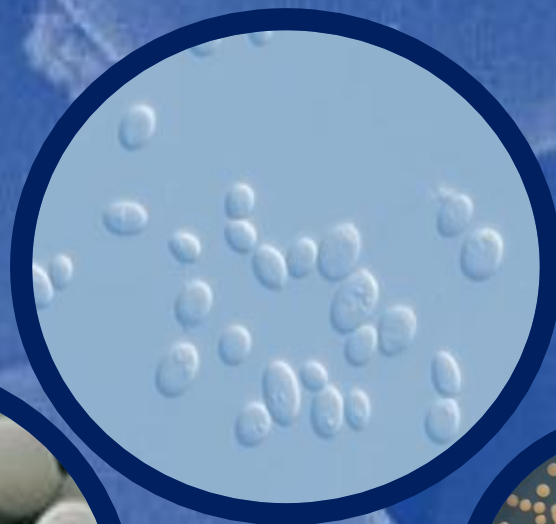


การประยุกต์ใช้ ยีสต์

เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่



สาวิตรี ลิ่มทอง และคณะ

การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตร
และอุตสาหกรรมยุคใหม่

สาวิตรี ลีมหอง และคณะ

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ

การประยุกต์ใช้อีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่.—กรุงเทพฯ : ศูนย์ความ
หลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2567.

161 หน้า.

1. การใช้ประโยชน์จากอีสต์ทางการเกษตร
2. การใช้ประโยชน์จากอีสต์ทางด้าน
อุตสาหกรรม. I. ชื่อเรื่อง

664.68

ISBN 978-616-278-847-5

ชื่อหนังสือ	การประยุกต์ใช้อีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่
คณะผู้เขียน	สาวิตรี ลิ้มทอง, รุจิกาญจน์ นาสนิท, นันทนา สีสุข, รุจิราลัย พูลทวี, พิรพรรณ พลบุรี
จำนวน	161 หน้า
พิมพ์ครั้งที่	1
จัดทำโดย	ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ชั้น 2 อาคารศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์จุฬารัตน์ 60 พรรษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลขที่ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 E-mail: info.bdcku@gmail.com https://bdcku.ku.ac.th/
พิมพ์ที่	บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด 457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200 โทรศัพท์ 02 2826033-4 โทรสาร 02 2802187-4 E-mail: thanaaron19@gmail.com https://thanaaronkarnpim.co.th

การอ้างอิง

- บทนำ สาวิตรี ลี้มทอง. บทนำ. ใน: สาวิตรี ลี้มทอง, บรรณาธิการ. การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่. กรุงเทพฯ: บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด; 2567. หน้า 1-8
- บทที่ 1 สาวิตรี ลี้มทอง. การใช้ยีสต์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพโรคพืชและโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา. ใน: สาวิตรี ลี้มทอง, บรรณาธิการ. การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่. กรุงเทพฯ: บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด; 2567. หน้า 9-40
- บทที่ 2 สาวิตรี ลี้มทอง. กลไกการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ปฏิปักษ์และการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ในเชิงพาณิชย์. ใน: สาวิตรี ลี้มทอง, บรรณาธิการ. การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่. กรุงเทพฯ: บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด; 2567. หน้า 41-74
- บทที่ 3 รุจิกัญจน์ นาสนิท. การควบคุมราผลผลิตแอปเปิ้ลที่ออกซินด้วยยีสต์ปฏิปักษ์. ใน: สาวิตรี ลี้มทอง, บรรณาธิการ. การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่. กรุงเทพฯ: บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด; 2567. หน้า 75-93
- บทที่ 4 นันทนา สีสุข. การผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยยีสต์. ใน: สาวิตรี ลี้มทอง, บรรณาธิการ. การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่. กรุงเทพฯ: บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด; 2567. หน้า 94-123
- บทที่ 5 รุจिरาลัย พูลทวี และพิรพรรณ พลบุรี. การผลิตลิพิดโดยยีสต์. ใน: สาวิตรี ลี้มทอง, บรรณาธิการ. การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่. กรุงเทพฯ: บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด; 2567. หน้า 124-154

คำนำ

ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้จัดทำหนังสือ เรื่อง การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่ เพื่อเผยแพร่ความรู้ด้านการใช้ ประโยชน์ทรัพยากรยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในเรื่องการใช้ประโยชน์และพบได้ทั่วไปในแหล่ง ที่อยู่ต่าง ๆ ทั้งในประเทศไทยและประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก โดยเน้นเรื่องการใช้ประโยชน์ทางด้าน การเกษตรและอุตสาหกรรมที่กำลังได้รับความสนใจในยุคปัจจุบันและมีแนวโน้มที่จะใช้ใน อนาคตอันใกล้ อันจะเป็นการให้ความรู้เพื่อสนับสนุนการทำวิจัยและพัฒนาที่จะมีส่วนช่วยใน เรื่องของการขับเคลื่อนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bioeconomy) ที่เป็นองค์ประกอบหนึ่งของโมเดล เศรษฐกิจบีซีจี (BCG Economy Model)

หนังสือ เรื่อง การประยุกต์ใช้ยีสต์เพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรมยุคใหม่ เล่มนี้ นำเสนอความรู้เกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากยีสต์ทางด้านการเกษตรและอุตสาหกรรม ประกอบด้วย การใช้ยีสต์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพโรคพืชและโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวที่ เกิดจากรา การควบคุมราผลิตแอลกอฮอล์ออกซินด้วยยีสต์ปฏิปักษ์ การผลิตกรดอินโดล-3- แอซีติกโดยยีสต์ และ การผลิตลิพิดโดยยีสต์ ที่ได้จากการรวบรวมจากตำราและวารสาร ภาษาอังกฤษและภาษาไทยจำนวนมาก รวมทั้งผลงานวิจัยของผู้เขียนเอง แล้วนำมาเรียบเรียง เขียนเป็นเนื้อหาของแต่ละเรื่อง

ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์หวังเป็นอย่างยิ่งว่า ความรู้ในหนังสือเล่มนี้จะมีประโยชน์สำหรับผู้ที่กำลังทำหรือกำลังจะทำงานวิจัยและพัฒนา เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์จากยีสต์ที่กล่าวไว้ในหนังสือเล่มนี้ รวมถึงผู้ประกอบการที่สนใจจะผลิต ผลิตภัณฑ์ที่กล่าวไว้ในหนังสือเล่มนี้ ตลอดจนผู้สนใจทั่วไป อย่างไรก็ตามหากผู้อ่านเห็น ข้อผิดพลาดหรือบกพร่อง ตลอดจนมีข้อเสนอแนะประการใด คณะผู้เขียนจะนำไปปรับปรุงใน โอกาสต่อไป

ศาสตราจารย์ ดร.สาวิตรี ลิ่มทอง

ผู้อำนวยการ

ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สิงหาคม 2567

สารบัญ

	หน้าที่
บทนำ	1
บทที่ 1 การใช้ยีสต์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพโรคพืช และโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา	9
ปฏิสัมพันธ์ที่เอื้อต่อการควบคุมทางชีวภาพ	11
ลักษณะของยีสต์ที่เป็นประโยชน์สำหรับใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ	12
การใช้ยีสต์สำหรับการควบคุมโรคพืช	14
การใช้ยีสต์ในการควบคุมโรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา	16
แหล่งของยีสต์ปฏิปักษ์	22
เกณฑ์สำหรับการคัดเลือกปฏิปักษ์ในอุตสาหกรรม	24
เอกสารอ้างอิง	32
บทที่ 2 กลไกการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ และการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ในเชิงพาณิชย์	41
การเป็นปฏิปักษ์โดยตรง	42
การเป็นปฏิปักษ์ทางอ้อม	49
ข้อจำกัดในการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์	56
การพัฒนาสูตรของตัวควบคุมทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ	57
การจดทะเบียนยีสต์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์	59
เอกสารอ้างอิง	64
บทที่ 3 การควบคุมราผลิตแอฟลาท็อกซินด้วยยีสต์ปฏิปักษ์	75
ราผลิตแอฟลาท็อกซิน	75
แอฟลาท็อกซิน	76
ความเป็นพิษของแอฟลาท็อกซิน	77
ข้อกำหนดระดับการปนเปื้อนของแอฟลาท็อกซิน	78
การควบคุมทางชีวภาพโดยยีสต์ปฏิปักษ์	79
กลไกการควบคุมราผลิตแอฟลาท็อกซินของยีสต์ปฏิปักษ์	80
การควบคุมทางชีวภาพของราผลิตแอฟลาท็อกซินโดยยีสต์ปฏิปักษ์	86
เอกสารอ้างอิง	88

สารบัญ (ต่อ)

	หน้าที่
บทที่ 4 การผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยยีสต์	94
บทบาทของกรดอินโดล-3-แอซีติกในพืชและจุลินทรีย์	96
วิธีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติก	98
การผลิตและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยจุลินทรีย์	106
การประยุกต์ใช้กรดอินโดล-3-แอซีติก	114
เอกสารอ้างอิง	116
บทที่ 5 การผลิตลิพิดโดยยีสต์	124
ชนิดของจุลินทรีย์อุดมน้ำมัน	125
ยีสต์อุดมน้ำมัน	128
ลิพิดจากยีสต์	129
การสังเคราะห์และควบคุมการสะสมลิพิดในจุลินทรีย์อุดมน้ำมัน	132
การสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล	136
การสร้างเม็ดลิพิดในยีสต์	138
วัตถุประสงค์สำหรับการผลิตลิพิดโดยยีสต์	140
วิธีการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตลิพิดโดยจุลินทรีย์	142
การสกัดลิพิด	147
เอกสารอ้างอิง	148
ประวัติผู้เขียน	155

ยีสต์เป็นราที่มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์เดี่ยว ส่วนใหญ่เพิ่มจำนวนโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยการแตกหน่อ (budding) มีน้อยชนิดที่เพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์แบบฟิสชัน (fission) มีทั้งชนิดที่พบเฉพาะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและชนิดที่พบทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศอาจเกิดโดยการสร้างสปอร์แบบมีเพศชนิดแอสโคสปอร์ (ascospore) ในแอสคัส (ascus) หรือเบซิดิโอสปอร์ (basidiospore) บนเบซิดิเดียม โดยสปอร์แบบมีเพศไม่ได้อยู่ในส่วนสร้างสปอร์ (fruiting body) (Spencer and Spencer 1997) ยีสต์อยู่ในอาณาจักร (Kingdom) *Fungi* จำแนกเป็น 2 ไฟลัม (phylum) คือ ไฟลัม *Ascomycota* และไฟลัม *Basidiomycota* โดยในแต่ละไฟลัมประกอบด้วยสกุลที่พบเฉพาะระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorphic state) ที่เรียกว่า อะนามอร์ฟิกจีนัส (anamorphic genus) และสกุลที่พบทั้งระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและสกุลที่มีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorphic state) ด้วย ที่เรียกว่า ทีลีโอมอร์ฟิกจีนัส (teleomorphic genus) (Kurtzman et al. 2011) ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นคีโมออร์กาโนโทรฟที่แท้จริง (strictly chemoorganotroph) (Walker, 1998) หรือแซโพรโทรฟ (saprotroph) มีความสัมพันธ์กับพืชหรือสัตว์ที่มีชีวิตหรือสารอินทรีย์ที่ได้จากพืชและสัตว์ที่ตายแล้ว โดยยีสต์สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนได้อย่างหลากหลาย เช่น น้ำตาล (sugar) พอลิแอลกอฮอล์ (polyol) กรดอินทรีย์ (organic acid) กรดไขมัน (fatty acid) ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) แอลกอฮอล์ (alcohol) พอลิเมอร์ (polymer)

ยีสต์พบได้ทั่วไปในแหล่งที่อยู่ (habitat) ต่าง ๆ ในธรรมชาติยีสต์ แต่ยีสต์แต่ละชนิดหรือแต่ละกลุ่มมีแหล่งที่อยู่จำเพาะ (specific habitat) (Phaff and Starmer 1987) การพบยีสต์แต่ละชนิดในแหล่งที่อยู่นั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะทางสรีรวิทยาของยีสต์ชนิดนั้น ได้แก่ ความสามารถในการใช้สารประกอบบางชนิดและความสามารถในการเจริญในภาวะแวดล้อมนั้น ๆ เช่น การพบ *Candida sonorensis* ในเนื้อเยื่อของต้นกระบองเพชร เนื่องจากยีสต์ชนิดนี้ใช้สารโพรเพน-2-ออล (propan-2-ol) ซึ่งมีมากในเนื้อเยื่อต้นกระบองเพชร การพบยีสต์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ (psychrophilic yeast) คือ *Mrakia frigida* ในดินที่แอนตาร์กติกา ดังนั้นสารประกอบอินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนและธาตุอาหารต่าง ๆ และภาวะแวดล้อมของแหล่งที่อยู่เหล่านั้นจะร่วมกันกำหนดชนิดของยีสต์ที่พบ นอกจากนี้เนื่องจากยีสต์ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ดังนั้นการแพร่กระจายของยีสต์ในธรรมชาติอาจ

เกิดโดยละอองลอยในอากาศ มีสัตว์เป็นพาหะ และกิจกรรมของมนุษย์ (Fell and Kurtzman, 1996) แหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของยีสต์มีทั้งแหล่งที่อยู่บนบก (terrestrial habitat) แหล่งที่อยู่ในน้ำ (aquatic habitat) ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำทะเล รวมทั้งแหล่งที่อยู่ที่มีความรุนแรง (extreme habitat) เช่น มีความเค็มสูง มีความเย็นจัด แหล่งที่อยู่ยีสต์ชอบ คือ พืช โดยพบยีสต์ได้ทั้งที่ดอก ผล ใบ ลำต้น และยางไม้ ทั้งนี้เพราะพืชนอกจากจะมีความสามารถในการสังเคราะห์น้ำตาลและพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดแล้ว ยังสามารถสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอนชนิดอื่นอีกหลายชนิดทำให้มีซับสเตรดที่หลากหลายสำหรับการเจริญของยีสต์ นอกจากนี้พืชยังให้เกลือแร่ชนิดต่าง ๆ และธาตุอาหารอื่น ๆ ที่ยีสต์ต้องการปริมาณเล็กน้อย เช่น วิตามินบางชนิดกับยีสต์ (Phaff and Starmer 1987; Spencer and Spencer 1997; Walker, 1998) ยีสต์ซึ่งพบที่ ดอกไม้ เช่น *Hannaella coprosmaensis*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Metschnikowia maroccana*, *Moesziomyces bullatus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*, *Starmerella vitis*, *Wickerhamiella nectarea*, *Wickerhamiella natalensis* (Čadež et al. 2020; Han et al. 2015; Vadkertiová et al. 2012; de Vega et al. 2017; 2018) ยีสต์ที่พบบนผลไม้ เช่น *Cystobasidium calyptogenae*, *Galactomyces candidus*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kluyveri*, *Pichia kudriavzevii*, *Saccharomyces cerevisiae* (Gava et al. 2017; Nasir et al. 2017; Vadkertiová et al. 2012) ยีสต์ที่พบบนใบพืชมีทั้งยีสต์ในไฟลัม *Ascomycota* และ *Basidiomycota* ตัวอย่างสปีชีส์ในไฟลัม *Ascomycota* เช่น *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cyberlindnera fabianii*, *Diutina (Candida) rugosa*, *Kodamaea ohmeri*, *Metschnikowia lopburiensis*, *Meyerozyma caribbica*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Wickerhamomyces anomalus* ส่วนสปีชีส์ในไฟลัม *Basidiomycota* เช่น *Dirkmeia churashimaensis*, *Hannaella siamensis*, *Hannaella sinensis*, *Kwoniella heveanensis*, *Moesziomyces aphidis*, *Papiliotrema flavescens*, *Papiliotrema japonica*, *Papiliotrema rajasthanensis*, *Rhodosporidiobolus fluvialis*, *Rhodotorula taiwanensis*, *Sporobolomyces blumeae*, *Sporobolomyces carnicolor* (Into et al. 2020a; 2020b; Limtong and Nasanit 2017) แม้นกระทั่งยางไม้หลายชนิดก็ยังสามารถพบยีสต์ได้ เช่น *Saccharomycodes ludwigii* พบเป็นครั้งแรกจากยางไม้ไค้ค (Boundy-Mills et al. 2011) *Ogataea chonburiensis* พบเป็นครั้งแรกจากยางต้นมะม่วง (Limtong et al. 2003) *Ogataea falcaomoraisii* (Morais et al. 2004) ยีสต์บางชนิดมีความสัมพันธ์กับสัตว์ โดยอาจอยู่ร่วมกันแบบที่ฝ่ายหนึ่งได้รับประโยชน์และอีกฝ่ายหนึ่งไม่ได้รับประโยชน์หรือโทษ (commensalism) และอาจอยู่ร่วมกันแบบเป็นปรสิต (parasite) เช่น พบในลำไส้ของสัตว์โดยไม่ทำอันตรายต่อสัตว์ ยีสต์บางชนิดมีความสัมพันธ์กับแมลง โดยแมลงทำหน้าที่เป็นเพียงพาหะแพร่กระจายยีสต์และไม่ได้ประโยชน์จากยีสต์ หรือแมลงนอกจากทำหน้าที่เป็นพาหะแล้วอาจได้รับ

ธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์จากเซลล์ยีสต์ซึ่งเจริญอยู่บนอาหารของแมลง หรือเจริญอยู่ในทางเดินอาหารของแมลงเอง เช่น ทางเดินอาหารผึ้งพบยีสต์ *Debaryomyces hansenii*, *Metschnikowia gruessii*, *M. pulcherrima*, *Metschnikowia kunwiensis*, *Metschnikowia reukaufii*, *Starmerella bombi*, *Wickerhamiella bombiphila*, *Zygosaccharomyces rouxii* เป็นต้น ในลำไส้ของแมลงหิวแยกได้ยีสต์ *C. parapsilosis*, *Candida sonorensis*, *Diutina catenulata*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Pichia terricola*, *Saccharomyces ludwigii* เป็นต้น ส่วนยีสต์ที่แยกจากลำไส้ของปลวก เช่น *Candida blankii*, *Debaryomyces hansenii*, *Ogataea pini*, *Scheffersomyces ergatensis*, *Scheffersomyces segobiensis*, *Scheffersomyces shehatae*, *Scheffersomyces stipitis* สำหรับลำไส้ของผีเสื้อพบยีสต์ *Meyerozyma carpophila*, *Kurtzmaniella quercitrusa*, *Candida sake*, *Candida zeylanoides*, *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Metschnikowia fructicola* เป็นต้น (Phaff and Starmer, 1987; Spencer and Spencer, 1997; Stefanini et al. 2018) ยีสต์หลายชนิดพบอยู่ในดิน ชนิดต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างกันทั้งองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพ ความชื้น พีเอช และตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ ยีสต์ที่พบบ่อยในดิน เช่น สกุล *Lipomyces*, *Debaryomyces*, *Schizoblastosporion*, *Cryptococcus* ตัวอย่างของยีสต์ที่แยกได้จากดิน เช่น *Monosporozyma aquatica*, *Saturnispora diversa*, *Saturnispora sekii*, *Schwanniomyces pseudopolymorphus*, *Wickerhamomyces anomalus* ซึ่งเป็นยีสต์ในไฟลัม *Ascomycota* และ *Apiotrichum scarabaeorum*, *Curvibasidium pallidicorallinum*, *Papiliotrema laurentii*, *Rhodospordiobolus ruineniae*, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon coremiiforme* ซึ่งอยู่ในไฟลัม *Basidiomycota* (Kumla et al. 2020; Phaff and Starmer 1987; Spencer and Spencer 1997) สำหรับยีสต์ที่พบในน้ำนั้น แหล่งน้ำที่ถือว่าเป็นแหล่งที่อยู่ที่เหมาะสมสำหรับยีสต์คือน้ำทะเล ยีสต์ที่พบ เช่น *Kluyveromyces aestuarii*, *Metschnikowia* sp. ส่วนในน้ำกร่อยพบยีสต์ เช่น *Candida andamanensis*, *Candida laemsonensis*, *Diutina ranongensis* (ชื่อเดิม *Candida ranongensis*), *Kluyveromyces siamensis* (Am-In et al. 2008; 2011; Phaff and Starmer 1987; Spencer and Spencer 1997) นอกจากพบยีสต์ในแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติหลายแหล่งแล้ว ยังอาจพบยีสต์ได้ในสภาพแวดล้อมที่มนุษย์สร้างขึ้น ตัวอย่างเช่น ลูกแป้งซึ่งใช้เป็นการกักเชื้อแบบแห้งสำหรับการผลิตอาหารหมักอาหารหมักพื้นเมืองบางชนิด พบยีสต์ ดังนี้ *Cyberlindnera fabianii* (ชื่อเดิม *Pichia fabianii*), *Hyphopichia burtonii* (ชื่อเดิม *Pichia burtonii*), *Pichia kudriavzevii*, *Isabelozyma rhagii* (ชื่อเดิม *Candida rhagii*), *Nakaseomyces glabratus* (ชื่อเดิม *Candida glabrata*), *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulasporea globosa*, *Wickerhamomyces anomalus* (ชื่อเดิม *Pichia anomala*), *Yamadazyma mexicana* (ชื่อเดิม *Pichia mexicana*) (Limtong et al. 2002)

ประโยชน์จากยีสต์

"ยีสต์ (yeast)" ตามคำดั้งเดิมในหลายภาษามีความหมายสัมพันธ์กับความสามารถในการหมัก เช่น ภาษาอังกฤษใช้คำว่า "yeast" และภาษาดัชท์ใช้คำว่า "gist" มาจากภาษากรีกว่า "zestos" ซึ่งหมายถึงเดือด เนื่องมาจากลักษณะที่มีฟองปุดขึ้นมาเพราะการสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ คำในภาษาเยอรมัน "hefe" และภาษาฝรั่งเศส "levure" ที่มาจากคำว่า "lever" ซึ่งเป็นภาษาลาติน ทั้ง 2 คำเป็นคำกริยาที่มีความหมายว่า ขึ้น หรือ ยกให้สูง ซึ่งเป็นเพราะลักษณะมีฟองปุดขึ้นมาเช่นกัน (Phaff et al. 1996) ส่วนภาษาญี่ปุ่นใช้คำว่า "kobo" หมายถึง "mother of fermentation" (Nakase 2001)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้ เริ่มจากการผลิตเบียร์ชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Boozah เมื่อประมาณ 7,000 ปีก่อนคริสต์ศักราช ต่อมามีการใช้ยีสต์ในการผลิตไวน์เมื่อ 3,500 ปีก่อนคริสต์ศักราช เมื่อ 2,000 ปีก่อนคริสต์ศักราชมีรายงานที่แสดงให้เห็นว่าขนมปังที่ใช้ยีสต์ขึ้นฟูกว่าที่ไม่ใช้อย่างชัดเจน จากนั้นเทคโนโลยีการผลิตเบียร์ ไวน์ และขนมปัง ถูกถ่ายทอดจากประเทศอียิปต์ไปยังประเทศกรีก และต่อไปยังโรมัน ในราวศตวรรษที่ 13 และ 14 เทคโนโลยีการผลิตเบียร์ และไวน์แพร่หลายในบริเวณยุโรปตอนเหนือ เช่น อังกฤษ สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี สำหรับในทวีปเอเชียเมื่อประมาณ 1,000 ปีก่อนคริสต์ศักราชมีรายงานในประเทศจีนเกี่ยวกับสุรากลั่น ต่อมาในศตวรรษที่ 12 การผลิตวิสกีเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายทั่วโลก ทำให้เชื่อว่ากระบวนการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ใช้ในปัจจุบัน อาจมาจากตะวันออกแล้วเข้าไปสู่ยุโรป นอกจากนี้ในเอเชียมีการผลิตน้ำนมหมักที่เรียกว่า Kefyr และ Koumiss มาเป็นเวลาหลายศตวรรษ ในปี ค.ศ. 1998 มีรายงานว่ายีสต์ใช้ผลิตผลิตภัณฑ์จากการหมักในอุตสาหกรรมที่มีการผลิตปริมาณมากอยู่ 4 ชนิด คือ เบียร์ (ผลิตทั่วโลก 60 ล้านตันต่อปี), ไวน์ (ผลิตทั่วโลก 30 ล้านตันต่อปี), ยีสต์ขนมปัง (ผลิตทั่วโลก 600,000 ตันต่อปี) และโปรตีนเซลล์เดี่ยวและยีสต์อาหารสัตว์ (ผลิตทั่วโลก 800,000 ตันต่อปี) (Demain et al. 1998)

สำหรับผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่ใช้ยีสต์ในการผลิตมาเป็นเวลานานแล้วนั้น สามารถแบ่งกว้าง ๆ ได้เป็น (1) เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ วิสกี้ (2) ผลิตภัณฑ์จากการหมัก เช่น เอทานอล เชื้อเพลิง ก๊าซไฮโดรเจน (3) ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของเซลล์ยีสต์ เช่น ยีสต์ขนมปัง ยีสต์อาหารคน ยีสต์อาหารสัตว์ และ (4) ผลิตภัณฑ์ที่สกัดจากเซลล์ยีสต์ เช่น วิตามิน (วิตามินบี วิตามินดี) เอนไซม์หลายชนิด [อินเวอร์เทส (invertase) แลกเทส (lactase) และไลเปส (lipase)] อาร์เอ็นเอ (RNA) นอกจากนี้ยังมีการใช้ยีสต์ผลิตผลิตภัณฑ์อื่นอีกหลายชนิด เช่น น้ำนมที่ปราศจากแล็กโทส (lactose-free milk) สารให้ความหวาน เช่น อะราบิทอล (arabitol) ซิลิทอล (xylitol)

อีรีทริทอล (erythritol) สารให้สี เช่น แอสตาแซนทิน (astaxanthin) อัลฟา-แคโรทีนอยด์ (α -carotenoid) พอลิแซ็กคาไรด์ เช่น ฟอสฟอแมนแนน (phosphomannan) พูลลูลาน (pullulan) กรดแอมิโน เช่น แอล-ฟีนิลอะลานีน (L-phenylalanine) สารให้กลิ่นรส รวมทั้งสารต่าง ๆ สำหรับการรักษาและดูแลสุขภาพ เช่น ยารักษาโรค วัคซีน ฮอริโมน โพรไบโอติก (probiotic) ยิ่งไปกว่านั้นในปัจจุบันยังมีการใช้ยีสต์เป็นเซลล์เจ้าบ้าน (host) สำหรับการแสดงออกของรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอ (recombinant DNA) เพื่อการผลิตโปรตีนที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายประเภท (Demain et al. 1998; Walker 1998)

ที่ผ่านมา *S. cerevisiae* เป็นสปีชีส์ที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางและยังคงใช้มากในอุตสาหกรรมจนถึงปัจจุบัน จากหนังสือ *The Yeasts, a Taxonomic Study* พิมพ์ครั้งที่ 5 ใน ค.ศ. 2011 มีรายงานว่ามียีสต์ 149 สกุล เกือบ 1,500 สปีชีส์ แต่มียีสต์เพียงประมาณ 10 กว่าสปีชีส์ที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรม และมีประมาณ 70-80 สปีชีส์ที่แสดงศักยภาพทางเทคโนโลยีชีวภาพ (Türker 2014) ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากยีสต์ที่มีการวิจัยและพัฒนาเพื่อนำไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์มีหลายผลิตภัณฑ์ ในหนังสือเล่มนี้จะกล่าวถึงผลิตภัณฑ์ใหม่จากยีสต์บางผลิตภัณฑ์ คือ ลิพิด กรดอินโดล-3-แอซีติก และตัวควบคุมทางชีวภาพสำหรับการควบคุมโรคพืชและโรคหลังเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา และราผลิตแอลกอฮอล์ออกซิน

นอกจากการใช้ประโยชน์สำหรับผลิตผลิตภัณฑ์ ยีสต์โดยเฉพาะ *S. cerevisiae* ซึ่งเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ และ *Schizosaccharomyces pombe* ซึ่งเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์แบบฟิสชัน มีบทบาทสำคัญในวิวัฒนาการของจุลชีววิทยา ชีวเคมี และพันธุศาสตร์ ในระยะเวลามากกว่า 25 ปีที่ผ่านมายีสต์ทั้ง 2 ชนิดกลายเป็นแบบจำลองเซลล์ยูแคริโอตสำหรับการศึกษาด้าน ได้แก่ ชีวเคมี ชีววิทยาของเซลล์ พันธุศาสตร์ และชีววิทยาระดับโมเลกุล นอกจากนี้ในปัจจุบัน *S. cerevisiae* เป็นแบบจำลองขั้นสูงของชีววิทยาระบบ (systems biology) ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาการใช้ high-throughput sequencing technology ทั้งหมด มีส่วนทำให้ยีสต์สปีชีส์นี้กลายเป็นแบบจำลองสำหรับการศึกษาวิวัฒนาการของจีโนม (evolutionary genomics) การวิเคราะห์จีโนมของสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่าและสายพันธุ์ที่มีการใช้ประโยชน์ ให้อายละเอียดที่ไม่เคยมีมาก่อนของหลายกระบวนการที่ควบคุมวิวัฒนาการ ทั้งกระบวนการที่ใช้เวลานาน เช่น การเกิดสายพันธุ์ใหม่ และกระบวนการที่ใช้เวลาสั้น เช่น การปรับตัวต่อธรรมชาติและสภาพแวดล้อมที่สร้างขึ้น (Marsit et al. 2017)

เอกสารอ้างอิง

- Am-In S, Limtong S, Yongmanitchai W, Jindamorakot S. *Candida andamanensis* sp. nov., *Candida laemsonensis* sp. nov., and *Candida ranongensis* sp. nov., three anamorphic yeast species isolated from estuarine waters in a mangrove forest in Ranong Province, Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2011;61:454–461.
- Am-In, S., W. Yongmanitchai and S. Limtong. *Kluyveromyces siamensis* sp. nov., an ascomycetous yeast isolated from water in a mangrove forest in Ranong Province, Thailand. *FEMS Yeast Research.* 2008; 8(5):823–828.
- Boundy-Mills K, Stratford M, Miller MW. *Saccharomyces* E.C. Hansen (1904). In: Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T, editors. *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 5th ed. San Diego. Elsevier Science. 2011. p. 747–750.
- Čadež N, Drumonde-Neves J, Sipiczki M, Dlačny D, Lima T, Pais C, Schuller D, Franco-Duarte R, Lachance M–A, Péter G. *Starmerella vitis* f.a., sp. nov., a yeast species isolated from flowers and grapes. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2020;113:1289–1298
- de Vega C, Albaladejo RG, Guzmán B, Steenhuisen SL, Johnson SD, Herrera Carlos M, Lachance M–A, Flowers as a reservoir of yeast diversity: description of *Wickerhamiella nectarea* f.a. sp. nov., and *Wickerhamiella natalensis* f.a. sp. nov. from South African flowers and pollinators, and transfer of related *Candida* species to the genus *Wickerhamiella* as new combinations. *FEMS Yeast Research.* 2017;17(5):fox054.
- de Vega C, Albaladejo RG, Lachance M–A. *Metschnikowia maroccana* f.a., sp. nov., a new yeast species associated with floral nectar from Morocco. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2018;68(6):2028–2035
- Demain AL, Phaff HJ, Kurtzman CP. The industrial and agricultural significance of yeasts. In: Kurtzman CP, Fell JW, editors. *The Yeasts, A Taxonomic Study*. 4th ed. Amsterdam: Elsevier; 1998. p. 13–19.
- Gava CAT, de Castro APC, Pereira CA, Fernandes-Júnior PI. Isolation of fruit colonizer yeasts and screening against mango decay caused by multiple pathogens. *Biol Control.* 2018;117:137–146.
- Han SM, Hyun SH, Lee HB, Lee HW, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers collected around Jangseong Lake in Jeollanam-do, Republic of Korea, and characterization of the unrecorded yeast *Bullera coprosmaensis*. *Mycobiology.* 2015;43(3):266–271
- Into P, Khunnamwong P, Jindamorakot S, Am-in S, Intanoo W, Limtong S. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. *Microorganisms.* 2020a;8: 362.

