บทคัดย่อ

สภาวะน้ำท่วมเป็นปัญหาหนึ่งที่อาจเกิดขึ้นแบบเฉียบพลันจากสภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถคาดการณ์ได้ งานวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่ส่งเสริมการเจริญของถั่วลิสงภายใต้สภาวะน้ำท่วมขัง รวมทั้งเพื่อตรวจสอบกลไกที่เชื้อไรโซเบียมใช้ในการส่งเสริมการเจริญ และความสามารถที่ทำให้พืชทนต่อความเครียดภายใต้สภาวะน้ำท่วมขังได้ ทั้งนี้ในงานวิจัยได้ดำเนินการทดสอบเชื้อไรโซเบียมหลายสายพันธุ์ในกลุ่ม *Bradyrhizobium* ที่สามารถเข้าสร้างปมกับถั่วลิสงได้ทั้งสภาวะปกติและสภาวะน้ำท่วมขัง โดยผลการทดลองพบว่าเชื้อ *Bradyrhizobium* sp. SUTN8-1 สามารถส่งเสริมการเจริญของถั่วลิสงได้มากที่สุด รองลงมาคือ เชื้อ *Bradyrhizobium* sp. SUTN9-2 โดยเมื่อตรวจสอบพบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์นี้มีความใกล้เคียงกับเชื้อในกลุ่ม *B. yuanmingense* และถึงแม้เชื้อ SUTN8-1 และ SUTN9-2 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสอยู่ในระดับปานกลางเมื่อเทียบกับหัวเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วลิสงทางการค้า (*Bradyrhizobium* sp. TAL173) แต่พบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ทำให้มีการปลดปล่อย ethylene จากพืชในสภาวะเครียดน้อยลง ซึ่งเป็นผลจากกิจกรรมของเอนไซม์ ACC deaminase ที่เป็นกลไกสำคัญในการส่งเสริมการเจริญของถั่วลิสงภายใต้สภาวะน้ำท่วมขัง ทั้งนี้ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์นี้ในหัวเชื้อไรโซเบียมการค้า สายพันธุ์ TAL173 ซึ่งอาจส่งผลให้การเจริญของถั่วโดยรวมน้อยกว่าการใช้เชื้อสายพันธุ์ SUTN8-1 หรือ SUTN9-2 กับถั่วลิสงภายใต้สภาวะน้ำท่วมขัง จากนั้นเพื่อให้ทราบบทบาทของเอนไซม์ ACC deaminase ในการตอบสนองต่อความเครียดของพืชภายใต้สภาวะน้ำท่วมขัง จึงได้ดำเนินการถ่ายทอดยีน *acdRS* ซึ่งเป็นยีนที่ใช้ในการสังเคราะห์เอนไซม์ ACC deaminase จากเชื้อ *Sinorhizobium* sp. BL3 ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์สูง เข้าไปในเชื้อสายพันธุ์ SUTN8-1 และ SUTN9-2 แต่อย่างไรก็ตามในระยะเวลาดำเนินงานวิจัยไม่ประสบความสำเร็จในการถ่ายทอดยีนนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปัญหาของพลาสมิด pRK404 ไม่เสถียรในเชื้อ *Bradyrhizobium* ที่ใช้ทดสอบ ดังนั้นจึงไม่สามารถตรวจสอบคุณสมบัติของเชื้อในการส่งเสริมการเจริญของถั่วเมื่อมีการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ ACC deaminase ได้ อย่างไรก็ตามได้ทำการตรวจสอบบทบาทและกลไกของเอนไซม์นี้ในเชื้อสายพันธุ์ SUTN8-1 (wild-type) โดยผลการทดลองพบว่าเชื้อ SUTN8-1 สามารถตรึงไนโตรเจนและส่งเสริมการเจริญของถั่วลิสงในสภาวะน้ำท่วมขังได้ดีกว่าถั่วที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ โดยเมื่อตรวจสอบปัจจัยต่าง ๆ ที่ตอบสนองในพืชภายใต้สภาวะเครียด พบว่าพืชที่ปลูกภายใต้สภาวะน้ำท่วมขังมีแนวโน้มปริมาณคลอโรฟิลล์ A และ B รวมทั้งปริมาณ proline ลดลง ในขณะที่มีการเกิด lipid peroxidation และมีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ แสดงให้เห็นว่าพืชมีความเครียดเพิ่มมากขึ้นเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะน้ำท่วมขัง และเมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์เหล่านี้ในพืชที่มีการปลูกเชื้อ SUTN8-1 พบว่ามีแนวโน้มของการลดความเครียดในพืชได้มากขึ้น ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นในทางอ้อมว่าเชื้อไรโซเบียมที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ ACC deaminase มีบทบาทในการช่วยลดความเครียดของพืชและส่งเสริมให้ถั่วลิสงเจริญในสภาวะน้ำท่วมขังได้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถทำให้ประสิทธิภาพการเจริญดีขึ้นได้เทียบเท่ากับสภาวะปกติ

Abstract

Water logging is one of problems could be happened from unexpected climate change condition. This research focused on selection peanut bradyrhizobium that can support plant growth under water logging condition, and on investigation bradyrhizobial mechanisms associated with enhancing peanut growth and reduce stress response under water logging condition. Several peanut bradyrhizobia were selected based on nodulation ability with peanut under both normal and water logging condition, while *Bradyrhizobium* sp. SUTN8-1 followed by strain SUTN9-2 was the two best strains promoting peanut growth under water logging condition. Both strains of SUTN8-1 and SUTN9-2 were identified to be similar as *B. yuanmingense*. Although these strains have moderate nitrogenase activity when compared with commercial peanut bradyrhizobial inoculant (*Bradyrhizobium* sp. TAL173), both strains could reduce ethylene evolved from plant under water logging condition. These results may be indicated the effect of ACC deaminase activity in strain SUTN8-1 and SUTN9-2 as an important mechanism to support peanut growth under stress condition since no ACC deaminase activity was found in the commercial strain TAL173 which may subsequently resulted in reduce plant growth under the same stress condition. To understand the role of ACC deaminase in response to stress from water logging condition, the *acdRS* genes encoded for a high activity of ACC deaminase enzyme from *Sinorhizobium* sp. BL3, were transferred into strain SUTN8-1 and SUTN9-2. However, it was not success in this step probably due to the un-stability of carrying plasmid pRK404 in these bradyrhizobia. Therefore, the role of higher ACC deaminase activity from strategy of increasing *acdRS* copy number on supporting plant growth under water logging condition could not be obtained. Nevertheless, the role and mechanisms of ACC deaminase in wild-type strain SUTN8-1 were examined under normal and water logging conditions. The result showed strain SUTN8-1 fixed nitrogen and promoted peanut growth better than that of non-inoculated plant under water logging condition. Analysis of chlorophyll content and other stress related enzymes responsive for water logging condition was done to investigate the role of ACC deaminase in which reduce stress response in plant. It was found that the content of chlorophyll A and B as well as proline tended to be reduced, while lipid peroxidation and peroxidase enzyme activity were increased in plant grew under water logging condition when compared with normal condition. These results confirmed that plant stress was increased under water logging condition. Interestingly, observation of stress related parameters in plant inoculated with SUTN8-1 showed the better trend of reducing plant stress than that of non-inoculation. This result indirectly demonstrates the role of ACC deaminase on reducing plant stress and support peanut growth under water

logging condition. However, the efficiency of plant growth promotion by SUTN8-1 was not as good as growing under normal condition.