

การส่งเสริมการเจริญของพืชเศรษฐกิจที่ปลูกในดินที่ได้รับผลกระทบจากเกลือโดย
จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส
STIMULATION GROWTH OF ECONOMIC CROPS UNDER SALT-AFFECTED
SOILS BY ACC-DEAMINASED PRODUCING MICROORGANISMS

ชนิษฐา สมตระกูล¹ และ วราภรณ์ ฉวยฉาย^{2,*}
Khanitta Somtrakoon¹, and Waraporn Chouychai^{2,*}

¹ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

¹ Faculty of Science, Mahasarakham University

² Faculty of Science and Technology, Nakhonsawan Rajabhat University

Received: 23 April 2020

Revised: 4 November 2020

Accepted: 4 December 2020

บทคัดย่อ

ปัญหาดินเค็มเป็นปัญหาดินที่สำคัญในประเทศไทย ซึ่งทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง โดยส่งผลกระทบต่อการทำงานของพืชหลายประการ เช่น ยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง กระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ และทำให้พืชสร้างเอทิลีนมากขึ้น การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส เป็นวิธีการหนึ่งซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาวะดินเค็มได้ เพราะเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสจะลดปริมาณเอซีซี ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอทิลีนในพืช ในบทความนี้ จึงได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับผลกระทบของสภาวะดินเค็มต่อการเจริญเติบโตของพืช บทบาทของเอทิลีนในการตอบสนองต่อสภาวะเครียดเกลือในพืช การทำงานของเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส และบทบาทของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสต่อการส่งเสริมการ

* ผู้ประสานงาน: วราภรณ์ ฉวยฉาย

อีเมลล์: waraporn.c@nsru.ac.th

เจริญเติบโตของพืช เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำแบคทีเรียกลุ่มนี้ไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรต่อไป

คำสำคัญ: แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช, สภาวะเครียดเกลือ, เอซีซีดีอะมิเนส, เอทิลีน

Abstract

Salinity is a major soil problem in Thailand, which causes a decrease in plant growth and affects the work of plants in many ways such as Inhibits photosynthesis, stimulate free radicals and motivate plants to produce more ethylene. The use of bacteria to promote the growth of plants with capable of producing ACCD aminase, is considered one of the methods that helped to promote the growth of plants in saline conditions as the enzyme ACCD aminase will reduce the amount of ACC which was a precursor to ethylene synthesis in plants. In this manuscript, the data was collected regarding the effects of salinity on plant growth, ethylene's role in the response to salt stress in plants, actions of ACCD Aminase, and the role of bacteria with capable of producing ACCD aminase in promoting plant growth, in order provide the basis for further application of this group of bacteria in agriculture.

Keywords: Plant growth promoting bacteria, Salt stress, ACC deaminase, Ethylene

บทนำ

ประเทศไทยมีบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากเกลือครอบคลุมพื้นที่ 2.3 ล้านเฮกตาร์ ในจำนวนพื้นที่นี้พบว่าพื้นที่ภายในของประเทศที่ได้รับผลกระทบจากเกลือมีปริมาณสูงถึง 1.9 ล้านเฮกตาร์ พื้นที่นี้มีกมที่ตั้งอยู่ในบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ส่วนอีกประมาณ 4 แสนเฮกตาร์เป็นบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากเกลือซึ่งตั้งอยู่บริเวณชายฝั่งทะเล พื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากเกลือในบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ

ไทยมักมีสาเหตุมาจากกระบวนการทางธรณีเคมีของดิน ในขณะที่ดินเค็มบริเวณชายฝั่งทะเล มักมีสาเหตุมาจากการแพร่กระจายของน้ำทะเลในบริเวณชายฝั่ง (Arunin & Pongwichian, 2016) ประเภทของดินที่รับผลกระทบจากเกลือของประเทศไทยแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ดินเค็ม (saline soil) และดินโซดิก (sodic soil) (Arunin & Pongwichian, 2016) โดยดินโซดิก หมายถึง ดินที่มีค่าร้อยละของโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้มากกว่า 15 ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ (Electrical Conductivity at Saturation Extract; EC_e) ต่ำกว่า 2 เดซิซีเมน/เมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 8.5-10 ชนิดของเกลือที่ละลายน้ำได้มักเป็นเกลือคาร์บอเนตหรือเกลือโบคาร์บอเนตของโซเดียม (Arunin, 1996) ส่วนดินเค็มหมายถึงดินที่มีค่าร้อยละของโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ต่ำกว่า 15 ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำสูงกว่า 2 เดซิซีเมน/เมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชของดินมักต่ำกว่า 8.5 ชนิดของเกลือที่พบมักเป็นเกลือคลอไรด์และซัลเฟตของโซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียม (Arunin, 1996) การปลูกพืชในดินที่ได้รับผลกระทบจากเกลือส่งผลเสียต่อพืชโดยเกลือ ทำให้แรงดันออสโมติกของสารละลายดินเพิ่มสูงขึ้น จึงรบกวนการดูดซึมน้ำและสารอาหารของพืช กรณีที่ระดับความเข้มข้นของเกลือสูงมากจะลดการเจริญของพืชและชักนำให้ระบบเมแทบอลิซึมของพืชผิดปกติได้ (Machado et al., 2017) โดยสามารถแบ่งประเภทของพืชตามระดับความไวต่อเกลือเป็น 5 ประเภท ได้แก่ พืชที่ไวต่อเกลือสูงสามารถเจริญได้ในดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 0-2 เดซิซีเมน/เมตร พืชที่ไวต่อเกลือในระดับต่ำสามารถเจริญได้ในดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 2-4 เดซิซีเมน/เมตร พืชที่ไวต่อเกลือปานกลางสามารถเจริญได้ในดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 4-8 เดซิซีเมน/เมตร พืชที่ทนเกลือปานกลางสามารถเจริญได้ในดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ 8-16 เดซิซีเมน/เมตร และพืชที่ทนเกลือสามารถเจริญได้ในดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำมากกว่า 16 เดซิซีเมน/เมตร (Shirokova et al., 2000) การขยายตัวของเมืองเข้าสู่พื้นที่ชนบทที่มีการทำเกษตรกรรมและการสูญเสียพื้นที่ในการทำเกษตรกรรมจากสภาพดินเสื่อมสภาพจากผลกระทบของเกลือ ส่งผลให้พื้นที่ในการเพาะปลูกพืชเพื่อเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์ลดลง การทำเกษตรกรรมในพื้นที่ดินเค็มจึงเป็นสิ่งที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ เทคโนโลยีต่างๆ ทางเกษตรจึงถูกพัฒนาขึ้นเพื่อปรับปรุงคุณภาพดินเพื่อให้สามารถทำเกษตรกรรม

ในพื้นที่ดินเค็มได้ เช่น การชะล้างเกลือออกจากดิน การเติมยิปซัมหรือปุ๋ยพืชสดเพื่อปรับปรุงโครงสร้างและคุณภาพดิน การปลูกพืชทนเค็ม รวมทั้งการใช้จุลินทรีย์กลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืช เป็นต้น (Rasool et al., 2013; Ilangumaran & Smith, 2017)

สภาวะเครียดเกลือ

สภาวะเครียดเกลือ เป็นสภาวะที่พืชเผชิญกับความเค็มซึ่งเกิดจากการการมีไอออนในดินโดยเฉพาะโซเดียมไอออนมาก และส่งผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชอย่างกว้างขวาง อาทิเช่น ลดความสามารถในการดูดซึมน้ำและธาตุอาหารของรากพืช ยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง เกิดการสะสมอนุมูลอิสระ รวมทั้งการกระตุ้นให้พืชสร้างเอทิลีนซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่งมากขึ้นด้วย เอทิลีนจะส่งผลในด้านการส่งเสริมการสุกแก่และการร่วงของอวัยวะของพืช และยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช การยับยั้งการสร้างเอทิลีนวิธีการหนึ่ง คือ การลดปริมาณสารตั้งต้นของเอทิลีนคือกรด 1-อะมิโนไซโคลโพรเพน-1-คาร์บอกซิลิกหรือเอซีซี (1-aminocyclopropane-1- carboxylic acid; ACC) ด้วยแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสได้ โดยเนื้อหาต่อไปนี้จะเป็นการสรุปผลของสภาวะเครียดเกลือต่อการเจริญเติบโตของพืช บทบาทของเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส และการใช้แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์นี้ได้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาวะเครียดเกลือในรายละเอียดต่อไป

