

กิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยก
จากมูลหนอนนกและมูลหนอนนกยักษ์
PLANT GROWTH PROMOTING ACTIVITIES OF ACTINOMYCETES
ISOLATED FROM MEALWORM FRASS AND SUPERWORM FRASS

ทิพย์ฉัตร กรศิริภิญโญ และดวงตา จุลศิริกุล*

Thipphayachat Konsiriphinyo and Duangta Julsirikul*

บทคัดย่อ

แอคติโนมัยสีท เป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การคัดแยก และการทดสอบกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชของแอคติโนมัยสีทจากมูลหนอนนก และมูลหนอนนกยักษ์พบว่าสามารถคัดแยกแอคติโนมัยสีทได้จำนวน 24 ไอโซเลต โดยมี 22 ไอโซเลต มีความสามารถสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase 18 ไอโซเลต มีความสามารถสร้างสารไซโตไคน์ 8 ไอโซเลต มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และ 20 ไอโซเลต มีความสามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ในปริมาณค่อนข้างสูง (23.59-309.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) ซึ่งมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของรากของเมล็ดข้าวปทุมธานี 1 โดยทำให้รากข้าวมีความยาวและความหนาของรากมากขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและไอโซเลตที่ไม่แสดงกิจกรรมการสร้างฮอร์โมนพืช IAA อย่างไรก็ตามมีเพียง 6 ไอโซเลตเท่านั้นที่แสดงกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชทุกกิจกรรมที่ศึกษา เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าคลำคลึงทางพันธุกรรมด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA และแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์พบว่าแอคติโนมัยสีททั้ง 6 ไอโซเลต มีความคล้ายคลึงมากกับแอคติโนมัยสีทในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลการวิจัยนี้บ่งชี้ว่าสามารถนำมูลหนอนนกไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์โดยตรง หรือคัดแยกแอคติโนมัยสีทใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ เพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอย่างมีประสิทธิภาพได้

คำสำคัญ: แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช แอคติโนมัยสีท มูลหนอนนก มูลหนอนนกยักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Faculty of Science, Burapha University, Muang District, Chonburi Province 20131

*corresponding author e-mail: duangta@buu.ac.th

Received: 31 October 2023; Revised: 3 January 2024; Accepted: 5 January 2024

DOI: <https://doi.org/10.14456/lsej.2024.4>

Abstract

Actinomycetes are recognized as the plant growth promoting bacteria (PGPB). A total of 24 actinomycetes were isolated from mealworm frass and superworm frass. The evaluation of plant growth promoting activities of these actinomycetes found that 22 isolates were able to produce the enzyme ACC Deaminase, 18 isolates were able to produce siderophore, eight isolates were able to solubilize phosphate and 20 isolates were capable of producing high amount of IAA plant hormone (23.59 – 309.15 µg/ml), effectively promoting the root growth of Pathum Thani 1 rice seeds by increasing root length and volume compared to control and non IAA-producing isolates. However, among these, only six isolates (TM1, TM4, TM6, TM8, ZA1, and ZA3) exhibited positive results in all tested biochemical activities. Based on nucleotide sequence analysis and the phylogenetic relationship of the partial 16S rRNA gene, these six isolates were identified as belonging to the genus *Streptomyces*. These findings could be promising for utilizing worm frass directly as organic fertilizer or isolating actinomycetes as bio-fertilizer substances to enhance plant growth.

Keywords: plant growth promoting bacteria, actinomycetes, mealworm frass, superworm frass

บทนำ

Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มักพบทั่วไปบริเวณรอบรากพืช ซึ่งทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโต ความแข็งแรง และทนทานของพืช ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ ได้ดีขึ้น โดยการทำงานผ่านกลไกทั้งทางตรง เช่น ส่งเสริมให้พืชสามารถใช้ทรัพยากรได้ดีขึ้น โดยการช่วยตรึงไนโตรเจน หรือเพิ่มการละลายฟอสเฟต หรือช่วยสร้างฮอร์โมนพืช เป็นต้น นอกจากนี้ยังทำงานผ่านกลไกทางอ้อม โดยการสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืช (Glick, 2012) แบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่ม PGPB คือ แอคติโนมัยซีท (Naik et al., 2019) จัดอยู่ในอันดับ Actinomycetales เป็นแบคทีเรียแกรมบวก โคโลนีที่บดแสงลักษณะคล้ายผง หรือฝุ่นแป้ง ผิวหยาบขรุขระ มีการสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) และเส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) บางชนิดมีการสร้างรงควัตถุสีต่าง ๆ (Hazarika & Thakur, 2020) มีบทบาทสำคัญในทางนิเวศวิทยาและทางเศรษฐกิจเนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน ช่วยฟื้นฟูสภาพแวดล้อมจากการปนเปื้อนโลหะหนักได้ รวมถึงยังสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีววิทยาได้หลายประเภท เช่น สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ และวิตามิน เป็นต้น (Franco-Correa & Chavarro-Anzola, 2016; Glick, 2012) ในปัจจุบัน มีการพัฒนาและประยุกต์ใช้

ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ PGPB มาใช้ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ป้องกันโรคพืช เพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ลดการใช้ปุ๋ยเคมี และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Department of Agriculture Extension, 2021; Dasgupta et al., 2021) โดยนอกจากบริเวณรอบรากพืชแล้ว ยังสามารถพบจุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ในลำไส้แมลง (Poveda et al., 2019) และมูลของแมลงยังมีสารอาหารจำนวนมากในรูปแบบที่พืชดูดซึมได้ง่าย โดยมีรายงานการใช้ มูล ชาก และตัวอ่อนของแมลงส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ให้ผลเทียบเท่ากับการใช้ปุ๋ยเคมี เช่น การใช้มูล และชากตักแตนเพื่อเพิ่มปริมาณคาร์บอน และไนโตรเจนในดิน (Fielding et al., 2013) การใช้มูลผึ้งเสริมไนโตรเจนในดิน (Mishra et al., 2013) การใช้ของเหลวที่มดขับถ่ายเป็นแหล่งไนโตรเจนเสริมทางใบแก่พืช (Pinkalski et al., 2018) หรือ การใช้มูลหนอนนกเป็นปุ๋ยอินทรีย์ และช่วยส่งเสริมความทนทานต่อสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อม (Poveda et al., 2019) เป็นต้น

