บทความวิชาการ

ความสัมพันธ์ของพืชและจุลินทรีย์

ชฎาพร อินสุข และวสุ ปฐมอารีย์*

ได้รับบทความ: 23 เมษายน 2561
ได้รับบทความแก้ไข: 28 กันยายน 2561
ยอมรับตีพิมพ์: 11 ตุลาคม 2561

บทคัดย่อ

พืชและจุลินทรีย์มีรูปแบบความสัมพันธ์ทั้งที่เป็นประโยชน์ และก่อให้เกิดโทษกับต้นพืช การแบ่งกลุ่มของความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับจุลินทรีย์อาจแบ่งได้เป็น แบบก่อโรค เช่น แบคทีเรีย ฟังไจ ไวรัส และไวรอยด์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช และจุลินทรีย์กลุ่มที่ให้ประโยชน์ต่อพืช เช่น จุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืช ที่สร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เพิ่มความสามารถในการใช้และดูดซึมแร่ธาตุ และเพิ่มความต้านทานของพืชต่อความเครียดทั้งทางกายภาพและทางชีวภาพ แบคทีเรียเอนโดไฟต์ (bacterial endophyte) บางชนิดที่มีความสามารถสร้างสารการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ หรือซิมไบโอส (symbiose) เช่น แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในรากพืชในจีนัส *Rhizobium* และ *Frankia* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและเปลี่ยนรูปให้ได้แอมโมเนียและไนเตรทที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ยังมีราไมคอร์ไรซา (mycorrhizal fungi) ที่ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวและความสามารถในการดูดซับน้ำและแร่ธาตุอาหารในพืช และป้องกันรากพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค จากความรู้เหล่านี้ สารออกฤทธิ์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์จึงถูกนำมาใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เช่น ปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) สารกลุ่มที่ใช้เป็นตัวกระตุ้นพืช (phytostimulator) หรืออาจใช้เป็นยาฆ่าแมลง (biopesticide) เพื่อควบคุมโรคพืช และเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรได้

คำสำคัญ: ความสัมพันธ์ของพืชและจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จุลินทรีย์ก่อโรคในพืช

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: wasu.p@cmu.ac.th

Plant and Microbes Interaction

Chadabhorn Insuk and Wasu Pathom-aree*

Received: 23 April 2018
Revised: 28 September 2018
Accepted: 11 October 2018

ABSTRACT

Plant and microbes relationship can be beneficial and harmful to plants. The pattern of plant and microbes interaction can be either pathogenic or beneficial. Pathogenic microbes are bacteria, fungi, virus and viroid that can cause disease in host plant. Beneficial microbes, such as rhizospheric microbes that can produce plant growth promoters, increase nutrient acquisition and help plant to resist physiological and biochemical stress. Some endophytic bacteria can produce plant growth promoters. Some symbioses such as *Rhizobium* and *Frankia* can reduce nitrogen gas in the air into other form of nitrogen compounds. In addition, mycorrhizal fungi can increase absorption area of the root and water availability. Furthermore, they can help plant defense against pathogens. From these knowledges, bioactive compounds produced from microbes are widely used to stimulate plant growth in the form of biofertilizers, phytostimulators and biopesticides to control plant pathogen and increase crop yield.

Keywords: plant-microbes interaction, plant growth-promoting microorganism, pathogen

Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University
*Corresponding author, email: wasu.p@cmu.ac.th

บทนำ

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชกับจุลินทรีย์ได้เข้ามามีบทบาทอย่างมาก ตั้งแต่ยุคที่มนุษย์เริ่มมีการเพาะปลูกเพื่อให้ได้อาหาร ความสัมพันธ์ของพืชและจุลินทรีย์ไม่ได้แสดงออกมาในรูปของโรคพืชเสมอไป แต่ยังมีการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพากัน (mutualism) ซึ่งจุลินทรีย์และพืชได้ประโยชน์ร่วมกัน จุลินทรีย์มีผลต่อผลผลิตทางการเกษตรและสุขภาพของพืช และยังมีความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส (symbiosis) ที่จุลินทรีย์ช่วยพืชในการดูดซึมสารอาหารหรือมีกลไกทางเคมีมาช่วยให้พืชสามารถดูดซึมแร่ธาตุที่ต้องการได้ และป้องกันพืชจากเชื้อก่อโรค [1] การศึกษาถึงปฏิสัมพันธ์ของพืชกับสังคมของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชจึงสำคัญต่อการพัฒนาวิธีทางการเกษตรที่ยั่งยืน

จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชนั้นยังคงมีน้อยชนิดเมื่อเทียบกับประชากรของแบคทีเรียในดิน [2-4] การแบ่งกลุ่มของความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับจุลินทรีย์อาจแบ่งได้เป็น แบบก่อโรค (pathogenic) เชื้อก่อโรคสามารถเข้าสู่พืชผ่านทางใบ ลำต้น หรือรากพืช และยังพบจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นผู้ย่อยสลาย (saprophytic) ซึ่งอาศัยอยู่บนซากพืชที่ตายแล้ว จุลินทรีย์เหล่านี้มีประโยชน์มากในแง่ของการย่อยสลายและหมุนเวียนสารอาหารในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์กลุ่มที่ให้ประโยชน์ต่อพืช จุลินทรีย์กลุ่มนี้นิยมใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) เช่น แบคทีเรียกลุ่ม *Rhizobium* ที่ใช้ในทางการค้ามาแล้วมากกว่าศตวรรษ หรือจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้เป็นตัวกระตุ้นพืช (phytostimulator) เช่น *Azotospirillum* ที่สามารถสร้างฮอร์โมนออกซินมากระตุ้นการยืดยาวของเซลล์รากพืช [5] มีรายงานว่าสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชได้หลายชนิด เช่น อ้อย [6] มะเขือเทศ [7] มันฝรั่ง [8] ยูคาลิปตัส [7] ข้าว [9-10] ผักกาดหอม [11] และ Arabidopsis [12-13]

จุลินทรีย์จดจำต้นพืชได้อย่างไร

การจดจำ (recognition) เป็นกลไกหลักในการตอบสนองของพืชต่อจุลินทรีย์ เช่นการจดจำโปรตีนแอดฮีซิน (adhesins) ฟิมเบรีย (fimbriae) แฟลกเจลลา (flagella) และจากการหลั่งโมเลกุลส่งสัญญาณผ่านทาง Type III และ Type IV secretion systems [5] ได้มีการประมาณยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการทำงานของพิไล (pili) ใน *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็น type 4 pili ว่ามี 30-40 ยีนด้วยกัน [5, 14] ซึ่งช่วยให้เกิดการเคลื่อนที่ที่เรียกว่า twitching และเกี่ยวข้องกับการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) [5, 15] ซึ่งพิไลที่จัดอยู่ในกลุ่ม type 4 pili นี้พบมากในเชื้อที่ก่อโรคพืชหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นของแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการจดจำพืชในแต่ละระยะของการเกิดปมรากได้แก่ Nod-factors, EPSs (extracellular polysaccharides), LPSs (lipopolysaccharides), K-antigens และ periplasmatic cyclic glucans [5, 16]

