

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : -
2. โครงการวิจัย : ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย
กิจกรรม : การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) :
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาประชากรและจำแนกชนิดของแอกติโนมัยสีทในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Population studies and classification of Actinobacteria in the area affected by climate change in the Pai river basin
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง: นางสาวจิตรา เกาะแก้ว สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
ผู้ร่วมงาน: 1. นายมนต์ชัย มนัสสิลา สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
2. นายอำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
3. นางสาวอมรรัตน์ ใจยะเสน สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
4. นายบรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์ สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
5. นายสุริยนต์ ดิดเหล็ก สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน
5. บทคัดย่อ:

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีปริมาณมากที่สุดในดิน งานวิจัยครั้งนี้ทำการตรวจสอบโครงสร้างชุมชน ความหลากหลาย และหน้าที่ของแอกติโนแบคทีเรียในสามฤดูได้แก่ หนาว ร้อน ฝน ตลอดระยะเวลา 3 ปี (2560-2562) เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรกรรม บริเวณต้นน้ำและปลายน้ำของพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน ทำการวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดินจากลำดับเบสของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค next-generation sequencing เพื่อแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของชุมชนแอกติโนมัยสีทและเพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงในชุมชนที่อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของการใช้พื้นที่ ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในดินจากการเก็บรวบรวมตัวอย่างดิน 12 ตัวอย่างใน 1 ปี ได้หน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) 5,963 หน่วย จำนวนการอ่าน 92,871 ครั้ง และจำแนกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 43 phyla 820 สกุล (genera) ในจำนวนนี้มี 92 สกุลที่เป็นของ Actinobacteria ความหลากหลายของ

แอกติโนแบคทีเรียสูงที่สุดในพื้นที่ต้นน้ำโดยเฉพาะในดินเกษตร 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 ผลการวิจัยของชี้ให้เห็นว่าชีวภูมิศาสตร์ของแอกติโนแบคทีเรียถูกควบคุมโดยตัวแปรที่เกี่ยวกับดินเป็นหลักและมีความแตกต่างจากชีวภูมิศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตพื้นฐาน การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างชุมชนมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของความอุดมสมบูรณ์มากกว่าการมีหรือไม่มี OTUs ซึ่งบ่งชี้ว่ามีชุมชนแอกติโนแบคทีเรียอยู่ทั่วไปบริเวณพื้นที่ต้นน้ำ – ปลายน้ำและพบได้ทั้งในพื้นที่ป่าและพื้นที่เกษตรกรรม การศึกษานี้ถือเป็นกลุ่มแรก ๆ ของประเทศไทยที่มีการระบุลักษณะของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียขนาดใหญ่ในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำโดยใช้เทคนิค next-generation sequencing และแสดงให้เห็นว่าผลกระทบจากมนุษย์ที่อาจเกิดขึ้นสามารถส่งผลกระทบต่อการใช้และความอุดมสมบูรณ์ของ OTU ในพื้นที่ต้นน้ำและปลายน้ำซึ่งส่งผลให้โครงสร้างชุมชนมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ

คำหลัก : ชุมชนแอกติโนแบคทีเรีย เทคโนโลยีการหาลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นใหม่ หน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการ

Abstract:

Bacteria is the highest abundant microorganisms in the soil. This research was aimed to investigate actinobacterial community structures, diversity and their functions in three different seasons in consecutive of 3 years (2017-2019). Soil samples were collected from forest and agricultural areas at upstream and downstream of Pai river basin, Mae Hong Son, northern Thailand. Soil actinobacterial communities were analyzed via next-generation sequencing based on 16S rDNA gene sequencing in order to evaluate the changes in the community that could result from changes in land use. The results showed that environmental factors affected on biodiversity of actinobacterial communities in soils. Twelve soil samples per year were resulted in 5,963 operational taxonomic units (OTUs), 92,871 number of reads and classified into 43 phyla and 820 known genera. Of these, there are 92 genera belonging to Actinobacteria. Actinobacteria diversity was highest in upstream agricultural soils. The dominant class with high relative abundance is Actinobacteria and Thermoleophilia. In class Actinobacteria, Streptomycetales was the most abundant order whereas Streptomycetaceae and Streptomyces were the dominant family and genus, respectively in this order. Our results suggested that actinobacterial biogeography was controlled primarily by edaphic variables and differs fundamentally from the biogeography of organisms. Shifts in community structure was related to changes in the relative abundance, rather than presence/absence of OTUs, suggesting that actinobacterial community is present throughout the upstream-downstream forest and agricultural land. This is the first study of Thailand to characterize a large actinobacterial

community in upstream and downstream areas using a next-generation sequencing approach. This study demonstrated that human impacts can affect the existence and abundance of OTU in upstream and downstream areas, resulting in significant changes in the community structure.

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

6. คำนำ:

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของแอกติโนมัยสปีทที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างพื้นที่ป่ากับพื้นที่ที่ถูกรบกวนจากการเกษตรกรรม ในแต่ละช่วงเวลาในรอบ 1 ปี ซึ่งสามารถระบุชนิดและปริมาณแอกติโนมัยสปีทชนิดต่าง ๆ ที่อาจพบเพิ่มขึ้นหรือลดลงไปจากแหล่งอาศัยในระบบนิเวศนั้น ๆ โดยข้อมูลเหล่านี้จะสามารถบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมทั้งการดำรงชีวิตของแอกติโนมัยสปีทบางชนิดที่สามารถปรับตัว และยังคงกิจกรรมที่ช่วยสนับสนุนเกื้อกูลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ โดยเฉพาะกลุ่มแอกติโนมัยสปีทที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดินเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด ประกอบไปด้วย แบคทีเรีย รา แอกติโนมัยสปีท สาหร่าย โปรโตซัว และไวรัส นอกจากนี้แล้วในดินยังมีสัตว์หน้าดิน และแมลงหลายชนิด ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีความสัมพันธ์กันในระบบนิเวศของดิน ดินส่วนใหญ่เกิดจากการสลายตัวและผุพังของแร่หินต่าง ๆ โดยอิทธิพลจากธรรมชาติ เช่น ความร้อน ความเย็น กระแสน้ำ และการทับถมของซากสิ่งมีชีวิตที่เน่าเปื่อยผุพัง ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน จุลินทรีย์เหล่านี้จึงมีบทบาทสำคัญในการเกิดความอุดมสมบูรณ์ของดิน จำนวนของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดิน และอาหารที่มีประโยชน์ในดิน ความชื้นของดิน ค่าความเป็นกรดต่าง รวมถึงอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมในดิน

แอกติโนมัยสปีทเป็นจุลินทรีย์ที่มีสารพันธุกรรมคล้ายแบคทีเรีย แต่มีลักษณะผนังเซลล์เหมือนเชื้อราส่วนใหญ่สร้างเส้นใยและรงควัตถุสีต่าง ๆ ดำรงชีพแบบอิสระในน้ำ ดิน และเนื้อเยื่อพืช (Williams *et al.*, 1989) โดยมีบทบาทสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายเศษซากพืช ซากสัตว์และสามารถย่อยสลายสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อน แอกติโนมัยสปีทบางชนิดพบอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ทำให้พืชอาศัยแสดงอาการของโรค แต่สามารถป้องกันพืชอาศัยจากการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค และยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชอาศัย และพบว่ามีแอกติโนมัยสปีทบางชนิดที่อาศัยอยู่ในรากพืชสามารถทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนให้กับพืช (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 ไคติน จากรายงานของ El-Tarabily *et al.* (2008) รายงานพบแอกติโนมัยสปีท *Micromonospora endolithica* ที่แยกได้จากรากและดินบริเวณรอบรากถั่วแขก *Phaseolus vulgaris* สามารถละลายฟอสเฟตในดินให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ยังมีรายงานว่าเมื่อนำมาใช้ร่วมกับ

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอย่างไรโซเปียมจะยิ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มคุณภาพของผลผลิตให้ดียิ่งขึ้น มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากเชื้อแอสโคดีโนมัยสีทร่วมกับแบคทีเรียไรโซเปียม (Gregor *et al.*, 2003; Gangwar *et al.*, 2012; Myat SOE *et al.*, 2012; Nimnoi *et al.*, 2014) ในไทยการศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ดินยังมีน้อย ส่วนใหญ่เน้นการศึกษาถึงผลกระทบต่อการผลิตพืช ระบบนิเวศป่าไม้ และการเปลี่ยนแปลงของวัฏจักรน้ำฝน จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เนื่องจากจุลินทรีย์ดินเป็นอีกกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับผลกระทบและยังส่งผลกระทบต่อระบบการผลิตพืชอีกด้วย

7. วิธีดำเนินการ:

- อุปกรณ์
 1. ตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการเกษตร
 2. ตัวอย่างดินในพื้นที่ป่า
 3. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกและจำแนกชนิดแอสโคดีโนมัยสีท
 4. สารเคมีที่ใช้ในการจำแนกชนิดของแอสโคดีโนมัยสีททางชีวโมเลกุล

- วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างดินในแต่ละพื้นที่ ต้นน้ำ และปลายน้ำ โดยเก็บดินในพื้นที่ทำการเกษตร และดินป่าที่ยังไม่ถูกรบกวนจากการทำเกษตรกรรม โดยขุดดินลึกจากผิวดิน 15 เซนติเมตร ขุดอย่างน้อย 5 หลุม ในพื้นที่ 25 ตารางเมตร ตักดินมาหลุมละ 1 กิโลกรัม นำดินที่ได้มาผสมให้เข้ากัน ตักใส่ถุงพลาสติกประมาณ 2 กิโลกรัม ปิดปากถุงให้แน่น บรรจุในถังน้ำแข็ง 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. จำแนกชนิดแอสโคดีโนมัยสีทโดยวิธีสกัดดีเอ็นเอโดยตรงจากตัวอย่างดิน เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของชุดยีนที่สนใจ อ่านลำดับเบสของดีเอ็นเอจากตัวอย่างที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิค Next generation sequence และจำแนกแอสโคดีโนมัยสีทที่มีประโยชน์ทางการเกษตรออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ทำการเปรียบเทียบชนิดของแอสโคดีโนมัยสีทที่พบในแต่ละครั้งของการเก็บตัวอย่าง ศึกษาความสัมพันธ์ของแอสโคดีโนมัยสีทที่พบด้วยวิธี phylogenetic tree analysis

5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกลุ่มแอสโคดีโนมัยสีทต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Principal components analysis (PCA) เพื่อพิจารณาการกระจายตัวของแอสโคดีโนมัยสีทในแต่ละพื้นที่

6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของกลุ่มและปริมาณประชากรแอสโคดีโนมัยสีทแต่ละชนิดตามพื้นที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา

7. การแยกแอสโคดีโนมัยสีทจากดิน

การแยกแอสคิตินอมัยสี (Nonomura and Hayakawa, 1998) นำตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชที่ผ่านการฝังให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 1 สัปดาห์ มาบดและร่อนให้เข้ากัน จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-3} ถึง 10^{-6} ตูตสารแขวนลอยดินในแต่ละความเข้มข้นมา 100 ไมโครลิตร เกลี่ยลงบนอาหารคัดเลือก Starch Casein Agar (SCA) ที่เติมสารปฏิชีวนะ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน ใช้ไม้จิ้มฟันปลายแหลมที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเชื้อโคโลนีที่มีลักษณะของแอสคิตินอมัยสีนำมาทำให้บริสุทธิ์บนอาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYE)

8. ตรวจสอบปริมาณของแอสคิตินอมัยสีแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกแอสคิตินอมัยสี โดยวิธี plate count

9. จำแนกชนิดของแอสคิตินอมัยสีโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาตรวจดูสปอร์ สีเส้นใย และรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ เลี้ยงแอสคิตินอมัยสีบนอาหาร ISP medium 3 บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน บันทึกสปอร์ สีเส้นใยบนอาหาร และสีรงควัตถุที่ละลายในอาหาร พร้อมทั้งจัดกลุ่มแอสคิตินอมัยสีตามสีที่บันทึก ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

10. การเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของแอสคิตินอมัยสี โดยเก็บรักษาแอสคิตินอมัยสีบนอาหารผิวเยียง Glucose Yeast Extract Agar (GYE) ที่อุณหภูมิห้องและชุดสปอร์และเส้นใยใส่ในหลอดไมโครพิวจ์ที่มีสารละลายกลีเซอรอล 20 % (w/v) ผสมให้เข้ากันและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาในระยะยาวเพื่อนำไปศึกษาด้านอื่น ๆ ต่อไป

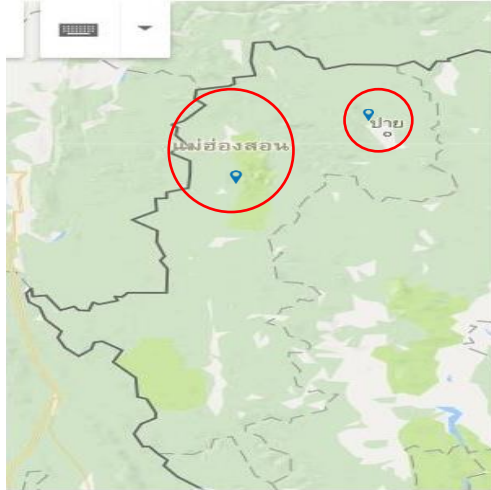
การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกลักษณะ โคโลนี สี ขนาดสปอร์ รูปร่างของสปอร์
2. บันทึกภาพถ่าย โคโลนี และรูปร่างของสปอร์
3. เก็บรวบรวมเชื้อไว้ใน culture collection

