

พีจีพีอาร์ : บทบาทในการส่งเสริมและป้องกันพืชภายใต้สภาวะเครียด

PGPR : The Role in Promoting and Protecting Plant Under Stress Conditions

ธนากร แสงสง่า*

โปรแกรมวิทยาศาตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

Thanakorn Saengsanga*

Environmental Science Program, Faculty of Science and Technology,
Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Nai Muang, Muang, NaKhon Ratchasima 30000

บทคัดย่อ

ความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตและมีชีวิต เช่น ความเค็ม ความแห้งแล้ง น้ำท่วม โลหะหนัก และเชื้อโรคพืช เป็นปัญหาที่สำคัญของการทำเกษตรกรรม ก่อให้เกิดความเครียดออกซิเดชันและการสะสมเอทิลีนในพืช ส่งผลให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต อย่างไรก็ตาม การเจริญเติบโตของพืชภายใต้สภาวะเครียดสามารถปรับปรุงได้ด้วยการใช้แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ในกลุ่มของไรโซแบคทีเรียช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหรือพีจีพีอาร์ (PGPR, plant growth promoting rhizobacteria) ซึ่งมีสมบัติในการส่งเสริมและป้องกันพืชผ่านกลไกทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยการผลิตฮอร์โมนพืช ละลายธาตุอาหาร ควบคุมการดูดซึมสารอาหาร และชักนาระบบความต้านทานในพืช นอกจากนี้พีจีพีอาร์ยังสามารถสร้างเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase เพื่อย่อยสลาย ACC ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิถีการสังเคราะห์เอทิลีน ทำให้ระดับเอทิลีนในพืชลดน้อยลง บทความนี้ได้กล่าวถึงการปรับตัวของพืชและประสิทธิภาพของพีจีพีอาร์ในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช และกลไกที่สำคัญในการป้องกันพืชภายใต้สภาวะเครียด รวมถึงความชอบกพร่องของการประยุกต์ใช้พีจีพีอาร์เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยและพัฒนาปรับปรุงพืชให้ทนทานต่อความเครียดได้

คำสำคัญ : พืช; สภาวะเครียด; ไรโซแบคทีเรีย; แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Abstract

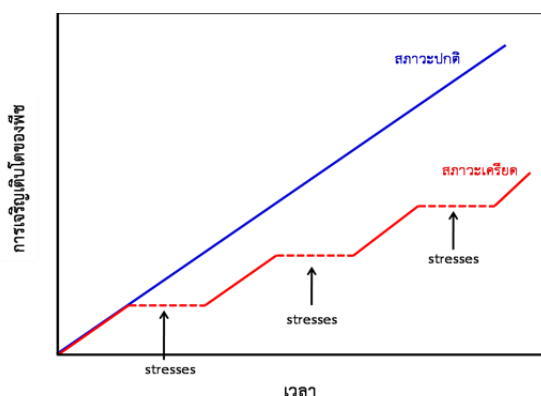
Both abiotic and biotic stresses such from salinity, drought, flooding, heavy metals and plant pathogens are an important problem for agricultural production. Stress conditions cause oxidative stress and ethylene accumulation which result severe damage to plant growth and productivity. However, plant growth under stress conditions could be improved by applying beneficial bacteria such as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) that support and protect

plant growth performance by means of direct and indirect mechanisms. PGPR can promote plant growth by producing phytohormone, solubilizing nutrients, controlling nutritional uptake and inducing resistance against plant pathogens. Many PGPR also contain the ACC-deaminase that cleaves ACC, the immediate stress ethylene precursor, which allows lowering ethylene level. This review discussed the plant adaptation to overcome the negative impact of stresses and the efficiency of PGPR to enhance and protect plants under stressful environments. Weakness of the PGPR application was also discussed comprehensively for further research and development of the new plant species to endure against stress situations.

Keywords: plant; stress condition; rhizobacteria; plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)

1. บทนำ

สภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมทั้งไม่มีชีวิตและมีชีวิต (abiotic and biotic stresses) เป็นปัญหาสำคัญทางสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ในกรณีที่สภาวะเครียดนั้นไม่ก่อให้เกิดการตาย (non-lethal stress) แต่ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ไม่สม่ำเสมอ พืชจะปรับตัวในวิถีเมแทบอลิซึม (metabolism) บางประการให้ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมนั้น ๆ จนกว่าความเครียดนั้นจะหายไป ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจะมีช่วงการเจริญเติบโตสลับกับการหยุดการเจริญเติบโตดังรูปที่ 1 [1] เนื่องจากความเครียด (stress) ซึ่งมีหลายรูปแบบแต่ที่พบบ่อย คือ ความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งก่อให้เกิด reactive oxygen species (ROS) ตามมาหลายชนิด ROS เป็นสารออกซิไดซ์แรงสูงที่มีความว่องไวสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ก่อให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น ทำลายโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ (protein and lipid peroxidation) ตลอดจนการทำลายโครงสร้างสารพันธุกรรม อย่างไรก็ตามเมื่อเกิด ROS ขึ้นภายในเซลล์ พืชจะปรับตัวให้อยู่รอดในสภาวะเครียดได้โดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และ/หรือ compatible solute เพื่อลดผลกระทบที่เกิดขึ้นจากความเครียด [2-5]



รูปที่ 1 การเจริญเติบโตของพืชในสภาวะปกติและสภาวะเครียด (ดัดแปลงจาก [1])

นอกจากกลไกการป้องกันโดยพืชแล้ว จุลินทรีย์ที่มีความหลากหลายทั้งทางพันธุกรรมและกิจกรรมในดินนั้น ไม่เพียงแต่เป็นปัจจัยที่สำคัญในการย่อยสลายและหมุนเวียนแร่ธาตุ แต่ยังมีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันพืชอีกด้วย จุลินทรีย์ดินมีหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย รา แอคติโนมัยสิท โปรโตซัว และสาหร่าย แต่ชนิดที่พบบ่อยคือ แบคทีเรียเนื่องจากเจริญได้อย่างรวดเร็วและมีความสามารถในการใช้คาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงานได้อย่างหลากหลาย [6] โดยแบคทีเรียจำนวนมากจะพบที่ผิวดินและมีปฏิสัมพันธ์กับรากพืช (plant-microbial interaction) เป็นบริเวณดินที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของรากพืชและมีกิจกรรมของจุลินทรีย์เกิดขึ้น มีความ

แตกต่างจากบริเวณดินภายนอกระบบรากเป็นอย่างมาก เพราะรากพืชหลั่งสาร (root exudate) หลายชนิดออกมาเพื่อเหนี่ยวนำให้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เขามาครอบครอง ซึ่งภาวะนี้อาจก่อให้เกิดประโยชน์ โทษ และ/หรือ ภาวะเป็นกลาง [7,8] โดยทั่วไปแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมี 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับรากพืช (symbiotic relationship) และแบคทีเรียที่ดำรงชีวิตอิสระ (free-living) ซึ่งมักพบบริเวณใกล้ ๆ รากพืช (rhizosphere) หรือในรากพืช

แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ดำรงชีวิตอิสระในดินในกลุ่มฟิซีฟิอามีลักษณะที่สำคัญ ได้แก่ (1) สามารถครอบครอง (colonize) รากพืชได้ (2) อยู่รอดและเพิ่มจำนวนในบริเวณรากพืช และสามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้ (3) ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช [9] โดยมีกลไกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลายแบบ ได้แก่ การตรึงไนโตรเจน การละลายธาตุอาหาร การสร้างซีเดอร์ฟออร์ (siderophore) การสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การสร้างสารปฏิชีวนะ และสารยับยั้งรา การเหนี่ยวนำระบบความต้านทาน (induced systemic resistance) นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันพืชจากความเครียดต่าง ๆ ได้อีกด้วย เพื่อเข้าใจหน้าที่ บทบาทของฟิซีฟิอาร์ ตลอดจนการเป็นแนวทางในการศึกษาและวิจัยต่อไป บทความนี้จึงได้กล่าวถึงปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ก่อให้เกิดความเครียด การปรับตัวของพืช และบทบาทของฟิซีฟิอาร์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการป้องกันพืชจากความเครียด แนวทางการใช้ประโยชน์ของฟิซีฟิอาร์ทางการเกษตร รวมถึงข้อจำกัดในการประยุกต์ใช้

