า ก่อนการทดลอง จำนวนประชากรของ *Azospirillum* ของแปลงที่ 1 มีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.28–5.46 Log₁₀CFU/g และไม่สามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* ได้เช่นเดิม และแปลงที่ 2 มีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.76–5.40 Log₁₀CFU/g และหลังการทดลอง พบว่า เกือบทุกกรรมวิธีในแปลง 1 มีปริมาณ *Azospirillum* เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.74–5.37 Log₁₀CFU/g และสามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* ได้ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.00–3.37 Log₁₀CFU/g ส่วนในแปลงที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* ลดลง โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.54–3.95 Log₁₀CFU/g และสามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* ได้ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.16–3.84 Log₁₀CFU/g ส่วนประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.018–0.085 ไมโครโมลเอทีลิตต่อชั่วโมง โดยกรรมวิธี 2 แบคทีเรีย *A. brasilense* (DASF04003) ในแปลงที่ 1 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด ทั้งนี้ความหนาแน่นหรือปริมาณของเชื้อ *Azotobacter* ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ความเป็นกรดต่างของดิน ความชื้นของดิน ปริมาณเกลือในดิน ฟิซอลคัย จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) อุณหภูมิ และคุณลักษณะของเชื้อเอง (Tchan *et al.*, 1984; Kizilkaya, 2009) ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้อาจมีผลทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อในดินได้ ส่วนเชื้อ *Azospirillum* สามารถเจริญได้ดีที่ pH เป็นกรด (5.7-6.8) อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 32-40 องศาเซลเซียส และมีฟิซอลคัยได้กว่า 113 ชนิด (species) เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ข้าวสาลี ทานตะวัน อ้อย และฟิซอลอาหารสัตว์ เป็นต้น (Baldani *et al.*, 1986; Fages and Arzac, 1991; Pereg *et al.*, 2016; Cassan *et al.*, 2020) ทำให้สามารถตรวจพบเชื้อ *Azospirillum* ได้มากกว่า

Table 13 Nitrogen fixation efficiency and population density of *Azospirillum* and *Azotobacter* in field during 2562-2563

Treatment	Nitrogen fixing rate ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_2$ /hr)		Population density ($\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$)							
			<i>Azospirillum</i> sp.				<i>Azotobacter</i> sp.			
	2562	2563	Pre-planting		Post-harvesting		Pre-planting		Post-harvesting	
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
Field 1 at Pai District, Mae Hong Son province										
1. Control	0.029 ± 0.006	0.053 ± 0.012	3.71	4.28	4.28	5.10	-	-	-	3.15
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.030 ± 0.006	0.085 ± 0.007	3.95	4.99	3.95	5.27	-	-	-	3.23
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.030 ± 0.006	0.042 ± 0.018	3.77	5.46	4.19	4.74	-	-	-	3.18
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.037 ± 0.006	0.046 ± 0.001	3.61	5.43	3.95	5.37	-	-	-	3.00
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.025 ± 0.019	0.036 ± 0.011	3.66	5.09	3.85	5.06	-	-	-	3.37
Field 2 at Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center										
1. Control	0.039 ± 0.011	0.037 ± 0.008	4.02	4.91	4.91	3.70	-	-	-	3.84
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.027 ± 0.006	0.034 ± 0.011	3.92	4.76	5.26	3.74	-	-	-	3.27
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.029 ± 0.004	0.027 ± 0.010	3.37	5.40	5.00	3.54	-	-	-	3.79
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.030 ± 0.007	0.018 ± 0.004	3.83	4.83	4.83	3.83	-	-	-	3.16
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.025 ± 0.018	0.019 ± 0.007	3.76	4.91	5.45	3.95	-	-	-	3.58

Remark : - indicate not detectable

4. การใช้จุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตกระเทียมในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ บริเวณลุ่มน้ำปาย

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงทดลองบริเวณต้นน้ำ และปลายน้ำของลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน วิเคราะห์ธาตุอาหารในดินก่อนการปลูกกระเทียม (กรมวิชาการเกษตร, 2544) ตัวอย่างดินจากแปลงทดลอง มีอินทรีย์วัตถุ 1.89-2.02 เปอร์เซ็นต์ จัดว่าเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางถึงสูง ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 84-92 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 189.7-205 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับสูง ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในดินก่อนการปลูก (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมีของตัวอย่างดินแปลงกระเทียม

พื้นที่แปลงทดลอง	Organic matter (%)	Available P (mg/kg)	Exchangeable K (mg/kg)
พื้นที่ต้นน้ำ	2.02	84	205
พื้นที่ปลายน้ำ	1.89	92	189.7

ปลูกกระเทียมครั้งที่ 1 เมื่อเดือนพฤศจิกายน 2561 ใช้พื้นที่ในเมืองของ จ. แม่ฮ่องสอน ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชตามกรรมวิธี วัดการเจริญเติบโตในเดือนมกราคม 2562 เมื่อกระเทียมอายุ 45 วัน ผลการเจริญเติบโตของกระเทียมพบว่าแปลงทดลองต้นน้ำ กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้ความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักรากสด น้ำหนักต้นแห้ง และน้ำหนักรากแห้งมากที่สุด กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด แปลงทดลองปลายน้ำ กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย ให้ความสูงมากที่สุด กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้น้ำหนักรากสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากแห้ง และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 ให้น้ำหนักต้นสดมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณต้นน้ำลุ่มน้ำปาย ต. แม่มาตัง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน
พ.ศ. 2561

กรรมวิธี	ความสูง ต้น (ซม.)	น้ำหนักต้น สด (กรัม)	น้ำหนัก รากสด (กรัม)	น้ำหนัก ต้นแห้ง (กรัม)	น้ำหนัก รากแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการ ตรึงไนโตรเจน (ไม โครโมเลทอลิติน ต่อชั่วโมงต่อต้น)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	37.04 ab	22.88 ab	2.99	2.31 ab	0.40	0.44
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N- P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	35.71 bc	25.63 a	3.21	2.57 a	0.40	0.33
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	38.72 a	26.38 a	3.31	2.57 a	0.46	0.33
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	36.05 abc	20.25 b	2.73	2.18 ab	0.40	0.32
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	34.19 c	19.75 b	2.57	2.08 b	0.31	0.43
cv	12.90	19.85	23.08	15.66	47.02	33.12

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณปลายน้ำลุ่มน้ำปาย ต. ผาบ่อง อ. เมือง จ.
แม่ฮ่องสอน พ.ศ. 2561

กรรมวิธี	ความสูง ต้น (ซม.)	น้ำหนักต้นสด (กรัม)	น้ำหนัก รากสด (กรัม)	น้ำหนัก ต้นแห้ง (กรัม)	น้ำหนัก รากแห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพการ ตรึงไนโตรเจน (ไม โครโมเลทอลิตินต่อ ชั่วโมงต่อต้น)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	37.44 a	23.50	2.89	2.13	0.35	0.27
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5- 5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	34.01 b	20.75	2.88	2.07	0.37	0.35
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ พืช <i>Azospirillum</i> <i>brasilense</i> TS13	34.33	23.25	3.48	2.28	0.46	0.45
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ พืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	36.76 ab	24.13	3.03	2.24	0.36	0.43
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ พืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	34.86 ab	21.00	3.28	2.10	0.44	0.36
CV	14.47	18.64	27.99	18.65	36.44	48.80

ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่ากรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้ผลผลิตน้ำหนักสดต่อไร่มากที่สุด 2,435 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 น้ำหนักใบแห้งและรากแห้ง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติน้ำหนักหัวแห้ง กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้น้ำหนักหัวแห้งมากที่สุด 31.53 กรัม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลผลิตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณต้นน้ำลุ่มน้ำปาย ต. แม่नाเติง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน พ.ศ.

