

## รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

-----

1. แผนงานวิจัย :
2. โครงการวิจัย : ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

กิจกรรม : การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) :

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของราดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Population studies and classification of soil fungi in the area affected by climate change in the Pai river basin

### 4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง: นางสาวจิตรา เกาะแก้ว      สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผู้ร่วมงาน:

1. นายอำนาจ เอี่ยมวิจารณ์	สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. นางสาวกนกอร บุญพา	สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
3. นางสาวอมรรัตน์ ใจยะเสน	สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
4. นายสุริยนต์ ดีดเหล็ก	สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน

5. บทคัดย่อ: การศึกษาผลของความแตกต่างทางชีวภูมิศาสตร์ ความแตกต่างในโครงสร้างและความหลากหลายของเชื้อราในดินทางการเกษตรและดินป่าในประเทศไทยมีค่อนข้างน้อย ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำเทคนิค Next generation sequencing มาใช้เป็นพื้นฐานในการกำหนดลักษณะของชุมชนของเชื้อราที่อาจเป็นผลมาจากสภาพภูมิอากาศหรือการเปลี่ยนแปลงการใช้ที่ดินของพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำ ทำการศึกษาในภาคเหนือของประเทศไทย บริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน โดยเก็บตัวอย่างดินจำนวน 4 จุด ได้แก่ พื้นที่ป่าปลายน้ำ พื้นที่เกษตรปลายน้ำ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ เก็บในช่วง 3 ฤดู ได้แก่ หนาว (ธ.ค.) ร้อน (เม.ย.) และ

ฝน (ส.ค.) เป็นระยะเวลา 3 ปี (2560-2562) งานวิจัยนี้ศึกษาชุมชนเชื้อราในดินที่เกี่ยวข้องกับป่าไม้และสภาพแวดล้อมทางการเกษตรเพื่ออธิบายลักษณะของชุมชนเชื้อราที่มีอยู่ในดิน โดยการวิเคราะห์การจัดลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ transcribed spacer (ITS) บน rDNA เพื่อเป็นแนวทางในการประเมินความหลากหลายและจำแนกลักษณะความแตกต่างของชุมชนเชื้อราในดิน ผลการวิจัยพบว่าสามารถจำแนก 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 พบว่าเชื้อรามีความอุดมสมบูรณ์หรือมีจำนวนหน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการ (OTUs) ในฤดูหนาวและฤดูร้อนของแต่ละปีมากที่สุดทั้งในดินพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าไม้ ชุมชนของเชื้อราส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน เนื่องจากตัวอย่างถูกเก็บจากพื้นที่ต่างกัน รวมทั้งความแตกต่างของสภาพภูมิอากาศและลักษณะทางภูมิศาสตร์ ความหลากหลายภายในพื้นที่หรือระบบนิเวศเฉพาะซึ่งโดยปกติจะแสดงด้วยจำนวนของสิ่งมีชีวิต เช่นความอุดมสมบูรณ์ของชนิดพันธุ์ (Alpha diversity) ในระบบนิเวศนั้นจะลดลงตามระยะทางจากต้นน้ำและปลายน้ำซึ่งจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหลากหลายของเชื้อรา การกำหนดลักษณะของโครงสร้างชุมชนเชื้อราพบว่าการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของชุมชนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของความอุดมสมบูรณ์มากกว่าการมีหรือไม่มี OTUs ซึ่งบ่งบอกว่ามี "ชุมชนเชื้อรา" ในพื้นที่ต้นน้ำทุกตัวอย่าง การศึกษานี้เป็นหนึ่งในขั้นตอนที่สำคัญในการกำหนดลักษณะของชุมชนเชื้อราโดยใช้วิธีการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค next-generation sequencing แสดงให้เห็นว่าผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากมนุษย์ในพื้นที่ต้นน้ำสามารถส่งผลกระทบต่อที่อยู่และความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของ OTUs ที่อยู่ปลายน้ำ ซึ่งส่งผลให้โครงสร้างชุมชนเชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงจำเป็นต้องรักษาระบบนิเวศของพื้นที่ป่าต้นน้ำเพื่อการอนุรักษ์สายพันธุ์ของเชื้อรา

**คำหลัก :** เทคโนโลยีการหาลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นใหม่ ชุมชนเชื้อรา หน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการ

### **Abstract:**

Study of the effects of biogeographical separation and temporal differences in fungal structure and diversity agricultural and forest soils in Thailand remain poorly understood. A next-generation, Illumina-based sequencing approach was used to characterize the fungal community at four sites (Agricultural upstream, Forest upstream, Agricultural downstream, Forest downstream ) in 3 seasons (winter, summer, rain) for a period of 3 years (2017-2019) along the

Pai River Basin located at Mae Hong Son, northern Thailand to evaluate shifts in the community potentially resulting from upstream inputs and downstream or land use changes. This research examined the soil fungi communities associated with forests and agricultural environments. The goal of the study was to describe the general fungal communities present in the soils. Soil samples were analyzed for an array of characteristics. Internal transcribed spacer (ITS) rRNA gene sequencing has been used as an approach to evaluate the diversity and characterize the differences in soil fungal communities in environments areas in winter, summer and rainy seasons in 2560, 2561 and 2562. The results reveal that the fungal phylotypes were classified in five major fungal phyla namely Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota and Zygomycota respectively, in both upstream and downstream. Nectriaceae was the most dominant family whereas *Fusarium* was the dominant genus. The largest assemblage of fungal analysis showed communities dominated by members of the phylum Ascomycota. The assays also revealed a wealth of incertae sedis fungi, mostly affiliated to uncultured fungi from diverse environmental conditions. Striking difference between forests and agricultural soil communities in winter, summer and rainy seasons, with more fungal diversities and operational taxonomic units (OTUs) richness associated with both the agriculture fields and forests soils in winter and summer seasons in each year. The fungal communities were dominated by Ascomycota and Basidiomycota but had different relative abundance because soils were derived from different samples, climate and because of geographic distance. Alpha diversity decreased with distance from the upstream and downstream was positively correlated with diversity. Replication minimally influenced the characterization of community structure. Shifts in community structure are related to changes in the relative abundance, rather than presence/absence of OTUs, suggesting a 'fungal community' is present through OTUs the upper stream. This study is among the first to characterize a fungal community using a next-generation sequencing approach and demonstrates that upstream influences and potentially anthropogenic impacts can influence the presence and relative abundance of OTUs downstream resulting in significant variation in community structure. Our findings constitute a major advance in our understanding of the ecology of fungi and have implications for the development of strategies to preserve them and the ecosystem functions they provide. The present work thus provides a baseline of the fungal community associated with forests and agricultural soils.

**Keyword :** Next generation sequencing (NGS), fungal communities, Operational taxonomic unit (OTUs)

## 6. คำนำ:

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่มีความสำคัญ ในระดับภูมิภาคของโลก หลายภาคส่วนได้ตระหนักถึงความรุนแรงของปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและเตรียมความพร้อมในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ สาเหตุหลักเกิดมาจากสภาวะโลกร้อน (Global warming) ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม เกิดภัยธรรมชาติที่รุนแรงมากขึ้น เช่น น้ำท่วม ฝนแล้ง พายุที่รุนแรง ส่งผลกระทบถึงการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ภาคการเกษตรเป็นส่วนหนึ่งที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ทำให้ศักยภาพในการผลิตลดลงเนื่องจากสภาพภูมิอากาศเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการทางสรีระวิทยาของพืช ตัวอย่างเช่น ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อระบบการผลิตข้าวพบว่าข้าวทุกสายพันธุ์มีความอ่อนไหวต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ทำให้อายุข้าวสั้นลงและผลผลิตข้าวลดลง นอกจากนี้ยังมีผลต่อการระบาดของโรคและแมลงศัตรูข้าวด้วย สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงยังส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรต่าง ๆ โดยปัจจัยทางภูมิอากาศ เช่น ปริมาณน้ำฝน การกระจายของน้ำฝน การทิ้งช่วงของฝน พร้อมทั้งอุณหภูมิเฉลี่ย อุณหภูมิสูงสุด ต่ำสุดที่เกิดขึ้นมีผลต่อ แหล่งที่อยู่อาศัย ชนิด และประชากรของจุลินทรีย์ดินทั้งสิ้น การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศอาจทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรบางชนิดไม่สามารถปรับตัวได้ ทำให้เกิดแรงกดดันในการเคลื่อนย้ายเพื่อหาที่อยู่อาศัยใหม่ที่เหมาะสม ซึ่งปัจจุบันมีอุปสรรคจากการทำการเกษตรที่มีการใช้สารเคมี และการบุกรุกพื้นที่ป่าเพื่อทำการเกษตร ทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรหลายชนิดอาจสูญพันธุ์ไปจากแหล่งที่อยู่อาศัยเดิม