- เวลาและสถานที่ เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2559 สิ้นสุด 30 กันยายน 2562
- เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการเกษตร และดินในพื้นที่ป่าบริเวณลุ่มน้ำปาย จ. แม่ฮ่องสอน
- แยกและจำแนกชนิดของแอสคิตินอมัยสีที่กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ทำการศึกษากำหนดประชากรและจำแนกชนิดของแอสคิตินอมัยสีในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย โดยเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่เกษตรกรรมและพื้นที่ป่าบริเวณต้นน้ำ ต. แม่มาตัง อ. ปาย จ. แม่ฮ่องสอน และจุดเก็บตัวอย่างบริเวณปลายน้ำ ต. ผาบ่อง อ. เมือง จ. แม่ฮ่องสอน พื้นที่เก็บตัวอย่างรวมทั้งพิกัดและความสูงจากระดับน้ำทะเลของพื้นที่เก็บตัวอย่างดังแสดงในภาพที่ 1 และตารางที่ 1



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

ตารางที่ 1 แสดงพิกัดและความสูงจากระดับน้ำทะเลของพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

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

เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินในพื้นที่เก็บตัวอย่าง พบว่า ดินในพื้นที่เกษตรต้นน้ำมีค่า 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. ผาบ่อง 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 2) เกษตรต้นน้ำ 3) ป่าปลายน้ำ และ 4) เกษตรปลายน้ำ ตัวอย่างดินต้นน้ำเก็บที่บ้านแม่มาตัง อ.แม่มาตัง จ.แม่ฮ่องสอน ตัวอย่างดินปลายน้ำเก็บที่บ้านผาบ่อง ต.ผาบ่อง 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 ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในฤดูหนาวเดือนธันวาคม 2559 และฤดูร้อนเดือนเมษายน 2562 มีค่าเป็นศูนย์ และมีปริมาณน้ำฝนสูงสุดในฤดูฝนในเดือนสิงหาคม 2562 มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 407.8 มม. ความชื้นเฉลี่ยสูงสุด 86 เปอร์เซ็นต์ ในฤดูฝนเดือนสิงหาคม 2561 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิดินและอุณหภูมิอากาศในช่วงที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ลุ่มน้ำปาย จ.แม่ฮ่องสอน

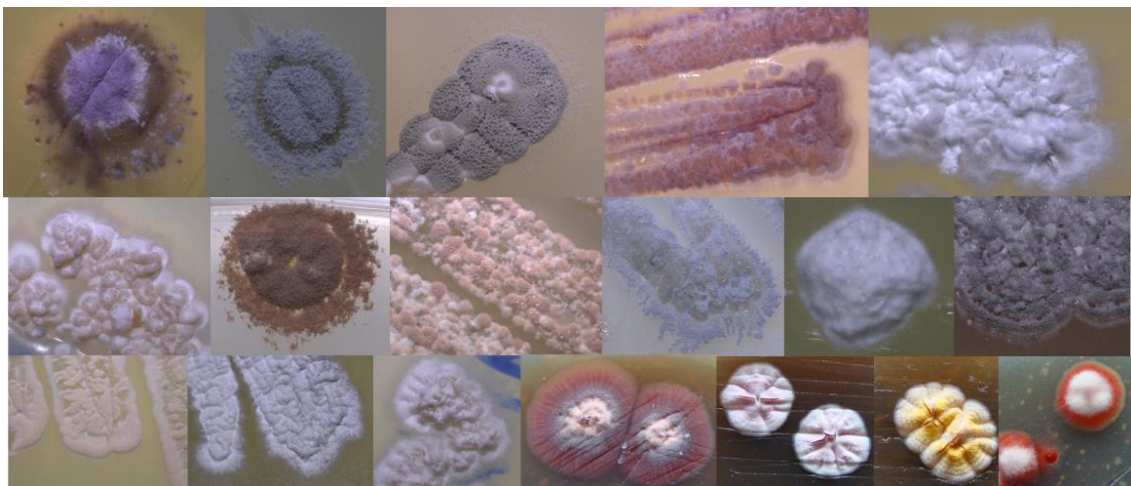
ช่วงเวลาเก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิดิน (°C)	อุณหภูมิอากาศ (°C)	ปริมาณฝนเฉลี่ย (มม.)	ความชื้นเฉลี่ย (%)
ฤดูหนาว (ธ.ค. 59)	22.4	29.8	0	80
ฤดูร้อน (เม.ย. 60)	27.1	33.4	41.8	54
ฤดูฝน (ส.ค. 60)	28.6	32.2	258.2	84
ฤดูหนาว (ธ.ค. 60)	21.3	31.4	22.4	83
ฤดูร้อน (เม.ย. 61)	29.5	36.7	46.6	56
ฤดูฝน (ส.ค. 61)	26.4	34.2	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

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 5, ภาพที่ 2)

