

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Spirodela polyrhiza* ด้วยแอคติโนแบคทีเรียที่แยกจากแหนเป็ด

Growth promotion of *Spirodela polyrhiza* using actinobacteria isolated from duckweed

พีรญา บุญชู^a, กรรณิการ์ ดวงมาลัย^{a,b,*}

^aภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

^bศูนย์วิจัยทรัพยากรน้ำและสิ่งแวดล้อมเพื่ออนาคต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

การศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียที่แยกมาจากร่วมกับแหนเป็ด จำนวน 97 ไอโซเลตในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่งร่วมกับ *Spirodela polyrhiza* DKU2002 ปลูกเชื้อในอาหาร modified Hoagland พบว่า 90 ไอโซเลตส่งผลให้แหนเป็ดมีจำนวนฟรอนด์เพิ่มขึ้น ขณะที่ 7 ไอโซเลตส่งผลให้แหนเป็ดมีจำนวนฟรอนด์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยไอโซเลต DW16H6, DW18-4, DW29H4 และ DW29H34 ส่งเสริมให้แหนเป็ดมีจำนวนฟรอนด์เพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ในช่วง 1.37 ถึง 1.46 เท่า ซึ่งไอโซเลตเหล่านี้สามารถสร้างสารไซโตโครฟอริน สารประกอบอินโดล และมีความสามารถละลายฟอสเฟตได้ จากการเพาะเลี้ยงแหนเป็ดร่วมกับแอคติโนแบคทีเรียทั้งแบบเชื้อเดี่ยวและแบบสองเชื้อ พบว่าการเพาะเลี้ยงแหนเป็ดร่วมกับเชื้อเดี่ยว สามารถส่งเสริมให้แหนเป็ดมีจำนวนฟรอนด์ น้ำหนักแห้ง และค่าผลต่อการเจริญเติบโตของพืช (EPG) เพิ่มมากกว่าการเพาะเลี้ยงแหนเป็ดร่วมกับสองเชื้อ

A total of 97 duckweed-associated actinobacterial strains were evaluated for their effects on duckweed growth by co-cultivation with axenic *Spirodela polyrhiza* DKU2002 in modified Hoagland medium. The results showed that 90 isolates increased the duckweed frond number, whereas seven isolates decreased the frond number compared with the control. Among these, isolates DW16H6, DW18-4, DW29H4, and DW29H34 exhibited the highest growth-promoting potential, increasing frond numbers by 1.37–1.46-fold. These isolates were capable of producing siderophores and indole compounds and exhibited phosphate-solubilizing activity. Co-cultivation with duckweed using single and co-inoculation revealed that single inoculation resulted in greater increases in frond number, dry weight, and effect on plant growth (EPG) values than co-inoculation.

บทนำ

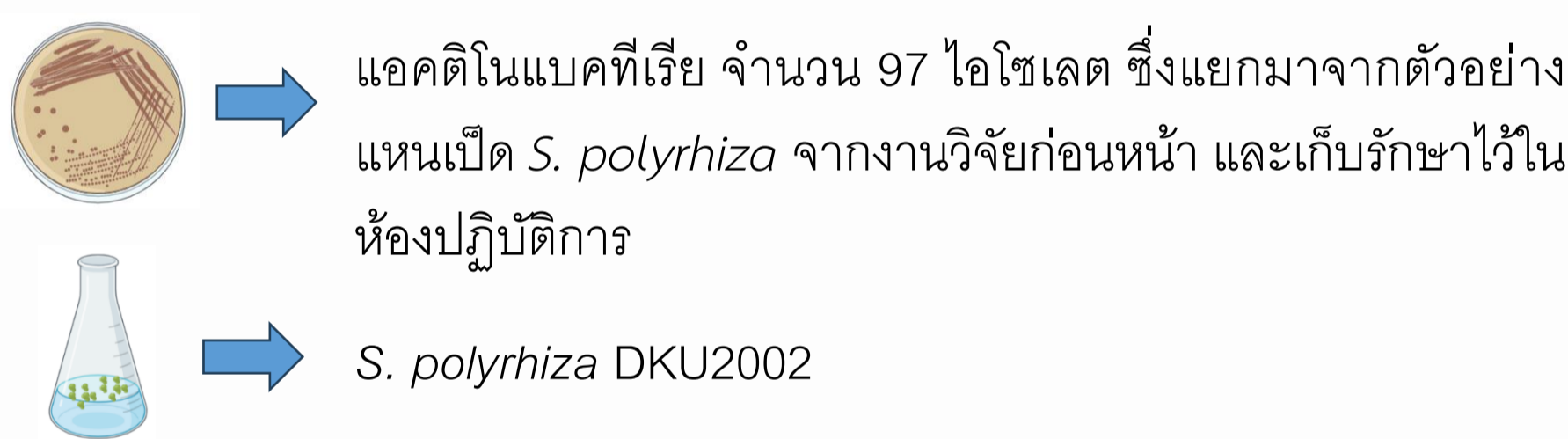
แอคติโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบได้ทั้งในระบบนิเวศทางบกและทางน้ำ และมีรายงานการนำมาใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสามารถผลิตฮอร์โมนพืช เช่น กรดอินโดล-3-แอซิดิก สร้างไซโตโครฟอริน ละลายฟอสเฟตและโพแทสเซียม รวมถึงผลิตสารเมแทบอลิไทต์ที่สำคัญต่าง ๆ