หนอนนก (Mealworm) และหนอนนกยักษ์ (Superworm) เป็นตัวอ่อนของแมลงปีกแข็งชนิด *Tenebrio molitor* และ *Zophobas atratus* ตามลำดับ นิยมเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ระยะตัวหนอนเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะ สัตว์เศรษฐกิจสวยงาม เช่น ปลา นก สัตว์เลี้ยงคลาน รวมถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กหลายชนิด เช่น แฮมสเตอร์ หรือ กระรอก เนื่องจากมีโปรตีนสูง ส่วนผลพลอยได้จากการเพาะเลี้ยงหนอนนก คือมูล ถูกนำไปเป็นปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงดินให้เหมาะต่อการปลูกพืช รักษาสิ่งแวดล้อม และช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมี (Boonlun, 2013) โดยจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางธาตุอาหารพบว่า มูลหนอนนก 1 กิโลกรัมมีไนโตรเจน 50 กรัม ฟอสฟอรัส 20 กรัม และโพแทสเซียม 17 กรัม ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณธาตุอาหารที่พบในมูลสัตว์ปีก หรือปุ๋ยคอกทั่วไป (Houben et al., 2020) นอกจากนี้ มีรายงานการวิจัยพบว่าในมูลหนอนนกมีจุลินทรีย์หลายชนิดทำหน้าที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช และมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ (Poveda et al., 2019) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการคัดแยก และทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากมูลหนอนนก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ (1) เพื่อคัดแยกแอกติโนมัยสัทซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่ม PGPB จากมูลของหนอนนก และหนอนนกยักษ์ และ (2) เพื่อทดสอบกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชของแอกติโนมัยสัทที่คัดแยกได้ ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จากการวิจัยนี้อาจทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของมูลหนอนนกทั้งสองชนิดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้มูลหนอนนกในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพในเชิงพาณิชย์ได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดแยกแอกติโนมัยสัทจากมูลหนอนนก และมูลหนอนนกยักษ์

นำตัวอย่างมูลหนอนนก และมูลหนอนนกยักษ์ จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ทำการเจือจางลำดับส่วนแบบ 10 เท่า ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อจนได้ความเข้มข้นสุดท้าย ระหว่าง 10^{-1} ถึง 10^{-7} จากนั้นดูดสารละลาย 100 ไมโครลิตร จากแต่ละความเข้มข้น เกลี่ยใน

งานเพาะเชื้อ ที่มีอาหารแข็งสำหรับคัดแยกแอกติโนมัยสีท ตามวิธีการของ Indananda (2013) ได้แก่ อาหารสูตร Humic acid-vitamin agar (HV) Starch casein agar (SCA) Water agar (WA) และ Nutrient agar (NA) ซึ่งใส่ยาปฏิชีวนะ Cycloheximide 0.05% สำหรับยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และ Ampicillin 0.05% สำหรับยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ แล้วนำงานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส โดยเลือกเก็บโคโลนีของแอกติโนมัยสีทบนอาหารที่มีลักษณะแตกต่างกันทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำแบคทีเรียโคโลนีไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีขีดเชื้อ (streak plate) บนอาหารแข็งสูตร Mannitol soya (MS) (Kieser et al., 2000) เพื่อใช้ในการทดสอบ และระบุความจำเพาะของเชื้อแอกติโนมัยสีท ต่อไป

2. การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยสีท

ยืนยันการเป็นแบคทีเรียแกรมบวกของแอกติโนมัยสีทที่เลี้ยงบนอาหาร MS ด้วยวิธี Potassium hydroxide test (Talib & Abeid Abiess, 2019) จากนั้น นำแบคทีเรียที่ผ่านการยืนยันแกรมแล้วมาขีดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร International Streptomyces Project No.2 (ISP2) (Shirling & Gottlieb, 1966) เพื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น ได้แก่ สีของเส้นใยอากาศ สีของเส้นใยใต้ผิวอาหาร สีสปอร์ และสีรงควัตถุชนิดละลายน้ำ โดยเทียบกับสีมาตรฐาน ISCC NBS color charts (Kelly, 1964)

3. การทดสอบกิจกรรมของแอกติโนมัยสีทที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช

3.1 การทดสอบการสร้างฮอโมนพืช IAA

นำแอกติโนมัยสีทที่ถูกทำให้บริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Yeast extract-dextrose (YD) (Xiang et al., 2009) ด้วยวิธีขีดเชื้อแบบตัดกัน (cross streak) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นนำมาเจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่า ในอาหารเหลวสูตร YD จนได้ตัวอย่าง ความเจือจางที่ 10^{-1} จนถึง 10^{-6} นับจำนวนโคโลนีเพื่อเลือกกระดับความเจือจางที่เหมาะสม (30-300 โคโลนี) ด้วยวิธีการนับจุลินทรีย์บนจานเลี้ยง (plate count)

ตรวจสอบไอโซเลตที่สร้างฮอโมนพืช IAA โดยนำเซลล์จากระดับความเจือจางที่เหมาะสม 100 ไมโครลิตร เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร YD 10 มิลลิลิตร ที่เติม Tryptophan 2% บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที 5 นาที แยกเอาส่วนใส 1 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย Salkowsky' reagent 4 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร เพื่อวัดปริมาณ IAA (Ahmad et al., 2008) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ IAA ที่อยู่ในช่วงความเข้มข้น 5 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase

นำแอคติโนไมซีตที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร YD ตามวิธีการในข้อ 3.1 มาตรวจทดสอบการสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase ด้วยวิธีขีดเชื้อแบบง่าย (simple streak) บนอาหารแข็ง 3 สูตร คือ สูตร Minimal medium (MM) (Hopwood, 1967) สูตร MM ที่เติม แอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% และสูตร MM ที่เติม 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) 0.3 มิลลิโมลาร์ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นสังเกตการเกิดโคโลนีของแอคติโนไมซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase ได้บนอาหารแข็งทั้ง 3 สูตร