2561					
กรรมวิธี	นน.ผลผลิต/ไร่ (กิโลกรัม)	นน.ใบ แห้ง (กรัม)	นน.หัวแห้ง (กรัม)	นน.รากแห้ง (กรัม)	
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	1,473 b	8.14	23.18 b	1.81	
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	2,313 a	9.57	27.16 ab	2.26	
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	2,435 a	9.60	31.53 a	2.23	
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	1,496 b	7.61	26.34 b	2.43	
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	2,180 a	9.18	27.84 ab	1.65	
CV	12.57	18.20	8.28	27.81	

ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำพายพบว่ากรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 ให้ผลผลิตน้ำหนักสดต่อไร่มากที่สุด 3,245 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 ให้น้ำหนักใบแห้งมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้น้ำหนักหัวแห้งมากที่สุด และกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 ให้น้ำหนักรากแห้งมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลผลิตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณปลายน้ำลุ่มน้ำพาย ต. ผาบ่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน พ.ศ. 2561

กรรมวิธี	นน.ผลผลิต/ไร่ (กิโลกรัม)	นน.ใบแห้ง (กรัม)	นน.หัวแห้ง (กรัม)	นน.รากแห้ง (กรัม)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	2,185 b	16.43	33.61	2.31
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	2,635 ab	16.13	29.78	2.27
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	2,700 ab	16.39	37.64	2.09
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	3,245 a	19.27	37.1	2.05
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	2,525 b	20.31	36.59	2.34
CV	11.14	15.34	14.53	29.10

ปลูกกระเทียมครั้งที่ 2 เมื่อเดือนพฤศจิกายน 2562 โดยใช้พันธุ์พื้นเมืองของ จ. แม่ฮ่องสอน 2561 ใช้พันธุ์พื้นเมืองของ จ. แม่ฮ่องสอน ใส่ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชตามกรรมวิธี วัดการเจริญเติบโตในเดือนมกราคม 2563 เมื่อกระเทียมอายุ 50 วัน แปลงทดลองต้นน้ำปาย ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากสด น้ำหนักรากแห้ง ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นความสูงต้น กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความสูงต้นมากที่สุดที่ 40 ซม. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การเจริญเติบโตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณต้นน้ำลุ่มน้ำปาย ต. แม่มาตัง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน พ.ศ. 2562

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)	น้ำหนักต้น สด (กรัม)	น้ำหนักราก สด (กรัม)	น้ำหนักต้น แห้ง (กรัม)	น้ำหนักราก แห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพ การตรึง ไนโตรเจน (ไมโครโมลเอ ทิสลินต่อ ชั่วโมงต่อต้น)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	37 b	36.38	2.64	2.50	0.55	0.0650
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	40 a	46.50	3.05	3.25	0.60	0.0675
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	38 ab	42.88	3.38	2.95	0.73	0.0825
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	39 ab	39.13	2.37	2.71	0.43	0.0488
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	37 b	41.75	3.26	3.14	0.79	0.0888
CV.	7.31	21.46	34.81	18.82	42.09	42.72

แปลงทดลองปลายน้ำปาย ผลการทดลองพบว่าความสูง น้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากสด น้ำหนักรากแห้ง ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณปลายน้ำลุ่มน้ำปาย ต. ผาบ่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน พ.ศ. 2562

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)	น้ำหนักต้นสด (กรัม)	น้ำหนักราก สด (กรัม)	น้ำหนักต้น แห้ง (กรัม)	น้ำหนักราก แห้ง (กรัม)	ประสิทธิภาพ การตรึง ไนโตรเจน (ไมโครโมลเอ ทิลีนต่อ ชั่วโมงต่อต้น)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	43.3	43.50	3.98	3.29	0.70	0.2796
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	45.9	56.88	4.08	3.65	0.67	0.2279
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> <i>brasilense</i> TS13	43.9	52.13	4.46	4.10	0.69	0.2460
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	44.6	52.00	4.10	3.87	0.62	0.1954
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	43.7	51.63	4.11	3.83	0.64	0.2221
CV.	6.29	16.97	22.67	20.66	30.58	32.06

ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่ากรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตน้ำหนักสดต่อไร่มากที่สุด 2,170 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปายพบว่าทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตมากที่สุด 3,076 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลผลิตของกระเทียมในแปลงทดลองบริเวณลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน พ.ศ. 2562

กรรมวิธี	นน.ผลผลิต/ไร่ (กิโลกรัม)	
	ต้นน้ำ	ปลายน้ำ
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	1,660 b	2,231
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	2,170 a	3,076
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	1,590 c	2,933
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	1,670 b	2,649
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	1,620 b	3,004
CV	8.2	16.12

การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปาย พบว่า การสะสมไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมมากที่สุดที่ 1.63 % และ 1.29 % ตามลำดับ ในใบการสะสมโพแทสเซียม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และฟอสฟอรัสมากที่สุดที่ 0.91 % และ 20 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 การสะสมธาตุอาหารของกระเทียมในแปลงทดลองต้นน้ำลุ่มน้ำปาย ต. แม่नाเติง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน

กรรมวิธี	ราก			หัว			ใบ		
	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	0.81	0.15	1.17	1.49 ab	0.40	1.23	0.87	0.20 a	2.23
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.91	0.14	1.13	1.59 a	0.37	1.15 b	0.83	0.15 c	2.21
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	0.86	0.14	1.10	1.56 a	0.40	1.20	0.88	0.17	2.01
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	0.81	0.13	1.06	1.63 a	0.42	1.29 a	0.91 a	0.20 a	2.24
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	0.81	0.14	1.06	1.35 b	0.38	1.28 a	0.77 b	0.16 c	2.13
CV.	9.48	15.65	10.18	6.82	8.79	6.30	9.92	12.69	7.00

การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำป่าย พบว่าการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจนพบว่า กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 สะสมไนโตรเจนมากที่สุดที่ 2.41 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในใบการสะสมโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจนในกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 มากที่สุดที่ 0.94 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมฟอสฟอรัสในกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 มากที่สุดที่ 1.6 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 การสะสมธาตุอาหารของกระเทียมในแปลงทดลองปลายน้ำลุ่มน้ำป่าย ต. ผาป้อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน

กรรมวิธี	ราก			หัว			ใบ		
	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)
กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)	0.89 b	0.12	1.41	1.60 b	0.31	1.25	0.84 ab	0.15 a	2.30
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P ₂ O ₅ -K ₂ O ต่อไร่	0.88 b	0.10	1.39	1.77 ab	0.35	1.26	0.80 b	0.12 b	2.30
กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum brasilense</i> TS13	0.83 b	0.11	1.32	1.76 ab	0.35	1.30	0.86 ab	0.15 ab	2.20
กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azotobacter</i> sp. AT9	0.93 ab	0.13	1.40	2.41 a	0.36	1.31	0.88 ab	0.16 a	2.19
กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช <i>Azospirillum</i> sp. AP1	1.09 a	0.13	1.25	1.67 ab	0.34	0.97	0.94 a	0.14 ab	2.23
CV.	13.63	23.34	13.29	26.46	9.43	21.79	10.44	10.56	9.11

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมที่ผลิตจากเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน ในพื้นที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน จากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชในดินที่ใช้ปลูกถั่วพบว่าดินมีค่าอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ค่อนข้างสูงเมื่อพิจารณาจากคำแนะนำการใช้ปุ๋ยในการผลิตถั่วเหลืองของกรมวิชาการเกษตร การปลูกถั่วครั้งนี้ควรใส่ปุ๋ยเคมีในอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าจำนวนปมรากของถั่วเหลืองตาแดงในกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยยูเรียจะมีจำนวนปมรากมากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ค่าการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองตาแดงเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-3-0 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 3 กิโลกรัมต่อไร่ การทดลองครั้งนี้พบว่าผลผลิตของถั่วเหลืองทั้งสองปีไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี โดยเฉพาะในกรรมวิธีควบคุมซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยใด ๆ แต่กลับให้ผลผลิตที่ค่อนข้างสูงเทียบเท่ากรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยชีวภาพ ชี้ให้เห็นว่าสภาพดินที่ใช้ปลูกถั่วในครั้งนี้มีปริมาณธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการผลิตถั่วเหลืองแม้ไม่มีการใส่ปุ๋ยใด ๆ ผลผลิตก็ยังสูง สาเหตุอีกประการคือดินในพื้นที่ปลูกถั่วนี้มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมอยู่ในดินค่อนข้างมากและอาจเป็นไรโซเบียมที่สามารถเข้าแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในปุ๋ยชีวภาพที่ใช้คลุกเมล็ดปลูกในครั้งนี้ได้เป็นอย่างดี

การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ในการปลูกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองในปี พ.ศ. 2562-2563 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลรวมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ จึงควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากขึ้น

การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลที่คัดเลือกได้ คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. และ *Azospirillum brasilense* (DASF04003) ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลรวมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตได้ จึงควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ชัดเจนมากขึ้น

ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่ากรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้ผลผลิตน้ำหนักสดต่อไร่มากที่สุด 2,435 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) และกรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปายพบว่า

กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 ให้ผลผลิตน้ำหนักรากต่อไร่มากที่สุด 3,245 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 ให้น้ำหนักใบแห้งมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้น้ำหนักหัวแห้งมากที่สุด และกรรมวิธีที่ 5 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum* sp. AP1 ให้น้ำหนักรากแห้งมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่ากรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตน้ำหนักรากต่อไร่มากที่สุด 2,170 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปายพบว่าทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตมากที่สุด 3,076 กิโลกรัมต่อไร่ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปาย พบว่า การสะสมไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมมากที่สุดที่ 1.63 % และ 1.29 % ตามลำดับ ในใบการสะสมโพแทสเซียม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และฟอสฟอรัสมากที่สุดที่ 0.91 % และ 20 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปาย พบว่าการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจนพบว่า กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 สะสมไนโตรเจนมากที่สุดที่ 2.41 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในใบการสะสมโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน ในกรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชชนิด B มากที่สุดที่ 0.94 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมฟอสฟอรัสในกรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มากที่สุดที่ 1.6 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตในการปลูกกระเทียมให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน และให้ผลผลิตกระเทียมใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมี นอกจากนี้การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตยังสามารถลดต้นทุนการผลิตกระเทียมได้แต่ต้องมีการทดลองเพื่อหาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจร่วมด้วย

