

# การคัดเลือกแอกติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

## Screening of Actinobacteria from Coconut Plantation Soils with Plant Growth Promotion Properties

รัชณี มิ่งมา<sup>1\*</sup> และ กรรณิการ์ ดวงมัลย์<sup>2</sup>  
Ratchanee Mingma<sup>1</sup> and Kannika Duangmal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University,  
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

<sup>2</sup>ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>2</sup>Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

\*Corresponding author: Email: faasmm@ku.ac.th

(Received: 18 March 2021; Accepted: 25 May 2021)

**Abstract:** Coconut is an important economic crop in Thailand. In addition to the soil organic matter, microorganisms living in soil also play an important role in plant growth promotion by enhancing mineral absorption and controlling plant - pathogenic microorganisms. The aims of this study were to isolate actinobacteria from aromatic (Nam - Hom) coconut plantation soil and investigated their plant growth promotion properties. The results showed that a total of 38 actinobacteria were obtained from the coconut plantation soil of Pran Buri, Prachuap Khiri Khan (20 isolates) and Bang Khonthi, Samut Songkhram (18 isolates). All isolates were screened for plant growth promotion properties. The results revealed that 10 isolates were found to solubilize phosphate, 25 and 17 isolates showed siderophore and indole acetic acid production, respectively. Furthermore, actinobacteria 18 and 19 isolates could produce enzyme degrade cellulose and chitin on tested - medium, respectively. Isolates R17 - 116, R17 - 210 and R17 - 208 showed high potentials of plant growth promotion features. They could convert insoluble phosphorus into soluble forms that can easily be assimilated by plants. Furthermore, they could produce siderophore which is an iron - bound substance capturing iron from soil and could produce indole acetic acid, plant hormone of auxin class. These 3 isolates will be selected for further study and for application in agriculture.

**Keywords:** Actinobacteria, plant growth promotion, coconut plantation soil

**บทคัดย่อ:** มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ดินที่ใช้ปลูกนอกจากจะต้องมีอินทรีย์วัตถุที่สมบูรณ์แล้ว จุลินทรีย์ในดินยังมีบทบาทสำคัญที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุและป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว และศึกษาคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผลการทดลองพบว่าสามารถแยกแอคติโนแบคทีเรียได้ทั้งสิ้น 38 ไอโซเลตจากดินสวนมะพร้าวน้ำหอม อำเภอปรางค์บุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (20 ไอโซเลต) และอำเภอบางคนที่ จังหวัดสมุทรสงคราม (18 ไอโซเลต) เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช พบว่ามี 10 ไอโซเลตสามารถละลายฟอสเฟตได้ 25 และ 17 ไอโซเลต สามารถสร้างไซโตโครฟอรและผลิตภัณฑ์อินโดลอะซิติกได้ ตามลำดับ นอกจากนี้ มี 18 และ 19 ไอโซเลต สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสและไคตินบนอาหารทดสอบได้ ตามลำดับ โดยไอโซเลต R17-116, R17-210 และ R17-208 มีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชได้ดีที่สุด สามารถเปลี่ยนรูปฟอสเฟตจากรูปที่ไม่ละลายน้ำไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำ ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ง่าย นอกจากนี้ยังสามารถสร้างไซโตโครฟอรซึ่งเป็นสารที่ช่วยดักจับธาตุเหล็กในดิน และสามารถสร้างกรดอินโดลอะซิติกซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน แอคติโนแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต จะถูกคัดเลือกเพื่อนำมาศึกษาต่อและนำไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตรต่อไป

**คำสำคัญ:** แอคติโนแบคทีเรีย การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดินสวนมะพร้าว

## คำนำ

แอคติโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณเบสกวานีนและไฮโทซีนสูง มีการเจริญโดยการสร้างเส้นใย (hyphae) คล้ายเชื้อรา แอคติโนแบคทีเรียพบได้ทั่วไปในดิน มีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุและเป็นที่รู้จักกันดีว่าสามารถผลิตสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีปริมาณคิดเป็น 65 - 70 % ของสารเมแทบอลิต์ทั้งหมดที่ผลิตจากจุลินทรีย์ (Bérday, 2005) สารเมแทบอลิต์ดังกล่าว ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งทางการแพทย์ การเกษตรและทางอุตสาหกรรม เช่น ใช้ผลิตยาปฏิชีวนะ ผลิตสารต้านมะเร็ง สารกัมมคุ้มกัน สารต้านจุลินทรีย์ ผลิตเอนไซม์ (Salwan and Sharma, 2020) เป็นต้น อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการผลิตเอนไซม์และกรดอินทรีย์บางชนิดที่ช่วยเปลี่ยนรูปแร่ธาตุในดินให้อยู่ในรูปที่พืชดูดซึมไปใช้ได้ แอคติโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) นำมาใช้เป็นป้องกันและควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพืชได้ (Olanrewaju and Babalola, 2019)

มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยเฉพาะมะพร้าวน้ำหอมซึ่งเป็นที่