2. พืชในสภาวะเครียด

เมื่อพืชเครียดจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชโดยตรง สาเหตุของความเครียดมาจากทั้งสิ่งที่มีชีวิต ได้แก่ อนุภูมิ แสง น้ำท่วม

ความแห้งแล้ง โลหะหนักหรือสารอินทรีย์ รังสี การเกิดบาดแผลและความเค็ม และจากสิ่งมีชีวิต ได้แก่ โรคพืชและศัตรูพืช (ไวรัส แบคทีเรีย รา แมลง ไส้เดือนฝอย ฯลฯ) อย่างไรก็ตามความเครียดในพืชส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากสิ่งที่ไม่มีชีวิตและเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิด ROS หลายชนิด เช่น superoxide radical (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$), alkoxyl radical ($RO\cdot$) และ singlet oxygen (1O_2) [2] ทำความเสียหายต่อเซลล์ การเจริญเติบโต พัฒนาการและผลผลิตของพืชลดลง ความไม่สมดุลของฮอร์โมนและสารอาหาร ความผิดปกติทางสรีรวิทยา และความอ่อนแอต่อโรค ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม [10] สาเหตุความเครียดที่พบและเป็นปัญหามากและส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อการทำเกษตรกรรมในประเทศไทยโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ ความเครียดจากดินเค็มที่เกิดจากการสะสมเกลือละลายน้ำได้ในดิน เป็นสาเหตุของความเครียดออสโมติก (osmotic stress) เพราะเกลือในดินทำให้ค่าศักย์ (water potential) ของน้ำในดินต่ำกว่าปกติ พืชจึงดูดน้ำได้ยากขึ้น และเกิดความ เป็นพิษของไอออน (ion toxicity) จากโซเดียมไอออน (Na^+) และคลอไรด์ไอออน (Cl^-) อีกด้วย [11] การปลูกพืชในพื้นที่ดินเค็มจะมีสภาวะเครียดรุนแรงเป็นสองเท่าเมื่อเทียบกับพืชที่ปลูกในสภาพแห้งแล้ง เพราะในสภาวะเค็มนอกจากพืชจะเครียดเนื่องจากค่าศักย์ของน้ำในดินลดลง ทำให้พืชขาดน้ำ คล้ายพืชที่ปลูกในสภาพแห้งแล้งแล้วยังเกิดความเครียดจากไอออนที่เป็นพิษอีกด้วย [12] ความเครียดจากความเค็มชักนำให้เกิดการสร้างและสะสมสารอนุภูมิอิสระ การสังเคราะห์กรดแอบไซซิก (abscisic acid) ทำให้ปากใบปิด การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ลดน้อยลง กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ปริมาณรงควัตถุ คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนภายในเซลล์จึงลดน้อยลง และปริมาณ

โซเดียมไอออนที่มากเกินไปบริเวณรากพืชจะรบกวนการนำโพแทสเซียมเข้าสู่เซลล์ โดยการดูดซึมโพแทสเซียมของพืชจะมีทั้งระบบ low และ high-affinity ถ้าพืชมีระบบการนำเข้าแบบ low-affinity จะเกิดความเสียหายมากขึ้นเนื่องจากการดูดซึมโซเดียมแทน การดูดซึมโพแทสเซียมและธาตุอื่น ๆ เช่น แคลเซียมและแมกนีเซียมลดน้อยลง ทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโตเนื่องจากขาดธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต เช่น โพแทสเซียมมีความสำคัญต่อการรักษาแรงดันเต่งในเซลล์พืช ศักย์เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane potential) และการทำงานของเอนไซม์บางชนิด [13] นอกจากนี้สภาวะเครียดความเค็มยังส่งผลต่อการงอกของเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น ในข้าวพบว่าโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเค็ม 20 เดซิซีเมนต่อเมตร มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดอย่างสมบูรณ์ [14] ในสภาวะขาดน้ำ (water deficit) เป็นความเครียดที่เกิดขึ้นเกือบตลอดเวลาในพืช การเปลี่ยนแปลงที่เป็นผลจากสภาวะขาดน้ำจะเกิดขึ้นในลักษณะเดียวกันกับความเครียดจากเกลือ [15] นอกจากนี้ความเป็นพิษจากโลหะหนักส่วนใหญ่ทำให้เกิดความเครียดออกซิเดชัน ยับยั้งการทำงานของสารชีวโมเลกุล โดยเฉพาะเอนไซม์กลุ่มต้านอนุมูลอิสระ และเข้าแทนที่ธาตุที่เป็นโคแฟกเตอร์ (co-factor) ของเอนไซม์ [16] เช่น อลูมินัม (Al^{3+}) ยับยั้งการยืดยาวของรากโดยหยุดกระบวนการขนส่งออกซิเจนไปยังบริเวณปลายราก [17] เป็นต้น

2.1 เอทิลีน (ethylene)

เอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชที่อยู่ในรูปของก๊าซสามารถพบได้ในพืชเกือบทุกชนิด มีการผลิตในปริมาณที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโต บทบาทที่สำคัญของเอทิลีนคือควบคุมกระบวนการงอกของเมล็ด การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อ การเกิดราก การยืดยาวของราก การพัฒนาของตาต้นข้าง การออกดอก

การหลุดร่วงของใบ ดอก ผล การสุก และการอยู่ร่วมกันระหว่างพืชกับจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม เอทิลีนในปริมาณสูงทำให้เกิดความเครียดและเป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตของพืช สภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต เช่น ความแห้งแล้ง อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม ความเค็มและปริมาณธาตุโลหะหนัก สามารถกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์เอทิลีนได้ ซึ่งเป็นขั้นตอนเริ่มต้นของการตอบสนองของพืชต่อความเครียด และส่งผลต่อแสดงออกทางสรีรวิทยาอื่น ๆ ต่อไป กระบวนการสังเคราะห์เอทิลีนเริ่มจาก methionine ทำปฏิกิริยากับ ATP เกิดเป็น S-adenosylmethionine (SAM) จากนั้น SAM จะเปลี่ยนเป็น ACC ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์เอทิลีน โดยการสลายตัวของ ACC เป็นเอทิลีน เมื่อ ACC ในพืชสูงมากขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณเอทิลีนสูงขึ้นตามไปด้วย และยังมีผลไปยับยั้งการยืดยาวของราก (root elongation) ผ่านกระบวนการ transcription ของ auxin response factors ในระดับยีน ทำให้การสังเคราะห์ออกซินลดน้อยลงไปด้วย [1]

2.2 การตรึงไนโตรเจนในสภาวะเครียด

กระบวนการตรึงไนโตรเจนเป็นกระบวนการหนึ่งที่ได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงจากสภาวะเครียด ความเค็มเป็นปฏิปักษ์ต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจนและเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก เพราะความเข้มข้นของเกลือมีผลยับยั้งกระบวนการเกิดปมรากและทำให้ปมรากเสื่อมสภาพ เช่น การศึกษาในถั่วเหลือง พบว่าโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 26 มิลลิโมลาร์ ทำให้การเกิดปมในระยะเริ่ม (nodule initiation) ลดลงร้อยละ 50 [18] แสดงว่าความเค็มมีผลต่อการเข้าครอบครองรากพืช และส่งผลต่อการเข้าสร้างปมในช่วงระยะแรกของไรโซเบียม Nabizadeh และคณะ [19] พบว่าจำนวนปมและปริมาณไนโตรเจน ปริมาณน้ำในใบ (relative

water content, RWC) รวมทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ใน ถั่วอัลฟาลฟา (Alfalfa) ลดลงอย่างมากเมื่อเจริญภายใต้ ความเครียดจากความเค็ม จะเห็นว่าเกลือหรือความ เค็มมีผลต่อกิจกรรมของโซไซเอียมในขั้นตอนการสร้าง ปม การเจริญและพัฒนาของปมภายในราก และ สุดท้ายมีผลโดยตรงต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจนของ ปมรากถั่ว [20]