ตารางที่ 5 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 2

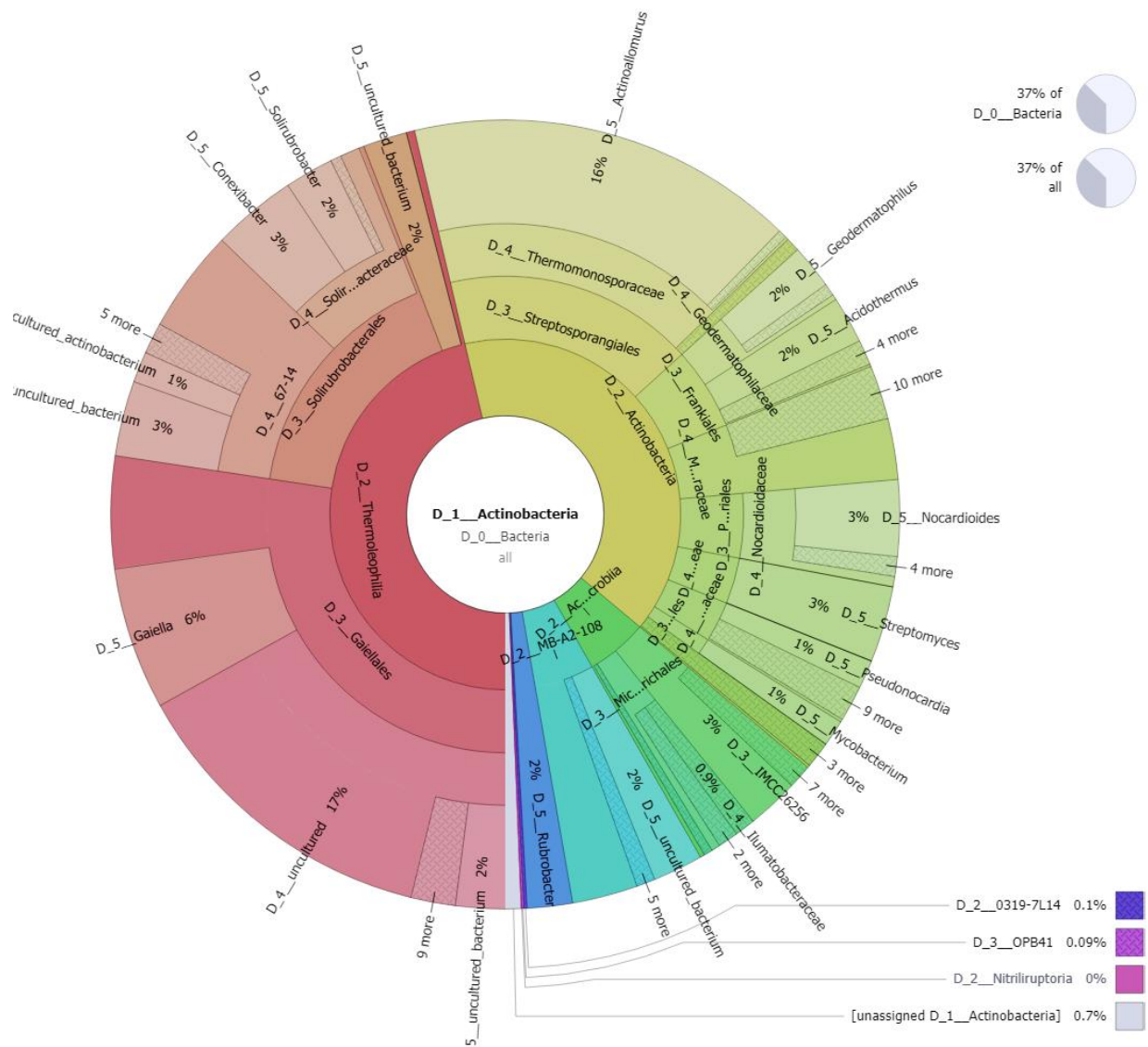


ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยสีทที่เพาะเลี้ยงได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

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 3) นอกจากนี้ยังพบว่า ลำดับเบสที่ตรวจพบจำนวนไม่น้อยเป็นลำดับเบสที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นแอกติโนมัยสีทกลุ่มใด (Unassigned) หรือไม่สามรถเพาะเลี้ยงได้ (Uncultured) การจัดจำแนกลำดับเบสของแอกติโนมัยสีทในระดับ order family และ genus ในปี 2560 แสดงในตารางที่ 6

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสในปี 2561 ความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 18 เปอร์เซ็นต์ ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Actinobacteria ที่ตรวจพบมากที่สุด 43 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 39 เปอร์เซ็นต์ ส่วน class MB-A2-108 พบมากเป็นอันดับ 3 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 9 เปอร์เซ็นต์ class Acidimicrobiia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 7 เปอร์เซ็นต์ และ class 0319-7L14 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพันธ์ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4, ตารางที่ 7)



ภาพที่ 3 ไฟล์ม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในปี 2560

ตารางที่ 6 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟล์ม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในปี 2560

Class/Oder/Family	Genera
	Rubrobacter (2)
O : OPB41 (0.09)	
C: Thermoleophilia (46)	
	uncultured_bacterium (2)
O: Gaiellales (27)	Gaiella (6)
F: uncultured (17)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.7),

Class/Oder/Family	Genera
	uncultured_Conexibacter_sp. (0.3), Ambiguous_taxa (0.3), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.2), 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)

Class/Oder/Family	Genera
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)
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)

Class/Order/Family	Genera
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)
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



ภาพที่ 4 ฟิล์ม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในปี 2561

ตารางที่ 7 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)	Nonomurea (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)

Class/Order/Family	Genera
F: Streptosporangiales (0.9)	
Thermomonosporaceae (0.7)	Actinomadura (0.5), Actinoallomurus (0.1)
F: Unassigned Thermomonosporaceae (0.1)	
F: Streptosporangiaceae (0.2)	Nonomurea (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)	

Class/Order/Family	Genera
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 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 16 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2562 นี้พบว่าลำดับเบสที่อ่านได้ของไฟลัม Actinobacteria มีจำนวนน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับปี 2560 และปี 2561 ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class หลัก ๆ 5 class เมื่อนำมาเรียงลำดับตามเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ พบว่า class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 53 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ class Thermoleophilia ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 29 เปอร์เซ็นต์ ถัดมาได้แก่ class Acidimicrobiia ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 9 เปอร์เซ็นต์ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 5 เปอร์เซ็นต์ class 0319-7L14 11 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5, ตารางที่ 8)



ภาพที่ 5 ไฟลัม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในปี 2562

ตารางที่ 8 แสดงความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในปี 2562

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

Class/Order/Family	Genera
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)
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_Acidotherrmaceae_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)

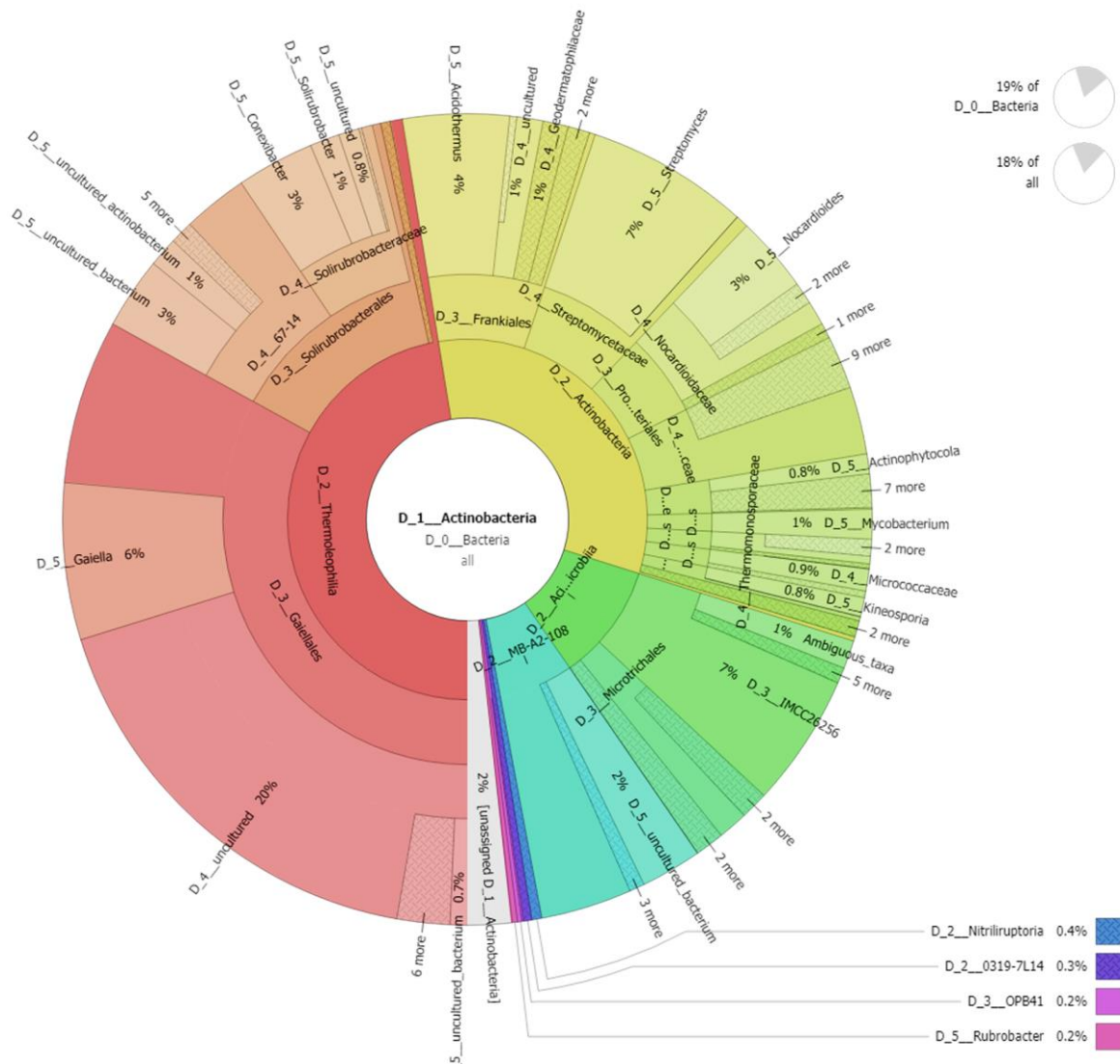
Class/Order/Family	Genera
F: Unassigned uncultured (0.1)	
O: Unassigned Microtrichales (0.7)	
O: uncultured (0.2)	Metagenome (0.1), uncultured_bacterium (0.08)
C: MB-A2-108 (5)	uncultured_bacterium (2), uncultured_Micromonospora_sp. (0.2), Ambiguous_taxa (0.07), uncultured_actinobacterium (0.06)
O: Unassigned 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

การวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง

เมื่อวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในพื้นที่เกษตรปลายน้ำ ปี 2560-2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟลัม Actinobacteria ในดินมี 19 เปอร์เซ็นต์ ในจำนวนความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของแบคทีเรียทั้งหมด เมื่อพิจารณาภายในไฟลัม Actinobacteria พบว่าประกอบด้วย class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 47 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 32 เปอร์เซ็นต์ ส่วน class Acidimicrobia พบมากเป็นอันดับ 3 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 11 เปอร์เซ็นต์ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ามี class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้น้อยในครั้งนี้มี ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์เพียง 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ class 0319-7L14 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6, ตารางที่ 9)

การวิเคราะห์ชุมชนแอกติโนแบคทีเรียในพื้นที่ป่าปลายน้ำ ปี 2560-2562 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของ Actinobacteria ในดินมี 23 เปอร์เซ็นต์ ภายในไฟลัม Actinobacteria ประกอบด้วย class Actinobacteria มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 61 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ class Thermoleophilia มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 29 เปอร์เซ็นต์ class Acidimicrobia พบมากเป็นอันดับ 3 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 6 เปอร์เซ็นต์ class MB-A2-108 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ามี class 0319-7L14 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้จำนวนน้อยมีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7, ตารางที่ 10)



ภาพที่ 6 โพลีม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำปี 2560-2562

ตารางที่ 9 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของโพลีม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่เกษตรปลายน้ำปี 2560-2562

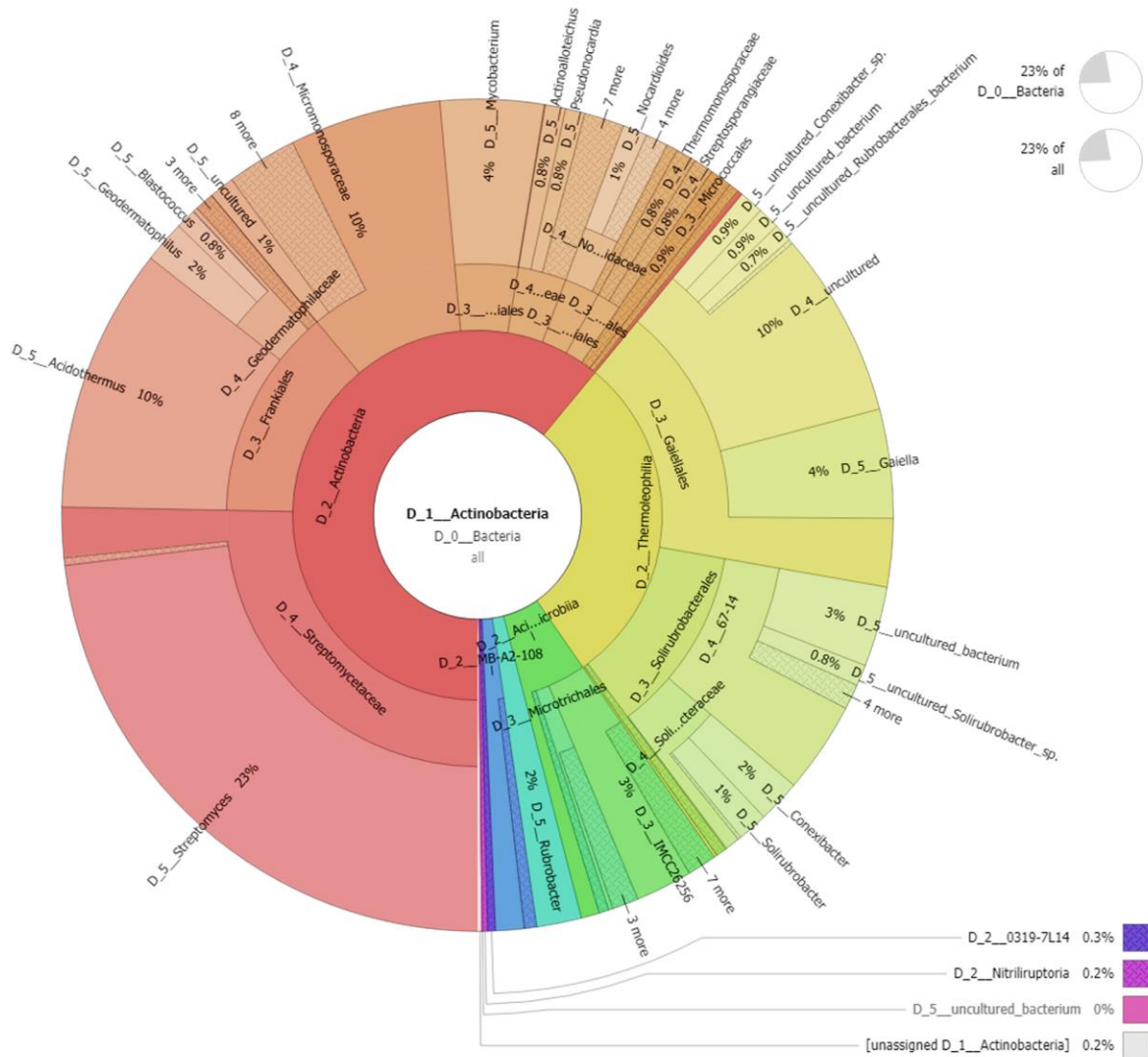
Class/Order/Family	Genera
	Rubrobacter (0.2)
O: OPB41 (0.2)	
C: Thermoleophila (47)	uncultured_bacterium (0.4)
O: Gaiellales (33)	Gaiella (6)
F: uncultured (20)	uncultured_bacterium (0.7), uncultured_Rubrobacterales_bacterium (0.3),