ต้องการของตลาดสูงและมีแนวโน้มในการส่งออกเพิ่มขึ้น จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม ราชบุรี และนครปฐม ถือว่าเป็นแหล่งผลิตมะพร้าวน้ำหอมที่สำคัญของไทย การปลูกมะพร้าวานิยมทำแปลงปลูก 2 แบบ คือแบบยกทรง (พื้นที่ลุ่ม) และแบบพื้นราบ (พื้นที่ดอน) ดินที่ใช้ปลูกมีปริมาณอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารที่เหมาะสม จุลินทรีย์ในดินมีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนธาตุอาหารที่พืชดูดไปใช้ไม่ได้ให้มาอยู่ในรูปที่พืชสามารถดูดซึมไปเป็นอาหารได้ รวมถึงย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นสารอาหารให้แก่พืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ตัวอย่างเช่น *Azospirillum brasilense*, *Bacillus* spp., *Beijerinckia indica*, *Pseudomonas* spp., *Azoarcus*, *Arthrobacter* เป็นต้น ซึ่งแยกได้จากดินรอบรากมะพร้าว มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ละลายฟอสฟอรัสและแร่ธาตุต่างๆ ในดินให้เป็นประโยชน์ต่อพืช (Gupta et al., 2016) การศึกษาแอคติโนแบคทีเรียในดินสวนมะพร้าวยังมีไม่มากนัก การค้นหาแอคติโนแบคทีเรียจากแหล่งที่ยังไม่เคยมีการศึกษาอาจนำไปสู่การค้นพบจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติดีและเป็นประโยชน์ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและคัดเลือกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว และนำมาทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ได้แก่ การละลายฟอสเฟต การสร้างไซโตโครโครม  
การสร้างกรดอินโดลอะซิติก และการย่อยไคติน โดย  
แอคติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเหล่านี้จะถูกคัดเลือก  
เพื่อนำไปทำวิจัยต่อยอดที่อาจเป็นประโยชน์ในทาง  
การเกษตรต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ดิน

เก็บตัวอย่างดินจากสวนมะพร้าว 2 พื้นที่  
คือ สวนมะพร้าวน้ำหอม อำเภอปรานบุรี จังหวัด  
ประจวบคีรีขันธ์ (12.381320, 99.940832) ซึ่งทำแปลง  
ปลูกแบบพื้นราบ (Figure 1a) ดินมีลักษณะร่วนซุย  
สีน้ำตาลอ่อน และสวนมะพร้าวน้ำหอม อำเภอบางคนที  
จังหวัดสมุทรสงคราม (13.491559, 100.015436) ซึ่ง  
ทำแปลงปลูกแบบยกร่อง (Figure 1b) ดินมีลักษณะ  
เหนียว สีน้ำตาลเข้มถึงดำ เก็บตัวอย่างดินพื้นที่ละ  
10 จุด ปาดผิวหน้าดินด้านบนออก ขุดดินที่ระดับความลึก  
ไม่เกิน 15 เซนติเมตร นำตัวอย่างดินทั้ง 10 จุดมาผสม  
ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ฝังให้แห้งในที่ร่ม เป็นเวลา 1  
สัปดาห์ จากนั้นแบ่งตัวอย่างดิน 500 กรัม ส่งวิเคราะห์  
ดินทางกายภาพและทางเคมีที่ภาควิชาปฐพีวิทยา  
คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

### 2. การศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในดินและ การแยกแอคติโนแบคทีเรีย

นำตัวอย่างดินที่ผ่านการฝังแห้งในที่ร่ม เป็น  
เวลา 1 สัปดาห์ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อให้มี  
ค่าความเจือจางเท่ากับ  $10^{-3}$  ถึง  $10^{-5}$  ดูดสารแขวนลอย  
ดินในแต่ละความเจือจางปริมาตร 100 ไมโครลิตร  
เกลี่ยลงบนจานอาหาร nutrient agar บ่มจานอาหาร  
เป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียทั้งหมดที่  
เจริญบนอาหาร การแยกแอคติโนแบคทีเรีย เกลี่ย  
ตัวอย่างดินบนผิวหน้าอาหาร starch-casein (SC)  
agar (Küster and Williams, 1964) ที่เติมยาปฏิชีวนะ  
nalidixic acid 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ  
ketoconazole 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มจาน  
เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 14 วัน ตรวจดู  
การเจริญของโคโลนีแอคติโนแบคทีเรียหลังบ่มผ่าน  
ไป 7 วัน เชียโคโลนีแอคติโนแบคทีเรียมาทำให้บริสุทธิ์  
บนอาหาร International *Streptomyces* Project (ISP)  
- 2 (Shirling and Gottlieb, 1966) โดยวิธี cross streak  
ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ สีสปอร์ สี  
เส้นใยอาหาร และสีรงควัตถุ เก็บเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้บน  
อาหารผิวเยี่ยง ISP - 2 ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บสปอร์  
และเส้นใยในสารละลาย 20 % (w/v) กลีเซอรอล ที่  
อุณหภูมิ -20 °C สำหรับการเก็บรักษาในระยะยาว

### 3. การศึกษาความสามารถในการละลายฟอสเฟต

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP - 2  
บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork  
borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะโคโล-  
นีแอคติโนแบคทีเรีย นำมาวางบนอาหารทดสอบ