แหนเป็ด โดยเฉพาะ *Spirodela polyrhiza* เป็นพืชลอยน้ำที่เจริญเติบโตเร็ว ให้ชีวมวล โปรตีน และแป้งสูง จึงมีศักยภาพในการใช้เป็นอาหารสัตว์ ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ และบำบัดน้ำเสีย แบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับแหนเป็ดมีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มชีวมวลและประสิทธิภาพการเจริญ (Boonmak et al., 2023)

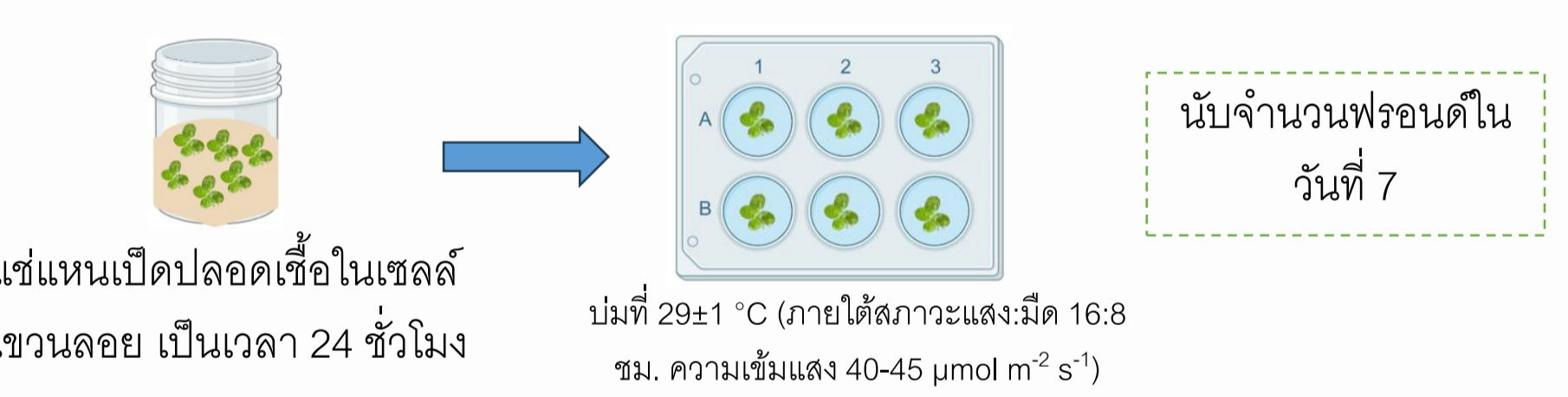
อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการศึกษาผลของแอคติโนแบคทีเรียที่แยกจากแหนเป็ดต่อการเจริญของ *S. polyrhiza* ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญของแหนเป็ดทั้งแบบเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม เพื่อการประยุกต์ใช้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