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของราดินที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างพื้นที่ป่ากับพื้นที่ที่ถูกรบกวนจากการเกษตรกรรม ในแต่ละช่วงเวลาในรอบ 1 ปี ซึ่งสามารถระบุชนิดและปริมาณราดินชนิดต่าง ๆ ที่อาจพบเพิ่มขึ้นหรือลดลงไปจากแหล่งอาศัยในระบบนิเวศนั้น ๆ โดยข้อมูลเหล่านี้จะสามารถบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมทั้งการดำรงชีวิตของราดินบางชนิดที่สามารถปรับตัว และยังคงกิจกรรมที่ช่วยสนับสนุนแก๊สชีวภาพในแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ โดยเฉพาะกลุ่มราดินที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงการใช้ประโยชน์จากราดินที่แยกได้จากพื้นที่ ที่ทำการศึกษาซึ่งเป็นราดินที่ผ่านการปรับตัวให้มีชีวิตอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ โครงการวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะผลิตพืชในชุมชนเกษตรของกลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ และเป็นพื้นที่ที่เริ่มมีการบุกรุกป่าเพื่อทำการเกษตรกรรม นอกจากนี้ยังสามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการผลิตพืชสำหรับพื้นที่อื่น ๆ ที่กำลังจะได้รับผลกระทบจากสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง เพื่อบรรเทาหรือหยุดยั้งผลกระทบและความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นได้อย่างเป็นรูปธรรมและทันต่อเหตุการณ์ โดยกิจกรรมของราดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเป็นองค์ประกอบสำคัญในการนำมาเพิ่มศักยภาพในการผลิตพืชให้ยั่งยืนต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ:

- อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน
2. ตัวอย่างดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย
3. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกและจำแนกชนิดเชื้อราจากดิน
4. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อราจากตัวอย่างดิน

- วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างดินในแต่ละพื้นที่ ดินน้ำ และปลายน้ำ โดยเก็บดินในพื้นที่ทำการเกษตร และดินป่าที่ยังไม่ถูกรบกวนจากการทำเกษตรกรรม โดยขุดดินลึกจากผิวดิน 15 เซนติเมตร ขุดอย่างน้อย 5 หลุม ในพื้นที่ 25 ตารางเมตร ตักดินมาหลุมละ 1 กิโลกรัม นำดินที่ได้มาผสมให้เข้ากัน ตักใส่ถุงพลาสติกประมาณ 2 กิโลกรัม ปิดปากถุงให้แน่น บรรจุในถุงน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดินทุกตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าจะทำการวิเคราะห์
2. เก็บตัวอย่างดินในบริเวณที่ทำการศึกษิตตามกรรมวิธี ทุก ๆ 3 เดือนในรอบ 1 ปี ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย และบันทึกข้อมูลพื้นที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ พิกัด เนื้อดิน แหล่งอาศัย พืช และสภาพอากาศ เช่น อุณหภูมิอากาศและดิน ความชื้นในอากาศ pH ของดิน และปริมาณน้ำฝน
3. วิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของดิน ได้แก่ ประเภทของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนสะสมในดิน
4. จำแนกชนิดราดินโดยวิธีสกัดดีเอ็นเอโดยตรงจากตัวอย่างดิน เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของชุดยีนที่สนใจ อ่านลำดับเบสของดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิค Next generation sequence และจำแนกราดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ทำการเปรียบเทียบชนิดของราดินที่พบในแต่ละครั้งของการเก็บตัวอย่าง ศึกษาความสัมพันธ์ของราดินที่พบด้วยวิธี phylogenetic tree analysis
5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกลุ่มราดินต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Principal components analysis (PCA) เพื่อพิจารณาการกระจายตัวของราดินในแต่ละพื้นที่
6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของกลุ่มและปริมาณประชากรราดินแต่ละชนิดตามพื้นที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา

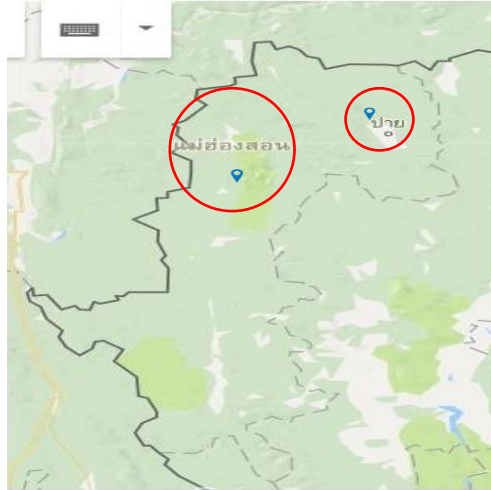
- เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2559 สิ้นสุด 30 กันยายน 2560

**สถานที่ทำการทดลอง** - เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการเกษตร และดินในพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน  
- แยกและจำแนกชนิดของราดินที่ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ศึกษาจำนวนประชากรและจำแนกชนิดของราดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย ทำการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำโดยเก็บจากดินในแปลงเกษตรกรรมและดินป่า พื้นที่เก็บตัวอย่างรวมทั้งพิกัดและความสูงจากระดับน้ำทะเลของพื้นที่เก็บตัวอย่างดังแสดงในภาพที่ 1 ตารางที่ 1



ภาพที่ 1 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างบริเวณต้นน้ำ ต. แม่มาตัง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน ปลายน้ำ ต. ผาบ่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน

ตารางที่ 1 แสดงพิกัดและความสูงจากระดับน้ำทะเลของพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

	ลักษณะพื้นที่	พิกัด GPS		ความสูงจากระดับน้ำทะเล
ป่าต้นน้ำ	ป่า	19° 23' N	97° 57' E	546 ม.
เกษตรต้นน้ำ	นาข้าว	19° 23' N	97° 57' E	544 ม.
ป่าปลายน้ำ	ป่า	19° 11' N	97° 59' E	270 ม.
เกษตรปลายน้ำ	นาข้าว	19° 11' N	97° 59' E	208 ม.

ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินในพื้นที่เก็บตัวอย่างพบว่าดินในพื้นที่เกษตรต้นน้ำมีค่า pH 6.71 มีค่าอินทรีย์วัตถุ 3.11 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 68.71 มก./กก. และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 177.10 มก./กก. ดินในพื้นที่เกษตรปลายน้ำมีค่า pH 5.92 มีค่าอินทรีย์วัตถุ 1.85 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 12.43 มก./กก. และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 66.97 มก./กก. ดินในพื้นที่ป่าต้นน้ำมีค่า pH 6.57 มีค่าอินทรีย์วัตถุ 2.29 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 75.71 มก./กก. และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 168.90 มก./กก. ดินในพื้นที่ป่าปลายน้ำมีค่า pH 6.32 มีค่าอินทรีย์วัตถุ 2.77 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 11.33 มก./กก. และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 150.00 มก./กก.(ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีของตัวอย่างดินที่เก็บจากบริเวณลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

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

พื้นที่ศึกษาเป็นดินเกษตรต้นน้ำ ป่าต้นน้ำ ที่ ต. แม่มาตัง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน เกษตรปลายน้ำ และป่าปลายน้ำ ต. ผาป่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน ดินบนลึก 30 เซนติเมตร ดินพื้นที่เกษตรทั้งต้นน้ำและปลายน้ำสีดินเป็นสีน้ำตาล ในขณะที่พื้นที่ป่าต้นน้ำสีดินเป็นสีน้ำตาลปนน้ำตาลเหลือง ป่าปลายน้ำสีดินเป็นสีน้ำตาลปนน้ำตาลเข้ม เนื้อดินของพื้นที่เกษตรเป็นดินร่วนทรายถึงร่วนเหนียว มีเนื้อหยาบปานกลางถึงละเอียดปานกลาง มีโครงสร้างดินแบบก้อนเหลี่ยมมุมมน ดินพื้นที่ป่ามีเนื้อดินเป็นดินร่วนถึงดินเหนียวปนทรายแป้ง มีเนื้อปานกลาง มีโครงสร้างดินแบบก้อนเหลี่ยมมุมมนถึงก้อนเหลี่ยมกึ่งมุมมน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสนาม และสมบัติทางกายภาพของดินบริเวณลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

Position	Depth (cm)	Soil Color	structure	Particle size distribution (%)			Textural class
				Sand	Silt	Clay	
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