Figure 1. Coconut plantation at Pran Buri, Prachuap Khiri Khan (a) and Bang Khonthi, Samut Songkhram (b)

Pikovskaya's (PVK) medium (Pikovskaya, 1948) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ บ่มจานอาหารในที่มืด เป็นเวลา 14 วัน แอคติโนแบคทีเรียที่มีวงใสรอบโคโลนีแสดงว่าสามารถละลายฟอสเฟตได้ บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสนำมาลบกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีในหน่วยมิลลิเมตร

#### 4. การทดสอบความสามารถในการสร้างไซโตเดอรโรฟอรัส

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP - 2 บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนโคโลนีแอคติโนแบคทีเรีย นำไปวางบนอาหารทดสอบ chrome azurol sulfonate (CAS) agar (Schwyn and Neilands, 1987) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5 วัน แอคติโนแบคทีเรียที่สร้างไซโตเดอรโรฟอรัสได้จะเกิดโซนสีส้มรอบโคโลนี ตรวจผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนส้มในหน่วยมิลลิเมตร

#### 5. การสร้างกรดอินโดลอะซิติก

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP - 2 เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะโคโลนีแอคติโนแบคทีเรียจำนวน 2 ชิ้นใส่หลอดทดลองที่มีอาหารเหลว glucose yeast extract (GYE) ปริมาตร 5 มิลลิเมตร ที่เติมทริปโตเฟน 0.2 % (w/v) บ่มแบบเขย่าในที่มืด ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเซลล์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนปริมาตร 2 มิลลิตร ผสมกับสารละลาย Salkowski's reagent (Gordon and Weber, 1951) ปริมาตร 1 มิลลิเมตร บ่มอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืดเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่ามีการสร้างกรดอินโดลอะซิติก นำตัวอย่างสารละลายที่เปลี่ยนเป็นสีชมพูไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดปริมาณการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) คำนวณความเข้มข้นของกรดอินโดลอะซิติก โดยเปรียบเทียบกับกราฟสารละลาย

มาตรฐานของกรดอินโดลอะซิติก ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

#### 6. การทดสอบความสามารถในการย่อยไคติน

ทดสอบการย่อยไคตินโดยเลี้ยงแอคติโนแบคทีเรีย บนอาหาร chitin agar (Sato *et al.*, 2009) โดยใช้เทคนิคการจุดเชื้อ (point inoculation) บ่มจานอาหารทดสอบที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 14 วัน ตรวจดูการเกิดโซนใสรอบโคโลนี แสดงว่าสามารถย่อยไคตินได้ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส และคำนวณค่า hydrolysis capacity (HC) ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี

$$\text{Hydrolysis capacity (HC)} = \frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส}}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี}}$$

### ผลการศึกษาและวิจารณ์

#### 1. การวิเคราะห์ดิน

ผลการวิเคราะห์ดินทางกายภาพและทางเคมี พบว่า ดินจากสวนมะพร้าว อำเภอปรางบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งทำแปลงปลูกแบบพื้นราบ มีลักษณะเป็นดินเหนียวปนทรายแป้ง ค่า pH เป็นด่างปานกลาง (8.28) มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในระดับปานกลาง และมีปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในปริมาณสูง - สูงมาก ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) เท่ากับ 4.76 ซึ่งจัดอยู่ในระดับเค็มปานกลาง ในขณะที่ดินสวนมะพร้าว อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม ซึ่งเป็นแปลงปลูกแบบยกทรง มีน้ำตลอดปี ดินเป็นดินเหนียว มีค่า pH เป็นด่างเล็กน้อย (7.49) มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินสูงกว่าดินจากสวนมะพร้าว อำเภอปรางบุรี รวมทั้งมีปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมในปริมาณสูง - สูงมาก ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 6.11 ซึ่งจัดอยู่ในระดับเค็มปานกลาง (Table 1) ค่าการนำไฟฟ้าของดินเป็นค่าที่เกี่ยวข้องกับปริมาณเกลือที่ละลายได้ (soluble salts) ในดิน เช่น แคลเซียม (Ca<sup>2+</sup>) โซเดียม (Na<sup>+</sup>) และแมกนีเซียม (Mg<sup>2+</sup>)

ดินจากแปลงปลูกแบบยกร่อง ซึ่งมีน้ำขังท้องร่องตลอดปี  
น้ำมีส่วนช่วยในการละลายและการแพร่กระจายของเกลือ  
(Yan *et al.*, 2015) จึงมีผลทำให้ดินมีค่าความเข้มข้นของ  
เกลือที่ละลายได้สูงกว่าดินจากแปลงปลูกแบบพื้นราบ