- Into P, Pontes A, Sampaio JP, Limtong S. Yeast diversity associated with the phylloplane of corn plants cultivated in Thailand. *Microorganisms*. 2020b;**8**(1):80.
- Fanning S, Mitchell AP. Fungal biofilms. *PLoS Pathog*. 2012;**8**:e1002585.
- Kumla J, Nundaeng S, Suwannarach N, Lumyong S. Evaluation of Multifarious Plant Growth Promoting Trials of Yeast Isolated from the Soil of Assam Tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) Plantations in Northern Thailand. *Microorganisms*. 2020; **8**(8):1168.
- Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. *The yeasts: A taxonomic study*, 5th ed. Amsterdam: Elsevier; 2011.
- Limtong S, Nasanit R. Phylloplane yeasts in tropical climates. In: Buzzini P, Lachance MA, Yurko A, editors. *Yeasts in natural ecosystems: Diversity*. Cham: Springer; 2017. p. 199–224.
- Limtong S, Srisuk N, Yongmanitchai W, Yurimoto H, Nakase T. *Ogataea chonburiensis* sp. nov. and *Ogataea nakhonphanomensis* sp. nov., two thermotolerant, methylotrophic yeast species isolated in Thailand and the transfer of *Pichia siamensis* and *Pichia thermomethanolica* to the genus *Ogataea*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2008;**58**:302–307.
- Limtong S, Sintra S, Suwanarit P, Lotong N. Yeast diversity in traditional fermentation starter (Loog-pang). *Kasetsart J (Nat. Sci)*. 2002;**36**:149–158.
- Marsit S, Leducq JB, Durand É et al. Evolutionary biology through the lens of budding yeast comparative genomics. *Nat Rev Genet*. 2017;**18**:581–598
- Morais PB, Teixeira LCRS, Bowles JM, Lachance MA, Rosa CA, *Ogataea falcaomoraisii* sp. nov., a sporogenous methylotrophic yeast from tree exudates, *FEMS Yeast Research*. 2004;**5**:81–85.
- Nakase T. What is Yeasts. Lecture note for the Workshop on Yeasts: Classification, Identification, Preservation and Application. 9–13 July, 2001. Kasetsart University, Bangkok, Thailand
- Nasir A, Rahman SS, Hossain MM, Choudhury N. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* from pineapple and orange and study of metal's effectiveness on ethanol production. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2017;**7**(1):76–91.
- Phaff HJ, Starmer WT. Yeast associated with plants, insects and soil. In: Rose AH, Harrison JS, editors. *The Yeasts*. Vol. 1. *Biology of Yeasts*. 2nd edition. London: Academic Press; 1987. p. 123–179.
- Phaff HJ, Miller MW, Mrak EM. *The life of yeasts: Their nature, activity, ecology and relation to mankind*. Cambridge: Harvard University Press; 1996.
- Spencer JFT, Spencer DM. Ecology: where yeasts live. In: Spencer JFT, Spencer DM, editors. *Yeasts in natural and artificial habitats*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 1997. p. 31–58.
- Stefanini I. Yeast–insect associations: It takes guts. *Yeast*. 2018 **A**;35(4):315–330.

Türker M. Yeast biotechnology: Diversity and applications. pp 1–26. In the 27th VH Yeast Conference Advances in Science and Industrial Productionss of Baker’s Yeast, April 1 4–1 5, 2014, Istanbul.

Vadkertiová R, Jana Molnárová, Dana Vránová, Elena Sláviková. Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Can J Microbiol* 2012;58(12):344–1352.

Walker G.M. Yeast physiology and biotechnology. Wesr Sussex: John Wiley and Sons; 1998.

การใช้ยีสต์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพโรคพืช และโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา

สาวิตรี ลิ้มทอง

การควบคุมทางชีวภาพ (Biological control หรือ คำย่อ biocontrol) เป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติที่เกิดอย่างกว้างขวางในสภาพแวดล้อม ประกอบด้วยการควบคุมการเจริญของประชากรของสิ่งมีชีวิตหนึ่งด้วยสิ่งมีชีวิตปฏิปักษ์อีกชนิดหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งชนิด การควบคุมเกิดจากอิทธิพลของเชื้อก่อโรค ตัวให้อาศัย (host) ไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ และสิ่งแวดล้อม การควบคุมทางชีวภาพมีศักยภาพที่จะเกิดกับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เนื่องจากสิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีเชื้อก่อโรค และอาจเกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตหลายสปีชีส์ที่แตกต่างกัน ที่เป็นผลให้เกิดความสมดุลของระบบนิเวศ แนวคิดที่ว่ามีบางสปีชีส์สามารถลดประชากรของสปีชีส์อื่นมีมานาน ชาวจีนชนชาติแรกที่ใช้กลยุทธ์การควบคุมทางชีวภาพ เมื่อต้นศตวรรษที่ 3 โดยใช้มดแดง (*Oecophylla smaragdina*) ควบคุมผีเสื้อที่เป็นแมลงในอันดับ *Lepidoptera* ซึ่งกินพืชเป็นอาหาร ในพืชตระกูลส้ม ส่วนกรณีที่มีเอกสารรายงานอย่างเป็นทางการถึงความสำเร็จในการควบคุมทางชีวภาพ คือ การนำด้วง *Rodolia cardinalis* จากประเทศออสเตรเลียมายังแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ใน ค.ศ. 1888 เพื่อควบคุมเพลี้ยหอยฝ้าย (cottony cushion scale) ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Icerya purchasi* พบว่า 2 ปีหลังจากนั้น *R. cardinalis* ควบคุมเพลี้ยหอยฝ้ายได้อย่างสมบูรณ์ (van den Bosch et al. 1982) ข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าการควบคุมทางชีวภาพนี้เริ่มใช้กับการควบคุมแมลงและวัชพืช หลังจากนั้นมีการใช้กว้างขวางขึ้น จนปัจจุบันใช้กับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง สัตว์มีกระดูกสันหลัง โรคพืช และโรคหลังการเก็บเกี่ยว (postharvest disease) ของส่วนต่าง ๆ ของพืช (Pimental et al. 2009)

คำศัพท์ “การควบคุมทางชีวภาพ” ใช้ในสาขาชีววิทยาที่แตกต่างกันโดยที่สาขาใช้มาก คือ กัญญาวิทยา และโรคพืช สำหรับทางด้านกัญญาวิทยาการควบคุมทางชีวภาพใช้เพื่ออธิบายการใช้แมลงซึ่งกินสัตว์อื่น ที่เรียกว่าแมลงนักล่า (predatory insect) เพื่อลดประชากรของแมลงที่เป็นศัตรูพืชชนิดอื่น ส่วนด้านโรคพืชใช้กับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (microbial antagonist) เพื่อลดการเกิดโรค รวมทั้งการใช้เชื้อก่อโรคที่มีความจำเพาะเพื่อควบคุมประชากรวัชพืช ในทั้ง 2 กรณีสิ่งมีชีวิตที่ใช้ควบคุมสิ่งที่รบกวนหรือเชื้อก่อโรค เรียกว่า ตัวควบคุมทางชีวภาพ (biological control agent) หรือที่เรียกย่อว่า BCA ยิ่งไปกว่านั้นคำศัพท์ “การควบคุมทางชีวภาพ” นี้ยังใช้กับการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (natural product) ที่ได้จากการสกัดหรือการหมักจากแหล่งต่าง ๆ นอกจากนั้น สมาชิกของ U.S.

National Research Council คำนี้ถึงการพัฒนาเทคโนโลยีสมัยใหม่และให้ความหมายของการควบคุมทางชีวภาพว่าเป็นการใช้สิ่งมีชีวิตธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตดัดแปลง (modified organism) ยีน หรือผลผลิตจากยีน (gene product) ที่ลดอิทธิพลของสิ่งมีชีวิตที่ไม่พึงปรารถนาและสนับสนุนสิ่งมีชีวิตที่พึงปรารถนา เช่น แมลงและจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ แต่ความหมายนี้มีผู้โต้แย้งมากและมักถูกมองว่ากว้างเกินไปเนื่องจากศัพท์ “การควบคุมทางชีวภาพ” มีความหมายได้หลายอย่างตามแนวคิดต่าง ๆ จึงอาจทำให้สับสน ดังนั้นในแต่ละงานที่จะนำไปใช้ต้องกำหนดให้ชัดเจนว่าจะใช้ความหมายใดครอบคลุมอะไรบ้าง ความหมายของ “การควบคุมทางชีวภาพ” ที่ใช้ทั่วไปขึ้นอยู่กับเป้าหมายของการกีดหรือการกำจัดจำนวนชนิดและแหล่งของสิ่งมีชีวิต และระดับและระยะเวลาที่คนใช้ ความหมายของการควบคุมทางชีวภาพที่กว้างที่สุด คือ การกีดหรือการกำจัดกิจกรรมที่สร้างความเสียหายของสิ่งมีชีวิตหนึ่งโดยสิ่งมีชีวิตอื่นหนึ่งหรือหลายชนิด มักหมายถึงศัตรูธรรมชาติสำหรับด้านโรคพืชการกีดหรือการกำจัดสามารถเกิดได้หลายทาง ถ้าเกี่ยวข้องกับ การเติบโตของพืช การปลูกพืชหมุนเวียนและการปลูกพืชพันธุ์ต้านทานไม่ว่าจะเป็นพันธุ์ที่คัดเลือกตามธรรมชาติหรือจากการปรับปรุงพันธุ์กรรมจะรวมอยู่ในคำจำกัดความของการควบคุมทางชีวภาพด้วย เพราะพืชมีการตอบสนองต่อปัจจัยทางชีวภาพหลายอย่างทั้งที่เป็นเชื้อก่อโรคและที่ไม่ใช่เชื้อก่อโรค ดังนั้นการเหนี่ยวนำให้พืชต้านทานจึงถือว่าเป็นส่วนหนึ่งของการควบคุมทางชีวภาพ ความหมายของศัพท์ “การควบคุมทางชีวภาพ” ที่แคบกว่านั้น คือ การใช้ประโยชน์อย่างมีจุดมุ่งหมายของการนำหรือการใช้สิ่งมีชีวิตประจำถิ่นเพื่อกีดหรือกำจัดกิจกรรมและประชากรของเชื้อก่อโรคพืชหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งชนิด อาจรวมถึงการนำกล้าเชื้อจุลินทรีย์ไปกีดหรือกำจัดโรคพืชชนิดใดชนิดหนึ่งหรือกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง หรืออาจหมายถึงการจัดการดินเพื่อส่งเสริมกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตประจำถิ่นที่เกี่ยวข้องกับดินและพืชที่นำไปสู่การกีดหรือการกำจัด ความหมายที่แคบที่สุด คือ การกีดหรือการกำจัดโดยสิ่งมีชีวิตปฏิปักษ์ชนิดเดียวในระบบการปลูกพืชชนิดเดียว (Pimenta et al. 2009) ในบทนี้จะกล่าวถึงการควบคุมทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับโรคพืชและโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดกับส่วนต่าง ๆ ของพืช

ในสิ่งแวดล้อมทางการเกษตรพืชพันธุ์พื้นเมืองจะถูกแทนที่ด้วยพืชพันธุ์การค้า ทำให้จุลินทรีย์พื้นถิ่นเปลี่ยนไป และสปอร์ที่เป็นปฏิปักษ์หายไป ชาดผู้แข่งขันตามธรรมชาติทำให้การระบาดของโรคเกิดง่ายขึ้น มีหลายกลยุทธ์ที่ใช้ลดหรือควบคุมการเกิดโรค เช่น การใช้สารเคมี การใช้พันธุ์ต้านทานโรค และการควบคุมทางชีวภาพ ปัจจุบันวิธีการที่นิยม คือ การใช้สารเคมีเนื่องจากใช้ง่ายและเห็นผลชัดเจน แต่สารเคมีมักเป็นพิษต่อมนุษย์เป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ เป็นพิษต่อสัตว์และพืช ตกค้างในสิ่งแวดล้อมเพราะย่อยสลายทางชีวภาพช้าก่อให้เกิดมลพิษ และในปัจจุบันการใช้สารเคมีสำหรับการเกษตรมีการควบคุม (Kunyosying et al. 2018; Karthikeyan and

Gnanamanickan 2008) การใช้วิธีควบคุมทางชีวภาพได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากเป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม วิธีการที่ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพอ้างอิงสมมุติฐานที่ว่าสิ่งแวดล้อมไม่ถูกรบกวนมีการเกิดโรคน้อยเนื่องจากมีตัวต้านธรรมชาติ (natural antagonist) ดังนั้นการนำสิ่งมีชีวิตปฏิปักษ์ (antagonistic organism) เข้าไปในสิ่งแวดล้อมที่ถูกรบกวนจะช่วยควบคุมการเกิดโรค การใช้ตัวควบคุมทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ และทำให้การควบคุมประสบความสำเร็จต้องมีหลายลักษณะ เช่น การเป็นปฏิปักษ์ (antagonism) ต่อเชื้อก่อโรค มีชีววิทยาที่รู้จักกันเป็นอย่างดี ความจำเพาะกับเชื้อก่อโรค ผลิตและใช้ง่าย และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม หลักของการควบคุมทางชีวภาพนี้สอดคล้องกลยุทธี้ของการทำการเกษตรแบบยั่งยืน

ปฏิสัมพันธ์ที่เอื้อต่อการควบคุมทางชีวภาพ

สำหรับพืชและเชื้อก่อโรคตลอดวงจรชีวิตจะเกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ปฏิสัมพันธ์เหล่านี้มีอิทธิพลกับสุขภาพของพืชหลายทาง ดังนั้นความเข้าใจกลไกการควบคุมทางชีวภาพจะเป็นประโยชน์ สำหรับการเกิดปฏิสัมพันธ์สิ่งมีชีวิตต้องมีการสัมผัสโดยตรงหรือทางอ้อม Odum (1953) เสนอว่าปฏิสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิดมาจากผลที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (Pimenta et al. 2009) ชนิดของปฏิสัมพันธ์ แบ่งเป็น ภาวะพึ่งพากัน (mutualism) การได้รับประโยชน์ร่วมกัน (protocooperation) ภาวะอิงอาศัย (commensalism) ภาวะเป็นกลาง (neutralism) การแข่งขัน (competition) ภาวะอาศัยเสียประโยชน์ (amensalism) ภาวะปรสิต (parasitism) และการล่าเหยื่อ (predation)

ปฏิสัมพันธ์แบบภาวะพึ่งพากันเป็นความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต 2 หรือมากกว่า 2 สปีชีส์ และสปีชีส์ทั้ง 2 สปีชีส์ได้รับประโยชน์ เช่น ในกรณีของเชื้อราไมคอร์ไรซา (mycorrhizal fungi) ซึ่งเป็นปฏิสัมพันธ์แบบแท้จริงตลอดวงจรชีวิต ในขณะที่ทั่วไปมักเป็นปฏิสัมพันธ์แบบไม่แท้ (facultative) หรือแบบฉวยโอกาส (opportunistic) เช่น แบคทีเรีย *Rhizobium* ที่สามารถเพิ่มจำนวนทั้งในดินและในปมรากพืชตระกูลถั่ว ภาวะพึ่งพากันนี้สามารถมีส่วนร่วมในการควบคุมทางชีวภาพโดยการเสริมสร้างพืชด้วยการเพิ่มสารอาหารหรือโดยกระตุ้นความสามารถในการป้องกันของพืช ส่วนปฏิสัมพันธ์แบบการได้รับประโยชน์ร่วมกัน เป็นความสัมพันธ์แบบหนึ่งของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิดที่ต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกันในขณะที่มาดำรงชีพร่วมกัน แต่การอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตทั้ง 2 ชนิดไม่ขึ้นอยู่กับอีกฝ่ายหนึ่ง จุลินทรีย์หลายชนิดที่จัดเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพถือว่าเป็นสิ่งทำให้เกิดภาวะพึ่งพากันแบบไม่แท้ ผลคือทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์แบบการได้รับประโยชน์ร่วมกัน เนื่องจากการอยู่รอดไม่ค่อยขึ้นอยู่กับพืชเฉพาะใด ๆ และการก่อโรคหรือการกำจัดโรคจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ปฏิสัมพันธ์แบบภาวะอิงอาศัยเป็นการอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิดที่ฝ่ายหนึ่งได้

ประโยชน์ส่วนอีกฝ่ายไม่ได้รับทั้งประโยชน์หรืออันตราย จุลินทรีย์ที่สัมพันธ์กับพืชสันนิษฐานว่าเป็นพวกที่อิงอาศัยกับพืช เพราะจุลินทรีย์ที่มีอยู่มากไม่ค่อยส่งผลในเชิงบวกหรือเชิงลบอย่างชัดเจนกับพืชและในขณะที่มีจุลินทรีย์นั้นอาจทำให้เกิดผลกับเชื้อก่อโรคหลายอย่าง ปฏิสัมพันธ์แบบภาวะอิงอาศัยแสดงโดยการลดลงของการติดเชื้อก่อโรคและความรุนแรงของโรค (disease severity) ปฏิสัมพันธ์แบบภาวะเป็นกลางภาวะที่สิ่งมีชีวิต 2 ชนิดอยู่ร่วมกันแบบที่สิ่งมีชีวิตทั้ง 2 ชนิดไม่ได้รับทั้งประโยชน์และอันตราย เป็นปฏิสัมพันธ์ทางชีวภาพเมื่อความหนาแน่นของประชากรของสปีชีส์หนึ่งไม่มีผลกระทบใด ๆ กับสปีชีส์อื่น เกี่ยวข้องกับการควบคุมทางชีวภาพเพราะเชื้อก่อโรคไม่สามารถเพิ่มจำนวนประชากร ปฏิสัมพันธ์แบบการแข่งขัน คือ การแข่งขันระหว่างภายในสปีชีส์และระหว่างสปีชีส์เป็นผลให้การเจริญลดลง ควบคุมทางชีวภาพเกิดจากการที่จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพแข่งขันกับเชื้อก่อโรคในเรื่องของสารอาหารในพืชหรือบริเวณรอบ ๆ พืช ปฏิสัมพันธ์แบบภาวะอาศัยเสียประโยชน์ คือ ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต 2 สปีชีส์ซึ่งสปีชีส์หนึ่งถูกยับยั้งหรือถูกทำลายส่วนอีกสปีชีส์หนึ่งไม่ได้รับผลกระทบ ปฏิสัมพันธ์แบบภาวะปรสิต คือ ภาวะที่สิ่งมีชีวิต 2 ชนิดอยู่ร่วมกันแบบที่ฝ่ายหนึ่งซึ่งเป็นปรสิตได้รับประโยชน์จากอีกฝ่ายหนึ่งซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตให้อาศัย ที่เป็นแบบฉบับคือปรสิตได้รับสารอาหารจากสิ่งมีชีวิตให้อาศัย และความสัมพันธ์นี้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตให้อาศัย การควบคุมทางชีวภาพเป็นผลจากกิจกรรมของปรสิตต่อเชื้อก่อโรคพืช ซึ่งถือว่าเป็นปรสิตของพืช ที่น่าสนใจ คือ การติดเชื้อก่อโรคที่ไม่รุนแรงอาจนำไปสู่การควบคุมทางชีวภาพ เชื้อก่อโรคที่รุนแรงมากกว่าโดยการกระตุ้นระบบการป้องกัน ปฏิสัมพันธ์แบบสุดท้าย คือ การล่าเหยื่อ หมายถึงการล่าและการฆ่าสิ่งมีชีวิตหนึ่งโดยสิ่งมีชีวิตอื่น การล่าเหยื่อ เช่น ไล่เดือนฝอยที่กินราการควบคุมทางชีวภาพอาจเป็นผลจากปฏิสัมพันธ์ทั้งหมดในระดับต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมที่ไล่เดือนฝอยนั้นอยู่ (Pimenta et al. 2009)

ลักษณะของยีสต์ที่เป็นประโยชน์สำหรับใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ

ในบรรดาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ยีสต์ปฏิปักษ์ได้รับความสนใจเพราะมีหลายลักษณะที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (Freimoser et al. 2019; Pimenta et al. 2009) ยีสต์ที่อยู่ในชีวภาค (biosphere) ไม่ได้เข้าไปอยู่แบบสุ่ม ชุมชีพของยีสต์อาจถูกกำหนดโดยแหล่งที่อยู่ (habitat) (Lachance and Starmer 1998) ยีสต์อาจเป็นพวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่หลากหลาย (habitat generalist) หรือเป็นพวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่เฉพาะ (habitat specialist) ขึ้นกับแหล่งที่อยู่และภาวะการณ์ทางสรีรวิทยา โดยยีสต์พวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่หลากหลาย สามารถใช้สารประกอบคาร์บอนที่หลากหลายด้วยเหตุนี้ทำให้มีชีวิตรอดและเจริญในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ส่วนยีสต์พวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่เฉพาะมีภาวะการณ์ทางสรีรวิทยาที่ธรรมดาและได้พลังงานจากสารประกอบ

คาร์บอนเพียง 2-3 ชนิดทำให้แหล่งที่อยู่จำกัด แต่การที่มีภาวะการผันทางสรีรวิทยาธรรมชาติทำให้เจริญเร็วกว่า ตรงกันข้ามกับพวกที่มีสรีรวิทยาที่ซับซ้อนของยีสต์พวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่หลากหลาย ทำให้เจริญช้า (Abranches et al. 2000; Golubev 2006) ยีสต์พวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่หลากหลาย เก็บรักษาได้ง่ายกว่า และเพราะสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อได้หลายชนิด ทำให้เหมาะสมสำหรับการผลิตในอุตสาหกรรมอย่างไรก็ตามเนื่องจากยีสต์เหล่านี้พบได้ในสิ่งแวดล้อมหลายแบบ ความจำเป็นกับเชื้อก่อโรคบางชนิดไม่สม่ำเสมอ ทำให้เหมาะที่จะใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพสำหรับเชื้อก่อโรคฉวยโอกาส หรือเชื้อก่อโรคที่ไม่จำเป็น ในขณะที่ยีสต์พวกที่อาศัยในแหล่งที่อยู่เฉพาะจะมีความจำเป็นกับสภาพแวดล้อม 2-3 แบบทำให้เข้าไปเจริญอยู่ในสภาพแวดล้อมเหล่านั้นได้เร็วกว่าและมีการแข่งขันกับเชื้ออื่น ๆ น้อยกว่า ตัวควบคุมทางชีวภาพแบบนี้เหมาะสำหรับใช้ในโปรแกรมการควบคุมเฉพาะโรคหรือใช้ในการป้องกันมากกว่า แต่การผลิตและการใช้สำหรับการควบคุมทางชีวภาพยากกว่า (Pimenta et al. 2009) สิ่งมีชีวิตใดที่จะใช้สำหรับการควบคุมทางชีวภาพนอกจากต้องมีประสิทธิภาพกับโรคที่เป็นเป้าหมายแล้วยังต้องต้องมีความปลอดภัย สามารถเพาะเลี้ยงเพื่อผลิต สามารถพัฒนาสูตรหรือตำหรับ และสามารถในการใช้งานได้ ยีสต์มีพื้นฐานวิทยาแบบเป็นเซลล์เดี่ยวเหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ได้เปรียบในการพัฒนาสูตร และมีตัวเลือกสำหรับการใช้งานเพียงพอ การที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวทำให้เกาะติดและสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm formation) ได้ดี ช่วยเพิ่มกิจกรรมการควบคุม (Fanning and Mitchell 2012; Pandin et al. 2017; Rossouw et al. 2018) ยีสต์ส่วนใหญ่ไม่มีพลาสมิด (plasmid) ดังนั้นจึงไม่มีความเสี่ยงในการรับหรือส่งต่อการดีเอ็นเอจากยีนบนพลาสมิด หรือยีนที่เกี่ยวข้องความสามารถในการเกิดโรคและการสังเคราะห์สารพิษ นอกจากนี้การถ่ายยีนในแนวราบ (horizontal gene transfer) ที่พบบ่อยในราเส้นใย (filamentous fungi) เกิดขึ้นน้อยในยีสต์เพราะมีการจัดระเบียบของยีนใหม่ที่ซับซ้อนกว่า (Fitzpatrick 2012; Moriguchi et al. 2013) ยีสต์ใช้ผลิตอาหารหมัก และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ มานานเป็นพัน ๆ ปี ยีสต์ใช้เป็นอาหารเสริมได้โดยตรงและใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร (Bekatorou et al. 2006; Johnson and Echavarri-Erasun 2011) ในหลายกรณีพบว่ายีสต์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นสกุลเดียวหรือสปีชีส์เดียวกับพวกที่ใช้สำหรับการควบคุมทางชีวภาพ เช่น *Saccharomyces cerevisiae*, *C. sake* และ *Metschnikowia pulcherrima* ยีสต์เหล่านี้จึงจัดว่าได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่าปลอดภัย (generally recognized as safe) หรือที่เรียกย่อว่า กราส (GRAS) ดังนั้นการใช้ยีสต์ในพืชผลและผลิตภัณฑ์อาหารทำให้เกิดความกังวลน้อยกว่าการใช้แบคทีเรียหรือราเส้นใย (Freimoser et al. 2019) อย่างไรก็ตามยีสต์บางชนิดอาจทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ เช่น *Candida albicans*, *Candida auris*, *Candida glabrata* (ชื่อปัจจุบันคือ *Nakaseomyces glabrata*), *Candida tropicalis* และ *Cryptococcus neoformans* (Colombo

et al. 2017; Opulente et al. 2019; Srikanta et al. 2014) รวมทั้งมีลักษณะบางอย่างที่อาจก่อให้เกิดปัญหา เช่น ภาวะทวิลักษณ์ (dimorphism) การเจริญที่อุณหภูมิสูง เช่น ที่ 37 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส และความต้านทานสารฆ่าเชื้อรา (fungicide) ดังนั้นจึงต้องให้ความสนใจและศึกษาอย่างละเอียดก่อนจะพิจารณาใช้สำหรับการควบคุมทางชีวภาพ (Gauthier 2015; Robert et al. 2015)

การใช้ยีสต์สำหรับการควบคุมโรคพืช

โรคพืชจำนวนมากเป็นสาเหตุของการสูญเสียพืชผลที่สำคัญและมีผลกระทบทางเศรษฐกิจและสังคมอย่างมาก ทำให้แต่ละปีทั่วโลกมีการสูญเสียประมาณ 4 หมื่นล้านดอลลาร์ (Rahman et al. 2018) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกิดจากราได้รับการยอมรับมากขึ้นว่าเป็นภัยคุกคามระดับโลกต่อการผลิตและความมั่นคงของอาหาร ตั้งแต่ พ.ศ. 2543 จำนวนเชื้อก่อโรคพืชชนิดใหม่เพิ่มขึ้นมากกว่า 7 เท่า โรคที่เกิดจากราเป็นโรคที่มีความสำคัญที่สุดในพืช ประมาณ 64–67 เปอร์เซ็นต์ของโรคพืชทั้งหมดที่รายงานทั่วโลกเกิดจากรา มีผู้คาดว่าโรคที่มีสาเหตุจากรากำลังแพร่กระจายไปในระยะทางประมาณ 8 กิโลเมตรต่อปี ซึ่งอาจเกิดจากการทำการเกษตรทั่วไปที่แพร่หลายมากขึ้น เช่น การปลูกพืชเชิงเดี่ยว และการใช้พันธุ์พืชจำกัด รวมทั้งการค้าระหว่างประเทศที่เพิ่มขึ้น ทำให้โรคสามารถแพร่กระจายไปในระยะทางไกล นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศที่ทำให้มีจุลินทรีย์และพาหะในภูมิภาคที่ไม่เคยมีมาก่อน (Ferraz et al. 2019; Fisher et al. 2012; 2018)