3.3 การทดสอบการสร้างสารไซเดอโรฟอร์

นำแอคติโนไมซีตที่ถูกทำให้บริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงในอาหารเหลว YD บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3-4 วัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทสารละลายส่วนใสด้านบนทิ้ง ล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง สุดท้ายเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 มิลลิลิตร ละลายตะกอนเซลล์ และผสมให้เข้ากันได้เป็นเซลล์แขวนลอยสำหรับการทดสอบ นำเซลล์แขวนลอย 15 ไมโครลิตร หยดบนอาหารแข็งสูตร Chrome azurol 5 (CAS) (Schwyn & Neilands, 1987) บ่มที่อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการตรวจสอบการเกิด และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณสีส้มรอบโคโลนี (Halo zone)

3.4 การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

นำเซลล์แขวนลอยที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีการเดียวกันกับข้อ 3.3 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร หยดบนอาหารแข็งสูตร Pikovskaya's (PVK) (Pikovskaya, 1948) บ่มที่อุณหภูมิ 29 ± 2 องศาเซลเซียส 7 วัน ทำการตรวจสอบการเกิด และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสรอบโคโลนี (Solubilization zone)

4. การส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี 1 จากแอคติโนไมซีตที่คัดแยกได้

เมล็ดพันธุ์ข้าวปทุมธานี 1 (*Oryza sativa* L. cv. Pathum Thani 1) นำมาจากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวชลบุรี ล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำกลั่น จากนั้นแช่เมล็ดข้าวด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที แล้วแช่ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) 1% นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ครั้ง จากนั้นแช่เมล็ดข้าวในน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาทดสอบการงอก โดยดัดแปลงจากวิธีของ Rungin et al. (2012) ดังนี้ แช่เมล็ดข้าวจำนวน 30 เมล็ด ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอคติโนไมซีต (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร) ในระดับการเจือจางที่เหมาะสมที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีการในข้อ 3.1 ทุกไอโซเลต และน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดข้าวมาเรียงในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 3 วัน แล้วนำออกมาไว้ในที่มีแสงอีก 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลองชุดละ 5 ซ้ำ บันทึกจำนวนเมล็ดข้าวที่งอก สังเกต และเปรียบเทียบลักษณะราก คำนวณอัตราการงอก (Germination rate) โดยคิดเป็นร้อยละของเมล็ดที่งอกเทียบกับ

จำนวนเมล็ดข้าวทั้งหมด และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการงอกของแต่ละชุดการทดลองโดยใช้ Tukey Multiple ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ (P -value < 0.05) ด้วยโปรแกรม Minitab (เวอร์ชัน 19)

5. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์

นำแอดคิโนมายส์ที่มีกิจกรรมสังการเจริญเติบโตในพืชครบทั้ง 4 กิจกรรม มาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสำเร็จ TIANamp Genomic DNA Kit จากนั้นเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนเป้าหมายของยีน 16S rRNA โดยใช้ Universal Primer 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') และ 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGAC TT-3') (Suriyachadkun et al., 2009) จากนั้นทำการตรวจสอบ target PCR product บน 0.8% agarose gel electrophoresis system ทำผลิตภัณฑ์ PCR ให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดสำเร็จ GeneJet™ PCR Purification Kit เพื่อส่งไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสองทิศทางโดยบริษัท เอทีจีซี จำกัด ประเทศไทย ตรวจสอบความตรงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม BioEdit (Hall et al., 2011) และนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาเปรียบเทียบค่าคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล EZbiocloud และสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์แบบ Neighbour-Joining (Saitou & Nei, 1987) ด้วยโปรแกรม MEGA X (Kumar et al., 2018) โดยใช้ *Kitasatospora nigatensis* DSM 44781^T เป็นสิ่งมีชีวิตนอกกลุ่ม (outgroup) คำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมโดยใช้แบบจำลอง Kimura two-parameter (K2P) (Kimura, 1980) และวิเคราะห์ค่าสถิติความเชื่อมั่นของแผนภูมิ Bootstrap 1,000 รอบ

ผลการวิจัย

1. การคัดเลือก และการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอดคิโนมายส์

จากการคัดเลือกแอดคิโนมายส์ บนอาหารแข็ง 4 สูตร (HV, SCA, WA, และ NA) และทำให้เชื้อบริสุทธิ์ ด้วยวิธีขีดเชื้อ บน อาหารแข็งสูตร MS สามารถคัดแยกแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีที่เป็นเอกลักษณ์ของแอดคิโนมายส์ คือ มีการสร้างเส้นใยคล้ายเชื้อรา โคโลนีเกาะแน่นจมอยู่ในอาหาร ผิวโคโลนีคล้ายฝุ่นแป้ง หรือหยาบขรุขระคล้ายหนังสัตว์ หรือสร้างหยดน้ำ โดยสามารถคัดแยกได้แอดคิโนมายส์ที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันได้ 24 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็นแอดคิโนมายส์ไอโซเลตที่ได้จากมูลหอนนก จำนวน 10 ไอโซเลต ให้ชื่อเป็น TM1 - TM10 และแอดคิโนมายส์ไอโซเลตที่ได้จากมูลหอนนกยักษ์ จำนวน 14 ไอโซเลต ให้ชื่อเป็น ZA1 - ZA14 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแสดงดังตารางที่ 1 (Table 1) และ ภาพที่ 1 (Figure 1) โดยสามารถจัดกลุ่มตามสีของสปอร์ได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีสปอร์สีขาว เทา น้ำตาล และเหลือง โดยกลุ่มที่มีสปอร์สีขาวเป็นกลุ่มที่มีพบมากที่สุด (45.83%) ของจำนวนสมาชิกทั้งหมด รองลงมาคือ กลุ่มที่มีสปอร์สีเทา (37.50%)

2. การทดสอบกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชจากแอคติโนมัยซีท์ที่คัดแยก

การทดสอบกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชจากแอคติโนมัยซีท์ที่คัดแยกได้ 24 ไอโซเลต แสดงในตารางที่ 1 (Table 1) โดยพบว่ามีแอคติโนมัยซีท์ทั้งหมด 20 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ได้ (ระหว่าง 23.59 ถึง 309.15 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยแอคติโนมัยซีท์ไอโซเลต ZA4 สามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ได้สูงสุดที่ 309.15 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่แอคติโนมัยซีท์ทั้งหมด 22 ไอโซเลต สามารถสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase โดยสามารถเจริญเป็นโคโลนีนบนอาหารทดสอบสูตร MM ที่เติม แอมโมเนียมซัลเฟต และสูตร MM ที่เติม ACC ได้ (Honma & Shimomura, 1978) และแอคติโนมัยซีท์ 18 ไอโซเลต สามารถสร้างสารไซเดอโรฟอร์ โดยพิจารณาจากการเกิด Halo zone รอบโคโลนีที่เจริญบนอาหารทดสอบ (CAS) โดย ไอโซเลต ZA2 เกิด Halo zone สูงสุดที่ 22.50 ± 0.05 มิลลิเมตร และจากการทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต พบเพียง 8 ไอโซเลต โดยไอโซเลต TM8 เกิด Solubilization zone บนอาหารทดสอบ (PVK) สูงสุดที่ 25.00 ± 0.05 มิลลิเมตร

จากการทดสอบกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชจากแอคติโนมัยซีท์ที่คัดแยกได้ พบว่ามีแอคติโนมัยซีท์ทั้งหมด 6 ไอโซเลต ที่มีกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชครบทั้ง 4 กิจกรรม คือ แอคติโนมัยซีท์ไอโซเลต TM1 TM4 TM6 TM8 ZA1 และ ZA3 โดยแอคติโนมัยซีท์เหล่านี้ จะถูกนำไปศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์ต่อไป

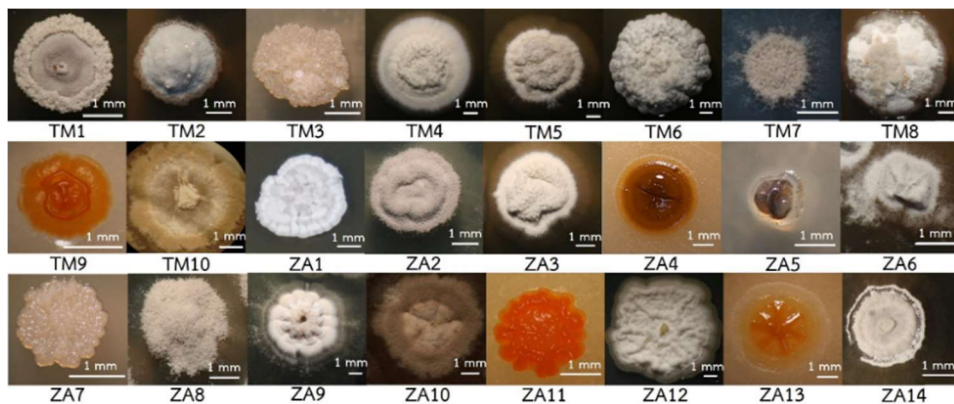


Figure 1 Mycelial morphology of a 24-isolate actinomycetes colony grown on ISP2 medium, incubated at 29 ± 2 °C for 14 days, observed under a stereo microscope.

Table 1 Mycelial characteristics and plant-promoting activities of actinomycetes isolated from mealworm and superworm frass

Isolate code	Medium	Morphological characteristics			Plant growth promoting activities				
		Substrate mycellium	Aerial mycellium	Spores	Soluble pigment	IAA production (µg/ml)*	ACC Deaminase production	Siderophore halo zone (mm)*	Phosphate solubilization zone (mm)*
TM1	NA	Moderate yellow	Light brownish gray	Pale yellow	Deep yellowish brown	110.02±0.05	+	12.00±0.87	14.00±0.00
TM2	NA	Light yellow	White	Grayish pink	-	-	+	17.00±0.50	-
TM3	NA	Light yellow	White	Grayish pink	-	102.54±0.01	+	10.00±1.32	-
TM4	NA	Light yellow	White	White	-	77.26±0.02	+	20.00±0.08	14.00±0.00
TM5	HV	Moderate yellow	White	White	-	61.64±0.01	+	16.00±0.50	-
TM6	NA	Light yellow	White	White	Light yellowish brown	141.07±0.02	+	16.00±1.32	15.00±0.50
TM7	WA	Light yellow	White	Light olive gray	Strong red	144.23±0.05	+	20.00±0.50	-
TM8	NA	Yellowish white	White	White	Deep brown	41.91±0.04	+	17.00±0.00	25.00±0.50
TM9	SCA	Vivid reddish orange	-	Brownish orange	-	132.44±0.07	+	5.00±0.50	-
TM10	SCA	Yellowish white	White	White	Dark brown	-	+	10.00±0.87	13.00±0.00
ZA1	NA	Light yellow	White	Grayish pink	-	61.67±0.08	+	15.00±0.87	14.00±0.50
ZA2	NA	Light yellowish brown	White	Pale purple	-	100.08±0.08	+	22.50±0.50	-
ZA3	HV	Yellowish white	Yellowish gray	White	-	56.86±0.04	+	16.00±1.00	16.00±0.50
ZA4	HV	Yellowish white	Yellowish gray	White	-	309.15±0.06	-	-	-
ZA5	NA	Light gray	-	Brownish black	-	186.77±0.02	+	-	-
ZA6	NA	Yellowish white	White	White	Dark brown	52.03±0.08	+	-	-
ZA7	SCA	Light yellow	White	Grayish pink	-	166.47±0.06	+	20.00±0.87	-
ZA8	SCA	Light yellow	White	Light olive gray	Strong red	229.23±0.09	-	16.00±1.00	-
ZA9	NA	Dark yellowish brown	Yellowish gray	White	-	115.67±0.06	+	14.00±0.87	-
ZA10	NA	Yellowish white	White	White	Dark brown	-	+	10.00±0.00	13.00±0.00
ZA11	WA	Vivid reddish orange	-	Brownish orange	-	117.94±0.07	+	6.00±0.00	-
ZA12	HV	Yellowish white	White	White	-	116.91±0.05	+	-	-
ZA13	NA	Strong brown	-	Dark grayish brown	-	-	+	-	-
ZA14	NA	Deep yellowish brown	White	Grayish greenish yellow	-	23.58±0.02	+	-	-

Remark *each value represents the mean±SD of three replicates; + indicates production; - indicates no production

3. การส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี 1 จากแอคติโนมัยซีทที่คัดแยก