Class/Order/Family	Genera
	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)	Micrococcus (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)	Nonomurea (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), Isopterocola (0.02)
C: Acidimicrobia (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_Acidothermaceae_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),

Class/Order/Family	Genera
	uncultured_Micromonospora_sp. (0.3), Ambiguous_taxa (0.08)
C: Unassigned MB-A2-108 (4.32)	
C: Nitriliruptoria (0.4)	
C: 0319-7L14 (0.3)	

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



ภาพที่ 7 ฟิล์ม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่ป่าลายน้ำปี 2560-2562

ตารางที่ 10 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟลัม 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: Nocardioidaceae (1.6)	Nocardioides (1), Marmoricola (0.2), Ambiguous_taxa

Class/Order/Family	Genera
	(0.2), Actinopolymorpha (0.2)
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)	

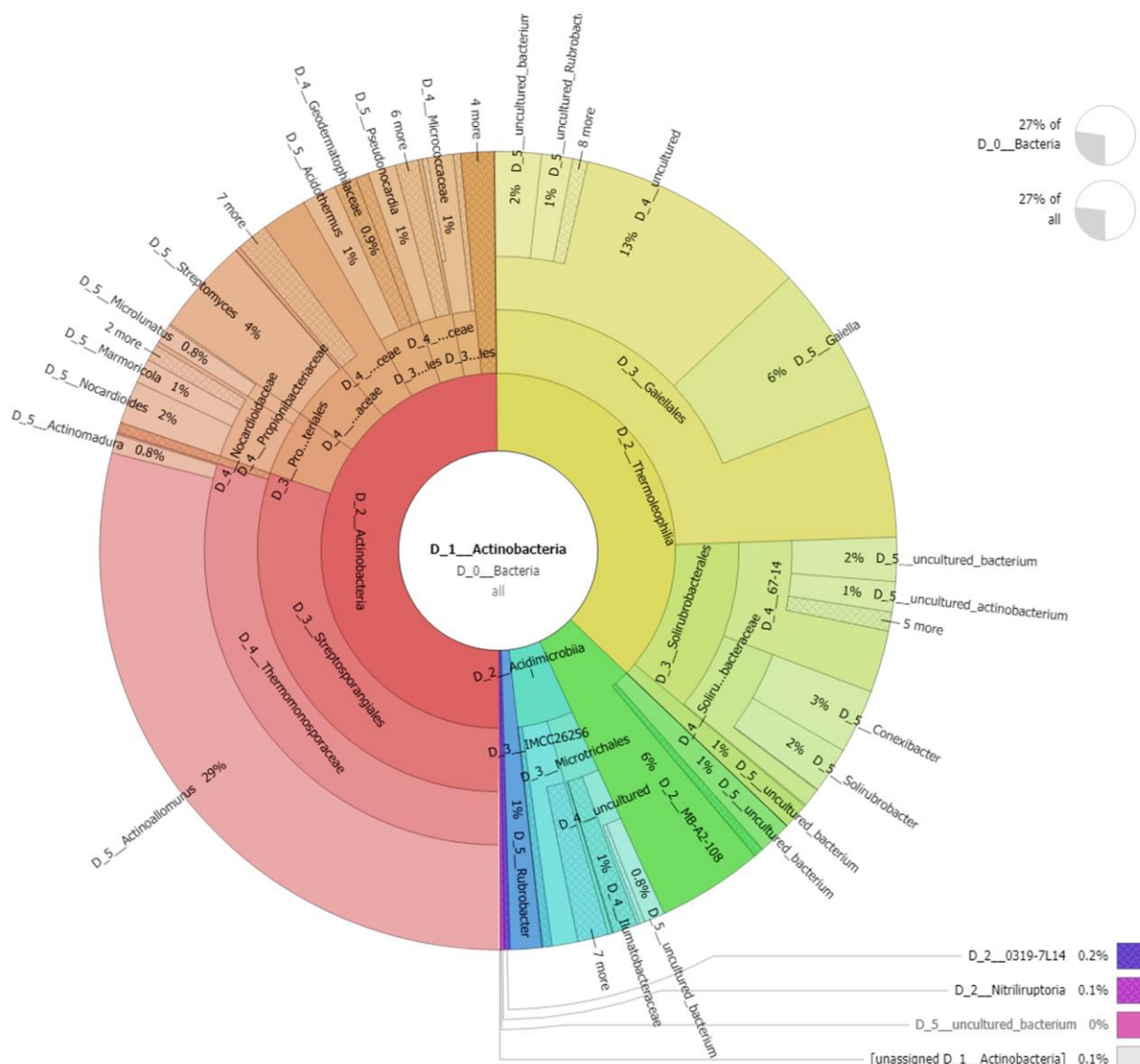
Class/Order/Family	Genera
C: Acidimicrobiia (6)	
F: uncultured (0.2)	Ambiguous_taxa (0.1)
F: Unassigned uncultured (0.1)	
O: IMCC26256 (3)	
	Ambiguous_taxa (0.6), uncultured_Aciditerrimonas_sp. (0.2), uncultured_Acidimicrobidae_bacterium (0.1), uncultured_Acidothermaceae_bacterium (0.1), uncultured_organism (0.09), uncultured_bacterium (0.02), Metagenome (0.01)
O: Unassigned IMCC26256 (1.88)	
O: Microtrichales (1)	Iamia (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 O319-7L14 ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้จำนวนน้อยมีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8, ตารางที่ 11)

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 O319-7L14 มีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ class Nitriliruptoria ซึ่งตรวจพบได้จำนวนน้อยในครั้งนี้มี ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 9, ตารางที่ 12)



ภาพที่ 8 ไฟลัม Actinobacteria ที่ตรวจพบจากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำปี 2560-2562