ความสัมพันธ์ในด้านที่เป็นประโยชน์ต่อพืช

แบคทีเรียและฟังไจบางชนิดที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชสามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ เรียกจุลินทรีย์กลุ่มนี้ว่า จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting microorganism; PGPM) ซึ่ง PGPM ถูกยอมรับว่าสามารถควบคุมเชื้อก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพและ

เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถกระตุ้นกระบวนการต้านทานโรคของพืช เช่น ทำให้เซลล์แตกเพื่อป้องกันการลุกลามของอาการโรค สร้างผนังเซลล์ขึ้นมาใหม่ หรือเพิ่มการสะสมเมทาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันโรค เช่น jasmonic acid (JA), ethylene และ salicylic acid (SA) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการส่งสัญญาณและในกลไกการป้องกันโรค (defense mechanism) [17-18]

1. แบคทีเรียที่อาศัยอยู่รอบรากพืช (rhizospheric bacteria)

Rhizosphere หมายถึงบริเวณที่มีดินโอบล้อมรากพืชที่มีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ภายใน [19-21] โดยแบ่งเป็น 3 บริเวณคือ endorhizosphere, rhizoplane และ ectorhizosphere [19, 22] ซึ่งในสภาวะแวดล้อมต่างกันนี้ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างรากพืช ดิน และจุลินทรีย์จะเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินทั้งทางกายภาพและทางเคมี และมีผลเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในบริเวณรอบๆ รากพืช [19, 23] นอกจากนี้สารประกอบอินทรีย์ที่ปล่อยจากราก (root exudate) ยังเป็นตัวกลางที่ทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างรากพืชและจุลินทรีย์ในดินบริเวณ rhizosphere [24-26] รากพืชจะมีการปลดปล่อยธาตุคาร์บอนที่ได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงถึง 5-21% ออกมาในรูปของน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ กรดอะมิโน หรือเมทาบอไลต์ทุติยภูมิ [19, 26-28] เพื่อให้จุลินทรีย์บริเวณรากพืชได้ใช้ประโยชน์ [19]

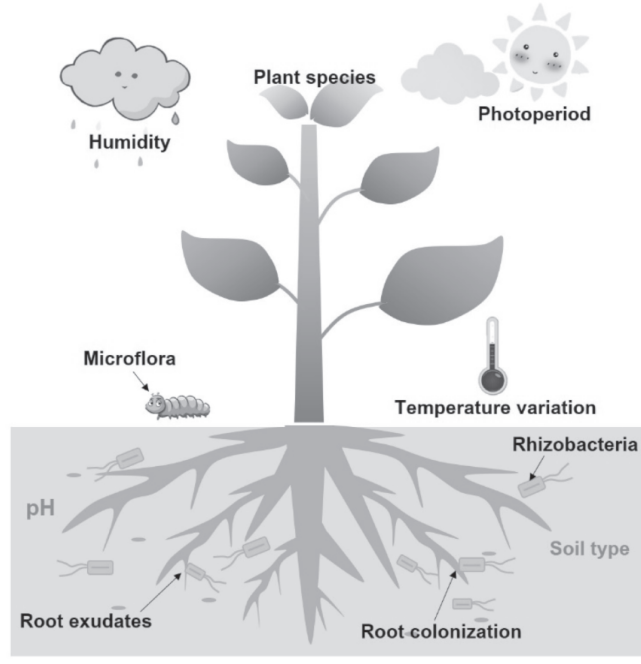
Root exudate แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม

1. กลุ่มที่มีมวลโมเลกุลต่ำ (low molecular weight compounds) เช่น กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ น้ำตาล สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) และเมทาบอไลต์ทุติยภูมิอื่นๆ

2. กลุ่มที่มีมวลโมเลกุลสูง (high molecular weight compounds) เช่น โพลีแซคคาไรด์ และโปรตีน [19, 27, 29-30]

ชนิดของ root exudate และปริมาณที่ปลดปล่อยออกมานั้นแตกต่างกันตามสายพันธุ์พืช ชนิดพืช ระยะการเจริญเติบโตของพืช และปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ เช่น ชนิดดิน pH อุณหภูมิ และปริมาณจุลินทรีย์ในดิน [19, 27, 31] ดังรูปที่ 1

ปริมาณจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่รอบๆ รากพืช (rhizosphere) มีตั้งแต่พันถึงล้านสปีชีส์ [19, 23] ปฏิสัมพันธ์ระหว่างรากพืชและจุลินทรีย์ในดินยังมีความจำเพาะต่อกันมาก เนื่องมาจากการผลักดันให้เกิดวิวัฒนาการร่วมกัน (coevolutionary pressure) [19-20, 32-34] ระหว่างพืชและจุลินทรีย์ในบริเวณรอบๆ รากพืช เพื่อให้เกิดความเหมาะสมและเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน ความสัมพันธ์ระหว่างพืชและจุลินทรีย์มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อระบบนิเวศ เช่นการหมุนเวียนแร่ธาตุและคาร์บอน [19, 35] ปฏิสัมพันธ์ทางบวกของพืชและจุลินทรีย์ในดิน ได้แก่ จุลินทรีย์ที่สร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant-growth promoting rhizobacteria; PGPR) และราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhizal fungi) [19, 36] ก่อให้เกิดผลดีต่อพืช เช่น ลดการเกิดโรคของพืช [19, 37-39] เพิ่มความสามารถในการใช้และดูดซึมแร่ธาตุ [19, 34, 40] ควบคุมสมดุลอาหารและสมดุลฮอร์โมนของพืช [19, 41] และเพิ่มความต้านทานของพืชต่อความเครียดทั้งทางกายภาพ (abiotic stress) [19, 42-43] และทางชีวภาพ (biotic stress) [19, 28, 36, 44] ซึ่งทำให้ผลผลิตของพืชดีขึ้น ในทางกลับกัน พืชก็ได้ปลดปล่อยสารประกอบอินทรีย์จากรากเพื่อให้จุลินทรีย์ได้นำไปใช้เป็นแหล่งอาหารด้วยเช่นกัน [19]



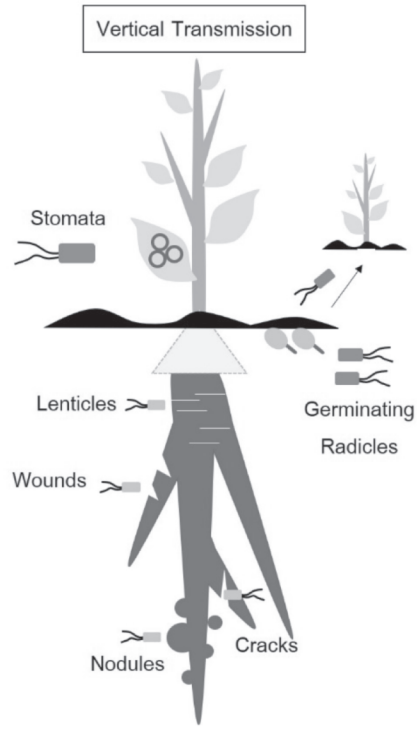
รูปที่ 1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อประชากรของจุลินทรีย์ในบริเวณรอบรากพืช (rhizophere) ดัดแปลงจาก [45]

2. แบคทีเรียเอนโดไฟต์ (bacterial endophytes)

