Abstract

In this study, plant growth promoting (PGP)-endophytic bacteria including actinomycetes were intensively investigated for their beneficial roles towards crop plants including rice, sugarcane, mungbean, and maize. The results demonstrated that co-inoculation of diazotrophic bacteria and actinomycetes significantly enhance the growth parameters of sugarcane greater than that of individual and un-inoculated plants. Genome analysis of those actinomycetes revealed genes involved in PGP traits such as phosphate solubilization, IAA production, siderphore production, ACC deaminase, fungal cell wall degradation family 18 and 19 chitinases, and host plant colonization. To verify the role of ACC deaminase trait towards stress tolerance, endophytic *Enterobacter* sp. EN-21, *Streptomyces* sp. GMKU 336, *Streptomyces* sp. GKU 895, and *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 were comprehensively investigated *in vivo*. The results showed that *Enterobacter* sp. EN-21 promoted growth and salt tolerance in sugarcane; while, *Streptomyces* sp. GMKU 336, *Streptomyces* sp. GKU 895, and *S. venezuelae* ATCC 10712 enhanced growth and salt tolerance in rice. Moreover, *Streptomyces* sp. GMKU 336 helped mungbean to tolerate flooding. Those endophytes helped plants to tolerate salt stress by significantly increasing plant growth, chlorophyll and proline contents, osmotic balance, K^+ and Ca^+ contents, and relative water content (RWC); but decreasing stress ethylene, reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), Na^+ content, and Na^+/K^+ ratio. Expression profiles of stress responsive genes in some crop plants exhibited up- and down-regulation corresponding to the physiological parameters. The ACC deaminase mutation and overproduction strains were also manipulated and applied to clearify the role of such trait *in vivo*. Transcriptomic data obtained from salt-susceptible rice associated with *Streptomyces* sp. GKU 895 indicated up-regulation of genes involved in enhancement of growth, antioxidant enzymes, compatible solutes, phytohormones and photosynthesis. Further analysis of RNA-seq data is required to understand the molecular interaction of *Streptomyces* and salt tolerance of rice. Moreover, chitinase-producing endophytic *Streptomyces* sp. GKU 322 helped protect maize from foot rot and wilting disease of maize plants caused by *Fusarium moniliforme* DOAC 1224. In addition, a novel species, *Actinomadura barringtoniae* sp. nov. GKU 128, was proposed.

Keywords

Actinomycete, Endophyte, Plant Growth Promotion, Salt Stress, Transcription, Crop

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาบทบาทหน้าที่ของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ รวมทั้งแอคติโนมัยสีท ที่มีสมบัติส่งเสริมการเจริญพืช (plant growth promotion; PGP) ต่อพืชไร่ ได้แก่ ข้าว อ้อย ถั่วเขียว และข้าวโพด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปลูกเชื้อแบบผสมของเชื้อกลุ่ม diazotroph กับแอคติโนมัยสีท สามารถเพิ่มการเจริญของอ้อยได้ดีกว่าการปลูกเชื้อเดี่ยวหรือไม่ใส่เชื้อ เมื่อวิเคราะห์ลำดับเบสจีโนมของเชื้อแอคติโนมัยสีท พบว่าประกอบไปด้วยยีนที่เกี่ยวข้องกับ PGP ได้แก่ การละลายฟอสเฟต การผลิตฮอร์โมนพืช IAA การสร้างสารไซเดอร์โรฟอร์ การสร้างเอนไซม์ ACC deaminase และ chitinase ที่ย่อยผนังเซลล์เชื้อรา รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้องกับการเข้าอาศัยในพืช การทดลองนี้ได้ศึกษาบทบาทหน้าที่ของ ACC deaminase ที่ช่วยให้พืชทนความเครียดอย่างละเอียด โดยเลือกใช้ *Enterobacter* sp. EN-21, *Streptomyces* sp. GMKU 336, *Streptomyces* sp. GKU 895 และ *Streptomyces venezuelae* ATCC 10712 ปลูกเข้าสู่พืช ผลการทดลองพบว่า *Enterobacter* sp. EN-21 ช่วยส่งเสริมการเจริญของอ้อยในสภาวะเค็ม ขณะที่ *Streptomyces* sp. GMKU 336, *Streptomyces* sp. GKU 895, และ *S. venezuelae* ATCC 10712 ช่วยส่งเสริมการเจริญและทนเค็มในข้าว นอกจากนี้ *Streptomyces* sp. GMKU 336 ยังช่วยให้ถั่วเขียวทนน้ำท่วมได้อีกด้วย แอคติโนมัยสีทเอนโดไฟต์เหล่านี้ช่วยพืชทนเค็มโดยเพิ่มการเจริญ เพิ่มปริมาณคลอโรฟิล โปรลีน โปแตสเซียมและแคลเซียม ปรับสมดุลออสโมซิส และเพิ่มปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content, RWC) แต่ลดเอธิลีน reactive oxygen species (ROS) และ malondialdehyde (MDA) ลดปริมาณโซเดียม และสัดส่วนโซเดียมต่อโปแตสเซียม เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองความเครียดในพืช พบว่ามียีนที่แสดงออกเพิ่มขึ้นและลดลงสอดคล้องกับผลทางสรีรวิทยาของพืช งานวิจัยนี้ยังได้สร้างสายพันธุ์กลายของ *Streptomyces* ที่ไม่สร้าง ACC deaminase และสายพันธุ์กลายที่สร้างแบบ over-expression เพื่อใช้ทดสอบหน้าที่ของยีนนี้ในพืชด้วย จากข้อมูลทรานสคริปโตมของข้าวไม่ทนเค็มที่ปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. GKU 895 ในสภาวะเค็มแสดงให้เห็นว่า กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับแอนติออกซิแดนท์ สารให้ความสมดุล ฮอร์โมนพืช และการสังเคราะห์แสง มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม การข้อมูลทรานสคริปโตมระหว่าง *Streptomyces* และข้าว ยังคงต้องวิเคราะห์อย่างต่อเนื่องเพื่อให้เข้าใจภาพรวมของการทนเค็มของข้าว อันเนื่องมาจากแอคติโนมัยสีทเอนโดไฟต์ นอกจากนี้ยังพบว่า *Streptomyces* sp. GKU 322 ที่สร้างเอนไซม์ chitinase ยังสามารถช่วยป้องกันข้าวโพดจากโรคเหี่ยวและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* DOAC 1224 ได้ด้วย ในงานวิจัยนี้ยังได้รายงานเชื้อแอคติโนมัยสีทเอนโดไฟต์สปีชีส์ใหม่ด้วย คือ *Actinomadura barringtoniae* sp. nov. GKU 128

คำสำคัญ

แอคติโนมัยสีท, เอนโดไฟต์, การส่งเสริมการเจริญพืช, ความเครียดเค็ม, ทรานสคริปชัน, พืชไร่