บทคัดย่อ

การปลูกข้าวในสภาพไร่มีโอกาสเผชิญกับสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมหลายประการ ทั้งสภาวะเครียดที่เกิดจากปัจจัยทางกายภาย และชีวภาพ โดยการตอบสนองของต้นข้าวต่อสภาวะเครียดนี้ส่งผลให้ต้นข้าวมีอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง และส่งผลถึงปริมาณผลผลิตในที่สุด ดังนั้นหากต้องการลดการตอบสนองต่อสภาวะเครียดในต้นข้าว จึงมีแนวคิดที่จะใช้เชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการเข้าอยู่อาศัยในเนื้อเยื่อข้าว (endophyte) ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase เป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับการปลูกข้าว โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียในกลุ่มแบรดี้ไรโซเบียมที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ ACC deaminase มีความสามารถในการผลิตฮอร์โมนพืช และช่วยให้ต้นข้าวเจริญได้ในสภาวะเครียดแบบต่าง ๆ โดยในงานวิจัยนี้เน้นที่สภาวะขาดน้ำและสภาวะน้ำท่วมขัง ซึ่งผลการทดลองพบเชื้อแบรดี้ไรโซเบียมจำนวน 2 ไอโซเลท คือ R48 และ R64 ที่มีคุณสมบัติที่ต้องการ แต่พบว่าสามารถช่วยให้ต้นข้าวเจริญได้ดีกว่าพืชในตำรับควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อภายใต้สภาวะขาดน้ำเท่านั้น แต่ไม่ประสบผลสำเร็จในสภาวะน้ำท่วมขัง ดังนั้นจึงได้นำแบรดี้ไรโซเบียมทั้ง 2 ไอโซเลทมาทดสอบกับข้าวต่อไปเพื่อตรวจสอบตำแหน่งการอยู่อาศัยของเชื้อในต้นข้าว และผลการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางชีวเคมีของต้นข้าวที่เกิดจากการใช้เชื้อ endophyte นี้เมื่อปลูกภายใต้สภาวะขาดน้ำ โดยทำการทดลองเทียบกับเชื้อแบรดี้ไรโซเบียมอ้างอิง สายพันธุ์ SUTN9-2 ซึ่งเคยพบว่าเป็นเชื้อที่เจริญในเนื้อเยื่อข้าวและส่งเสริมการเจริญของข้าวภายใต้สภาวะปกติได้ ทั้งนี้ผลการตรวจสอบตำแหน่งที่อยู่ของเชื้อ endophyte ที่ใช้ในการทดลองภายใต้การปลูกสภาวะปกติ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน และวิธีการย้อมเซลล์แบคทีเรียที่มียีน *gus* ติดตาม (GUS-staining) พบว่าเชื้อที่ใช้ทดสอบเหล่านี้มีความสามารถในการเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชได้จริง โดยเข้าอยู่อาศัยในบริเวณรากข้าว ทั้งนี้พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท R64 ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดีที่สุดซึ่งสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียนี้ในเนื้อเยื่อข้าวที่มีมากกว่าเชื้อที่ใช้ทดสอบอื่น แต่ถึงแม้เชื้อเหล่านี้ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวในสภาวะขาดน้ำได้ดีเทียบเท่ากับการปลูกในสภาวะปกติ เชื้อสายพันธุ์ SUTN9-2 สามารถลดปริมาณเอทธิลีนที่เกิดจากสภาวะเครียด และช่วยให้ต้นข้าวมีเปอร์เซ็นต์การฟื้นตัวจากการขาดน้ำได้ดีกว่าต้นข้าวที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ ทั้งนี้ยืนยันได้จากการลดลงของระดับกิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ในต้นข้าวที่ปลูกด้วยเชื้อ SUTN9-2, R48 และ R64 เมื่อเทียบกับต้นข้าวที่ไม่ได้ปลูกเชื้อเมื่อทดสอบภายใต้สภาวะการขาดน้ำ ซึ่งอาจเกิดจากปริมาณของ reactive oxygen species (ROS) ที่ผลิตจากสภาวะเครียดมีลดปริมาณลง แสดงให้เห็นว่าพืชมีสภาวะเครียดลดลง ซึ่งเป็นอิทธิพลมาจากการใช้เชื้อ endophyte เหล่านี้ ตัวอย่างเช่น เชื้อไอโซเลท R48 สามารถกระตุ้นให้พืชสร้างเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) เพื่อบรรเทาความเป็นพิษต่อเซลล์ที่เกิดจากสารกลุ่ม ROS ได้มากกว่าต้นข้าวที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ นอกจากนี้เชื้อไอโซเลท R48 และ R64 ยังช่วยกระตุ้นให้พืชสร้างรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงให้เพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งอาจเป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้ต้นข้าวยังคงทนต่อสภาวะเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ถึงแม้จะไม่สามารถใช้เชื้อ endophyte เหล่านี้เป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวในสภาวะขาดน้ำได้โดยตรง แต่อาจสามารถใช้เชื้อกลุ่มนี้ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ หรือปุ๋ยเคมีในปริมาณต่ำ ๆ เพื่อให้มีธาตุอาหารเพียงพอต่อต้นข้าว ในขณะที่เชื้อ endophyte ทำหน้าที่ในการลดความเครียดในพืช หรือส่งเสริมการฟื้นตัวของต้นข้าวหากต้องเผชิญกับสภาวะขาดน้ำเมื่อต้องปลูกในสภาพไร่ ซึ่งการทดสอบเชื้อเหล่านี้ในสภาพไร่จะได้ดำเนินการต่อไป