ราหลายชนิดที่เป็นก่อโรคพืช ตัวอย่างเช่น *Botrytis cinerea* ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือ *Botryotinia fuckeliana* ทำให้เกิดโรคกับพืชมากกว่า 235 สปีชีส์ เช่น มะเขือเทศ ผักกาดหอม องุ่น ยาสูบ สตรอเบอรี่ (Fillinger et al. 2016) *Monilinia fructigena* ที่เป็นสาเหตุของผลไม้ผลเดี่ยวเมล็ดแข็ง (stone fruit) เช่น พุทรา พลัม ท้อ เชอร์รี่ (Dean et al. 2012) *Pyricularia oryzae* (ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือ *Magnaporthe oryzae* ทำให้เกิดโรคไหม้ (blast disease) ของข้าว ซึ่งเป็นโรคสำคัญของข้าวพบกระจายไปทั่วโลก *Pyricularia oryzae* สามารถทำให้ข้าวเกิดโรคได้ในทุกระยะการเติบโตของพืช อาการของโรคเกิดกับต้นข้าวส่วนที่เหนือพื้นดินทั้งหมด (Dean et al. 2012) *Rhizoctonia solani* สาเหตุของโรคกาบใบแห้งของข้าว (rice sheath blight disease) (Molla et al. 2020) *Fusarium verticillioides* ทำให้เกิดโรคยอดผักตบของข้าว (rice bakanae disease) ที่ทำให้เกิดการสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจที่สำคัญของการผลิตข้าว (Schoeman et al. 2018) ส่วน *Curvularia lunata*, *Cercospora oryzae*, *Helminthosporium oryzae*, *Fusarium semitectum*, *Trichoconis padwickii* และ *Sarocladium oryzae* เป็นสาเหตุของโรคเมล็ดต่าง (dirty

panicle disease) ของข้าว (Prathuangwong et al. 2013) *Exserohilum turcicum* (ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือ *Setosphaeria turcica* เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด (northern corn leaf blight) (Petronella et al. 2020) *Bipolaris zeicola* เป็นสาเหตุของโรค ในข้าวโพด ข้าวฟ่าง และข้าวบาเลย์ (Cipollone et al. 2020) และ *Fusarium* หลายสปีชีส์ เช่น *F. moniliformae*, *F. subglutinans*, *F. sacchari* และ *F. andiyazi* เป็นสาเหตุของโรคยอดบิดหรือพอกกะบอง (pokkah boeng disease) ในอ้อย (Vishwakarma et al. 2013; Zhang and Jeyakumar 2018; Ziting et al. 2020)

โรคที่พบในแปลงเพาะปลูกโดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อก่อโรคในดิน (soil-borne pathogen) พบว่าสามารถแพร่กระจายอย่างกว้างขวางทั่วพื้นที่การปลูกพืช บริเวณรอบราก (rhizosphere) มีกลุ่มของจุลินทรีย์หลายชนิดซึ่งมีผลโดยตรงหรือโดยทางอ้อมต่อ สุขภาพและการเติบโตของพืช บางชนิดเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียที่ส่งเสริมการเติบโตของพืชซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สัมพันธ์กับรากพืชหรือไรโซแบคทีเรีย (rhizobacteria) หรือที่เรียกว่า พีจีพีอาร์ (PGPR) ส่วนบางชนิดเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีประโยชน์ซึ่งเป็นอันตรายต่อพืช โดยลดความแข็งแรงและการเติบโตของพืชหลายแนวทาง โรคพืชเกี่ยวข้องกับเชื้อก่อโรคในดินยากที่จะคาดเดาหรือระบุลักษณะเฉพาะของโรค บางครั้งพืชอาจติดโรคได้มากกว่า 1 โรค ในดินและบริเวณรอบรากพืชอาจมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์หลายชนิดต่าง ๆ ซึ่งนำไปสู่การควบคุมทางชีวภาพต่อเชื้อก่อโรค เช่น ภาวะยับยั้งภาวะปรสิต และการส่งเสริมการเติบโตของพืช เชื้อก่อโรคในดินมีทั้งแบคทีเรีย รา และไวรัสหลายชนิด เชื้อก่อโรคหลายชนิดอยู่ในดินในรูปแบบที่มีฤทธิ์ (active form) ซึ่งทำให้เกิดโรคได้ทันที และบางชนิดอาจอยู่ในรูปแบบที่ไม่มีฤทธิ์ (inactive form) แต่เมื่อพบพืชที่เหมาะสมที่จะทำให้เกิดโรคได้ เชื้อก่อโรคจะกลายเป็นรูปแบบที่มีฤทธิ์ เชื้อก่อโรคเหล่านี้อาจจะอาศัยอยู่ในดินเป็นเวลานานหรือเป็นเวลาสั้น ๆ ขึ้นอยู่กับวงจรชีวิตหรือแหล่งที่อยู่ รากบางชนิดอยู่รอดในรูปแบบของ สเคลอโรเทียม (sclerotium) ซึ่งเป็นรูปแบบที่ไม่มีฤทธิ์ ราเป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดของการเกิดโรคพืช ตัวอย่างรากก่อโรคในดิน เช่น สกุล *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Pythium*, *Phytophthora* พืชที่เป็นโรคสามารถรู้ได้จากลักษณะที่เปลี่ยนแปลงต่าง ๆ หรืออาการของโรค เช่น ใบจุด (leaf spot) ใบไหม้ (leaf blight) ปลายกิ่งแห้ง (shoot blight) เหี่ยว (wilt) ปุ่มปม (crown gall) เน่าเละ (soft rot) การสลายของราก (root decay) การเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อ (tissue discoloration) (Kamal et al. 2015)

วิธีการที่ใช้เพื่อป้องกันพืชจากศัตรูพืชและเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีฆ่ารา การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อเนื่องกันเป็นเวลานานทำให้การควบคุมโรคพืชหรือกำจัดโรคพืชที่มีความรุนแรงจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณการใช้ทุกปี การใช้สารเคมีฆ่าราในระบบนิเวศเกษตรจะทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ รวมทั้งสัตว์ที่มีประโยชน์ในดิน นอกจากนั้นการใช้สารเคมีเหล่านี้

ประจำทำให้เชื้อสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมเกิดความเป็นพิษ และอาจปนเปื้อนไปสู่สิ่งมีชีวิตอื่นที่ใช้เป็นอาหาร (Ferraz et al. 2019; Rahman et al. 2018) ตัวอย่างของสารเคมีฆ่าราที่นิยมใช้สำหรับการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากรา เช่น คาร์เบนดาซิม (carbendazim®) วาเลตามัยซิน (validamycin®) โพรพิโคนาโซล (propiconazole®) แมนโคเซบ (mancozeb®) ซึ่งใช้สำหรับการควบคุมโรคข้าว (Boukaew et al. 2013) นอกจากนั้นคาร์เบนดาซิม และโพรพิโคนาโซล ยังนิยมใช้สำหรับการควบคุมโรคในข้าวโพดด้วย (Wegulo et al. 1998) ส่วนการควบคุมโรคอ้อยนิยมใช้บาวิสติน (Bavistin®) และบลีท็อก (Blitox®) (Vishwakarma et al. 2013) สำหรับการควบคุมทางชีวภาพของโรคพืช เป็นการลดจำนวนหรือการกำจัดประชากรของเชื้อก่อโรคพืชโดยสิ่งมีชีวิต (Heimpel and Mills 2017) จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (biological control agent) ซึ่งเมื่อนำไปใช้กับพืชสามารถควบคุมเชื้อก่อโรคพืชโดยผ่านกลไกการควบคุมหรือกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่หลากหลายดังที่จะอธิบายในบทต่อไป การทำความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการควบคุมของตัวควบคุมทางชีวภาพ เป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้สามารถควบคุมโรคได้อย่างเหมาะสม นอกจากนั้นยังช่วยลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นกับมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนเกิดเชื้อที่ต้านทานต่อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (Köhl et al. 2019) การนำจุลินทรีย์ที่คัดเลือกกว่ามีความสามารถในการต่อต้านเชื้อก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถเพิ่มจำนวนจนมีความเข้มข้นสูงบนอาหารสังเคราะห์ไปใส่ครั้งเดียวหรือหลายครั้งในระหว่างการเพาะปลูกพืช เรียกว่า การควบคุมทางชีวภาพแบบเพิ่มขยาย (augmentative biological control) (Heimpel and Mills 2017; van Lenteren et al. 2018)

การใช้ยีสต์ในการควบคุมโรคผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากรา

ความสูญเสียเนื่องจากโรคหลังการเก็บเกี่ยว (postharvest disease) อาจเกิดในช่วงใดก็ได้ระหว่างการเก็บเกี่ยวจนถึงการบริโภค โรคหลังการเก็บเกี่ยว อาจเกิดกับส่วนผล เมล็ด และส่วนอื่น ๆ ตลอดจนเกิดกับผัก การติดเชื้ออาจเกิดตั้งแต่อยู่ในแปลงเพาะปลูก ไร่ หรือสวน การเสียหายหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งอาจเป็นการเน่า การสูญเสียสารอาหาร และการสูญเสียน้ำ มักเกิดระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษาก่อนจัดจำหน่าย เนื่องจากผลไม้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์ที่มีความสำคัญของเพราะเป็นแหล่งของวิตามิน ธาตุอาหาร กรดอินทรีย์ และสารต้านอนุมูลอิสระ โรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดขึ้นกับผลไม้มีความสำคัญเพราะทำทั้งให้ปริมาณและคุณภาพของผลไม้อลดลง ซึ่งส่งผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ นอกจากนั้นยังอาจจะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพ เพราะมีราหลายสกุล เช่น *Penicillium*, *Alternaria* และ *Fusarium* ผลิตสารพิษ เช่น แอฟลาทอกซิน ภายใต้ภาวะบางภาวะซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายกับคนและสัตว์เมื่อบริโภคเมื่อมีการนำผลิตภัณฑ์หลังการเก็บเกี่ยวที่มีการปนเปื้อนด้วยราสร้างสารพิษไปแปรรูป มีรายงานไว้ใน

ประเทศที่พัฒนาแล้ว 25 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตผลไม้สูญเสียหลังการเก็บเกี่ยว ในขณะที่ความสูญเสียเกิดขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ในประเทศที่กำลังพัฒนา เพราะขาดการขนส่งที่มีประสิทธิภาพและห้องเย็น (Liu et al. 2013; Zhang et al. 2020)

สาเหตุของการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว

การเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งมีสาเหตุจากจุลินทรีย์อาจเกิดจากราหรือแบคทีเรีย สาเหตุของการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่ระบุชนิดได้อย่างถูกต้องเป็นสิ่งสำคัญในการเลือกแนวทางการควบคุมโรคที่เหมาะสม ราเป็นสาเหตุหลักของโรคหลังการเก็บเกี่ยว ราหลายชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคหลังการเก็บเกี่ยวอยู่ในไฟลัม *Ascomycota* และมักจะเป็นระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สกุลที่สำคัญ เช่น *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Dothiorella*, *Lastodiopodia*, *Phomopsis* ส่วนราในไฟลัม *Oomycota* สกุลที่สำคัญ คือ *Phytophthora* และ *Pythium* ส่วน *Rhizopus* และ *Mucor* เป็นสาเหตุของโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญในไฟลัม *Zygomycota* สำหรับราสกุลในไฟลัม *Basidiomycota* ปกติไม่ได้เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว แต่ราที่มีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างเบซิดิโอสปอร์ เช่น *Sclerotium rolfsii* และ *Rhizoctonia solani* ทำให้เกิดการสูญเสียกับผักหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ มันฝรั่ง ในขณะที่โรคที่มีสาเหตุจากเชื้อก่อโรคเหล่านี้เป็นโรคที่เกิดในแปลงเพาะปลูกเป็นหลักแต่การแสดงอาการจะเกิดอย่างรวดเร็วหลังการเก็บเกี่ยว ส่วนแบคทีเรียสกุลที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเน่าและที่เกิดจากแบคทีเรีย (bacterial soft rots) เช่น *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Xanthomonas* โรคเน่าและที่เกิดจากแบคทีเรียเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของผักหลายชนิด แต่มีความสำคัญน้อยในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากผลไม้ส่วนใหญ่มีพีเอช (pH) ต่ำจึงสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคพืชส่วนใหญ่ (Zhang et al. 2020)

ราก่อโรคเข้าทำลายผลไม้ได้โดยเข้าทางบาดแผลและทางช่องเปิดธรรมชาติบนผิวของผลไม้ โดยทั่วไปการเข้าทำลายผลไม้ของราเป็นแบบแฝง (latent infection) คือ เมื่อราสร้างเส้นใยอยู่ภายในเซลล์ของผลไม้แล้วจะหยุดการเติบโตชั่วคราว และแฝงตัวอยู่ระหว่างเซลล์บริเวณผิวของผลไม้ จนกระทั่งผลไม้เข้าสู่ระยะที่มีการเติบโตเต็มที่ มีสารอาหาร ปริมาณน้ำตาล ความชื้น ความเป็นกรดหรือเบสที่เหมาะสม ร่วมกับภาวะที่เอื้อต่อการเจริญของรา ราจึงเริ่มเจริญและแสดงอาการของโรคในเวลาต่อมา เชื้อก่อโรคสามารถแพร่ระบาดโดยลม ฝน และเศษซากพืชที่เป็นโรคในแปลงปลูก เครื่องมือทางการเกษตรหรืออุปกรณ์ในโรงคัดบรรจุ รวมถึงการสัมผัสระหว่างผลไม้ที่เป็นโรคกับผลไม้ปกติ ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายในระหว่างการขนส่ง เก็บรักษา วางจำหน่าย จนกระทั่งถึงผู้บริโภค ทำให้ผลไม้มีคุณภาพต่ำ มีอายุการเก็บรักษาสั้น และราคาราคาตกต่ำ

โรคเน่าของผลไม้เหี่ยวเฉาทำให้เกิดได้จากการที่ผลไม้มีแผลระหว่างการเก็บเกี่ยว บรรจุ เก็บ และขนส่ง เช่นเดียวกับภาวะที่เชื้อก่อโรคชอบ เช่น มีน้ำและสารอาหารมาก พีเอชต่ำ และการที่ ความต้านทานลดลงหลังการเก็บเกี่ยว (Nunes 2012) นอกจากนี้มันอาจจะเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติ บนผิวของผลไม้ โดยทั่วไปการเข้าทำลายผลไม้ของราเป็นแบบแฝง คือ เมื่อราสร้างเส้นใยอยู่ภายใน เซลล์ของผลไม้แล้วจะหยุดการเติบโตชั่วคราว และแฝงตัวอยู่ระหว่างเซลล์บริเวณผิวของผลไม้ จนกระทั่งผลไม้เข้าสู่ระยะที่มีการเติบโตเต็มที่ มีสารอาหาร มีน้ำตาล ความชื้น และพีเอชที่เหมาะสม ราจึงเริ่มเจริญและแสดงอาการของโรค ระหว่างกระบวนการติดเชื้อราหลายชนิดสร้างสารพิษซึ่ง อาจเข้าไปในห่วงโซ่อาหาร โดยผ่านทางผลไม้สด และผลิตภัณฑ์จากผลไม้ ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อ มนุษย์และสัตว์ (Zhang et al. 2020) เช่น *Penicillium expansum* ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคราสีน้ำเงิน (blue mold disease) ในผลไม้หลายชนิดซึ่งนอกจากจะทำให้เกิดการเน่าและสลายตัวของผลไม้แล้วยังมีการปนเปื้อนของพาทูลิน (patulin) ซึ่งเป็นสารพิษจากราที่ทำให้เกิดกำเนิดทารกวิรูป (teratogenic mycotoxin) ก่อมะเร็ง (carcinogenic mycotoxin) และเป็นพิษภูมิคุ้มกัน (immunotoxic mycotoxin) (Chen et al. 2017) การควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวเหล่านี้มักทำโดยใช้สารเคมีฆ่ารามาเป็นเวลานาน แต่การใช้สารเคมีฆ่ารามากเกินไปทำให้เกิดปัญหาหลายอย่าง เช่น เกิดการตกค้าง เกิดภาวะมลพิษ และเพิ่มความต้านทานต่อสารเคมีฆ่ารา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแนวทางที่ปลอดภัย และมีประสิทธิภาพเพื่อควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวอย่างเร่งด่วน (Zhang et al. 2020)

หลังจาก Gutter และ Littauer รายงานการใช้ *Bacillus subtilis* ต่อต้านเชื้อก่อโรคในผลส้ม ใน ค.ศ. 1953 การควบคุมทางชีวภาพโรคหลังเก็บเกี่ยวโดยใช้จุลินทรีย์ได้รับความสนใจอย่าง กว้างขวาง ในบรรดาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ยีสต์และราคล้ายยีสต์ (yeast-like fungi) ได้รับความสนใจ เนื่องจากยีสต์เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แสดงการควบคุมที่มีประสิทธิภาพต่อเชื้อก่อโรค มีความทน ต่อความเค้น (stress) มากพอ และมีศักยภาพที่จะถูกปรับปรุงพันธุกรรม นอกจากนี้ยังมีการพัฒนา อย่างดีสำหรับการเพาะเลี้ยง การหมัก การเก็บ และการจัดการยีสต์ปฏิปักษ์เหล่านี้ ยิ่งกว่านั้นมีการ ใช้ยีสต์ในอาหารและเครื่องดื่มมาเป็นเวลานานและในปัจจุบันมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร ดังนั้นการใช้ยีสต์จึงถือว่ามีความปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับได้ง่าย จากข้อดีเหล่านี้ยีสต์จึงเป็น ทางเลือกที่น่าสนใจที่จะใช้แทนสารเคมีฆ่ารา ที่ผ่านมามากกว่า 20 ปี การใช้ยีสต์เป็นตัวควบคุม ทางชีวภาพมีความก้าวหน้าอย่างมาก ซึ่งรวมถึงการแยกและการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ การศึกษา กลไกการเป็นปฏิปักษ์ การปรับปรุงประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพ และการพัฒนาสูตร โดยเฉพาะยีสต์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถอย่างดียิ่งเยี่ยมในการควบคุมทางชีวภาพหลายชนิดได้มีการ พัฒนาและจดทะเบียนเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า อย่างไรก็ตามการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ในการจัดการ โรคหลังเก็บเกี่ยวอย่างแพร่หลายยังเผชิญกับความท้าทายหลายอย่าง ดังนั้นความเข้าใจกลไก

การเป็นปฏิปักษ์ในการควบคุมทางชีวภาพของโรคหลังเก็บเกี่ยวที่ลึกซึ่งยังมีความจำเป็น และจำเป็นต้องทำให้ประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ภายใต้สภาพทางการค้ามีความสม่ำเสมอ นอกจากนี้การนำผลิตภัณฑ์เข้าสู่ตลาดที่ยังยากอยู่นั้นจำเป็นต้องได้มีการแก้ไข (Dukare et al. 2018; Freimoser et al. 2019; Zhang et al. 2020)

วิธีการใช้ตัวควบคุมทางชีวภาพในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว

หลังจากการระบุชนิดและคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แล้ว มักตามด้วยการเลือกเวลาที่เหมาะสมและวิธีการประยุกต์ใช้ในการควบคุมเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวอย่างมีประสิทธิภาพ โดยทั่วไปมีทั้งวิธีการใช้ก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยว (Dukare et al. 2018)

การใช้ก่อนการเก็บเกี่ยว

การติดเชื้อแฝงซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการระบาดของผลไม้โดยเชื้อก่อโรคมักจะกลายเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา ภายใต้เงื่อนไขเหล่านี้มักจะมีการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ก่อนการเก็บเกี่ยว การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในแปลงเพาะปลูกสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีเวลาปฏิสัมพันธ์กับเชื้อก่อโรคมามากพอ รวมทั้งช่วยให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เข้าไปอยู่ที่ผิวด้านนอกของผลไม้หรือพืชผักก่อนเชื้อก่อโรคจะเข้ามา แม่นว่าวิธีการนี้อาจใช้ไม่ได้ในการเพาะปลูกจริงเพราะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อาจไม่สามารถคงอยู่ในในสภาพที่เพาะปลูกจริงได้ แต่มีรายงานถึงความสำเร็จในการศึกษาการควบคุมทางชีวภาพที่จำเพาะบางอย่าง (Dukare et al. 2018) เช่น การศึกษาของ Teixidó et al. ใน ค.ศ. 1999 ที่รายงานว่า การเพาะยีสต์ปฏิปักษ์ *C. sake* CPA1 ลงในแปลง 48 ชั่วโมงก่อนการเก็บเกี่ยว สามารถลดการเกิดโรคราสีน้ำเงินซึ่งมีสาเหตุจาก *Penicillium expansum* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ *C. sake* ร่วมกับแบคทีเรีย *Pseudomonas assyngae* บนผลแอปเปิ้ลและแพร์ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยว เพิ่มกิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพโดยรวมต่อ *P. expansum* ระหว่างการเก็บ อย่างไรก็ตามการที่จะได้รับผลการควบคุมทางชีวภาพที่ดี จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต้องทนความเค็มจากสิ่งแวดล้อมในแปลงเพาะปลูก ทั้งสารอาหารที่จำกัด การได้รับแสงอัลตราไวโอเล็ตโดยตรง อุณหภูมิสูงมาก น้ำจำกัด และการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศอย่างรวดเร็ว (Dukare et al. 2018)

การใช้หลังการเก็บเกี่ยว

สำหรับวิธีการนี้การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์อาจจะทำโดยการพ่นละออง (spray) และแช่ใน เซลล์แขวนลอย วิธีการประสบความสำเร็จในการควบคุมมากกว่าการใช้ก่อนการเก็บเกี่ยว มักทำให้ การเสียหายจากราลดลงอย่างมาก การศึกษาการใช้หลังการเก็บเกี่ยวแสดงว่าการใช้จุลินทรีย์ ปฏิปักษ์ภายนอกเป็นแนวทางที่เหมาะสมและเชื่อถือได้สำหรับการจัดการโรคที่มีสาเหตุจากราในช่วง หลังการเก็บเกี่ยว (Dukare et al. 2018)

การปรับปรุงประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของโรคหลังเก็บเกี่ยว

การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวอย่างเดียวมักไม่เพียงพอที่จะทำให้ สามารถควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้ผลดี (ลดการเกิดโรคสูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์) อย่าง สม่าเสมอ นอกจากนี้การใช้วิธีการทางกายภาพ เช่น ใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต การใช้ความร้อน หรือ การใช้วิธีทางเคมี อาจไม่สามารถควบคุมได้โรคหลังการเก็บเกี่ยวได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ (Dukare et al. 2018) เช่นเดียวกันกับการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์อย่างเดียวก่อนเพื่อป้องกันโรคพืชหลังเก็บเกี่ยวปกติจะ ต่ำกว่าการใช้สารเคมีฆ่ารา ดังนั้นในขณะที่วิจัยเพื่อหายีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงใหม่ ๆ นักวิจัยจึงยังคงค้นหาวิธีที่มีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของ ยีสต์ ปฏิปักษ์ที่มีอยู่แล้วตลอดเวลา การใช้วิธีการควบคุมทางชีวภาพร่วมกับวิธีทางกายภาพหรือ วิธีทางเคมีเป็นวิธีการที่เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพ

การใช้ยีสต์มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์หรือการใช้ยีสต์ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น

การควบคุมโรคผลไม้หลังเก็บเกี่ยวบางครั้งการใช้ยีสต์เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ เนื่องจากยีสต์มีกิจกรรมการควบคุมการเกิดโรคได้ค่อนข้างแคบ และมีความจำเพาะต่อชนิดของ เชื้อก่อโรคในภาวะใดภาวะหนึ่งเท่านั้น การเพิ่มความสามารถของยีสต์จะทำให้การควบคุมโรคพืชได้ กว้างขึ้นและทำงานในหลายภาวะ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้มากขึ้น (Liu et al. 2011) อาศัยความสามารถของยีสต์และจุลินทรีย์อื่นที่มีกลไกในการยับยั้งและควบคุมโรคพืชต่างกัน ทำให้สามารถส่งเสริมซึ่งกันและกันในการยับยั้งและควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อหลาย ๆ ชนิดโดยไม่ต้องอาศัยการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม แต่อย่างไรก็ตามยีสต์และจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่นำมาใช้ ร่วมกันต้องสามารถอยู่ร่วมกันได้โดยที่ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อกัน ตัวอย่างเช่น ยีสต์ปฏิปักษ์ *Meyerozyma (Pichia) guilliermondii* ซึ่งเป็นยีสต์สายพันธุ์ที่มีการศึกษาว่าสามารถควบคุมโรคราดำของสับปะรด ที่มีสาเหตุมาจากรา *Ceratomyces paradoxa* ได้ แต่เมื่อใช้ร่วมกับยีสต์อื่นอีก 4 สปีชีส์ คือ *Rhodotorula aurantiaca*, *Rhodotorula glutinis*, *Cryptococcus* sp. และ *Candidus albidus* พบว่ามี

ประสิทธิภาพในการควบคุมลดลงเหลือเพียงครึ่งเดียวเมื่อเทียบกับที่ใช้สปีชีส์เดี่ยว ๆ (Reyes et al. 2004) และการศึกษาของ Zhimo et al. (2020) พบว่าการใช้ยีสต์ *Meyerozyma* sp. และ *Saccharomyces* sp. ร่วมแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ซึ่งแยกจากนมหมักชนิดที่เรียกว่า คีเฟอร์ (kefir) พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมทางชีวภาพต่อการเกิดโรคเน่าในองุ่นและแอปเปิ้ลที่มีสาเหตุมาจากรา *P. expansum* ได้มากขึ้น

การใช้ยีสต์ร่วมกับวิธีการควบคุมโรคอื่น ๆ

วิธีอื่น ๆ ที่ใช้ในการควบคุมราโรคพืชหลังเก็บเกี่ยวและให้ผลดีนั้นยังมีอีกหลากหลายวิธี เพื่อช่วยเสริมความสามารถของยีสต์ในการควบคุมราโรคพืชหลังเก็บเกี่ยวเพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการใช้วิธีทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน อาจทำโดยแช่ผลไม้ในน้ำร้อน 42 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที ทำให้ประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของ *Candida guilliermondii* และ *Pichia membranaefaciens* เพิ่มขึ้นโดยไม่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ (Zong et al. 2010) การควบคุมโรคโดยยีสต์ปฏิปักษ์ *C. guilliermondii* หรือ *P. membranaefaciens* ร่วมกับการแช่ผลโลควอต (loquat fruit) ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง 38 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมการเจริญของ *B. cinerea* ที่เป็นราก่อโรคเน่าได้ดีเช่นกัน (Liu et al. 2010) การใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ *Metschnikowia fructicola* ร่วมกับการใช้อุณหภูมิสูง 40 องศาเซลเซียส ทำให้การควบคุมการเกิดโรคบนผลแอปเปิ้ลที่มีสาเหตุจากรา *P. expansum* ดียิ่งขึ้น (Liu et al. 2011) และการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ตร่วมกับยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น *Papiliotrema laurentii* (ชื่อเดิม *Cryptococcus laurentii*) สามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าในมะเขือเทศที่เกิดจากรา *B. cinerea* หรือ *Alternaria alternata* ได้ อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Zhang et al. 2013) กรดซาลิไซลิก (salicylic acid) เป็นฮอร์โมนพืชที่สำคัญซึ่งเกี่ยวข้องกับการชักนำให้พืชตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค (Romanazzi et al. 2016) การใช้กรดซาลิไซลิกเพิ่มความเป็นปฏิปักษ์ของ *R. glutinis* ต่อ *P. expansum* และ *A. alternata* ในผลเชอร์รี่ (Qin et al. 2003) กรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้นต่ำเพิ่มกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการป้องกัน แต่มีผลเพียงเล็กน้อยกับการเจริญของยีสต์และราก่อโรคทั้ง 2 ชนิด สิ่งนี้แสดงว่าประสิทธิภาพการควบคุมที่เพิ่มขึ้นจากการใช้กรดซาลิไซลิกร่วมด้วยอาจเกี่ยวกับการไปกระตุ้นความต้านทานของพืช ความสามารถของกรดซาลิไซลิกที่เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมพบในยีสต์หลายสปีชีส์ เช่น *Candida membranifaciens*, *M. pulcherrima* และ *Meyerozyma guilliermondii* (Farahani and Etebarian 2003; Shao et al. 2019; Xu et al. 2008) เมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) เป็นฮอร์โมนพืชอีกชนิดหนึ่งที่กระตุ้นความต้านทานของพืช พบว่าเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมของยีสต์ปฏิปักษ์บางชนิด เช่น *P. laurentii* (ชื่อเดิม *Cry. laurentii*) (Guo et al. 2014) สารสกัดจากพืชหลายชนิด

สามารถยับยั้งการเจริญและการพัฒนาของราก่อโรค และบางชนิดมีรายงานว่าส่งเสริมประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพโรคหลังเก็บเกี่ยว เช่น กรดซินนามิก (cinnamic acid) เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมของ *P. laurentii* ซึ่งแสดงศักยภาพของการใช้สารสกัดจากพืชร่วมกับยีสต์ปฏิปักษ์สำหรับการควบคุมโรคพืชหลังเก็บเกี่ยว (Li et al. 2019; Zhang et al. 2020) การใช้สารเคมีหรือวิธีการต่อต้านราวิธีการอื่นสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น มีรายงานว่าแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมของยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น *Cryptococcus albidus*, *Meyerozyma caribbica*, *Mey. guilliermondii*, *Pichia membranifaciens* และ *Vishniacozyma victoriae* (Gramisci et al. 2018; Tournas et al. 2019) ไคโทซาน (chitosan) ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติต่อต้านราและสามารถกระตุ้นความต้านทานของพืช พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น *Candida saitoana*, *P. laurentii*, *P. membranaefaciens* (Meng et al. 2010; Zhou et al. 2016) นอกจากนี้มีรายงานว่าโซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของ *P. laurentii* และ *M. pulcherrima* (Janisiewicz et al. 2008) โบรอน (boron) เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของ *P. laurentii* (Cao et al. 2012) และน้ำตาลบางชนิด เช่น มอลโทส (maltose) แล็กโทส (lactose) เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของ *Candida oleophila* (Zheng et al. 2019)

