ไมโครไบโอม
ในดินภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นราพร สมบูรณ์นะ[1], อลิษา วิลันโท[2],
ดร. รัตน์มณี ชนะบุญ[3], ภัสสิริ โคมกระจ่าง[1],
ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ปัญหา[4]
[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]หน่วยวิจัยเทคโนโลยีจีโนม ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค)
[3]คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร
[4]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

http://static.wixstatic.com

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ พืชที่ปลูกกันส่วนใหญ่ในประเทศ ได้แก่ ข้าว (มากกว่าร้อยละ 50) ตามด้วยผักและผลไม้ต่าง ๆ (เช่น ชา ข้าวโพด และกล้วย) (NESDB, 2005)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ขนาดใหญ่ โดยคิดเป็นหนึ่งในสามของพื้นที่ทั้งหมดของประเทศ (168,854 ตารางกิโลเมตร) และประชากรส่วนใหญ่ของประเทศอาศัยอยู่ในพื้นที่นี้ ประชากรของภาคตะวันออกเฉียงเหนือส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม แต่กระนั้น คุณภาพของดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือนั้นต่ำสำหรับการทำเกษตรกรรมเมื่อเทียบกับภูมิภาคอื่น ๆ ของประเทศ (Fukai, Sittisuang, and Chanphengsay, 1998) เนื่องจากดินมีลักษณะเป็นทรายเนื้อละเอียด นอกจากนี้ ลักษณะภูมิประเทศยังมีแหล่งน้ำอยู่จำกัด ปริมาณน้ำฝนก็ไม่แน่นอน กล่าวคือ บางครั้งมีฤดูแล้งที่ยาวนาน ตามด้วยฤดูฝนที่มีน้ำท่วม แม้ปัญหาจะทุเลาลงบ้างเพราะมีโครงการชลประทาน แต่การแก้ปัญหาดังกล่าวยังก่อให้เกิดปัญหาใหม่ นั่นคือ ปัญหาดินเค็ม นอกจากนี้ พื้นที่เกษตรกรรมหลายแห่งกลายสภาพมาจากการตัดไม้ทำลายป่า ปัญหาอีกอย่างหนึ่งคือ ผลผลิตต่อพื้นที่เฉลี่ยค่อนข้างต่ำ ทำให้เกษตรกรต้องพึ่งพาการทำเกษตรแบบอุตสาหกรรม (industrial agriculture) ซึ่งเป็นการเร่งให้คุณภาพดินเสื่อมเสียเร็วขึ้นไปอีก (Fedra, Winkelbauer, and Pantulu, 1991; NESDB, 2005)

เมื่อสังคมสมัยใหม่กลายเป็นสังคมอุตสาหกรรม การเกษตรจึงเปลี่ยนเป็นการเกษตรอุตสาหกรรมไปด้วย เกษตรอุตสาหกรรม หมายถึง ระบบการทำการเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมี ยาฆ่าแมลง ยากำจัดวัชพืช และสารเคมีสังเคราะห์ และสิ่งมีชีวิตตัดต่อพันธุกรรม การให้หัวอาหารแก่สัตว์เลี้ยง และมีการทำชลประทานและไถพรวนกันอย่างแพร่หลาย วิธีการนี้ทำให้สามารถได้ผลผลิตจำนวนมากในพื้นที่น้อยและใช้แรงงานมนุษย์น้อยลง (Seufert, Ramankutty, and Foley, 2012) แต่กิจกรรมต่าง ๆ ที่ใช้ทรัพยากรและพลังงานมาก ๆ แบบเกษตรอุตสาหกรรมส่งผลร้ายต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การชะละลายของสารเคมี ความเสื่อมโทรมของดิน และการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ งานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างเกษตรอุตสาหกรรมและเกษตรอินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีการที่ตรงข้ามกันแสดงให้เห็นว่าเกษตรอินทรีย์ทำให้มีความหลากหลายทางชีวภาพและความอุดมสมบูรณ์มากกว่าเกษตรอุตสาหกรรม (Bengtsson, Ahnström, and Weibull, 2005) นอกจากนี้ การใช้สารเคมี เช่น ยาฆ่าแมลง ยังทำให้มนุษย์เผชิญกับความเสี่ยงด้านสุขภาพ แต่กระนั้น เนื่องจากเกษตรอุตสาหกรรมให้ผลผลิตที่รวดเร็วกว่า เกษตรกรในประเทศไทยจึงยังเป็นที่นิยม ทำให้เกิดปัญหาดินคุณภาพต่ำอย่างต่อเนื่อง (Fukai, Sittisuang, and Chanphengsay, 1998)