แบคทีเรียเอนโดไฟต์สามารถพบได้ในเนื้อเยื่อภายในของพืช ซึ่งพบในพืชเกือบทุกชนิดทั่วโลก แบคทีเรียเอนโดไฟต์บางตัวมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งกลไกที่ใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนั้นเป็นกลไกเดียวกับที่พบใน rhizospheric bacteria เช่น ช่วยในเรื่องการหาสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช และการส่งเสริมกระบวนการเจริญเติบโตและแบคทีเรียเอนโดไฟต์ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งในทางการเกษตร การปศุสัตว์ และเพื่อส่งเสริมการบำบัดสิ่งแวดล้อมด้วยพืช (phytoremediation) [46-49]

ผู้เขียนบางท่านได้ให้คำจำกัดความไว้ว่า แบคทีเรียเอนโดไฟต์ คือแบคทีเรียที่สามารถแยกได้จากพื้นผิวเนื้อเยื่อของพืชที่ไม่เป็นโรค หรือสามารถสกัดได้จากในต้นพืช โดยจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับต้นพืช [50] และ/หรือ แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืช (root-associated bacterial population) [51-52] แบคทีเรียเอนโดไฟต์จะมีการสื่อสารและมีปฏิสัมพันธ์กับพืชมากกว่า rhizospheric bacteria [53-54] เนื่องจากมีโอกาสสัมผัสติดต่อกับเซลล์พืชได้ตลอดเวลา

แบคทีเรียเอนโดไฟต์สามารถเข้าสู่เซลล์พืชได้โดยผ่านรอยแตกของราก (root crack) หรือบาดแผลอื่นๆ ของพืชที่เกิดมาจากการขยายขนาดขณะเจริญเติบโต [55-57] บาดแผลที่รากจะทำให้เมทาบอไลต์ภายในเกิดการรั่วไหลออกมา และดึงดูดแบคทีเรีย [50] นอกจากนี้แบคทีเรียเอนโดไฟต์ยังสามารถเข้าสู่พืชได้ผ่านทางปากใบ (stomata) บนใบพืชหรือตามลำต้นพืชที่อายุน้อย [58] หรือตามรอยแตก (lenticel) ที่มักเกิดขึ้นในชั้น periderm ของลำต้นหรือรากพืช [59] และรากแรกเกิดที่กำลังงอก (germing radicle) [60] นอกจากนี้แบคทีเรียยังสามารถเข้าสู่พืชระหว่างกระบวนการรากแขนง (lateral root) หรือขนราก (root hair) ได้อีกด้วย [61] ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 การเข้าสู่ต้นพืชของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ ดัดแปลงจาก [46]

3. ซิมไบโอซิส (symbiosis)

มีการศึกษาอย่างแพร่หลายถึงภาวะที่พืชและจุลินทรีย์อยู่ร่วมกันแล้วเกิดผลดี ซึ่งแบคทีเรียหรือฟังไจเหล่านี้ได้เข้าไปอยู่ร่วมกับพืชชั้นสูงอย่างแยกจากกันไม่ได้ [1, 62-63] เรียกจุลินทรีย์กลุ่มนี้ว่า ซิมไบโอส (symbiose) ซิมไบโอสเป็นต้นแบบในการศึกษากลไกพื้นฐานของพืชและ/หรือ แบคทีเรีย เช่น การรับและส่งสัญญาณภายในเซลล์ การควบคุมวัฏจักรเซลล์ และการพัฒนาไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ (differentiation) [1]

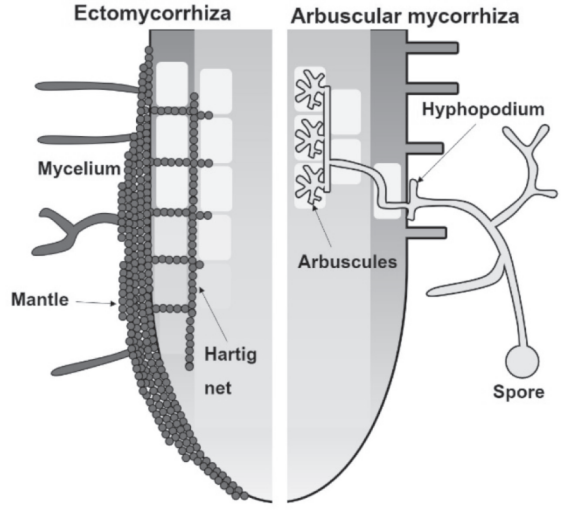
ซิมไบโอสที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียในดินซึ่งอยู่ในจีนัส *Rhizobium* และ *Frankia* สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์บริเวณคอร์เทกซ์ (cortex) หรือเพอริไซเคิล (pericycle) ของรากพืชในวงศ์กุหลาบ (Rosaceae) และวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ได้ แบคทีเรียจะเข้าสู่รากและกระจายตัวไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular) และภายในเซลล์ (intracellular) ของพืช เมื่อเซลล์พืชเกิดการแบ่งตัวและเกิดโครงสร้างที่เป็นปุ่มปม (nodule) ขึ้น จากนั้นแบคทีเรียจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปอยู่ในรูปที่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศได้ เช่น สามารถรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจนให้กลายเป็นสารประกอบอื่น อย่างเช่น แอมโมเนีย และขนส่งไปทั่วต้นพืช และเพื่อเป็นการตอบแทนแบคทีเรีย ต้นพืชก็จะปกป้องแบคทีเรียภายใน และมอบอาหารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงให้กับแบคทีเรีย [1]

ซิมไบโอสกลุ่มที่เป็นฟังไจมีความหลากหลายมากกว่ากลุ่มซิมไบโอสที่ตรึงไนโตรเจน และมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ไมคอร์ไรซา (mycorrhiza) เป็นการอยู่ร่วมกันของรากพืชกับเชื้อราในดิน เส้นใยราจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารและแร่ธาตุให้รากพืช โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัส ซึ่งมักมีจำกัดในดิน การอยู่ร่วมกันของเชื้อรากับรากพืชสามารถปกป้องรากพืชจากเชื้อก่อโรคในดินได้ [1]

ซิมไบโอซิสระหว่างพืชกับราไมคอร์ไรซา (mycorrhizal symbioses)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรากับพืชมีความสำคัญ ตัวอย่างเช่น ปัญหาในการปลูกป่าโดยใช้ดินจากแหล่งใหม่มาแทนแหล่งเดิมทำให้พืชไม่เติบโต เนื่องจากสภาวะใหม่ขาดเชื้อราที่มีผลต่อการมีชีวิตของพืช เอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhizal symbiose) จะเติบโตใน cortical cell ของรากพืช และจะสร้างเส้นใยมาพันรอบรากพืชเป็นแผ่นบางๆ ดังรูปที่ 3 การอยู่ร่วมกันของพืชกับราเอนโดไมคอร์ไรซา (endomycorrhizal association) เช่น ราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา จะแทงเส้นใยเข้าไปในเซลล์รากและมีการส่งสัญญาณ (signal) เฉพาะจากพืชเพื่อการแลกเปลี่ยนสารอาหาร จากนั้น cortical cells ของฟังไจจะเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อไปทำหน้าที่เฉพาะ (cell differentiation) กลายเป็นโครงสร้าง ที่เรียกว่าอาร์บัสคูล (arbuscules) ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอาร์บัสคูลจะคล้ายกับฮอสทอเรีย (haustoria) แต่หน้าที่ของฮอสทอเรียกับอาร์บัสคูลนั้นต่างกันอย่างมาก โดยฮอสทอเรียเป็นโครงสร้างในการหาอาหารในฟังไจก่อโรค ใช้ในการดูดอาหารเพื่อแย่งอาหารจากโฮสต์ ส่วนอาร์บัสคูลเป็นโครงสร้างที่ใช้ในการสะสมธาตุอาหารในต้นพืช [1]