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

กิจกรรมที่ 1 การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ประชากรแบคทีเรียของชุมชนแบคทีเรียในพื้นที่ลุ่มน้ำปายมีอัตราส่วนที่แตกต่างกันในแต่ละปี ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ สัดส่วนของโครงสร้างประชากรแบคทีเรีย แตกต่างกันไปตามการใช้ประโยชน์ที่ดิน พื้นที่ป่าที่ไม่ถูกรบกวนจะมีความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียมากกว่าพื้นที่ทำการเกษตร นอกจากนี้ข้อมูลประชากรตามการใช้พื้นที่สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อจัดการใช้ประโยชน์แบคทีเรียให้เหมาะสมในพื้นที่ ข้อมูลชุมชนแบคทีเรียในลุ่มน้ำปายสามารถใช้ในการทำนายแนวโน้มของจำนวนประชากรและชนิดของแบคทีเรียในลุ่มน้ำปาย เพื่อใช้ในการจัดการแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทางการเกษตร และนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรียเพื่อใช้ในการเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในลุ่มน้ำปายต่อไป เชื้อราที่พบทั่วไปมีความหลากหลายและยังคงมีความสมบูรณ์ โดยตัวอย่างดินทั้งในป่าและทางการเกษตรมีเชื้อราที่สำคัญ 5 ไฟลัม ได้แก่ Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota ซึ่ง Ascomycota เป็นไฟลัมที่พบมากที่สุด รองลงมาคือไฟลัม Basidiomycota Chytridiomycota, Glomeromycota และ Zygomycota นอกจากนี้มีเชื้อราจำนวนมากที่ไม่สามารถจำแนกได้ (incertae sedis) ด้วยการศึกษา ITS rDNA กลุ่มเชื้อราในดินที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ Nectriaceae ราชนิดเด่นที่พบมากที่สุด ได้แก่ รา *Fusarium* เห็นได้ชัดว่าข้อมูลทางอนุกรมวิธานที่ละเอียดยังคงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อทำการเปรียบเทียบเชิงปริมาณของ phylotype สัมพัทธ์ของข้อมูล อย่างไรก็ตามการวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยในอนาคตและอาจเป็นประโยชน์ในการกำหนดแนวทางการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราที่มีการตอบสนองต่อสภาพอากาศเย็น ร้อนแห้ง และเปียก องค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกราดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเช่นนำไปทดสอบการตรึงไนโตรเจนร่วมกับเชื้อไรโซเบียม หรือทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตหรือโพแทช นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อปฏิชีวนะในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

ความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดินจากการเก็บรวบรวมตัวอย่างดิน 12 ตัวอย่าง ใน 1 ปี ได้หน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) 5,963 หน่วย จำนวนการอ่าน 92,871 ครั้งและจำแนกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 43 phyla 820 สกุล (genera) ในจำนวนนี้มี 92 สกุล ที่เป็นของ Actinobacteria ความหลากหลายของแอกติโนแบคทีเรียสูงที่สุดในพื้นที่ต้นน้ำโดยเฉพาะในดินเกษตร class เด่นที่พบมีความอุดมสมบูรณ์สูงและพบได้บ่อยในพื้นที่ ได้แก่ class Actinobacteria และ Thermoleophilia ใน class Actinobacteria order Streptomycetales เป็น order ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุด และ family Streptomycetaceae เป็น family ที่มีความอุดมสมบูรณ์ที่สุดของ order นี้ สกุลเด่นที่พบมากที่สุด ได้แก่ Streptomyces ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดิน การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างชุมชนมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของความอุดมสมบูรณ์มากกว่าการมี / ไม่มี OTUs ซึ่งบ่งชี้ว่ามีชุมชนแอกติโนแบคทีเรียอยู่ทุก ๆ ที่

ทั้งต้นน้ำ – ปลายน้ำทั้งพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรกรรมองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือก แอคติโนแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเช่นนำไปทดสอบการตรึงไนโตรเจนร่วมกับเชื้อไรโซเบียม หรือทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตหรือโพแทสเซียม นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมกับถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน โดยทำการคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมมีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนให้แก่ถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน พบว่ามีสายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมจำนวน 3 สายพันธุ์ จาก 30 สายพันธุ์ ได้แก่ DASA 32019 DASA 32025 และ DASA 32116 ผลการคัดเลือกและผลการทดลองในระดับกระถางทดลองของสายพันธุ์ไรโซเบียมที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ได้ข้อมูลที่เป็นแนวทางในการนำไปทดสอบกับการปลูกถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอนในระดับแปลงทดลองของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย โดยข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเผยแพร่และนำสายพันธุ์ไรโซเบียมที่ผ่านการคัดเลือกกับถั่วสายพันธุ์ดังกล่าวมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อให้เกษตรกรในพื้นที่ลุ่มน้ำปายได้นำไปใช้ในการปลูกถั่วเพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อไป

เชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเติบโตของพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารวุ้นได้จำนวน 33 ไอโซเลท และจำแนกเป็น 2 สกุล คือ สกุล *Azospirillum* และ สกุล *Azotobacter* ผลของการวัดความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและความสามารถในการผลิต IAA ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ชี้ให้เห็นว่า เชื้อสกุล *Azotobacter* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าเชื้อสกุล *Azospirillum* แต่มีความสามารถในการผลิต IAA ได้ต่ำกว่า ส่วนการศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ 999 ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง และกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองแบคทีเรียทั้งสองสกุลทุกไอโซเลทมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบแตกต่างกัน โดยแบคทีเรียไอโซเลท AP1 มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิดสูงที่สุด รองลงมาคือ แบคทีเรียไอโซเลท AT1 นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการทดลอง (AP1 AT1 และ AT9) ไปศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตกระเทียม ข้าวโพด และข้าวในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย เพื่อนำข้อมูลและเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตสูงสายพันธุ์ใหม่ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่เหมาะสมกับพื้นที่ปลูกกระเทียม ข้าวโพด และข้าว

การศึกษาคความหลากหลายของราดินในพื้นที่ป่าและพื้นที่ทำการเกษตรบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอนพบราทั้งหมด 350 สายพันธุ์ จำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ทั้งหมด 18 สกุล 20 ชนิด แบ่งเป็นราในกลุ่ม Zygomycota 4 สกุล Ascomycota 13 สกุล Basidiomycota 1 สกุล ราที่พบมากในทุกพื้นที่ ได้แก่ *Aspergillus niger* (32 สายพันธุ์) รองลงมาได้แก่รา *Talaromyces* spp. (30 สายพันธุ์) และ *Neosartorya* spp. (23) ตามลำดับ ราที่พบเฉพาะในพื้นที่ทำการเกษตรได้แก่ รา *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfsii* และ *Trichoderma harzianum* ราที่พบเฉพาะในดินป่าได้แก่ รา *Myrothecium verucaria* ผลการทดสอบประสิทธิภาพของราดิน พบราดินจำนวน 10 สายพันธุ์สามารถย่อยสลาย

ฟอสเฟตได้ ราดินจำนวน 53 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง siderophore และพบราดินจำนวน 91 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง Indole acetic acid (IAA) นอกจากนี้ยังพบว่ามีราดินหลายสายพันธุ์สามารถยับยั้งราสาเหตุโรครากเน่าของพืชหลายชนิด อย่างรา *R. silani* พบราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญได้จำนวน 15 สายพันธุ์ รา *S. rolfsii* พบราดินที่สามารถยับยั้งการเจริญได้จำนวน 11 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีราดินจำนวน 15 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งรา *F. oxysporum* และ ราดิน 24 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งการเจริญของรา *C. gloeosporioides* ได้ ซึ่งราดินส่วนใหญ่ที่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรครากเน่าได้ในระดับดีเป็นราในสกุล *Trichoderma* spp. ราดินได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการทำการเกษตร เช่น รา *Gibberella fujikuroi* สร้างสาร gibberellin เป็นฮอร์โมนพืชทำให้พืชเจริญดีขึ้น รา *Trichoderma* sp. นำมาใช้ควบคุมโรคพืช และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยปุ๋ยหมักเนื่องจากเป็นราที่สร้างเอนไซม์หลายชนิด