สภาวะเครียดเกลือต่อการเจริญเติบโตของพืช

ความเค็มมีผลกระทบต่อพืชแตกต่างกันไปตามชนิดพันธุ์ของพืช และยังส่งผลต่อการเจริญของพืชในทุกๆระยะของการเจริญ ได้แก่ การงอก การเจริญของต้นตามปกติ และการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ (Shrivastava & Kumar, 2015) สภาวะเครียดเกลือเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาและเมแทบอลิซึมของพืชหลายลักษณะ ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่พืชสัมผัสกับเกลือ การตอบสนองของพืชต่อความเค็มแบ่งเป็น 2 ระยะ ได้แก่ 1) การตอบสนองระยะสั้นเกิดขึ้นภายในระยะเวลาไม่กี่นาที่จนถึงไม่กี่วัน การตอบสนองระยะนี้ทำให้การเจริญของพืชลดลงโดยไม่ขึ้นกับไอออน ทำให้ปากใบปิดและยับยั้งการขยายขนาดของเซลล์โดยเฉพาะที่ยอด และ 2) การตอบสนองระยะที่สองใช้เวลาหลายวันจนถึงหลายสัปดาห์ การตอบสนองระยะนี้ระดับไอออนจะเป็นพืชต่อเซลล์ทำให้เมแทบอลิซึมเกิดได้ช้าลง แก่ก่อนวัย (premature senescence) และทำให้เซลล์ตายในที่สุด (Isayenkov & Maathuis, 2019) ความเป็นพิษใน

ระยะแรกของสภาวะเครียดเกลือทำให้การเจริญของพืชลดลงจากสภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติก ความสามารถในการดูดซึมน้ำของรากพืชลดลง พืชจะสูญเสียน้ำออกออกจากใบ ต่อมาจึงเกิดอาการเป็นพิษจากการสะสมไอออน การได้รับโซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออนในเซลล์ส่งผลกระทบต่อสมดุลไอออนภายในเซลล์และหากได้รับในปริมาณที่มากเกินไปทำให้สรีระวิทยาของพืชผิดปกติ (Gupta & Huang, 2014) เช่น ยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสงซึ่งเกิดจากการสะสมโซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออนในคลอโรพลาสต์และคลอโรพลาสต์ การสะสมโซเดียมไอออนในพืชส่งเสริมการเกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ผ่านการผลิตอนุพันธ์ของออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species; ROS) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสัญญาณในระหว่างสภาวะเครียดเกลือ อนุมูลอิสระนี้จะเร่งปฏิกิริยาที่เป็นพิษ ก่อกลายพันธุ์ในระดับดีเอ็นเอ การสลายตัวของโปรตีน และการทำลายเยื่อหุ้ม สภาวะนี้เกิดควบคู่กับอาการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อของรากและยอดโดยส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ ผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ ความเค็มลดการออกดอกและผลผลิตของพืช ลดการสร้างเมล็ดเนื่องจากส่งผลกระทบต่อการผสมเกสร (Numan et al., 2018; Bhise & Dandge, 2019; Bharti & Barnawal, 2019) นอกจากนี้ การสะสมโซเดียมไอออนยังทำให้เกิดความเป็นพิษจากไอออน เช่น เกิดการแทนที่ไอออนของโพแทสเซียมด้วยไอออนของโซเดียมในปฏิกิริยาชีวเคมีภายในเซลล์ นอกจากนี้ไอออนของโซเดียมและคลอไรด์ยังส่งผลให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป และรบกวนการดูดซึมธาตุอาหารของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน แคลเซียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และสังกะสี โดยปริมาณโซเดียมที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลกระทบต่อสมดุลแคลเซียมและโพแทสเซียมเข้าสู่พืช (Shrivastava & Kumar, 2015) ความเค็มในบริเวณไรโซสเฟียร์ (rhizosphere) ทำให้พืชดึงน้ำเข้าสู่รากไม่ได้ ลดการนำธาตุอาหารเข้าสู่พืช เกลือที่ละลายอยู่ในน้ำเป็นปริมาณมากส่งผลกระทบต่อสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช การงอกของเมล็ด การเจริญของรากและกิ่ง การเกิดสัญญาณของพืช การขนส่งไอออน การทำงานของเอนไซม์ การเจริญจนเต็มวัยของโครงสร้างเซลล์ นอกจากนี้ รากพืชจะใช้พลังงานไปในการปรับสมดุลออสโมติก โดยเพิ่มการสะสมตัวถูกละลายต่างๆ (Numan et al., 2018) ผลกระทบเหล่านี้นำมาสู่การยับยั้งการเจริญของพืช ผลผลิตของพืชลดลง และหากได้รับเกลือในสภาวะที่ยาวนานจะทำให้พืชตายได้ (Tao et al., 2015)