ไนโตรจีเนส (nitrogenase) เป็นเอนไซม์ สำคัญในกระบวนการตรึงไนโตรเจน โดยความเค็มมีผล ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในแบคทีเรียลด น้อยลง [1] Jofre และคณะ [21] พบว่ากระบวนการ สังเคราะห์เอนไซม์ไนโตรจีเนสลดลงเมื่อความเข้มข้น โซเดียมคลอไรด์อยู่ในระดับความสูง โดยพบว่าโซเดียม คลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 60 มิลลิโมลาร์ ทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสลดลงถึงร้อยละ 50 และกิจกรรมของเอนไซม์จะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์เมื่อ ความเข้มข้นสูงถึง 90 มิลลิโมลาร์ [22] อย่างไรก็ตาม เอนไซม์ไนโตรจีเนสยังต้องการโซเดียมคลอไรด์ในระดับ ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ ความแห้งแล้งก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญที่มีผล ต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจน ในสภาวะขาดน้ำส่งผล ให้การตรึงไนโตรเจนและการสร้างปมในถั่วลดลงอย่าง มาก [23]

จากที่กล่าวมาจะเห็นว่าสภาวะเครียดจาก สิ่งแวดล้อมทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตเป็นอันตรายต่อการ เจริญเติบโตของพืช สภาวะเครียดเหล่านี้ส่งผลกระทบ ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาโดยก่อให้เกิดผล กระทบต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และ กระบวนการทางชีวเคมีทั้งทางตรงและทางอ้อม

3. การปรับตัว/ป้องกันพืชจากความเครียด

เมื่อพืชอยู่ในสภาวะเครียด ระบบเมแทบอลิซึม ในพืชจะเป็นสิ่งแรกที่มีการเปลี่ยนแปลงเพื่อตอบสนอง ต่อภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หากเกิดในช่วงสั้น ๆ

การเปลี่ยนแปลงอาจเกิดขึ้นในระดับชีวเคมีหรือ กระบวนการเมแทบอลิซึม แต่หากเกิดในระยะยาวอาจ ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางกายภาพ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงใน ระดับพันธุกรรม เพื่อลดระดับความเครียดเพื่อให้พืช สามารถอยู่รอดได้ แนวทางหนึ่งในการลดผลกระทบ จากความเครียด ได้แก่ การเติมสารยับยั้ง เช่น aminoethoxyvinylglycine (AVG), cobalt ion (Co^{2+}) และ silver ion (Ag^+) เพื่อลดระดับเอทิลีน [24] แต่การใช้สารเหล่านี้ก่อให้เกิดความกังวลทางด้าน สิ่งแวดล้อมเกี่ยวกับการตกค้างและสะสมของสาร เหล่านี้ในดิน นอกจากนี้ยังไม่สามารถแก้ปัญหาที่เกิดขึ้น จากผลกระทบจากสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมด้าน อื่น เช่น ความเป็นพิษของโอโซนที่เกิดจากความเค็ม หรือการขาดน้ำได้ อย่างไรก็ตามพืชเองจะมีกลไกบาง อย่างเพื่อที่ใช้ต่อสู้กับสภาวะเครียด ได้แก่

3.1 สร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

โดยส่วนใหญ่ ROS ก่อให้เกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันของไขมันและโปรตีน ฟอกจางสี คลอโรฟิลล์ (chlorophyll bleaching) กรดนิวคลีอิก และนำไปสู่การตายของเซลล์ แต่พืชสามารถกำจัด ROS ได้โดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ชนิดต่าง ๆ โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ สร้างขึ้นแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) สารต้านอนุมูล อิสระที่อยู่ในรูปเอนไซม์ (enzymatic antioxidants) เช่น superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reduc-tase (DHAR), glutathione reductase (GR) และ catalase (CAT) และ (2) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ได้ อยู่ในรูปเอนไซม์ (non-enzymatic antioxidant) เช่น glutathione (GSH), ascorbate, carotenoid, flavonoid และ tocopherol (ตารางที่ 1) [25] สาร ต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกที่จำเพาะในการลด

ความเครียด เช่น SOD, CAT, APX, peroxidase, glutathione reductase และ MDHAR มีบทบาทสำคัญต่อพืชในการลดระดับ superoxide และ hydrogen peroxide ที่เกิดขึ้นในพืช ส่วน catalase จะเปลี่ยน hydrogen peroxide ให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจน เป็นต้น

ตารางที่ 1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ [25]

สารต้านอนุมูลอิสระ	ตำแหน่งที่พบ	ROS
1. เอนไซม์		
Superoxide dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1)	Chl, Mit, Per, Cyt, Apo	Superoxide (O_2^-)
Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6)	Per, Gly	Hydrogen peroxide (H_2O_2)
Ascorbate peroxidase (APX) (EC 1.11.1.11)	Chl, Mit, Per, Gly, Cyt, Apo	H_2O_2
Peroxidase (POX) (EC 1.11.1.7)	Vac, Cyt, CW	H_2O_2
Glutathione reductase (GR) (EC 1.6.4.2)	Chl, Cyt, Mit	Reduction of glutathione
Glutathione peroxidase (GPX) (EC 1.11.1.12)	Cyt	H_2O_2 , Lipid peroxyl radicals (ROO $\cdot$), Organic hydroperoxide (ROOH)
Glutathione S-transferase (GST) (EC 2.5.1.18)	Cyt, Mit, ER	Organic hydroperoxide (ROOH)
Dehydroascorbate reductase (DHAR) (EC 1.8.5.1)	Chl, Mit, Per	Regeneration of ascorbate from Dehydroascorbate (DHA)
Monodehydroascorbate reductase (MDHAR) (EC 1.6.5.4)	Chl, Mit, Per, Cyt	Reduction of monodehydroascorbate (MDA) to have rise ascorbate
2. ไม่ใช่เอนไซม์		
Glutathione (GSH)	Chl, Mit, Cyt, Apo	H_2O_2 , Hydroxyl radical ($\cdot OH$), Singlet oxygen (1O_2), Dehydroascorbate reductase (DHAR)
Ascorbic acid (AsA)	Chl, Mit, Per, Cyt, Apo	H_2O_2 , $\cdot OH$, O_2^- , 1O_2
Alpha-Tocopherol	Membrane	1O_2 , $\cdot OH$, (ROO $\cdot$), (ROOH)
Carotenoid	Chloplast	1O_2
Flavonoid	Vac	1O_2 , O_2^- , ROO $\cdot$, Peroxynitrite (ONOO $^-$)

หมายเหตุ : Chl = chloroplast, Mit = mitochondria, Per = peroxisome, Gly = glyoxysome, Cyt = cytosol, Apo = apoplast, CW : = cell wall