ราไมคอร์ไรซาสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้เนื่องจากช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวและความสามารถในการดูดซับน้ำและแร่ธาตุอาหารในพืช และป้องกันรากพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้



รูปที่ 3 บริเวณที่มีการเติบโตของ ectomycorrhiza และ endomycorrhiza ในรากพืช ดัดแปลงจาก [46]

ความสัมพันธ์ในด้านที่เป็นผลเสียต่อพืช

ในธรรมชาติ ดินและรากพืชเป็นแหล่งที่อยู่ที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคที่มากับดิน (soil borne pathogen) เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ที่ปล่อยจากรากมีสารอาหารที่ดึงดูดจุลินทรีย์เหล่านี้ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถเป็นได้ทั้งแบคทีเรีย ฟังไจ ไวรัส ส่งผลเสียต่อผลิตผลทางการเกษตร [64]

เชื้อก่อโรคในพืช (plant pathogens)

หมายถึงการที่เชื้อมีความสามารถในการก่อโรคในพืช เชื้อสามารถถ่ายทอดไปสู่พืชอื่นที่มีสุขภาพดีและสามารถทำให้เกิดโรคแบบเดียวกัน เชื้อก่อโรคพืชส่วนใหญ่สามารถอาศัยอยู่ภายในต้นพืชได้ แต่เชื้อบางชนิดสามารถอาศัยอยู่บนพื้นผิวของต้นพืชได้ เช่น ฟังไจและแบคทีเรียบางชนิด [65-66]

การศึกษาถึงจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชสำคัญต่อเศรษฐกิจ และสุขอนามัยของผลผลิต เชื้อก่อโรคในพืชได้แก่แบคทีเรียฟังไจไวรัสและไวรอยด์การศึกษาเชื้อก่อโรคในพืชจึงมีความเกี่ยวข้องกับศาสตร์ด้านอื่นๆ เช่น แบคทีเรียวิทยา ราวิทยา และไวรัสวิทยา การควบคุมโรคพืชโดยวิธีสมัยใหม่มักใช้วิธีการควบคุมทางชีวภาพ เช่น สารต้านจุลชีพ (antimicrobial agent) และปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความต้านทานโรคมากขึ้น เนื่องจากวิธีทางชีวภาพนี้ดีต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต เช่น มนุษย์และสัตว์ [65, 67] ส่วนที่พืชติดเชื้อสามารถบ่งบอกได้ถึงชนิดของโรคพืชได้ เช่น รากพืชที่ติดเชื้อมักเกี่ยวข้องกับโรครากเน่า (root-rot disease) เป็นต้น [65, 68] โรคพืชสามารถแบ่งได้ตามอาการโรค (disease symptom) อวัยวะที่ติดเชื้อ (infected organ) ชนิดของพืชที่ติดเชื้อ (infected plant) และชนิดของเชื้อก่อโรคในพืช (type of phytopathogens) ซึ่งการแบ่งโรคพืชตามชนิดของเชื้อก่อโรคเป็นการแบ่งกลุ่มของโรคพืชที่เป็นประโยชน์มาก เนื่องจากสามารถบ่งบอกถึงสาเหตุและหาแนวทางการรักษาได้ [65, 69]

1. เชื้อก่อโรคที่เป็นฟังไจ

ฟังไจที่พบในพืชมี 2 ประเภท คือ ฟังไจที่เป็นเชื้อก่อโรค (pathogenic fungi) และฟังไจที่เป็นผู้ย่อยสลาย (saprophytic fungi) ฟังไจที่เป็นเชื้อก่อโรคมักอาศัยอยู่บนหรือในเนื้อเยื่อพืช ก่อให้เกิดผลทางด้านสรีรวิทยาของพืช ส่วนฟังไจที่เป็นผู้ย่อยสลายจะอาศัยอยู่บนหรือในเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว การวินิจฉัยโรคที่เกิดจากฟังไจมักใช้การตรวจโดยส่องกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฟังไจ เช่นสปอร์ และฟรุตติงบอดี (fruiting body) เมื่อระบุชนิดของฟังไจและโรคที่เกิดกับพืชได้แล้ว ต้องมีการศึกษาเปรียบเทียบอาการของโรคที่เกิดขึ้นกับงานวิจัยอื่นๆ การศึกษาเช่นนี้จะทำให้แยกความแตกต่างระหว่างฟังไจก่อโรคกับฟังไจที่เป็นผู้ย่อยสลายได้ แม้ว่าการตรวจโดยการส่องกล้องจะมีความสำคัญและเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการระบุชนิดของฟังไจ แต่บางครั้งก็ไม่สามารถระบุชนิดฟังไจได้ เนื่องจากมองไม่เห็นสปอร์หรือฟรุตติงบอดีของฟังไจบนเนื้อเยื่อพืช จึงต้องมีการพัฒนาวิธีอื่นๆ เช่น ใช้อาหารคัดเลือก (selective media) เพื่อแยกเชื้อ ระบุชนิด หรือส่งเสริมการสร้างสปอร์ของฟังไจ แต่ฟังไจบางชนิดจะสามารถเติบโตได้ต้องอาศัยสภาวะที่ค่อนข้างจำเพาะเช่น อุณหภูมิที่จำเพาะในการบ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ การให้อากาศ หรือแสง เพื่อส่งเสริมการสร้างสปอร์ [65]

2. เชื้อก่อโรคที่เป็นแบคทีเรียและเชื้อไฟโตพลาสมา

ลักษณะของแบคทีเรียที่พบบนหรือในเนื้อเยื่อของพืชหมายถึงโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย แต่ก็อาจพบแบคทีเรียที่เป็นผู้ย่อยสลายได้เช่นกัน ดังนั้นการระบุชนิดแบคทีเรียให้ถูกต้องแม่นยำจำเป็นต้องอาศัยความรู้หลายแขนง โดยเฉพาะความรู้ทางสรีรวิทยาของแบคทีเรีย การเลี้ยงเชื้อบนอาหารคัดเลือกจึงจำเป็นมากในการระบุชนิดแบคทีเรียโดยสามารถระบุได้ถึงระดับจีนัสหรือถึงระดับสปีชีส์ได้ในแบคทีเรียบางชนิด นอกจากนี้ การยืนยันผลของการก่อโรคต้องใช้โคโลนี (colony) ของแบคทีเรียบริสุทธิ์ (pure culture) ในการปลูกเชื้อลงไปในเนื้อเยื่อพืชเพื่อดูว่ามีอาการโรคตรงกันหรือไม่ และยังสามารถใช้วิธีทางอิมมูโนวิทยา