ผลการคัดเลือกแอคติโนมัยสีท ชื่อ *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีความสามารถในการสร้าง siderophore ดีที่สุด *Streptomyces* sp. WF 10-1 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตดีที่สุด ส่วนแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝนที่มีการสร้างกรดอินโดลอะซีติกมีจำนวนทั้งหมด 42 32 และ 29 ไอโซเลทตามลำดับ เมื่อคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 10 ไอโซเลทมาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรครากเน่า พบว่า *Streptomyces* sp. WF 4-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรครากเน่า *E. carotovora* pv. *carotovora*, *R. solanacearum*, *X. axonopodis* pv. *glycines* และ *X. oryzae* pv. *oryzae* ได้ดีที่สุด ส่วน *Streptomyces* sp. WA 20-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *X. campestris* pv. *campestris* ได้ดีที่สุด การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรครากเน่า พบว่า *Streptomyces* sp. RF 23-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าได้ทุกชนิด และพบว่า *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรโซเบียมทั้ง 3 ชนิด คือ *B. japonicum* DASA 02006, *B. liaoningense* DASA 03018 และ *B. daqingense* DASA 03084 ดังนั้นจึงสามารถใช้ *Streptomyces* sp. WF 3-1, WF 4-1, WF 10-1, RF 12-4 และ RF 23-1 ร่วมกับการใช้โรโซเบียมทั้ง 3 ชนิดได้ เมื่อคัดเลือกแอคติโนมัยสีท *Streptomyces* sp. WF 4-1 และ *Streptomyces* sp. RF 12-4 ไปทำการทดสอบในระดับโรงเรือนพบว่า ต้นกล้าถั่วเขียวมีอาการเน่าตายเมื่อได้รับการปลูกเชื้อรา *S. rolfsii* แม้จะปลูกเชื้อแอคติโนมัยสีท *Streptomyces* sp. WF 4-1 ร่วมด้วย ส่วนต้นกล้าที่มีการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. RF 12-4 มีการเกิดโรคปานกลางในระดับ 2 ส่วนการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครากเน่า *E. carotovora* pv. *carotovora* ทำให้ต้นกล้าถั่วเขียวเกิดโรคเล็กน้อยในระดับ 1 แต่ความสูงของต้น น้ำหนักสด ความยาวรากและจำนวนปมรากของแต่ละกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ข้อมูลจากการทดลองนี้สามารถนำไปพัฒนาและทดสอบรูปแบบของการนำแอคติโนมัยสีทไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญของพืชหรือการยับยั้งเชื้อก่อโรครากเน่าในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลองต่อไปได้ สายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรครากเน่าและสามารถเจริญร่วมกับเชื้อโรโซเบียมได้

ประชากรนีมาโทดในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำลุ่มน้ำปาย จ. โดยใช้เทคนิค Whitehead tray ในการแยกนีมาโทดออกจากตัวอย่างดิน สามารถแยกได้นีมาโทดแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่กินแบคทีเรีย กลุ่มที่กินเชื้อรา กลุ่มที่เป็น Predator และกลุ่มที่เป็นศัตรูพืช กลุ่มที่พบจำนวนประชากรนีมาโทดมากที่สุดในตัวอย่างดินต้นน้ำ คือ กลุ่มกินแบคทีเรีย รองลงมาคือกลุ่มกินเชื้อรา เท่ากับ 132 และ 98 ตัวต่อดิน 500 กรัม ในช่วงเดือนพฤศจิกายน และในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่พบประชากรนีมาโทดมากที่สุดรวมเท่ากับ 334 ตัวต่อดิน 500 กรัม และพบน้อยที่สุดในช่วงเดือนมีนาคม เท่ากับ 180 ตัวต่อดิน 500 กรัม เป็นผลจากในช่วงพฤศจิกายน มีอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงมีนาคม สำหรับพื้นที่ปลายน้ำมีจำนวนประชากรนีมาโทดเป็นในทิศทางเดียวกันกับพื้นที่ต้นน้ำ แต่จำนวนประชากรต่ำกว่า เป็นผลจากการทำเกษตรซึ่งมีการไถพรวน พลิกหน้า ส่งผลให้ประชากรนีมาโทดลดลง แต่พบว่าในกลุ่มนีมาโทดที่เป็นศัตรูพืชเพิ่มขึ้นในช่วงพฤศจิกายน และมกราคม ผลการจำแนกสกุลของนีมาโทดของ 4 กลุ่ม พบว่ากลุ่มกินแบคทีเรีย คือ *Dolichorhabditis* และ *Rhabditis* กลุ่มกินเชื้อรา ได้แก่ *Aphelenchus* กลุ่มที่เป็น Predator คือ *Mononchus* และกลุ่มศัตรูพืช ได้แก่ *Helicotylenchus*, *Hoplolaimus*, *Paratylenchus* และ *Rotylenchus* ประชากรนีมาโทดในพื้นที่สามารถเป็นข้อมูลสนับสนุนเชิงวิชาการเพื่อใช้อ้างอิงเบื้องต้นด้านการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ มีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ดิน (นีมาโทด)

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคติเนสจากดินบริเวณลุ่มน้ำปาย จำนวน 4 แหล่ง ได้แก่ พื้นที่ป่าปลายน้ำ พื้นที่เกษตรปลายน้ำ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ พื้นที่ป่าธรรมชาติต้นน้ำบ้านแม่ณะ ในช่วงฤดูกาลต่างๆ พบว่า สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไคติเนส บนอาหาร selective medium ที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลส และไคติเนส สามารถคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งสิ้น 296 ไอโซเลท แบ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จำนวน 198 ไอโซเลท และจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส จำนวน 98 ไอโซเลท เชื้อ *Bacillus velezensis* ไอโซเลท 2CMC-1.1 และ *Paenibacillus xylanilyticus* ไอโซเลท 1Ch 2.4 เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย cellulose และ chitin สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเอนไซม์ cellulase และ chitinase ได้ดี รีคอมบิแนนท์ *E. coli* ของยีน cellulase และ chitinase สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดการพัฒนาระบบวิธีการผลิตรีคอมบิแนนท์เอนไซม์ cellulase และ chitinase ให้มีประสิทธิภาพสูงยิ่งขึ้น เพื่อเป็นแนวทางในการทดแทนสารชีวภาพ ในการประยุกต์ใช้ในด้านเกษตร พลังงาน และอุตสาหกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้องต่อไป

กิจกรรมที่ 3 การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชในพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

การทดลองใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมที่ผลิตจากเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากพื้นที่ลุ่มน้ำปายในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอน พบว่าผลผลิตของถั่วเหลืองทั้งสองปีไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี โดยเฉพาะในกรรมวิธีควบคุมซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยใด ๆ แต่กลับให้ผลผลิตที่ค่อนข้างสูงเทียบเท่ากรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยชีวภาพ ชี้ให้เห็นว่าสภาพดินที่ใช้ปลูกถั่วในครั้งนี้มีปริมาณธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการ

ผลิตถั่วเหลืองแม้ไม่มีการใส่ปุ๋ยใด ๆ ผลผลิตก็ยิ่งสูง สาเหตุอีกประการคือดินในพื้นที่ปลูกถั่วนี้มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมอยู่ในดินค่อนข้างมากและอาจเป็นไรโซเบียมที่สามารถเข้าแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในปุ๋ยชีวภาพที่ใช้คลุกเมล็ดปลูกในครั้งนี้ได้เป็นอย่างดี เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ได้ข้อมูลที่เป็นแนวทางในการนำไปทดสอบกับการปลูกถั่วเหลืองตาแดงพันธุ์พื้นเมืองแม่ฮ่องสอนในระดับแปลงทดลองของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย โดยข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเผยแพร่และนำสายพันธุ์ไรโซเบียมที่ผ่านการคัดเลือกกับถั่วสายพันธุ์ดังกล่าวมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อให้เกษตรกรในพื้นที่ลุ่มน้ำปายได้นำไปใช้ในการปลูกถั่วเพื่อลดต้นทุนการผลิต

การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ในการปลูกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง ให้ผลไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ ข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาต่อยอด เช่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น ให้คำแนะนำแก่เกษตรกรที่ปลูกข้าวในการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมีเพื่อลดต้นทุนการผลิต

การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลที่คัดเลือกได้ คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. และ *Azospirillum brasilense* (DASF04003) ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตได้ ข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาต่อยอด เช่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น ให้คำแนะนำแก่เกษตรกรที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมีเพื่อลดต้นทุนการผลิต

ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่ากรรมวิธีที่ 3 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azospirillum brasilense* TS13 ให้ผลผลิตน้ำหนักสดต่อไร่มากที่สุด 2,435 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่ากรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ให้ผลผลิตน้ำหนักสดต่อไร่มากที่สุด 2,170 กิโลกรัมต่อไร่ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองต้นน้ำปายพบว่า การสะสมไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และโพแทสเซียมมากที่สุดที่ 1.63 % และ 1.29 % ตามลำดับ ในใบการสะสมโพแทสเซียม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มีการสะสมไนโตรเจน และฟอสฟอรัสมากที่สุดที่ 0.91 % และ 20 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมธาตุอาหาร ในราก หัว และใบ ของกระเทียมจากแปลงทดลองปลายน้ำปาย พบว่าการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในหัวการสะสมฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจนพบว่า กรรมวิธีที่ 4 ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 สะสมไนโตรเจนมากที่สุดที่ 2.41 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ในใบการสะสมโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การสะสมไนโตรเจน ในกรรมวิธีที่ 5 แยกที่เรียสงเสริมการเจริญเติบโตของพืชชนิด B มากที่สุดที่ 0.94 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การสะสมฟอสฟอรัสในกรรมวิธีที่ 4 ใส่แยกที่เรียสงเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Azotobacter* sp. AT9 มากที่สุดที่ 1.6 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้แยกที่เรียสงเสริมการเจริญเติบโตในการปลูกกระเทียมให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน และให้ผลผลิตกระเทียมใกล้เคียงกับการใช้ปุ๋ยเคมี นอกจากนี้การใช้แยกที่เรียสงเสริมการเจริญเติบโตยังสามารถลดต้นทุนการผลิตกระเทียมได้แต่ต้องมีการทดลองเพื่อหาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจร่วมด้วย

กรมวิชาการเกษตร

บรรณานุกรม

กิจกรรมที่ 1

- Abed, R.M.M., A.M. Al-Sadi, M. Al-Shehi, S. Al-Hinai and M.D. Robinson. 2013. Diversity of free-living and lichenized fungal communities in biological soil crusts of the Sultanate of Oman and the irrolein improving soil properties. *Soil Biol. Biochem.* 57: 695–705.
- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology, 2nd edition, Krieger Publishing Company, USA.
- Bachy, C., J.R. Dolan, P. López-García, P. Deschamps and D. Moreira. 2012. Accuracy of protist diversity assessments: morphology compared with cloning and direct pyrosequencing of 18S rRNA genes and ITS regions using the conspicuous tintinnid ciliates as a case study. *ISME J.* 7 (2): 244–255.
- Bahram, M., F. Hildebrand, S.K. Forslund, *et al.* 2018. Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature* 560 (7717): 233-237.
- Bates, S.T., T.H. Nash and F. Garcia-Pichel. 2012. Patterns of diversity for fungal assemblages of biological soil crusts from the southwestern United States. *Mycologia* 104: 353–361.
- Bastida, F., T. Hernández, J. Albaladejo and C. García. 2013. Phylogenetic and functional changes in the microbial community of long-term restored soils under semiarid climate. *Soil Biol. Biochem.* 65: 12–21.
- Bastone, J.D. and W.G. Tyson. 2014. Linking microbial community structure, interactions and function in aerobic digesters using new molecular techniques. *Current opinion in Biotechnology* 27: 55-64.
- Bengtsson-Palme, J., M. Ryberg, M. Hartmann and S. Branco. 2013. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. *Methods Ecol. Evol.* 4: 914–919.
- Bentley, S.D., K.F. Chater, A.M. Cerdeño-Tárraga, G.L. Challis, N.R. Thomson, K.D. James, D.E. Harris, M.A. Quail, H. Kieser, D. Harper, *et al.* 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature* 417: 141–147.
- Brown, M.V., G.K. Philip, J.A. Bunge, M.C. Smith, A. Bissett, F.M. Lauro, J.A. Fuhrman and S.P. Donachie. 2009. Microbial community structure in the North Pacific Ocean. *ISME J.* 3: 1374–1386.
- Brown, S.P. and A. Jumpponen. 2014. Contrasting primary successional trajectories of fungi and

- bacteria in retreating glacier soils. *Mol. Ecol.* 23: 481–497.
- Buée, M., M. Reich, C. Murat, E. Morin, R.H. Nilsson, S. Uroz and F. Martin. 2009. Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytol.* 184: 449–456.
- Christian, L.L., S.S. Michael, B.A. Mark and F. Noah. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2407–2415
- Daniels, B.A. 1981. The influence of hyperparasites of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth of citrus. *Phytopathology* 71: 212–213.
- de Hoog, G.S., J. Guarro, J. Gené and M.J. Figueras. 2000. Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht and Universitat Rovira i Virgili, Reus.
- Delgado-Baquerizo, M., A.M. Oliverio, T.E. Brewer, A. Benavent-González, D.J. Eldridge, R.D. Bardgett, F.T. Maestre, B.K. Singh and N. Fierer. 2018. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science* 359 (6373): 320–325.
- de Vries, F.T., R.I. Griffiths, M.J. Bailey, H. Craig, *et al.* 2018. Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks. *Nat. Commun.* 9 (1): 3033.
- El-Tarabily, K.A. and K. Sivasithamparam. 2006. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biol. Biochem.* 38: 1505–1520.
- El-Tarabily, K.A., H.A. Nassar and K. Sivasithamparam. 2008. Promotion of growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in a calcareous soil by a phosphate-solubilizing, rhizosphere-competent isolate of *Micromonospora endolithica*. *Appl Soil Ecol.* 39: 161-171.
- Findley, K., J. Oh, J. Yang, S. Conlan, C. Deming, J.A. Meyer, D. Schoenfeld, E. Nomicos, M. Park, NIH Intramural Sequencing Center Comparative Sequencing Program, H.H. Kong and J.A. Segre. 2013. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature* 498: 367-370.
- Gams, W. 2007. Biodiversity of soil-inhabiting fungi. *Biodivers. Conserv.* 16: 69–72.
- Gangwar, M., Sheela R. and N. Shama. 2012. Diversity of Endophytic Actinomycetes from Wheat and It's Potential as Plant Growth Promoting and Biocontrol Agents. *J. Adv. Lab. Res. Biol.* 3(1): 16-23.

- Gill, S.R., M. Pop, R.T. Deboy, P.B. Eckburg, P.J. Turnbaugh, B.S. Samuel, J.I. Gordon, D.A. Relman, C.M. Fraser-Liggett, and K.E. Nelson. 2006. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 312(5778) : 1355-1359
- Gomez-Escribano, J.P., S. Alt and M.J. Bibb. 2016. Next generation sequencing of actinobacteria for the discovery of novel natural products. *Mar. Drugs*. 14: 78p.
- Gomez-Escribano, J.P. and M.J. Bibb. 2014. Heterologous expression of natural product biosynthetic gene clusters in *Streptomyces coelicolor*: from genome mining to manipulation of biosynthetic pathways. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 41: 425–431
- Gregor, A.K., Klubek, B. and E.C. Versa. 2003. Identification and Use of Actinomycetes for Enhanced Nodulation of Soybean Co-Inoculated with Bradyrhizobium japonicum. *Can. J. Microbiol.* 49(8): 483-491
- Jones, B.V., M. Begley, C. Hill, C.G.M. Gahan, and J.R. Marchesi. 2008. Functional and comparative metagenomic analysis of bile salt hydrolase activity in the human gut microbiome. *PNAS* 105(36) : 13580-13585
- Grime, J.P. 1988. The C-S-R model of primary plant strategies—Origins, implications and tests, pp. 371-93. In L.D. Gottlieb and S. Jain, eds. *Evolutionary Plant Biology*. Springer, Netherlands.
- Hamady, M. and R. Knight. 2009. Microbial community profiling for human microbiome projects: Tools, techniques, and challenges. *Genome Res.* 19: 1141–1152.
- Harvey, A.L., R. Edrada-Ebel and R.J. Quinn. 2015. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nat. Rev. Drug Discov.* 14: 111–129.
- Hong T., C. Cheng, J. Huang and M. Meng. 2002. Isolation and biochemical characterization of an endo-1, 3- β -glucanase from *Streptomyces sioyaensis* containing a C-terminal family 6 carbohydrate-binding module that binds to 1, 3- β -glucan. *Microbiology* 148: 1151-1159.
- Hillel, D. 2008. *Soil in the Environment*. Burlington (MA): Academic Press.
- Jones, R.T., M.S. Robeson, C.L. Lauber, M. Hamady, R. Knight, and N. Fierer. 2009. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *ISME J.* 3: 442–453.
- Kamlesh J., W.A. Mark, F.J. Alan, M. Thomas, D. Schmidt, C. Coleman and W.B. William. 2011 Land-use history has a stronger impact on soil microbial community composition than aboveground vegetation and soil properties *Soil Biology and Biochemistry* 43: 2184-2193
- Katz, L. and R.H. Baltz. 2016. Natural product discovery: past, present, and future. *J. Ind. Microbiol.*

Biotechnol. 43: 155–176.