เกษตรอินทรีย์และความสำคัญของไมโครไบโอมในดิน

เกษตรอินทรีย์ (Organic agriculture) หรือเรียกว่า เกษตรยั่งยืน (sustainable farming) มีหลักการว่าห้ามใช้สารเคมีและสิ่งแปลกปลอม สิ่งมีชีวิตตัดต่อพันธุกรรม แต่ยังให้ใช้เครื่องจักรกลทางการเกษตรเพื่อลดการใช้พลังงานและแรงงานมนุษย์ (Hole et al., 2005; Paull, 2011) เช่น เกษตรอินทรีย์มีการใช้ปุ๋ยที่ได้จากสัตว์หรือพืช มีการกำจัดวัชพืชด้วยมือ ควบคุมศัตรูพืชด้วยวิธีการทางชีวภาพ เพื่อแทนการใช้ปุ๋ยเคมี สารกำจัดศัตรูพืช และยาฆ่าแมลง นอกจากนี้เกษตรอินทรีย์ยังใช้วิธีการปลูกแบบสวนผสม (คือ การปลูกพืชหลายชนิดรวมกัน) และปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อให้ดินมีแร่ธาตุที่หลากหลาย เป้าหมายของเกษตรอินทรีย์ คือ คงสภาพความเป็นธรรมชาติที่ดี รวมถึง ดิน น้ำ สัตว์ มนุษย์ และอื่น ๆ กระบวนการของเกษตรอินทรีย์จะเป็นการพึ่งพาความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศและสายใยอาหารที่เหมาะสมกับสภาพภูมิประเทศในท้องถิ่นนั้น ๆ (Rigby and Cáceres, 2001) สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรรายงานว่า ฟาร์มเกษตรอินทรีย์ในประเทศไทย ประกอบด้วย ทำนาข้าว (ร้อยละ 68) สวนผักต่าง ๆ (ร้อยละ 12) ผลไม้ (ร้อยละ 8) ไร่ชา (ร้อยละ 8) สมุนไพร และอื่น ๆ นอกจากนี้ ผลผลิตจากฟาร์มเกษตรอินทรีย์มักจะมีราคาตลาดที่สูงกว่าสินค้าเกษตรประเภทอื่นเนื่องจากมีคุณค่าด้านการทำเกษตรแบบห่วงใยสิ่งแวดล้อม

จุลินทรีย์ทำหน้าที่หลักในจุดเริ่มต้นและจุดจบ (วัฏจักร) ในเกือบทุกห่วงโซ่อาหาร เมื่อไม่นานมานี้ มีงานวิจัยที่พยายามเพิ่มผลผลิตโดยใช้การทำงานของไมโครไบโอมประเภทโปรคาริโอตและยูคาริโอต (โดยหลักแล้วจะใช้รา สัตว์จำพวกหนอนตัวกลม และ สัตว์จำพวกหนอนปล้อง) เมื่อเกษตรกรปลูกและเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว ดินก็จะสูญเสียสารอาหารบางอย่างออกไป และเมื่อทำเกษตรในรูปแบบนี้ติดต่อกันและระยะเวลานาน ดินก็จะประสบปัญหาขาดธาตุอาหารและกลายเป็นดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ ดังนั้น เพื่อเติมสารอาหารให้แก่ดิน จึงจำเป็นต้องคงสมดุลความหลากหลายของจุลินทรีย์ รวมถึงแบคทีเรียโปรคาริโอตและอาร์เคีย และราประเภทยูคาริโอต โพรทิสต์ และสัตว์ขนาดเล็ก เช่น หนอนตัวกลม เพื่อเติมเต็มห่วงโซ่อาหาร โมโครไบโอมในดินที่อุดมสมบูรณ์เป็นเป้าหมายสูงสุดของเกษตรอินทรีย์ เพราะต้องการรักษาดินให้มีจุลินทรีย์อุดมสมบูรณ์อย่างยั่งยืนและมีห่วงโซ่อาหารที่ยั่งยืน งานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่าเทคนิคในการทำเกษตรกรรมส่งผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ ชี้ให้เห็นว่าการเกษตรอุตสาหกรรมในระยะยาวเป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจุลินทรีย์ในดิน โดยมีแนวโน้มที่จะไปลดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตและกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตเมื่อเทียบกับเกษตรอินทรีย์ (Bossio et al., 1998; Letourneau and Goldstein, 2001; Berkelmans et al., 2003) นอกจากนี้ ดินจากเกษตรอินทรีย์ยังมีเชื้อก่อโรคพืชลดลงเนื่องจากมีการแข่งขันการเจริญเติบโตจากจุลชีพที่มีประโยชน์ (Griffiths et al., 1994) และขณะที่การใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียวจะให้ผลลัพธ์ที่ไม่นิ่ง แต่ข้อมูลจากการใช้ไมโครไบโอม หมายถึง การปรับประชากรจุลินทรีย์ที่หลากหลายในดินพบว่าช่วยแก้ปัญหาพืชการเกษตรและปัญหาเกี่ยวกับดินเรื้อรังได้หลายอย่าง เช่น พืชที่ทนความเค็มได้ และคุณภาพดินที่ดีขึ้น (Vandenkoornhuyse et al., 2015; Qin et al., 2016; Schmidt, Bowles, and Gaudin, 2016) อย่างไรก็ตาม ไมโครไบโอมในดินอาจแตกต่างกันไปตามพื้นที่ทางภูมิศาสตร์และประเภทของพืช (Bulgarelli et al., 2012; Lakshmanan, 2015; Agler et al., 2016)

ดังนั้น ฐานข้อมูลและความรู้เรื่องไมโครไบโอมในดินที่เป็นแหล่งเพาะปลูกการเกษตรในประเทศไทยจึงเป็นสิ่งที่มีค่า ในประเทศไทยฐานข้อมูลไมโครไบโอมในดินยังมีเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสิ่งที่ควรจะมีทั้งหมด เนื่องจากเทคโนโลยีเมตาจีโนมิกส์ร่วมกับการถอดรหัสพันธุกรรมของทั้งประชากรจุลินทรีย์โดยเครื่องเอ็นจีเอส (next generation sequencing: NGS) เป็นเทคนิคขั้นสูงที่เพิ่งมีการคิดค้นไม่นานมานี้ ดังนั้น งานวิจัยหลายชิ้นที่มีมาก่อนจึงใช้ข้อมูลจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแต่ละตัวที่สภาวะเหมาะสมแล้วค่อยถอดรหัสพันธุกรรมของแบคทีเรียแต่ละตัวนั้น หรือการแยกโพรไฟล์ของประชากรแบคทีเรียโดยการวิเคราะห์รูปแบบความแตกต่างขององค์ประกอบดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิส (เช่น วิธี automated ribosomal intergenic spacer analysis และ terminal restriction fragment length polymorphism) (Chawanakul et al., 2009; Doi and Ranamukhaarachchi, 2009; Sooksa-Nguan et al., 2010; Chaiyasen et al., 2014; Chunjaturas et al., 2014; Siripattanakul-Ratpukdi et al., 2015) ซึ่งผลที่ได้ยังไม่สามารถแสดงถึงประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดที่แท้จริง ดังนั้น ข้อมูลไมโครไบโอม กล่าวคือ ประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดที่แท้จริง จึงเป็นชิ้นส่วนที่ต้องมาเติมเต็มส่วนที่ยังขาดหาย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อให้เกิดความเข้าใจและการจัดการดินของภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้ยั่งยืน เราได้รับฐานข้อมูลสมบูรณ์เกี่ยวกับไมโครไบโอมสิ่งมีชีวิตโปรคาริโอตในดิน (แบคทีเรียและอาร์เคีย) และยูคาริโอตในดิน (รา โพรทิสต์ พืช และสัตว์)