(Immunodiagnostic techniques หรือ serodiagnostic assay) ในการศึกษาได้อีกด้วย เช่น bacterial agglutination, precipitation, fluorescent antibody staining และ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งวิธีเหล่านี้มีความไว (sensitivity) สูง มีความจำเพาะ (specificity) รวดเร็ว และทำได้ง่ายกว่า นอกจากนี้ยังมีเทคนิคใหม่ๆที่สามารถระบุชนิดแบคทีเรียได้แบบอัตโนมัติ เช่น การวิเคราะห์กรดไขมันของแบคทีเรีย (bacterial fatty acid profile) และวิธีที่แพร่หลายเช่นกันคือการใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล [65, 70] เช่น การวิเคราะห์ลำดับเบสบนยีน 16S rRNA และทดสอบเชื้อโดยวิธีทางชีวเคมีเปรียบเทียบคุณสมบัติเชื้อตาม Bergey's manual of determinative bacteriology

จุลินทรีย์กลุ่มเชื้อไฟโตพลาสมาใน Class Mollicutes ที่มีขนาดเล็กมาก มีสัณฐานได้หลายแบบ (polymorphism) ไม่มีผนังเซลล์ คล้าย mycoplasma สิ่งมีชีวิตชนิดนี้อาศัยอยู่ในเซลล์โฟลเอ็ม (phloem) ทำให้เกิดโรคที่รุนแรงในพืช เช่น แคระแกร็น ใบเหลืองหรือเปลี่ยนเป็นสีแดง มีการออกดอกที่ผิดปกติ และอาจทำให้พืชตายได้ในที่สุด เชื้อใน Class Mollicutes สามารถเพาะเลี้ยงได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ยกเว้นจีนัส *Spiroplasma* สามารถตรวจสอบได้โดยการส่องกล้องจุลทรรศน์ และมีความไวต่อยาเตตราไซคลิน [71]

3. เชื้อก่อโรคที่เป็นไวรัสและไวรอยด์

โรคที่เกิดจากไวรัสหรือไวรอยด์สามารถแยกออกจากกันได้ชัดเจน โดยมีอาการของโรคที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว ทำให้การวินิจฉัยเป็นไปได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีการคิดค้นเทคนิคใหม่ๆ เพื่อวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากไวรัสและเพื่อระบุชนิดไวรัส เช่น การทดสอบการส่งผ่านอนุภาคไวรัส (virus transmission) ในโฮสต์ที่จำเพาะโดยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้นจากพืชที่เป็นโรค (sap inoculation) การต่อกิ่ง (grafting) การใช้หนอนตัวกลม รา และแมลงที่เป็นพาหะ และยังมีการใช้เทคนิคทางซีโรโลยี เช่น ELISA, gel diffusion test, microprecipitation test และ fluorescent antibody staining การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพื่อตรวจดูอนุภาคไวรัสที่ถูกย้อมแบบ negative staining หรือเทคนิค immune-specific electron microscopy ก็นิยมใช้เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีวิธีที่ให้ความแม่นยำสูงกว่า เช่น อิเลคโตรโฟรีซิส (electrophoretic test) และ ไฮบริไดเซชัน (hybridization) กับนิวคลีโอไทด์คู่สม (complementary nucleotide) ที่ติดรังสีหรือสารเรืองแสงไว้ ซึ่งอาจเป็น DNA RNA หรือ viroid RNA ที่จะจับกับ DNA หรือ RNA ที่อยู่ในน้ำเลี้ยงของพืช (plant sap) และติดอยู่กับ membrane filter (immunoblot) [72] บางครั้งพืชอาจมีการติดเชื้อร่วมกัน (coinfection) โดยเชื้อก่อโรคมากกว่าหรือเท่ากับ 2 ชนิด ซึ่งทำให้เกิดอาการของโรคที่แตกต่างกันในการบ่งบอกชนิดของเชื้อที่ก่อโรคจึงต้องสามารถบ่งบอกถึงสาเหตุการเกิดโรคให้ได้ โดยสามารถใช้เทคนิคที่กล่าวไปแล้วในข้างต้น [65, 73]

ชนิดของพืชที่เชื้อก่อโรคสามารถเจริญได้ (host range of pathogens)

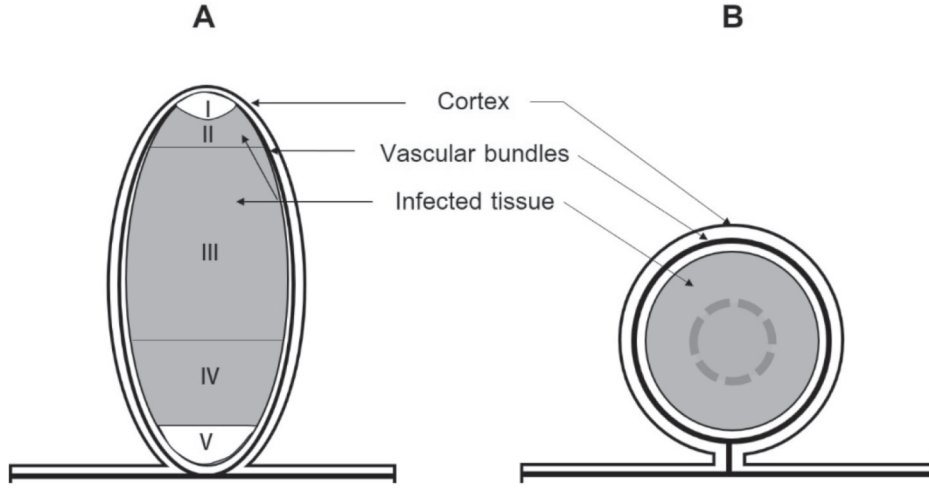
เชื้อก่อโรคพืชมีความแตกต่างกันตามชนิดของพืช ตำแหน่งที่ติดเชื้อ อายุของอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ เชื้อบางตัวสามารถเติบโตได้ในราก ลำต้น ใบและผล หรือในไซเล็ม (xylem) และโฟลเอ็ม (phleom) บางชนิดสามารถก่อโรคได้ในต้นพืชที่ยังอายุน้อยหรือส่วนของพืชที่มีอายุน้อยๆ เท่านั้น ความจำเพาะของพืชต่อเชื้อก่อโรคนั้นมีความหลากหลายมาก เชื้อก่อโรคบางชนิดจำเพาะต่อพืชบางชนิดเท่านั้น โดยอาจจำเพาะกับพืชเพียง 1 จีนัสเท่านั้น แต่เชื้อก่อโรคบางชนิดก็มีโฮสต์ที่กว้าง (broad host range) อาจก่อโรคได้ในหลายวงศ์ (family) ของพืชชั้นสูง เป็นต้น [65]

การประยุกต์ใช้

1. ปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer)

ปุ๋ยชีวภาพเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับพืชทั่วโลกถึง 65% โดย Rhizobiaceae และ *Mycorrhizae* เป็นปุ๋ยชีวภาพที่นิยมใช้มากที่สุด มักใช้กับพืชตระกูลถั่ว (leguminous plant) เช่นถั่วเหลือง อัลฟัลฟา (alfalfa) ให้พืชสามารถเติบโตได้ในดินที่มีไนโตรเจนน้อย [5, 16] *Mycorrhizae* มักใช้ในการฟื้นฟูป่าสน ปรับปรุงระบบรากและบริเวณรากพืช (rhizosphere) ให้ดีขึ้น [5, 74-75] นอกจากนี้ ยังมีการใช้แบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixer) เช่น *Azoarcus* ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในต้นข้าวได้ [5, 76-77] ส่วน *Herbaspirillum* และ *Acetobacter* สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนได้ในอ้อย [5, 78]