ข้อมูลสภาพแวดล้อมขณะที่ทำการเก็บตัวอย่างดินในช่วงฤดูหนาว (เดือนธันวาคม) ฤดูร้อน (เดือนเมษายน) และฤดูฝน (เดือนสิงหาคม) จากพื้นที่ 4 แหล่ง คือ 1) พื้นที่ป่าต้นน้ำ เกษตรต้นน้ำ ป่าปลายน้ำ เกษตรปลายน้ำ ตัวอย่างดินต้นน้ำเก็บที่ บ้านแม่ละ อ.แม่มาตัง จ.แม่ฮ่องสอน ตัวอย่างดินปลายน้ำเก็บที่ บ้านผาป่อง ต. ผาป่อง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน ข้อมูลอุณหภูมิของดินในฤดูหนาวของแต่ละปีอยู่ที่ 21.3-22.7 องศาเซลเซียส ฤดูร้อนเท่ากับ 27.1-31.1 องศาเซลเซียส และฤดูฝน 26.4-28.6 องศาเซลเซียส อุณหภูมิอากาศในฤดูหนาวของแต่ละปีอยู่ที่ 29.8-22.7 องศาเซลเซียส ฤดูร้อนเท่ากับ 33.4-31.1 องศาเซลเซียส และฤดูฝน 32.2-34.9 องศาเซลเซียส

ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยพบว่าในฤดูหนาวเดือน ธันวาคม 2559 และฤดูร้อนเดือนเมษายน 2562 มีค่าเป็นศูนย์ และมีปริมาณน้ำฝนสูงสุดในฤดูฝนในเดือนสิงหาคม 2562 มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 407.8 มิลลิเมตร ความชื้นเฉลี่ยสูงสุด 86 % ในฤดูฝนเดือนสิงหาคม 2561 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิดินและอุณหภูมิอากาศในช่วงที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

ช่วงเวลาเก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิดิน (°C)	อุณหภูมิอากาศ (°C)	ปริมาณฝนเฉลี่ย (มม.)	ความชื้นเฉลี่ย (%)
ฤดูหนาว (ธ.ค.59)	22.4	29.8	0	80
ฤดูร้อน (เม.ย.60)	27.1	33.4	41.8	54
ฤดูฝน (ส.ค.60)	28.6	32.2	258.2	84
ฤดูหนาว (ธ.ค.60)	21.3	31.4	22.4	83
ฤดูร้อน (เม.ย.61)	29.5	36.7	46.6	56
ฤดูฝน (ส.ค.61)	26.4	34.2	178	86
ฤดูหนาว (ธ.ค.61)	22.7	30.3	33.8	83
ฤดูร้อน (เม.ย.62)	31.1	35.8	0	43
ฤดูฝน (ส.ค.62)	26.6	34.9	407.8	86

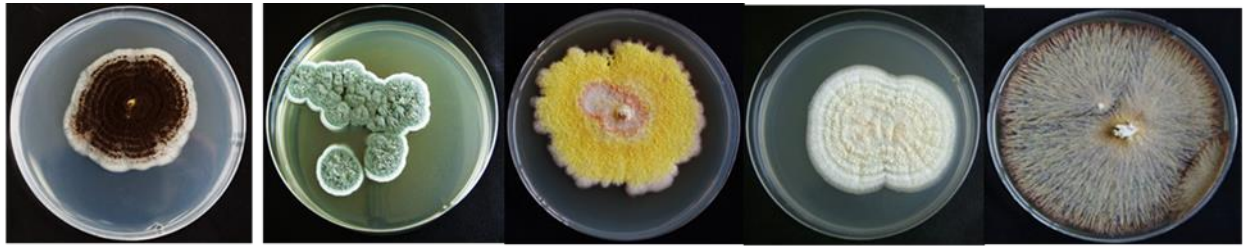
การนับจำนวนประชากรราดินจากตัวอย่างดินทั้ง 4 จุด โดยวิธี plate count จะเห็นว่าในจำนวนดิน 1 กรัม มีจำนวนประชากรราดินอยู่ค่อนข้างมากโดยพบว่าในปี 2561 ตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่ป่าบริเวณต้นน้ำในฤดูหนาวมีจำนวนประชากรราดินมากที่สุดถึง  $8.58 \times 10^4$  กล่าวคือ ในดิน 1 กรัมตรวจพบประชากรของราดินจำนวน 85,800 เซลล์ ส่วนตัวอย่างดินที่มีจำนวนประชากรราดินน้อยที่สุดเมื่อตรวจนับโดยวิธี plate count ได้แก่ ตัวอย่างดินจากพื้นที่ป่าบริเวณต้นน้ำในฤดูร้อนที่เก็บในปี 2561 ในดิน 1 กรัมตรวจพบประชากรของแอสคิโนมัยสีทจำนวน  $1.1 \times 10^3$  หรือ 1,100 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม (ตารางที่ 5)



ตารางที่ 5 แสดงจำนวนประชากรราดินที่ตรวจนับโดยวิธี plate count จากตัวอย่างดิน 4 จุด 3 ฤดู ในช่วงเวลา 3 ปี

ปี/ฤดู	ป่าปลายน้ำ	เกษตรปลายน้ำ	เกษตรต้นน้ำ	ป่าต้นน้ำ
ปี 2560				
หนาว	$3.95 \times 10^4$	$5.84 \times 10^4$	$7.05 \times 10^4$	$7.98 \times 10^4$
ร้อน	$1.8 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$	$5.8 \times 10^3$	$6.1 \times 10^3$
ฝน	$2.81 \times 10^4$	$2.38 \times 10^4$	$4.10 \times 10^3$	$2.95 \times 10^3$
ปี 2561				
หนาว	$4.51 \times 10^4$	$6.41 \times 10^4$	$6.35 \times 10^4$	$8.58 \times 10^4$
ร้อน	$1.48 \times 10^4$	$1.26 \times 10^4$	$3.71 \times 10^3$	$1.10 \times 10^3$
ฝน	$1.80 \times 10^4$	$2.98 \times 10^4$	$4.46 \times 10^3$	$3.21 \times 10^3$
ปี 2562				
หนาว	$2.46 \times 10^4$	$8.08 \times 10^4$	$4.81 \times 10^4$	$1.60 \times 10^4$
ร้อน	$2.40 \times 10^4$	$2.10 \times 10^4$	$2.97 \times 10^3$	$2.15 \times 10^3$
ฝน	$2.20 \times 10^4$	$3.20 \times 10^4$	$4.56 \times 10^3$	$2.52 \times 10^3$

เมื่อนำราดินที่แยกได้มาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าราส่วนใหญ่ที่เลี้ยงได้เป็นราในสกุล *Aspergillus* และ *Penicillium* รวมทั้งระยะสืบพันธุ์ของราทั้ง 2 สกุล เช่น รา *Taralomyces* spp., *Neosartorya* spp., *Emericella* spp., *Eupenicillium* spp. และ *Hamigera* spp. เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามียราที่สำคัญทางการเกษตรอีกหลายชนิดราที่มีประโยชน์ทางการเกษตรที่นำมาใช้เป็นราปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น รา *Trichoderma* spp. ราที่มีรายงานเป็นราสาเหตุโรคกับพืช เช่น รา *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. การศึกษารังนี้สามารถแยกราที่มีความสำคัญในการช่วยย่อยสลายเศษซากพืชในป่าอย่าง รา *Xylaria* spp. (ภาพที่ 2 และ 3)



*Aspergillus niger*

*Penicillium* sp.

*Talaromyces* sp.

*Neosartoya* sp.

*Hamigera* sp.



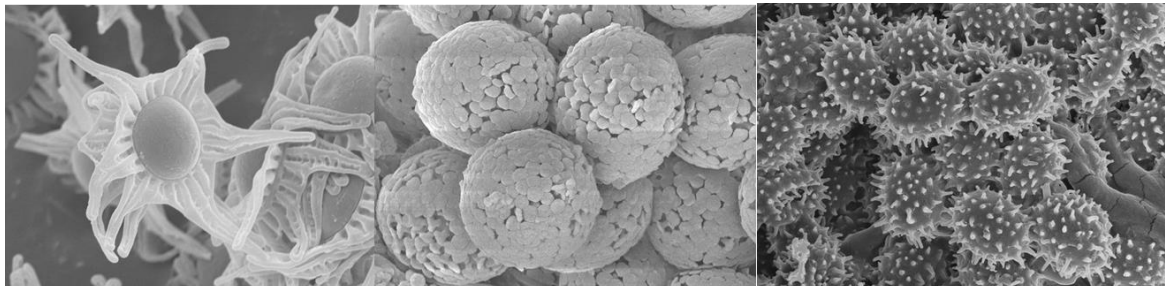
ลักษณะโคโลนีของ *Xylaria* spp.