ในพื้นที่สกลนคร จังหวัดหนึ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากทั้งหมด 19 จังหวัด มีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 1,875,000 ไร่ ในปี 2548 ซึ่งนับว่ามีพื้นที่ค่อนข้างมากเทียบกับจังหวัดอื่น ๆ ในภาคเดียวกัน โดยการใช้เทคนิคเมตาจีโนมิกส์ประกอบกับการถอดรหัสพันธุกรรมของประชากรจุลินทรีย์จากยีน 16S และ 18S ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอโดยเครื่องเอ็นจีเอส ความสัมพันธ์ระหว่างห่วงโซ่อาหารของจุลินทรีย์และไมโครไบโอตาได้ถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยเพื่อเรียกคืนความเชื่อมโยงสมมติฐานของเส้นห่วงโซ่อาหารที่สำคัญและจุลินทรีย์ที่อาจสูญหายไปหรือทำลายไปเพราะเกษตรอุตสาหกรรม เนื่องจากฐานข้อมูลไมโครไบโอมในดินเพื่อเทคโนโลยีการเกษตรในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด งานวิจัยชิ้นนี้เป็นตัวแทนของฐานข้อมูลเริ่มต้นของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดสกลนคร) บทความนี้ประกอบด้วยผลลัพธ์ที่เกิดจากความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตประเภทโปรคาริโอตและยูคาริโอต (ไม่มีการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ลักษณะของดินและการวิเคราะห์ศักยภาพบทบาทในห่วงโซ่อาหาร)

วิธีการ

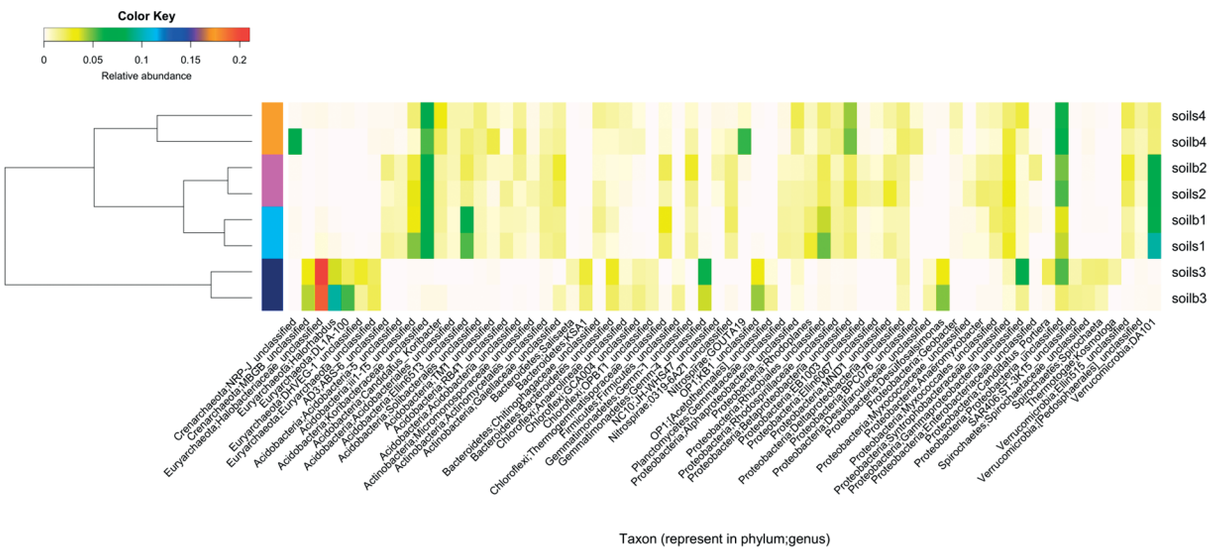
เลือกพื้นที่เพาะปลูก 4 แปลงในจังหวัดสกลนคร เพื่อครอบคลุมตัวอย่างที่ดินเกษตรกรรมที่มีความหลากหลายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พื้นที่ที่ได้รับการคัดเลือกได้แก่ 1) นาข้าวเกษตรอินทรีย์ที่มีการเพาะปลูกแบบไร่นาสวนผสม มีการปลูกพืชหมุนเวียนใน อ. กุสุมาลย์ (แปลงที่ 1) 2) นาข้าวเกษตรอินทรีย์ผสมกับข้าวเกษตรอุตสาหกรรม (ใกล้กับนาเกลือ) โดยมีการปลูกพืชหมุนเวียน ใน อ. วานรนิวาส (แปลงที่ 2) 3) นาเกลือใน อ. วานรนิวาส (แปลงที่ 3) และ 4) นาข้าวเกษตรอุตสาหกรรมโดยมีการปลูกพืชหมุนเวียนใน อ. พรรณนานิคม (แปลงที่ 4) มีการเก็บตัวอย่างในวันที่ 21-22 มิถุนายน 2557 ในแต่ละแปลง มีการเก็บตัวอย่างดินมา 10 ครั้ง ที่ความลึกที่แตกต่างกันสองระดับ (ระดับ 1-5 ซม. เป็นตัวแทนของไมโครไบโอมของชั้นหน้าดิน และระดับ 20-30 ซม. ลงไปในดิน เป็นตัวแทนไมโครไบโอมระดับราก โดยแต่ละตัวอย่างมีน้ำหนัก 15 กรัม ระยะห่างทุก ๆ 1 เมตร บรรจุไว้ในภาชนะที่สะอาด ไมโครไบโอมของชั้นหน้าดินใช้ตัวย่อว่า s และ ไมโครไบโอมระดับราก ใช้ตัวย่อว่า b ตามลำดับ เมื่อได้ตัวอย่างดินมาจากแปลงปลูกทั้งหมดแล้ว การตั้งชื่อตัวอย่างจะเป็นดังนี้ ดิน s1 คือ หน้าดินที่แปลง 1, ดิน b1 คือดินระดับรากที่แปลง 1, ดิน s2 คือ หน้าดินที่แปลง 2, เช่นนี้ไปเรื่อย ๆ