3.2 สะสมสาร compatible solute

ในสภาพแวดล้อมดินเค็มมีผลทำให้การดูดน้ำของพืชลดลงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของศักย์ของน้ำในดิน ในสภาวะปกติรากพืชจะมีค่าศักย์ของน้ำต่ำกว่าในดิน พืชจึงจะสามารถดูดน้ำจากดินเข้าไปยังรากได้ แต่เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีเกลือสูงจะส่งผลให้ค่าศักย์ของน้ำในดินจะลดลง หากลดลงต่ำมารากพืชก็จะไม่สามารถดูดน้ำจากดินไปใช้ได้ ภายใต้สภาวะแวดล้อมนี้พืชจะปรับตัวโดยสะสม compatible solute เช่น proline, glycine betaine, trehalose, polyols และสารละลายอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่ช่วยลดค่าความต่างศักย์น้ำในรากพืช เพื่อป้องกันพืชจากอันตรายจากการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมติก ลดการสูญเสียน้ำและเฝ้าระวังไอออนที่เป็นพิษ [3,4] compatible solute จะทำหน้าที่เป็น organic osmolyte เพื่อคงสภาพเซลล์ให้ทำงานได้ตามปกติ เป็นกลไกหนึ่งในการปรับตัวของพืชเพื่อลดผลกระทบจากสภาวะเครียด เช่น glycine betaine ช่วยในการปรับค่าออสโมติกและป้องกันโครงสร้างภายในเซลล์เสียหายจากแรงดัน กลไกการป้องกันในระดับ transcription และ translation จะทำหน้าที่เป็น molecular chaperone เพื่อช่วยกระบวนการ re-folding ของเอนไซม์ที่เสียสภาพ อย่างไรก็ตาม ในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญบางชนิด เช่น ข้าว (*Oryza sativa*) มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) และมะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) ไม่มีการสะสม glycine betaine ดังนั้นการทำให้พืชมีกระบวนการสังเคราะห์ของ glycine betaine ด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มความต้านทานต่อสภาวะเครียดได้ [5]

4. เอนไซม์ ACC-deaminase

ACC-deaminase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญต่อการลดความเครียดในพืชที่สร้างโดยจุลินทรีย์กลุ่มฟิซีฟิอาร์

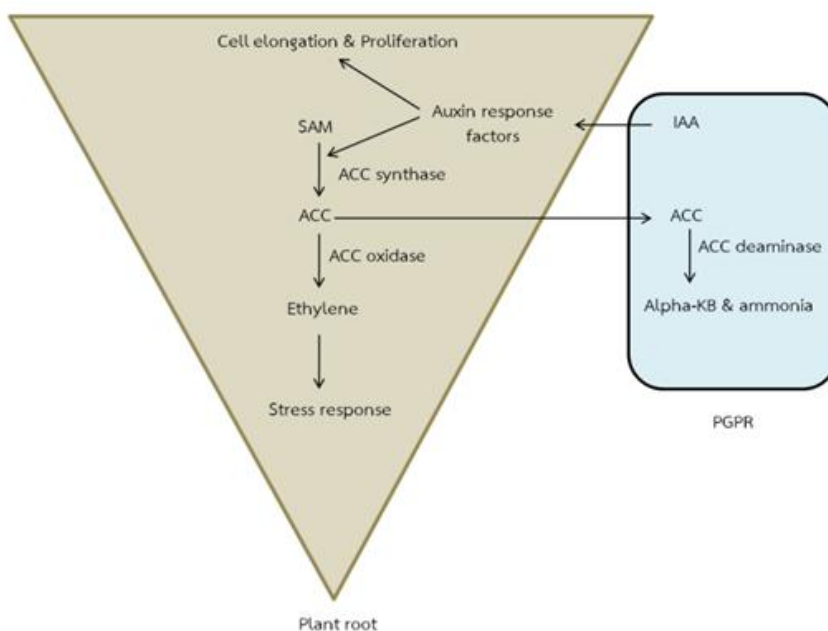
จากรายงานที่ผ่านมา [1] ได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของฟิซีฟิอาร์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาวะปกติ และช่วยป้องกันและลดระดับพืชในสภาวะเครียดอีกด้วย ความเครียดทำให้พืชสะสมเอทิลีนมากขึ้น ดังนั้นการลดระดับเอทิลีนจึงเป็นกลไกที่ช่วยให้พืชอยู่รอดและเจริญเติบโตได้ แบคทีเรียฟิซีฟิอาร์สามารถส่งเสริมและป้องกันพืชผ่านกลไกของ ACC โดยการสร้างเอนไซม์ ACC-deaminase มาย่อยสลาย ACC ให้เป็นแอมโมเนียและ alpha-ketobutyrate ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญของแบคทีเรียต่อไป ระดับ ACC ลดลงจากการย่อยสลายด้วยแบคทีเรียทำให้ระดับของเอทิลีนในพืชลดลงไปด้วย ซึ่งจะช่วยป้องกันพืชในสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อม [1] นอกจากนี้แบคทีเรียยังสร้างออกซิน เช่น indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งจะไปชักนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ ACC-synthase ไปเร่งการเปลี่ยน SAM เป็น ACC มากขึ้น แต่ในที่สุด ACC จะถูกนำไปใช้โดยฟิซีฟิอาร์ด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ ACC-deaminase (รูปที่ 2) กิจกรรมของเอนไซม์ ACC-deaminase ต้องการ pyridoxal 5'-phosphate เป็นโคแฟกเตอร์จากโครงสร้าง 3 มิติ สามารถจัดจำแนกเอนไซม์ ACC-deaminase ออกเป็น 4 แบบ คือ (1) tryptophan synthase (2) aspartate aminotransferase (3) D-amino acid aminotransferase และ (4) alanine racemase [26]

5. ฟิซีฟิอาร์

ฟิซีฟิอาร์เป็นแบคทีเรียที่มีสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช สายพันธุ์ที่พบ ได้แก่ *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Variovorax*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Azospirillum*, *Serratia* และ *Azotobacter* เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยทั่วไปฟิซีฟิอาร์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ extracellular PGPR

(ePGPR) ที่พบบริเวณไรโซสเฟียร์และไรโซพลาสม และ intracellular PGPR (iPGPR) พบในเซลล์รากพืชช่วยในการเกิดปม [27] กระบวนการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชผ่านพีจีพียอนั้นสามารถเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ (1) การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง ได้แก่ การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) การละลายฟอสฟอรัส (phosphorus solubilization) การสร้างซิเดอโรฟอร์ (siderophore production) การสร้างฮอโมนพืช เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน

จิบเบอเรลลินและการลดความเข้มข้นของเอทิลีนในพืช (2) กลไกโดยอ้อม ได้แก่ การผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่ใช้ควบคุมโรคพืช ลดปริมาณของธาตุเหล็กบริเวณรากที่เป็นประโยชน์ต่อเชื้อโรคพืช การสร้างสารต่อต้านเชื้อรา (antifungal) การผลิตเอนไซม์ทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราโรคพืช การแย่งครอบครองเชื้อก่อโรคพืชบริเวณราก และการเหนี่ยวนำการสร้างความต้านทาน [28]



รูปที่ 2 กลไกการลดระดับเอทิลีนโดยพีจีพียอน (ดัดแปลงจาก [1])

6. บทบาทของพีจีพียอนในการลดความเครียดในพืช

6.1 สภาวะเครียดจากความเค็มและความแห้งแล้ง

ความเค็มและความแห้งแล้งทำให้พืชขาดน้ำ โดยเกลือในดินรบกวนการดูดซึมธาตุอาหารและเกิดความเป็นพิษจากไอออนส่งผลให้พืชไม่สามารถนำธาตุอาหารไปใช้ได้อย่างสมดุล การรักษา osmotic

potential ในเซลล์พืชเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นเมื่ออยู่ในสภาวะที่อัตราส่วนระหว่างโพแทสเซียมต่อโซเดียม (K^+/Na^+) มีค่าสูง [29] พีจีพียอนจะช่วยเพิ่มอัตราส่วนการดูดซึมโพแทสเซียมให้มากกว่าโซเดียมเมื่อพืชอยู่ในดินเค็ม ช่วยเพิ่มการดูดซึมของธาตุอาหารและน้ำเข้าสู่เซลล์ [30] ในรายงานของ Yue และคณะ [31] แสดงให้เห็นว่าการเติม *Klebsiella oxytoca* (Rs-5) ทำให้การดูดซึมธาตุอาหารที่สำคัญ เช่น ไนโตรเจน

ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และแคลเซียมของพืชเพิ่มมากขึ้น ในทำนองเดียวกันการเติม *Pseudomonas* spp. สามารถป้องกันพืชจากความเครียดและส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือได้ โดยลดการนำโซเดียมเข้าสู่เซลล์และเพิ่มการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็ม [32] พืจีพีอาร์จะสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) และสะสม exopolysaccharides (EPS) เพื่อป้องกันความเป็นพิษและลดการนำโซเดียมไอออนเข้าสู่เซลล์ และช่วยในการเข้าครอบครองบริเวณรากพืชของแบคทีเรีย ส่งผลให้พืชทนทานต่อความเครียดออกซิเดติกและความเค็มมากขึ้น [33] ในสภาวะแห้งแล้ง EPS จะมีบทบาทสำคัญในการป้องกันอันตรายทั้งในพืชและแบคทีเรียเมื่อเจริญในสภาวะขาดน้ำ เช่น *Azospirillum brasilense* Sp245 สร้าง EPS ที่ประกอบด้วยสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน ได้แก่ lipopolysaccharide-protein complex และ polysaccharide-lipid complex [34] และ *Pseudomonas fluorescens* กระตุ้นการสะสม ajmalicine (antihypertension alkaloid) ในดอกแพงพวย (*Catharanthus roseus*) เพิ่มมากขึ้นเพื่อให้อยู่รอดได้ในสภาวะแห้งแล้ง [35] จะเห็นว่าพืจีพีอาร์ที่สามารถสร้าง EPS ได้นั้น มีบทบาทและช่วยทำหน้าที่ป้องกันพืชและมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความต้านทานพืชต่อความเค็มและความเครียด

6.2 สภาวะเครียดจากโลหะหนัก

พืจีพีอาร์มีบทบาทในการส่งเสริมและป้องกันพืชจากสภาวะเครียดจากโลหะหนักโดยลดการสะสมโลหะหนักในพืช จากการสะสมและสร้างสารเมแทบอลิต์เพื่อเปลี่ยนรูปของโลหะหนัก ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มที่ทนทานต่อความเป็นพิษของโลหะหนักได้ เช่น แบคทีเรียทนต่อทองแดง *Kluyvera ascorbata* SUD165 [36] จะมีบทบาทสำคัญในการ

เคลื่อนย้ายโลหะหนักไปในส่วนต่าง ๆ ของสิ่งแวดล้อม กลไกที่เป็นไปได้ในการทนต่อโลหะหนัก ได้แก่ (1) active efflux system พบในแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Listeria monocytogenes* [37] *Staphylococcus aureus* [38] และแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Cupriavidus necator*, *C. metallidurans* CH34 และ *Pseudomonas* spp. [39-41] (2) สร้างสารประกอบเชิงซ้อนที่มีหมู่ thiol หรือ SH-group เพื่อดักจับโลหะหนัก เช่น glutathione ใน *Rhizobium leguminosarum* [42] และ (3) การเปลี่ยนรูปของโลหะหนัก เช่น ที่พบใน *Klebsiella aerogenes* [43] *Cupriavidus taiwanensis* KCU2500-3 และ *Pseudomonas aeruginosa* KCU2500 ที่แยกได้จากดินในนาข้าว สามารถลดการดูดซึมแคดเมียมของพืชได้ โดยการเปลี่ยนแคดเมียมจากรูปที่ละลายน้ำได้ดี (CdCl_2) ไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ (CdS) เนื่องจากแบคทีเรียสามารถสร้าง inorganic sulfide และ SH-group ช่วยลดการละลายของแคดเมียม ทำให้การสะสมและความเป็นพิษของโลหะหนักในข้าวลดลง [44] โดยลดการเคลื่อนที่และแพร่กระจายของโลหะหนักไปยังส่วนอื่น ๆ ของสิ่งแวดล้อม

6.3 น้ำท่วม

น้ำท่วมเป็นสาเหตุทำให้รากขาดออกซิเจนหรือ hypoxia ในสภาวะปกติมีออกซิเจนละลายน้ำ 230 มิลลิโมลต่อตารางเมตร แต่สภาวะขาดน้ำท่วมทำให้ออกซิเจนลดลงต่ำกว่า 50 มิลลิโมลต่อตารางเมตร และน้ำท่วมเพียงไม่กี่ชั่วโมงจะทำให้ออกซิเจนหมดไปจากดินเนื่องจากการใช้ของจุลินทรีย์ดินและรากพืช นอกจากนี้ยังเกิดการสะสมของก๊าซ เช่น เอทิลีนซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชดังที่กล่าวมาข้างต้น กลไกทั่ว ๆ ไปของพืจีพีอาร์ คือการสร้างเอนไซม์ ACC-deaminase เพื่อย่อยสลาย ACC แต่อย่างไรก็ตาม ในสภาวะน้ำท่วม ปริมาณออกซิเจนในดินจะเป็น

ปัจจัยจำกัดของพีจีฟิอาร์ ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญได้โดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน (anaerobic PGPR) เท่านั้น ที่จะสามารถสร้างและสังเคราะห์เอนไซม์ ACC-deaminase ได้ ดังรายงานของ Grichko และ Glick [45] พบว่ามะเขือเทศจะมีความทนทานและเจริญเติบโตในสภาวะน้ำท่วมได้ก็ต่อเมื่อได้รับพีจีฟิอาร์ เช่น *Enterobacter cloacae* UW4, *E. cloacae*

CAL2, *Pseudomonas putida* ATCC17399/pRKACC หรือ *P. putida* ATCC17399/pRK415 ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีสมบัติการสร้าง ACC-deaminase ได้ นอกจากนี้มันักวิจัยได้เสนอแนวทางเพื่อแก้ปัญหาหนึ่ง โดยการการดัดแปลงพันธุกรรมพืชให้มีเอนไซม์ที่สร้าง ACC-deaminase จากแบคทีเรีย พืชจะสามารถเจริญเติบโตในสภาวะน้ำท่วมและขาดออกซิเจนได้ [46]

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของพีจีฟิอาร์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันพืชในสภาวะเครียด

แบคทีเรีย	สภาวะเครียด	พืช	การตอบสนอง	อ้างอิง
<i>Rhizobium tropici</i> RP163 และ <i>R. giardinii</i> RP161	เค็ม	ถั่ว	ตรึงไนโตรเจน	[19]
<i>Achromobacter piechaudii</i>	เค็ม	มะเขือเทศ	สร้างเอนไซม์ ACC-deaminase และเพิ่มการดูดซึม P, K และน้ำ	[30]
<i>Klebsiella oxytoca</i>	เค็ม	ฝ้าย	เพิ่มการดูดซึม N, P, K, และ Ca ลดการนำ Na เข้าเซลล์ และสร้างฮอร์โมนพืช ออกซิน และละลายฟอสฟอรัส	31
<i>Pseudomonas</i> sp. DW1	เค็ม	มะเขือยาว	สร้างสารต่อต้านอนุมูลอิสระ SOD เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระจาก oxidative stress	[32]
<i>Halomonas variabilis</i> และ <i>Planococcus rifietoensis</i>	เค็ม	Chickpea	สร้าง biofilm และสะสม exopolysaccharides ลดการนำ Na เข้าเซลล์ และช่วยแบคทีเรียครอบครองรากพืช	[33]
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	โลหะหนัก	-	Glutathione (GSH) จับกับ Cd	[42]
<i>Cupriavidus taiwanensis</i> KKU2500-3	โลหะหนัก	ข้าวหอมมะลิ	จับกับ Cd สร้าง thio-rich compounds ผลิต inorganic sulfide เปลี่ยนรูป Cd ให้อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ (CdS) เพิ่มความยาวรากและจำนวนรากฝอย	[44]
<i>Trichoderma harzianum</i> Tr6 และ <i>Pseudomonas</i> sp. Ps14	-	แตงกวา	Induce systemic resistance (ISR)	[53]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> และ <i>P. putida</i>	-	-	Siderophores	[51]
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain 22d/93	-	ถั่ว	Siderophores	[52]
Co-inoculation ระหว่าง <i>R. tropici</i> (CIAT 899) กับ <i>P. polymyxa</i> strains (DSM 36) และ <i>Loutit</i> (L.)	แห้งแล้ง	ถั่ว	สร้างฮอร์โมนพืชและการเกิดปมราก	[56]