ลักษณะโคโลนีของรา *Trichoderma* spp.

ลักษณะโคโลนีของรา sterile mycelium

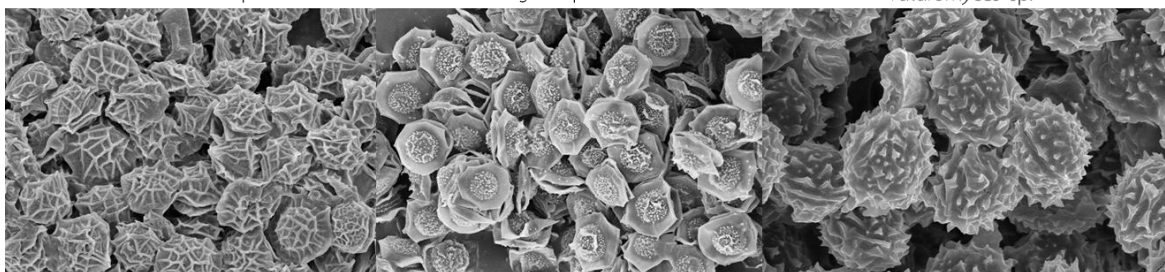
ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของราที่แยกได้จากดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน



*Emericella* sp.

*Hamigera* sp.

*Talaromyces* sp.



*Neosartoya Tetanoi*

*Neosartoya spinosa*

*Eupenicillium* sp.

ภาพที่ 3 ลักษณะ ascospore ของราที่แยกได้จากดินในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

## 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 ไฟลัม Ascomycota โดยพบว่าพื้นที่ต้นน้ำมีทั้งหมด 57 เพอร์เซ็นต์ และพื้นที่ปลายน้ำ 46 เพอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ ไฟลัม Basidiomycota ตรวจพบในพื้นที่ต้นน้ำ 20 เพอร์เซ็นต์ และพื้นที่ปลายน้ำ 31 เพอร์เซ็นต์ ตามด้วยไฟลัม 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 ไฟลัม Ascomycota จำนวน 58 เพอร์เซ็นต์ ไฟลัม Basidiomycota 21 เพอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 11 เพอร์เซ็นต์ ไฟลัม Mortierellomycota 7 เพอร์เซ็นต์ และลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 3 เพอร์เซ็นต์

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

3) กลุ่ม C (พื้นที่เกษตรต้นน้ำ ปี 2562 มี 130 OTUs) ประกอบด้วยลำดับเบสที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 47 เพอร์เซ็นต์ ลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นรากลุ่มใด 23 เพอร์เซ็นต์ ไฟลัม Ascomycota 21 เพอร์เซ็นต์ ไฟลัม Basidiomycota 4 เพอร์เซ็นต์ และไฟลัม Glomeromycota 3 เพอร์เซ็นต์

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

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

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

ชุมชนราตินจากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ปลายน้ำ 3 ปีติดต่อกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่มดังนี้

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

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

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

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

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

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

### องค์ประกอบชุมชนของเชื้อราและความหลากหลายทางวิวัฒนาการ

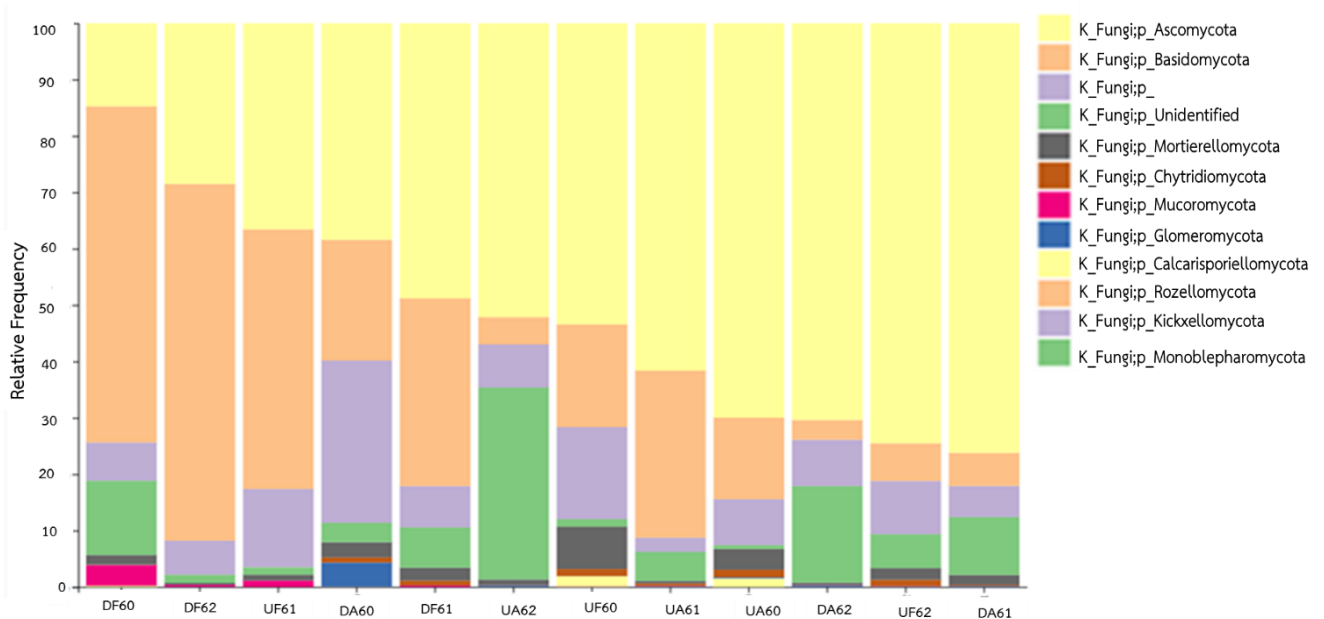
จำนวนรวมทั้งหมดของชุมชนดีเอ็นเอที่แยกได้จากตัวอย่างดินมีน้ำหนักโมเลกุลสูง 231–438 bp โดยการใช้ไพรเมอร์ ITS1-ITS2 ดีเอ็นเอที่แยกได้ถูกทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำไปเพิ่มจำนวน ชิ้นส่วนของ ITS rDNA ได้มาจากตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งหมดที่ผ่านการเพิ่มจำนวนด้วย Polymerase chain reaction (PCR) โดยตรง ลำดับเบสของ ITS rDNA 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 โดยไฟลัม หลัก 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 ตัวอย่างดิน สกุลที่ตรวจพบได้มากที่สุดคือ *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

ไฟลัมสำคัญที่ตรวจพบได้มากจากการศึกษาในปี 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 ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 36.59 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ส่วนปี 2562 ตรวจพบ 70.42 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 28.54 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปาลายน้ำ 52.16 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 74.55 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ สำหรับไฟลัม Basidiomycota ที่พบมากเป็นอันดับสองพบว่าในปี 2560 ตรวจพบ 21.36 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 59.60 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปาลายน้ำ 14.47 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 18.18 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบ 5.82 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 33.26 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปาลายน้ำ 29.61 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 46.02 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบ 3.46 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรปาลายน้ำ 63.23 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ป่าปาลายน้ำ