นอกจากนี้การใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ร่วมกับสารเคมีฆ่าราในปริมาณต่ำ ๆ สารกลุ่มไอโพรไดโอน (iprodione) ไทอะเบนดาโซล (thiabendazole) และอิมซาซาลิล (imazalil) มีผลให้ประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพเหมือนกันกับการใช้สารเคมีฆ่าราในปริมาณที่ใช้ในเชิงพาณิชย์เพียงอย่างเดียว ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพเพื่อลดการใช้สารเคมีฆ่ารา (Vero et al. 2013; Zhang et al. 2020)

แหล่งของยีสต์ปฏิปักษ์

จากการที่ปรากฏศัตรูพืชชนิดใหม่ ๆ ความทนต่อสารเคมีฆ่ารา และความคาดหวังของผู้บริโภค ทำให้เกิดความต้องการกลยุทธ์ใหม่ ๆ สำหรับการป้องกันศัตรูพืชอย่างมาก การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นแนวทางหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่น่าสนใจสำหรับพัฒนาเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (Pretscher et al. 2018) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มักพบอยู่ตามธรรมชาติที่ผลไม้และพืชผัก ยีสต์หลายชนิดพบเป็นส่วนหนึ่งของจุลินทรีย์ซึ่งอยู่ที่ผิวใบพืช (phylloplane) (Into et al. 2020a; 2020b; Limtong and Kaewwichian 2014; Limtong et al. 2014; Limtong and Kaewwichian 2015; Nasanit et al. 2016; Srisuk et al. 2019) ยีสต์หลายชนิดพบในเยื่อใบพืช (Khunnamwong et al. 2020) โดยพบว่าหลายชนิดทั้งที่อยู่ในไฟลัม *Ascomycota* และ *Basidiomycota* สามารถยับยั้ง

การเจริญของราโรคพืช และใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพได้ (Into et al. 2020b; Khunnamwong et al. 2020; Konsue et al. 2020) ตัวอย่างเช่น ยีสต์ปฏิปักษ์ซึ่งแยกจากผิวใบข้าว 3 สายพันธุ์ คือ *Torulaspora indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 และ *Wickerhamomyces anomalus* DMKU-RP25 พบว่าสามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวที่เกิดจากรา *R. solani* (Into et al. 2020b) นอกจากนี้ยังพบว่า *T. indica* DMKU-RP31 สามารถควบคุมโรคกล้าข้าวเน่าที่มีสาเหตุจาก *C. lunata* และ *H. oryzae* ได้สมบูรณ์ (Limtong et al. 2020) และยังพบว่ายีสต์ปฏิปักษ์สายพันธุ์นี้ยับยั้งการเจริญของ *Lasiodiplodia theobromae* ราสาเหตุของโรคผลเน่าที่เกิดกับผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยวได้ (Konsue et al. 2020) ในขณะที่ *Wickerhamomyces anomalus* YE-42 ซึ่งแยกจากผิวใบข้าว พบควบคุมโรคกล้าข้าวเน่าที่มีสาเหตุจาก *C. lunata* และ *H. oryzae* ได้สมบูรณ์ ส่วน *W. anomalus* DMKU-RP04 ซึ่งแยกจากผิวใบข้าว พบว่าควบคุมโรคกล้าข้าวเน่าที่มีสาเหตุจาก *H. oryzae* ได้สมบูรณ์ (Limtong et al. 2020) สำหรับ *Pseudozyma hubeiensis* YE-21 ซึ่งแยกจากผิวใบข้าว พบว่ายับยั้งการเจริญของ *L. theobromae* ราสาเหตุของโรคผลเน่าที่เกิดกับผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว *Papiliotrema aspenensis* DMKU-SP67 ซึ่งแยกจากผิวใบอ้อย ยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทร็กโนสที่เกิดกับผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว (Konsue et al. 2020) ส่วนยีสต์ปฏิปักษ์ซึ่งแยกจากเนื้อเยื่อใบข้าวและเนื้อเยื่อใบข้าวโพด คือ *W. anomalus* DMKU-RE13 และ *W. anomalus* DMKU-CE52 ตามลำดับ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคกาบใบแห้งที่มีสาเหตุจาก *R. solani* ได้ (Khunnamwong et al. 2020) ยีสต์ปฏิปักษ์นอกจากจะแยกได้จากใบพืชยังอาจแยกได้จากรากพืช เช่น *Kloeckera apiculata* ที่แยกจากรากของส้ม พบว่าควบคุมเชื้อก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวบนผลส้มและองุ่น ซึ่งเกิดจาก *Penicillium italicum* และ *B. cinerea* ตามลำดับ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Long et al. 2005) และดิน เช่น *Meyerozyma caribbica* (ชื่อเดิม *Pichia caribbica*) ที่แยกจากดินสวนผลไม้เป็นยีสต์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมผลแอปเปิ้ลและผลสาลี่หลังเก็บเกี่ยว (Zhao et al. 2012) นอกจากนี้ยีสต์ปฏิปักษ์อาจจะแยกจากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น *Leucosporidium scottii* At17 ที่เป็นยีสต์ทนความเย็น (cold-tolerant yeast) ซึ่งแยกจากดินจากแอนตาร์กติก (Antarctic soil) พบว่าเป็นยีสต์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการต่อต้าน *P. italicum* และ *B. cinerea* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราสีน้ำเงิน และโรคราสีเทา (grey mold) ตามลำดับ (Vero et al. 2013) *Rhodosporidium paludigenum* ยีสต์ทะเล (marine yeast) ซึ่งเป็นยีสต์ทนแรงดันออสโมซิส (osmotolerant yeast) ที่แยกจากทะเลจีนตะวันออก (East China Sea) ยับยั้งการเจริญของ *P. expansum* บนผลสาลี่ (Wang et al. 2010) ยีสต์ที่แยกจากพีต (peat) พบว่ามีหลายสายพันธุ์ที่เป็นยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น *Starmerella kuoi* DMKU-SPS13-6, *Hanseniaspora lindneri* DMKU ESS10-9 และ *Piskurozyma taiwanensis* DMKU-SPS12-2 สามารถ

ยับยั้งการเจริญของ *R. solani* สาเหตุของโรคกาบใบแห้งของข้าว ในขณะที่ *W. anomalus* DMKU SPS6-1 และ *Rhodotorula taiwanensis* 3 สายพันธุ์ (DMKU SPS81, DMKU ESS9-3 และ DMKU SPS9-2) ยับยั้งการเจริญของ *C. lunata* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดต่างของข้าว ส่วน *Hanseniaspora lindneri* DMKU ESS10-9 และ *Scheffersomyces spartinae* DMKU SPS9-3 ยับยั้งการเจริญของ *Pyricularia grisea* สาเหตุของโรคไหม้ของข้าว ในขณะที่ *P. laurentii* 4 สายพันธุ์ (DMKU-SPS15-1 DMKU-ESS11-2 DMKU-ESS8-2 และ DMKU-ESS6-4) ยับยั้งการเจริญของ *Phytophthora palmivora* สาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่า (rot disease) ของทุเรียน (Satianpakiranakorn et al. 2020)

ตัวอย่างยีสต์ปฏิบัณฑ์ซึ่งสามารถยับยั้งราที่เป็นก่อโรคพืชและโรคหลังเก็บเกี่ยวพร้อมแหล่งที่มาแสดงในตารางที่ 1.1, 1.2 และ 1.3

เกณฑ์สำหรับการคัดเลือกปฏิบัณฑ์ในอุดมคติ

เกณฑ์การคัดเลือกยีสต์ปฏิบัณฑ์เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ คือ ยีสต์ปฏิบัณฑ์ ควร มี พันธุกรรมที่เสถียรเปลี่ยนแปลงยาก ต้องการสารอาหารน้อย มีประสิทธิภาพในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพต่อราก่อโรคหลายชนิดบนผลไม้หลายชนิด นอกจากนี้ ควร มี ศักยภาพทางการค้าที่ดี เช่น ควรจะเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาไม่แพง เก็บรักษาและใช้ง่าย และเข้ากันได้กับการใช้วิธีทางกายภาพและวิธีทางเคมีอื่น ๆ เช่น ในบรรยากาศที่ควบคุม อุณหภูมิสูงหรือต่ำ และสารเคมีฆ่าราและสารกำจัดศัตรูพืช เพื่อให้มีความปลอดภัยในการใช้ ยีสต์ปฏิบัณฑ์ที่ดี ควรเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นสาเหตุของโรคบนผลไม้ที่ต้องการนำยีสต์ปฏิบัณฑ์ไปใช้ ไม่ผลิตเมแทบอลไลต์ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ เช่น ไม่สร้างสารปฏิชีวนะหรือสารก่อภูมิแพ้ และไม่เป็นสาเหตุของโรคที่เกิดกับมนุษย์ กระบวนการแยกและคัดเลือกเป็นขั้นแรกในการพัฒนาตัวควบคุมทางชีวภาพ (Dukare et al. 2018; Zhang et al. 2020) ส่วนใหญ่ยีสต์ปฏิบัณฑ์แยกได้โดยตรงจากแหล่งที่อยู่ที่จะนำยีสต์นั้นไปใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ เช่น ยีสต์ที่จะใช้สำหรับการควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวที่เกิดกับผลไม้มักแยกได้จากผิวผลไม้ (Fan et al. 2000; Jia et al. 2013; Liu et al. 2011) แต่ยีสต์เหล่านี้อาจพบกระจายทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ใบไม้ รากไม้ น้ำทะเล ดิน แหล่งอื่น ๆ จนถึงปัจจุบันมีรายงานการแยกและคัดเลือกยีสต์ปฏิบัณฑ์ได้เป็นจำนวนมาก (Into et al. 2020; Khunnamwong et al. 2020; Konsue et al. 2020; Limtong et al. 2020; Satianpakiranakorn et al. 2020; Vero et al. 2013; Zajc et al. 2020) โดยยีสต์ปฏิบัณฑ์ที่มีศึกษากันมาก เช่น *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Metschnikowia* spp., *Rhodotorula* spp., *Wickerhamomyces* spp. และพวก

ตารางที่ 1.1 ยีสต์ปฏิปักษ์ในไฟลัม *Ascomycota* และ *Basidiomycota* จากแหล่งต่าง ๆ ซึ่งสามารถยับยั้งราก่อโรคพืชเมื่อทดลองในห้องปฏิบัติการ

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรค	ชื่อโรค	พืช	เอกสารอ้างอิง
Phylum Ascomycota					
<i>Candida krusei</i>	ผลลับปะรดเน่า	<i>Fusarium guttiforme</i>	พิวซารีโอซิส (Fusariosis)	ลับปะรด	Korres et al. (2011)
<i>Hannaella sinensis</i>	ผิวใบข้าวโพด	<i>Curvularia lunata</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	Limtong et al. (2020)
<i>Hannaella sinensis</i>	ผิวใบข้าว	<i>Curvularia lunata</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	Limtong et al. (2020)
<i>Hannaella sinensis</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	Limtong et al. (2020)
<i>Hanseniaspora lindneri</i>	ดินอินทรีย์ในป่าพรุ	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้ง	ข้าว	Satianpakirankorn et al. (2020)
<i>Hanseniaspora lindneri</i>	ดินอินทรีย์ในป่าพรุ	<i>Pyricularia grisea</i>	โรคใบไหม้	ข้าว	Satianpakirankorn et al. (2020)
<i>Kloeckera apis</i>	ผลลับปะรดเน่า	<i>Fusarium guttiforme</i>	พิวซารีโอซิส	ลับปะรด	Korres et al. (2011)
<i>Kodamaea ohmeri</i>	เนื้อเยื่อใบข้าว	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคยอดผักดาบ	ข้าว	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	เมล็ดข้าว	<i>Fusarium fujikuroi</i>	โรคยอดผักดาบ	ข้าว	Matić et al. (2014)
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	เมล็ดข้าว	<i>Fusarium fujikuroi</i>	โรคยอดผักดาบ	ข้าว	Matić et al. (2014)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	การผลิตเอทานอล	<i>Colletotrichum acutatum</i>	การร่วงของผลหลังดอกบาน	ส้ม	Lopes et al. (2015)
<i>Scheffersomyces spartinae</i>	ดินอินทรีย์ในป่าพรุ	<i>Pyricularia grisea</i>	โรคใบไหม้	ข้าว	Satianpakirankorn et al. (2020)
<i>Starmerella kuoi</i>	ดินในป่าพรุ	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้ง	ข้าว	Satianpakirankorn et al. (2020)
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Curvularia lunata</i>	โรคเมล็ดต่าง, โรคกล้าเน่า	ข้าว	Into et al. (2020); Limtong et al. (2020)
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคยอดผักดาบ	ข้าว	Into et al. (2020)

ตารางที่ 1.1 (ต่อ)

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรค	ชื่อโรค	พืช	เอกสารอ้างอิง
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคใบจุดสีน้ำตาล	ข้าว	Into et al. (2020)
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Pyricularia oryzae</i>	โรคใบไหม้	ข้าว	Into et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	Limtong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคถอดฝักดาบ	ข้าว	Into et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าว	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคถอดฝักดาบ	ข้าว	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าว	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคต้นเน่า	ข้าวโพด	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าว	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคลำต้นเน่า	อ้อย	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าวโพด	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคถอดฝักดาบ	ข้าว	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าวโพด	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคต้นเน่า	ข้าวโพด	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าวโพด	<i>Fusarium moniliforme</i>	โรคลำต้นเน่า	อ้อย	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคใบจุดสีน้ำตาล	ข้าว	Into et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Pyricularia oryzae</i>	โรคใบไหม้	ข้าว	Into et al. (2020)
Phylum Basidiomycota					
<i>Piskurozyma taiwanensis</i>	ดินในป่าพรุ	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้ง	ข้าว	Satianpakirankorn et al. (2020)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	Limtong et al. (2020)
<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	ดินอินทรีย์ในป่าพรุ	<i>Curvularia lunata</i>	โรคเมล็ดต่าง	ข้าว	Satianpakirankorn et al. (2020)
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	เมล็ดข้าว	<i>Fusarium fujikuroi</i>	โรคถอดฝักดาบ	ข้าว	Matić et al. (2014)

ตารางที่ 1.2 ยีสต์ปฏิภักษ์ในไฟล์ัม *Ascomycota* และ *Basidiomycota* จากแหล่งต่าง ๆ ซึ่งสามารถยับยั้งราที่ก่อโรคพืชหลังเก็บเกี่ยวเมื่อทดลองในห้องปฏิบัติการ

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรค	โรค	ผลไม้	เอกสารอ้างอิง
Phylum Ascomycota					
<i>Candida azyma</i>	ใบส้ม	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	โรคผลเน่า	ส้ม	Ferraz et al. (2016)
<i>Candida oleophila</i>	ผิวของผลมะเขือเทศ	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	แอปเปิ้ล	Liu et al. (2012)
<i>Candida oleophila</i>	ผิวของผลมะเขือเทศ	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	แอปเปิ้ล	Liu et al. (2012)
<i>Debaryomyces hansenii</i>	น้ำทะเล	<i>Penicillium italicum</i>	โรคเน่าจากราสีน้ำเงิน	มะนาว	Hernández-Montiel et al. (2012)
<i>Debaryomyces hansenii</i>	เปลือกของผลมะนาว	<i>Penicillium italicum</i>	โรคเน่าจากราสีน้ำเงิน	มะนาว	Hernández-Montiel et al. (2012)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	ผิวของผล สตรอเบอรี่	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	องุ่น	Qin et al. (2015)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	องุ่น	Cordero-Bueso et al. (2017)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Aspergillus carbonarius</i>	โรคราที่ออกซินเอินผล	องุ่น	Cordero-Bueso et al. (2017)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	องุ่น	Cordero-Bueso et al. (2017)
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	ผลมะเดื่อหลังเก็บเกี่ยว	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	มะเดื่อ	Ruiz-Moyano et al. (2016)
<i>Kloeckera apiculata</i>	ดินรอบรากพืช	<i>Penicillium digitatum</i>	โรคเน่า	ส้ม	Liu et al. (2013)
<i>Metschnikowia fructicola</i>	ผิวของผลแอปเปิ้ล	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	แอปเปิ้ล	Spadaro et al. (2013)

ตารางที่ 1.2 (ต่อ)

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรค	โรค	ผลไม้	เอกสารอ้างอิง
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	ผลมะเดื่อหลังเก็บเกี่ยว	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	มะเดื่อ	Ruiz–Moyano et al. (2016)
<i>Meyerozyma caribbica</i>	ผิวของผลมะม่วง	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	โรคแอนแทรกคโนส	มะม่วง	Bautista–Rosales et al. (2014)
<i>Meyerozyma caribbica</i>	ดินจากสวน	<i>Rhizopus stolonifer</i>	โรคเน่า	ท้อ	Xu et al. (2013)
<i>Meyerozyma caribbica</i>	ดินจากสวนท้อ	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	แอปเปิ้ล	Cao et al. (2013)
<i>Pichia kluyveri</i>	ผลองุ่นจากไร่	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	องุ่น	Cordero–Bueso et al. (2017)
<i>Pichia kluyveri</i>	ผลองุ่นจากไร่	<i>Aspergillus carbonarius</i>	โรคราที่ออกซินเอในผล	องุ่น	Cordero–Bueso et al. (2017)
<i>Pichia kluyveri</i>	ผลองุ่นจากไร่	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	องุ่น	Cordero–Bueso et al. (2017)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	น้ำองุ่นที่กำลังหมัก	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	องุ่น	Nally et al. (2012)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	องุ่น	Cordero–Bueso et al. (2017)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Aspergillus carbonarius</i>	โรคราที่ออกซินเอในผล	องุ่น	Cordero–Bueso et al. (2017)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	องุ่น	Cordero–Bueso et al. (2017)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ใบส้ม	<i>Geotrichum citri–aurantii</i>	โรคผลเน่า	ส้ม	Ferraz et al. (2016)
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	โรคผลเน่า	มะม่วง	Konsue et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผลอินทผลัมเน่า	<i>Penicillium italicum</i>	โรคเน่าจากราสีน้ำเงิน	แอปเปิ้ล	Hashema et al. (2014)
<i>Cryptococcus laurentii</i>	ผิวของผลมะม่วง	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	โรคแอนแทรกคโนส	มะม่วง	Bautista–Rosales et al. (2014)
<i>Cryptococcus laurentii</i>	ผิวของผลองุ่น	<i>Alternaria alternata</i>	โรคเน่าดำ	สตรอบเบอร์รี่	Zhang et al. (2015)
<i>Leucosporidium scottii</i>	ดินจากแอนตาร์กติกา	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	แอปเปิ้ล	Vero et al. (2013)
<i>Papiliotrema aspenensis</i>	ผิวใบอ้อย	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	โรคแอนแทรกคโนส	มะม่วง	Konsue et al. (2020)

ตารางที่ 1.2 (ต่อ)

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรค	โรค	ผลไม้	เอกสารอ้างอิง
<i>Papiliotrema laurentii</i>	ดินในป่าพรุ	<i>Phytophthora palmivora</i>	โรคเน่า	ทุเรียน	Satianpakiranakorn et al. (2020)
<i>Papiliotrema laurentii</i>	ดินอินทรีย์ในป่าพรุ	<i>Phytophthora palmivora</i>	โรคเน่า	ทุเรียน	Satianpakiranakorn et al. (2020)
<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	ผิวใบข้าวโพด	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	โรคผลเน่า	มะม่วง	Konsue et al. (2020)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	ผิวของดอกท้อในสวน	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	สตروبเบอร์รี่	Zhang et al. (2013)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	ผิวผลแอปเปิ้ล	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่าจากเพนนิซิลเลียม	แอปเปิ้ล	Cheng et al. (2016)
<i>Rhodotorula minuta</i>	ใบส้ม	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	โรคผลเน่า	ส้ม	Ferraz et al. (2016)
<i>Rhodosporidium paludigenum</i>	ทะเล	<i>Penicillium digitatum</i>	โรคเน่าจากเพนนิซิลเลียม	ส้ม	Lu et al. (2014)
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	ใบสตروبเบอร์รี่	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	สตروبเบอร์รี่	Huang et al. (2012)
<i>Sporobolomyces koalae</i>	ใบส้ม	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	โรคผลเน่า	ส้ม	Ferraz et al. (2016)
<i>Vishniacozyma carnescens</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	องุ่น	Cordero-Bueso et al. (2017)
<i>Vishniacozyma carnescens</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Aspergillus carbonarius</i>	โรคราที่ออกซินเอินผล	องุ่น	Cordero-Bueso et al. (2017)
<i>Vishniacozyma carnescens</i>	ผลองุ่นในไร่	<i>Penicillium expansum</i>	โรคเน่า	องุ่น	Cordero-Bueso et al. (2017)

ตารางที่ 1.3 ยีสต์ปฏิบััษย์ที่ใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพของโรคพืชและโรคหลังเก็บเกี่ยวที่เกิดจากราเมื่อทดลองในเรือนกระจกและในแปลงเพาะปลูก

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรคพืช	โรค	ใช้ในพืช	ทดลองในเรือน กระจก/แปลง เพาะปลูก	เอกสารอ้างอิง
Phylum Ascomycota						
<i>Candida sake</i>	ผิวผลส้ม	<i>Cercospora beticola</i>	โรคใบจุด	ผักกาดหวาน	เรือนกระจกและ แปลงเพาะปลูก	Ziedan and Farrag (2011)
<i>Candida sake</i>	ผิวผลส้ม	<i>Erysiphe betae</i>	โรคราแป้ง	ผักกาดหวาน	เรือนกระจกและ แปลงเพาะปลูก	Ziedan and Farrag (2011)
<i>Candida sake</i>	แอปเปิ้ล	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราแป้ง	องุ่น	แปลงเพาะปลูก	Cañamás et al. (2011)
<i>Candida sake</i>	แอปเปิ้ล	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคเน่าของพวงองุ่น จาก <i>Botrytis</i>	องุ่น	แปลงเพาะปลูก	Calvo-Garrido et al. (2014)
<i>Lanchnancea thermotolerans</i>	องุ่นสำหรับทำ ไวน์	<i>Aspergillus carbonarius</i>	โรคเน่าของพวงองุ่น จาก <i>Aspergillus</i>	องุ่น	เรือนกระจกและ แปลงเพาะปลูก	Ponsone et al. (2016)
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	เมล็ดข้าว	<i>Fusarium fujikuroi</i>	โรคถอดผักตบ	ข้าว	เรือนกระจก	Matic´ et al. (2014)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ของ Meba Co., Egpt	<i>Cercospora beticola</i>	โรคใบจุด	ผักกาดหวาน	เรือนกระจกและ แปลงเพาะปลูก	Ziedan and Farrag (2011)
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้ง	ข้าว	เรือนกระจก	Into et al. (2020b)
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Curvularia lunata</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	เรือนกระจก	Limtong et al. (2020b)

ตารางที่ 1.3 (ต่อ)

ยีสต์	แหล่งของยีสต์	ราก่อโรคพืช	โรค	ใช้ในพืช	ทดลองในเรือน	
					กระจก/แปลงเพาะปลูก	เอกสารอ้างอิง
<i>Torulaspora indica</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	เรือนกระจก	Limtong et al. (2020b)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้ง	ข้าว	เรือนกระจก	Into et al. (2020b)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	เนื้อเยื่อใบข้าว	<i>Rhizoctonia solani</i>	โรคกาบใบแห้ง	ข้าว	เรือนกระจก	Khunnamwong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Curvularia lunata</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	เรือนกระจก	Limtong et al. (2020)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	ผิวใบข้าว	<i>Helminthosporium oryzae</i>	โรคกล้าเน่า	ข้าว	เรือนกระจก	Limtong et al. (2020)
Phylum Basidiomycota						
<i>Papiliotrema flavescens</i>	อับเรณูของดอกข้าวสาลี	<i>Fusarium graminearum</i>	Fusarium head blight	ข้าวสาลี	แปลงเพาะปลูก	Schisler et al. (2014)
<i>Papiliotrema laurentii</i>	แอปเปิ้ล	<i>Blumeria graminis</i>	โรคราแป้ง	ข้าวสาลี	เรือนกระจก	Curtis et al. (2012)
<i>Papiliotrema laurentii</i>	ไม่มีรายละเอียด	<i>Botrytis cinerea</i>	โรคราสีเทา	สตรอเบอรี่	เรือนกระจก	Wei et al. (2014)
<i>Rhodosporidium kratochvilovae</i>	มะกอก	<i>Blumeria graminis</i>	โรคราแป้ง	ข้าวสาลี	เรือนกระจก	Curtis et al. (2012)

ราคล้ายยีสต์ *A. pullulans* ยีสต์ปฏิปักษ์เหล่านี้มีบางสปีชีส์ที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า เช่น *C. oleophila*, *C. sake*, *M. fructicola*, *A. pullulans*, *S. cerevisiae* และ *Cry. albidus* ยีสต์เหล่านี้แสดงการเป็นปฏิปักษ์ต่อ ราก่อโรคที่พบบ่อย ได้แก่ *B. cinerea*, *Penicillium* spp., *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum* spp., *M. fructicola*, *Alternaria alternate* และ *Aspergillus niger* (Zhang et al. 2020)

เอกสารอ้างอิง

- Bautista–Rosales PU, Calderon–Santoyo M, Servín–Villegas R, Ochoa–Alvarez NA, Vazquez Juarez R, Ragazzo–Sanchez JA. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. *Crop Prot.* 2014;65:194–201.
- Bekatorou A, Psarianos C, Koutinas AA. Production of food grade yeasts. *Food Technol Biotechnol.* 2006;44:407–415.
- Boukaew S, Klinmanee C, Prasertsan P. Potential for the integration of biological and chemical control of sheath blight disease caused by *Rhizoctonia solani* on rice. *World J of Microbiol Biotechnol.* 2013;29:1885–1893.
- Calvo–Garrido C, Teixidó N, Roudet J, Viñas I, Usall J, Fermaud M. Biological control of *Botrytis* bunch rot in Atlantic climate vineyards with *Candida sake* CPA–1 and its survival under limiting conditions of temperature and humidity. *Biol Control.* 2014;79:24–35.
- Cañamás TP, Viñas I, Torres R, Usall J, Solsona C, Teixidó N. Field applications of improved formulations of *Candida sake* CPA–1 for control of *Botrytis cinerea* in grapes. *Biol Control.* 2011;56:150–158.
- Cao B, Hua L, Tian S, Qin G. Boron improves the biocontrol activity of *Cryptococcus laurentii* against *Penicillium expansum* in jujube fruit. *Postharvest Biol Technol.* 2012;68:16–21.
- Cao J, Zhang H, Yang Q, Ren R. Efficacy of *Pichia caribbica* in controlling blue mold rot and patulin degradation in apples. *Int J Food Microbiol.* 2013;162:167–173.
- Chen Y, Peng H, Wang X, Li B, Long M, Tian S. Biodegradation mechanisms of patulin in *Candida guilliermondii*: An iTRAQ–based proteomic analysis. *Toxins.* 2017;9(2):48;doi:10.3390/toxins9020048.
- Cheng Z, Chi M, Li G, Chen H, Sui Y, Sun H, Liu J. Heat shock improves stress tolerance and biocontrol performance of *Rhodotorula mucilaginosa*. *Biol Control.* 2016;95:49–56.
- Cipollone J, Mourellos C, Sisterna M. First report of *Bipolaris zeicola* on barley worldwide. *Crop Protection.* 2020;135;doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105188
- Colombo AL, Junior JNA, Guinea J. Emerging multidrug–resistant *Candida* species. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30:528–538.