- Kurokawa, K., T. Itoh, T. Kuwahara, K. Oshima, H. Toh, A. Toyoda, H. Takami, H. Morita, V.K. Sharma, T.P. Srivastava, T.D. Taylor, H. Noguchi, H. Mori, Y. Ogura, D.S. Ehrlich, Kysela, D.T., C. Palacios, and M.L. Sogin. 2005. Serial analysis of V6 ribosomal sequence tags (SARST-V6): a method for efficient, high-throughput analysis of microbial community composition. *Environ. Microbiol.* 7: 356–364.
- Lahdenpera, M.L., E. Simon and J. Uoti. 1991. Mycostopda novel biofungicide based on Streptomyces bacteria, pp. 258–263. *In*: M. Bollen, M. Gerlagh, M. Ruissen, B. Schippers and A. Tempel, eds. Biological Control of Plant Disease on Roots of Conifer Seedlings. Elsevier, Amsterdam.
- Larsen, P., Y. Hamada, and J. Gilbert. 2012. Modelling microbial communities: current, developing, and future technologies for predicting microbial community interaction. *Journal of Biotechnology* 1-2 : 17-24.
- Maestre, F.T., M. Delgado-Baquerizo, T.C. Jeffries, D.J. Eldridge, *et al.* 2015. Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112: 15684–15689.
- Manichanh, C., C.E. Chapple, L. Frangeul, K. Gloux, R. Guigo, and J. Dore. 2008. A comparison of random sequence reads versus 16S rDNA sequence for estimating the biodiversity of a metagenomic library. *Nucleic Acids Research* 36(16): 5180-5188.
- McGill, B.J., R.S. Etienne, J.S. Gray, D. Alonso, *et al.* 2007. Species abundance distributions: moving beyond single prediction theories to integration within an ecological framework. *Ecol. Lett.* 10: 995–1015.
- Melissa, A.C., Christopher, W.S., Nate G.M., William T.P., and Aimée T.C. 2012. Response of the Soil Microbial Community to Changes in Precipitation in a Semiarid Ecosystem. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 8587-8594.
- Mohammadi, O., M.L Lahdenpera. 1992. Mycostop Biofungicide in Practice. 1-7 in 10th International Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Compounds. Thuringia, Germany.
- Myat Soe, K., Ampan B., Dumnern K. and Takeo Y. 2012. Effect of endophytic actinomycetes and Bradryrhizobium japonicum strains on growth, nodulation, nitrogen fixation and seed weight of different soybean varieties. *Soil Scie Plant Nutr.* 58(3): 319-325.

- Nimnoi, P., Neelawan P. and Saisamon L. 2014. Co-inoculation of soybean (*Glycine Max*) with Actinomycetes and *Bradryrhizobium japonicum* enhances plant growth, Nitrogenase Activity and Plant Nutrition. *J. Plant nutr.* 37(3): 432-446.
- Ochoa, J.M. 1998. Control biologico del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxysporum f sp dianthi* mediante el uso de los *microorganismos potencialmente* antagonistas *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces coelicolor* *Trichoderma hamatum*. Thesis, Pontificia Universidad Javeriana.
- Okazaki, T. 2003. Studies on actinomycetes isolated from plant leaves, pp. 102-121. *In* I. Kurtboke, ed. *Selective Isolation of Rare Actinomycetes*. National Library of Australia.
- Peterson, J., S. Garges, M. Giovanni, P. McInnes, L. Wang, J.A. Schloss, V. Bonazzi, J.E. McEwen, *et al.* 2009. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 19: 2317–2323.
- Pilloni, G., S.M. Granitsiotis, M. Engel, and T. Lueders. 2012. Testing the limits of 454 pyrotag sequencing: reproducibility, quantitative assessment and comparison to T-RFLP fingerprint of aquifer microbes. *PLoS ONE.* 7. E40467.
- Powell, J.T., A.D. Chatziefthimiou, S.A. Banack, P.A. Cox and J.S. Metcalf. 2015. Desert crust microorganisms, their environment, and human health. *J. Arid Environ.* 112: 127–133.
- Prober, S.M., J.W. Leff, S.T. Bates, E.T. Borer, *et al.* 2014. Plant diversity predicts beta but not alpha diversity of soil microbes across grasslands worldwide. *Ecol. Lett.* 18: 85–95.
- Qin, H., H. Wang, P.J. Strong, Y. Li, Q. Xu and Q. Wu. 2014. Rapid soil fungal community response to intensive management in a bamboo forest developed from rice paddies. *Soil Biol. Biochem.* 68: 177–184.
- Sanapareddy, N., T.J. Hamp, L.C. Gonzalez, H.A. Hilger, A.A. Fodor, and S.M. Clinton. 2009. Molecular diversity of a North Carolina wastewater treatment plant as revealed by pyrosequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 1688–1696.
- Sartor, R.B. 2008. Therapeutic correction of bacterial dysbiosis discovered by molecular techniques. *PNAS* 105(43) : 16413-16414.
- Scheffer, M., B. van Bavel, I.A. van de Leemput E.H. van Nes. 2017. Inequality in nature and society. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114: 13154–13157.
- Sheik, S.C., Beasley, H.W., Elshahed, S.M., Zhou, X., Luo, Yiqi and Krumholz, L.R. 2011. Effect of warming and drought on grassland microbial communities. *ISME J* 5: 1692-1700.
- Sogin, M.L., H.G. Morrison, J.A. Huber, D. Mark Welch, S.M. Huse, P.R. Neal, J.M. Arrieta, and C. Staley,

- T. Unno, T.J. Gould, B. Jarvis, J. Phillips, J.B. Cotner, et al. 2013. Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River. *J. Appl. Microbiol.* 115: 1147–1158.
- Sterflinger, K., D. Tesei and K. Zakharova. 2012. Fungi in hot and cold deserts with particular reference to microcolonial fungi. *Fungal Ecol.* 5: 453–462.
- Stoeck, T., A. Behnke, R. Christen, L. Amaral-Zettler, M.J. Rodriguez-Mora, A. Chistoserdov, W. Orsi and V.P. Edgcomb. 2009. Massively parallel tag sequencing reveals the complexity of anaerobic marine protistan communities. *BMC Biol.* 7: 72.
- Strobel G.A., Daisy B., 2003, Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67, 491–502.
- Strobel G.A., 2003, Endophytes as Sources of Bioactive Products, *Microb. Infect.*, 5, 535–544.
- Tirawongsaroj, P., R. Sriprang, P. Harnpicharnchai, T. Thongaram, V. Champreda, S. Tanapongpipat, K. Pootanakit, and L. Eurwilaichitr. 2008. Novel thermophilic and thermostable lipolytic enzymes from a Thailand hot spring metagenomic library. *Journal of Biotechnology* 133 : 42-49.
- Tahvonen, R. 1982a. The suppressiveness of Finnish light coloured Sphagnumpeat. *J. Agric. Sci. Fini.* 54: 345–356.
- Tahvonen, R. 1982b. Preliminary experiments into the use of *Streptomyces* spp. isolated from peat in the biological control of soil and seedborne disease in peat culture. *J. Agric. Sci. Fini* 54: 357–369.
- Tanaka, Y. and S. Omura. 1993. Agroactive compounds of microbial origin. *Annu. Rev. Microbiol.* 47: 57–87.
- Tedersoo, L., M. Bahram, S. Põlme, U. Kõljalg, et al. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346 (6213): 1256688.
- Ulrich, A. and R. Becker. 2006. Soil parent material is a key determinant of the bacterial community structure in arable soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56: 430–443.
- Wang, X.H., Z.L. Yang, Y.C. Li, H. Knudsen and P.G. Liu. 2009. "*Russula griseocarnosa* sp. nov. (*Russulaceae*, *Russulales*), a commercially important edible mushroom in tropical China: mycorrhiza, phylogenetic position, and taxonomy". *Nova Hedwigia.* 88 (1–2): 269–82.
- Weber, C.F., D.R. Zak, B.A. Hungate, R.B. Jackson, R. Vilgalys, R.D. Evans, C.W. Schadt, J.P. Megonigal and C.R. Kuske. 2011. Responses of soil cellulolytic fungal communities to elevated

atmospheric CO₂ are complex and variable across five ecosystems. Environ. Microbiol. 13: 2778–2793.

Xiong, Z.Q., J.F. Wang, Y.Y. Hao and Y. Wang. 2013. Recent advances in the discovery and development of marine microbial natural products. Mar. Drugs. 11: 700–717.

Zhang, X., S. Xu, C. Li, L. Zhao, H. Feng, G. Yue, Z. Ran and G. Cheng. 2014. The soil carbon/nitrogen ratio and moisture affect microbial community structures in alkaline permafrost-affected soils with different vegetation types on the Tibetan plateau. Res. Microbiol. 165: 128–139.

กิจกรรมที่ 2

กรมวิชาการเกษตร. 2551. คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 45 หน้า.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2541. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยา, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 547 น.

คณิงนิจ บุศราคำ. 2545. โรคของกล้วยไม้ดิน ราเอนโดไฟท์บนใบและราก และราดินบริเวณราก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 245 หน้า

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2552. ไตรโคเดอร์มา: เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 368 หน้า

ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 300 หน้า

นภา โส้ห์ทอง. 2540. ลิงละอัมพันธ์น้อยจากจุลินทรีย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.เกษตรศาสตร์ 45 น.

นิยม สุตเพราะ. 2542. ความหลากหลายของราดินและราโรคพืช ในดินปลูกพืชไร่ จังหวัดสกลนคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 321 หน้า.

เนตรนภา อินสลุต ปรียาภรณ์ แสงเรื่อน และ กานต์สิริ หลีชัยกุล. 2558. อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต IAA ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์ กษ. 46(3)(พิเศษ): 625–628.