รากของพืชตระกูลถั่วมีการปลดปล่อยสารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซึ่งจะกระตุ้นแบคทีเรีย *Rhizobium* ในการสร้างปมราก (root nodule) ในโฮสต์ที่จำเพาะ ดังรูปที่ 4 ฟลาโวนอยด์เหล่านี้สามารถกระตุ้น NodD regulatory protein ซึ่งกระตุ้นการทำงานของ *nod operon* ซึ่งต่อมาจะถูกถอดรหัสและแปลรหัสเป็น Nod-metabolites ความจำเพาะต่อโฮสต์นี้เป็นตัวอย่างที่ดีที่แสดงถึงวิวัฒนาการที่มีร่วมกันของพืชและจุลินทรีย์ โดยเมื่อแบคทีเรียเข้าสู่ต้นพืชผ่านทางบาดแผล แบคทีเรียจะเปลี่ยนไนโตรเจนในอากาศให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนเก็บสะสมไว้ในพืชและพืชสามารถใช้ประโยชน์ได้ เพื่อให้กระบวนการอยู่ร่วมกันเป็นไปอย่างสมบูรณ์ พืชก็ให้อาหารแก่แบคทีเรียเช่นกัน ในรูปของกรดไดคาร์บอกซิลิก (dicarboxylic acid carbon source) [5]



รูปที่ 4 บริเวณภายในของปมรากพืชตระกูลถั่ว ดัดแปลงจาก [79] (A) ปมรากพืชที่มีการแบ่งตัวแบบไม่สิ้นสุด (indeterminate mature nodule) (B) ปมรากพืชที่มีการแบ่งตัวแบบสิ้นสุด (determinate mature nodule) (I) บริเวณเนื้อเยื่อเจริญ (meristemic zone) (II) บริเวณที่มีเชื้ออาศัยอยู่ (infection zone) (III) บริเวณที่มีการตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixing zone) (IV) บริเวณที่มีการชราภาพของเซลล์ (senescence zone) (V) บริเวณที่เกิดการย่อยสลาย (saprophytic zone)

2. สารกระตุ้นพืช (phytostimulators)

แบคทีเรียในจีนัส *Azospirillum* ส่งเสริมการเจริญของพืชในฐานะที่เป็น free-living organism แบคทีเรียชนิดนี้มีโพลาร์แฟลกเจลลา (polar flagella) ที่มีไกลโคโปรตีนชื่อแฟลกเจลลิน (flagellin) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งช่วยให้มันเกาะติดกับรากพืชได้ดียิ่งขึ้น ในการเพาะเลี้ยง *Azospirillum* ในอาหารเหลว พบว่ามีการสร้างสารส่งเสริมการเจริญของพืช 3 ชนิดด้วยกัน คือ ออกซิน (auxin) ไซโตไคนิน (cytokinin) และจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ซึ่งในกลุ่มของสารเหล่านี้ สารในกลุ่มออกซินที่มีชื่อว่า IAA (indole-3-acetic acid) เป็นสารสำคัญชนิดหนึ่ง ในวิถี (pathway) การสังเคราะห์ IAA พบว่ามีอยู่ 3 วิถีที่สามารถเปลี่ยน L-tryptophan ให้เป็น IAA ได้ ในการทดลองของ Steenhoudt และ Vanderleyden ได้ปลูกเชื้อ *Azospirillum* ร่วมกับพืชพบว่าเชื้อสามารถสร้าง IAA ส่งเสริมการเกิดราก ทำให้พืชสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดีขึ้น [77] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อในจีนัส *Burkholderia, Enterobacter, Pseudomonas, Serratia* และ *Stenotrophomonas* ก็สามารถสร้าง IAA ได้เช่นกัน [5, 80-81]

3. สารควบคุมทางชีวภาพ และสารชีวภาพที่ฆ่าแมลงศัตรูพืช (biocontrol agents and biopesticides)

ในปัจจุบันมีการใช้จุลินทรีย์หลากหลายชนิดในทางการค้าเพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของราที่เป็นสาเหตุของโรคพืช และเพื่อปกป้องต้นพืช สิ่งมีชีวิตที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส *Bacillus, Pseudomonas* และ *Streptomyces* เชื้อราที่นิยมใช้ได้แก่ *Trichoderma, Gliocladium* และ *Fusarium* กลไกที่ทำให้สารเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดี คือ

1. เชื้อที่ดีจะเติบโตก่อนและมีการรวมกลุ่มกันในพื้นที่นั้นจนไม่เปิดโอกาสให้เชื้อก่อโรคเข้ามาอาศัยอยู่ (Niche exclusion)
2. เชื้อที่ดีจะแย่งใช้สารอาหาร (Competition for nutrient) เชื้อก่อโรคจึงเจริญเติบโตได้ไม่ดี หรือสร้างสารไซเดอโรฟอร์ (siderophore) เพื่อจับกับไอออนของเหล็กและดึงเข้าสู่เซลล์
3. เชื้อผลิตเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) เพื่อย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค
4. การสร้างสารเมตาบอไลท์ที่ยับยั้งกลุ่มเชื้อรา (antifungal metabolites) เช่น Phl (2,4-diacetyl phloroglucinol), phenazine derivatives, zwittermycin, pyoluteorin และ pyrrolnitrin ในปัจจุบันพบว่าสารลดแรงตึงผิว (biosurfactant) สามารถทำหน้าที่เป็น AFMs ได้เช่นกัน [5, 82]

สรุป

จุลินทรีย์มีความสัมพันธ์ต่อต้นพืชในหลายทาง ทั้งให้ประโยชน์ และเป็นสาเหตุของโรคพืช จุลินทรีย์สามารถอาศัยอยู่ร่วมกันกับพืชได้หลายรูปแบบ เช่น ภาวะพึ่งพากัน เป็นซิมไบโอส หรือเป็นเอนโดไฟต์ จุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสามารถช่วยในการดูดซึมและใช้สารอาหารของพืชเพื่อส่งเสริมกระบวนการเจริญเติบโต และสร้างสารออกฤทธิ์ต่างๆ เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือกำจัดจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นผลเสียต่อพืช ดังนั้นจึงได้มีการนำคุณสมบัติเหล่านี้มาใช้เพื่อสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เช่น ปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) สารกลุ่มที่ใช้เป็นตัวกระตุ้นพืช (phytostimulator) หรืออาจใช้เป็นยาฆ่าแมลง (biopesticide) ก็ได้เช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และสาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ทุนสนับสนุนด้านการศึกษา ขอขอบคุณคุณณัฐธิชา บุตรบุญชู ที่ช่วยวาดภาพประกอบ และผู้ทรงความรู้ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำที่ดีตลอดมา