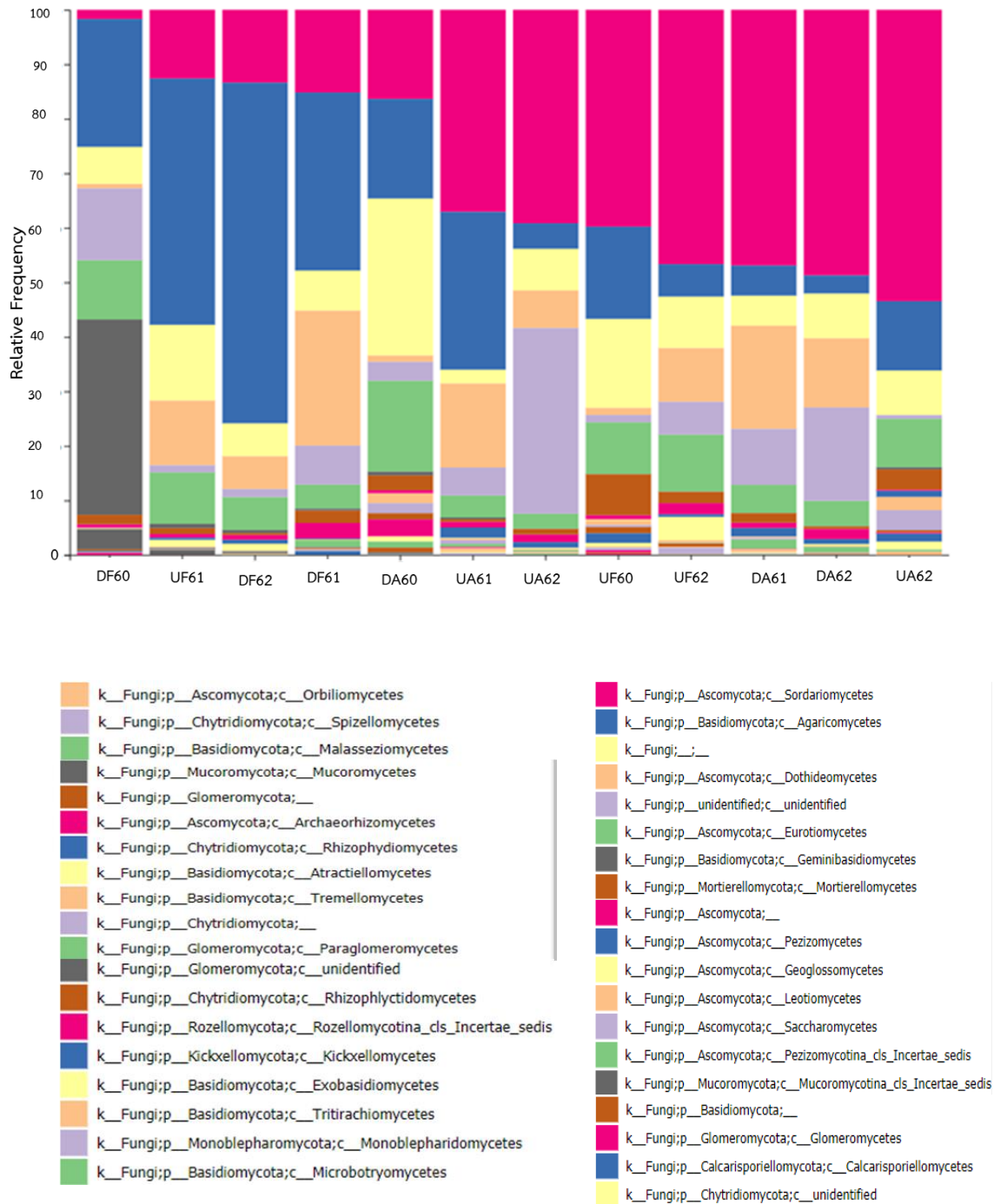
4.81 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำ และ 6.63 เปอร์เซ็นต์ในพื้นที่ป่าต้นน้ำ เชื่อราที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็น รากลุ่มใด เป็นกลุ่มที่มีปริมาณมากที่สุดเป็นอันดับ 3 ประกอบด้วย ปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 28.81 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 6.82 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 8.16 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 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 4)



ภาพที่ 4 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ ไฟลัม ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณ กลุ่มน้ำภายในปี 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 พื้นที่

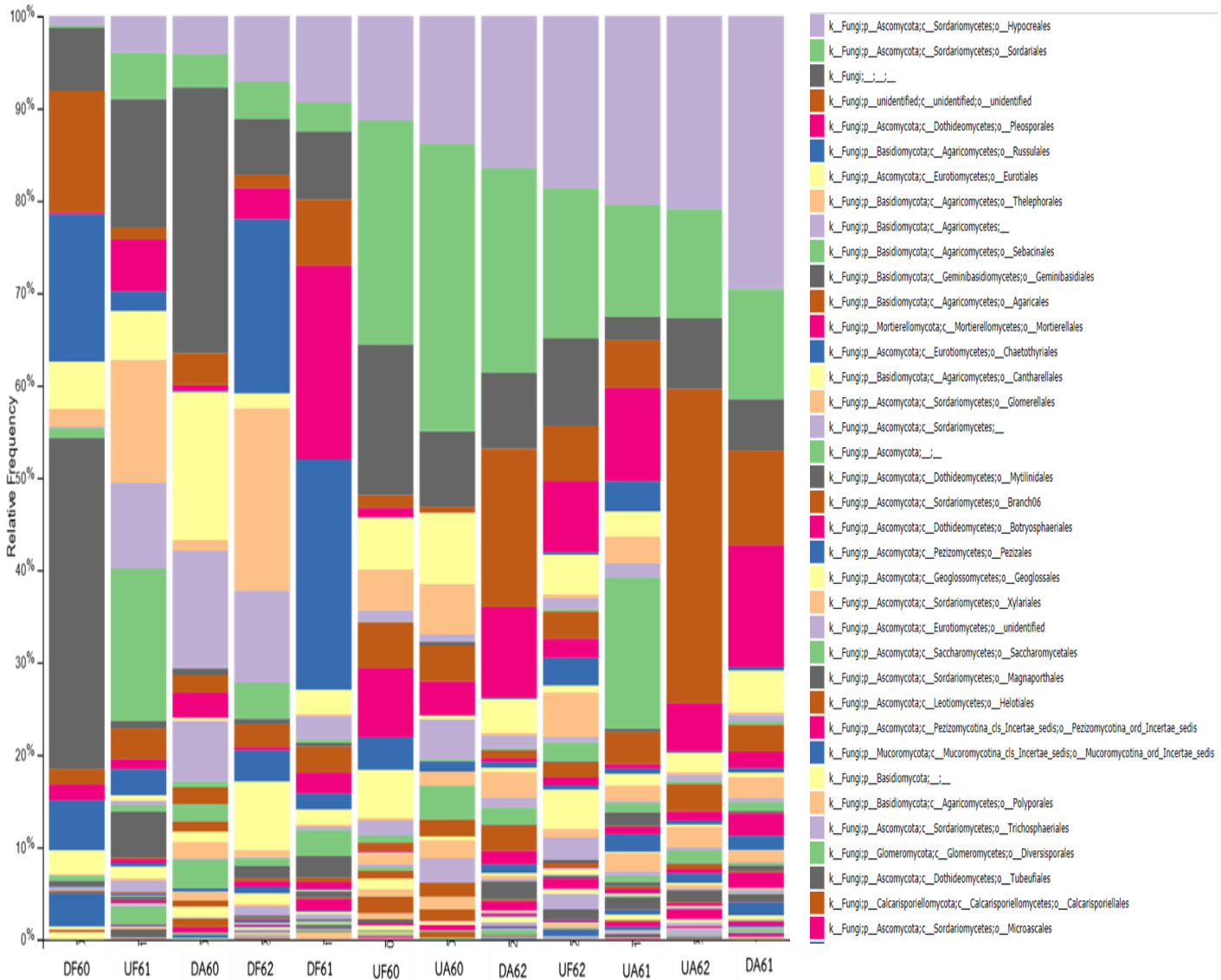
เกษตรต้นน้ำ 28.94 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 45.16 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปี 2562 ตรวจพบในพื้นที่เกษตร ปลายน้ำ 3.29 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 62.47 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 4.68 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่ป่าต้นน้ำ 5.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบมากในพื้นที่ป่า (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ class ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำภายในปี 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 6)