- Cordero–Bueso G, Mangieri N, Maghradze D, Foschino R, Valdetara F, Cantoral JM, Vigentini I. Wild grape–associated yeasts as promising biocontrol agents against *Vitis vinifera* fungal pathogens. *Front. Microbiol.* 03 November 2017;doi.org/10.3389/fmicb.2017.02025
- Curtis FD, Cicco VD, Lima G. 2012. Efficacy of biocontrol yeasts combined with calcium silicate or sulphur for controlling durum wheat powdery mildew and increasing grain yield components. *Field Crop Res.* 2012;134:36–46.
- Dean R, van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond–Kosack KE, di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 2012;13:414–430.
- Dukare AS, Paul S, Nambi VE, Gupta RK, Singh R, Sharma K, Vishwakarma RK. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018;59:1498–1513
- Fanning S, Mitchell AP. Fungal biofilms. *PLoS Pathog.* 2012; 8:e1002585.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002585
- Farahani L, Etebarian HR. Enhancement of the efficacy of two antagonistic yeasts with salicylic acid against *Penicillium expansum*. *Arch Phytopathol Plant Prot.* 2012;45:260–267.
- Ferraz LP, da Cunha T, da Silva AC, Kuppera KC. Biocontrol ability and putative mode of action of yeasts against *Geotrichum citriaurantium* in citrus fruit. *Microbiol Res.* 2016;188189:72–79.
- Ferraz P, Cássio F, Lucas C. Potential of yeasts as biocontrol agents of the phytopathogen causing cacao *Witches' Broom Disease*: Is microbial warfare a solution? *Front Microbiol.* 2019;doi.org/10.3389/fmicb.2019.01766
- Fillinger S, Elad Y. *Botrytis–The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems.* Basel: Springer International Publishing AG; 2016.
- Fisher MC, Hawkins NJ, Sanglard D, Gurr SJ. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science.* 2018;360:739–742.
- Fisher MC, Henk DA, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL, Gurr SJ. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature.* 2012;484:186–194.
- Fitzpatrick DA. Horizontal gene transfer in fungi. *FEMS Microbiol Lett.* 2017;329:1–8.
- Freimoser FM, Rueda–Mejia MP, Tilocca B, Migheli Q. Biocontrol yeasts: Mechanisms and applications. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019;35:154;doi.org/10.1007/s11274–019–2728–4
- Gauthier GM. Dimorphism in fungal pathogens of mammals, plants, and insects. *PLoS Pathog.* 2015;11:e1004608;doi.org/10.1371/journal.ppat.1004608

- Gramisci BR, Lutz MC, Lopes CA, Sangorrín MP. Enhancing the efficacy of yeast biocontrol agents against postharvest pathogens through nutrient profiling and the use of other additives. *Biol Control*. 2018;121:151–158.
- Guo J, Fang W, Lu H, Zhu R, Lu L, Zheng X, Yu T. Inhibition of green mold disease in mandarins by preventive applications of methyl jasmonate and antagonistic yeast *Cryptococcus laurentii*. *Postharvest Biol. Technol.* 2014, 88, 72–78.
- Hashema M, Alamri SA, Hesham AE–L, Al–Qahtani FM, Kilany M. Biocontrol of apple blue mould by new yeast strains: *Cryptococcus albidus* KKUY0017 and *Wickerhamomyces anomalus* KKUY0051 and their mode of action. *Biocontrol Sci Technol.* 2014;24:11371152
- Heimpel GE, Mills N. 2017. *Biological Control–Ecology and Applications*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Hernández–Montiel LG, Holguin–Pena RJ, Larralde–Corona CP, Zulueta–Rodríguez R, Rueda–Puente E, Moreno–Legorreta M. Effect of inoculum size of yeast *Debaryomyces hansenii* to control *Penicillium italicum* on Mexican lime (*Citrus aurantiifolia*) during storage. *CyTA–J Food*. 2012;10:235–242.
- Huang R, Che HJ, Zhang J, Yang L, Jiang DH, Li GQ. Evaluation of *Sporidiobolus pararoseus* strain YCXT3 as biocontrol agent of *Botrytis cinerea* on post–harvest strawberry fruits. *Biol Control*. 2012;62:53–63.
- Into P, Khunnamwong P, Jindamoragot S, Am–in S, Intanoo W, Limtong S. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. *Microorganisms*. 2020b;8:362;doi:10.3390/microorganisms8030362
- Into P, Pontes A, Sampaio JP, Limtong S. Yeast diversity associated with the phylloplane of corn plants cultivated in Thailand. *Microorganisms*. 2020a;8(1):80;doi.org/10.3390/microorganisms8010080
- Janisiewicz WJ, Saftner RA, Conway WS, Yoder KS. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharvest Biol Technol.* 2008;49:374–378.
- Johnson EA, Echavarri–Erasun C. Yeast Biotechnology, In: Kurtzman CP, Fell J W, Boekhout T, editors. *The yeasts, a taxonomic study*, 5th ed. Amsterdam: Elsevier; 2011. p. 21–22.
- Kamal R, Gusain YS, Kumar V, Sharma AK. Disease management through biological control agents: An eco–friendly and cost effective approach for sustainable agriculture–A Review. *Agri Review*. 2015; 36(1):37–45.
- Karthikeyan V, Gnanamanickam SS. Biological control of *Setaria* blast (*Magnaporthe grisea*) with bacterial strains. *Crop Prot.* 2008;27:263–267.

- Khunnamwong P, Lertwattanasakul N, Jindamorakot S, Suwannarach N, Matsui K, Limtong S. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. *Folia Microbiologica*. 2020;65:573–590;doi.org/10.1007/s12223-019-00764-6
- Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Front Plant Sci*. 2019;10:845;doi:10.3389/fpls.2019.00845
- Konsue W, Dethoup T, Limtong S. Biological control of fruit rot and anthracnose of Postharvest mango by antagonistic yeasts from economic crops leaves. *Microorganisms*. 2020;8:317;doi:10.3390/microorganisms8030317
- Korres AMN, Buss DS, Ventura JA, Fernandes PMB. *Candida krusei* and *Kloeckera apis* inhibit the causal agent of pineapple fusariosis, *Fusarium guttiforme*. *Fungal Biol*. 2011;115:1251–1258.
- Kunyosying D, To-anun C, Cheewangkoon R. Control of rice blast disease using antagonistic yeasts. *Int J Agric Technol*. 2018;14:83–98
- Lahlali R, Hamadi Y, Jijakli MHJBC. Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperature and relative humidity. 2011;56:217–224.
- Li J, Li H, Ji S, Chen T, Tian S, Qin G. Enhancement of biocontrol efficacy of *Cryptococcus laurentii* by cinnamic acid against *Penicillium italicum* in citrus fruit. *Postharvest Biol. Technol*. 2019;149:42–49.
- Limtong S, Into P, Attarat P. Biocontrol of rice seedling rot disease caused by *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae* by epiphytic yeasts from plant leaves. *Microorganisms*. 2020;8:647; doi:10.3390/microorganisms8050647
- Limtong S, Kaewwichian R, Yongmanitchai W, Kawasaki H. Diversity of culturable yeasts in phylloplane of sugarcane in Thailand and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World J Microbiol Biotechnol*. 2014;30:1785–1796.
- Limtong S, Kaewwichian R. The diversity of culturable yeasts in the phylloplane of rice in Thailand. *Ann Microbiol*. 2014;65(2):667–675.
- Liu F, Tu K, Shao X, Zhao Y, Tu S, Su J, Hou Y, Zou X. Effect of hot air treatment in combination with *Pichia guilliermondii* on postharvest anthracnose rot of loquat fruit. *Postharvest Biol Technol*. 2010; 58:65–71.
- Liu J, M Wisniewski, Droby S, Norelli J, Hershkovitz V, Tian S, Farrell R. Increase in antioxidant gene transcripts, stress tolerance and biocontrol efficacy of *Candida oleophila* following sublethal oxidative stress exposure. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;80:578–590.

- Liu J, Sui Y, Wisniewski M, Droby S, Liu Y. Review: utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *Int J Food Microbiol.* 2013;167:153–160.
- Liu J, Tian SP, Li BQ, Qin GZ. Enhancing viability of two biocontrol yeasts in liquid formulation by applying sugar protectant combined with antioxidant. *Biol Control.* 2009;54:817–824.
- Liu J, Wisniewski M, Droby S, Tian S, Hershkovitz V, Tworkoski T. Effect of heat shock treatment on stress tolerance and biocontrol efficacy of *Metschnikowia fructicola*. *FEMS Microbiol Ecol.* 2011;76:145–155.
- Long CA, Deng BX, Deng XX. Commercial testing of *Kloeckera apiculata*, isolate 34–9, for biological control of postharvest diseases of citrus fruit. *Ann Microbiol.* 2007;57:203–207.
- Lopes MR, Klein MN, Ferraz LP, da Silva AC, Kupper KC. *Saccharomyces cerevisiae*: a novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. *Microbiol Res.* 2015;175:93–99.
- Lu L, Liu Y, Yang J, Azat R, Yu T, Zheng X. Quaternary chitosan oligomers enhance resistance and biocontrol efficacy of *Rhodospiridium paludigenum* to green mold in satsuma orange. *Carbohydr Polym.* 2014;113:174–181.
- Matic´ S, Davide S, Angelo G, Maria L. Antagonistic yeasts and thermotherapy as seed treatments to control *Fusarium fujikuroi* on rice. *Biol. Control.* 2014;73:59–67.
- Meng X, Qin G, Tian S. Influences of preharvest spraying *Cryptococcus laurentii* combined with postharvest chitosan coating on postharvest diseases and quality of table grapes in storage. *LWT Food Sci Technol.* 2010;43:596–601.
- Molla KA, Karmakar S, Molla J, Bajaj P, Varshney RK, Datta SK, Datta K. Understanding sheath blight resistance in rice: the road behind and the road ahead. *Plant Biotechnol J.* 2020; 18(4):895–915.
- Moriguchi K, Yamamoto S, Tanaka K, Kurata N, Suzuki K. Trans-kingdom horizontal DNA transfer from bacteria to yeast is highly plastic due to natural polymorphisms in auxiliary nonessential recipient genes. *PLoS ONE.* 2013;8:e74590;doi.org/10.1371/journal.pone.0074590
- Nally, MC, Pesce VM, Maturano YP, Muñoz CJ, Combina M, Toro ME, Vazquez F. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in table grapes by non-pathogenic indigenous *Saccharomyces cerevisiae* yeasts isolated from viticultural environments in Argentina. *Postharvest Biol Technol.* 2012;64:40–48.
- Nasanit R, Jaibangyang S, Tantirungkij M, Limtong S. Yeast diversity and novel yeast D1/D2 sequences from corn phylloplane obtained by a culture-independent approach. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2016;109:1615–1634.
- Odum EP. *Fundamentals of Ecology.* Philadelphia/London: W. B. Saunders; 1953.

- Opulente DA, Langdon QK, Buh KV, Haase MAB, Sylvester K, Moriarty RV, Jarzyna M, Considine SL, Schneider RM, Hittinger CT. Pathogenic budding yeasts isolated outside of clinical settings. *FEMS Yeast Res.* 2019;19,foz032;doi.org/10.1093/femsy r/foz03 2
- Pandin C, Le Coq D, Canette A, Aymerich S, Briandet R. Should the biofilm mode of life be taken into consideration for microbial biocontrol agents? *Microb Biotechnol.* 2017; 10(4):719–734.
- Petronella HM, Kenneth BD, Genevieve CB. Time–Course RNAseq reveals *Exserohilum turcicum* effectors and pathogenicity determinants. *Front Microbiol.* 2020;doi.org/10.3389/ fmicb.2020.00360
- Pimenta RS, Morais PB, Rosa CA, Corrêa A. Utilization of yeasts in biological control programs. In: Satyanarayana T, Kunze G, editors. *Yeast Biotechnology: Diversity and applications.* Dordrecht: Springer; 2009. p. 199–214.
- Ponsone ML, Nally MC, Chiotta ML, Combina M, Köhl J, Chulze SN. Evaluation of the effectiveness of potential biocontrol yeasts against black surrot and ochratoxin A occurring under greenhouse and field grape production conditions. *Biol Control.* 2016;103:78–85.
- Prathuangwong S, D Athinuwat, W Chuaboon, T Chatnaparat and N Buensanteai. Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice. *Afr J Microbiol Res.* 2013; 7(47):5274–5283.
- Pretscher J, Fischkal T, Branscheidt S, Lucas Jäger ID, Kahl S, Schlander M, Thines E, Claus H. Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation.* 2018;4:31;doi:10.3390/fermentation4020031
- Qin G, Tian S, Xu Y, Wan Y. Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2003;62:147–154
- Qin X, Xiao H, Xue C, Yu Z, Yang R, Cai Z, Sia L. Biocontrol of gray mold in grapes with the yeast *Hanseniaspora uvarum* alone and in combination with salicylic acid or sodium bicarbonate. *Postharvest Biol Technol.* 2015;100:160–167.
- Rahman SFS Ab, Singh E, Pieterse CMJ, Schenk PM. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Sci.* 2018;267:102–111.
- Reyes MEQ, KG Rohrbach and RE Paull. Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. *Postharvest Biol Technol.* 2004;33:193–203.
- Robert V, Cardinali G, Casadevall A. Distribution and impact of yeast thermal tolerance permissive for mammalian infection. *BMC Biol.* 2015;13:18;doi.org/10.1186/s1291 5–015–0127–3
- Romanazzi G, Sanzani SM, Bi Y, Tian S, Gutiérrez Martínez P, Alkan N. Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Technol.* 2016;122: 82–94.

- Ruiz–Moyano S, Martín A, Villalobos MC, Calle A, Serradilla MJ, Córdoba MG, et al. Yeasts isolated from figs (*Ficus carica* L.) as biocontrol agents of postharvest fruit diseases. *Food Microbiol.* 2016;57:45–53.
- Satianpakiranakorn P, Khunnamwong P, Limtong S. Yeast communities of secondary peat swamp forests in Thailand and their antagonistic activities against fungal pathogens cause of plant and postharvest fruit diseases. *PLOS ONE.* 2020;doi.org/10.1371/journal.pone. 0230269
- Schisler DA, Core AB, Boehm MJ, Horst L, Krause C, Dunlap CA, Rooney AP. Population dynamics of the *Fusarium* head blight biocontrol agent *Cryptococcus flavescens* OH 182.9 on wheat anthers and heads. *Biol Control.* 2014;70:17–27.
- Schoeman A, Flett BC, van Rensburg BJ, Ncube E, Viljoen A. Pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium verticillioides* isolates collected from maize roots, stems and ears in South Africa. *Eur J Plant Pathol.* 2018;152:677–689.
- Shao Y, Zeng J, Tang H, Zhou Y, Li W. The chemical treatments combined with antagonistic yeast control anthracnose and maintain the quality of postharvest mango fruit. *J Integr Agric.* 2019;18:1159–1169.
- Spadaro D, Lorè A, Garibaldi A, Gullino ML. A new strain of *Metschnikowia fructicola* for postharvest control of *Penicillium expansum* and patulin accumulation on four cultivars of apple. *Postharvest Biol Technol.* 2013;75:1–8.
- Srikanta D, Santiago–Tirado FH, Doering TL. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. *Yeast.* 2014;31(2):47–60.
- Srisuk N, Nutaratat P, Surussawadee J, Limtong S. Yeast communities in sugarcane phylloplane. *Microbiology (Moscow).* 2019;88(3):353–369.
- Sugiprihatini D, Wiyono, SJMI. Selection of yeasts antagonists as biocontrol agent of mango fruit rot caused by *Botryodiplodia theobromae*. *Microbiol Indones.* 2012;5(4):154–159
- Tournas VH, Katsoudas EJ. Effect of CaCl₂ and various wild yeasts from plant origin on controlling *Penicillium expansum* postharvest decays in Golden Delicious apples. *Microbiol Insights.* 2019;12:1–6.
- van Lenteren JC, Bolckmans K, Köhl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl.* 2018;63:39–59.
- Vero S, Garmendia G, Gonzalez MB, Bentancur O, Wisniewski M. Evaluation of yeasts obtained from Antarctic soil samples as biocontrol agents for the management of postharvest diseases of apple (*Malus domestica*). *FEMS Yeast Res.* 2013;13:189–199.

- Vishwakarma SK, Kumar P, Nigam A, Singh A, Kumar A. Pokkah Boeng: An emerging disease of sugarcane. *J Plant Pathol Microb.* 2013;4:170;doi:10.4172/2157-7471.1000170
- Wang Y, Wang P, Xia J, Yu T, Luo B, Wang J, Zheng X. Effect of water activity on stress tolerance and biocontrol activity in antagonistic yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Int J Food Microbiol.* 2010; 143:103–108.
- Wegulo SN, Rivera-C JM, Martinson CA, Nutter FW Jr. Efficacy of fungicide treatments for control of common rust and northern leaf spot in hybrid corn seed production. *Plant Dis.* 1998;82:547–554.
- Wei Y, Mao S, Tu K. Effect of preharvest spraying *Cryptococcus laurentii* on postharvest decay and quality of strawberry. *Biol Control.* 2014;73:68–74.
- Xu B, Zhang H, Chen K, Xu Q, Yao Y, Gao H. Biocontrol of postharvest *Rhizopus* decay of peaches with *Pichia caribbica*. *Curr Microbiol.* 2013;67:255–261.
- Xu X, Chan Z, Xu Y, Tian S. Effect of *Pichia membranaefaciens* combined with salicylic acid on controlling brown rot in peach fruit and the mechanisms involved. *J Sci Food Agric.* 2008;88:1786–1793.
- Zhang C, Chen K, Wang G. Combination of the biocontrol yeast *Cryptococcus laurentii* with uv-c treatment for control of postharvest diseases of tomato fruit. *BioControl.* 2013;58: 269–281.
- Zhang H, Yang Q, Lin H, Ren X, Zhao L, Hou J. Phytic acid enhances biocontrol efficacy of *Rhodotorula mucilaginosa* against postharvest gray mold spoilage and natural spoilage of strawberries. *LWT–Food Sci Technol.* 2013;52:110–115.
- Zhang M, Jeyakumar MJM. *Fusarium* species complex causing pokkah boeng in China. In: Askun T, editor. *Fusarium – plant diseases, pathogen diversity, genetic diversity, resistance and molecular markers.* Intechopen. 2018;doi:10.5772/intechopen.73133
- Zhang X, Li B, Zhang Z, Chen Y, Tian S. Antagonistic Yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *J Fungi.* 2020;6:158;doi.org/10.3390/jof6030158
- Zhang X, Y Sun, Q Yang, L Chen, W Li, H Zhang. Control of postharvest black rot caused by *Alternaria alternata* in strawberries by the combination of *Cryptococcus laurentii* and Benzo-(1,2,3)-thiadiazole 7-carbothioic acid S-methyl ester. *Biol Control* 2015;90:96–101.
- Zhao L, H Zhang, J Li, J Cui, X Zhang, and X Ren. Enhancement of biocontrol efficacy of *Pichia carribbica* to postharvest diseases of strawberries by addition of trehalose to the growth medium. *Int J Mol Sci.* 2012;13:3916–3932.

- Zheng F, Zhang W, Sui Y, Ding R, Yi W, Hu Y, Liu H, Zhu C. Sugar protectants improve the thermotolerance and biocontrol efficacy of the biocontrol yeast, *Candida oleophila*. *Front Microbiol.* 2019;10:187;doi.org/10.3389/fmicb.2019.00187
- Zhou Y, Zhang L, Zeng K. Efficacy of *Pichia membranaefaciens* combined with chitosan against *Colletotri-chum gloeosporioides* in citrus fruits and possible modes of action. *Biol Control.* 2016;96:39–47.
- Ziedan EHE, Farrag ESH. Application of yeasts as biocontrol agents for controlling foliar diseases on sugar beet plants. *J Agric Sci Technol.* 2011;7:1789–1799.
- Ziting Y, Chengwu Z, Na P, Yu Z, Yixue B, Qiujuan Z, Qingfa W, Baoshan C, Muqing Z. Virome identification and characterization of *Fusarium sacchari* and *F. andiyazi*: causative agents of pokkah boeng disease in sugarcane. *Front Microbiol.* 2020;doi.org/10.3389/fmicb.2020.00240
- Zong Y, Liu J, Li B, Qin G, Tian S. Effects of yeast antagonists in combination with hot water treatment on postharvest diseases of tomato fruit. *Biol Control.* 2010;54:316–321.

2

กลไกการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ และการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ในเชิงพาณิชย์

สาวิตรี ลิ่มทอง

บทที่ 2

ความเข้าใจกลไกการควบคุมทางชีวภาพเป็นสิ่งจำเป็นที่จะทำให้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาและการใช้จุลินทรีย์เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังช่วยทำให้รู้ถึงความเสี่ยงและอันตรายของตัวควบคุมทางชีวภาพที่อาจเกิดแก่มนุษย์และสิ่งแวดล้อมและความเสี่ยงที่จะเกิดความต้านทานต่อตัวควบคุมทางชีวภาพรวมทั้งช่วยในการคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดใหม่ กลไกการเป็นปฏิปักษ์ของสิ่งมีชีวิตแบ่งเป็น 2 แบบ ได้แก่ การเป็นปฏิปักษ์โดยตรง (direct antagonism) และการเป็นปฏิปักษ์ทางอ้อม (indirect antagonism) การเป็นปฏิปักษ์โดยตรงเป็นผลจากตัวควบคุมทางชีวภาพหรือสารทุติยภูมิของตัวควบคุมทางชีวภาพสัมผัสและทำลายเชื้อก่อโรคโดยตรงหรือโดยการเปลี่ยนแปลงภาวะสำหรับเชื้อก่อโรคหรือทั้ง 2 อย่าง การเป็นปฏิปักษ์โดยตรงอาจเกิดจากการใช้ประโยชน์ของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งเป็นอาหารโดยสิ่งมีชีวิตอื่น หรือทำลายองค์ประกอบเซลล์ของเชื้อก่อโรคเป็นผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อก่อโรค เช่น การที่ยีสต์สามารถแทงผ่านเส้นใยราก่อโรค การผลิตสารต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือทำลายโครงสร้างหรือฆ่าเชื้อก่อโรคเป้าหมาย เช่น การผลิตสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ต่าง ๆ ตลอดจนสารระเหย การส่งสัญญาณโมเลกุลรบกวนการสื่อสารระหว่างเซลล์ของเชื้อก่อโรค ส่วนกลไกการเป็นปฏิปักษ์โดยทางอ้อม เป็นผลจากกิจกรรมที่ไม่เกี่ยวข้องกับการที่ตัวควบคุมทางชีวภาพไปยับยั้งหรือกำจัดเชื้อก่อโรค แต่เกิดจากการที่ตัวควบคุมทางชีวภาพกระตุ้นการเติบโตและป้องกันตัวเองของพืช เช่น การตรึงธาตุอาหารให้พืช การย่อยสลายธาตุอาหารเพื่อให้พืชนำไปใช้ได้ การชักนำพืชให้มีความต้านทานโรค มีผลทำให้พืชมีความแข็งแรงทนทานและต้านทานโรค จากรายงานการศึกษาวิจัยจำนวนมากแสดงว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism, microbial antagonist) ชนิดหนึ่งมีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ได้หลายกลไก และการแสดงออกของกลไกต่าง ๆ จะขึ้นอยู่กับสิ่งกระตุ้นที่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นั้นได้รับ (Freimoser et al. 2019; Köhl et al. 2019; Pal and Gardener 2006; Wisniewski and Droby 2012)

สำหรับยีสต์ที่ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพจากการศึกษาจนถึงปัจจุบันพบว่ามีหลายกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเป็นปฏิปักษ์ เช่น การสร้างและปลดปล่อยเอนไซม์ การสร้างสารอินทรีย์ระเหยง่าย การสร้างสารพิษ การแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่ การเป็นปรสิต (mycoparasitism)

การเหนี่ยวนำความต้านทานของพืช (Freimoser et al. 2019; Köhl et al. 2019; Pal and Gardener 2006; Wisniewski and Droby 2012)

การเป็นปฏิปักษ์โดยตรง

การเป็นปฏิปักษ์โดยตรงของยีสต์ปฏิปักษ์ที่มีต่อราก่อโรคพืชและโรคหลังการเก็บเกี่ยว ประกอบด้วย ภาวะยับยั้ง และภาวะปรสิติ ดังนี้

ภาวะยับยั้ง (Antibiosis)

ภาวะยับยั้งเป็นกระบวนการของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือระงับกิจกรรมหรือการเจริญของเชื้อก่อโรคหรือทั้ง 2 อย่าง กระบวนการนี้เป็นปฏิสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบที่มีขนาดโมเลกุลเล็กหรือสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่สร้างโดยจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีผลโดยตรงกับจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง (Lo 1998; Pal and Gardener 2006) ภาวะยับยั้งเกิดได้เมื่ออยู่ในภาวะกดดัน เช่น ขาดแคลนสารอาหาร ขาดก๊าซออกซิเจน การต้องการพื้นที่ในการเจริญ โดยจุลินทรีย์จะผลิตสารปลดปล่อยออกมาออกเซลล์และแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมโดยรอบ ส่งผลต่อประชากรจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ สารที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดผลิตมีฤทธิ์และมีความจำเพาะในการทำลายแตกต่างกัน สารที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น เช่น เอนไซม์ที่หลั่งออกมาออกเซลล์ (secreted enzyme) สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds; VOCs) สารพิษคิลเลอร์ (killer toxin) สารปฏิชีวนะ (antibiotic)

เอนไซม์ที่หลั่งออกมาออกเซลล์ การผลิตและหลั่งเอนไซม์ออกมาย่อยสลายองค์ประกอบของเซลล์เป็นลักษณะทั่วไปของปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชให้อาศัยกับเชื้อก่อโรคและมีการศึกษากันมาก ปกติเอนไซม์ดังกล่าวเพิ่มขึ้นในภาวะที่มีสารอาหารน้อย เช่น ในภาวะที่มีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนน้อย ทำหน้าที่ช่วยหาสารอาหารที่จะปลดปล่อยออกมาจากเซลล์พืชนำไปสู่การฆ่าเซลล์พืชเหล่านี้ เช่น กรณีของไมโคพาราซิติซึม (mycoparasitism) การหลั่งเอนไซม์ เช่น ไคตินเนส (chitinase) กลูคาเนส (glucanase) โปรตีเอส (protease) จึงมักมีรายงานและเน้นในยีสต์ปฏิปักษ์ และเกี่ยวข้องกับ การควบคุมทางชีวภาพ (Freimoser et al. 2019) เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ (cell wall-degrading enzymes) ซึ่งย่อยผนังเซลล์ส่งผลให้เซลล์แตก ดังนั้นจึงอาจเรียกว่าไลติกเอนไซม์ (lytic enzyme) เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์มักผลิตในสิ่งแวดล้อมโดยจุลินทรีย์ระหว่างการสลายตัวของสารอินทรีย์ที่มาจากเนื้อเยื่อพืชและเซลล์จุลินทรีย์และเส้นใยที่ตายแล้ว มีบทบาทสำคัญอย่างต่อเนื่องในวงจรสารอาหารในทุกระบบนิเวศ (Köhl et al. 2019) ผนังเซลล์ของราประกอบด้วยพอลิเมอร์หลายชนิด ได้แก่ กลูแคน (glucan) ประมาณ 50–60 เปอร์เซ็นต์ และ

ไคติน (chitin) ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบโปรตีน และเซลลูโลส (cellulose) สำหรับยีสต์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพ มีรายงานการสร้างเอนไซม์ เช่น ไคทิเนส กลูคาเนส โปรทีเอส การสร้างไคทิเนสพบในยีสต์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพหลายสกุล เช่น *Debaryomyces hansenii*, *Metschnikowia fructicola*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Ogataea methanolica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycopsis schoenii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Wickerhamomyces saturnus*, *Torulasporea delbrueckii* (Banani et al. 2015; Freimoser et al. 2019; Junker et al. 2019; Lopes et al. 2015; Pretscher et al. 2018; Zajc et al. 2019) นอกจากนี้ไคทิเนสน่าจะส่งผลเช่นกันในกิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพทางอ้อม เพราะมีรายงานว่า ไคโท-โอลิโกแซกคาไรด์ (chito-oligosaccharide) หลายชนิดที่ได้จากการสลายไคตินเป็นตัวเหนี่ยวนำที่มีศักยภาพในสร้างภูมิคุ้มกันของพืชทำให้พืชต้านทานเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น (Freimoser et al. 2019; Langner and Gohre 2015)

ส่วนเอนไซม์กลูคาเนส (exoglucanases) เช่น บีตา-1, 3-กลูคาเนส (beta-1, 3-glucanase) มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ (cell wall modification) มีการยึดเกาะของเซลล์ (cell adhesion) และมีความต้านทานต่อสารพิษคิลเลอร์ (killer toxin resistance) (Freimoser et al. 2019; Xu et al. 2013) ยีสต์ปฏิปักษ์หลายสปีชีส์ในหลายสกุลซึ่งมีศักยภาพในการควบคุมทางชีวภาพราก่อโรคพืช สามารถหลังกลูคาเนสออกมานอกเซลล์ย่อยกลูแคนที่ผนังเซลล์ของรา ส่งผลให้เซลล์และเส้นใยของราถูกทำลายโดยตรง (Banani et al. 2014; Spadaro and Droby 2016) ยีสต์ปฏิปักษ์ที่มีรายงานว่าสร้างเอนไซม์กลูคาเนส เช่น *M. pulcherrima*, *Meyerozyma caribbica*, *Meyerozyma guilliermondii*, *O. methanolica*, *Pichia membranifaciens*, *W. anomalus*, *S. cerevisiae*, *Sac. schoenii* (Bautista-Rosales et al. 2013; Chanchaichaovivat et al. 2008; Chan and Tian 2005; Junker et al. 2019; Lopes et al. 2015; Parafati et al. 2017a; Pretscher et al. 2018; Zhang et al. 2011) จากการวิจัยยีสต์ปฏิปักษ์ที่แยกจากเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจ ข้าว ข้าวโพด และอ้อย พบว่า *W. anomalus* 7 สายพันธุ์ ที่แยกจากเนื้อเยื่อพืช มีกิจกรรมการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *Curvularia lunata* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดดำของข้าว *Fusarium moniliforme* 3 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสาเหตุโรคยอดฝักดาบ (bakanae disease) ของข้าว โรคลำต้นเน่า (stalk rot disease) ของข้าวโพด และโรคเน่าแดง (red rot disease) ของอ้อย และ *Kodamae ohmeri* 4 สายพันธุ์ ซึ่งแยกจากเนื้อเยื่อพืช สามารถยับยั้งการเจริญของ *F. moniliforme* สายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุโรคยอดฝักดาบ มีการสร้างบีตา-1,3-กลูคาเนส และไคทิเนส เป็นกลไกการเป็นปฏิปักษ์ร่วมกับกลไกอื่น (Khunnamwong et al. 2020) การสร้างเอนไซม์สลายผนังเซลล์ของรา คือ บีตา-กลูคาเนส และไคทิเนส คาดว่าเป็นกลไกการเป็นปฏิปักษ์หนึ่งของยีสต์ *Torulasporea indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 และ *W. anomalus* DMKU-

RP25 ในการยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว (Into et al. 2020)