การศึกษาการส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี 1 พบว่าเมล็ดข้าวที่แช่ในสารละลายแอคติโนมัยซีท (24 ไอโซเลต) มีอัตราการงอกใกล้เคียงชุดควบคุม อยู่ในช่วง 84.67% – 96.67% โดยไอโซเลต ZA2 ZA4 และ ZA8 สามารถส่งเสริมการงอกของข้าวปทุมธานี 1 ได้สูงสุดแต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไอโซเลตที่ไม่แสดงกิจกรรมการสร้างฮอร์โมนพืช IAA ได้แก่ TM10 ZA10 และ ZA13 มีอัตราการงอกต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 2 (Table 2) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาลักษณะการเจริญของราก พบว่าเมล็ดข้าวที่แช่ในสารละลายแอคติโนมัยซีท ไอโซเลตที่มีการสร้างฮอร์โมนพืช IAA รากจะมีความยาว และมีความหนามากกว่ารากของเมล็ดข้าวในชุดควบคุม และชุดที่ไม่มีการสร้างฮอร์โมนพืช IAA ดังภาพที่ 2 (Figure 2)

Table 2 Enhancing seed germination of Pathum Thani 1 rice through the activity of actinomycetes, isolated from mealworm and superworm frass.

Isolate code	Germination rate (%)	Observation of root growth	Isolate code	Germination rate (%)	Observation of root growth
Control	92.67±0.84	+	ZA1	94.00±0.45	++
TM1	92.67±0.84	+++	ZA2	96.67±0.71	+++
TM2	84.67±0.89	+	ZA3	87.33±0.84	++
TM3	88.67±0.55	++	ZA4	96.67±1.00	+++
TM4	90.00±1.23	+++	ZA5	92.67±0.45	+++
TM5	92.67±1.30	+++	ZA6	94.00±0.84	++
TM6	88.67±1.82	++	ZA7	95.33±1.14	+++
TM7	94.67±1.14	+++	ZA8	96.67±1.00	+++
TM8	85.33±2.07	+++	ZA9	93.33±1.00	+++
TM9	86.00±0.84	+++	ZA10	77.33±2.49*	+
TM10	81.33±1.14*	+	ZA11	92.00±0.55	+++
			ZA12	95.33±0.55	+++
			ZA13	69.33±1.92*	+
			ZA14	92.67±1.30	+++

Remark % of germination rate represents the mean±SD of five replicates
 * indicated significant difference from control at P-value < 0.05
 + Low root length and volume, ++ Medium root length and volume, +++ High root length and volume.

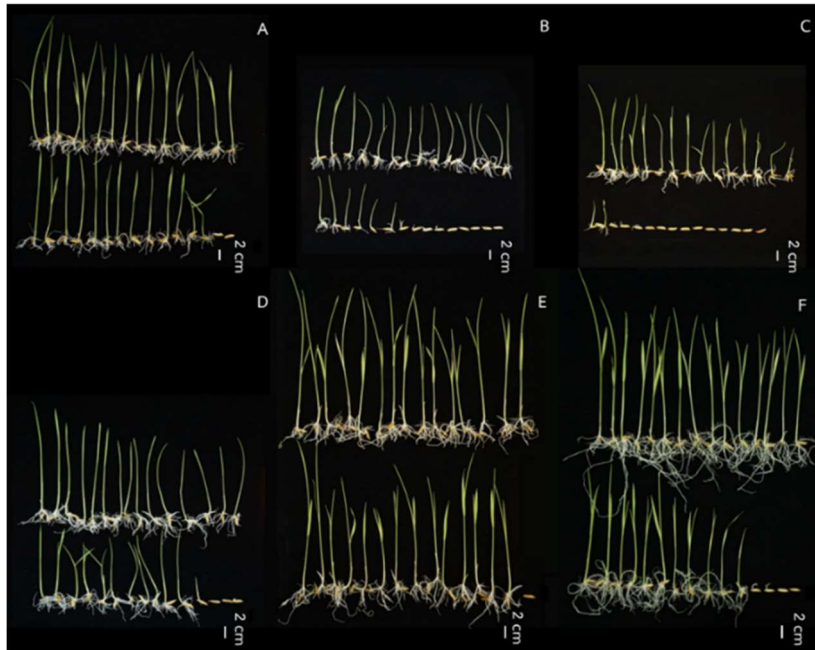


Figure 2 Evaluated root morphology of 7-day-old Pathum Thani 1 rice seedlings subjected to different treatment conditions: distilled water (A; control), non IAA-producing isolates (B; TM2, and C; ZA13), and IAA-producing isolates (D; TM3, E; ZA1, and F; ZA4)

4. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA และแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์ของแอกติโนมัยสีท

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ของแอกติโนมัยสีท ไอโซเลต TM1 TM4 TM6 TM8 ZA1 และ ZA3 พบว่ามีขนาดประมาณ 1,198 คู่เบส – 1,404 คู่เบส มีองค์ประกอบของเบส G และ C มาก (GC rich) อยู่ในช่วง 58.1% - 59.5% เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล EZbiocloud พบว่าแอกติโนมัยสีททั้ง 6 ไอโซเลต มีค่าความคล้ายคลึงมากที่สุดกับแอกติโนมัยสีทในสกุล *Streptomyces* โดยมีค่าความเหมือนระหว่าง 99.43% – 100%

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ มาสร้างเป็นแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์แบบ Neighbour-Joining พบว่าแอกติโนมัยสีททั้ง 6 ไอโซเลต มีวิวัฒนาการชาติพันธุ์ร่วมกับสมาชิกแอกติโนมัยสีทในสกุล *Streptomyces* ดังภาพที่ 3 (Figure 3) โดย ไอโซเลต TM1 TM4 และ ZA1 ถูกจัดอยู่ในเคลดเดียวกันกับ *Streptomyces albus* โดยมีค่าสถิติความเชื่อมั่นของแผนภูมิ 100% ในขณะที่ไอโซเลต TM6 มีความใกล้ชิดกับ *Streptomyces violascens* ส่วนไอโซเลต TM8 มีความใกล้ชิดกับ *Streptomyces durhamensis* และไอโซเลต ZA3 มีความใกล้ชิดกับ *Streptomyces rochei*

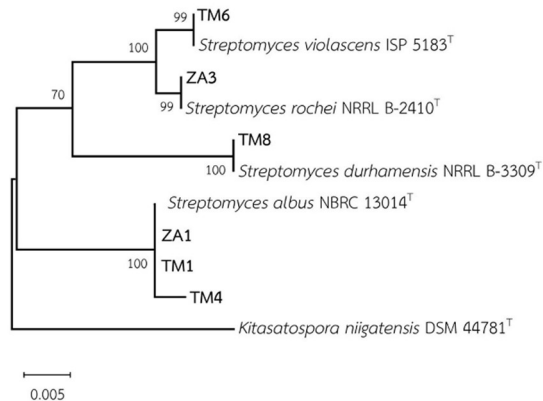


Figure 3 Neighbor-joining tree of 16S rRNA sequences of 6 Isolates of Actinomycetes. Bootstrap support (> 50%) using the Kimura two-parameter distance is shown at each branch. Scale bar represents 0.005 substitutions per site.