## 2. การศึกษาปริมาณแบคทีเรียและการแยกแอสคิติน แบคทีเรีย

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างดิน  
สวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์  
และ อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม พบว่า มี  
จำนวนแบคทีเรียเท่ากับ  $5.4 \times 10^6$  CFUต่อกรัม และ  $7.7 \times 10^6$  CFUต่อกรัม ตามลำดับ จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า  
จำนวนแบคทีเรียที่พบในดินส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในช่วง  
 $2.44 \times 10^6$  ถึง  $2.14 \times 10^7$  CFUต่อกรัม (Zhao *et al.*,  
2018) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียในดินทั้ง 2  
แหล่ง พบว่า ดินจากสวนมะพร้าวที่ทำแปลงปลูกแบบ  
ยกร่องแม้มีปริมาณอินทรีย์วัตถุสูงกว่าแต่พบว่า มีจำนวน  
แบคทีเรียน้อยกว่า เนื่องจากดินจากแปลงปลูกแบบยก  
ร่องมีลักษณะเป็นดินเหนียว (มีอนุภาคดินเหนียว  
60.16 % และอนุภาคทรายแป้ง 26.99 %) มีน้ำท่วมขังใน  
ท้องร่องตลอดปี ทำให้มีปริมาณออกซิเจนในดินต่ำและ

ส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียในดิน (Eccles *et al.*, 1990)  
ออกซิเจนจำเป็นต่อกระบวนการหายใจระดับเซลล์ของ  
แบคทีเรีย ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายของ  
กระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน นอกจากนี้ ค่าการนำ  
ไฟฟ้าของดิน (EC) ยังมีผลต่อจำนวนแบคทีเรียในดิน  
เช่นเดียวกัน จากงานวิจัยนี้พบว่าดินที่มีค่าการนำไฟฟ้า  
ต่ำ (ดินจากแปลงปลูกแบบพื้นราบ) พบจำนวนแบคทีเรีย  
สูงกว่าดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าสูง (ดินจากแปลงปลูก  
แบบยกร่อง) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ghorbani-  
Nasrabadi *et al.* (2013) พบว่า ในดินทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์  
ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าของดิน (17.5 dS/m) สูงกว่าดิน  
บริเวณที่มีฝนตกชุก (7.1 dS/m) ดินเพาะปลูก (1.5 dS/m)  
และดินป่า (1.2 dS/m) พบจำนวนแบคทีเรียในดินน้อย  
กว่า (เท่ากับ  $0.7, 1.58, 2.87$  และ  $2.08 \times 10^6$  CFUต่อ  
กรัม ตามลำดับ) เมื่อค่าการนำไฟฟ้าของดินสูงขึ้นจำนวน  
แบคทีเรียในดินจะลดลง โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่ไว  
ต่อความเข้มข้นเกลือสูง ดินที่มีปริมาณเกลือที่ละลาย  
ได้สูง จะทำให้ค่าแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure)  
ของน้ำในดินเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ศักย์ของน้ำในดิน (water  
potential) ลดลง มีผลทำให้น้ำในเซลล์ถูกดึงออกและ  
ทำให้เซลล์แบคทีเรียตาย (Yan *et al.*, 2015)

Table 1. Analysis of the physical and chemical properties of soil

Analysis	Sample <sup>a</sup>	
	Soil A	Soil B
Texture	Silty Clay	Clay
(Sand; %)	12.41	12.85
(Silt; %)	46.37	26.99
(Clay; %)	41.22	60.16
pH (Soil:H <sub>2</sub> O (1:1))	8.28	7.49
Electrical conductivity (dS/m)	4.76	6.11
Organic matter (%)	2.21	5.09
Available phosphorus (mg/kg)	555.99	311.63
Exchangeable potassium (mg/kg)	496.82	884.88
Exchangeable calcium (mg/kg)	2,220.36	4,118.44
Exchangeable magnesium (mg/kg)	1,032.83	1,521.91

<sup>a</sup> Soil A: collected from Pran Buri, Prachuap Khiri Khan; Soil B: collected from Bang Khonthi, Samut Songkhram

ตัวอย่างดินที่ความเค็มจาง  $10^{-4}$  เป็นความเค็มจางที่เหมาะสมในการแยกและนับจำนวนแอกติโนแบคทีเรียในตัวอย่างดินทั้งสอง พบว่า แอกติโนแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร SC โคโลนีมีลักษณะเล็ก แข็งและฝังแน่นในเนื้อวุ้น โคโลนีส่วนใหญ่มีสีน้ำตาล สีส้ม และสีครีม พบการสร้างสปอร์สีขาวและสีเทาที่มีลักษณะคล้ายผงแป้งบนผิวหน้าโคโลนี (Figure 2) ทำการแยกแอกติโนแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันได้ทั้งสิ้น 38 ไอโซเลต จากดินสวนมะพร้าว อำเภอปรางบุรี จำนวน 20 ไอโซเลต ให้รหัสเชื้อ RM17 - 101 ถึง RM17 - 121 และจากดินสวนมะพร้าว อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 18 ไอโซเลต ให้รหัสเชื้อ RM17 - 201 ถึง RM17 - 222 จากแอกติโนแบคทีเรีย 38 ไอโซเลต สามารถจัดกลุ่มตามสปีชีส์บนอาหาร ISP - 2 ได้ทั้งสิ้น 5 กลุ่มส่วนใหญ่สร้างสปอร์สีขาว (36.8 %) รองลงมาคือสีเทา (26.3 %) สีเส้นใยอาหารส่วนใหญ่เป็นสีเหลือง - น้ำตาล (73.7 %) มีเพียง 11 ไอโซเลต (28.9 %) สร้างรงควัตถุสีเหลือง (Table 2)