โปรทีเอส เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในราที่เป็นสาเหตุโรคแมลง และปรสิตของรา (mycoparasite) แต่มีการศึกษาน้อยในยีสต์ปฏิปักษ์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพ เนื่องจากการสร้างโปรทีเอสจะตรวจพบในช่วงหลัง ๆ ของการเจริญ เช่น หลังจาก 6–8 วันเมื่อเลี้ยง *Candida oleophila* ในอาหารที่อุดมสมบูรณ์ โดยสันนิษฐานว่ามีบทบาทน้อยในกิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพ (Freimoser et al. 2019) ยีสต์ที่สร้างโปรทีเอส เช่น *M. pulcherrima*, *O. methanolica*, *Sac. Schoenii*, *W. anomalus* (Junker et al. 2019; Pretschner et al. 2018)

สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย เป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (มักต่ำกว่า 300 ดาลตัน) มีความสามารถในการละลายต่ำ และความดันไอสูง ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ ไทโอแอลกอฮอล์ (thioalcohol) อัลดีไฮด์ (aldehyde) ไทโอเอสเทอร์ (thioester) ไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) สารประกอบเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic compound) อนุพันธ์ของฟีนอล เบนซีน (Morath et al. 2012; Freimoser et al. 2019) องค์ประกอบเคมีของส่วนผสมของสารระเหยแต่ละชนิด ที่เรียกว่า โวลไทโลม (volatilome) อาจเปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับยีสต์ที่ผลิต เชื้อก่อโรคที่ไปเป็นปฏิปักษ์ และระบบนิเวศย่อย ๆ (Parafati et al. 2017a) การผลิตสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่มีกิจกรรมต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) ของยีสต์ถือว่าเป็นสารรมทางชีวภาพ (biofumigant) ในอุดมคติ เพราะสามารถกระจายตัวได้ในอากาศเมื่ออยู่ในภาวะปกติ ทำให้ไม่ต้องการการสัมผัสทางกายภาพระหว่างยีสต์ปฏิปักษ์และราก่อโรคพืช (Spadaro and Droby 2016) อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับราเส้นใยพบว่ายีสต์ผลิตได้น้อยกว่า และผลิตสารได้ไม่กี่ชนิด ยีสต์ปฏิปักษ์หลายชนิดผลิตสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายและได้รับการเสนอว่ามีบทบาทสำคัญในการควบคุมทางชีวภาพของราก่อโรคพืชหลังเก็บเกี่ยวในสภาพที่มีการถ่ายเทอากาศดี (Zhang et al. 2020) Contarino et al. (2019) รายงานว่าอินทรีย์ระเหยง่ายที่ปล่อยจากยีสต์ปฏิปักษ์ส่วนใหญ่เป็นพวก เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ (phenylethyl alcohol), 3-เมทิล-1-บิวทานอล (3-methyl-1-butanol) เอทิล-แอซิเตต (ethyl acetate) และไอโซเอมิลแอซิเตต (isoamyl acetate) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ผลิตโดยรา *Muscodor albus* ทำให้ดีเอ็นเอเสียหายและเป็นพิษต่อเซลล์ของแบคทีเรีย แสดงว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายบางชนิดอาจมีความเป็นพิษ (Alpha et al. 2015) ดังนั้นควรต้องประเมินความปลอดภัยของการใช้สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายในการศึกษาด้วย (Zhang et al. 2020)

สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ผลิตโดย *Aureobasidium pullulans* ซึ่งเป็นราคล้ายยีสต์ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ L1 และสายพันธุ์ L8 พบว่ามีประสิทธิภาพลดการเจริญและการเกิด

โรคของ *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium digitatum* และ *Penicillium italicum* ทั้งในจานเพาะเชื้อและในพืช (Di Francesco et al. 2016), *Candida intermedia* C410 ผลิต VOCs ได้แก่ 1,3,5,7-ไซโคลออกเตตราอีน (1,3,5,7-cyclooctatetraene) และ 3-เมทิล-1-บิวทานอล ซึ่งยับยั้งการเจริญของรา *B. cinerea* บนผลสตรอเบอรี่โดยไม่ต้องสัมผัสกับรา (Huang et al. 2011), *Candida maltosa* NP9 ผลิตสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย ประกอบด้วย ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (isoamyl alcohol) ไอโซเอมิลแอซิเตต (isoamyl acetate) และ ฟีนีทิลแอลกอฮอล์ (phenethyl alcohol) ซึ่งยับยั้งการงอกของสปอร์ของรา *Aspergillus brasiliensis* (Ando et al. 2012) *Candida sake* ผลิตสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายลดการเกิดโรคเน่าของผลแอปเปิ้ล (apple rot) ซึ่งเกิดจากรา *P. expansum* และ *B. cinerea* (Arrarte et al. 2017) *Sporidiobolus pararoseus* YCXT3 ที่มีความสามารถควบคุมรา *B. cinerea* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคราสีเทาของสตรอเบอรี่ (strawberry gray mold disease) พบว่าการควบคุมขึ้นอยู่กับการผลิต 2-เอทิล-1-เฮกซานอล (2-ethyl-1-hexanol) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งทั้งการงอกสปอร์และการเจริญของเส้นใยของรา *B. cinerea* การที่ *Sp. pararoseus* ยับยั้งการงอกของสปอร์ของและการเจริญของเส้นใย *B. cinerea* เกิดจากสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ยีสต์สร้างที่มีองค์ประกอบหลักเป็น 1,3,5,7-ไซโคลอ็อกเตตราอีน 3-เมทิล-1-บิวทานอล, 2-โนนانون (2-nonanone) และฟีนีทิล-แอลกอฮอล์ (Huang et al. 2011) กิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ เช่น *W. anomalus*, *M. pulcherrima*, *S. cerevisiae*, *A. pullulans* ต่อ *B. cinerea* ในจานเพาะเชื้อและในผลองุ่นส่วนใหญ่ขึ้นกับการผลิตสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (Parafati et al. 2015) นอกจากนั้นพบสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย 20 ชนิด ในยีสต์สายพันธุ์ที่คัดเลือกสำหรับการควบคุมทางชีวภาพ คือ *Cyberlindnera jadinii*, *Candida friedrichii*, *C. intermedia* และ *Lachancea thermotolerans* แต่สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่มีปริมาณมากที่สุดและมีหน้าที่สำหรับการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการผลิตสารพิษโอคราโทอิกซินเอ (ochratoxin A) ของ *Aspergillus carbonarius* และ *Aspergillus ochraceus* คือ 2-ฟีนีเอทานอล (2-phenylethanol) (Farbo et al. 2018; Fiori et al. 2014; Tilocca et al. 2019) ส่วน *W. anomalus* 7 สายพันธุ์ ซึ่งมีกิจกรรมการเป็นปฏิปักษ์ต่อ คือ *C. lunata* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดดำของข้าว *Fusarium moniliforme* 3 สายพันธุ์ สาเหตุโรคถอดฝักดาบ (bakanae disease) ของข้าว โรคลำต้นเน่า (stalk rot disease) ของข้าวโพด และโรคเน่าแดง (red rot disease) ของอ้อย ส่วน *Kodamae ohmeri* 7 สายพันธุ์ ยับยั้งการเจริญของ *F. moniliforme* สายพันธุ์ ที่เป็นสาเหตุโรคถอดฝักดาบ จากการวิเคราะห์กลไกการเป็นปฏิปักษ์พบว่า *W. anomalus* ยับยั้งการเจริญของราโดยการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย ซึ่งส่วนใหญ่เป็น 3-เมทิล-1-บิวทิลแอซิเตต (3-methyl-1-butyl acetate) และ 3-เมทิล-1-บิวทานอล และ

เอนไซม์บีตา-1,3-กลูคาเนสและโคทิเนส นอกจากนั้นยังพบการสร้างไซเดอโรฟออร์ รวมทั้งสามารถสลายฟอสเฟต (phosphate solubilization) และเหล็กออกไซด์ (zinc oxide solubilization) สำหรับ *K. ohmeri* กลไกการยับยั้งราก่อโรคพืชเกิดจากการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย ซึ่งส่วนใหญ่ คือ 3-เมทิล-1-บิวทานอล การสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ของรา คือ บีตา-1,3-กลูคาเนส และโคทิเนส (Khunnamwong et al. 2020) ในขณะที่ยีสต์ปฏิปักษ์ *T. indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 และ *W. anomalus* DMKU-RP25 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว พบกลไกการเป็นปฏิปักษ์ประกอบด้วยการสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ยังยั้ง *R. solani* การสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์รา และการสร้างไบโอฟิล์ม (Into et al. 2020) นอกจากนั้นพบว่ากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของยีสต์ *T. indica* DMKU-RP31 และ *W. anomalus* YE-42 ต่อรา *C. lunata* และ *Helminthosporium oryzae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคกล้าข้าวเน่า และ *W. anomalus* DMKU-RP04 ต่อรา *H. oryzae* สาเหตุของโรคกล้าข้าวเน่า คือ การสร้างสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย และการสร้างไบโอฟิล์ม (Limtong et al. 2020) นอกจากนั้นยังพบว่า *T. indica* DMKU-RP31, *T. indica* DMKU-RP35 และ *Pseudozyma hubeiensis* YE-21 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุของโรคผลเน่าที่เกิดกับผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว และ *Papiliotrema aspenensis* DMKU-SP67 สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรักษ์โนสที่เกิดกับผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว โดยสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ยีสต์เหล่านี้สร้างขึ้นเป็นกลไกหลักในการยับยั้งการเจริญของรา รวมทั้งเมื่อทดลองใช้เพียงสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ยีสต์ปฏิปักษ์เหล่านี้ผลิต ในการควบคุมโรคที่เกิดกับผลมะม่วงน้ำผลไม้ พบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคได้แต่ลดได้น้อยกว่าการใช้เซลล์ยีสต์ ซึ่งแสดงว่ามีกลไกอื่นร่วมในการควบคุมโรคด้วย (Konsue et al. 2020)

สารพิษคิลเลอร์ สารพิษหลายชนิดสามารถควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว มีรายงานว่ายีสต์หลายชนิดผลิตสารพิษประเภทโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการฆ่าซึ่งมีความสามารถต่อต้านรา (Freimoser et al. 2019) สารพิษคิลเลอร์ คือ สารพิษที่มีฤทธิ์ในการฆ่า ทำให้ยีสต์ที่สามารถผลิตได้มีความได้เปรียบ สารพิษคิลเลอร์สามารถต่อต้านรา รวมทั้งยีสต์ชนิดอื่นด้วยกลไกหลายอย่าง คือ การสลายผนังเซลล์ ทำลายโครงสร้างของเซลล์ และยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ยีสต์สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษคิลเลอร์ชนิดนั้น จะมีความต้านทานต่อสารพิษคิลเลอร์ชนิดที่ยีสต์สายพันธุ์นั้นสร้างขึ้น ในขณะที่มีผลทำให้ยีสต์สายพันธุ์อื่นตาย (Mannazzu et al. 2019) สารพิษคิลเลอร์นี้ใช้มานานในอุตสาหกรรมการผลิตไวน์ โดยสารพิษคิลเลอร์เริ่มต้นศึกษาใน *S. cerevisiae* ซึ่งสามารถฆ่ายีสต์สปีชีส์อื่นที่แข่งขันกับสปีชีส์ที่ผลิตสารพิษคิลเลอร์ เนื่องจากสารพิษคิลเลอร์นี้เป็นโปรตีนธรรมชาติที่ต่อต้านรา เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นพิษกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทนกรด (acid tolerance) และ

มีความเป็นไปได้น้อยที่จะทำให้เกิดความต้านทาน ดังนั้นสารพิษคิลเลออร์จึงได้ถูกเสนอเป็น ตัวควบคุมทางชีวภาพที่มีศักยภาพ อย่างไรก็ตามควรมีการประเมินผลของสารพิษคิลเลออร์ต่อ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์โดยเฉพาะที่ผิวของพืช ผลิตภัณฑ์ที่รับประทานได้ และในทางเดินอาหารของ คน (Corbaci and Ucar 2018; Liu et al. 2015; Marquina et al. 2001; Perez et al. 2016; Zhang et al. 2020) สารพิษคิลเลออร์ที่ผลิตจาก *W. anomalus* BS91 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์กลูคาเนส และ สัมพันธ์กับความสามารถในการควบคุมทางชีวภาพต่อ *B. cinerea*, *P. digitatum*, *P. italicum*, *Monilinia fructigena* และ *M. fructicola* (Aloui et al. 2015; Grzegorzczuk et al. 2017; Parafati et al. 2015; 2017b; Platania et al. 2012) สำหรับ *Pichia membranifaciens* พบว่าสร้างสารพิษคิลเลออร์ที่ สามารถควบคุม *B. cinerea* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราสีเทาขององุ่นได้ (Santos and Marquina 2004) นอกจากนี้ยังพบว่า *P. membranaefaciens* ผลิตสารพิษคิลเลออร์ 2 ชนิด ที่มีผลกับ 1-6 ปีตา- กลูแคน และแมนโนโปรตีนที่ผนังเซลล์ ดังนั้นจึงยับยั้งราโรคพืชได้ (Belda et al. 2017) ส่วน *Pseudozyma flocculosa* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพสร้างฟล็อกคูลอสิน (flocculosin) ซึ่งเป็น เซลโลไบโอสลิพิด (cellobiose lipid) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Mimee et al. 2005; Teichmann et al. 2011)

สารปฏิชีวนะ กลุ่มสารอินทรีย์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์จากเมแทบอลิซึมและมีผลในการยับยั้ง หรือฆ่าจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งเมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำ สารปฏิชีวนะเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จุลินทรีย์สร้างและปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (Pal and Gardener 2006; Tjamos et al. 2010) จุลินทรีย์ที่มีรายงานว่าสร้างสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่เป็น แบคทีเรียและราเส้นใย ส่วนยีสต์ยังไม่มีรายงานการสร้างสารปฏิชีวนะ สารปฏิชีวนะบางชนิด มีรายงานว่ากวดการเกิดโรคพืช โดยการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคพืชเหล่านั้นในหลอดทดลอง หรือในพืชหรือทั้ง 2 อย่าง เช่น เบซิลโลไมซิน ดี (bacillomycin D) ซึ่งเป็นลิพอเพปไทด์ (lipopeptide) ผลิตโดย *Bacillus subtilis* AU195 มีกิจกรรมการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *Aspergillus flavus* ที่ผลิตแอฟลา- ท็อกซิน (aflatoxin) (Moyne et al. 2001) และ ไมคอซบติลิน (mycosubtilin) ผลิตโดย *Bacillus subtilis* BBG100 สามารถควบคุมทางชีวภาพโรคเน่าคอดิน (damping-off) ของต้นกล้ามะเขือเทศ ที่มีสาเหตุ จาก *Pythium aphanidermatum* (Leclere et al. 2005)

ภาวะปรสิต (Parasitism)

ภาวะปรสิตคือปฏิสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต 2 ชนิดซึ่งสิ่งมีชีวิตได้รับสารอาหารจาก สิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ถ้าตัวให้อาศัย (host) เป็นปรสิตเช่นกัน เช่น โรคพืช ปฏิสัมพันธ์นั้นเรียกว่า ไฮเปอร์พาราซิซึม (hyperparasitism) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิดเป็นปรสิตของเชื้อก่อโรคพืชซึ่งถือ

ว่าเป็นปรสิตของพืช จุลินทรีย์ปรสิตเหล่านี้เรียกว่า ไฮเปอร์พาราไซต์ (hyperparasite) ปฏิสัมพันธ์แบบนี้มักพบระหว่างรา ส่วนในแบบที่เรียกรายงานน้อย ส่วนราที่เป็นปรสิตของราชนิดอื่น เรียกว่า ไมโคพาราไซต์ (mycoparasite) และปฏิสัมพันธ์นี้ เรียกว่า ไมโคพาราซิทิซึม (mycoparasitism) หรือ ฟังจิวอรี (fungivory) หรือไมโคฟาจี (mycophagy) ไมโคพาราไซต์หลายชนิดมีรายงานว่ามีความสำคัญในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากรา โดยในปฏิสัมพันธ์ไมโคพาราซิทิซึม ไมโคพาราไซต์ซึ่งอาศัยราที่มีชีวิตจะได้รับสารอาหารจากเซลล์รา มักเป็นปฏิสัมพันธ์ที่จำเพาะกับสปีชีส์ (species-specific interaction) และเป็นองค์ประกอบสำคัญในการลดการเกิดโรคในระบบนิเวศ แต่แทบจะไม่มีการใช้ประโยชน์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพเสริมในเชิงพาณิชย์ เพราะว่าการผลิตไฮเปอร์พาราไซต์ปริมาณมากต้องใช้เส้นใยราให้อาศัยเป็นซบสเตรต ส่วนไมโคพาราไซต์ซึ่งได้สารอาหารจากเซลล์ให้อาศัยที่ตายแล้วและจากสารอินทรีย์ ทำให้ผลิตปริมาณมากได้โดยใช้อาหารสังเคราะห์เหมาะสำหรับการใช้ในเชิงพาณิชย์มากกว่า กลไกหลักของภาวะปรสิต คือ การสร้างและหลั่ง เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ ในบางกรณีร่วมกับการสร้างและปลดปล่อยสารทุติยภูมิเมื่ออยู่ใกล้กับเซลล์ให้อาศัยส่งผลให้ผนังเซลล์เปิด สำหรับยีสต์ปรสิตได้อาหารจากรากโรคโดยเฉพาะในกรณีที่ขาดสารอาหาร ยีสต์จะเกาะกับเส้นใยราและหลั่งเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เพื่อทำลายหรือสลายโครงสร้างของราซึ่งส่งผลให้ราตาย เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยผนังเซลล์มีหลายชนิดโดยเฉพาะบีตา-1,3-กลูคาเนส ไคทิเนส และโปรทีเอส และการหลั่งเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญในการควบคุมทางชีวภาพ (Spadaro and Drobny 2016; Di Francesco et al. 2016; Freimoser et al. 2019; Köhl et al. 2019)

ไมโคพาราซิทิซึมที่พบในยีสต์มีการศึกษาน้อย เช่น *M. guilliermondii* พบว่าเกาะติดกับเส้นใยของราโรคพืช *B. cinerea* และทำให้เส้นใยเสียหาย ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากการสร้างและหลั่งเอนไซม์ เช่น กลูคาเนส ออกมาทำลายผนังเซลล์รา นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าทั้ง *Pichia membranefaciens* และ *Cryptococcus albidus* เกาะติดและสลายเส้นใยของรา *P. expansum*, *M. fructicola* และ *R. stolonifer* (Chan et al. 2005; Wisniewski et al. 1991; Zhang et al. 2020) ส่วนราคล้ายยีสต์ *Pseudozyma aphidis* เป็นไมโคพาราไซต์ของรา *B. cinerea* (Calderon et al. 2019) และยีสต์สกุล *Saccharomycopsis* เช่น *Saccharomycopsis fodiens* ซึ่งมีการศึกษาเพื่อใช้ควบคุมโรคที่มีสาเหตุจากยีสต์ซึ่งเกิดกับมนุษย์ (Junker et al. 2017, 2018, 2019)

การเป็นปฏิปักษ์ทางอ้อม

การส่งเสริมการเติบโตของพืช

การส่งเสริมการเติบโตและความแข็งแรงของพืชนับเป็นกิจกรรมที่สำคัญของกลุ่มจุลินทรีย์ปฏิปักษ์รวมทั้งยีสต์ปฏิปักษ์ในการควบคุมทางชีวภาพ เพิ่มสารอาหารพืช เพิ่มความทนต่อความเค็มหรือทำให้พืชมีสุขภาพดีขึ้น ส่งเสริมให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคพืชโดยใช้หลักการเกี่ยวกับการใช้สารอาหารของพืช คือ หากพืชสามารถใช้สารอาหารได้เต็มศักยภาพ หรือเจริญอยู่ในสภาพที่เหมาะสมหรือสมบูรณ์จะทำให้พืชจะมีความแข็งแรง มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่เมื่ออยู่ร่วมกับพืชแล้วสามารถส่งเสริมการเติบโตของพืชได้ดี จุลินทรีย์เหล่านั้นอาจได้รับประโยชน์จากการอยู่อาศัยกับผิวพืชด้วย (Vacheron et al. 2013) จุลินทรีย์กลุ่มที่ส่งเสริมการใช้สารอาหารของพืช ได้แก่ จุลินทรีย์ที่สังเคราะห์ฮอร์โมนพืช เช่น กลุ่มออกซินชนิดกรดอินโดล-3-แอซีติก (indole-3-acetic acid, IAA) กลุ่มจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ไซโตไคนิน (cytokinin) เอทิลีน (ethylene) ฮอร์โมนพืชจะกระตุ้นการแบ่งเซลล์และขยายขนาดของเซลล์ทำให้พืชเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยีสต์บางชนิดสามารถละลายฟอสเฟต (phosphate solubilization) โดยสร้างเอนไซม์หรือกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดแลคติก (lactic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดคีโทกลูโคนิก (ketogluconic acid) กรดมาลิก (malic acid) กรดออกซาลิก (malic acid) กรดทาร์ทาริก (tartaric acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) ออกมาช่วยปลดปล่อยฟอสเฟตที่ตกตะกอนในดินทำให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ ยีสต์ที่ละลายฟอสเฟต เช่น *Torulaspora globosa* DMKU-RP31 (Nutaratat et al. 2014)

การแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่

การเจริญของเชื้อก่อโรคพืชขึ้นอยู่กับสารอาหาร บางชนิดใช้อาหารเฉพาะจากเซลล์ของพืชอาศัยโดยไม่ใช้อาหารจากแหล่งภายนอกเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมนอกพืชอาศัย เชื้อก่อโรคพืชชนิดนี้เรียกว่า เชื้อก่อโรคพืชชนิดไบโอโทรฟ (biotrophic plant pathogen) ในขณะที่เชื้อก่อโรคพืชส่วนใหญ่ได้อาหารจากวิธีที่จำเพาะน้อยกว่าโดยการย่อยสลายสารอินทรีย์จากพืช ซึ่งเรียกว่า เชื้อก่อโรคพืชชนิดนีโครโทรฟ (necrotrophic plant pathogen) โดยเชื้อก่อโรคฆ่าและตามด้วยการบุกรุกเนื้อเยื่อของพืชอาศัยและใช้สารอาหารที่มีในเยื่อที่ตายสำหรับการเจริญ เมื่อเนื้อเยื่อพืชตาย จุลินทรีย์อื่นที่ไม่ได้เป็นสาเหตุโรคสามารถเข้าไปอาศัยในเยื่อที่ตายแล้วนั้น ดังนั้นจึงเกิดการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์อื่นเพื่อสารอาหารและพื้นที่ขึ้นได้ (Köhl et al. 2019) ดังนั้นจุลินทรีย์ที่มีการแข่งขันสูงจึงเป็นตัวเลือกที่มีศักยภาพสำหรับการควบคุมทางชีวภาพที่ใช้กลไกการแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่ ในการควบคุมทางชีวภาพความรู้โดยละเอียดเกี่ยวกับระบาดวิทยา

เป็นสิ่งจำเป็นเพื่อระงับระยะที่การแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่จะมีส่งผลกระทบต่อการเจริญและพัฒนาของเชื้อก่อโรค สถานการณ์ทั่วไป คือ การมีสารอาหารอิสระที่แผลของผลไม้ซึ่งเหนี่ยวนำการติดเชื้อก่อโรค เนื้อเยื่อดอกไม้ที่อายุมากของ และเนื้อเยื่อตายที่เกิดจากเชื้อก่อโรค จุลินทรีย์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพต้องเข้าไปอยู่ในแหล่งที่อยู่ย่อย ๆ เหล่านี้เพื่อให้มีชีวิตรอดและใช้สารอาหารที่จำเป็นแก่การติดเชื้อก่อโรคอย่างรวดเร็ว เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรค (Köhl et al. 2019; Spadaro and Droby 2016)

กรณีการควบคุมโรคผลไม้หลังเก็บเกี่ยวที่มีสาเหตุจากราโดยยีสต์ปฏิปักษ์นั้น ทั้งเชื้อก่อโรคและยีสต์ต้องการสารอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน และพื้นที่เพื่อการเข้าไปอาศัยและเจริญ ดังนั้นการแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่จึงเป็นกลไกหลักซึ่งยีสต์ปฏิปักษ์ใช้ยับยั้งเชื้อก่อโรค เมื่อยีสต์ปฏิปักษ์เข้าไปที่ผิวของผลไม้ยีสต์จะเข้าไปอาศัยในแผลและใช้สารอาหารจนหมดลงอย่างรวดเร็ว จำกัดการงอกและการเจริญของราที่เป็นสาเหตุโรค หลังจากนั้นกลไกการควบคุมทางชีวภาพอื่นนอกเหนือจากการแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่จึงเกิดขึ้น (Zhang et al. 2020) การใช้กลไกการแข่งขันนี้การป้องกันแผลของผลไม้จากการเข้าบุกรุกของราก่อโรคนั้น อธิบายได้ว่าเนื่องจากยีสต์เป็นจุลินทรีย์เซลล์เดี่ยวที่สามารถเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วภายใต้ภาวะที่เหมาะสมในแผลของผลไม้ซึ่งมีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ ยีสต์นอกจากจะสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด เช่น ไดแซ็กคาไรด์ มอนแซ็กคาไรด์แล้ว ยังใช้แหล่งไนโตรเจนได้หลายชนิด ยีสต์ปฏิปักษ์โดยทั่วไปจะเจริญได้เร็วกว่าและครอบคลุมพื้นที่ได้ดีกว่ารา จึงสามารถใช้สารอาหารได้มากกว่าราโรคพืช ทำให้ราก่อโรคพืชไม่เจริญหรือเจริญได้น้อย โดยเฉพาะในภาวะที่มีสารอาหารจำกัด เมื่อเทียบระหว่างคาร์โบไฮเดรตและไนโตรเจน ไนโตรเจนถือว่าเป็นปัจจัยหลักที่จำกัดการเจริญของเชื้อก่อโรคผลไม้หลังเก็บเกี่ยวเพราะผลไม้มีน้ำตาลอุดมสมบูรณ์แต่มีไนโตรเจนจำกัด (Bautista-Rosales et al. 2014; Sharma et al. 2009; Spadaro et al. 2010; Zhang et al. 2020) การแข่งขันระหว่างยีสต์ปฏิปักษ์ *Pichia guilliermondii* และราก่อโรค เช่น *P. digitatum*, *P. expansum*, *B. cinerea*, *Colletotrichum* spp. ในแผลของผลไม้ชนิดต่าง ๆ และระหว่างราคล้ายยีสต์ *A. pullulans* และ *P. expansum* ในแผลของผลแอปเปิ้ลนั้น พบว่าบทบาทหลักของปฏิสัมพันธ์การเป็นปฏิปักษ์คือ การแข่งขันเพื่อคาร์โบไฮเดรตในแผลที่มีคาร์โบไฮเดรตอุดมสมบูรณ์ร่วมกับการแข่งขันเพื่อแหล่งไนโตรเจน เช่น กรดแอมิโน ที่มีปริมาณจำกัด (Köhl et al. 2019; Spadaro and Droby 2016) ยีสต์ปฏิปักษ์ที่ใช้กลไกการแข่งขันเพื่อสารอาหารในการควบคุมโรค เช่น *T. globosa* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของรา *Colletotrichum sublineolum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคในข้าวฟ่าง โดยการแข่งขันเพื่ออาหารและพื้นที่ (Rosa et al. 2010), *Rhodotorula mucilaginosa* ควบคุมราสีเทาและราสีน้ำเงิน ซึ่งเป็นสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยการแข่งขันเพื่ออาหารและพื้นที่กับเชื้อก่อโรค (Li et al. 2011)

นอกจากสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน และออกซิเจนแล้ว เหล็กเป็นธาตุอาหารที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งสำหรับของจุลินทรีย์รวมทั้งมีบทบาทสำคัญในความรุนแรงของเชื้อก่อโรค ในเซลล์รวมทั้งยีสต์เหล็กเป็นองค์ประกอบของไซโทโครมและโปรตีนหลายชนิดทั้งฮีโมโปรตีน (heme protein) และโปรตีนที่ไม่ใช่ฮีโมโปรตีน (Dukare et al. 2018) การแข่งขันเพื่อธาตุเหล็กเป็นกลไกที่สำคัญของยีสต์ปฏิปักษ์บางชนิดที่ใช้สำหรับการควบคุมทางชีวภาพ (Spadaro and Droby 2016; Zhang et al. 2020) โดยทั่วไปในภาวะปกติเหล็กจะอยู่ในรูปของเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ $[Fe(OH)_3]$ หรือเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) ซึ่งเป็นรูปที่ละลายได้น้อยทำให้จุลินทรีย์นำไปใช้ภายในเซลล์เพื่อการเจริญได้น้อย จึงจัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่จำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงต้องอาศัยสารที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันเพื่อเปลี่ยนรูปของเหล็กให้เป็นเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ซึ่งละลายได้มากขึ้น (Philpott and Protchenko 2008) สารดังกล่าวคือ ซิเดอโรฟออร์ (siderophore) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลต่ำ มีความชอบเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) เพราะมีโครงสร้างที่จำเพาะ จุลินทรีย์หลายชนิดรวมทั้งยีสต์สามารถสร้างซิเดอโรฟออร์ สายพันธุ์ที่สร้างซิเดอโรฟออร์ได้ดีมีบทบาทสำคัญในการกดการเกิดโรค (disease suppression) และสามารถเลือกมาใช้ในการควบคุมทางชีวภาพโดยการแข่งขันกับเชื้อก่อโรคเพื่อธาตุเหล็ก ยีสต์ปฏิปักษ์หลายสายพันธุ์สามารถสร้างซิเดอโรฟออร์ทำให้นำธาตุเหล็กเข้าไปภายในเซลล์ได้ดี ส่งผลให้เจริญได้ดีกว่าราก่อโรคที่ไม่สร้างซิเดอโรฟออร์ โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในภาวะที่มีธาตุเหล็กน้อย (Braun and Braun 2002) ยีสต์ปฏิปักษ์ส่วนใหญ่จะผลิตสารซิเดอโร-โรฟออร์ประเภท ไฮดรอกซามาต (hydroxamate) ที่มีความเสถียรสูงมาก เมื่อจับกับเหล็กแล้วจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีความแข็งแรง จึงทำให้ยีสต์ปฏิปักษ์สามารถนำเหล็กเข้าไปใช้ภายในเซลล์ได้ดีกว่าราก่อโรค ดังนั้นกลไกการแข่งขันเพื่ออาหารที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง คือ การผลิตซิเดอโรฟออร์ ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่จุลินทรีย์ผลิตเมื่ออยู่ในภาวะที่ไม่มีธาตุเหล็กหรือมีในปริมาณต่ำมาก ซิเดอโรฟออร์จะไปจับกับธาตุเหล็กที่อยู่บริเวณรอบ ๆ รากพืชทำให้จุลินทรีย์อื่นไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ จากการขาดธาตุเหล็กทำให้รากพืชไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ ซิเดอโรฟออร์มีโครงสร้างทางเคมีไม่น้อยกว่า 200 โครงสร้างซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิต แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ ไฮดรอกซามาต หรือไทโอไฮดรอกซามาต (thiohydroxamate) คาทีโคเลต (catecholate) หรือฟีนอล (phenolate) และคาร์บอกซิเลต (carboxylate) ยีสต์ *M. pulcherrima* สร้างกรดพุลเชอร์ริมิค (pulcherriminic acid) ซึ่งทำหน้าที่จับเหล็ก เมื่อจับกับเหล็กเปลี่ยนเป็นรงควัตถุพุลเชอร์ริมิน (pulcherrimin) ซึ่งมีสีแดงทำให้โคโลนีของเชื้อเป็นสีแดง การขาดธาตุเหล็กลดการเจริญของราก่อโรคพืช เช่น *B. cinerea*, *Alternaria alternat*, *P. expansum* อย่างรุนแรง โดยพบว่าสายพันธุ์กลายของ *M. pulcherrima* ซึ่งไม่มีสีมีกิจกรรมต่อต้านราลดลง และการแข่งขันเพื่อธาตุเหล็กนี้เป็นกลไกหนึ่งในหลายกลไกของยีสต์ที่เป็นปฏิปักษ์กับราโรคพืช อย่างไรก็ตาม