จากนั้น จะมีการสกัดด้าน metagenomic หรือจีโนมทั้งหมดสำหรับโปรคาริโอตและยูคาริโอตจากดินที่เก็บตัวอย่างมาใหม่ ๆ โดยใช้ Power Soil DNA Isolation Kit (MoBio, Carlsbad, CA, USA) แล้วกำหนดคุณภาพและความเข้มข้นของดินโดยใช้ agarose gel electrophoresis และ nanodrop spectrophotometry

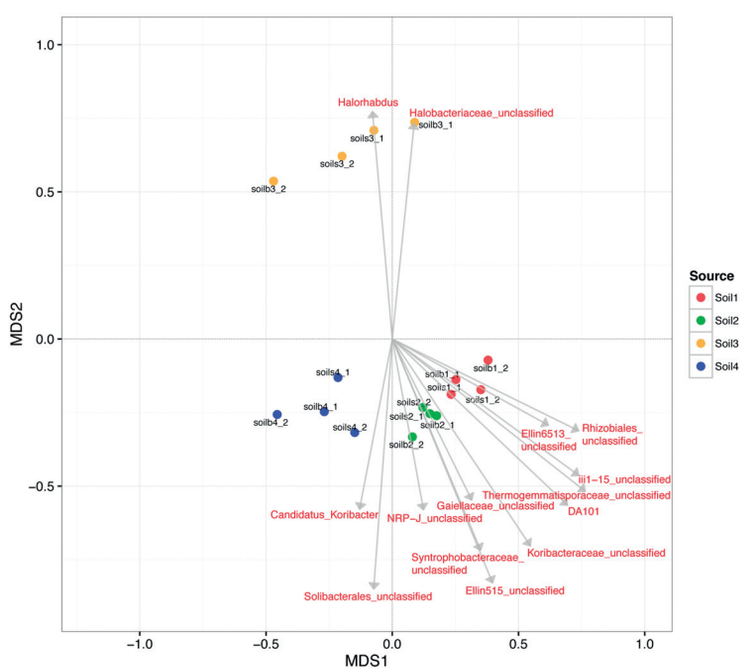
คลังข้อมูลสร้างโดยใช้ยีนสากล 16S rRNA (สำหรับโปรคาริโอต) และ ยีนไพรเมอร์ 18S rRNA (สำหรับยูคาริโอต) โดยใช้ 5' Illumina adapter ที่เชื่อมต่อกับ 3' Golay barcode ตามวิธีของ Caporaso และคณะ (2012) แต่ละคลังข้อมูล amplicon จะคัดกรองขนาดโดยใช้ GenepHlow™ Gel Extraction Kit (Geneaid Biotech Ltd., New Taipei City, Taiwan) และวัดปริมาณโดยใช้ Picogreen (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) มีการทำสำเนาอย่างน้อยสามชุดอิสระ กระจายกันไปเท่าเทียมกันเพื่อลด stochastic PCR bias การจัดหาลำดับเบสของดีเอ็นเอมีการใช้ MiSeq300 platform (Illumina, San Diego, CA, USA) ที่สถาบันวิจัยการแพทย์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และใช้ลำดับ primer และ index sequence ตามของ Caporaso และคณะ (2012) สำหรับเรื่องการวิเคราะห์ด้านชีวสารสนเทศศาสตร์ ปฏิบัติตามมาตรฐานการปฏิบัติงานของ Mothur (Schloss et al., 2009) หากไม่ได้บันทึกไว้ ใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียรสันเพื่อประเมินความเชื่อมโยงระหว่างโครงสร้างของกลุ่มสิ่งมีชีวิตและลักษณะของดิน สำหรับด้านสิ่งมีชีวิตที่เป็นโครงสร้างของกลุ่มสิ่งมีชีวิต ใช้สหสัมพันธ์ของ Spearman เข้ามาช่วย

ความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียและอาร์เคีย

จากหลาย ๆ กลุ่มที่มีทั้งหมด แบคทีเรียจากไฟลัม Proteobacteria มีจำนวนมากที่สุด (เฉลี่ยร้อยละ 31.43) ตามมาด้วย Acidobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria และ Chloroflexi ส่วนสิ่งมีชีวิตประเภทอาร์เคีย ที่พบได้แก่ Crenauchaeota, Euryarchaeota และ Parvarchaeota จากการคำนวณทางสถิติ ผลจากสำเนาตัวอย่างซ้ำอิสระให้ผลที่ใกล้เคียงกัน และได้รวม (merged) กันแล้ว ไมโครไบโอมของระดับผิวดินและระดับรากแสดงโครงสร้างของกลุ่มสิ่งมีชีวิตค่อนข้างใกล้เคียงกัน (Yue & Clayton theta similarity coefficient, *p*-value 0.780; Jaccard similarity coefficient, *p*-value 0.824) ขณะที่ดินจากแปลงเกษตรที่แตกต่างกันแสดงโครงสร้างกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันโดยสิ้นเชิง ขณะที่ไมโครไบโอมของแปลงที่ 1 และ 4 ควรจะใกล้เคียงกันเนื่องจากลักษณะของดิน (ไม่มีการแสดงข้อมูลด้านภูมิศาสตร์ อุณหภูมิ ค่ากรดด่าง และลักษณะเนื้อดิน) และลักษณะการปลูกพืช และแปลงที่ 2 ซึ่งตั้งอยู่ใกล้กับแปลงที่ 3 ซึ่งเป็นนาเกลือและมี



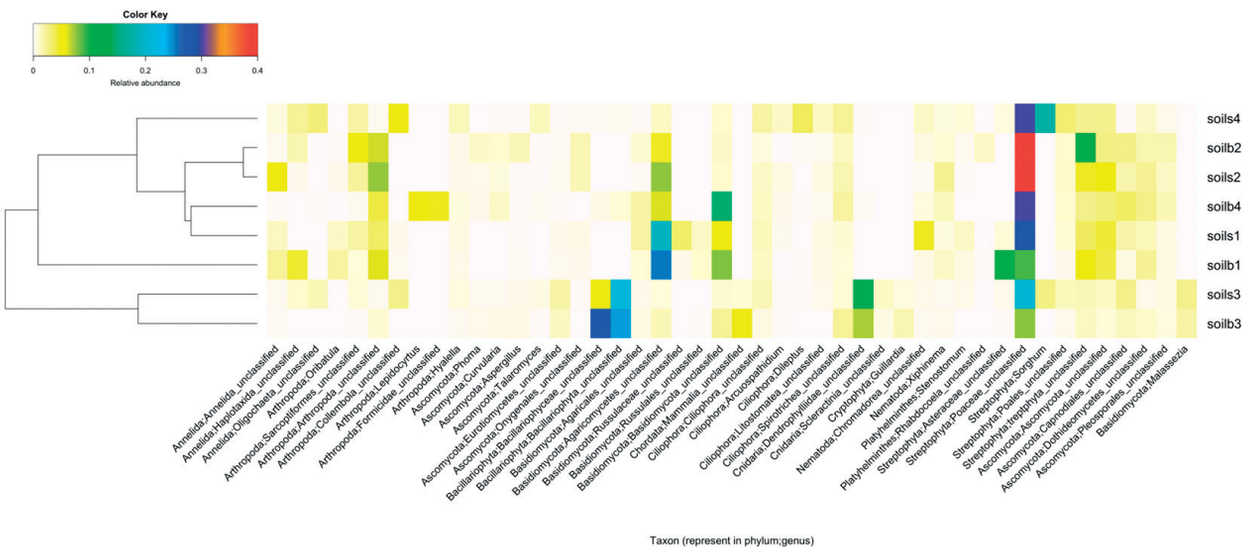
ภาพที่ 1 องค์ประกอบสัดส่วนของจีนัสโปรคาริโอต พร้อมแผนภูมิต้นไม้ด้านซ้าย จากของแต่ละกลุ่ม มีการแสดงสัดส่วนสัมพันธ์ด้านความถี่ของแต่ละจีนัสที่พบบนแท่งสีบนมุมซ้ายด้านบน แต่ด้วยพื้นที่จำกัด จึงไม่ได้แสดงจีนัสที่มีสัดส่วนน้อยกว่าร้อยละ 1
ที่มา : Somboonna (2015)



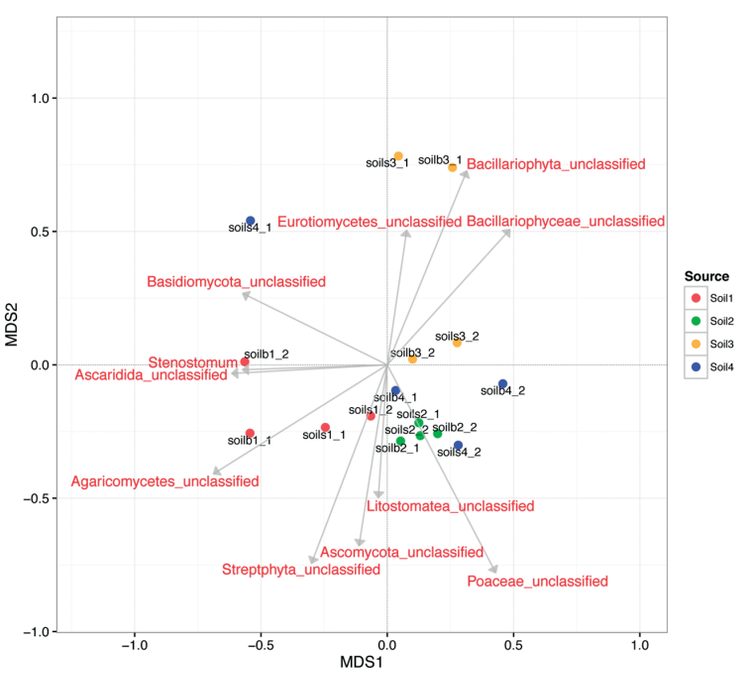
ภาพที่ 2 NMDS แสดงความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตโปรคาริโอต ซึ่งเป็นจีนัสตัวแทนคำนวณโดยสหสัมพันธ์ของ Spearman
ที่มา : Somboonna (2015)