อภิปรายผล

ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทจากมูลหอนอนก และมูลหอนอนนกยักษ์ โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถแยกได้จำนวน 24 ไอโซเลต แต่ละไอโซเลตมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน เช่น ขนาดของโคโลนี และผิวหน้าโคโลนี ลักษณะของสีของสปอร์ และการสร้างรงควัตถุ โดยแอกติโนมัยซีท 20 ไอโซเลตสามารถสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช IAA ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการงอกของเมล็ด และการเจริญของราก ซึ่งสอดคล้องกับ Goudjal et al. (2013) รายงานว่า IAA ที่สกัดได้จาก *Streptomyces* ช่วยส่งเสริมการงอก และการยืดยาวของรากของมะเขือเทศ แอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากการศึกษานี้สามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ได้ในปริมาณค่อนข้างสูง (23.59 – 309.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อเทียบกับแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกจากแหล่งอื่น เช่น คัดแยกจากดินสวนมะพร้าว (1.34 - 10.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Mingma & Duangmal, 2021) คัดแยกจากดินปลูกต้นกาแฟ (17.36 - 109.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Sameera et al., 2018) หรือคัดแยกได้จากปุ๋ยมูลไส้เดือน (43.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Gopalakrishnan et al., 2014) เมื่อนำแอกติโนมัยซีท 20 ไอโซเลตที่มีการสร้างฮอร์โมนพืช IAA ในการศึกษา มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตในข้าวปทุมธานี 1 พบว่า รากของต้นกล้าข้าวมีความยาวและมีความหนามากกว่าชุดควบคุม และไอโซเลตที่ไม่มีการสร้างฮอร์โมนพืช IAA ทั้ง 4 ไอโซเลต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gopalakrishnan et al. (2014) ที่ได้ทำการศึกษาแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากปุ๋ยมูลไส้เดือนสายพันธุ์ CAI-85 และ CAI-93 ซึ่งสามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ที่ช่วยส่งเสริมการการพัฒนาของราก และการเจริญเติบโตในข้าว ทำให้ข้าวมีรากยาว และหนา รวมถึงมีน้ำหนักราก น้ำหนักเมล็ด และน้ำหนักแห้งรวมมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

จากแอคติโนไมซีที่คัดแยกได้จำนวน 24 ไอโซเลท พบว่ามี 22 ไอโซเลท ที่สามารถสร้าง เอนไซม์ ACC Deaminase ซึ่งมีบทบาทช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตพืชโดยการลดการสะสมของเอทิลีน ในพืช เนื่องจากเอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชที่มีคุณสมบัติยับยั้งการพัฒนาราก และทำให้การเจริญของ พืชโดยรวมลดลง (Hardoim et al., 2008) ดังตัวอย่างรายงานของ Jaemsaeng et al. (2018) พบว่า เอนไซม์ ACC Deaminase ที่สังเคราะห์จาก *Streptomyces* sp. GMKU 336 สามารถลดระดับเอทิลีน ในข้าวหอมมะลิไทยพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (*Oryza sativa* L. cv. KDML105) ภายใต้สภาวะความเครียด จากเกลือ ทำให้ข้าวทนทานต่อความเค็ม และการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ในการวิจัยนี้ยังพบว่า แอคติโนไมซีจำนวน 18 ไอโซเลท สามารถสร้างสารไซเดอโรฟอร์ โดยสร้าง Halo zone ขนาดตั้งแต่ 5.00 - 22.50 มิลลิเมตร สอดคล้องกับรายงานของ Himaman et al. (2016) ที่คัดแยกแอคติโนไมซีจากส่วนของราก และดินรอบรากของต้นยูคาลิปตัส พบว่าไอโซเลทที่ สร้างไซเดอโรฟอร์ และมี Halo zone ขนาด 14-17 มิลลิเมตร สามารถยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคใบและ ปลายกใหม่ได้ เนื่องจากสารไซเดอโรฟอร์ สามารถจับกับธาตุเหล็กแล้วเปลี่ยนรูปของธาตุเหล็กให้อยู่ใน รูปที่ละลายน้ำได้ ทำให้พืชดูดซึมธาตุเหล็กในดินได้ดีขึ้น จึงช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช (Teaumroong & Boonkerd, 1996) และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืช โดยการแย่งจับ เหล็กทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคพืชตาย (Gopalakrishnan et al., 2011)

นอกจากนี้ คุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่สำคัญอีกประการคือ ความสามารถของ แอคติโนไมซีในการละลายฟอสเฟต เนื่องจากฟอสฟอรัสซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการ เจริญเติบโตของพืช เมื่ออยู่ในดินจะอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้น้อยทำให้พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ การใช้แอคติโนไมซีที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปแบบของฟอสเฟตที่ละลายน้ำ ได้จึงช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ (Sharma et al., 2013) ดังเช่นรายงานการวิจัยของ Jog et al. (2014) ที่แสดงให้เห็นว่าแอคติโนไมซีที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตช่วยเพิ่มมวล ชีวภาพของต้นข้าวสาลีและเพิ่มการดูดซึมธาตุอาหาร และแก้ปัญหาดินขาดธาตุฟอสฟอรัสได้ อย่างไรก็ตาม แอคติโนไมซีที่คัดแยกได้จากมูลหนอนนก และมูลหนอนนกยักษ์ในการศึกษานี้ มีเพียง 8 ไอโซเลท เท่านั้นที่แสดงคุณสมบัติการละลายฟอสเฟต