พิมพ์ธิดา เรืองไพศาล ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิโรจน์ และ ดารารัตน์ โฮตาก้า. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างฮอโมนเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. วารสารดินและปุ๋ย. 4: 222–235.

มานะ กาญจนมณีเสถียร. 2531. ราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและราทนความร้อน มูลสัตว์และเศษเหลือจากการเกษตร : การจำแนกและประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- มานิตา คำแจ่ม และ วสุ ปฐมอารีย์. 2557. สารไซโตโครฟออร์จากจุลินทรีย์. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 30(1): 229–247.
- เลขา มาโนช จิตรา เกาะแก้ว อรุมา เจียมจิตต์ และ ธิดา เดชฮวบ. 2549. เชื้อราบนซากใบพืชและการศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ หน้า 771-780. ใน รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 44 (สาขาพืช) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- เลขา มาโนช, อรุมา เจียมจิตต์, ธิดา เดชฮวบ, ผจงจิตร ภูจิณญาณ และยุพดี เผ่าพันธุ์. 2548. ชนิดและการแพร่กระจายของเชื้อราจากดินบริเวณน้ำพุร้อน ดินทางการเกษตร และดินจากแหล่งอื่นๆ. น. 739-746. ใน: รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- เลอลักษณ์ จิตรดอน, พลสัมพันธ์ มหาจันทร์, วิเชียร กิจปรีชาวนิช และนภา โล่ห์ทอง. 2535. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เพคตินในวัสดุอาหารแข็งโดยเชื้อรา *Rhizopus* sp. ที่สามารถย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังดิบ. *วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์*. 26(4): 374-383.
- วิเชียร กิจปรีชาวนิช, Seigo Sato, Masatoshi Matsumusa และนภา โล่ห์ทอง. 2537. การแยกสกัดและย่อยสลายไซแลนในซังข้าวโพดด้วยเอนไซม์จากเชื้อรา. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 67: 142-158.
- หนึ่ง เตียอำรุง. 2554. แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 251 หน้า.
- อาภรณ์ วงษ์วิจารณ์ และไตรวิทย์ รัตนโรจน์พงษ์. 2537. ลักษณะของกล้าเชื้อกับการเจริญและการผลิตกรดซิตริกของรา *Aspergillus niger*. *วารสาร สจธ*. 17(2): 107-117.
- Alef, K. and P. Nanninpietri. 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Harcourt Brace & Company. 576 p.
- Anand, T.P., A.W.Bhat, Y.S.Shouche, U. Roy, J. Siddharth, and S.P. Sarma. 2006. Antimicrobial activity of marine bacteria associated with sponges from the waters off the coast of South East India. *Microbiological Research* 161(3): 252-262.
- Ara, I., N.A. Bukhari, K. Perveen, and M.A. Bakir. 2012. Antifungal activity of some actinomycetes isolated from Riyadh soil, Saudi Arabia: An evaluation for their ability to control *Alternaria* caused tomato blight in green house pot trail. *African Journal of Agricultural Research* 7(3): 2042-2050.
- Boonkerd, N. and R.W. Weaver. 1982. Survival of cowpea rhizobia in soil as effect by soil temperature and moisture. *Appl. Environ. Microbial*. 43 : 585-589.
- Cassán, F.D., Y. Okon, and C.M. Creus. 2015. *Handbook for Azospirillum*. Springer International Publishing. 514 p.

- Dethoup, T. 2007. *Talaromyces species : diversity, taxonomy, phylogeny, antagonistic activity against plant pathogenic fungi and secondary metabolites*. Ph.D. Thesis. Kasetsart University.
- Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson. 1993. *Compendium of soil fungi* Vol. 1. 2nd ed. Academic Press, London. 859 p.
- El- Gammal, E. W. , H. A. Shalaby, H. M. Ashry, and A. I. El- Diwany. 2014. In vitro action of *Streptomyces griseolus* proteases as bio- control on *Fasciola gigantica* Eggs. *Journal of Bacteriology and Parasitology* 5: 192. doi: 10.4172/2155-9597.1000192.
- El-Tarabily, K.A., H.A. Nassar and K. Sivasithamparam. 2008. Promotion of growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in a calcareous soil by a phosphate-solubilizing, rhizosphere-competent isolate of *Micromonospora endolithica*. *Appl Soil Ecol.* 39: 161-171.
- Ferreira, L., F. Sanchez-Juanes, P. Gracia-Fraile, R. Rivas, P. Mateos, E. Martinez-Molina, J.M. Gonzales-Ziegler, D., A. Mariotti, V. Pflugger, M. Saad, G. Vogel, M. Tonolla and X. Perret. 2012. *In Situ* identification of plant-invasive bacteria with MALDI-TOF mass spectrometry. *Plos one.* 7(5): e37189
- Ferris H. and T. Bongers. 2006. Nematode Indicators of Organic Enrichment. *Journal of Nematology* 38 (1) : 3–12.
- Fibach-Paldi, S., S. Burdman and Y. Okon. 2011. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiology Letters* 326(2): 99-108.
- Foth, H. D. 1990. *Fundamentals of Soil Science*. John Wiley & Son, Inc, Canada. 360 p.
- Garrett, S. D. 1963. *Soil Fungi and Soil Fertility*. Pergamon Press, Oxford. 165 p.
- Glick, B.R., C.L. Patten, G. Holguin and D.M. Penrose. 1999. *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria*. Imperial College Press, Waterloo, Ontario, Canada. 276 p.
- Hartman, A. and N. Amarger. 1991. Genotypic diversity of an indigenous *Rhizobium meliloti* field population assessed by plasmid profiles, DNA fingerprinting and insertion sequence typing. *Can. J. Microbial.* 37: 600-608.
- Harley, J. R. 1971. Fungi in ecosystem. *J. Ecol.* 59 : 653 – 668.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MS, USA.

- Hosseini, S. and S.O. Martinez-Chapa. 2017. Fundamentals of MALDI-ToF-MS Analysis. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 68 p.
- Isaka, M., J. Punya, Y. Lertwerawat, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 1999. Antimal Angsana UPC activity of macrocyclic trichothecenes isolated from the fungus *Myrothecium verrucaria*. *Journal of Natural Products* 62(2) : 329-331.
- Jensen, H. L. 1954. The Azotobacteriaceae. *Bacteriological Reviews* 18 (4): 195–214.
- Jia, R.Z., R.J. Zhang, Q. Wei, W.F. Chen, I.K. Cho, W.X. Chen and Q.X. Li. 2015. Identification and Classification of Rhizobia by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *J Proteomics Bioinform.* 8(6) : 98-107.
- Kapagam, T. and P.K. Nagalakshmi. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agriculture soil. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(3): 601–614.
- Kapoor, I.J. and B. Kar. 1989. Antagonism of *Azotobacter* and *Bacillus* to *Fusarium Oxysporumlycopersici*. *Indian Phytopathol.* 42(3): 401–404.
- Khambalker, P. and R. Sridar. 2015. Isolation and Characterization of Nitrogen Fixing *Burkholderia* sp.. *Int. J. Agri. Envi. Biotech. Plant Pathology.* 681–689.
- Khamna, S., A. Yokota and S. Lumyong. 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 649–655.
- Koide, Y. Koide, A. Nakamura, T. and Uozumi, T. 1986. BeppuMolecular cloning of a cellulase gene from *Bacillus subtilis* and its expression in *Escherichia coli* *Agric Biol Chem*, 50 (1) pp. 233-237
- Law, J.W.F., H.L. Ser, T.M. Khan, L.H. Chuah, P. Pusparajah, K.G. Chan, B.H. Goh, and L.H. Lee. 2017. The potential of *Streptomyces* as biocontrol agents against the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*) . *Frontiers in Microbiology* 8: 3. doi: 10.3389/fmicb.2017.00003.
- Lynd, L. R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. van Zyl, I.S. 2002. Pretorius Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 66, pp. 506-577.
- Millati, R., Millati, L. Edebo, M.J. Taherzadeh. 2005. Performance of *Rhizopus*, *Rhizomucor*, and *Mucor* in ethanol production from glucose, xylose, and wood hydrolyzates