ลักษณะดินที่คล้ายกัน ควรจะใกล้เคียงกัน ผลการวิจัยกลับพบไมโครไบโอมในดินของแปลงที่ 1 และ 2 มีความสัมพันธ์กันมากที่สุด ซึ่งชี้แนะว่าปัจจัยจากการทำเกษตรอินทรีย์และเกษตรอุตสาหกรรมมีผลต่อไมโครไบโอมในดิน ตัวอย่างสิ่งมีชีวิตที่พบมากในแปลงที่ 1 ได้แก่ สิ่งมีชีวิตหลายชนิดในไฟลัม Acidiobacteria (เช่น iii1-15 และ Ellin6513) สิ่งมีชีวิตไม่ทราบชนิดในวงศ์ Thermogemmatisporaceae (ไฟลัม Chloroflexi), Gemm-1 ในไฟลัม Gemmatimonadetes, 0319-6A21 ในไฟลัม Nitrospirae, Rhodoplanes และสิ่งมีชีวิตไม่ทราบจีนัสในอันดับ Rhizobiales (ไฟลัม Proteobacteria), สิ่งมีชีวิตไม่ทราบชนิดในอันดับ Myxococcales (ไฟลัม Proteobacteria), และ DA101 ในชั้น Spartobacteria (ไฟลัม

Verrucomicrobia) (ภาพที่ 1) ส่วนแปลงที่ 4 นั้นพบว่าลักษณะไมโครไบโอมอยู่แยกออกไป ทำให้เห็นปัจจัยของเกษตรอินทรีย์ออกจากเกษตรอุตสาหกรรมต่อสังคมจุลินทรีย์อย่างชัดเจน โดยในแปลงที่ 4 มีการใส่สารเคมี (เช่น ปุ๋ยเคมีสังเคราะห์ ยาฆ่าแมลง ยาฆ่าหญ้า) มากกว่าแปลงที่ 2 ซึ่งใช้แค่ปุ๋ยเคมีสังเคราะห์เท่านั้น ในทางกลับกัน ความเป็นเอกลักษณ์ของแปลงที่ 3 เด่นชัดด้วยโครงสร้างเฉพาะของดินที่เกิดจากการทำนาเกลือ โครงสร้างจุลินทรีย์ก็แตกต่างไปด้วย โดยโปรคาริโอตตระกูลอาร์เคียถูกพบได้บ่อย (เช่น วงศ์ Halobacteriaceae และ Halorhabdus ในไฟลัม Euryarchaeota) ตระกูลแบคทีเรียในไฟลัม Bacteroidetes, Firmicutes และ Spirochaetes และดินจากแปลงที่ 3 นี้



ภาพที่ 3 องค์ประกอบสัดส่วนของจีนัสยูคาริโอต พร้อมแผนภูมิต้นไม้ด้านซ้าย จากของแต่ละกลุ่ม มีการแสดงสัดส่วนสัมพันธ์ด้านความถี่ของแต่ละจีนัสที่พบบนแท่งสีบนมุมซ้ายด้านบน แต่ด้วยพื้นที่จำกัด จึงไม่ได้แสดงจีนัสที่มีสัดส่วนน้อยกว่าร้อยละ 1
ที่มา : Somboonna (2015)



ภาพที่ 4 NMDS แสดงความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตยูคาริโอต ซึ่งเป็นจีนัสตัวแทนคำนวณโดยสหสัมพันธ์ของ Spearman
ที่มา : Somboonna (2015)

แทบจะไม่แสดงการมีอยู่ของ Acidobacteria, Actinobacteria, Nitrospirae, Proteobacteria (เหล่านี้เป็นไฟลัมที่พบได้บ่อยในดินจากแปลง 1, 2 และน้อยกว่าในแปลง 4) และ Verrucomicrobia (ภาพที่ 1)

โครงสร้างสิ่งมีชีวิตโปรคาริโอตถูกนำไปสร้างเป็นสเกลแบบ non-metric multidimensional scale (NMDS) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกษตรอุตสาหกรรมอาจส่งผลกระทบต่อลักษณะไมโครไบโอมของดินในทิศทางใด ทำให้ไมโครไบโอมของแปลงที่ 4 แตกต่างจากดินในพื้นที่และการเพาะปลูกที่คล้ายกัน (แปลงที่ 1) ภาพที่ 2 แสดงถึง bacterial flora (เช่น Ellin6513, Rhizobiales, iii1-15 และ DA101) ซึ่งสถิติชี้ให้เห็นว่าเป็นตัวขับเคลื่อนลักษณะดินเกษตรอินทรีย์ในแปลงที่ 1 ซึ่งแตกต่างจากแปลงที่ 4 เมื่อความยาวของเวคเตอร์แสดงถึงความสัมพันธ์ที่มั่นคง ส่วนทิศทางของเวคเตอร์บ่งชี้ทิศทางของผลกระทบที่เกิดขึ้น สำหรับไมโครไบโอมในนาเกลือนั้น ใช้วงศ์ Halobacteriaceae (รวมถึงจีนัส Halorhabdus) ในไฟลัม Euryarchaeota เป็นตัวแทน ผลลัพธ์ของไมโครไบโอมเหล่านี้ทำให้สามารถคาดคะเนสายใยอาหารของจุลินทรีย์และวิเคราะห์เส้นทางสายใยอาหารที่สำคัญกับจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง (ไม่มีข้อมูลแสดง) เมื่อเป็นเช่นนี้ เป็นการเปิดพื้นที่สำหรับการปรับไมโครไบโอมหลักของเกษตรอุตสาหกรรม เพื่อเปลี่ยนดินให้กลับไปสู่การเป็นแหล่งจุลินทรีย์ในดินที่เคยเป็นดินสำหรับเกษตรอินทรีย์มาก่อน

ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ยูคาริโอต

ภาพที่ 3 แสดงองค์ประกอบรายละเอียดจีนัสของจุลินทรีย์ยูคาริโอตของแต่ละแปลงโดยแต่ละแปลงเป็นการรวมผลจากชุดตัวอย่างซ้ำอิสระ ซึ่งผลลัพธ์ของชุดตัวอย่างซ้ำอิสระให้ผลสอดคล้องกัน (ไม่แสดงข้อมูล) โครงสร้างสิ่งมีชีวิตในดินของแปลงที่ 2 เกาะกันเป็นกลุ่ม รายล้อมด้วยดิน s1 และ b4, s4, และ b1 ตามลำดับ ลักษณะเช่นนี้แสดงความสัมพันธ์บางส่วนของสิ่งมีชีวิตยูคาริโอตที่แปลงที่ 4 มีความคล้ายกับแปลงที่ 1 และ 2

ดรรชนีความแตกต่างของ Jaccard (jclass) และ Yue & Clayton theta (thetaYC) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่แปลง 1 มีต่อแปลง 2 มากกว่าแปลง 4 (jclass: ดิน b1 และดิน b2 = 0.510, ดิน s1 และ ดิน s2 = 0.503, ดิน b1 และดิน b4 = 0.552, ดิน s1 และ ดิน s4 = 0.548; thetaYC: ดิน b1 และ ดิน b2 = 0.735, ดิน s1 และ ดิน s2 = 0.218, ดิน b1 และ ดิน b4 = 0.639, ดิน s1 และ ดิน s4 = 0.448) ซึ่งสอดคล้องกับแปลงโครงสร้างสิ่งมีชีวิตใน NMDS ในภาพที่ 4 จะสังเกตว่าดรรชนีความแตกต่างมีระยะตั้งแต่ 0.000 ถึง 1 และถ้าใกล้เคียงกับ 0.000 หมายถึงโครงสร้างสิ่งมีชีวิตมีความคล้ายคลึงกัน นั่นทำให้อนุมานให้เห็นความคล้ายคลึงของสิ่งมีชีวิตที่ใกล้ชิดมากกว่า เป็นไปได้ว่า ลักษณะของสิ่งมีชีวิตยูคาริโอตประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย จึงมีความต้านทานสารเคมีที่ใส่เข้าไปในแปลงที่ 4 ลักษณะเช่นนี้แสดงให้เห็นว่าไมโครไบโอมมีความซับซ้อน จุลินทรีย์ที่มีมากในแปลงที่ 1 ได้แก่ animal Ascaridida (ไฟลัม Nematoda) และรา Agaricomycetes (ไฟลัม Basidiomycota) (ภาพที่ 4) และที่มีอยู่ปานกลางได้แก่ plant Poaceae (ไฟลัม Streptophyta) (ภาพที่ 3) เช่นเดียวกับโปรคาริโอต โครงสร้างสิ่งมีชีวิตยูคาริโอตของแปลงที่ 3 ก็มีความเป็นเอกลักษณ์ เนื่องจากมี arthropod (เช่น ไส้เดือน) สัตว์ขาปล้อง และรา Basidiomycota ค่อนข้างน้อย แต่พบว่ามีพืชในไฟลัม Bacillariophyta เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 3) หนอนปล้อง หนอนตัวกลม และ รา (เช่น Basidiomycota และ Ascomycota) ซึ่งพบได้บ่อยกว่าในฟาร์มเกษตร (ดินจากแปลงที่ 1, 2 และ 4) (ภาพที่ 3) ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมสำหรับกิจกรรมด้านสารอาหารอินทรีย์ในดิน รวมถึง การไถ การผสมเกสร และเนื้อดิน (Fonte, Winsome, and Six, 2009) สารอินทรีย์ในดินมีความสำคัญต่อสายใยอาหารในระบบนิเวศ (Lal, 2004; Fonte, Winsome, and Six, 2009)

บทสรุป

ทุกวันนี้ ประชาชนทั่วไปและรัฐบาลมีความกระตือรือร้นเรื่องสิ่งแวดล้อม และแหล่งจุลินทรีย์มากขึ้น ซึ่งเป็นพื้นฐานที่สำคัญต่อสายใยอาหารที่หลากหลาย เกิดตลาดและเทคนิคทางเกษตรสำหรับพืชอินทรีย์ขึ้น งานวิจัยนี้เป็นชิ้นแรกที่ค้นพบเทคนิคเกษตรกรรมที่เกี่ยวข้องกับไมโครไบโอม ทั้งประเภทโปรคาริโอตและยูคาริโอตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ข้อมูลจากงานวิจัยนี้มีประโยชน์ทั้งต่อวงวิชาการและประโยชน์ต่อสาธารณะ ทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับไมโครไบโอมที่สำคัญเพื่อเปลี่ยนสภาพดินเพื่อปรับปรุงผลผลิตพืชพรรณในลักษณะที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้เป็นส่วนหนึ่งของผลการศึกษาวิจัยโครงการ ***"ไมโครไบโอมที่เป็นตัวแทนของดินดีและอุดมสมบูรณ์"*** ซึ่งได้รับการสนับสนุนงบประมาณในการศึกษาจากกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ 2556 แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (CU-56-463-FW)

References

Agler, M., Ruhe, J., Kroll, S., Morhenn, C., Kim, S. -T., Weigel, D., et al. 2016. Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. **PLoS Biology** 14 (1): e1002352. doi: 10.1371/journal.pbio.1002352.