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของกิจกรรมส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชของแอคติโนไมซีที่คัดแยก ได้ทั้ง 24 ไอโซเลทนี้โดยรวม พบว่าแอคติโนไมซี 2 ไอโซเลทที่แสดงคุณสมบัติเพียง 1 กิจกรรม ได้แก่ ไอโซเลท ZA4 ที่สามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ได้เท่านั้น และ ไอโซเลท ZA13 สามารถสร้างเอนไซม์ ACC Deaminase ได้เท่านั้น ในขณะที่ไอโซเลทอื่น ๆ จะแสดงคุณสมบัติตั้งแต่ 2 กิจกรรมขึ้นไป ซึ่งใน การส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช แอคติโนไมซีควรมีคุณสมบัติครบทุกด้านเพื่อช่วยส่งเสริมตั้งแต่การ งอก การเจริญของราก และยอด ช่วยส่งเสริมพืชให้สามารถใช้ธาตุอาหารได้ดีขึ้น รวมถึงเพิ่มความ ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ จึงจะทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดีในทุกระยะ สำหรับ

งานวิจัยนี้ พบว่า แอคติโนไมซีที่คัดแยกได้จำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ TM1 TM4 TM6 TM8 ZA1 และ ZA3 แสดงคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชครบทั้ง 4 กิจกรรม ดังนั้นแอคติโนไมซีทั้ง 6 ไอโซเลตนี้จึงมีศักยภาพสูงสำหรับใช้เป็นแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

จากการจัดจำแนกในระดับสกุล และการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการชาติพันธุ์ของแอคติโนไมซีทั้ง 6 ไอโซเลต (TM1, TM4, TM6, TM8, ZA1, และ ZA3) โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วน ของยีน 16S rRNA (1,198 – 1,404 คู่เบส) พบว่าแอคติโนไมซีทั้ง 6 ไอโซเลต มีวิวัฒนาการชาติพันธุ์ร่วมกับสมาชิกแอคติโนไมซีในสกุล *Streptomyces* ซึ่งมีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการตรึงไนโตรเจน สร้างสารแอมโมเนีย สร้างสารไซโตไคน สร้างฮอร์โมนพืช IAA สร้างเอนไซม์ ACC Deaminase ละลายฟอสเฟต ช่วยป้องกัน ยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช และยังแสดงให้เห็นถึงการส่งเสริมศักยภาพการเจริญเติบโตของพืช โดยการเพิ่มผลผลิตของพืชอีกด้วย (Jog et al., 2014; Himaman et al., 2016; Amaresan et al., 2018; Chouyia et al., 2022) เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ร่วมกันของลักษณะพื้นฐานวิทยา กิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ของ แอคติโนไมซีทั้ง 6 ไอโซเลต อาจสามารถเลือกใช้ประโยชน์เฉพาะด้านได้ เช่น ไอโซเลต ZA4 ที่สร้างฮอร์โมนพืช IAA ได้ในปริมาณสูงสุด (309.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถใช้เพื่อการผลิตฮอร์โมนพืช IAA ได้ หรือไอโซเลต ZA2 ที่สร้างไซโตไคนที่มี Halo zone ขนาดความกว้างมาก (22.50 มิลลิเมตร) สามารถนำไปใช้ผลิตสารไซโตไคนเพื่อใช้ประโยชน์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งในด้านการแพทย์ และการเกษตร เป็นต้น

สรุปผลการวิจัย

การคัดแยกแอคติโนไมซีจากมูลหนอนนก และหนอนนกยักษ์ จำนวน 24 ไอโซเลต พบว่ามีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยสามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA สร้างเอนไซม์ ACC Deaminase สร้างสารไซโตไคน และสามารถละลายฟอสเฟตได้แตกต่างกัน โดยแอคติโนไมซีไอโซเลต (20 ไอโซเลต) สามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของรากในข้าวปทุมธานี 1 ได้ โดยทำให้รากมีความยาว และความหนาเพิ่มขึ้นได้ จากแอคติโนไมซีที่คัดแยกได้ 24 ไอโซเลต มี 6 ไอโซเลต ที่แสดงคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชทั้ง 4 กิจกรรม เมื่อทำการจัดจำแนกแอคติโนไมซีในระดับสกุลโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า แอคติโนไมซีทั้ง 6 ไอโซเลตนี้เป็นสมาชิกของสกุล *Streptomyces* ซึ่งมีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าในมูลหนอนนก และหนอนนกยักษ์มีแอคติโนไมซีซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช สามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ได้โดยตรง หรือคัดแยกเฉพาะแบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่ม PGPR มาใช้ประโยชน์ ทำให้เกิดมูลค่าเพิ่มของมูลหนอนนกที่เป็นผลผลิตพลอยได้จากการเลี้ยงหนอนนกอีกประการได้ด้วย อย่างไรก็ตามควรมีการ

ขยายการวิจัยเพิ่มเติม เพื่อทดสอบกิจกรรมของการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจนครบวงจรชีวิต ในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูกพืช

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ได้สนับสนุนการวิจัย ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ และสถานที่ทำวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลที่ให้ความอนุเคราะห์มูลหอนอนก และมูลหอนอนกยักษ์ในการทำวิจัย ตลอดจนขอขอบคุณศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวชลบุรีที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดข้าวปทุมธานี 1 ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research* 2008;163(2):173-181.
- Amaresan N, Kumar K, Naik JH, Bapatla KG, Mishra RK. Chapter 8 - *Streptomyces* in plant growth promotion: Mechanisms and role. In: Singh BP, Gupta VK, Passari AK. (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*: Elsevier 2018:125-135.
- Boonlun S. *How to Culture Mealworms Manual*. Surattthani: Surattthani Rajabhat University; 2013.
- Chouyia FE, Fiorentino N, Roupheal Y, Ventrino V, Fechtali T, Visconti D, et al. Assessing the effect of P-solubilizing bacteria and mycorrhizal fungi on tomato yield and quality under different crop rotations. *Scientia Horticulturae* 2022;293:110740.
- Dasgupta D, Kumar K, Miglani R, Mishra R, Panda AK, Bisht SS. Chapter 1 - Microbial biofertilizers: Recent trends and Future outlook. In: De Mandal S, Passari AK. (Eds.), *Recent Advancement in Microbial Biotechnology*. Cambridge: Academic Press 2021:1-26.
- Department of Agriculture Extension. *Biofertilizer Manual*. Bangkok: Department of Agriculture Extension; 2021.
- Fielding DJ, Trainor E, Zhang M. Diet influences rates of carbon and nitrogen mineralization from decomposing grasshopper frass and cadavers. *Biology and Fertility of Soils*. 2013;49(5):537-544.
- Franco-Correa M, Chavarro-Anzola V. Actinobacteria as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. In: Dharumadurai D, Yi J, (Eds.), *Actinobacteria*. Rijeka: Intech Open; 2016.
- Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica* 2012;2012:963401.
- Gopalakrishnan S, Pande S, Sharma M, Humayun P, Kiran BK, Sandeep D, et al. Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. *Crop Protection* 2011;30(8):1070-1078.
- Gopalakrishnan S, Vadlamudi S, Bandikinda P, Sathya A, Vijayabharathi R, Rupela O, et al. Evaluation of *Streptomyces* strains isolated from herbal vermicompost for their plant growth-promotion traits in rice. *Microbiological Research* 2014;169(1):40-48.