ความสัมพันธ์ระหว่างเอทิลีนและภาวะเครียดเกลือ

เอทิลีนส่งผลต่อการควบคุมการเจริญของพืชตามธรรมชาติ โดยพบว่าเอทิลีนควบคุมกระบวนการต่างๆ ของพืชหลายลักษณะ เช่น ควบคุมการเจริญของพืช ควบคุมพัฒนาการของพืช นอกจากนี้ระดับของเอทิลีนในพืชยังเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างที่มีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคพืชในดินหรือเผชิญกับสภาวะการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศอย่างทันทีทันใดซึ่งจะส่งผลเสียต่อพืชหลายลักษณะ เช่น อาการเหลือง ยับยั้งการเจริญ และทำให้เข้าสู่สภาวะชราภาพในที่สุด (Gupta & Pandey, 2019) สภาวะเครียดเกลือส่งผลให้ระดับเอทิลีนในพืชเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน เมื่อระดับเอทิลีนในพืชเพิ่มสูงขึ้น การสะสมเอทิลีนภายในเนื้อเยื่อจะไปกระตุ้นให้เกิด สภาวะเครียดออกซิเดชัน การขาดแคลนสารอาหาร ทำให้รากพืชโค้งงอซึ่งทำให้การเจริญของพืชลดลง เมแทบอลิซึมลดลง พัฒนาการลดลง ผลผลิตลดลงและตายในที่สุด (Gupta & Pandey, 2019) เอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชที่ควบคุมเกี่ยวกับการเจริญและการพัฒนาตามปกติของพืช รวมทั้งควบคุมการตอบสนองต่อความเครียด ระดับของเอทิลีนและเอซีซี ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอทิลีนถูกชักนำให้มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจากความเค็มและสภาวะเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตอื่นๆ เช่น อุณหภูมิสูง ความแล้ง ดินกรด และน้ำท่วม เป็นต้น (Tao et al., 2015; Gupta & Pandey, 2019) วิธีการสังเคราะห์เอทิลีนเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) การเปลี่ยนเมไทโอนีน (methionine) ไปเป็นเอส-อะดีโนซิลเมไทโอนีน (S-adenosyl-methionine) โดยเอนไซม์เอส-อะดีโนซิลเมไทโอนีนซินเทส (S-adenosyl-methionine synthase) 2) เอส-อะดีโนซิลเมไทโอนีนถูกเปลี่ยนไปเป็นเอซีซีและ 5-เมทิลไทโออะดีโนซีน (5-methylthioadenosine) โดยเอนไซม์เอซีซีซินเทส (ACC synthase) 5-เมทิลไทโออะดีโนซีนจะถูกหมุนเวียนนำกลับไปใช้แทนที่เมไทโอนีนที่ถูกนำมาใช้ผลิต S-adenosylmethionine ในระหว่างที่เกิดกระบวนการสังเคราะห์เอทิลีนเป็นปริมาณสูง และ 3) ขั้นตอนสุดท้ายคือการสังเคราะห์เอทิลีนโดยการออกซิเดชันเอซีซี ไปเป็นเอทิลีนและไซยาโนฟอเมตไอออน (cyanofomate ion) ในสภาวะที่มีออกซิเจนด้วยเอนไซม์เอซีซีออกซิเดส (ACC oxidase) ซึ่งไซยาโนฟอเมตไอออนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และไซยาไนด์ (cyanide) ซึ่งไซยาไนด์จะถูกย่อยสลายไปเป็นเบตา-ไซยาโนอลานีน (beta-cyanoalanine) โดยเอนไซม์ beta-cyanoalanine synthase ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่มีความสำคัญในการลดความเป็นพิษของไซยาไนด์ (Tao et al., 2015; Gupta & Pandey, 2019)