### 3. การศึกษาคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

#### 3.1 ความสามารถในการละลายฟอสเฟต

ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหาร PVK ที่มีอินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของแคลเซียมฟอสเฟต ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) ที่ไม่ละลายน้ำ พบว่า จากแอกติโนแบคทีเรียทั้งหมด 38 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบ มีเพียง 9 ไอโซเลต (23.6 %) มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตเปลี่ยนรูปอินทรีย์ฟอสเฟตซึ่งเป็นรูปที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปไดและโมโนเบสิกฟอสเฟต ( $\text{HPO}_4^{2-}$  และ  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) ที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ สังเกตได้จากการการเกิดวงใสรอบโคโลนี (Figure 3a) จากการทดลองพบว่า ไอโซเลต RM17-220 ละลายฟอสเฟต ได้ดีที่สุด มีขนาดความกว้างวงใสเท่ากับ 11.5 มิลลิเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลต R17 - 208 (8.5 มิลลิเมตร) และ R17 - 116 (7.5 มิลลิเมตร) ตามลำดับ ทั้งนี้ ผลการละลายฟอสเฟตของแอกติโนแบคทีเรียที่แยกได้ถือว่าอยู่ในระดับไม่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Chaiham *et al.* (2018) ได้ทำการแยกแอกติโนแบคทีเรียและแอกติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตจำนวน 320 ไอโซเลต จากดินรอบรากพืชพบว่า มีความกว้างของวงใสบนอาหาร PVK 13.3 - 63 มิลลิเมตร แแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินให้สูงขึ้น ดินทั่วไปมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในสารละลายดินอยู่ในช่วง 0.031 - 3.1



Figure 2. Actinobacterial colonies growing on starch casein agar, supplemented with ketoconazole (100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) and nalidixic acid (25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) and incubated at 30 °C for 14 days

Table 2. Color grouping of actinobacteria isolated from coconut plantation soils on ISP - 2 medium at 30 °C for 14 days

Color of spore	Color of substrate mycelium	Diffusible pigments	Number of isolates	Isolates
Gray	Yellowish brown	ND	4	R17-101, R17-108, R17-116, R17-207
	Yellowish brown	Yellow	3	R17-110, R17-201, R17-221
	Yellow	Yellow	1	R17-220
	Yellow	ND	2	R17-118, R17-217
Yellow	Yellow	ND	5	R17-109, R17-119, R17-203, R17-210, R17-222
	Yellow	Yellow	1	R17-203
White	Yellow	ND	6	R17-102, R17-105, R17-114, R17-121, R17-202, R17-209
	Yellow	Yellow	5	R17-205, R17-208, R17-211, R17-215, R17-216
	Blackish violet	ND	1	R17-111
	Brown	ND	1	R17-218
	Cream	ND	1	R17-117
Orange	Orange	ND	4	R17-103, R17-120, R17-206, R17-213
Brown	Brown	Yellow	1	R17-113
	Brown	ND	2	R17-104, R17-107
	Yellow	ND	1	R17-106

ND : Not detectable

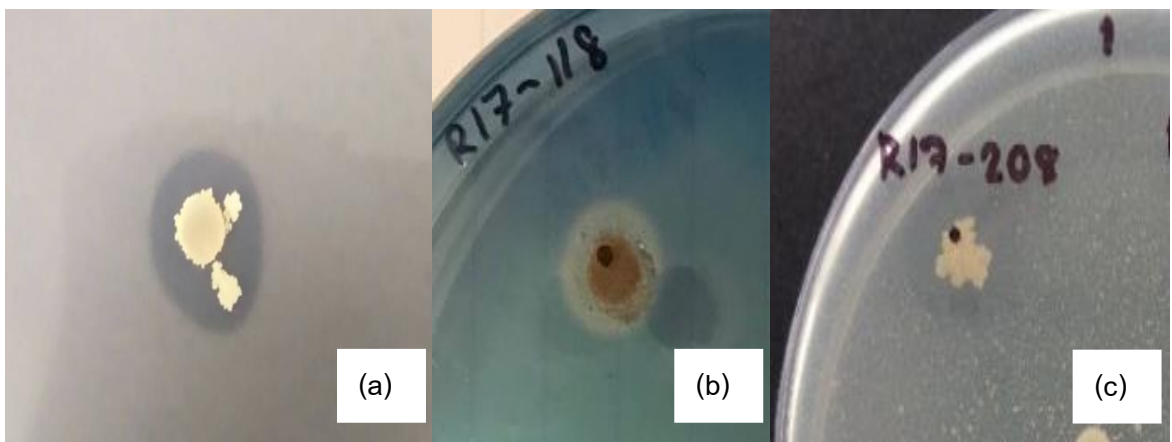


Figure 3. Phosphate solubilizing (isolate R17 - 118) (a), siderophore producing (b) and chitin degradation (c) of actinobacteria