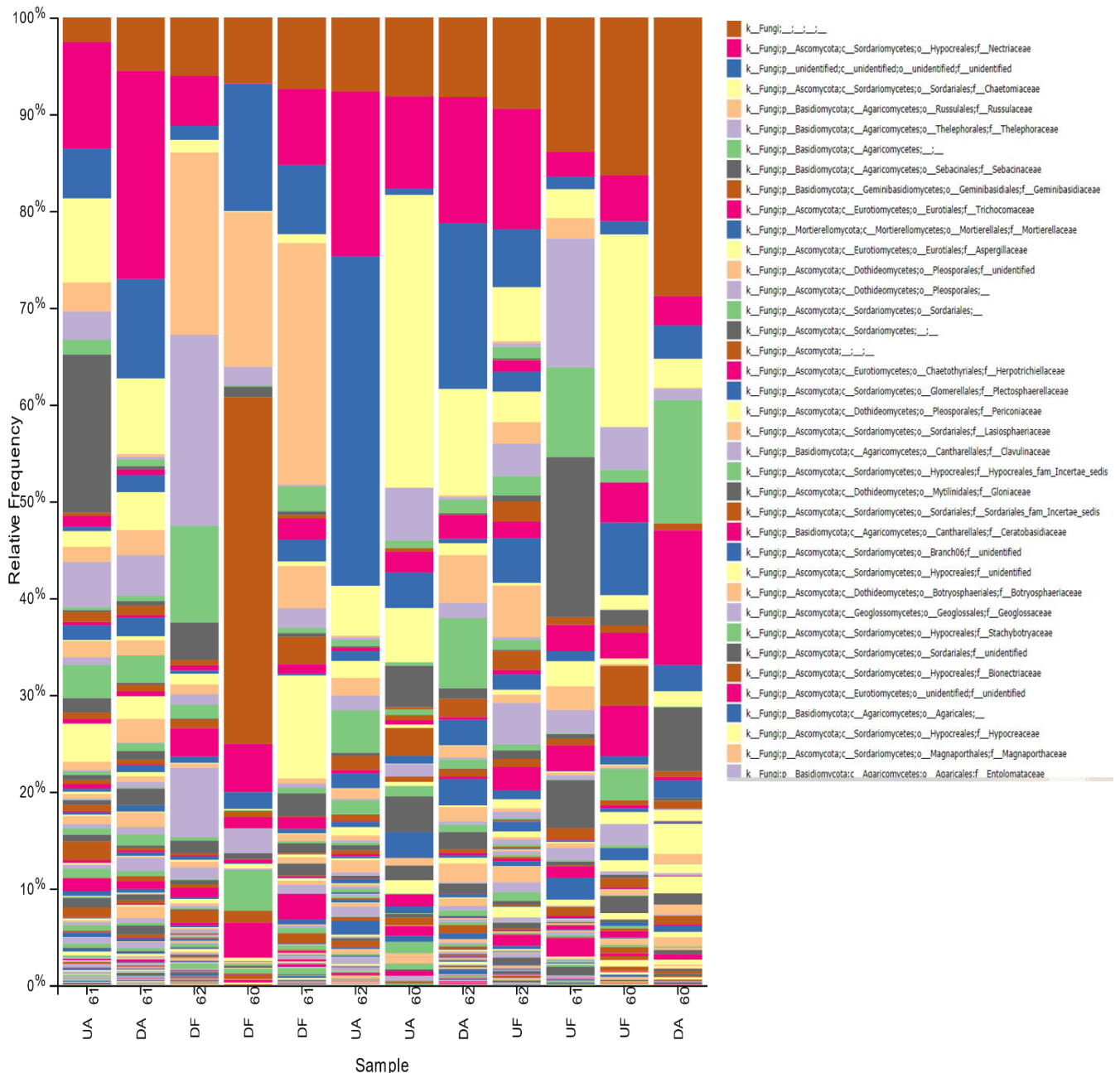




ภาพที่ 6 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ order ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำบายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

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 7)



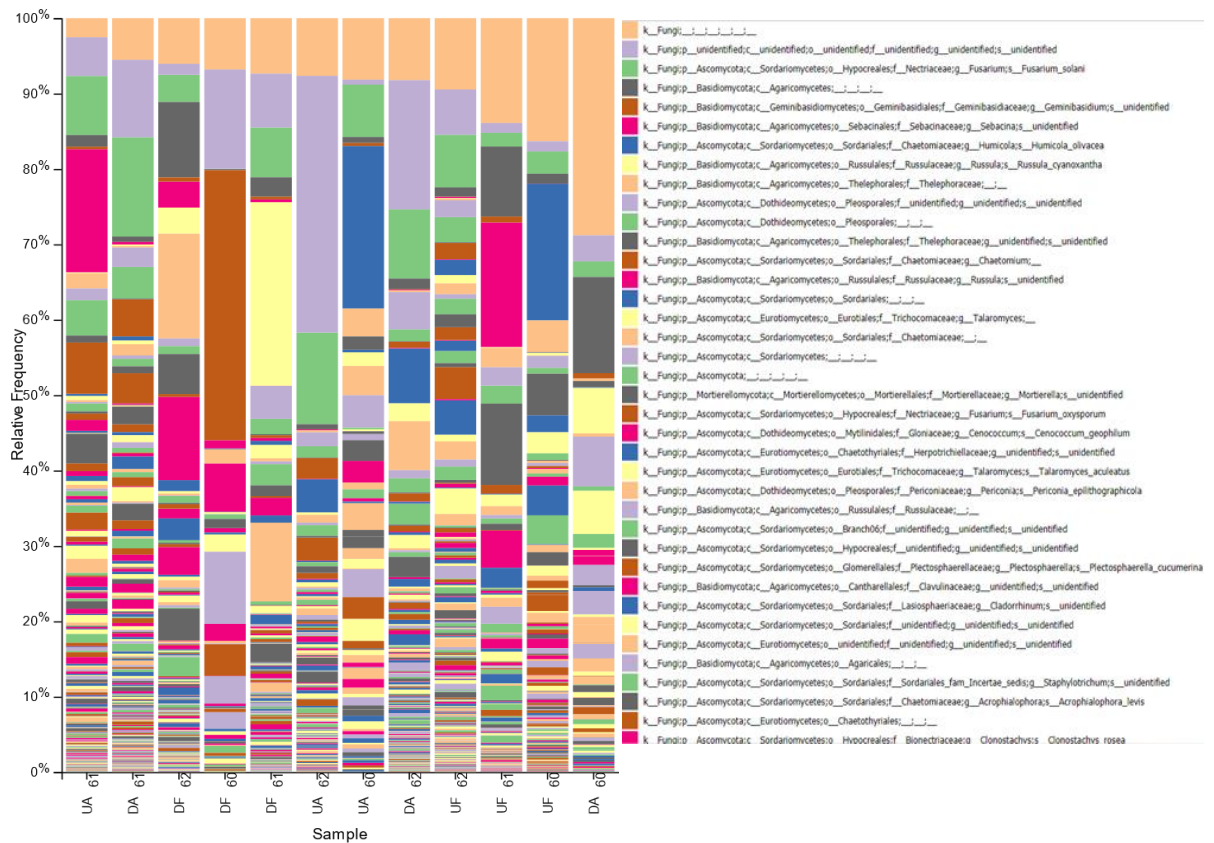
ภาพที่ 7 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ family ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำภายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

ใน family Russulaceae สกุล (genus) เด่นที่พบมากที่สุด 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 8)



ภาพที่ 8 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ genus ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำปายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)

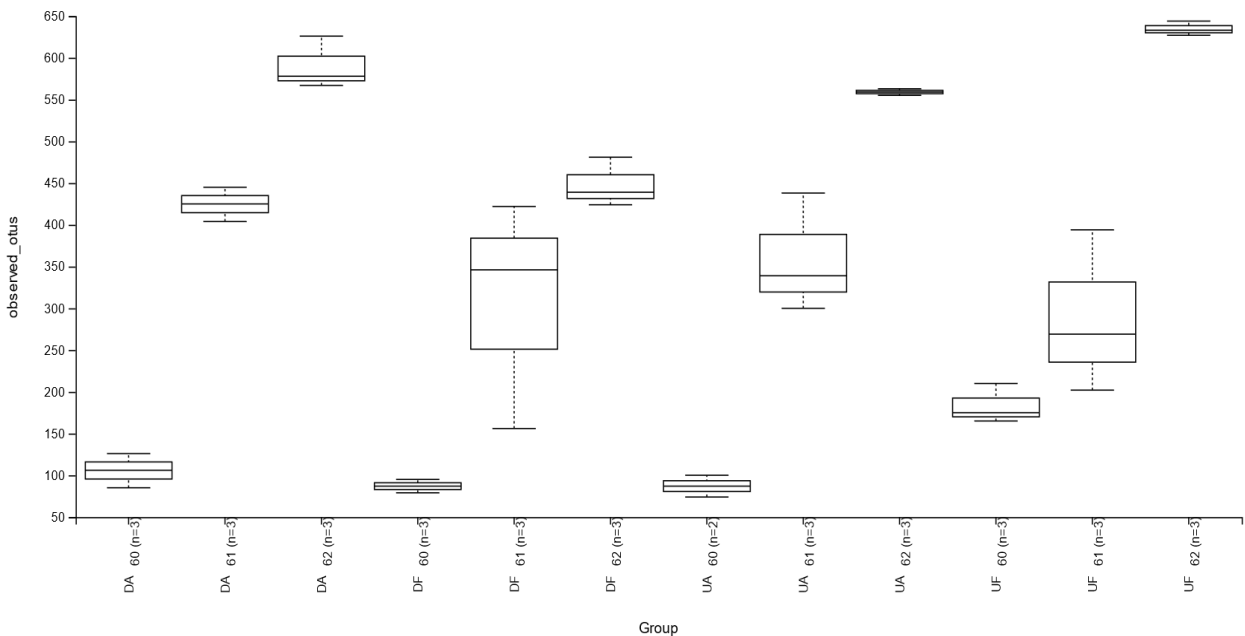
สำหรับราดินสกุลที่เด่นที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ราสกุล *Fusarium* ตรวจพบจำนวน 8.6 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าในปี 2560 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 2.11 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำ 7.85 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำ 3.62 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ในปี 2561 ตรวจพบในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ 18.99 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 9)