เอทิลีนมีบทบาทสำคัญในการประสานงานระหว่างการตอบสนองต่อความเครียดและการเจริญเติบโตของพืช การจำกัดการผลิตเอทิลีนส่งผลให้พืชตอบสนองต่อความเครียดและปรับตัวเพื่อการเจริญได้ดีกว่า ในขณะที่การผลิตเอทิลีนที่มากเกินไปในสภาวะที่ได้รับ ความเครียดอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการจำกัดการเจริญและพัฒนาการของพืชและทำให้พืชตายได้ การควบคุมสัญญาณการสังเคราะห์เอทิลีนขึ้นกับกลุ่มของโปรตีนที่เป็นตัวรับเอทิลีนมี 5 ชนิด ได้แก่ Ethylene receptor 1 (ETR1), ETR2, Ethylene response sensor 1 (ERS1), ERS2 และ Ethylene insensitive 4 (EIN4) ซึ่งทำหน้าที่ส่งเสริมการควบคุมเชิงลบของวิถีการส่งสัญญาณของเอทิลีน (ethylene signaling pathway) ตัวรับเหล่านี้จะอยู่ที่เยื่อหุ้มเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมภายในเซลล์พืช ตัวรับเหล่านี้จะส่งสัญญาณต่อไปให้กับโปรตีน Constitutive triple response 1 (CTR1) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการส่งสัญญาณของเอทิลีน การกลายพันธุ์ของโปรตีนชนิดนี้ ทำให้การส่งสัญญาณไม่เกิดขึ้น ในสภาวะที่ไม่มีเอทิลีน ตัวรับเหล่านี้จะอยู่ในรูปที่ทำงานได้และจะกระตุ้นเอนไซม์ราฟท์-โลก เซอริน/ทรีโอนีนไคเนส (Raft-like serine/threonine kinase) และ CTR1 การทำงานของโมเลกุลเหล่านี้จะนำไปสู่การย่อยสลาย EIN2 การที่ EIN2 ซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกในนิวเคลียส (nuclear gene regulatory protein) และทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถอดรหัสของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอทิลีนไม่ทำงาน จึงไม่เกิดการสังเคราะห์โมเลกุลของเอทิลีน (Gupta & Pandey, 2019) ในขณะสภาวะที่มีเอทิลีนพบว่าเอทิลีนจะจับกับตัวรับ (receptor) ของฮอร์โมนจะทำให้คอนฟอร์มเมชันของรีเซปเตอร์เปลี่ยนไปและไม่สามารถมีปฏิสัมพันธ์กับ CTR1 ได้ CTR1 จึงอยู่ในรูปที่ไม่สามารถทำงานได้ ดังนั้น EIN2 จะไม่ถูกยับยั้งและถูกย่อยสลายอีกต่อไป การเกิดปฏิกิริยาการดึงหมู่ฟอสเฟตของ EIN2 สามารถกระตุ้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลที่เกี่ยวข้องในกระบวนการกระตุ้นการถอดรหัส (transcription factor) เช่น EIN3, Ethylene insensitive like protein1 (EIL1) และ EIN3-binding sequence (EBS) บริเวณส่งเสริมหรือโปรโมเตอร์ (promotor) ของยีนเป้าหมายที่ตอบสนองต่อเอทิลีน (ethylene response factors; ERFs gene) ส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์เอทิลีน (Lacey & Binder, 2014; Gupta & Pandey, 2019)

เอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส

เอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสคือเอนไซม์ที่ย่อยสลายเอซีซีซีที่พืชสร้างขึ้นในสภาวะเครียด และเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอทิลีนไปเป็นแอมโมเนียและแอลฟา-คีโตนิวไทเรต (α -ketobutyrate) (Gupta & Pandey, 2019; Orozco-Mosqueda et al., 2019) ทำให้การสร้างเอทิลีนน้อยลง เอนไซม์ชนิดนี้พบได้ทั้งในยูคาริโอต แบคทีเรีย และอาร์เคีย (Gupta & Pandey, 2019) ซึ่งกลไกนี้เป็นกลไกหนึ่งที่แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชที่ได้รับผลกระทบจากสภาวะเครียดเกลือ นอกเหนือจากกลไกอื่นๆ ได้แก่ สังเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์เพื่อช่วยจับกับโซเดียมไอออนส่วนเกินไม่ให้ถูกดูดซึมเข้าสู่รากพืช ช่วยละลายโพแทสเซียมและฟอสเฟตเพื่อส่งเสริมให้พืชสามารถเคลื่อนย้ายธาตุอาหารเข้าสู่พืชได้มากขึ้น รวมทั้งยังสามารถส่งเสริมให้พืชสะสมโปรตีนได้มากขึ้นเพื่อลดความเครียดจากแรงดันออสโมติก และช่วยส่งเสริมให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ทำลายอนุพันธ์ของออกซิเจนที่ว่องไวเพิ่มปริมาณขึ้น (Bhise & Dandge, 2019) มีการใช้จุลินทรีย์กลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส (ACC deaminase) ฟื้นฟูสภาวะเครียดเกลือในพืชโดยช่วยลดระดับเอทิลีนในพืชที่ได้รับผลกระทบจากสภาวะเครียดเกลือ (Bharti & Barnawal, 2019) จุลินทรีย์เหล่านี้ช่วยให้พืชทนทานต่อสภาวะเครียดจากปัจจัยทางกายภาพหลายด้าน เช่น อุณหภูมิสูง น้ำท่วม สภาวะแล้ง สภาวะเค็ม และสภาวะเป็นกรด โดยจุลินทรีย์มีบทบาทในการลดระดับความเครียดที่เป็นผลมาจากระดับของเอทิลีนภายในพืช (Gupta & Pandey, 2019) เอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสเป็นเอนไซม์ที่ต้องถูกเหนี่ยวนำให้สังเคราะห์ขึ้น (inducible enzyme) โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของเอซีซีเพียง 100 ไมโครโมลาร์เพียงพอต่อการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ การควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสหรือยีน *acds* (ACC degrading enzyme gene; *acds* gene) อาศัยโปรตีนที่เรียกลิวซีนเรสปอนซีฟเรกูลาทอรีโปรตีน (Leucine-responsive regulatory protein; LRP) ซึ่งจะทำงานและเปลี่ยนโครงสร้างเป็น LRP-octamer ในสภาวะที่มีเอซีซี จากนั้น LRP-octamer จะไปกระตุ้นโปรตีนควบคุมอีกชนิดหนึ่ง ได้แก่ AcdB ทำให้สร้างพันธะกับเอซีซี เป็น ternary complex ระหว่าง LRP-ACC-AcB ซึ่งกระตุ้นการแสดงออกของยีน *acds* ทำให้สังเคราะห์เอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสได้ การย่อยสลายเอซีซีได้เป็นแอมโมเนียและ α -ketobutyrate ซึ่งแอลฟาคีโตนิวไทเรต (α -ketobutyrate) จะถูกเมแทบอลิซึมต่อไปได้เป็นลิวซีน (leucine) และลิวซีนจะ