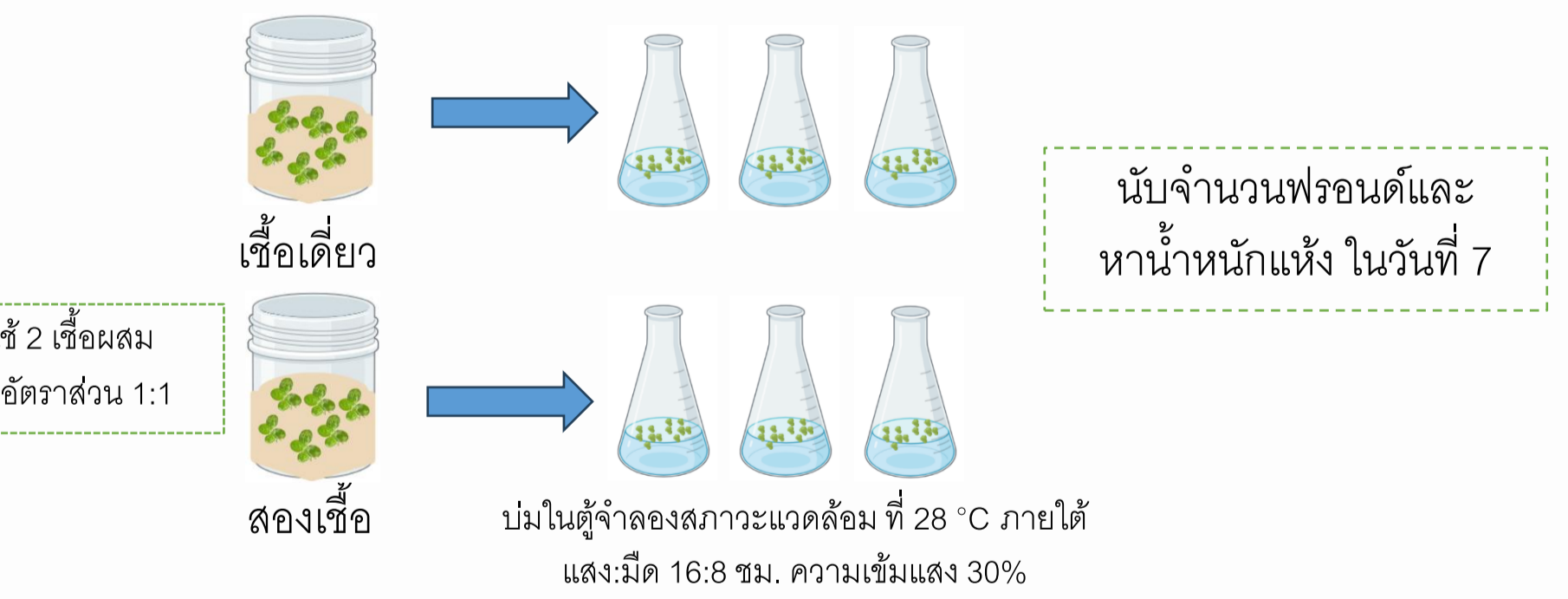
1. แอคติโนแบคทีเรียและแหนเป็ด *S. polyrhiza* ที่ใช้ในการศึกษา



2. การศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ด



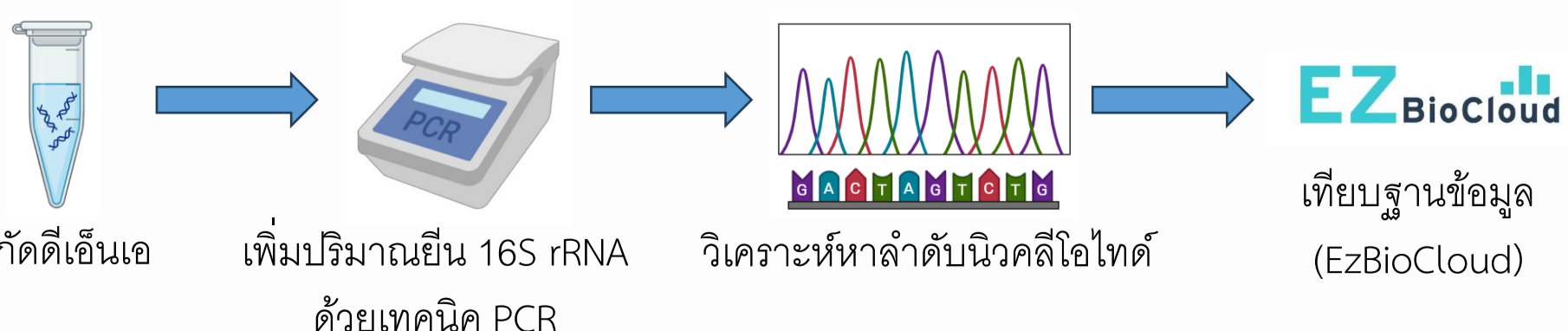
3. การศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วต่อการเจริญเติบโตของแหนเป็ด เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยเชื้อเดี่ยวและสองเชื้อพร้อมกัน



4. การศึกษาคุณสมบัติในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของแอคติโนแบคทีเรีย



5. การระบุยีนส์แอคติโนแบคทีเรียด้วยการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA



ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ด

เมื่อประเมินค่าผลต่อการเจริญเติบโตของพืช (EPG) ซึ่งคำนวณจากค่าเฉลี่ยของจำนวนฟรอนด์ พบว่ามีค่าตั้งแต่ -6.42 ถึง 46.39 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลตส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม moderate PGPB (32 ไอโซเลต) และ weak PGPB (45 ไอโซเลต) ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ด ขณะที่ 13 ไอโซเลตอยู่ในกลุ่ม non-influent bacteria ซึ่งไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแหนเป็ด และมีเพียง 5 และ 2 ไอโซเลตที่อยู่ในกลุ่ม weak PGIB และ moderate PGIB ตามลำดับ