ตามสายพันธุ์ที่ขาดความสามารถในการสังเคราะห์กรดพุลเชอร์ริมิโนยังคงยับยั้งราเส้นใยอย่างรุนแรง แสดงว่ากิจกรรมการต่อต้านราไม่ได้เกิดเพราะการแข่งขันเพื่อธาตุเหล็กเท่านั้น (Gore-Lloyd et al. 2019; Parafati et al. 2015; Köhl et al. 2019) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *Rhodotorula glutinis* ผลิตกรดโรโดทอริลิก (rhodotorulic acid) ซึ่งเป็นไฮดรอกซิมेटาไซเคอโรฟอรัสซึ่งเพิ่มการควบคุม *P. expansum* (Calvente et al. 1999)

นอกจากนั้นการแข่งขันเพื่อซัลเฟอร์มีรายงานว่า เป็นกลไกการเป็นปฏิปักษ์ของยีสต์เมื่อเร็ว ๆ นี้ โดยมีรายงานว่ายีสต์ *Saccharomycopsis schoenii* ขาดองค์ประกอบหลายองค์ประกอบในวิธีการใช้ซัลเฟอร์ (sulfur assimilation) ดังนั้นจึงต้องใช้เมไทโอนีนจากสิ่งมีชีวิตอื่น ส่วนราโรคพืช *Trichoderma* spp. มีความต้องการแบบเดียวกัน คือ ใช้เมไทโอนีนจากภายนอกเพราะสร้างเองไม่ได้ ทำให้เมไทโอนีนจึงเป็นเป้าหมายที่ทำให้เกิดการแข่งขันสูงเพื่อสารอาหาร ดังนั้นจึงสามารถใช้ *Sac. schoenii* เป็นยีสต์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจาก *Trichoderma* spp. ได้ (Junker et al. 2019; Freimoser et al. 2019) สำหรับการแข่งขันเพื่อพื้นที่สำหรับการเจริญ การสร้างไบโอฟิล์มของยีสต์ปฏิปักษ์จัดว่าเป็นกลยุทธ์ที่จำเพาะและประสบความสำเร็จสูงในการแข่งขันเพื่อพื้นที่ โดยไบโอฟิล์มเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและเจริญบนพื้นผิวของสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตและมีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ไบโอฟิล์มอาจจะประกอบด้วยกลุ่มของจุลินทรีย์สปีชีส์เดียวหรือหลายสปีชีส์ และอาจประกอบด้วยสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ไบโอฟิล์มมีสมบัติที่แตกต่างจากเซลล์อิสระมากและจัดว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความรุนแรงของจุลินทรีย์ก่อโรค แต่การสร้างไบโอฟิล์มบนผิวของพืชช่วยปกป้องพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคได้เช่นกัน (Annous et al. 2009; Costa-Orlandi et al. 2017; Desai et al. 2014; Freimoser et al. 2019; Zhang et al. 2020) มีรายงานหลายฉบับที่สรุปว่ายีสต์ปฏิปักษ์ซึ่งมีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มได้ เจริญได้ดีกว่าราก่อโรค และสามารถควบคุมและยับยั้งการเจริญของราได้เช่นกัน สำหรับการแข่งขันเพื่อพื้นที่นี้เมื่อทำการทดลองบนอาหารแข็งในจานเพาะเชื้อดูเหมือนจะมีบทบาทเล็กน้อยในการจำกัดพื้นที่ แม้ว่ายีสต์ส่วนใหญ่เจริญดีบนอาหารแข็งในจานเพาะเชื้อแต่กิจกรรมการต่อต้านราจะมีความแตกต่างกันมาก นอกจากนี้ดูเหมือนว่าไม่มีการยับยั้งแบบจำเพาะกับสปีชีส์ (species-specific inhibition) และยีสต์ชนิดหนึ่งอาจเป็นปฏิปักษ์ต่อราส่วนใหญ่อย่างรุนแรงหรืออย่างอ่อน ๆ (Hilber-Bodmer et al. 2017) การสร้างไบโอฟิล์มเกิดจากการตอบสนองต่อปัจจัยต่าง ๆ รวมถึงการจดจำของเซลล์ที่จำเพาะหรือไม่จำเพาะ เมื่อเซลล์อยู่ในภาวะการสร้างไบโอฟิล์มเซลล์จะอยู่ในภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ พฤติกรรมของเซลล์จะเปลี่ยนไปเพื่อการอยู่รอด การสร้างเป็นไบโอฟิล์มเริ่มต้นจากการสัมผัสของจุลินทรีย์อิสระกับพื้นผิว ในขั้นแรกจุลินทรีย์จะการยึดติดกับพื้นผิวด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ ซึ่งอาจจะหลุดออกจากพื้นผิวได้ทันทีเนื่องจากความไม่เสถียร ในทางตรงกันข้าม

จุลินทรีย์สามารถยึดเกาะได้ดีด้วยโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์เอง เช่น พิลไล (pilli) จุลินทรีย์บางชนิดไม่ได้จับกับพื้นผิวโดยตรงแต่เกาะกลุ่มกันและอาศัยสารที่เซลล์สร้างขึ้นในการจับกับพื้นผิว การรวมกลุ่มกันของจุลินทรีย์จะใช้ควอรัมเซนซิง (quorum sensing) ซึ่งเป็นโปรตีนขนาดเล็กที่เซลล์สร้างขึ้น นอกจากนี้พอลิแซ็กคาไรด์ที่เซลล์สร้างขึ้นอาจประกอบไปด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการอยู่รอดของเซลล์ในธรรมชาติ เช่น แร่ธาตุ หรือเซลล์ในกลุ่มที่อยู่ในไบโอฟิล์มอาจเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์ให้อยู่รอดได้ในภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ (Annous et al. 2009) สำหรับการสร้างไบโอฟิล์มของยีสต์เริ่มจากการยึดติดของเซลล์แต่ละเซลล์กับพื้นผิวและมักร่วมด้วยการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ การหลั่งเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) และการสร้างเส้นใยแท้ (true hypha) หรือเส้นใยเทียม (pseudohypha) (Cavalheiro and Teixeira 2018; Costa-Orlandi et al. 2017) ในยีสต์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพการสร้างไบโอฟิล์มส่วนใหญ่ที่แพร่ในผิวด้านนอกเหนือพื้นดินของพืชที่เรียกว่า ฟิโลสเฟียร์ (phyllosphere) และคาร์โพสเฟียร์ (carposphere) จัดเป็นกลไกสำคัญและมีการศึกษามาก แต่การศึกษาระดับโมเลกุลของกระบวนการและองค์ประกอบของไบโอฟิล์มต่าง ๆ เช่น การเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (cell differentiation) และไบโอฟิล์มหลายชนิด (multispecies biofilm) มีการศึกษารายละเอียดเพียงใน *Pichia fermentans* เท่านั้น โดยพบว่าการสร้างไบโอฟิล์มที่แพร่ของผลแอปเปิ้ลช่วยป้องกันโรคหลังเก็บเกี่ยว ในขณะที่บนผลท้อที่ไม่มีเชื้อก่อโรค *P. fermentans* จะเปลี่ยนจากเซลล์แบบยีสต์ไปเป็นการเจริญแบบเป็นเส้นใยและทำให้เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วของผลที่มีการเพาะยีสต์นี้ (Fiori et al. 2012; Maserti et al. 2015; Sanna et al. 2013) นอกจากนี้การสร้างไบโอฟิล์มยังเกี่ยวข้องกับการควบคุมทางชีวภาพ ของ *A. pullulans*, *Kloeckera apiculata*, *M. pulcherrima*, *W. anomalus*, *S. cerevisiae* และ *Pichia kudriavzevii* (Chi et al. 2015; Klein and Kupper 2018; Ortu et al. 2005; Pu et al. 2014; Wachowska et al. 2016) สำหรับ *S. cerevisiae* flor strain เซลล์ในไบโอฟิล์มมีประสิทธิภาพมากกว่าเซลล์อิสระในการเข้าไปเจริญในผิวด้านในของผลบนผลแอปเปิ้ล และสามารถควบคุมการเกิดโรคราสีน้ำเงินที่มีสาเหตุจาก *P. expansum* (Ortu et al. 2005; Scherm et al. 2003) ส่วน *Papiliotrema* (ชื่อเดิม *Cryptococcus*) *laurentii* ซึ่งสามารถสร้างไบโอฟิล์มและยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนสที่มีสาเหตุจาก *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงได้ (Bautista-Rosales et al. 2014) ในขณะที่ *Papiliotrema aspenensis* DMKU-SP67 ซึ่งลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสที่มีสาเหตุจาก *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว ได้ถึง 94.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเทียบได้กับการใช้เบนโนมิล (benomyl) ที่ลดการเกิดโรคได้ 93.9 เปอร์เซ็นต์ และ *T. indica* DMKU-RP35 ซึ่งลดการเกิดโรคข้าวผลเน่าที่มีสาเหตุจาก *Lasiodiplodia theobromae* บนผลมะม่วงหลังเก็บเกี่ยวได้ 82.4 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เบนโนมิลลดการเกิดโรคเดียวกันนี้ได้ 87.5 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบในหลอดทดสอบพบว่ายีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างไบโอฟิล์มได้ (Konsue et

al. 2020) ส่วนยีสต์ปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ที่ใช้ควบคุมโรคกล้าข้าวเน่าที่เกิดจากรา คือ *T. indica* DMKU-RP31 และ *W. anomalus* YE-42 ซึ่งควบคุมโรคกล้าข้าวเน่าที่มีสาเหตุจาก *C. lunata* และ *H. oryzae* ได้สมบูรณ์ และ *W. anomalus* DMKU-RP04 ซึ่งควบคุมโรคกล้าข้าวเน่าที่มีสาเหตุจาก *H. oryzae* ได้สมบูรณ์ พบว่าสร้างไบโอฟิล์มได้เช่นกัน (Limtong et al. 2020) และ *W. anomalus* DMKU-RP25 ซึ่งสามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวซึ่งมีสาเหตุจาก *R. solani* ได้เมื่อทดลองกับต้นข้าวในเรือนกระจก และมีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มเมื่อทดลองในหลอดทดลอง (Into et al. 2020)

การเหนี่ยวนำความต้านทานของพืช

พืชสามารถเหนี่ยวนำให้ต้านทานโรคเพิ่มขึ้นได้โดยสิ่งเหนี่ยวนำทางชีวภาพ ซึ่งอาจเป็นสิ่งเหนี่ยวนำที่มีชีวิต เช่น เชื้อก่อโรค และสิ่งเหนี่ยวนำที่ไม่มีชีวิต เช่น ไอออนของโลหะหนัก ได้แก่ คอปเปอร์ ในธรรมชาติพืชมีวิธีการป้องกันตนเองจากจุลินทรีย์ที่มารุกราน โดยอาจใช้การสร้างโครงสร้างป้องกัน (structural defense) เช่น การสร้างแว็กซ์หรือคิวตินเคลือบผิวใบด้านนอก และการป้องกันทางชีวเคมี (biochemical defense) เช่น การปล่อยสารไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ รวมทั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่สัมพันธ์กับพยาธิกำเนิด (pathogenesis-related proteins; PRs) หลายชนิด (van Loon et al. 2006)

พืชมีระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (innate immune system) ที่จดจำและตอบสนองต่อจุลินทรีย์ที่ปรากฏบนพืช (Chisholm et al. 2006) การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของพืชสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความต้านทานที่เป็นระบบ (systemic resistance) การเหนี่ยวนำให้เกิดความต้านทานที่เป็นระบบนี้ เป็นแนวทางให้ใช้จุลินทรีย์เป็นปุ๋ยและสารเสริมการเจริญพืช (Gozzo and Faoro 2013; Pieterse et al. 2014) โดยความต้านทานที่เป็นระบบของพืช แบ่งเป็น 2 แบบ คือ 1) ความต้านทานที่เป็นระบบซึ่งเกิดตามธรรมชาติ (systemic acquired resistance, SAR) เป็นความต้านทานของพืชเมื่อเกิดการติดเชื้อก่อโรคเฉพาะที่ และมีกรดซาลิไซลิก (salicylic acid, SA) เป็นสื่อ สารประกอบที่มักสร้างหลังจากการติดเชื้อก่อโรค คือ โปรตีนที่สัมพันธ์กับการเกิดโรค (pathogenesis-related proteins, PR) โปรตีนที่สัมพันธ์กับการเกิดโรค รวมทั้งเอนไซม์หลายชนิดอาจทำให้เซลล์ที่บุกรุกสลายโดยตรง เสริมสร้างขอบเขตผนังเซลล์พืชเพื่อต่อต้านการติดเชื้อก่อโรค หรือทำให้เกิดการตายของเซลล์เฉพาะที่ SAR อาจเหนี่ยวนำโดยการเพาะพืชด้วยเชื้อก่อโรคที่ตายแล้วหรือเชื้อที่ไม่ได้เป็นเชื้อก่อโรค หรือสารประกอบจากธรรมชาติ หรือสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้น 2) ความต้านทานที่เป็นระบบซึ่งเกิดจากการเหนี่ยวนำ (induced systemic resistance, ISR) จุลินทรีย์ดินที่เข้าไปอาศัยที่

รากและเป็นประโยชน์ต่อการเติบโตของพืช และสามารถเหนี่ยวนำความต้านทานในส่วนของใบด้วยกรณีแบบนี้ คือ ISR (Pal and Gardener 2006)

การเหนี่ยวนำความต้านทานของตัวให้อาศัยเป็นกลไกหนึ่งในกลไกหลักของยีสต์ปฏิปักษ์สำหรับการควบคุมโรคที่เกิดกับผลไม้หลังเก็บเกี่ยวและมีการศึกษามาก มีรายงานว่ายีสต์ปฏิปักษ์ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นชีวภาพเมื่อมีปฏิสัมพันธ์กับผลไม้ที่เป็นตัวให้อาศัย (biological elicitor) การใช้ยีสต์ปฏิปักษ์สามารถเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกัน (defense-related gene) และเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกัน (defense-related enzyme) เช่น บีตา-1,3-กลูคาเนส โคทิเนส เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme) เช่น เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) คาทาเลส (catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (phenylalanineammonialyase) และกิจกรรมนี้เกี่ยวข้องกับการควบคุมทางชีวภาพ (Zhang et al. 2020)

ยีสต์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพสามารถทำให้พืชเกิดความต้านทานที่เป็นระบบต่อต้านเชื้อก่อโรคได้กว้างขวาง (Barda et al. 2015; Lee et al. 2017) *S. cerevisiae*, *Rhodosporidium paludigenum*, *Candida saitoana*, *C. oleophila* และ *Metschnikowia* spp. เหนี่ยวนำการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดและในที่สุดเป็นผลให้เกิดความต้านทานเชื้อก่อโรคที่ผิวของผลไม้ (Angelini et al. 2019; Freimoser et al. 2019; Hadwiger et al. 2015; Hershkovitz et al. 2012) การเหนี่ยวนำการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกัน และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันโดย *W. anomalus* พบว่าเป็นกลไกหลักกลไกหนึ่งในการยับยั้งการเน่าเปื่อยจากราสีน้ำเงิน (blue mold decay) ที่มีสาเหตุจาก *P. expansum* ในสาลี (Zhang et al. 2019) การใช้ยีสต์ปฏิปักษ์สามารถเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งอาจลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ที่ตัวให้อาศัยสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองเมื่อมีการติดเชื้อ (Zhang et al. 2020) มีรายงานว่า *P. membranaefaciens* มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ทั้งเพอร์ออกซิเดส คาทาเลส กลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และพอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ในผลท้อ และผลเชอร์รี่ที่เพาะด้วย *P. expansum* (Chan et al. 2006; 2007) กลไกหลายกลไกอาจเกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำความต้านทานโดยยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น *P. laurentii*, *R. paludigenum* เหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมทั้งของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันโดย และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในผลไม้ (Lai et al. 2018; Lu et al. 2013a, b) นอกจากนี้ องค์ประกอบของเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้วกระตุ้นความต้านทานที่เป็นระบบได้เช่นกัน (Angelini et al. 2019; Sun et al. 2018) นอกจากนี้ทั้งเชื้อก่อโรคและภาวะแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการเหนี่ยวนำความต้านทานโดยยีสต์ (Zhang et al. 2020)

ยีสต์ปฏิปักษ์ที่เหี่ยวนำความต้านทานของพืช เช่น Macarisin et al. (2010) พบว่าใน *C. oleophila* การเหี่ยวนำความต้านทานที่เป็นระบบเกิดจากการสร้างอนุมูลอิสระในพืชปริมาณมาก Luo et al. (2012) รายงานว่าการเกิดโรคและขนาดแผลบนผลส้มลดลง เมื่อเพาะยีสต์ *P. membranaefaciens* หรือแช่ผลส้มในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ชนิดนี้ โดยพบว่ามีสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid compound) เพอร์ออกซิเดส พอลิฟีนอลออกซิเดส ฟีนอลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส โคทิเนส และบีตา-1,3-กลูคาเนสเพิ่มขึ้น Lu et al. (2013a, b) รายงานความสามารถในการกระตุ้นความต้านทานของผลส้มแมนดารินโดย *R. paludigenum* จากการสร้างเอนไซม์หลายชนิด เช่น บีตา-1,3-กลูคาเนส ฟีนอลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส เพอร์ออกซิเดส ออกมาทำลายรา *Penicillium digitatum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคได้ เช่นเดียวกับยีสต์ปฏิปักษ์ *P. membranifaciens* ซึ่งสามารถกระตุ้นให้ผลส้มต้านทานโรคโดยการสร้างเอนไซม์ที่กล่าวมาข้างต้น (Cao et al. 2010) ส่วน Xu et al. (2013) ประเมินความสามารถของ *Mey. caribbica* ในการต่อต้าน *Rhizopus stolonifera* บนผลส้มโดยการวัดกิจกรรมของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส คาทาเลส และฟีนอลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส พบว่าเอนไซม์เหล่านี้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับผลส้มควบคุม

ข้อจำกัดในการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์

ยีสต์ที่มีสมบัติต่อต้านรามีการศึกษามานานกว่า 2 ทศวรรษ แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อต้านราในเชิงพาณิชย์ ยีสต์ปฏิปักษ์ที่ใช้ควบคุมทางชีวภาพที่รายงานในผลงานตีพิมพ์ในวารสาร และผลิตภัณฑ์ยีสต์ที่ใช้ในการควบคุมทางชีวภาพที่มีการจดทะเบียนและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ มีความแตกต่างกันมาก เนื่องจากความจริงที่ว่านอกเหนือจากต้องมีประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพที่ดีมากแล้ว สำหรับการใช้ในเชิงพาณิชย์จำเป็นต้องมีสิ่งอื่น ๆ ประกอบ ปัจจัยหลายอย่างจำกัดการพัฒนาและการใช้เชิงพาณิชย์ของยีสต์ปฏิปักษ์ เช่น การขาดความเข้าใจด้านกลไก อุปสรรคและค่าใช้จ่ายในการจดทะเบียน การขาดคู่แข่งหรือกลุ่มที่มีความเชี่ยวชาญที่จำเป็น ศักยภาพทางการค้าที่น้อย รวมทั้งเทคโนโลยีที่ยังไม่ได้พัฒนาอย่างเต็มที่ต้นทุนการพัฒนาสูง ตลาดสำหรับพืชและผลไม้หลังเก็บเกี่ยวมีขนาดเล็ก การยอมรับของตลาดต่า นอกจากนั้นการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพของโรคหลังเก็บเกี่ยวเป็นอุตสาหกรรมเกิดใหม่ การวิจัยเกี่ยวกับยีสต์ปฏิปักษ์ยังไม่พอเพียง แม้ว่ากลไกการควบคุมทางชีวภาพของยีสต์ปฏิปักษ์มีการรายงานมาก แต่กลไกที่จำเพาะจำเป็นต้องทำให้มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น (Droby 2006; Droby et al. 2009; Freimoser et al. 2019; Zhang et al. 2020) ความปลอดภัยทางชีวภาพเป็นเหตุผลสำคัญสำหรับการใช้ยีสต์ปฏิปักษ์แทนสารเคมีฆ่ารา ยีสต์ปฏิปักษ์ส่วนใหญ่ที่

ใช้ส่วนใหญ่แยกจากผิวผลไม้ และคนได้สัมผัสกับยีสต์เหล่านี้เมื่อรับประทานผลไม้สดและผักสดในชีวิตประจำวันอยู่แล้ว ดังนั้นจึงน่าจะมีความกังวลน้อยเกี่ยวกับความปลอดภัย อย่างไรก็ตามยีสต์บางชนิดอาจจะเป็นสาเหตุของการเกิดโรคในบางภาวะ (Droby 2006; Opulente et al. 2019; Zhang et al. 2020) ดังนั้นความปลอดภัยทางชีวภาพของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ รวมทั้งการระคายเคืองต่อผิวหนังและการบริโภคจำเป็นต้องมีการประเมินอย่างเต็มที่ การจดทะเบียนยังเป็นอุปสรรคต่อการค้าในยีสต์ปฏิสัมพันธ์หลายชนิด ตัวควบคุมทางชีวภาพต้องได้รับการอนุมัติจากหน่วยงานกำกับดูแลที่เกี่ยวข้องก่อนการนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีฆ่าราการจดทะเบียนมีราคาต่ำกว่าและใช้เวลาน้อยกว่าแต่ยังคงเป็นปัจจัยที่ต้องพิจารณาในการพัฒนา การจดทะเบียนของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ต้องมีรายงานการประเมินความปลอดภัยที่ได้รับการรับรองและประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพที่ได้รับการรับรอง นอกจากนี้ความยากของการจดทะเบียนแตกต่างกันในแต่ละประเทศในแต่ละภูมิภาค สำหรับสหรัฐอเมริกาการจดทะเบียนของตัวควบคุมทางชีวภาพใช้เวลาเฉลี่ย 2 ปี ในขณะที่ในสหภาพยุโรปใช้เวลาประมาณ 7 ปี (Nunes 2012) ส่วนในสาธารณรัฐประชาชนจีน ด้วยแรงจูงใจจากรัฐบาลใช้เวลาประมาณ 2-3 ปี เมื่อเทียบกับสารเคมีฆ่ารา ยีสต์ปฏิสัมพันธ์ยังจำเป็นต้องปรับปรุงในหลายด้านที่จำกัดการนำไปสู่การค้าและการยอมรับของตลาด ยีสต์ปฏิสัมพันธ์มีราคาแพงกว่าสารเคมีฆ่าราและการใช้ไม่สะดวก สำหรับตัวควบคุมทางชีวภาพในอุดมคติสำหรับโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลไม้และผักต้องมีประสิทธิภาพสูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ (Sharma et al. 2009) อย่างไรก็ตามจากรายงานวิจัยจนถึง ค.ศ. 2020 แสดงว่าการใช้ยีสต์ปฏิสัมพันธ์อย่างเดียวไม่สามารถควบคุมได้ดีเท่ากับการใช้สารเคมีฆ่ารา นอกจากนี้ประสิทธิภาพการควบคุมของยีสต์ปฏิสัมพันธ์ในโรคหลังเก็บเกี่ยวขึ้นอยู่กับกิจกรรมและความสามารถในการเพิ่มจำนวนของยีสต์ ทำให้มีปัญหาก็เกี่ยวข้องกับการใช้ยีสต์ปฏิสัมพันธ์หลายชนิด เช่น กิจกรรมการต่อต้านราไม่คงที่ อายุการเก็บรักษาสั้น เงื่อนไขในการจัดเก็บที่เข้มงวด (Zhang et al. 2020)

การพัฒนาสูตรของตัวควบคุมทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ

โดยทั่วไปสูตรของผลิตภัณฑ์ควบคุมทางชีวภาพประกอบด้วยจุลินทรีย์ปฏิสัมพันธ์เป็นตัวออกฤทธิ์ วัสดุ พาหะ และตัวเสริม (adjuvant) ในรูปของสารอาหารและสารประกอบที่เพิ่มการอยู่รอดของจุลินทรีย์ปฏิสัมพันธ์ และเพื่อส่งเสริมการป้องกันจุลินทรีย์ปฏิสัมพันธ์จากภาวะความเค้นจากสิ่งแวดล้อม (Droby et al. 2016) สูตรของผลิตภัณฑ์ควบคุมทางชีวภาพควรเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดเพื่อที่จะประสบความสำเร็จในเชิงพาณิชย์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่หลากหลาย ประกอบด้วย (1) การปรับปรุงและการเพิ่มประสิทธิภาพของการควบคุมทางชีวภาพในเชิงพาณิชย์ (2) การเก็บรักษาประชากรเซลล์ที่มีชีวิตในสูตร (3) การยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อย่างน้อย 6

สปีดาร์ และ (4) ความเข้ากันได้ของผลิตภัณฑ์กับวิธีการและอุปกรณ์การใช้งานอื่น ๆ ที่มีอยู่ (Dukare et al. 2018) ผลิตภัณฑ์ไม่ว่าจะเป็นผลิตภัณฑ์แบบแห้งและแบบที่เป็นของเหลวสามารถเตรียมให้มีความสามารถในการควบคุมทางชีวภาพที่สูงขึ้นและมีอายุการเก็บรักษาสูงสุดได้ (Melin et al. 2006) ผลิตภัณฑ์แบบแห้งอาจจะเตรียมในรูปของ ผุน ผง หรือเม็ดที่ทำให้เปียกได้ ในขณะที่ผลิตภัณฑ์แบบที่เป็นของเหลวอาจอยู่ในรูปของอิมัลชันของน้ำมัน น้ำ หรือน้ำมันผสมกับน้ำ ผลิตภัณฑ์แบบแห้งเก็บได้นานกว่า มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนต่ำกว่า และการเก็บ จัดส่ง รวมถึงจำหน่ายง่ายกว่า อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์แบบแห้งมีข้อเสีย คือ มีการตายของเซลล์สูงในระหว่างการขจัดน้ำ (dehydration) และการคืนน้ำ (rehydration) (Dukare et al. 2018; Li and Tian, 2006) มีรายงานว่าสูตรแบบที่เป็นของเหลวในสารละลายที่มีความดันออสโมซิสเท่ากับภายในเซลล์ (isotonic liquid formulation) ของ *C. sake* มีผลให้ควมมีชีวิตของเซลล์สูงสุดสูงกว่าสูตรแบบแห้ง โดย *C. sake* หลังจากการเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 7 เดือน เหลือเซลล์ที่มีชีวิต 77 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยง sorbitol-modified medium และเก็บในสารละลายทรีฮาโลส (trehalose) ที่มีความดันออสโมซิสเท่ากับภายในเซลล์ (Abadias et al. 2003) ด้วยหลักการแบบเดียวกัน มีการเตรียม *Rhodotorula minuta* สูตรแบบที่เป็นของเหลวโดยการเติมกลีเซอรอล (glycerol) และแซนแทนกัม (xanthan gum) เพื่อลดน้ำที่จุลินทรีย์จะใช้ได้และเพิ่มความหนืด อย่างไรก็ตามยังพบการสูญเสียควมมีชีวิตของเซลล์หลังจากการเก็บนาน 6 เดือน ที่ 4 องศาเซลเซียส (Patino-Vera et al. 2005)