จับกับ LRP octamer ทำให้ LRP แยกตัวออกมาอยู่ในรูปไดเมอร์ (dimer) ซึ่งไม่ทำงาน ถือเป็น การหยุดการทรานสคริปชันต์ของยีน *acds* ส่วนในสภาวะที่ไม่มีเอซีซีทีอีในรูปที่นำไปใช้ได้ พบว่าการทรานสคริปชันต์ของยีน *acds* ทำให้เกิดการสะสมโปรตีน LRP ซึ่งโปรตีนจะจับกับ บริเวณโปรโมเตอร์ในบริเวณ LRP Box ส่งผลควบคุมในทางลบของการผลิตทำให้เกิดการ ยับยั้งแบบย้อนกลับ (feedback inhibition) (Gupta & Pandey, 2019)

จุลินทรีย์กลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชที่ผลิตเอนไซม์เอซีซีทีอีอะมิเนสได้

เชื้อรา *Trichoderma longibrachiatum* T6 สามารถส่งเสริมการเจริญของข้าว สาลี (*Triticum aestivum* L.) ที่ปลูกภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดย กิจกรรมของเอนไซม์เอซีซีทีอีอะมิเนสและการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติก (Indole-3-acetic acid; IAA) ที่เพิ่มสูงขึ้นจะช่วยลดความเป็นพิษจากไอออนที่ไปรบกวนภาวะธำรงดุลของไอออน (ion homeostasis) ในเซลล์พืช โดยกิจกรรมของเอนไซม์เอซีซีทีอีอะมิเนสเพิ่มขึ้นร้อยละ 26 และ 31 ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เป็น 10 มก./ลิตร และ 20 มก./ลิตร เมื่อ เปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ ส่วนปริมาณ IAA เพิ่มขึ้นร้อยละ 10 และ 7 ที่ ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เป็น 10 มก./ลิตร และ 20 มก./ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับ สภาวะที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ ระดับของเอนไซม์เอซีซีทีอีอะมิเนสและ IAA ที่เพิ่มขึ้นจัดเป็น กลไกที่ช่วยหลีกเลี่ยงผลเสียจากโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญในระยะต้นกล้าของข้าวสาลี นอกจากนี้ การใช้เชื้อรา *T. longibrachiatum* T6 ร่วมกับการปลูกข้าวสาลีในสภาวะเครียด เกลือพบว่า สามารถช่วยลดระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอทิลีน และเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ IAA ที่รากของข้าวสาลี นอกจากนี้ยังพบว่าช่วยลดการสะสมโซเดียมไอออนและเพิ่มการดูดซึมโพแทสเซียมไอออนทั้ง ที่ยอดและรากของข้าวสาลี (Zhang et al., 2019)

การใช้หัวเชื้อผสมที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอซีซีทีอีอะมิเนส ได้แก่ *Pseudomonas frederiksbergensis* OB139 และ *P. vancouverensis* OB155 ช่วยลด ระดับเอทิลีนในต้นกล้าของพริกไทยแดงหรือ red pepper (*Capsicum annum* L. cv. Bulmat) ที่ปลูกในสภาวะเครียดเกลือที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 50, 100 และ 150 มิลลิโมลาร์ ดีกว่าการใช้หัวเชื้อเพียงชนิดเดียวหรือไม่ใช้หัวเชื้อแบคทีเรียชนิดใดเลย นอกจากนี้การใช้หัวเชื้อทั้งสองร่วมกันยังเพิ่มระดับกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส (catalase)