6.4 โรคพืช

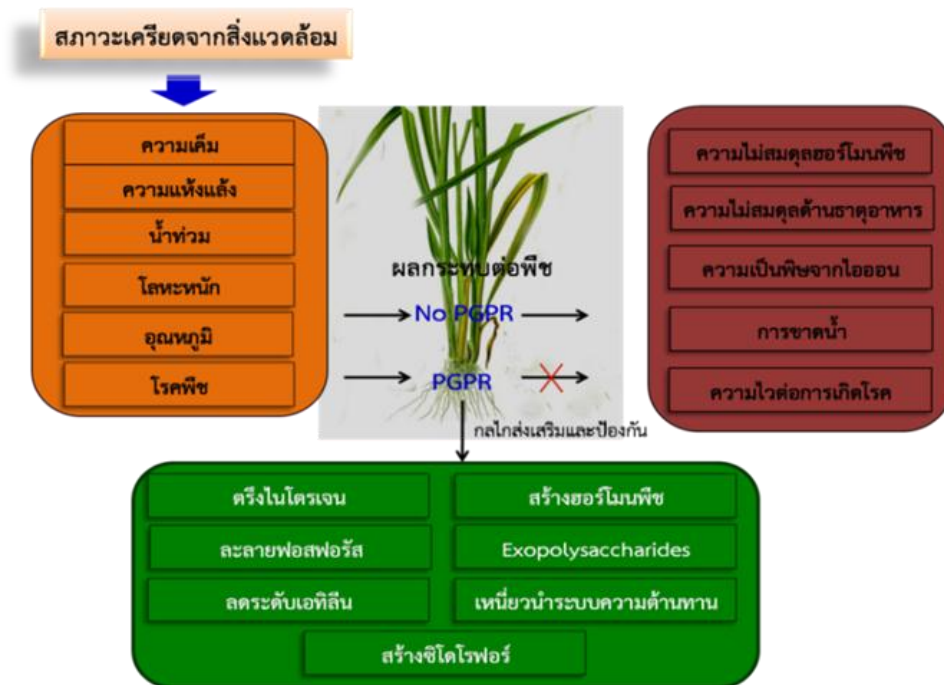
ฟีจีฟิอาร์ช่วยป้องกันพืชจากอันตรายที่เกิดจากโรคพืชโดยกลไกทางอ้อม เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) สารเมแทบอลิไต์ยับยั้งรา (antifungal metabolites) เอนไซม์ การแข่งขันกับโรคพืชและเหนี่ยวนำความต้านทานในพืช การสร้างสารปฏิชีวนะเป็นกลไกที่มีประสิทธิภาพมากสุดในการยับยั้งโรคพืช สารปฏิชีวนะที่แบคทีเรียสร้าง ได้แก่ phenazine-1-carboxylic acid, 2,4-diacetyl phloroglucinol, oomycin, pyoluteorin, pyrrolnitrin, kanosamine, zwittermycin-A, และ pantocin [47] ฟีจีฟิอาร์ยังสามารถป้องกันราโรคพืชได้โดยการสร้างสารยับยั้งการเจริญ ดังที่พบใน *Pseudomonas* ที่สังเคราะห์ hydrogen cyanide (HCN) ไปยับยั้งรากโรคชนิดอื่น ๆ ได้ เช่น รา *Thielaviopsis basicola* สาเหตุของโรครากเน่าในใบยาสูบ [48] *Cladosporium werneckii*, *Pseudomonas cepacia* (*Burkholderia cepacia*) และ *Pseudomonas solanacearum* สามารถสร้างสารย่อยสลายกรดฟูซาริก (Fusaric acid) ที่เป็นสาเหตุทำลายพืชในช่วงที่ติด *Fusarium* [49] ดังนั้นความสามารถในการย่อยสลายกรดฟูซาริกของแบคทีเรียจึงช่วยลดการติดเชื้อจากโรคพืชได้ อีกกลไกหนึ่งที่เกี่ยวข้องในการป้องกันเชื้อโรคพืช คือการสร้างซิเดอร์โรฟอรัส ได้แก่ สาร pyoverdins จาก *Pseudomonas* สาร catechols จาก *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia chrysanthemi* และ *Enterobacteriaceae* สาร hydroxamates จาก *Erwinia carotovora*, *Enterobacter cloacae* และสาร Rhizobactin จาก *Rhizobium meliloti* เป็นต้น [50] ซิเดอร์โรฟอรัสสามารถป้องกันและลดการขยายจำนวนของเชื้อโรคพืชได้โดยจะไปจับกับธาตุเหล็กบริเวณรากพืช ทำให้เชื้อก่อโรคขาดธาตุเหล็ก เป็นการขัดขวาง

การเจริญของเชื้อก่อโรคทางหนึ่ง เช่น hydroxamate ที่ผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* NCIM 5096 และ *P. putida* NCIM 2847 [51] และ *P. syringae* pv. *syringae* 22d/93 สามารถควบคุมแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *glycinea* ที่เป็นสาเหตุโรคใบไหม้ในถั่วเหลืองได้ [52] นอกจากนี้ฟีจีฟิอาร์ยังสามารถเหนี่ยวนำสร้างความต้านทานในพืชให้ทนทานต่อโรคมมากขึ้น [53]

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าฟีจีฟิอาร์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชภายใต้สภาวะปกติและปกป้องพืชในสภาวะเครียด ดังสรุปในรูปที่ 3 อย่างไรก็ตาม ศักยภาพและประสิทธิภาพของฟีจีฟิอาร์แต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทำให้ได้ผลต่างกัน ตัวอย่าง เช่น Zahir และคณะ [54] พบว่า *P. putida* N21 มีศักยภาพในการป้องกันพืชจากความเครียดได้ดีกว่า *P. aeruginosa* (N39) และ *Serratia proteamaculans* (M35) ในทำนองเดียวกันฟีจีฟิอาร์แต่ละชนิดสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ต่างชนิดกัน เช่น *P. fluorescens* กับ Canola [55] และ *P. stutzeri* กับมะเขือเทศ [56] เป็นต้น ความจำเพาะของแบคทีเรียและพืชที่แตกต่างกันนี้อาจเนื่องจากสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด เช่น กิจกรรมของ ACC-deaminase การสร้าง IAA ความสามารถในการครอบครองรากพืช ความสามารถในการละลายฟอสฟอรัส และการตรึงไนโตรเจน เป็นต้น ดังนั้นการประยุกต์ใช้ฟีจีฟิอาร์ร่วมกับจุลินทรีย์อื่น ๆ อาจทำให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นจากการทำงานร่วมกันของฟีจีฟิอาร์ เช่น Figueiredo และคณะ [57] ศึกษาผลของการเติมเชื้อร่วมกันระหว่าง *Paenibacillus polymyxa* และ *Rhizobium tropici* ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณไนโตรเจน และการเกิดปมในถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L.) ภายใต้สภาวะขาดน้ำ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการปลูกเชื้อร่วมกัน