มิลลิกรัมต่อลิตร (Syers *et al.*, 2008) จากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินทั้ง 2 แหล่ง พบว่า มีค่าอยู่ในระดับสูง - สูงมาก (555.99 และ 311.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ซึ่งกิจกรรมการละลายฟอสเฟตยังสามารถพบได้ในแบคทีเรียกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่แอกติโนแบคทีเรีย โดยเฉพาะสกุล *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azotobacter* และ *Rhizobium* (Alori *et al.*, 2017)

กลไกในการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์กับพืช เกิดจากจุลินทรีย์สร้างกรดอินทรีย์ (organic acid) ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดออกซาลิก (oxalic acid) กรดมาลิก (malic acid) กรดกลูโคนิก (gluconic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) และเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) (Vyas and Gulati, 2009) ละลายเกลือฟอสเฟต เป็นการเพิ่มฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และพืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ดียิ่งขึ้น (Alori *et al.*, 2017) ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช หากพืชขาดฟอสฟอรัสจะทำให้แคระแกร็น และการเจริญหยุดชะงัก แอกติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตสามารถนำไปใช้ด้านการเกษตร มีรายงานว่าช่วยเพิ่มชีวมวลต้นข้าวสาลีและเพิ่มการดูดซึมธาตุอาหาร (Jog *et al.*, 2014) และแก้ปัญหาดินขาดธาตุฟอสฟอรัสได้ (Sharma *et al.*, 2013)

### 3.2 การสร้างไซเดอร์โรฟอรัส

จากการทดสอบการสร้างไซเดอร์โรฟอรัสบนอาหาร CAS พบว่า มีแอกติโนแบคทีเรียจำนวน 25 ไอโซเลต (65.8 %) เกิดโซนสีส้มรอบโคโลนี แสดงถึงความสามารถในการสร้างไซเดอร์โรฟอรัส (Figure 3b) เมื่อวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนพบว่า สร้างปริมาณไม่มาก โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 10 มิลลิเมตร เท่านั้น ไอโซเลตที่สร้างไซเดอร์โรฟอรัสมากที่สุด คือ R17-118 และ R17-211 มีขนาดโซนกว้างเท่ากัน 10 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Himaman *et al.* (2016) แยกแอกติโนแบคทีเรียจำนวน 477 ไอโซเลต จากตัวอย่างดิน พบว่ามีจำนวน 464 ไอโซเลต สามารถสร้างไซเดอร์โรฟอรัสได้ โดยในจำนวนนี้ 33 % (153 ไอโซเลต) เกิดโซน

สีส้มรอบโคโลนี มีขนาดความกว้างมากกว่า 20 มิลลิเมตร

ไซเดอร์โรฟอรัสเป็นสารที่แบคทีเรียสร้างขึ้นเพื่อดักจับธาตุเหล็กในดินก่อนจะนำเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โดยธาตุเหล็กทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม นอกจากนี้ ไซเดอร์โรฟอรัสมีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางตรงและทางอ้อมทางตรงคือพืชสามารถนำธาตุเหล็กที่จับอยู่กับไซเดอร์โรฟอรัสเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญ ส่วนทางอ้อมคือเมื่อแบคทีเรียสร้างไซเดอร์โรฟอรัสจับธาตุเหล็กในดิน ทำให้ปริมาณธาตุเหล็กในดินลดน้อยลง จึงทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคพืชที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงขาดธาตุเหล็ก ทำให้ไม่สามารถเจริญและก่อโรคได้ (Hopkinson and Morel, 2009)

### 3.3 การสร้างกรดอินโดลอะซิติก

เมื่อนำแอกติโนแบคทีเรียทั้ง 38 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซิติก พบว่า มี 17 ไอโซเลต สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู (ให้ผลบวก) แสดงว่าสามารถสร้างกรดอินโดลอะซิติกได้ เมื่อนำหลอดที่ให้ผลบวกไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับค่าที่ได้กับกราฟของสารละลายมาตรฐาน IAA ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีปริมาณกรดอินโดลอะซิติกอยู่ในช่วง 1.34 - 10.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไอโซเลต R17 - 109 มีความสามารถในการสร้าง IAA สูงที่สุด (10.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ R17-207 (8.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ R17-203 (7.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ

ทั้งนี้เมื่อเทียบกับผลงานวิจัยอื่น พบว่าปริมาณ IAA ที่สร้างถือว่าอยู่ในปริมาณน้อย เช่นงานวิจัยของ Sameera *et al.* (2018) ทดสอบการสร้าง IAA ของแอกติโนแบคทีเรียที่แยกจากดินปลูกต้นกาแฟ พบว่าจากจำนวน 32 ไอโซเลต มี 27 ไอโซเลต ผลิต IAA ปริมาณ 17.36 - 109.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แอกติโนแบคทีเรียที่ผลิต IAA สามารถใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช โดยเกี่ยวข้องกับกระบวนการออกของเมล็ด



และการเจริญของราก Goudjal *et al.* (2013) รายงานว่า IAA ที่สกัดได้จาก *Streptomyces* ช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดมะเขือเทศและการยืดยาวของราก