Bengtsson, J., Ahnström, J., and Weibull, A. -C. 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. **Journal of Applied Ecology** 42: 261–269.

Berkelmans, R., Ferris, H., Tenuta, M., and van Bruggen, A. H. C. 2003. Effects of long-term crop management on nematode trophic levels other than plant feeders disappear after 1 year of disruptive soil management. **Applied Soil Ecology** 23: 223-235.

Bossio, D. A., Scow, K. M., Gunapala, N., and Graham, K. J. 1998. Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. **Microbial Ecology** 36: 1-12.

Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., et al. 2012. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. **Nature** 488: 91-95.

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., et al. 2012. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **International Society for Microbial Ecology** 6: 1621-1624.

Chaiyasen, A., Young, J. P. W., Teaumroong, N., Gavinlertvatana, P., and Lumyong, S. 2014. Characterization of arbuscular mycorrhizal fungus communities of *Aquilaria crassna* and *Tectona grandis* roots and soils in Thailand plantations. **PLoS ONE** 9 (11): e112591. doi:10.1371/journal.pone.0112591.

Chawanakul, S., Chaiprasert, P., Towprayoon, S., and Tanticharoen, M. 2009. Contributions of available substrates and activities of trophic microbial community to methanogenesis in vegetative and reproductive rice rhizospheric soil. **Journal of Environmental Biology** 30: 119-127.

Chunjaturas, W., Ferguson, J. A., Rattanapichai, W., Sadowsky, M. J., and Sajjaphan, K. 2014. Shift of bacterial community structure in two Thai soil series affected by silver nanoparticles using ARISA. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 30: 2119-2124.

Doi, R., and Ranamukhaarachchi, S. L. 2009. Correlations between soil microbial and physicochemical variations in a rice paddy: implications for assessing soil health. **Journal of Bioscience** 34: 969-976.

Fedra, K., Winkelbauer, L., and Pantulu, V. R. 1991. **Expert systems for environmental screening. An application in the lower Mekong basin**. Laxenburg, Austria: International Institute for Applied Systems Analysis.

Fonte, S. J., Winsome, T., and Six, J. 2009. Earthworm populations in relation to soil organic matter dynamics and management in California tomato cropping systems. **Applied Soil Ecology** 41: 206-214.

Fukai, S., Sittisuang, P., and Chanphengsay, M. 1998. Increasing production of rainfed lowland rice in drought prone environments - a case study in Thailand and Laos. **Plant Production Science** 1: 75-82.

Griffiths, B. S., Ritz, K., and Wheatley, R. E. 1994. Nematodes as indicators of enhanced microbiological activity in a Scottish organic farming system. **Soil Use and Management** 10: 20-24.

Hole, D. G., Perkins, A. J., Wilson, J. D., Alexander, I. H., Grice, P. V., and Evans, A. D. 2005. Does organic farming benefit biodiversity? **Biological Conservation** 122: 133-130.

Lakshmanan, V. 2015. Root microbiome assemblage is modulated by plant host factors. **Advance Botany Research** 75: 57-79.

Lal, R. 2004. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. **Science** 304: 1623-1627.

Letourneau, D. K., and Goldstein, B. 2001. Pest damage and arthropod community structure in organic vs. conventional tomato production in California. **Journal of Applied Ecology** 38: 557-570.

National Economic and Social Development Board (NESDB). 2005. **Macro economic outlook: gross regional product and national income.** [Online]. Available form: http://www.nesdb.go.th

Office of Agricultural Economics (OAE). 2011. **The Situation of Organic Agriculture.**[Online]. Available form: http://www.oae.go.th/ewtadmin/ewt/oae_baer/download/article/article_20111013102515.pdf

Paull, J. 2011. Attending the First Organic Agriculture Course: Rudolf Steiner's Agriculture Course at Koberwitz, 1924. **European Journal of Social Sciences** 21: 64-70.

Qin, Y., Druzhinina, I. S., Pan, X., and Yuan, Z. 2016. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture. **Biotechnology Advances** 34: 1245-1259.

Rigby, D., and Cáceres, D. 2001. Organic farming and the sustainability of agricultural systems. **Agricultural Systems** 68: 21-40.

Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., et al. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. **Applied Environmental Microbiology** 75: 7537-7541.

Schmidt, J. E., Bowles, T. M., and Gaudin, A. C. M. 2016. Using ancient traits to convert soil health into crop yield: impact of selection on maize root and rhizoshpere function. **Frontiers in Plant Science** 7: 373. doi: 10.3389/fpls.2016.00373.

Seufert, V., Ramankutty, N., and Foley, J. A. 2012. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. **Nature** 485: 229-234.

Siripattanakul-Ratpukdi, S., Vangnai, A. S., Sangthean, P., and Singkibut, S. 2015. Profenofos insecticide degradation by novel microbial consortium and isolates enriched from contaminated chili farm soil. **Environmental Science and Pollution Research** 22: 320-328.

Somboonna, N. 2015. **Microbiome representing fertile and healthy soils.** Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund 2013 of Chulalongkorn University (CU-56-463-FW).

Sooksa-Nguan, T., Gypmantasiri, P., Boonkerd, N., Thies, J. E., and Teaumroong, N. 2010. Changes in bacterial community composition in the system of rice intensification (SRI) in Chiang Mai, Thailand. **Microbes and Environments** 25: 224-227.

Vandenkoornhuyse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., and Dufresne, A. 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. **New Phytology** 206: 1196-1206.