ภาพที่ 9 แสดงสัดส่วนของราดินแต่ละ species ที่ตรวจพบในตัวอย่างดินที่เก็บจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำปายในปี 2560-2562 (UA=พื้นที่เกษตรต้นน้ำ, UF = พื้นที่ป่าต้นน้ำ, DA = พื้นที่เกษตรปลายน้ำ, DF = พื้นที่ป่าปลายน้ำ)



**ความหลากหลายของชุมชนเชื้อรา:** นอกจากองค์ประกอบของชุมชนที่โดดเด่นแล้วความหลากหลายของเชื้อราภายในชุมชนเหล่านี้ยังมีความแตกต่างกัน จากการคำนวณที่ระยะวิวัฒนาการ <math><0.03</math> (ความคล้ายคลึงกันของลำดับเบสประมาณ 97 เปอร์เซ็นต์) ด้วยการวิเคราะห์ Shannon และ Principal Co-ordinates Analysis (PCoA) พบว่าความหลากหลายของเชื้อรามีความคล้ายคลึงกันในแต่ละฤดูกาลในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง ชุมชนป่าต้นน้ำในฤดูฝน (UF3) มีความหลากหลายมากกว่าชุมชนอื่น และพบว่ามี ความหลากหลายสูงที่สุดจากตัวอย่างดินที่เก็บในฤดูฝน รองลงมาคือตัวอย่างดินที่เก็บในฤดูหนาวและฤดูร้อน ตามลำดับ (ภาพที่ 11) ผลของการประมาณค่า Chao 1 และการวิเคราะห์ rarefaction curve สนับสนุนผลการวิเคราะห์ข้างต้นเช่นเดียวกัน การวิเคราะห์  $\beta$ -diversity โดยการเปรียบเทียบชุมชนของพล็อต Non-metric Multi-dimensional Scaling (NMDS) ระบุว่า มีกลุ่มต่าง ๆ เกิดขึ้นระหว่าง ฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน การวิเคราะห์พล็อต NMDS แสดงให้เห็นความแตกต่างระหว่างชุมชนราดินในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ด้วยเหตุนี้ จะเห็นว่าคุณสมบัติของดินที่แตกต่างกันมีผลต่อชุมชนเชื้อราในพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้ง 4 แหล่งใน 3 ฤดูกาล เมื่อรวมกันแล้วชุมชนราในฤดูหนาวและฤดูร้อนแสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ชุมชนราในฤดูฝนมีการแยกกลุ่มออกมา ผลลัพธ์เหล่านี้สะท้อนถึงการกระจายทางภูมิศาสตร์และองค์ประกอบต่าง ๆ ของดินในฤดูฝน



**ภาพที่ 11** 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 ไฟลัมไฟลัม 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 มีรายงานว่าเป็นเชื้อก่อโรคกับพืชและสัตว์ 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* ซึ่งเป็นราที่โดดเด่นในการศึกษาครั้งนี้ โดยราสกุลนี้อาจไม่เป็นอันตรายกล่าวคือราชนิดนี้สามารถเป็นประโยชน์กับพืชโดยการเป็นราเอนโดไฟท์ของพืชหรืออาจเป็น saprophytes ในดิน ราสกุลนี้มีหลากหลายสายพันธุ์ เช่น *F. oxysporum* และ *F. solani* เป็นราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่เกษตรกรรม อย่างไรก็ตามพบว่ารา *F. oxysporum* หลายสายพันธุ์เป็นราที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับพืช ดังนั้นจึงมีเหตุผลที่จะสรุปได้ว่ารูปแบบการทำให้เกิดโรคบางอย่างสืบเชื้อสายมาจากบรรพบุรุษที่ไม่ก่อให้เกิดโรค การศึกษาครั้งนี้พบว่ามี 8 OTUs ที่เกี่ยวข้องกับ *F. oxysporum* (ลำดับเบสมีความคล้ายคลึงกัน 98-100%) การมีความสามารถที่หลากหลายอาจมีความสำคัญมากสำหรับเชื้อราในการปรับตัวให้อยู่

รอดหรือปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง 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 และยังเป็นราที่ช่วยย่อยสลายเซลลูโลส เคราติน และคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนอื่น ๆ ในเศษซากพืชที่ตายแล้ว (Abed *et al.* 2013)

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

ส่วนใหญ่ลำดับเบสของ OTUs ใน ไฟลัม Zygomycota, Glomeromycota และ Chytridiomycota อยู่ในสกุล *Mortierella* และ *Pizellomyces* ซึ่งมีรายงานว่า เป็นกลุ่มเชื้อราที่พบบ่อยในดิน (Zhang *et al.*, 2014) มีรายงานว่าสมาชิกของราในสกุลนี้ทำให้สารอินทรีย์ที่อยู่ในดินกลายเป็นธาตุอาหารที่มีประโยชน์กับพืชมากกว่าที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายเศษซากในดิน (Brown and Jumpponen, 2014) ในขณะเดียวกันยังพบว่ารากลุ่มนี้สามารถเข้าไปอาศัยภายในสปอร์ของราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาได้ (Daniels, 1981) การศึกษาคั้งนี้สามารถตรวจพบลำดับเบสของ 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 ข้อจำกัดเกี่ยวกับธาตุอาหารในกรณีที่ไม่มียาฆ่าเชื้อราอาจไปขัดขวางการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเส้นใยเชื้อราหลายชนิด (Meiser *et al.*, 2014) ดังนั้นจึงมีเชื้อราเพียงบางชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงกับระบบนิเวศวิทยาเท่านั้นที่ถูกพบ (Bates *et al.*, 2012) ข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าโครงสร้างชุมชนราดินมีความซับซ้อนซึ่งเป็นผลจากการพึ่งพากันระหว่างความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินกับพรรณพืช แม้ว่าการทดลองนี้ไม่ได้ออกแบบมาเพื่อทดสอบผลกระทบจากคุณสมบัติของดินที่มีต่อชุมชนเชื้อราในดิน แต่ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าคุณสมบัติของดินมีผลกระทบต่อชุมชนเชื้อราในดิน เมื่อเปรียบเทียบกับดินในพื้นที่เกษตรกรรมแล้วชุมชนเชื้อราในดินป่ามีความหลากหลายมากกว่าเนื่องจากความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารและองค์ประกอบอื่น ๆ ในดิน ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ศึกษาถึงผลกระทบที่เกี่ยวกับดิน (Qin *et al.*,