(co-inoculation) สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช ปริมาณไนโตรเจน และการเกิดปมของถั่วภายใต้ สภาวะเครียดจากความแห้งแล้ง นอกจากนี้การเติม ฟอสฟอรัสที่ไม่ละลายน้ำร่วมด้วยกับการใช้พีจีอาร์

หลาย ๆ ชนิด ก็ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตดีขึ้น เนื่องจากพีจีอาร์สามารถละลายฟอสฟอรัสให้อยู่ใน รูปที่พืชสามารถนำไปใช้งานได้ [58]



รูปที่ 3 การเจริญเติบโตของพืชในสภาวะปกติและสภาวะเครียด (ดัดแปลงจาก [1])

7. ข้อจำกัดในการใช้ PGPR

การนำพีจีอาร์ไปใช้อย่างไม่เหมาะสมอาจ ก่อให้เกิดผลกระทบด้านลบต่อการเจริญเติบโตของพืช สุขภาพของมนุษย์และคุณภาพสิ่งแวดล้อมได้ เช่น การ สร้าง HCN ในปริมาณมากเกินไป จะส่งผลในการ ทำลายเมแทบอลิซึมและการเจริญเติบโตของรากพืช โดยพบว่าแบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* และ *Bacillus* สร้าง HCN ได้ถึงร้อยละ 88.89 และ 50 ตามลำดับ [59] ในทำนองเดียวกัน การสร้างออกซิน ถ้าอยู่ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มการ เจริญเติบโต แต่หากในระดับความเข้มข้นสูง ๆ จะมีผล ยับยั้งการยืดยาวของรากแทน [60,61] หรือแม้แต่

Rhizobitoxine ที่ผลิตโดย *Bradyrhizobium elkanii* เพื่อยับยั้งการสังเคราะห์เอทิลีนและเพิ่มการเกิดปม ของรากพืชในสภาวะเครียดยังเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิด chlorosis ในถั่วเหลืองได้ [62] นอกจากนี้พีจีอาร์ บางสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญ เติบโตของพืช แต่เป็นเชื้อก่อโรคหรือฉวยโอกาสก่อโรค ในมนุษย์ จึงไม่เหมาะที่จะนำมาประยุกต์ใช้ หรือแม้ การเติมพีจีอาร์สู่สิ่งแวดล้อมในปริมาณมากเกินไป อาจไปทำลายแบคทีเรียสายพันธุ์ดีในสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพและปลอดภัย ต่อสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้อง พิจารณาอย่างยิ่ง

8. บทสรุป

พืชจีเอ็มอาร์สามารถลดผลกระทบหรือบรรเทาความเครียดในพืชได้ เนื่องจากความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันพืชจากความเครียดที่เกิดจากสิ่งที่ไม่มีชีวิตและมีชีวิต โดยกลไกทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาถึงการประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต อย่างไรก็ตาม การศึกษาการใช้พืชจีเอ็มอาร์ในสภาพจริงตามธรรมชาติยังไม่ประสบความสำเร็จมากนัก เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด การศึกษาต่อไปควรมีแนวทางในการหาคำตอบ ดังนี้ (1) ค้นหา/สำรวจพืชจีเอ็มอาร์ที่เป็นประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (2) ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียพืชจีเอ็มอาร์และประสิทธิภาพการปลูก เชื่อมร่วมกันภายใต้ความเครียดในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ (3) ศึกษาปฏิสัมพันธ์การทำงานร่วมกันระหว่างแบคทีเรียกับเชื้อราอื่น ๆ เช่น ไมคอร์ไรซา (4) ศึกษาอื่นที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากแบคทีเรีย และ (5) การถ่ายโอนยีน เป้าหมายเข้าสู่พืชด้วยเทคโนโลยีทางชีวภาพ

9. เอกสารอ้างอิง

- [1] Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J., Cheng, Z. and Duan, J., 2007, Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria, *Eur. J. Plant. Pathol.* 119: 329-339.
- [2] Khan, M.H. and Panda, S.K., 2008, Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress, *Acta. Physiol. Plant.* 30: 81-89.
- [3] Sakamoto, A. and Murata, N., 2002, The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants, *Plant Cell Environ.* 25: 163-171.
- [4] Slama, I., Messedi, D., Ghnaya, T., Savoure, A. and Abdely, C., 2006, Effects of water deficit on growth and proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*, *Environ. Exp. Bot.* 56: 231-238.
- [5] Wani, S.H., Singh, N.B., Haribhushan, A. and Mir, J.I., 2013, Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance-role of glycine betaine. *Curr. Genomics* 14(3): 157-165.
- [6] Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Kumar, U. and Annapurna, K., 2008, PGPR-biotechnology for Management of Abiotic and Biotic Stresses in Crop Plants, In Maheswari, D.K. and Dubey, R.C. (Eds.), *Potential Microorganisms for Sustainable Agriculture*, I.K. International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi.
- [7] Adesemoye, A.O. and Kloepper, J.W., 2009, Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer use efficiency, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85: 1-12.
- [8] Lau, J.A. and Lennon, J.T., 2011, Evolutionary ecology of plant-microbe interactions: soil microbial structure alters selection on plant traits, *New Phytol.* 192: 215-224.
- [9] Burdman, S., Jurkevitch, E. and Okon, Y., 2000, Recent Advances in the Use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria

- (PGPR) in Agriculture, pp. 229-250, In Subba Rao, N.S. and Dommergues, Y.R., Microbial Interactions in Agriculture and Forestry, Science Publishers, Enfield, NH.
- [10] Sahi, C., Singh, A., Kumar, K., Blumwald, E. and Grover, A., 2006, Salt stress response in rice: Genetics, molecular biology, and comparative genomics, *Funct. Integr. Genomics* 6: 263-284.
- [11] Hakim, M.A., Juraimi, A.S., Begum, M., Hanafi, M.M., Ismail, M.R. and Selamat, A., 2010, Effect of salt stress on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.), *Afr. J. Biotechnol.* 9: 1911-1918.
- [12] สุมาลี ชุกำแพง, 2555, พืชในสภาวะเครียดเกลือ, ว. วิทยาศาสตร์ไทย 4: 15-24.
- [13] Jouyban, Z., 2012, The effects of salt stress on plant growth, *Tech. J. Eng. App. Sci.* 2: 7-10.
- [14] Amirjani, M.R., 2010, Effect of NaCl on some physiological parameters of rice, *EJBS* 3: 6-16.
- [15] Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev, T., 2003, Plant response to drought and stress tolerance. *Bulg. J. Plant Physiol.* S: 187-206.
- [16] Schützendübel, A. and Polle, A., 2002, Plant responses to abiotic stresses: Heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization, *J. Exp. Bot.* 53: 1351-1365.
- [17] Sun, P., Tian, Q.Y., Zhao, M.G., Dai, X.Y., Huang, J.H., Li, L.H. and Zhang, W.H., 2007, Aluminum-induced ethylene production is associated with inhibition of root elongation in *Lotus japonicus* L., *Plant Cell Physiol.* 48: 1229-1235.
- [18] Singleton, P.W. and Bohlool, B.B., 1984, Effects of salinity on nodule formation by soybean, *Plant Physiol.* 75: 72-76.
- [19] Nabizadeh, E., Jalilneiad, N. and Armakani, M., 2011, Effect of salinity on growth and nitrogen fixation of Alfalfa (*Medicago sativa*), *World Appl. Sci. J.* 13: 1895-1900.
- [20] Bouhmouch, I., Souad-Mouhsine, B., Brhada, F. and Aurag, J., 2005, Influence of host cultivars and *Rhizobium* species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under salt stress, *J. Plant Physiol.* 162: 1103-1113.
- [21] Jofre, E., Rivarola, V., Balegno, H. and Mori, G., 1998, Differential gene expression in *Azospirillum brasilense* under saline stress, *Can. J. Microbiol.* 44: 929-936.
- [22] Bhargava, S., Saxena, R.K., Pandey, P.K. and Bisen, P.S., 2003, Mutational engineering of the cyanobacterium *Nostoc muscorum* for resistance to growth-inhibitory action of LiCl and NaCl, *Curr. Microbiol.* 47: 5-11.
- [23] Serraj, R., 2009, Effects of drought stress on legume symbiotic nitrogen fixation: Physiological mechanisms, *Ann. Bot.* 104: 1263-1280.