เอกสารอ้างอิง

1. Jackson, A., & Taylor, C. (1996). Plant-microbe interactions: life and death at the interface. *The Plant Cell, 8*(10), 1651-1668.
2. Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E. V. L., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology, 64,* 807-838.
3. Lundberg, D. S., Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., Tremblay, J., Engelbrektson, A., Kunin, V., del Rio, T. G., Edgar, R. C., Eickhorst, T., Ley, R. E., Hugenholt, P., Tringe, S. G., & Dangl, J. L. (2012). Defining the core *Arabidopsis thaliana root microbiome. Nature, 488,* 86-90.
4. Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., Rauf, P.,... Sculze-Lefert, P. (2012). Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature, 488,* 91-95.
5. Lugtenberg, B. (2015). Life of Microbes in the Rhizosphere. In: Lugtenberg, B., Editor. Principles of plant-microbe interactions. Springer international publishing Switzerland, Heidelberg. p. 7-15.
6. Armanhi, J. S. L., de Souza, R. S. C., de Araú jo, L. M., Okura, V. K., Mieczkowski, P., Imperial, J., & Arruda, P. (2016). Multiplex amplicon sequencing for microbe identification in community-based culture collections. *Scientific Report, 6,* 29543.
7. Santiago, T. R., Grabowski, C., Rossato, M., Romeiro, R. S., & Mizubuti, E. S. G. (2015). Biological Control of Eucalyptus Bacterial Wilt with Rhizobacteria. *Biological Control, 80,* 14-22.
8. Cray, J. A., Conno, M. C., Stevenson, A., Houghton, J. D. R., Rangel, D. E. N., Cooke, L. R., & Hallsworth, J. E. (2016). Biocontrol agents promote growth of potato pathogens, depending on environmental conditions. *Microbial Biotechnology, 9,* 330-354.
9. Venkatachalam, S., Ranjan, K., Prasanna, R., Ramakrishnan, B., Thapa, S., & Kanchan, A. (2016). Diversity and functional traits of culturable microbiome members, including cyanobacteria in the rice phyllosphere. *Plant Biology, 18,* 627-637.

10. Bertani, I., Abbruscato, P., Piffanelli, P., Subramoni, S. & Venturi, V. (2016). Rice bacterial endophytes: isolation of a collection, identification of beneficial strains and microbiome analysis. *Environmental Microbiology Reports, 8,* 388-398.
11. Cipriano, M. A. P., Lupatini, M., Lopes-Santos, L., da Silva, M. J., Roesch, L. F. W., Destéfano, S. A. L., ... Kuramae, E. E. (2016). Lettuce and rhizosphere microbiome responses to growth promoting Pseudomonas species under field conditions. *FEMS Microbiology Ecology, 92*(12), 197.
12. Bai, Y., Muller, D. B., Srinivas, G., Garrido-Oter, R., Potthoff, E., Rott, M., Dombrowski, N., Munch, P. C., ... Schulze-Lefert, P. (2015). Functional overlap of the *Arabidopsis* leaf and root microbiota. *Nature, 528,* 364-369.
13. Levy, A., Clingenpeel, S., Salas González, I., Herrera Paredes, A., Stillman, K., Monteiro, F., Alvarez, B. R., Lundberg, D. S., Lu, T-Y., Lebeis, S.,... Dangl J. L. (2018) Genomic determinants of bacterial adaptation to plants. *Nature Genetics, 50*(1), 138-150.
14. Darzins, A., & Russell, M. A. (1997). Molecular genetic analysis of type-4 pilus biogenesis and twitching motility using *Pseudomonas aeruginosa* as a model system-a review. *Gene, 192,* 109–115.
15. O'Toole, G. A., & Kolter, R, (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology, 30,* 295–304.
16. Spaink, H. P., Kondorosi, A., & Hooykaas, P. J. J. (1998). *The Rhizobiaceae: molecular biology of model plant-associate bacteria.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
17. Verhage, A., van Wees, S. C. & Pieterse, C. M., (2010). Plant Immunity: It's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiology, 154,* 536–540.
18. Bari, R. & Jones, J. D., (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology, 69,* 473–488.
19. Huang, X. F., Chaparro, J. M., Reardon K. F., Zhang, R., Shen, Q., & Vivanco, J. M. (2014). Rhizospheric interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. *Botany, 92*(4), 267-275.
20. Morgan, J. A. W., Bending, G. D., & White, P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany, 56*(417), 1729–1739.
21. Pinton, R., Varanini, Z., & Nannipieri, P. (2007). *The rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface.* 2nd ed. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton. p. 447.

22. Lynch, J. M. (1994). The rhizosphere-form and function. *Applied Soil Ecology, 1*(3), 193–198.
23. Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M., & Thonart, P. (2011). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment,* 15, 327–337.
24. Badri, D. V., Weir, T. L., van der Lelie, D., & Vivanco, J. M. (2009). Rhizosphere chemical dialogues: Plant–microbe interactions. *Current Opinion in Biotechnology, 20*(6), 642–650.
25. Badri, D. V., Chaparro, J. M., Zhang, R., Shen, Q., & Vivanco, J. M. (2013). Application of natural blends of phytochemicals derived from the root exudates of Arabidopsis to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome. *The Journal of Biological Chemistry, 288*(7), 4502–4512.
26. Chaparro, J. M., Badri, D. V., Bakker, M. G., Sugiyama, A., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2013). Root exudation of phytochemicals in *Arabidopsis* follows specific patterns that are developmentally programmed and correlate with soil microbial functions. *PloS ONE, 8*(2), e55731.
27. Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment, 32*(6), 666–681.
28. Badri, D. V., Zolla, G., Bakker, M. G., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2013). Potential impact of soil microbiomes on the leaf metabolome and on herbivore feeding behavior. *New Phytologist, 198*(1), 264–273.
29. Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology, 57*(1), 233–266.
30. Narasimhan, K., Basheer, C., Bajic, V. B., & Swarup, S. (2003). Enhancement of plant–microbe interactions using a rhizosphere metabolomics-driven approach and its application in the removal of polychlorinated biphenyls. *Plant Physiology, 132*(1), 146–153.
31. Uren, N. C. (2000). Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In R. Pinton, Z. Varanini & P. Nannipieri, (Eds.), *The rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil–plant interface.* Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 19–40.
32. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Science, 22*(2), 107–149.
33. Duffy, B., Keel, C., & Defago, G. (2004). Potential role of pathogen signaling in multitrophic plant–microbe interactions involved in disease protection. *Applied and Environmental Microbiology, 70*(3), 1836–1842.

34. Morrissey, J. P., Dow, J. M., Mark, G. L., & O'Gara, F. (2004). Are microbes at the root of a solution to world food production? *EMBO Reports, 5*(10), 922–926.
35. Singh, B. K., Millard, P., Whiteley, A. S., & Murrell, J. C. (2004). Unravelling rhizosphere–microbial interactions: Opportunities and limitations. *Trends in Microbiology, 12*(8), 386–393.
36. Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A. & Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances, 32,* 429–448.
37. Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent Pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology, 3*(4), 307–319.
38. Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., van der Voort, M., Schneider, J. H., Piceno, Y. M., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Bakker, P. A., & Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease suppressive bacteria. *Science, 332*(6033), 1097–1100.
39. Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. M., & Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology, 40*(1), 309–348.
40. Lugtenberg, B., Chin-A-Woeng, T., & Bloemberg, G. (2002). Microbe–plant interactions, principles and mechanisms. *Antonie van Leeuwenhoek, 81*(1), 373–383.
41. Spence, C., & Bais, H. (2015). The role of plant growth regulators as chemical signals in plant–microbe interactions, a double edged sword. *Current Opinion in Plant Biology, 27,* 52–58.
42. Selvakumar, G., Panneerselvam, P., & Ganeshamurthy, A. N. (2012). Bacterial mediated alleviation of abiotic stress in crops. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiology: stress management.* Springer Berlin Heidelberg. pp. 205–224.
43. Zolla, G., Badri, D. V., Bakker, M. G., Manter, D. K., & Vivanco, J. M. (2013). Soil microbiomes vary in their ability to confer drought tolerance to *Arabidopsis. Applied Soil Ecology, 68,* 1–9.
44. Zamioudis, C., & Pieterse, C. M. J. (2012). Modulation of host immunity by beneficial microbes. *Molecular Plant–Microbe Interaction, 25*(2), 139–150.
45. Kumar, R., Pankaj V. P., Tarafdar, A., Biswas, K., & Kumar, S. (2016). Soil microbes and their interaction with plants. *Plant Pathogen Interaction: Recent Trends, 1,* 1-46.
46. Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. C., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research. 183,* 92-99.

47. Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (2011). Living inside plants: Bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology, 14,* 435–443
48. Singh, L. P., Gill, S. G., & Tuteja, N. (2011). Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signaling & Behavior, 6,* 175–191
49. Iqbal, J., Nelson, J. A., & McCulley, R. L. (2013). Fungal endophyte presence and genotype affect plant diversity and soil-to-atmosphere trace gas fluxes. *Plant Soils, 364,* 15–27
50. Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., & Kloepper, J. W., (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal Microbiology, 43,* 895–914.
51. Germida, J. J., Siciliano, S. D., Freitas, J. R., & Seib, A. M., (1998). Diversity of root-associated bacteria associated with fieldgrown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *FEMS Microbiology Ecology. 26,* 43–50.
52. Marquez-Santacruz, H. A., Hernandez-Leon, R., Orozco-Mosqueda, M. C., Velazquez-Sepulveda, I., & Santoyo, G., (2010). Diversity of Bacterial endophytes in roots of Mexican husk tomato plants *(Physalis ixocarpa)* and their Detection in the Rhizosphere. *Genetics and Molecular Research, 9,* 2372–2380.
53. Ali, S., Charles, T. C., & Glick, B. R. (2012). Delay of flower senescence by bacterial endophytes expressing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Journal of Applied Microbiology, 113,* 1139–1144.
54. Coutinho, B. G., Licastro, D., Mendonça-Previato, L., Cámara, M., & Venturi, V., (2015). Plant-influenced gene expression in the rice endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. *Molecular Plant-Microbe Interaction, 28,* 10–21.
55. Sprent, J. I., & de Faria, S. M., (1998). Mechanisms of infection of plants by nitrogen fixing organisms. *Plant Soil.* 110, 157–165.
56. Agarwhal, S., & Shende, S. T., (1987). Tetrazolium Reducing Microorganisms inside the Root of Brassica Species. *Current Science,* 56, 187–188.
57. Sørensen, J., & Sessitsch, A. (2015). Plant-associated bacteria lifestyle and molecular interactions. In: van Elsas, J. D., et al. (Eds.), *Modern Soil Microbiology.* 2nd Ed. CRC Press, p. 211–236.
58. Roos, I. M. M., & Hattingh, M. J., (1983). Scanning electron microscopy of *Pseudomonas syringae* pv: *mors-pmnorum* on Sweet Cherry Leaves. *Phytopathology, 108,* 18–25.
59. Scott, R. I., Chard, J. M., Hocart, M. J., Lennard, J. H., & Graham, D. C., (1996). Penetration of potato tuber lenticels by bacteria in relation to biological control of black leg disease. *Potato Research, 39,* 333–344.

60. Gagné, S., Richard, C., Rouseau, H., & Antoun, H., (1987). Xylem-residing bacteria in alfalfa roots. *Canadian Journal of Microbiology, 33,* 996–1000.
61. Huang, J. S. (1986). Ultrastructure of bacterial penetration in plants. *The Annual Review of Phytopathology, 24,* 141–157.
62. Stacey, G., Burris, R. H., & Evans, H. J. (1992). Biological nitrogen fixation (New York: Chapman and Hall). p. 212-258.
63. Smith, S., & Read, D. J. (1996). Mycorrhizal symbiosis (London: Academic Press). p. 1.
64. Ramegowda, V. & Senthil-Kumar, M. (2015). The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology, 176,* 47–54.
65. Abdulkhair, W. M., & Alghuthaymi, M. A. (2016). Plant pathogens, plant growth, Prof. Rigobelo, E. (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/65325. Available from: https://www.intechopen.com/books/plant-growth/plant-pathogens.
66. Keen, N. T. (2000). A Century of plant pathology: A retrospective view on understanding host–parasite interactions. *Annual Review of Phytopathology, 38,* 31–48.
67. Cramer, H. H. (1967). Plant protection and crop production. 5th ed. Farbenfabriken Bayer AG; Leverkusen. p. 524.
68. Brown, J. F. & Ogle, H. J. (1997). Plant pathogens and plant diseases. 3rd ed. Rockvale Publications; Armidale, Australia. p. 219–230.
69. Daly, J. M. (1984). The role of recognition in plant disease. *Annual Review Phytopathology, 22,* 273–307.
70. Kosuge, T., & Nester, E. W. (1984). Plant-microbe interactions: Molecular and genetic Perspectives. 3rd ed. Macmillan; New York, NY. p. 1–448.
71. Goto, M. (1993). Fundamentals of bacterial plant pathology. 2nd ed. Academic Press; San Diego. p. 1–342.
72. Bawden, F. C., Pirie, N. W., Bernal, J. D. & Fankuchen, I. (1963). Liquid crystalline substances from virus-infected plants. *Nature. 138,* 1051–1052.
73. Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Introductory mycology. 4th ed. Wiley; New York, NY. P. 1-880.
74. Bonfante, P. & Perotto, S. (1995). Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist, 130,* 3–21.
75. Smith, S. E., & Gianinazzi-Pearson, V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 39,* 221–244.

76. Reinhold-Hurek, B. & Hurek, T. (1998). Life in grasses: Diazotrophic endophytes. *Trends in Microbiology, 6,* 139–144.

77. Steenhoudt, O. & Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum,* A free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews,* 24, 487–506.

78. Okon, Y., Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. J. (1998). Biotechnology of biofertilization and phytostimulation. In: Altman A (Ed) Agricultural biotechnology. Marcel Dekker Inc., New York. pp. 327–349.

79. Verma, D. P. S., Hu, C. A., & Zhang, M. (1992). Root nodule development: Origin, function and regulation of nodulin genes. *Physiologia Plantarum, 85*(2), 253–265.

80. Weilharter, A., Mitter, B., Shin, M. V., Chain, P. S., Nowak, J., & Sessitsch, A., (2011). Complete genome sequence of the plant growth-promoting endophyte *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. *Journal of Bacteriology, 193,* 3383–3384.

81. Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A., Weyens, N., Barac, T., Vangronsveld, J. & Vander Lelie, D., (2009). Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and Environmental Microbiology, 75,* 748–757.

82. Kirner, S., Hammer, P. E., Hill, D. S., Altmann, A., Fischer, I., Weislo, L. J., Lanahan, M., van Pée K. H., & Ligon, J. M. (1998). Functions encoded by Pyrrolnitrin Biosynthetic Genes from *Pseudomonas fluorescens. Journal of Bacteriology, 180,* 1939–1943.