- Goudjal Y, Toumatia O, Sabaou N, Barakate M, Mathieu F, Zitouni A. Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2013;29(10):1821-1829.
- Hall T, Biosciences I, Carlsbad C. BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences* 2011;2(1):60-61.
- Hardoim PR, van Overbeek LS, van Elsas JD. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology* 2008;16(10):463-471.
- Hazarika SN, Thakur D. Chapter 21 - Actinobacteria. In: Amaesan N, Senthil Kumar M, Annapurna K, Kumar K, Sankaranarayanan A, (Eds.), *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*: Academic Press; 2020. 443-476.
- Himaman W, Thamchaipenet A, Pathom-aree W, Duangmal K. Actinomycetes from eucalyptus and their biological activities for controlling eucalyptus leaf and shoot blight. *Microbiological Research* 2016;188-189:42-52.
- Honma M, Shimomura T. Metabolism of 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic Acid. *Agricultural and Biological Chemistry* 1978;42(10):1825-1831.
- Hopwood DA. Genetic analysis and genome structure in *Streptomyces coelicolor*. *Bacteriological Reviews* 1967;31(4):373-403.
- Houben D, Daoulas G, Faucon M-P, Dulaurent A-M. Potential use of mealworm frass as a fertilizer: Impact on crop growth and soil properties. *Scientific Reports* 2020;10(1):4659.
- Indananda C. Characterization and Identification of Novel Taxa, Plant Growth Promoting Properties and New Compound from Endophytic Actinomycetes. Doctoral Dissertation, Faculty of Science, Kasetsart University; 2013.
- Jaemsang R, Jantasuriyarat C, Thamchaipenet A. Molecular interaction of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD)-producing endophytic *Streptomyces* sp. GMKU 336 towards salt-stress resistance of *Oryza sativa* L. cv. KDML105. *Scientific Reports* 2018;8(1):1950.
- Jog R, Pandya M, Nareshkumar G, Rajkumar S. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. *Microbiology* 2014;160(4):778-788.
- Kelly KL. Inter society color council national bureau of standards color name charts illustrated with centroid colors. Washington, D.C: US government printing office; 1964.
- Kieser T, Bibb MJ, Buttner MJ, Chater KF, Hopwood DA. *Practical Streptomyces genetics*. England: John Innes Foundation; 2000.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 1980;16:111-120.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 2018;35(6):1547-1549.
- Mingma R, Duangmal K. Screening of Actinobacteria from coconut plantation soils with plant growth promotion properties. *Journal of Agriculture* 2021;37(3):337-348.

- Mishra A, Afik O, Cabrera ML, Delaplane KS, Mowrer JE. Inorganic nitrogen derived from foraging honey bees could have adaptive benefits for the plants they visit. *Plos One* 2013;8(7):e70591.
- Naik K, Mishra S, Srichandan H, Singh PK, Sarangi PK. Plant growth promoting microbes: Potential link to sustainable agriculture and environment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 2019;21: 101326.
- Pikovskaya R. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 1948;17:362-370.
- Pinkalski C, Jensen KMV, Damgaard C, Offenberg J. Foliar uptake of nitrogen from ant faecal droplets: an overlooked service to ant-plants. *Journal of Ecology* 2018;106(1):289-295.
- Poveda J, Jiménez-Gómez A, Saati-Santamaria Z, Usategui-Martín R, Rivas R, García-Fraile P. Mealworm frass as a potential biofertilizer and abiotic stress tolerance-inductor in plants. *Applied Soil Ecology* 2019;142:110-122.
- Rungin S, Indananda C, Suttiviriya P, Kruasuwan W, Jaemsaeng R, Thamchaipenet A. Plant growth enhancing effects by a siderophore-producing endophytic *Streptomyces* isolated from a Thai jasmine rice plant (*Oryza sativa* L. cv. KDML105). *Antonie Van Leeuwenhoek* 2012;102:463-472.
- Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 1987;4(4):406-425.
- Sameera B, Prakash HS, Nalini MS. Actinomycetes from the coffee plantation soils of Western Ghats: diversity and enzymatic potentials. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2018;7(8):3599-3611.
- Schwyn B, Neilands JB. Universal CAS assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 1987;160:47-56.
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* 2013;2:1-14.
- Shirling ET, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1966;16(3):313-340.
- Suriyachadkun C, Chunhametha S, Thawai C, Tamura T, Potacharoen W, Kirtikara K, et al. *Planotetraspora thailandica* sp. nov., isolated from soil in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2009;59(5):992-997.
- Talib RA, Abeid Abiess AA. Application of a rapid method for gram differentiation of human pathogenic and non-pathogenic bacteria without staining. *Indian Journal of Public Health Research & Development* 2019;10(4):1673-1675.
- Teaumroong N, Boonkerd N. Iron element, siderophores and microbes. *Suranaree Journal Science and Technology* 1996;3:95-100.
- Xiang S-H, Li J, Yin H, Zheng J-T, Yang X, Wang H-B, et al. Application of a double-reporter-guided mutant selection method to improve clavulanic acid production in *Streptomyces clavuligerus*. *Metabolic Engineering* 2009;11(4):310-318.