- [24] Kumar, V., Parvatam, G. and Ravishankar, G., 2009, AgNO₃ - a potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator, *Electron. J. Biotechnol.* 12(2): 1-15.
- [25] Ashraf, M., 2009, Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers, *Biotechnol. Adv.* 27: 84-93.
- [26] Jansonius, N.J., 1998, Structure, evolution and action of vitamin B6-dependent enzymes, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8: 759-769.
- [27] Gray, E.J. and D.L. Smith, 2005, Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes, *Soil Biol. Biochem.* 37: 395-412.
- [28] Ahemad, M. and Khan, M.S., 2011, Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria: recent advancements, *Insight Microbiology* 1(3): 39-54.
- [29] Hamdia, M.A., Shaddad, M.A.K. and Doaa, M.M., 2004, Mechanism of salt tolerance and interactive effect of *Azospirillum brasiliense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions, *Plant Growth Regul.* 44: 165-174.
- [30] Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B.R., 2004, Plant growth-promoting bacteria that confer resistance in tomato plants to salt stress, *Plant Physiol. Biochem.* 42: 565-572.
- [31] Yue, H., Mo, W., Li, C., Zheng, Y. and Li, H., 2007, The salt stress relief and growth promotion effect of RS-5 on cotton, *Plant Soil* 297: 139-145.
- [32] Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y. and Guo, B., 2010, Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress, *Agric Water Manag.* 97: 1994-2000.
- [33] Qurashi, A.W. and Sabri, A.N., 2012, Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and soil aggregation under salt stress, *Braz. J. Microbiol.* 43: 1183-1191.
- [34] Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L.E., 2004, Azospirillum-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural, and environmental advances, *Can. J. Microbiol.* 50: 521-577.
- [35] Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2007, *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress, *Colloids Surf. B.* 60: 7-11.
- [36] Burd, G.I., Dixon, D.G. and Glick, B.R., 1998, A plant growth promoting

- bacterium that decreases nickel toxicity in plant seedlings, Appl. Environ. Microbiol. 64: 3663-3668.
- [37] Lebrun, M., Audurier, A. and Cossart, P., 1994, Plasmid-borne cadmium resistance genes in *Listeria monocytogenes* are present on Tn5422, a novel transposon closely related to Tn917, J. Bacteriol. 176: 3049-3061.
- [38] Bruins, M.R., Kapil, S. and Oehme, F.W., 2000, Microbial resistance to metals in the environment. Ecotoxic. Environ. Safety 45: 198-207.
- [39] Perron, K., Caille, O., Rossier, C., van Delden, C., Dumas, J-L. and Köhler, T., 2004, CzcR-CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, J. Bacterial. Chem. 279: 8761-8768.
- [40] Zoropogui, A., Gambarelli, S. and Covès, J., 2008, CzcE from *Cupriavidus metallidurans* CH34 is a copper-binding protein, Biochem. Biophys. Res. Commun. 365: 735-739.
- [41] Gibbons, S.M., Feris, K., McGuirl, M.A., Morales, S.E., Hynninen, A., Ramsey, P.W. and Gannon, J.E., 2011, Use of microcalorimetry to determine the costs and benefits to *Pseudomonas putida* strain KT2440 of harboring cadmium efflux genes, Appl. Environ. Microbiol. 77: 108-113.
- [42] Lima, A.I.G., Corticeiro, S.G. and Figueira, E., 2006, Glutathione-mediated cadmium sequestration in *Rhizobium leguminosarum*, Enzyme Micro. Technol. 39: 763-769.
- [43] Aiking, H, Govers, H. and van't Riet J., 1985, Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture, Appl. Environ. Microbiol. 50: 1262-1267.
- [44] Siripornadulsil, S. and Siripornadulsil, W., 2013, Cadmium-tolerant bacteria reduce the uptake of cadmium in rice: Potential for microbial bioremediation, Ecotoxic. Environ. Safety 94: 94-103.
- [45] Grichko, V.P. and Glick, B.R., 2001, Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria, Plant Physiol. Biochem. 39: 11-17.
- [46] Grichko, V.P., and Glick, B.R., 2001, Flooding tolerance of transgenic tomato plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase controlled by the 35S, rolD or PRB-1b promoter, Plant Physiol. Biochem. 39: 19-25.
- [47] Dilantha Fernando, W.G., Nakkeeran, S. and Zhang, Y., 2006, Biosynthesis of Antibiotics by PGPR and Its Relation in Biocontrol of Plant Diseases. pp 67-109, In Siddiqui, Z.A. (Ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Netherlands.

- [48] Voisard, C., Keel, C., Haas, D. and Dèfago, G., 1989, Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions, EMBO J. 8: 351-358.
- [49] Toyoda, H. and Utsumi, R., 1991, Method for the prevention of *Fusarium* diseases and microorganisms used for the same, U.S. Patent #4, 988, 586.
- [50] Bouizgarne, B., 2006, Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management. pp 15-47, In Siddiqui, Z.A. (Ed.) PGPR: Biocontrol and Biofertilization, Springer, Netherlands.
- [51] Sayyed, R.Z., Badgujar, M.D., Sonawane, H.M., Mhaske, M.M. and Chincholkar, S.B., 2005, Production of microbial iron chelators (siderophores) by fluorescent *Pseudomonas*, IJBT. 4: 484-490.
- [52] Wensing, A., Braun, S.D., Büttner, P., Expert, D., Völksch, B., Ullrich, M.S. and Weingart, H., 2010, Impact of siderophore production by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 22d/93 on epiphytic fitness and biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* 1a/96, Appl. Environ. Microbiol. 76: 2704-2711.
- [53] Alizadeh, H., Behboudi, K., Ahmadzadeh, M., Javan-Nikkhah, M., Zamioudis, C., Pieterse, C.M.J. and Bakker, P.A.H.M., 2013, Induced systemic resistance in cucumber and *Arabidopsis thaliana* by the combination of *Trichoderma harzianum* Tr6 and *Pseudomonas* sp. Ps14, Biol. Control 65: 14-23.
- [54] Zahir, Z.A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S.M. and Asghar, H.N., 2009, Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions, Arch. Microbiol. 191: 415-424.
- [55] Jalili, F., Khavazi, K., Pazira, E., Nejati, A., Rahmani, H.A., Sadaghiani, H.R. and Miransari, M., 2009, Isolation and characterization of ACC deaminase-producing Fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth, J. Plant Physiol. 166: 667-674.
- [56] Tank, N. and Saraf, M., 2010, Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants, J. Plant Interact. 5: 51-58.
- [57] Figueiredo, M.V.B., Burity, H.A., Martinez, C.R. and Chanway, C.P., 2008, Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*, Appl. Soil Ecol. 40: 182-188.

- [58] Lavakush, Yadav, J., Verma, J. P., Jaiswal, D. K. and Kumar, A., 2014, Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*), Eco. Eng. 62: 123-128.
- [59] Saharan, B.S. and Nehra, V., 2011, Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review, Life Sci. Med. Res. 21: 1-30.
- [60] Patten, C.L. and Glick, B.R., 1996, Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid, Can. J. Microbiol. 42: 207-220.
- [61] Xie, H., Pasternak, J.J. and Glick, B.R., 1996, Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indole acetic acid, Curr. Microbiol. 32: 67-71.
- [62] Xiong, K. and Fuhrmann, J.J., 1996, Comparison of rhizobitoxine-induced inhibition of betacystathionase from different bradyrhizobia and soybean genotypes, Plant Soil 186: 53-61.