ในต้นกล้า red pepper ด้วย ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ช่วยลดความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอรอกไซด์ที่ผลิตขึ้นในสภาวะเครียดเกลือ (Samaddar et al., 2019)

แบคทีเรีย *Enterobacter* sp. สายพันธุ์ P23 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทนเกลือ ผลิตเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส IAA ซิเตอร์ฟอว์ร์ แอมโมเนีย และละลายฟอสเฟตได้ ช่วยส่งเสริมการเจริญในระยะต้นกล้าของข้าว (*Oryza sativa* cv. Ratna) ที่เพาะในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ แบคทีเรียปกป้องต้นกล้าของข้าวโดยลดระดับของเอทิลีน ลดปริมาณอนุพันธ์ของออกซิเจนที่ว่องไว เพิ่มการงอกของเมล็ด และเพิ่มดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า (seed vigor index) (Sarkar et al., 2018a)

การเติม *Burkholderia* sp. MTCC 12259 ที่สร้างเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสและทนเกลือได้ให้กับต้นกล้าข้าวพันธุ์ Swarnamasuri สามารถกระตุ้นให้ต้นกล้าข้าวมีความยาวนาน น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ดีกว่าต้นที่ไม่ได้รับเชื้อ เมื่อเพาะต้นข้าวในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 185 mM (Sarkar et al., 2018b)

จุลินทรีย์กลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชอาจอยู่ในรูปของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ ได้แก่แบคทีเรีย *Kocuria rhizophila* สายพันธุ์ 14ASP และ *Cronobacter sakazakii* สายพันธุ์ OF115 ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสมีบทบาทลดสภาวะเครียดของข้าวสาเลีพันธุ์ Pasban 90 และ Khirman ซึ่งปลูกในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 มิลลิโมลาร์ โดยการใช้หัวเชื้อเอนโดไฟต์ร่วมกับการปลูกข้าวสาเลีช่วยเพิ่มความทนทานของพืชเมื่อปลูกในสภาวะเครียดเกลือ การใช้หัวเชื้อทั้งสองร่วมกับการปลูกข้าวสาเลีสามารถช่วยลดปริมาณโซเดียมคลอไรด์ไอออน และเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมไอออน แมกนีเซียมไอออน และแคลเซียมไอออนในส่วนของยอดของข้าวสาเลีทั้งสองพันธุ์เมื่อเจริญในสภาวะเครียดเกลือ ข้าวสาเลีพันธุ์ Pasban 90 ที่เติมหัวเชื้อ *C. sakazakii* สายพันธุ์ OF115 มีแนวโน้มทนทานต่อเกลือและส่งเสริมการเจริญของพืชได้ดีกว่าข้าวสาเลีพันธุ์ Khirman ที่เติมหัวเชื้อ *K. rhizophila* สายพันธุ์ 14ASP นอกจากนี้ยังพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ซูเพอออกไซด์ดีสมิวเตส เพอออกซิเดส และคะตะเลสยังพบในปริมาณสูงในข้าวสาเลีพันธุ์ Pasban 90 ที่เติมหัวเชื้อ *C. sakazakii* สายพันธุ์ OF115 มากกว่าการใช้หัวเชื้อ *K. rhizophila* สายพันธุ์ 14ASP ร่วมกับข้าวสาเลีพันธุ์ Khirman (Afridi et al., 2018)

แบคทีเรียเอนโดไฟต์ *Pseudomonas* spp. สายพันธุ์ OFT5 มีบทบาทลดระดับเอทิลีนของต้นกล้ามะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum* L.) อายุ 8 วันที่เพาะในดินที่รดด้วย

โซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 2 ชั่วโมงก่อนเก็บผลการทดลอง ถึงแม้ว่าการใช้หัวเชื้อแบคทีเรียร่วมกับการปลูกมะเขือเทศไม่ช่วยลดระดับการดูดซึมโซเดียมเข้าสู่ต้นกล้า แต่แบคทีเรียช่วยส่งเสริมการดูดซึมธาตุอาหารชนิดอื่นๆ เข้าสู่ยอด ได้แก่ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก คอปเปอร์ และสังกะสี (Win et al., 2018)