Abstract

Rice growing under field condition could be able to encounter the several stress conditions, including biotic and abiotic stresses. The stress responses occurring in plant can reduce plant growth and yield of rice. To alleviate the stress responses, endophytic bacteria containing the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase activity would be another choice of biofertilizer to be used with rice cultivation. This research project focused on the flooding and drying conditions. The two selected bradyrhizobial isolates, R48 and R64 were obtained due to their properties of plant hormone (IAA) production, contain ACC deaminase activity, and support plant growth under drying stress condition. However, these isolates did not promote the growth under flooding condition. Therefore, *Bradyrhizobium* sp. isolates R48 and R64 were inoculated to rice and subjected to verify the localization of cell in rice tissue, as well as the plant physiological and biological changes under normal and drying conditions compared with the plant inoculated with the reference strain of *Bradyrhizobium* sp. SUTN9-2. The SEM and GUS-staining experiments revealed that these three bacteria are rice endophyte. Under normal condition, isolate 64 promoted the highest rice growth which is correlated with the high number of cell in the rice tissue. Although these endophytic bacteria could not support rice growth in stress condition, strain SUTN9-2 reduce the amount of stress ethylene production and also provided higher plant growth recovery rate than that of non-inoculated plant. The significant decrease of superoxide dismutase (SOD) activity in plant inoculated with these three endophytic bacteria under stress condition indicated the lowering of reactive oxygen species (ROS) level which occur in plant from stress condition. The activity of ascorbate peroxidase (APX), which was activated in plant inoculated with endophytic bacteria isolate R48 may be one of mechanisms to scavenge the ROS and reduce the toxicity in cell. Moreover, bacteria isolates R48 and R64 also increased the amount of plant pigments required for photosynthesis. Therefore, rice endophytic bradyrhizobium cannot be able to use alone as biofertilizer to support plant growth under drying condition. However, these rice endophyte can be used to reduce stress and increase the plant recovery from stress condition. Therefore, the application of organic fertilizer or small amount of chemical fertilizer together with these endophytic bacteria would be appropriate for rice growing in the field condition that risk for drying condition in Thailand. Further studies in the field application will be conducted.