### 3.4 การย่อยไคติน

นำแอกติโนแบคทีเรียทั้ง 38 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการย่อยไคตินบนอาหารแข็ง chitin agar จะพบว่ามีจำนวน 19 ไอโซเลต (50 %) เกิดโซนใสรอบโคโลนี (Figure 3c) แสดงว่าสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) ย่อยไคตินบนอาหารทดสอบได้ ตรวจสอบผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี พบว่า ไอโซเลต R17 - 208 ย่อยไคตินได้ดีที่สุด มีอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีสูงที่สุด เท่ากับ 1.90 รองลงมาคือไอโซเลต R17 - 217 และ R17 - 211 (1.78 และ 1.72 ตามลำดับ) ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่พบมากในธรรมชาติเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส โดยพบเป็นองค์ประกอบหลักในโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ในเปลือกหอย กุ้ง ปู รวมถึงเปลือกของแมลง รวมถึงเป็นโครงสร้างหลักของผนังเซลล์เชื้อรา พบว่า แอกติโนแบคทีเรียที่สามารถย่อยไคตินได้ถูกนำมาใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพ ป้องกันและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ยกตัวอย่างเช่น *Streptomyces* AC4 และ AC7 ที่แยกจากปุ๋ยหมักมูลม้า มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ chitinase

และ chitosanase และสามารถยับยั้ง *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นราก่อโรคพืชได้ (González-Franco *et al.*, 2017)

จากการศึกษาคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า มีแอกติโนแบคทีเรียเพียงไอโซเลตเดียว คือ R17-116 มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชครบทั้ง 4 ชนิดที่ทดสอบ คือการละลายฟอสเฟต การสร้างไซเคอร์โรฟอรและกรดอินโดอะซิติก และการย่อยไคติน มี 6 ไอโซเลต มีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช 3 ชนิดที่ทดสอบ คือ ไอโซเลต R17 - 208 และ R17 - 211 สามารถละลายฟอสเฟต สร้างไซเคอร์โรฟอรและย่อยไคตินได้ แต่ไม่ผลิตกรดอินโดอะซิติก ไอโซเลต R17-112, R17-207, R17-217 และ R17-221 สามารถ ผลิตไซเคอร์โรฟอร กรดอินโดอะซิติก และย่อยสลายไคติน แต่ไม่ละลายฟอสเฟต (Table 3) แอกติโนแบคทีเรียนอกเหนือจากนี้ (78.9 %) มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพียง 2 ชนิดที่ทดสอบหรือน้อยกว่า และมีไอโซเลต R17-121 ไม่แสดงคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ทดสอบ แอกติโนแบคทีเรียทั้ง 7 ไอโซเลต ที่มีคุณสมบัติดีเหล่านี้ (Table 3) จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและระบุชนิดของเชื้อในระดับสกุลต่อไป

Table 3. Characteristics of selected actinomycete active isolates based on plant growth promotion traits

Isolates	Diameter of zone around colony (mm.)		IAA production (µg/ml)	Chitin degradation (HC)*
	phosphate solubilization	siderophore production		
R17-112	-	7.0	3.27	1.2
R17-116	7.5	8.0	3.20	1.5
R17-207	-	7.0	1.22	1.4
R17-208	8.5	7.0	-	2.5
R17-211	5.5	10.0	-	1.7
R17-217	-	7.0	1.04	1.8
R17-221	-	7.0	1.47	1.4

HC: Hydrolysis capacity

## สรุป

ดินสวนมะพร้าวที่แปลงปลูกแบบยกร่อง (อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม) เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน รวมถึงมีธาตุอาหารต่าง ๆ เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม สูงกว่าดินสวนมะพร้าวที่แปลงปลูกแบบพื้นราบ (อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์) จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในดินทั้ง 2 แห่งพบว่าดินจากแปลงปลูกแบบยกร่องมีจำนวนแบคทีเรียน้อยกว่า เนื่องจากดินจากแปลงปลูกแบบยกร่องมีน้ำท่วมขังในร่องตลอดปี ดินมีลักษณะเป็นดินเหนียว ทำให้มีปริมาณออกซิเจนในดินจำกัด รวมทั้งมีค่าการนำไฟฟ้า (EC) หรือปริมาณเกลือที่ละลายได้สูงกว่า จึงส่งผลให้มีจำนวนแบคทีเรียน้อยในดินน้อยกว่าดินจากแปลงปลูกแบบพื้นราบ

แยกแอสคิตินแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้จำนวน 20 ไอโซเลต และดินสวนมะพร้าว อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 18 ไอโซเลต นำแอสคิตินแบคทีเรียทั้ง 38 ไอโซเลต มาทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า แอสคิตินแบคทีเรียทุกไอโซเลต ยกเว้นไอโซเลต R17 - 121 แสดงคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ความสามารถในการละลายฟอสเฟต (10 ไอโซเลต) เปลี่ยนรูปของแคลเซียมฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำและเป็นประโยชน์กับพืช การผลิตกรดอินโดลอะซิติก (17 ไอโซเลต) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ด และการเจริญของราก การสร้างไซโตไคน์ (25 ไอโซเลต) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยจับธาตุเหล็ก ทำให้พืชได้รับธาตุเหล็กเพียงพอและช่วยป้องกันพืชจากจุลินทรีย์ก่อโรค และการย่อยไคติน (19 ไอโซเลต) ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