สรุป

จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนสได้ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาวะเค็มเกลือ โดยลดการสังเคราะห์เอทิลีน เพิ่มการสังเคราะห์ IAA เพิ่มการทำงานของเอนไซม์อะคอะเลสที่ช่วยลดความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอรอกไซด์ และส่งเสริมการดูดซึมธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ดังนั้น จุลินทรีย์กลุ่มนี้จึงเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจในสภาวะดินเค็มต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Afridi, M. S., Sumaira, A., Mahmood, T., Salam, A., Mukhtar, T., Mehmood, S., Ali, J., Khatoon, Z., Bibi, M., Javed, M. T., Sultan, T. & Chaudhary, H. J. (2018). Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: Involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 569-577.
- Arunin, S., & Pongwichian, P. (2016). Salts-affected soil and management in Thailand. *Bulletin of the Society of Sea Water Science, Japan*, 69, 319-325,
- Arunin, S., (1996). *Salted soil in Thailand*, Retrieved January 17, 2020 from http://www.ldd.go.th/Lddwebsite/web_ord/Technical/pdf/P_Technical_03035_1.pdf.
- Bharti, N., & Barnawal, D. (2019). Chapter Five - amelioration of salinity stress by PGPR: ACC deaminase and ROS scavenging enzymes activity. In A. K. Singh, A. Kumar, & P. K. Singh (Eds), *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture* (pp. 85-106), Elsevier. Doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00005-7.

- Bhise, K. K., & Dandge, P. B. (2019). Mitigation of salinity stress in plants using plant growth promoting bacteria. *Symbiosis*, 79, 191-204.
- Gupta, B., & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, Doi: 10.1155/2014/701596.
- Gupta, S., & Pandey, S. (2019). Unravelling the biochemistry and genetics of ACC deaminase-An enzyme alleviating the biotic and abiotic stress in plants. *Plant Gene*, Doi.org/10.10.16/j.plgene.2019.100175.
- Ilangumaran, G., & Smith, D.L. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: A systems biology perspective. *Frontiers in Plant Science*, Doi.org/10.3389/fpls.2017.01768.
- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, Doi: 10.3389/fpls.2019.00080.
- Lacey, R. F., & Binder, B. M. 2014. How plants sense ethylene gas–The ethylene receptors. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 133, 58-62.
- Machado, R. M. A., & Serralheiro, R. P. (2017). Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, Doi:10.3390/horticulturae3020030.
- Numan, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L., Khan, A., & Al-Harrasi, A. (2018). Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. *Microbiological Research*, 209, 21-32.
- Orozco-Mosqueda, M., Duan, J., DiBernardo, M., Zetter, E., Campos-Garcia, J., Glick, B.R., & Santoyo, G. (2019). The production of ACC deaminase and trehalose by the plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4 synergistically protect tomato plants against salt stress. *Frontiers in Microbiology*, Doi.org/10.3389/fmicb.2019.01392.

- Rasool, S., Hameed, A., Azzoz, M. M., Rehman, M., Siddiqi, T. O., & Ahmad, P. (2013). Salt stress: causes, types and responses of plants. In P. Ahmads (Ed), *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress* (pp.1-24). New York: Springer.
- Samaddar, S., Chatterjee, P., Choudhury, A. R., Ahmed, S. & Sa, T. (2019). Interactions between *Pseudomonas* spp. and their role in improving the red pepper plant growth under salinity stress. *Microbiological Research*, 219, 66-73.
- Sarkar, A., Ghosh, P. K., Pramanik, K., Mitra, S., Soren, T., Pandey, S., Mondal, M. H., & Maiti, T. K. (2018a). A halotolerant *Enterobacter* sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. *Research in Microbiology*, 169, 20-32,
- Sarkar, A., Pramanik, K., Mitra, S., Soren, T., & Maiti, T. K. (2018b). Enhancement of growth and salt tolerance of rice seedling by ACC deaminase-producing *Burkholderia* sp. MTCC 12259. *Journal of Plant Physiology*, 231, 434-442.
- Shirokova, Y., Forkutsa, I., & Sharafutdinova, N. (2000). Use of electrical conductivity instead of soluble salts for soil salinity monitoring in Central Asia. *Irrigation and Drainage Systems*, 14, 199-205,
- Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environment issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 123-131.
- Tao, J. J., Chen, H. W., Ma, B., Zhang, W. K., Chen, S. Y., & Zhang, J. S. (2015). The role of ethylene in plants under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, Doi.org/10.3389/fpls.2015.01059.

Win, K. T., Tanaka, F., Okazaki, K., & Ohwaki, Y. 2018. The ACC deaminase expressing endophyte *Pseudomonas* spp. enhances NaCl stress tolerance by reducing stress-related ethylene production, resulting in improved growth, photosynthetic performance, and ionic balance in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 599-607.

Zhang, S., Gan, Y. & Xu, B. (2019). Mechanisms of the IAA and ACCdeaminase producing strain of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in enhancing wheat seedling tolerance to NaCl stress. *BMC Plant Biology*, Doi: 10.1186/s12870-018-1618-5.