- Enzyme Microb. Technol., 36 (2–3), pp. 294-300
- Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13(3): 638–649.
- Mukerji, K. G., C. Manoharachary, and J. Singh. 2006. *Microbial Activity in the Rhizosphere*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 349 p.
- Nopparat, C., M. Jatupornpipat and A. Rittiboon. 2013. Isolation of phosphate solubilizing fungi in soil from Kanchanaburi, Thailand. *KMITL Sci. Tech. J.* 7(S2): 137-146.
- Prisa Domenico. 2019. Effect of *Azospirillum brasilense* on garlic (*Allium sativum* L.) cultivation. *WJARR.* 02(03): 008–013.
- Richard, B. N. 1976. Introduction to the Soil Ecosystem. Longman Group Limited, London. 266 p.
- Ridout, C.J., Coley-Smith, J.R. and Lynch, J.M. 1988. Fractionation of extracellular enzymes from a mycoparasitic strain of *Trichoderma harzianum*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 10: 180-187.
- Samson, R. A., S. Hong, S. W. Peterson J. C. Frisvad and J. Varga. 2007. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Fumigati and its teleomorph *Nosartorya*. *Study in Mycology.* 59: 147-203.
- Shihui, Y., Qiu, Z., Jianhua, G., Amy, O.C., Bernard, R.G., Mark, I., Donald, A.C. and H.Y. Ching. 2006. Effect of indole–3–acetic acid biosynthesis on multiple virulence factors of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Appl. Environ. Microbiol.* 4: 1,079–1,088.
- Singer, M. J. and D. N. Munns. 1987. Soil: An Introduction. Macmillan Publishing Company, New York. 492 p.
- Smith, J.E. and M. O. Moss. 1985. *Mycotoxins : Formation, analysis and significance*. John Wiley & Sons. Great Britain. 148 p.
- Soltanzadeh, M., M.S. Nejad, and G.H.S. Bonjar. 2016. Application of soil-borne actinomycetes for biological control against *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum*) caused by *Fusarium solani* fsp *pisi*. *Journal of Phytopathology* 194: 967–978.
- Spaepen, S., Dobbelaere, S., Croonenborghs, A. and J. Vanderleyden. 2008. Effect of *Azospirillum brasilense* indole–3–acetic acid production on inoculated wheat plants. *Plant Soil.* 312: 15–23.

- Tokala, R.K., J.L. Strap, C.M. Jung, D.L. Crawford, M.H. Salove, L.A. Deobald, J.F. Bailey, and M.J. Morra. 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology* 68(5): 2161-2171.
- Ueda, M. and Arai, M. 1992. Purification and some properties of chitinase from *Aeromonas* sp. No. 10S-24. *Bioscience Biotechnol Biochem* 56, 460-464.
- Weaver, R.W., D.R. Morris, N. Boonkerd and J. Sij. 1987. Populations of *Bradyrhizobium japonicum* in field cropped with soybean-rice rotation. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 51: 90-91.
- Wei C., H. Zheng, Q. Li, X. Lu, Q. Yu, H. Zhang, Q. Chen, N. He, P. Kardol, W. Liang and X. Han. 2012. Nitrogen Addition Regulates Soil Nematode Community Composition through Ammonium Suppression. *PLoS ONE* 7(8) : e43384.
- Ying, J., Yue, W., Wensi, X., Yanhong, C., Jiandong, C., Li, X., Feng, H. and L. Huixin. 2012. IAA-producing bacteria and bacterial-feeding nematodes promote *Arabidopsis thaliana* root growth in natural soil. *Eur. J. Soil Biol.* 52: 20-26.
- Yuan, W.M. and D.L. Crawford. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Applied and Environmental Microbiology* 61(8): 3119-3128.
- Ziegler, D., A. Mariotti, V. Pfluger, M. Saad, G. Vogel, M. Tonolla and X. Perret. 2012. In Situ identification of plant-invasive bacteria with MALDI-TOF mass spectrometry. *Plos one* 7 (5): e37189.
- Zhao J. and D.A. Neher. 2014. Soil energy pathways of different ecosystems using nematode trophic group analysis: a meta analysis. *Nematology* 16 : 379-385.

กิจกรรมที่ 3

- กรมวิชาการเกษตร. 2552. *คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ*. กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. ISBN: 978-974-436-749-5
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2560. *รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืชระดับตำบล (รต.)*. แหล่งที่มา : <http://www.maehongson.doae.go.th/>. สืบค้น: 22 พฤศจิกายน 2562.
- จิระศักดิ์ อรุณศรี. 2545. ชีววิทยาและการใช้ประโยชน์ของเชื้อ ไรโซเปียม. น. 23-62. ใน: เอกสารวิชาการ ปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการ เกษตร ปี พ.ศ. 2545.

- พรพิมล ชัยวรรณคุปต์, จันทนา ศิริไพบุลย์, นันทกร บุญเกิด และเธียรชัย อารยางกูร. 2540. การเพิ่มผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองในประเทศไทย. วาสารวิชาการเกษตร. 15(1): 4-23.
- ศิริลักษณ์ จิตรอักษร และ ศพินา สังข์วิเศษ. 2553. การวิจัยพัฒนาปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถั่วเหลืองเพื่อให้มีศักยภาพในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน. น. 97-104. ใน: ผลการปฏิบัติงาน ประจำปีงบประมาณ 2553. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.
- สำเนา เพชรฉวี. 2539. ข้อจำกัดการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพของพืชตระกูลถั่ว. วาสารดินและปุ๋ย. 12: 87-8.
- Baldani, J.I., V.L.D. Baldani, L. Seldin and J. Dobereiner. 1986. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov. sp. nov., a Root Associated N₂-fixing Bacterium. Int. Syst. Bacteriol. 36: 86-93.
- Bandahu, R.B. and P. Adhikari. 2013. Effect of *Azotobacter* on Growth and Yield of Maize. SAARC J. Agric. 11(2): 141-147.
- Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current Status of *Azospirillum* Inoculation Technology: *Azospirillum* as a Challenge for Agriculture. *Canadian Journal of Microbiology* 36: 591-608.
- Boonkerd, N. and R.W. Weaver. 1982. Survival of cowpea rhizobia in soil as effect by soil temperature and moisture. Appl. Environ. Microbiol. 43 : 585-589.
- Boonkerd, N. and S. Promsiri. 1993. Effectiveness in N₂ fixation of *Sesbania speciosa* and *Sesbania rostrata* rhizobia isolated from different locations. Kasetsart J. 27 : 292-302.
- Cassan, F.D., A. Coniglio, G. López, R. Molina, S. Nievas, C.L.N. de Carlan, F. Donadio, D. Torres, S. Rosas, F.O. Pedrosa, E. de Souza, M.D. Zorita, L.de-Bashan and V. Mora. 2020. Everything You Must Know About *Azospirillum* and its Impact on Agriculture and Beyond. Biol. Fertil. Soils. 56: 461-479.
- Duzan, H.M., X. Zhou, A. Souleimanov, and D.L. Smith. 2004. Perception of *Bradyrhizobium japonicum* Nod factor by soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]root hairs under abiotic stress conditions. Journal of Experimental Botany 55(408) : 2641-2646.
- Ellis, W.R., G.E. Ham and E.L. Schmidt. 1984. Persistence and Recovery of *Rhizobium japonicum* Inoculum in a Field Soil. Agronomy Journal. 76(4): 573-576.
- Fages, J. and J.F. Arzac. 1991. Sunflower Inoculation with *Azospirillum* and Other Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Plant Soil. 137: 87-90.

- Kaur, J., G. Pandove, M. Gangwar, S. Kaurbrar and K.S. Sekhon. 2018. Mitigating the Impact of Climate Change on Wheat by Use of Liquid Microbial Inoculants under Different Planting Dates. *Res. on Crops*. 19(3): 365–372.
- Kizilkaya, R. 2009. Nitrogen Fixation Capacity of *Azotobacter* spp. Strains Isolated From Soils in Different Ecosystems and Relationship between Them and the Microbiological Properties of Soils. *J. Environ. Biol.* 30(1): 73-82.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana and R.W. Weaver. 2006a. Tomato Growth in Soil Amended with Sugar Mill By-products Compost Containing N₂-fixing Bacteria. *Plant and Soil* 280: 171–176.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando, T. Yokoyama and R.W. Weaver. 2006b. Bio-organic Fertilizer Production Development from Compost and Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *In Abstract of 14th World Fertilizer Congress*. January 21– 27, 2006. Chaing Mai Thailand.
- Peng, S.H., W.M. Wan-Azha, W.Z. Wong, W.Z. Go, E.W. Chai, K.L. Chin and P.S. H'ng. 2013. Effect of Using Agro-fertilizers and N-fixing *Azotobacter* Enhanced Biofertilizers on the Growth and Yield of Corn. *J Appl Sci.* 13: 508-512.
- Pereg, L., L.E. de-Bashan and Y. Bashan. 2016. Assessment of Affinity and Specificity of *Azospirillum* for Plants. *Plant soil.* 399: 389-414.
- Revolti, L.T.M., C.H. Caprio, F.L.C. Mingotte and G.V. M'oro. 2018. *Azospirillum* spp. Potential for Maize Growth and Yield. *Afr. J. Biotechnol.* 17(18): 574-585.
- Tchan, Y.T. 1984. Azotobacteriaceae. Pages 219-225. *In: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. J. Krieg and G. Holt (eds.) Williams and Wilkins, Baltimore, London.
- Weaver, R.W., D.R. Morris, N. Boonkerd and J. Sij. 1987. Populations of *Bradyrhizobium japonicum* in field cropped with soybean-rice rotation. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 51: 90-91.
- Zhang, H., T.C. Charles, B. Driscoll, T. Prithiviraj, and D.L. Smith. 2002. Low temperature-tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strains allowing improved soybean yield in short-season. *Agron. J.* 94: 870-875.