แอสคิตินแบคทีเรียจำนวน 7 ไอโซเลต คือ R17 - 112, R17 - 116, R17 - 207, R17 - 208, R17 - 211, R17 - 217 และ R17 - 221 ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดี

ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาเพิ่มเติมและระบุชนิดของเชื้อในระดับสกุลต่อไป ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าดินสวนมะพร้าวเป็นแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจในการแยกแอสคิตินแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชต่อไปได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าของสวนมะพร้าว น้ำหอม คุณนภวรรณ มิ่งมา และคุณสง่า เพ็ญรอด ที่ให้ความอนุเคราะห์เข้าไปเก็บตัวอย่างดินสำหรับใช้ในงานวิจัย งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย ประเภทโครงการสนับสนุนวิจัยเพื่อพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มก. ประจำปี 2560 รหัสโครงการวิจัย ร-ม 25.60 สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2562

## เอกสารอ้างอิง

- Alori, E.T., B.R. Glick and O.O. Babalola. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology* 8: 971, doi: 10.3389/fmicb.2017.00971.
- Bérdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics* 58(1): 1-26.
- Chaiham, M., W. Pathom-aree, N. Sujada and S. Lumyong. 2018. Characterization of phosphate solubilizing streptomyces as a biofertilizer. *Chiang Mai Journal of Science* 45(2): 701-716.
- Eccles, W.J., C. Matthew and A.C.P. Chu. 1990. Response of Matua prairie grass and Ellett

- perennial ryegrass to excess soil moisture in sand, silt and clay soils. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 51: 127-130.
- González-Franco, A.C., L. Robles-Hernández and J.L. Strap. 2017. Chitinase, chitosanase, and antifungal activities from thermophilic streptomycetes isolated from compost. International Journal of Experimental Botany 86: 14-27.
- Ghorbani-Nasrabadi, R., R. Greiner, H.A. Alikhani, J. Hamedi and B. Yakhchali. 2013. Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13(1): 223-236.
- Gordon, S.A. and R.P. Weber. 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. Plant Physiology 26(1): 192-195.
- Goudjal, Y., O. Toumatia, N. Sabaou, M. Barakate, F. Mathieu and A. Zitouni. 2013. 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 29(10): 1821-1829.
- Gupta, A., M. Gopal and G.V. Thomas. 2016. Beneficial microorganisms in coconut based cropping/farming systems. pp. 9. In: Book of Abstracts of National Seminar on Plantation Based Cropping System for Improving Livelihood Security. ICAR-CPCRI, Kerala, India.
- Himaman, W., A. Thamchaipenet, W. Pathom-aree and K. Duangmal. 2016. Actinomycetes from *Eucalyptus* and their biological activities for controlling *Eucalyptus* leaf and shoot blight. Microbiological Research 188-189: 42-52.
- Hopkinson, B.M. and F.M.M. Morel. 2009. The role of siderophores in iron acquisition by photosynthetic marine microorganisms. Biometals 22: 659-669.
- Jog, R., M. Pandya, G. Nareshkumar and S. Rajkumar. 2014. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. Microbiology 160: 778-788.
- Küster, E. and S.T. Williams. 1964. Selection of media for isolation of streptomycetes. Nature 202: 928-929.
- Olanrewaju, O.S. and O.O. Babalola. 2019. *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. Applied Microbiology and Biotechnology 103: 1179-1188.
- Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17: 362-370.
- Salwan, R. and V. Sharma. 2020. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. Microbiological Research 231: 126374, doi: 10.1016/j.micres.2019.126374.
- Sameera, B., H. Prakash and M.S. Nalini. 2018. Indole acetic acid production by the actinomycetes of coffee plantation soils of western ghats. International Journal of Current Research 10(10): 74482-74487.
- Sato, K., Y. Kato, G. Taguchi, M. Nogawa, A. Yokota and M. Shimosaka. 2009. *Chitiniphilus*

- shinanonensis* gen. nov., sp. nov., a novel chitin-degrading bacterium belonging to *Betaproteobacteria*. The Journal of General and Applied Microbiology 55(2): 147-153.
- Schwyn, B. and J.B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry 160(1): 47-56.
- Sharma, S.B., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi and T.A. Gobi. 2013. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus. 2: 587, doi: 10.1186/2193-1801-2-587.
- Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 16(3): 313-340.
- Syers, J.K., A.E. Johnston and D. Curtin. 2008. Efficiency of Soil and Fertilizer Phosphorus use. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 109 p.
- Vyas, P. and A. Gulati. 2009. Organic acid production *in vitro* and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. BMC Microbiology 9: 174, doi: 10.1186/1471-2180-9-174.
- Yan, N., P. Marschner, W. Cao, C. Zuo and W. Qin. 2015. Influence of salinity and water content on soil microorganisms. International Soil and Water Conservation Research 3(4): 316-323.
- Zhao, Y., C. Song, H. Dong, Y. Luo, Y. Wei, J. Gao, Q. Wu, Y. Huang, L. An and H. Sheng. 2018. Community structure and distribution of culturable bacteria in soil along an altitudinal gradient of Tianshan Mountains, China. Biotechnology and Biotechnological Equipment 32(2): 397-407.
-