

โครงการ: ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเอนโดไฟติกแอกติโนมัยสีกกับพืชโดยระบุตำแหน่งอาศัย
และวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารส่งเสริมการเจริญของพืช
Interaction of endophytic actinomycetes and plants by localization of the
endophytes and analysis of genes involved in plant growth promoting agents

บทคัดย่อ

เอนโดไฟติกแอกติโนมัยสีกจาก GMKU culture collection (TRF grant no. RMU4980033) และที่คัดแยกใหม่ (GKU culture collection) มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และมีคุณสมบัติเป็น plant growth promoting (PGP) bacteria โดยสามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA และ siderophore สามารถละลายหินฟอสเฟต สร้างเอนไซม์ ACC deaminase และ chitinase และยังสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งแบคทีเรียและรา ในการศึกษานี้ได้ค้นพบแอกติโนมัยสีกสายพันธุ์ใหม่ คือ *Nonomuraea syzygii* sp. nov. และ *Actinomadura syzygii* sp. nov. และได้พิสูจน์ว่าเอนโดไฟติกแอกติโนมัยสีกอาศัยอยู่ในพืชจริง โดยการติดตาม *Streptomyces* sp. GMKU944 ด้วย eGFP เมื่อปลูกเชื้อเข้าไปในต้นกระถินณรงค์ พบว่าสามารถเห็นการเรืองแสงของเชื้อโดยอาศัย laser scanning confocal microscope โดยพบเชื้อส่วนใหญ่อยู่ที่เซลล์ phloem parenchyma นอกจากนี้ยังศึกษาความสัมพันธ์ของเอนโดไฟติกแอกติโนมัยสีกกับพืช โดยการสร้างสายพันธุ์กลายที่ไม่สามารถสร้าง siderophore ใน *Streptomyces* sp. GMKU 3100 ด้วยการทำการกลายที่ยีน *desD*-like ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ siderophore เมื่อนำเชื้อ *Streptomyces* sp. GMKU 3100 ที่สร้าง siderophore มาปลูกเข้าต้นข้าวและถั่วเขียวในระดับกระถาง พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของพืช ทั้งความสูงและความยาวของต้นและราก รวมทั้งน้ำหนัก เมื่อเทียบกับพืชที่ไม่ปลูกเชื้อ หรือปลูกด้วยสายพันธุ์กลาย แสดงว่า PGP-trait นี้มีความสำคัญต่อการเจริญของพืชทั้งสอง นอกจากนี้ยังศึกษาผลของเอนไซม์ chitinase โดยเลือก *Streptomyces* sp. GMKU 301 and GMKU 322 ที่ผลิต chitinase และมียีน family 18 group A และ 19 chitinase มาปลูกลงในข้าวโพดก่อนที่จะปลูกเชื้อ *Fusarium moniliforme* ซึ่งก่อโรคเหี่ยวเน่า จากการทดลองในระดับกระถาง พบว่า สายพันธุ์ทั้งสองสามารถป้องกันข้าวโพดจากโรคเหี่ยวเน่าได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับพืชที่ไม่ปลูกเชื้อ แสดงว่าเอนโดไฟติกแอกติโนมัยสีกสามารถช่วยป้องกันโรคพืชได้ จากการศึกษาแล้วยังค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ คือ linfuranone A จาก *Microbispora* sp. GMKU363 ซึ่งแยกจากพืชสมุนไพรลิ้นงูเห่า (*Clinacanthus siamensis* Bremek.) อีกด้วย

Abstract

Endophytic actinomycetes from previous GMKU culture collection (TRF grant no. RMU4980033) and newly isolates (GKU culture collection) were identified for their taxonomy at genus level and characterized for their plant growth promoting (PGP) properties. They were rich of diversity and carried PGP-traits including IAA and siderophore production, phosphate solubilisation, ACC deaminase and chitinase activities as well as anti-microbial activities. Two new species were validated as *Nonomuraea syzygii* sp. nov. and *Actinomadura syzygii* sp. nov. It was also proved that the endophytic actinomycetes actually resided in plant tissue by tagging *Streptomyces* sp. GMKU944 with *egfp*. eGFP-tagged strain in seedlings of wattle tree, were visualized under laser scanning confocal microscope mainly at phloem parenchyma cells. Further study of the interaction between endophytic actinomycetes and plants, siderophore deficient endophytic *Streptomyces* sp. GMKU 3100 was generated by inactivation of a *desD*-like gene involved in siderophore biosynthesis. Pot culture experiments revealed that rice and mungbean plants inoculated with the wild type gave the best enhancement of plant growth and significantly increased root and shoot biomass and lengths compared with untreated controls and siderophore-deficient mutant treatments. The results indicated that this trait is important in enhancement of growth of the plants. Another PGP-trait, chitinase production, was studied by inoculated chitinase producing *Streptomyces* sp. GMKU 301 and GMKU 322, carried genes encoding family 18 group A and 19 chitinases, into maize plants before infected with *Fusarium moniliforme* causing foot rot and wilting diseases. Pot culture experiments revealed that chitinase producing strains significantly protected plants from foot rot and wilting diseases. In addition, a novel compound, linfuranone A, was discovered from an endophytic *Microbispora* sp. GMKU363 isolated from a root of Thai medicinal plant 'Lin Ngu Hao' (*Clinacanthus siamensis* Bremek.). Linfuranone A was active in an assay designed to screen antidiabetic and antiatherogenic activities.