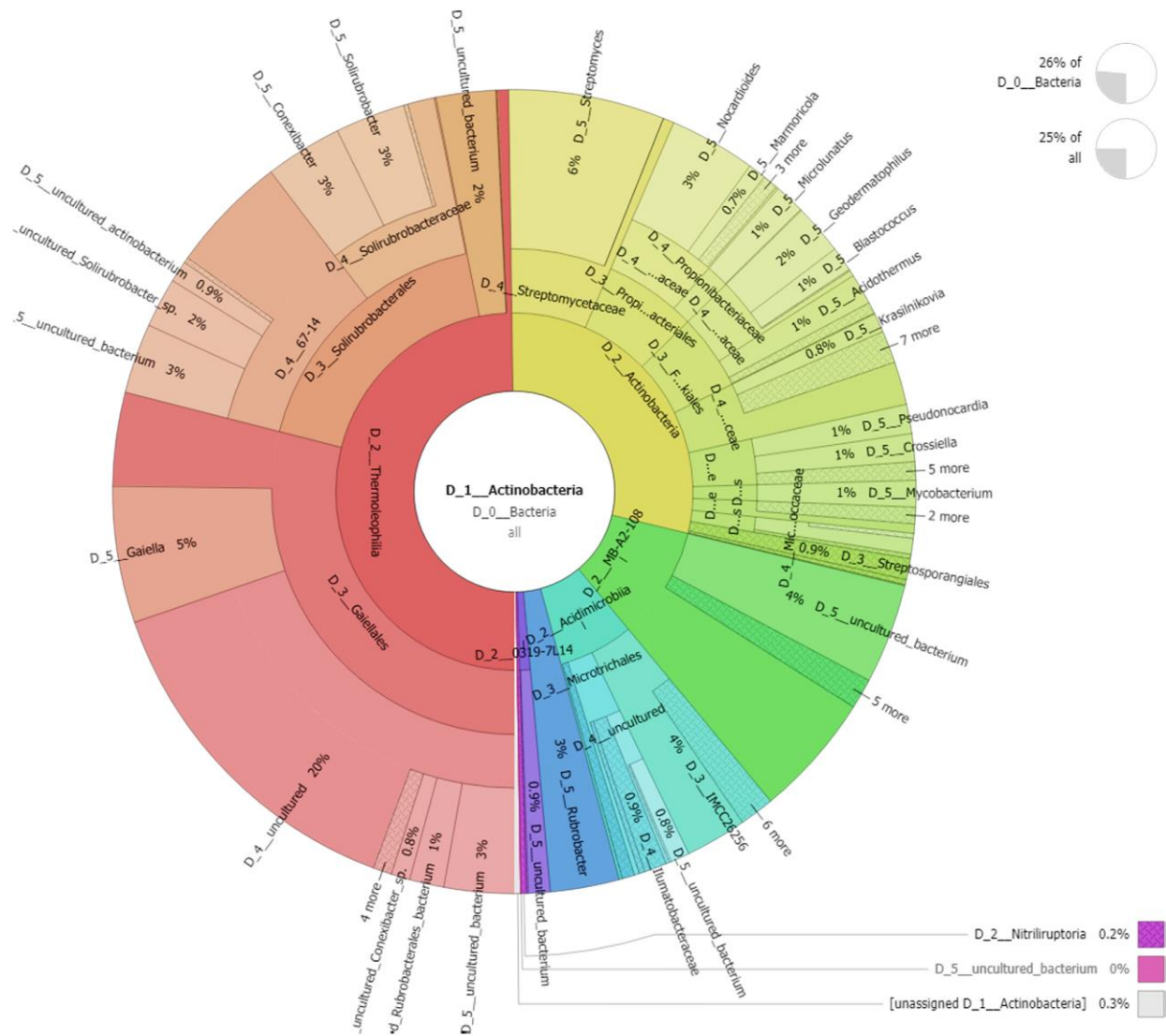
ตารางที่ 11 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟลัม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่เกษตรต้นน้ำปี 2560-2562

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)	
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)	Jatrophihabitans (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)

Class/Order/Family	Genera
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)	
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),

Class/Order/Family	Genera
	uncultured_Acidimicrobiales_bacterium (0.08), uncultured_actinobacterium (0.05), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.04), uncultured_Acidimicrobidae_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_Acidimicrobidae_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)
O: Unassigned uncultured (0.07)	
C: 0319-7L14 (0.2)	uncultured_bacterium (0.17), uncultured_actinobacterium (0.03)
C: Nitriiruptoria (0.1)	
F: Nitriiruptoraceae(0.08)	uncultured_bacterium (0.04)

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



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

ตารางที่ 12 ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์ความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์ของไฟล์ม Actinobacteria ที่ได้จากการอ่านลำดับเบสของ 16s rDNA ยีนด้วยเทคนิค Next generation sequencing ในพื้นที่ป่าต้นน้ำปี 2560-2562

Class/Order/Family	Genera
	Rubrobacter (3)
C: Thermoleophila (50)	uncultured_bacterium (2)
O: Gaiellales (29)	Gaiella (5)
F: uncultured (20)	uncultured_bacterium (3), uncultured_Rubrobacteriales_bacterium (1), uncultured_Conexibacter_sp. (0.8), uncultured_Rubrobacteria_bacterium (0.6), Ambiguous_taxa

Class/Order/Family	Genera
	(0.09) <i>Gaiella</i> _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)	<i>Conexibacter</i> (3), <i>Conexibacter</i> (3), Uncultured (0.099)
F: Unassigned Solirubrobacteraceae (0.99)	
C: Unassigned Thermoleophili (1)	
C: Actinobacteria (29)	<i>Bifidobacterium</i> (0.2), <i>Glycomyces_harbinensis</i> (0.03) <i>Streptomyces</i> (7)
F: Streptomycetaceae(7)	
F: Micromonosporaceae (4)	uncultured_bacterium (0.8), <i>Planosporangium</i> (0.4), uncultured_bacterium (0.3), <i>Luedemannella</i> (0.2), <i>Micromonospora</i> (0.2), <i>Dactylosporangium</i> (0.1), <i>Actinoplanes</i> (0.08), uncultured_bacterium (0.05)
F: Unassigned Micromonosporaceae (1.87)	
F: Pseudonocardiaceae (3)	<i>Pseudonocardia</i> (1), <i>Crossiella</i> (1), <i>Lechevalieria</i> (0.3), <i>Actinophytocola</i> (0.2), <i>Saccharopolyspora</i> (0.1), <i>Labedaea_rhizosphaerae</i> (0.06), <i>Amycolatopsis</i> (0.04)
F: Kineosporiaceae (1)	uncultured_bacterium (0.5), uncultured_bacterium (0.1)
F: unassigned Kineosporiaceae (0.4)	
O:Propionibacteriales (6)	
F: Nocardioidaceae (5)	<i>Nocardioides</i> (3), <i>Marmoricola</i> (0.7), <i>Kribbella</i> (0.6), <i>Actinopolymorpha</i> (0.04), uncultured_bacterium (0.01)
F: Unassigned Nocardioidaceae (0.65)	
F: Propionibacteriaceae (1)	<i>Microlunatus</i> (0.95), uncultured_actinobacterium (0.05)
O: Frankiales (5)	<i>Acidothermus</i> (1), uncultured_bacterium (0.05)
F: Geodermatophilaceae (3)	<i>Geodermatophilus</i> (2), <i>Blastococcus</i> (0.94), <i>Modestobacter</i> (0.06)
F: uncultured (0.4)	
F: Frankiaceae (0.03)	<i>Jatrophihabitans</i> (0.03)
O: Unassigned Frankiales (0.52)	