2014) มีการศึกษาพบว่า การเพิ่มขึ้นของคุณสมบัติทางเคมีของดินช่วยผลักดันให้เกิดชุมชนเชื้อราที่หนาแน่นขึ้น และมีความหลากหลายที่มากขึ้น (McGill *et al.* 2007) การสุ่มตัวอย่างจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการประเมินองค์ประกอบชุมชนเชื้อราให้ถูกต้อง เนื่องจากชุมชนของเชื้อรามีความหลากหลายสูง การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสามารถอ่านค่าได้ทั้งหมด 1 ล้านครั้ง (reads) และมีค่าเฉลี่ยของการอ่าน 97,993 ครั้ง (reads) ต่อ 12 phylotype ต่อตัวอย่าง ส่งผลให้บางชนิดที่พบน้อยและ accumulation curve เป็นตัวแทนของสมาชิกที่พบมากที่สุด ในชุมชนจุลินทรีย์ แม้ว่า จะประเมินความหลากหลายที่แท้จริงของเชื้อราที่อยู่ในดินเพียงจุดเล็ก ๆ จึงสรุปได้ว่าการสุ่มตัวอย่างและวิธีการจำแนกนี้เหมาะสมในการสำรวจจีโนมของจุลินทรีย์ (mycobiome) ในดิน ในการตรวจจับและกำหนดลักษณะของการจัดกลุ่มและหมวดหมู่ (taxa) ของเชื้อราในดินที่พบจำนวนมาก การศึกษาครั้งนี้ได้เลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา (phylotype ที่พบมากที่สุด 10 เปอร์เซ็นต์ โดยเรียงตามเปอร์เซ็นต์ของการอ่านยีนบริเวณ ITS rDNA) ที่ตรวจพบได้บ่อยครั้งและพบได้ในหลายพื้นที่ มีเชื้อราน้อยกว่าหนึ่งร้อย phylotype ที่มีลักษณะเด่นในดินทางการเกษตรและในดินป่า บางครั้งปริมาณและความถี่ของ phylotype มีความสัมพันธ์กันเชิงบวก โดยมี phylotype ค่อนข้างน้อยที่พบได้บ่อยและมีจำนวนมาก และการจัดกลุ่มหรือหมวดหมู่ของเชื้อราส่วนใหญ่ถูกจำกัดการแพร่กระจายตัว เช่นเดียวกับการศึกษาความหนาแน่นและการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของแบคทีเรียที่โดดเด่นในดิน (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018) ซึ่งให้เห็นว่าชุมชนจุลินทรีย์ในดินทั้ง prokaryote และ eukaryote มีรูปแบบการสร้างชุมชนที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการรายงานในชุมชนพืชและสัตว์ก่อนหน้านี้ (Scheffer *et al.*, 2017) การศึกษาความหลากหลายของราประจำถิ่นมีแนวโน้มการกระจายทางภูมิศาสตร์ที่กว้างขึ้น โดย phylotype ของเชื้อราที่โดดเด่นที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ใน phylum Ascomycota เพียง phylum เดียว สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุถึงความหนาแน่นและการกระจายตัวของ phylum Ascomycota ที่พบในดินทั่วโลก (Tedersoo *et al.*, 2014; Maestre *et al.*, 2015; Prober *et al.*, 2014) สามารถตรวจสอบ phylotype ที่มีอยู่น้อยในดิน โดยพบ phylotype เหล่านี้ได้ในทุก ๆ สภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตาม ความหลากหลายของ taxa ที่โดดเด่นจะถูกจำกัดการเพิ่มจำนวน (amplified) กับคูไพรเมอร์ (primer) ที่ใช้และการสุ่มตัวอย่างดิน เช่น การประเมินการกระจายตัวของเชื้อราบางชนิดที่มีการขยายพันธุ์ช้า 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 ซึ่งให้เห็นว่ารากลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญในการเข้าครอบครองพื้นที่ได้มาก (Treseder & Lennon, 2015) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ระบุว่า มีราอยู่หลายสกุลจัดอยู่ในสมาชิกของชุมชนเชื้อราในดินที่มีการรายงานไว้ (Gams 2007) ในทางตรงกันข้าม พบว่ามีเชื้อราที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ 13.5 - 23.5 เปอร์เซ็นต์ แต่โดยรวมแล้วมีการกระจายแบบแคบ ๆ ซึ่งบ่งชี้ว่า phylotypes ที่พบจำนวนน้อยเหล่านี้เป็น phylotypes ที่ไม่โดดเด่นและพบอยู่ทั่วไปในดิน เชื้อราที่โดดเด่นที่ระบุในการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความชอบของเชื้อราที่จะเจริญในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันสองชนิด คือ พื้นที่ป่า

ไม้และพื้นที่เกษตรกรรม คุณสมบัติของดิน (เช่น pH ของดิน) เป็นตัวพยากรณ์ที่ไม่ดีเกี่ยวกับความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของ 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 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าพื้นที่เพาะปลูกที่มีพืชอาศัย การไถพรวน และการใส่ปุ๋ยอาจเป็นตัวขับเคลื่อนชุมชนเชื้อราได้มากกว่าตำแหน่งทางภูมิทัศน์ วัสดุต่าง ๆ ในดินสามารถปลดปล่อยสารอาหารต่าง ๆ สู่อากาศแวดล้อมเพื่อให้อินทรีย์ในดินนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (Ulrich and Becker, 2006) จากการศึกษาพบปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์เชื้อราที่แตกต่างกันและหน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) ที่ร่วมกับ Ascomycota และ Basidiomycota สรุปได้ว่าความหลากหลายของเชื้อราในพื้นที่ป่าปลายน้ำและพื้นที่ป่าต้นน้ำ มีความหลากหลายสูงกว่าดินในพื้นที่เกษตรปลายน้ำและพื้นที่เกษตรต้นน้ำ ไฟลัมหลักที่สำคัญมีลักษณะคล้ายกัน แต่ความอุดมสมบูรณ์ในแต่ละชุมชนต่างกัน ชุมชนดินในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ป่าต้นน้ำ และเกษตรปลายน้ำ เกษตรต้นน้ำ ก่อตัวเป็นกลุ่มก้อนที่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์ที่แตกต่างกันกับคุณสมบัติของดิน ผลการวิจัยเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าวัสดุในดินและระยะทางทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันส่งผลกระทบบต่อคุณสมบัติของดินและทำให้องค์ประกอบของเชื้อราและความหลากหลายในป่าและพื้นที่เกษตรกรรมเปลี่ยนแปลงไป

การวิเคราะห์จีโนมทั้งหมดควรได้รับการตรวจสอบว่าข้อมูลของยีนที่ใช้งานได้สามารถอธิบายได้หรือไม่ว่าเหตุใด phylotypes ของไฟลัม Ascomycota และ Basidiomycota จึงมีความโดดเด่นกว่า phylotypes อื่น ๆ

และทำไม phylotypes ของไฟลัม Ascomycota บางชนิดจึงมีความโดดเด่นมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ องค์ความรู้ทั้งหมดนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งหากเราจะพัฒนาแนวทางและกลยุทธ์ที่มุ่งรักษาความหลากหลายและการทำงานของจุลินทรีย์ในดินในประเทศไทย ยีน ITS เป็นยีนที่นิยมศึกษาอย่างแพร่หลายที่สุดในนิเวศวิทยาระดับโมเลกุลของเชื้อราและได้รับการแนะนำให้เป็ยลำดับดีเอ็นเอบาร์โค้ดของเชื้อราสากล ซึ่งสามารถระบุชนิดได้โดยใช้ฐานข้อมูล Unite INSDC (Bachy *et al.*, 2012; Bengtsson- Findley *et al.*, 2013; Stoeck *et al.*, 2019) การวิเคราะห์ยีนบริเวณอื่นนอกเหนือจากบริเวณ rDNA เป็นสิ่งจำเป็นเช่นกันสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อราในดิน เช่น  $\beta$ -tubulin, actin, Tsr1, MCM7, EF1- $\alpha$ , Calmodulin และ chitin synthase เนื่องจากเป็นบริเวณที่ผ่านการวิวัฒนาการร่วมกันอย่างรวดเร็วโดยผ่านการผสมข้ามสายพันธุ์และการแปลงยีนที่ไม่เท่ากัน อีกทั้งยังมีความแปรผันในระดับสูงแม้กระทั่งระหว่างสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิด ในการศึกษาที่สมมติฐานทางวิวัฒนาการของเชื้อราในดินได้รับการปรับปรุงโดยการประมาณค่าที่อิงตามชุดข้อมูลที่ใหญ่ที่สุดในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในระดับที่สูงขึ้นยังคงไม่ชัดเจน สำหรับการศึกษานุกรมวิธานและความหลากหลายของเชื้อราในดินเพิ่มเติมเราจำเป็นต้องมีสมมติฐานทางวิวัฒนาการที่เชื่อถือได้มากขึ้นโดยอาศัยข้อมูลลำดับเบสที่ครอบคลุม

#### 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

จังหวัดแม่ฮ่องสอนมีสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันในแต่ละฤดู แต่ผลการศึกษาพบว่าเชื้อราที่พบทั่วไปมีความหลากหลายและยังคงมีความสมบูรณ์ 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 ราชชนิดเด่นที่พบมาก ได้แก่ รา *Fusarium* เห็นได้ชัดว่าข้อมูลทางอนุกรมวิธานที่ละเอียดยังคงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อทำการเปรียบเทียบเชิงปริมาณของ phylotype สัมพัทธ์ของข้อมูล อย่างไรก็ตามการวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยในอนาคตและอาจเป็นประโยชน์ในการกำหนดแนวทางการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราที่มีการตอบสนองต่อสภาพอากาศเย็น ร้อน แห้ง และเปียก

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกราดินชนิดเด่นที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเช่นนำไปทดสอบการตรึงไนโตรเจนร่วมกับเชื้อไรโซเบียม หรือทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตหรือโพแทช นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : ขอขอบคุณ ดร.แจ่มจันทร์ มีบุญ ที่ให้คำแนะนำในการแปลผลข้อมูลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้

## 12. เอกสารอ้างอิง

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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*, 2<sup>nd</sup> 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 CO<sub>2</sub> are complex and variable across five ecosystems. *Environ. Microbiol.* 13: 2778–2793.
- 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.
- 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.