ไอโซเลตที่สามารถส่งผลให้แหนเป็ดมีจำนวนฟรอนด์เพิ่มขึ้นมากที่สุด ได้แก่ DW18-4, DW29H4, DW16H6 และ DW29H34 โดยเพิ่มขึ้น 1.46, 1.46, 1.40 และ 1.37 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

Fig. 1 Groups of bacteria based on EPG values of duckweed-associated actinobacteria on *S. polyrhiza* DKU2002 after co-cultivation in modified Hoagland medium for 7 days. PGIB; plant growth-inhibiting bacteria, PGPB; plant growth-promoting bacteria

การศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วต่อการเจริญเติบโตของแหนเป็ด *S. polyrhiza* DKU2002 เมื่อเพาะเลี้ยงแบบเชื้อเดี่ยวและแบบสองเชื้อพร้อมกัน

Table 1 Frond number, dry weight and EPG values of *S. polyrhiza* DKU2002 co-cultivated with actinobacteria for 7 days.

Treatment	Isolate	Frond number	Fold	Dry weight (mg)	Fold	EPG (%) (dry weight)
Single inoculation	DW16H6	64.33±0.67 ^a	1.54	22.50±0.55 ^a	1.39	38.89±4.19
	DW18-4	48.00±1.00 ^{cde}	1.15	18.43±1.20 ^{cd}	1.14	13.79±7.81
	DW29H4	56.33±1.45 ^b	1.35	21.30±0.75 ^{ab}	1.31	31.48±5.25
	DW29H34	51.00±1.15 ^{bcd}	1.22	22.13±0.64 ^a	1.37	36.63±4.66
	Control		41.67±2.85 ^e		16.20±0.40 ^e	
Co-inoculation	DW16H6+DW29H34	54.00±1.73 ^{bc}	1.30	20.40±1.14 ^{abc}	1.26	25.93±7.46
	DW18-4+DW29H4	55.00±4.62 ^{bc}	1.32	19.43±0.72 ^{bcd}	1.20	19.96±5.08
	DW18-4+DW29H34	43.33±1.20 ^{de}	1.04	15.93±0.62 ^e	0.98	-1.65±4.55
	DW29H4+DW29H34	49.33±3.93 ^{bcdde}	1.18	18.03±0.71 ^{de}	1.11	11.32±5.03

การศึกษาความสามารถของแอคติโนแบคทีเรียในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA เพื่อระบุยีนส์ของแอคติโนแบคทีเรีย

Table 2 Plant growth-promoting properties and identification based on 16S rRNA gene sequences of the selected actinobacterial strains.

Isolate	Closest type strain (% similarity)	Siderophore production ^a	Phosphate solubilization ^a	Indole compounds (μg/ml)
DW16H6	<i>Micromonospora oryzae</i> (99.85%)	2.64	1.10	11.76
DW18-4	<i>Streptomyces albidoflavus</i> (99.34%)	2.88	1.34	10.74
DW29H4	<i>Streptomyces daghestanicus</i> (99.72%)	2.68	1.22	13.21
DW29H34	<i>Krasilnikoviella muralis</i> (99.85%)	1.82	1.16	148.28

สรุป

จากการศึกษาแอคติโนแบคทีเรีย 97 ไอโซเลตต่อการเจริญเติบโตของแหนเป็ด *S. polyrhiza* DKU2002 พบว่ามีทั้งกลุ่มที่ส่งเสริม ยับยั้ง และไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแหนเป็ด โดยไอโซเลต DW16H6, DW18-4, DW29H4 และ DW29H34 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ดได้ดีที่สุด เมื่อนำมาไอโซเลตที่คัดเลือกนี้มาศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ดร่วมกัน พบว่าการใช้เชื้อเดี่ยวมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้สองเชื้อ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นศักยภาพของแอคติโนแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหนเป็ดที่จะนำไปพัฒนาเป็นหัวเชื้อสำหรับเพิ่มการผลิตชีวมวลของแหนเป็ดในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณการสนับสนุนจาก Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS), JICA

เอกสารอ้างอิง

Boonmak, C., Kettongruang, S., Buranathong, B., Morikawa, M., Duangmal, K. 2023. Duckweed-associated bacteria as plant growth-promotor to enhance growth of *Spirodela polyrhiza* in wastewater effluent from a poultry farm. Arch. Microbiol. 206: 43. doi.org/10.1007/s00203-023-03778-4