Class/Order/Family	Genera
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_Acidimicrobidae_bacterium (0.09), Metagenome (0.02)
O: Microtrichales (2)	lamia (0.2)
F: uncultured (1)	uncultured_bacterium (0.8), uncultured_Actinomycetales_bacterium (0.03), Ambiguous_taxa (0.02), 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),

Class/Order/Family	Genera
	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 พบว่าพื้นที่เกษตรปลายน้ำมี 6.84 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ มี 10.29 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 31.49 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 10.39 เปอร์เซ็นต์ ปี 2561 พบว่าพื้นที่เกษตรปลายน้ำมี 4.98 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ มี 13.39 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 6.04 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 5.39 เปอร์เซ็นต์ ปี 2562 พบว่าพื้นที่เกษตรปลายน้ำมี 5.81 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 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 พบว่าพื้นที่เกษตรปลายน้ำมี 16.33 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ มี 11.34 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 19.98 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 21.05 เปอร์เซ็นต์ ปี 2561 พบว่าพื้นที่เกษตรปลายน้ำมี 5.82 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ มี 4.36 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่เกษตรต้นน้ำมี 7.66 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าต้นน้ำมี 9.37 เปอร์เซ็นต์ ปี 2562 พบว่าพื้นที่เกษตรปลายน้ำมี 3.64 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ป่าปลายน้ำ 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 ปลายน้ำ พื้นที่ป่า และพื้นที่ทำการเกษตร สกุล (genus) เด่นที่พบในการศึกษานี้ ได้แก่ *Streptomyces* โดยเฉพาะในพื้นที่ป่าปลายน้ำในช่วงฤดูฝน (เดือนสิงหาคม 2562) พบว่ามีความอุดมสมบูรณ์สัมพัทธ์สูงถึง 10.98 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบความแปรผันของ phylotype และหน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTUs) ที่เกี่ยวข้องกับ Actinobacteria ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามี แบคทีเรียแกรมบวกที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในรากของพืช ได้แก่ สกุล *Frankia* พบ 0.1 เปอร์เซ็นต์ พืชที่มีการสร้างปมโดย *Frankia* ถูกเรียกว่า actinorrhizal plants โดยทั่วไปสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งไม่มีผลกระทบต่อแอกติโนมัยสียเหมือนแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในดิน ส่วนใหญ่พบว่าแอกติโนมัยสียชอบความชื้นในระดับค่อนข้างต่ำ (Alexander, 1977) แต่การศึกษานี้พบว่ามีแอกติโนมัยสียมากที่สุดในพื้นที่ป่าปลายน้ำที่มีความชื้นสูง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยสียภายใต้สภาวะแห้งแล้ง (Eltarably and Sivasithamparam, 2006) Actinomycetes มี

คุณสมบัติหลายประการที่สามารถนำไปใช้ในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนจากสารอินทรีย์ที่เป็นมลพิษโดยมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนคาร์บอนและสามารถย่อยสลายสารประกอบเชิงซ้อนได้

Actinobacteria ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในบริเวณรอบรากพืชและมีปฏิสัมพันธ์กับพืช ความสัมพันธ์ดังกล่าวทำให้สามารถจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อไรโซแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) โดยช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารและแร่ธาตุรวมทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Actinobacteria สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Jose and Jha, 2016) 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* (Tahvonen, 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) พบว่าประมาณ 60% ของยาฆ่าแมลงและสารกำจัดวัชพืชชนิดใหม่เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้ เนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังพบว่ามียาลักษณะที่ย่อยสลายได้ในขณะที่มีความจำเพาะสูงและเป็นพิษน้อยต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ได้เป็นเป้าหมาย อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการระบุชนิดพันธุ์ตลอดจนกลไกการออกฤทธิ์ของสารชีวภาพเหล่านี้สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ Actinobacteria ที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ให้มีอายุการใช้งานที่นานขึ้น

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

16S rDNA ส่งผลให้เกิดการหาลำดับเบสของชุมชนแอกติโนแบคทีเรียที่ได้ในเชิงลึกมากขึ้น วิธีการนี้ทำให้สามารถระบุถึงประชากรที่หายากและมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำในชุมชนแอกติโนแบคทีเรียได้ (Kysela *et al.*, 2005; Staley *et al.*, 2013) 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 หลายร้อยชิ้นที่น่าสงสัย ออก และเพิ่มความน่าเชื่อถือในความเป็นไปได้ของลำดับโครโมโซมที่เกือบสมบูรณ์และถูกต้อง ทำให้สามารถศึกษาลักษณะของยีนได้อย่างละเอียดและการสังเคราะห์ยีนแบบสมบูรณ์ (Bentley *et al.*, 2002) ผลที่ได้จากการใช้เทคโนโลยีนี้คือการค้นพบแอกติโนแบคทีเรียในดิน ในขั้นตอนต่อไปของการศึกษาคควรมีการหาลำดับเบสจีโนมทั้งหมดของแอกติโนมัยสัทในดินจากหลายแห่งในประเทศไทย

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ : ชุมชนแบคทีเรียในดินส่วนใหญ่มีไฟลัมเด่นอยู่ 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 ความหลากหลายของแอกติโนแบคทีเรียสูงที่สุดในพื้นที่ต้นน้ำ โดยเฉพาะในดินเกษตร 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

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกแอกติโนแบคทีเรียชนิดเด่นที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเช่นนำไปทดสอบการตรึงไนโตรเจนร่วมกับเชื้อไรโซเบียมหรือทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตหรือโพแทสเซียม นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

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

12. เอกสารอ้างอิง:

- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology, 2nd edition, Krieger Publishing Company, USA.
- 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.
- 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.
- 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.
- Gangwar, M., R. Sheela 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.
- Gregor, A.K., B. Klubek, 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.
- 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
- Katz, L. and R.H. Baltz. 2016. Natural product discovery: past, present, and future. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 43: 155–176.
- 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.
- Herndl, G.J. 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 12115–12120.
- Hillel, D. 2008. *Soil in the Environment*. Burlington (MA): Academic Press.
- 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.
- 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.
- 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.
- Myat Soe, K., B. Ampan, K. Dumnern and Y. Takeo. 2012. Effect of endophytic actinomycetes and *Bradryrhizobium japonicum* strains on growth, nodulation, nitrogen fixation and seed weight of different soybean varieties. *Soil Sci. Plant Nutr.* 58 (3): 319-325.
- Mohammadi, O., M.L. Lahdenpera. 1992. Mycostop Biofungicide in Pratic. 1-7 in 10th International Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Coumpounds. Thuringia, Germany.
- Nimnoi, P., P. Neelawan and L. Saisamon. 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 coelicolory* *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.
- 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.
- 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.
- Strobel G. and B. Daisy. 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.
- 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.
- 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.
- Williams, S.T., M. Goodfellow and G. Alderson. 1989. Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339AL, pp. 2453–2492. *In* S.T. Williams, M.E. Sharpe and J.G. Holt., eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 4, Williams & Willkins, Baltimore.

13. ภาคผนวก:

-