การเติมสารป้องกันเข้าไปในทั้งสูตรแบบแห้งและสูตรแบบที่เป็นของเหลวมักจำเป็นเพื่อแก้ไขผลกระทบจากภาวะความเค้นในสิ่งแวดล้อมหลายอย่างที่ตัวควบคุมทางชีวภาพอาจพบในระหว่างการหมักขนาดใหญ่และการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ นอกจากนี้การเพิ่มความทนทานต่อความเค้นยังมีประโยชน์ในการเพิ่มทั้งควมมีชีวิตของเซลล์และการควบคุมทางชีวภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Dukare et al. 2018) เช่น การเติมทรีฮาโลส ความเข้มข้น 5–10 เปอร์เซ็นต์ลงในผลิตภัณฑ์แบบแห้งชนิดที่ได้จากการทำแห้งเยือกแข็ง (freeze-drying) ของ *P. laurentii* และ *R. glutinis* พบว่าควมมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมาก (Li et al. 2008) เช่นเดียวกันการแก้ไขความเสียหายจากความเค้นออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่มักเกิดในระหว่างการเก็บผลิตภัณฑ์แบบที่เป็นของเหลว อาจทำได้โดยการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เช่น กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) ซึ่งไม่เพียงแต่เพิ่มควมมีชีวิตของประชากรเซลล์ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แต่ยังเพิ่มอิทธิพลของน้ำตาลที่เป็นตัวป้องกัน (sugar protectant) ต่อควมมีชีวิตของเซลล์ เช่น ทรีฮาโลส กาแล็กโทส (Dukare et al. 2018; Liu et al. 2009)

การจดทะเบียนยีสต์ปฏิกรณ์เพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์

การใช้เชิงพาณิชย์ของยีสต์ปฏิกรณ์มีกระบวนการที่ใช้เวลานานและมีค่าใช้จ่ายสูง ต้องมีการทดสอบทางพิษวิทยาและประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพภายใต้เงื่อนไขทางการค้าอย่างกว้างขวาง ตัวอย่างยีสต์และราคล้ายยีสต์ที่นำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ใช้ในเชิงพาณิชย์ เช่น *C. oleophila*, *Cry. albidus*, *M. fructicola*, *S. cerevisiae*, *A. pullulans* (ราคล้ายยีสต์) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

Candida oleophila

C. oleophila เป็นยีสต์สปีชีส์แรกที่ได้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมทางชีวภาพในเชิงพาณิชย์ โดย *C. oleophila* สายพันธุ์ 1-182 ใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ควบคุมทางชีวภาพสำหรับโรคพืชที่ใช้ในเชิงพาณิชย์รุ่นแรก ชื่อ Aspire® โดยที่ Aspire® อยู่ในตลาดหลายปี แต่ขณะนี้ไม่มีการผลิตและจำหน่ายแล้ว เนื่องจากเหตุผลหลายอย่าง เช่น การทำการตลาดยาก ได้กำไรน้อย มีความไม่สม่ำเสมอ การมีประสิทธิภาพต่ำภายใต้เงื่อนไขในเชิงพาณิชย์ ต่อมา มีการผลิตผลิตภัณฑ์ Nexy® จาก *C. oleophila* สายพันธุ์ 0 โดย Nexy® เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดแรกที่จดทะเบียนสำหรับการควบคุมทางชีวภาพของโรคหลังเก็บเกี่ยวในผลไม้ที่มีผลแบบแอปเปิ้ล (pome) ส้ม และกล้วย ได้รับการอนุมัติจดทะเบียนในยุโรป ใน ค.ศ. 2012 (European Food Safety Authority (EFSA) 2012; Spadaro and Droby 2016; Freimoser et al. 2019; Wisniewski et al. 2016; Zhang et al. 2020)

Cryptococcus albidus

Cryp. albidus ใช้ในการผลิต YieldPlus® ที่เป็นผลิตภัณฑ์ยีสต์ปฏิกรณ์ที่ผลิตในเชิงพาณิชย์รุ่นแรก เช่นเดียวกับ Aspire® จดทะเบียนเมื่อ ค.ศ. 1997 และวางตลาดโดย Anchor Bio-Technologies ในสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ YieldPlus® อยู่ในตลาดมากกว่า 15 ปี แต่ปัจจุบันไม่มีในตลาดแล้วด้วยเหตุผลเช่นเดียวกับกรณีของ Aspire® (Spadaro and Droby 2016; Freimoser et al. 2019; Zhang et al. 2020) สำหรับ Yieldplus® พัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ควบคุม *B. cinerea* และ *P. expansum* ในผลไม้ที่มีผลแบบแอปเปิ้ล และส้ม และภายหลังแสดงประสิทธิภาพในการควบคุมที่ทำให้เกิดโรคกับผลสตรอเบอรี่หลังการเก็บเกี่ยวระหว่างการเก็บในที่เย็น (Kowalska et al. 2012) สำหรับกลไกการเป็นปฏิกรณ์หลักฐานส่วนใหญ่ชี้ไปที่การแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่ นอกจากนี้ยังอาจพบกลไกอื่น เช่น การสร้างเอนไซม์กลูคาเนส โคทิเนส และโปรทีเอส การสร้างสารอินทรีย์ระเหยง่าย อย่างไรก็ตามกลไกเหล่านี้ไม่เชื่อมโยงโดยตรงกับการยับยั้งโรคพืชที่เป็นเป้าหมาย (Freimoser et al. 2019)

Metschnikowia fructicola

ในบรรดาสปีชีส์ต่าง ๆ ของสกุล *Metschnikowia* นั้น *M. fructicola* และ *M. pulcherrima* มีการศึกษามากเกี่ยวกับการควบคุมทางชีวภาพและพบว่าสามารถยับยั้งโรคหลังการเก็บเกี่ยวและโรคเน่าของพืชได้หลากหลาย (Hilber–Bodmer et al. 2017; Parafati et al. 2015; Turkel et al. 2014) กิจกรรมต่อต้านราที่รุนแรงของยีสต์ *Metschnikowia* spp. เกี่ยวข้องกับกลไกหลายอย่างตั้งแต่การแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่ การสร้างและหลั่งเอนไซม์กลูคาเนสและโคทิเนส และการสร้างสารอินทรีย์ระเหยง่าย (Banani et al. 2015; Dhimi et al. 2016; Gore–Lloyd et al. 2019; Zajc et al. 2019; 2020) สำหรับผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาและจดทะเบียนจาก *M. fructicola* คือ Shemer® ผลิตจาก *M. fructicola* NRRL Y–30752 ซึ่งแยกในสาธารณรัฐอิสราเอลและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมทางชีวภาพสำหรับโรคพืชและโรคหลังเก็บเกี่ยวของผลไม้และผักหลายชนิด โดยเฉพาะมันเทศและแครอท Shemer® ผลิตโดย Bayer CropScience สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี และต่อมาขายใบอนุญาตสำหรับการผลิตให้ Koppert Biological Systems ประเทศเนเธอร์แลนด์ เพื่อเพิ่มการผลิตและจำหน่าย เมื่อไม่นานมานี้ Shemer® ได้จดทะเบียนเป็นสารควบคุมทางชีวภาพของราก่อโรคในผลไม้เมล็ดแข็ง (stone fruit) สตรอเบอรี่ และองุ่น โดย European Food Safety Authority (EFSA) (Blachinsky et al. 2007; Droby et al. 2016; Freimoser et al. 2019; Wisniewski and Droby 2012)

Saccharomyces cerevisiae

สำหรับ *S. cerevisiae* เป็นที่รู้กันดีว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแบบจำลองสำหรับการศึกษาชีววิทยาของเซลล์ การใช้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ และที่สำคัญที่สุดคือการใช้ในการผลิตอาหารและเครื่องดื่ม ส่วนที่สนใจในเรื่องการควบคุมทางชีวภาพอาจเป็นเพราะ *S. cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์ที่ปลอดภัยที่สามารถจดทะเบียนได้ง่าย เมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์ซึ่งแยกได้จากธรรมชาติ โดยมีรายงานว่า *S. cerevisiae* BY4741 มีกิจกรรมการต่อต้านราในระดับปานกลาง (Hilber–Bodmer et al. 2017) มี *S. cerevisiae* หลายสายพันธุ์ที่พบว่ายับยั้งการเจริญของราก่อโรคพืช เช่น *Aspergillus carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, *Fusarium graminearum* และยังยับยั้งการผลิตสารพิษที่ผลิตจากราเหล่านี้ด้วย เช่น แอฟลาท็อกซิน (aflatoxin) โอคราท็อกซิน เอ (ochratoxin A) ซีราลีโนน (zearalenone) ดีออกซินิวาลีนอล (deoxynivalenol) กิจกรรมกำจัดสารพิษจากรากเกิดจากการดูดซับ (adsorption) กับผนังเซลล์ของ *S. cerevisiae* การตอบสนองต่อสารพิษ เช่น การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ตามด้วยการสัมผัสกับสารพิษจากรา (Armando et al. 2012a; 2012b; 2013; Cubaiu et al. 2012; Oporto et al. 2019) กลไกการควบคุมทางชีวภาพอื่นที่พบใน *S. cerevisiae* คือ กิจกรรมของสารพิษคิลเลอร์ เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์รา และสารอินทรีย์

ระเหยง่าย ซึ่งพบจากการศึกษากิจกรรมการต่อต้านรา *Col. acutatum* บนส้ม (Lopes et al. 2015) *Guignardia citricarpa* ที่เป็นสาเหตุของโรคจุดดำในส้ม (Fialho et al. 2010) และ *B. cinerea* ซึ่งทำให้เกิดโรคหลังเก็บเกี่ยวของสตรอเบอรี่ (Oro et al. 2017) จากการวิเคราะห์ทรานสคริปโทม (transcriptome) ยืนยันว่าผนังเซลล์ของ *S. cerevisiae* LAS117 ที่ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น cerevisane® เหนี่ยวนำการแสดงออกของยีนของพืชที่เกี่ยวข้องกับการเข้าทำลายโดยรา (De Miccolis Angelini et al. 2019) ดังนั้น *S. cerevisiae* จึงจัดว่าเป็นสิ่งมีชีวิตควบคุมทางชีวภาพสำหรับลดการเจริญของร่าก่อโรคและสารพิษจากราในผลไม้ พืชผัก และอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตามมีเพียงผลิตภัณฑ์ Romeo® ที่มี cerevisane® เป็นตัวออกฤทธิ์เท่านั้นที่จดทะเบียนสำหรับการควบคุมทางชีวภาพ โดยผลิตจาก *S. cerevisiae* สายพันธุ์สำหรับการผลิตเบียร์ (brewer's yeast) ผลิตภัณฑ์นี้ใช้ควบคุมโดยเหนี่ยวนำภูมิคุ้มกันต่อโรคราน้ำค้างขององุ่น ผลไม้ และผัก โดย Romeo® แตกต่างจากผลิตภัณฑ์อื่นเนื่องจากไม่มีเซลล์ที่มีชีวิต (European Food Safety Authority (EFSA) 2015; Freimoser et al. 2019)

Aureobasidium pullulans

A. pullulans เป็นราคล้ายยีสต์ที่พบทั่วไปมักแยกได้จากใบไม้ ดอกไม้ และดิน มีการรายงานกิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพของ *A. pullulans* หลายสายพันธุ์ แต่เฉพาะสายพันธุ์ DSM 14940 (CF 10) และสายพันธุ์ DSM 14941 (CF 40) เท่านั้นที่จดทะเบียนในรูปแบบของเชื้อผสมในการควบคุมโรคไหม้ (fireblight disease) ที่มีสาเหตุจากแบคทีเรีย *Erwinia amylovora* และเป็นโรคหลังเก็บเกี่ยว โดยมีส่วนผสมของ *A. pullulans* 2 สายพันธุ์นี้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของผงที่ละลายน้ำภายใต้ชื่อ Blossom-Protect® โดยผลิตโดยบริษัท Bio-ferm ของประเทศออสเตรเลีย นอกจากนี้ยังได้พัฒนายีสต์ผสม 2 สายพันธุ์นี้เป็นผลิตภัณฑ์และจดทะเบียนในชื่อ Boni-Protect® สำหรับควบคุมโรคหลังเก็บเกี่ยวของแอปเปิ้ล และได้มีการศึกษาการควบคุมโรคเน่าของสตรอเบอรี่ พลับ และเชอร์รี่เปรี้ยว และยังมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชื่อ Botector® เพื่อการควบคุมทางชีวภาพราสีเทา *B. cinerea* ในผลองุ่น สตรอเบอรี่ และมะเขือเทศ กลไกการควบคุมของ *A. pullulans* คือการแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่ รวมทั้งการสร้างและหลั่งเอนไซม์ เช่น โปรทีเอส ไคทิเนส อาจมีส่วนร่วมด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับเมแทบอลิต์และเอนไซม์ที่จำเพาะของสายพันธุ์ DSM 14940 (CF 10) และสายพันธุ์ DSM 14941 (CF 40) (Freimoser et al. 2019; Wisniewski et al. 2016; Zhang et al. 2020)

ตารางที่ 2.1 ผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่มียีสต์หรือราคล้ายยีสต์เป็นตัวออกฤทธิ์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพโรคพืชและโรคพืชหลังเก็บเกี่ยว

ชื่อผลิตภัณฑ์	ผู้ผลิต	ตัวออกฤทธิ์	การควบคุม	รากล่อโรคที่เป็นเป้าหมายสำหรับการควบคุม	พืช/ผลไม้	สถานะภาพปัจจุบัน
Aspire®	Ecogen, สหรัฐอเมริกา	<i>Candida oleophila</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Botrytis</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Monilinia</i>	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล (pome), ผลไม้ผลเดี่ยว เมล็ดแข็ง (stone fruit), สตรอเบอรี่, ส้ม	ไม่มีแล้ว
Boni-Protect™	Bio-ferm, ออสเตรเลีย	<i>Aureobasidium pullulans</i> (ราคล้ายยีสต์)	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Penicillium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Monilinia</i>	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล	ยังคงใช้
Biotector™	Bio-ferm, ออสเตรเลีย	<i>Aureobasidium pullulans</i> (ราคล้ายยีสต์)	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Botrytis cinerea</i>	องุ่น, สตรอเบอรี่, มะเขือเทศ	ยังคงใช้
Candifruit®	TRTA/Sipcam-Ingra, สเปน	<i>Candida sake</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Penicillium</i> , <i>Botrytis</i> <i>Rhizopus</i>	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล	ไม่มีแล้ว
Nexy®	Lesaffre, เบลเยียม	<i>Candida oleophila</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Botrytis</i> <i>Mucor</i>	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล, กล้วย, ส้ม	ยังคงใช้
Noli®	Bayer/Kopper, เนเธอร์แลนด์	<i>Metschnikowia fructicola</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Penicillium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Aspergillus</i>	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล สตรอเบอรี่, องุ่น, ผลไม้ที่มีเมล็ดแข็ง	ยังคงใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อผลิตภัณฑ์	ผู้ผลิต	ตัวออกฤทธิ์	การควบคุม	ราก่อโรคที่เป็นเป้าหมายสำหรับการควบคุม	พืช/ผลไม้	สถานะภาพปัจจุบัน
Romeo®	Agro-Levures et Dérivés SAS, ฝรั่งเศส	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Monilinia fructigena</i> , <i>Monilinia laxa</i> , <i>Monilinia fructicola</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Neofabraea alba</i> , <i>Botrytis</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล, ผลไม้ผลเดี่ยวเมล็ดแข็ง, องุ่น, มะเขือเทศ, สตรอเบอร์รี่	ยังคงใช้
Shemer®	Bayer/Kopper, เนเธอร์แลนด์	<i>Metschnikowia fructicola</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Penicillium digitatum</i> , <i>Penicillium italicum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Aspergillus niger</i>	องุ่น, ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล, สตรอเบอร์รี่, มันเทศ	ยังคงใช้
Sporodex®	Plant Products Co., แคนาดา	<i>Pseudozyma flocculosa</i>	โรคพืช	<i>Sphaerotheca pannosa</i> var. <i>rosae</i> , <i>Sphaerotheca fusca</i> , <i>Sphaerotheca fuliginea</i> , <i>Erysiphe graminis</i> var. <i>tritici</i> , <i>Erysiphe polygoni</i>	กุหลาบ, แดงกวา	ไม่มีข้อมูล
YieldPlus®	Lallem, South Africa	<i>Cryptococcus albidus</i>	โรคพืชหลังเก็บเกี่ยว	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizopus</i>	ผลไม้ผลแบบแอปเปิ้ล, ส้ม	ไม่มีแล้ว

ที่มา: ดัดแปลงจาก Dukare et al. 2018; Freimoser et al. 2019; Zhang et al. 2020

เอกสารอ้างอิง

- Abadias M, Usall J, Teixido N, Vinas I. Liquid formulation of the postharvest biocontrol agent *Candida sake* CPA-1 in isotonic solutions. *Phytopathol.* 2003;93:436–442.
- Aloui H, Licciardello F, Khwaldia K, Hamdi M, Restuccia C. Physical properties and antifungal activity of bioactive films containing *Wickerhamomyces anomalus* killer yeast and their application for preservation of oranges and control of postharvest green mold caused by *Penicillium digitatum*. *Int J Food Microbiol.* 2015;200:22–30.
- Alpha CJ, Campos M, Jacobs–Wagner C, Strobel SA. Mycofumigation by the volatile organic compound–producing fungus *Muscodor albus* induces bacterial cell death through DNA damage. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81:1147–1156.
- Ando H, Hatanaka K, Ohata I, Yamashita–Kitaguchi Y, Kurata A, Kishimoto N. Antifungal activities of volatile substances generated by yeast isolated from iranian commercial cheese. *Food Control.* 2012;26:472–478.
- Angelini RM De M, Rotolo C, Gerin D, Abate D, Pollastro S, Faretra F. Global transcriptome analysis and differentially expressed genes in grapevine after application of the yeast derived defense inducer cerevisane. *Pest Manag Sci.* 2019;75:2020–2033.
- Annous BA, PM Fratamico and JL Smith. 2009. Scientific status summary: Quorum sensing in biofilms: Why bacteria behave the way they do. *J Food Sci.* 74: R24–R37.
- Armando MR, Dogi CA, Poloni V, Rosa CA, Dalcero AM, Cavaglieri LR. In vitro study on the effect of *Saccharomyces cerevisiae* strains on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium graminearum*. *Int J Food Microbiol.* 2013;161:182–188.
- Armando MR, Dogi CA, Rosa CA, Dalcero AM, Cavaglieri LR. *Saccharomyces cerevisiae* strains and the reduction of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin B1 production at different interacting environmental conditions, in vitro. *Food Addit Contam Part A.* 2012; 29:1443–1449.
- Arrarte E, Garmendia G, Rossini C, Wisniewski M, Vero S. Volatile organic compounds produced by Antarctic strains of *Candida sake* play a role in the control of postharvest pathogens of apples. *Biol Control.* 2017;109:14–20.
- Banani H, Spadaro D, Zhang D, Matic S, Garibaldi A, Gullino ML. Biocontrol activity of an alkaline serine protease from *Aureobasidium pullulans* expressed in *Pichia pastoris* against four postharvest pathogens on apple. *Int J Food Microbiol.* 2014;182–183:1–8.

- Banani H, Spadaro D, Zhang D, Matic S, Garibaldi A, Gullino ML. Postharvest application of a novel chitinase cloned from *Metschnikowia fructicola* and overexpressed in *Pichia pastoris* to control brown rot of peaches. *Int J Food Microbiol.* 2015;199:54–61.
- Banani H, Spadaro D, Zhang D, Matic S, Garibaldi A, Gullino ML. Postharvest application of a novel chitinase from *Metschnikowia fructicola* and overexpressed in *Pichia pastoris* to control brown rot of peaches. *Int J Food Microbiol.* 2015;199:54–61.
- Barda O, Shalev O, Alster S, Buxdorf K, Gafni A, Levy M. *Pseudozyma aphidis* induces salicylic-acid-independent resistance to *Clavibacter michiganensis* in tomato plants. *Plant Dis.* 2015;99:621–626.
- Bautista-Rosales PU, Calderon-Santoyo M, Servín-Villegas R, Ochoa-Alvarez NA, Vazquez-Juarez R, Ragazzo-Sanchez JA. Biocontrol action mechanisms of *Cryptococcus laurentii* on *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. *Crop Prot.* 2014;65:194–201.
- Bautista-Rosales PU, Calderon-Santoyo M, Servín-Villegas R, Ochoa-Alvarez NA, Ragazzo-Sánchez JA. Action mechanisms of the yeast *Meyerozyma caribbica* for the control of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* in mangoes. *Biol Control.* 2013;65:293–301.
- Belda I, Ruiz J, Alonso A, Marquina D, Santos A. The biology of *Pichia membranifaciens* killer toxins. *Toxins.* 2017;9:112; doi:10.3390/toxins9040112
- Blachinsky D, Antonov J, Bercovitz A, El-ad B, Feldman K, Husid A, Lazare M, Marcov N, Shamai I, Droby S. Commercial applications of “Shemer” for the control of pre- and postharvest diseases. *IOBC WPRS Bull.* 2007;30:75–78
- Braun V, Braun M. Active transport of iron and siderophore antibiotics. *Curr Opin Microbiol.* 2002;5:194–201.
- Calderon CE, Rotem N, Harris R, Vela-Corcia D, Levy M. *Pseudozyma aphidis* activates reactive oxygen species production, programmed cell death and morphological alterations in the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. *Mol Plant Pathol.* 2019;20:562–574.
- Calvente V, Benuzzi D, de Tosetti MS. Antagonistic action of siderophores from *Rhodotorula glutinis* upon the postharvest pathogen *Penicillium expansum*. *Int Biodeterior Biodegrad.* 1999;43:167–172.
- Cao S, Yuan Y, Hu Z, Zheng Y. Combination of *Pichia membranifaciens* and ammonium molybdate for controlling blue mould caused by *Penicillium expansum* in peach fruit. *Int J Food Microbiol.* 2010; 141:173–176.
- Cavalheiro M, Teixeira MC. *Candida biofilms*: threats, challenges, and promising strategies. *Front Med (Lausanne).* 2018;5:28;doi.org/10.3389/fmed.2018.00028

- Chan Z, Qin G, Xu X, Li B, Tian S. Proteome approach to characterize proteins induced by antagonist yeast and salicylic acid in peach fruit. *J Proteome Res.* 2007;6:1677–1688.
- Chan Z, Tian S. Induction of H₂O₂–metabolizing enzymes and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 2006;4–320.
- Chan Z, Tian S. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biol Technol.* 2005;36:215–223.
- Chanchaichaovivat A, B Panijpan, P Ruenwongsa. Putative modes of action of *Pichia guilliermondii* strain R13 in controlling chilli anthracnose after harvest. 2008;47(2):207–215.
- Chi M, Li G, Liu Y, Liu G, Li M, Zhang X, Sun Z, Sui Y, Liu J. Increase in antioxidant enzyme activity, stress tolerance and biocontrol efficacy of *Pichia kudriavzevii* with the transition from a yeast–like to biofilm morphology. *Biol Cont.* 2015;90:113–119.
- Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ. Host–microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell.* 2006;124:803–814.
- Contarino R, Brighina S, Fallico B, Cirvilleri G, Parafati L, Restuccia C. Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. *Food Microbiol* 2019;82:70–74.
- Corbaci C, Ucar FB. Purification, characterization and *in vivo* biocontrol efficiency of killer toxins from *Debaryomyces hansenii* strains. *Int J Biol Macromol.* 2018;119:1077–1082.
- Costa–Orlandi CB, Sardi JCO, Pitangui NS, et al. Fungal biofilms and polymicrobial diseases. *J Fungi (Basel).* 2017;3:22;doi.org/10.3390/jof30 20022
- Cubaiu L, Abbas H, Dobson AD, Budroni M, Migheli Q. A *Saccharomyces cerevisiae* wine strain inhibits growth and decreases ochratoxin A biosynthesis by *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus ochraceus*. *Toxins (Basel).* 2012;4:1468–1481.
- Desai JV, Mitchell AP, Andes DR. Fungal biofilms, drug resistance, and recurrent infection. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014;doi.org/10.1101/cshperspect.a019729
- Dhami MK, Hartwig T, Fukami T. Genetic basis of priority effects: insights from nectar yeast. *Proc Biol Sci.* 2016;283:20161455;doi.org/10.1098/rspb.2016.1455
- Di Francesco A, Martini C, Mari M. Biological control of postharvest diseases by microbial antagonists: How many mechanisms of action? *Eur. J Plant Pathol.* 2016;145:711–717.
- Droby S, Wisniewski M, Macarasin D, Wilson C. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? *Postharvest Biol Technol.* 2009;52:137–145.
- Droby S, Wisniewski M, Teixidó N, Spadaro D, Jijakli MH. The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biol Technol.* 2016;122:22–29.

- Droby, S. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Difficulties and challenges. *Phytopathol Pol.* 2006;39:105–117.
- Dukare AS, Paul S, Nambi VE, Gupta RK, Singh R, Sharma K, Vishwakarma RK. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018;59:1498–1513.
- European Food Safety Authority (EFSA). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Candida oleophila* strain O. *EFSA J.* 2012;10(11):2944;doi:10.2903/j.efsa.2012.2944.
- European Food Safety Authority (EFSA). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Saccharomyces cerevisiae* strain LAS02. *EFSA J.* 2015;13:4322;doi.org/ 10.2903/j.efsa.2015.4322
- European Food Safety Authority (EFSA). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Metschnikowia fructicola* NRRL Y-27328. *EFSA J.* 2017;15:5084;org/ 10.2903/j.efsa.2017.5084
- Farbo M G, Urgeghe PP, Fiori S, Marcello A, Oggiano S, Balmas V, Hassan ZUI, Jaoua S, Migheli Q. Effect of yeast volatile organic compounds on ochratoxin A-producing *Aspergillus carbonarius* and *A. ochraceus*. *Int J Food Microbiol.* 2018;284:1–10.
- Fialho MB, Toffano L, Pedroso MP, Augusto F, Pascholati SF. Volatile organic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* inhibit the in vitro development of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. *World J Microb Biot.* 2010;26:925–932.
- Fiori S, Scherm B, Liu J, Farrell R, Mannazzu I, Budroni M, Maserti BE, Wisniewski ME, Migheli Q. Identification of differentially expressed genes associated with changes in the morphology of *Pichia fermentans* on apple and peach fruit. *FEMS Yeast Res.* 2012;12:785–795.
- Fiori S, Urgeghe PP, Hammami W, Razzu S, Jaoua S, Migheli Q. Biocontrol activity of four non- and low-fermenting yeast strains against *Aspergillus carbonarius* and their ability to remove ochratoxin A from grape juice. *Int J Food Microbiol.* 2014;189:45–50.
- Freimoser FM, Rueda-Mejia MP, Tilocca B, Migheli Q. Biocontrol yeasts: Mechanisms and applications. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019;35:154;doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4
- Gore-Lloyd D, Sumann I, Brachmann AO, et al. Snf2 controls pulcherriminic acid biosynthesis and antifungal activity of the biocontrol yeast *Metschnikowia pulcherrima*. *Mol Microbiol.* 2019;112:317–333.

- Gore–Lloyd D, Sumann I, Brachmann AO, Schneeberger K, Ortiz–Merino RA, Moreno–Beltrán M, Schläfli M, Kirner P, Kron AS, Rueda–Mejia MP, Somerville V, Wolfe KH, Piel J, Ahrens CH, Henk D, Freimoser FM. Snf2 controls pulcherriminic acid biosynthesis and antifungal activity of the biocontrol yeast *Metschnikowia pulcherrima*. *Mol Microbiol*. 2019;112:317–332.
- Gozzo F, Faoro F. Systemic acquired resistance (50 years after discovery): moving from the lab to the field. *J Agric Food Chem*. 2013;61:12473–12491.
- Grzegorzczak M, Zarowska B, Restuccia C, Cirvilleri G. Postharvest biocontrol ability of killer yeasts against *Monilinia fructigena* and *Monilinia fructicola* on stonefruit. *Food Microbiol*. 2017;61:93–101.
- Hadwiger LA, McDonel H, Glawe D. Wild yeast strains as prospective candidates to induce resistance against potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Am J Potato Res*. 2015;92:379–386.
- Hershkovitz V, Ben–Dayan C, Raphael G, Pasmanik–Chor M, Liu J, Belausov E, Aly R, Wisniewski M, Droby S. Global changes in gene expression of grapefruit peel tissue in response to the yeast biocontrol agent *Metschnikowia fructicola*. *Mol Plant Pathol*. 2012;13:338–349.
- Hilber–Bodmer M, Schmid M, Ahrens CH, Freimoser FM. Competition assays and physiological experiments of soil and phyllosphere yeasts identify *Candida subhashii* as a novel antagonist of filamentous fungi. *BMC Microbiol*. 2017;17:4;doi.org/10.1186/s12866-016-0908-z
- Huang R, GQ Li, J Zhang, L Yang, HJ Che, DH Jiang and HC Huang. Control of postharvest *Botrytis* fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology*. 2011;101:859–869.
- Into P, P Khunnamwong, S Jindamoragot, S Am–in, W Intanoo and S Limtong. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. *Microorganisms*. 2020;8:362;doi:10.3390/microorganisms8030362
- Junker K, Bravo Ruiz G, Lorenz A, Walker L, Gow NAR, Wendland J. The mycoparasitic yeast *Saccharomycopsis schoenii* predates and kills multi–drug resistant *Candida auris*. *Sci Rep*. 2018;8:14959;doi.org/ 10.1038/s41598-018-33199-z
- Junker K, Chailyan A, Hesselbart A, Forster J, Wendland J. Multi–omics characterization of the necrotrophic mycoparasite *Saccharomycopsis schoenii*. *PLoS Pathog*. 2019;15:e1007692.
- Junker K, Hesselbart A, Wendland J. Draft genome sequence of *Saccharomycopsis fodiens* CBS 8332, a necrotrophic mycoparasite with biocontrol potential. *Genome Announc*. 2017;doi.org/10.1128/genomeA.01278-17.

- Khunnamwong P, N Lertwattanasakul, S Jindamorakot, N Suwannarach, K Matsui, S Limtong. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. *Folia Microbiologica*. 2020;65:573–590;doi.org/10.1007/s12223-019-00764-6.
- Klein MN, Kupper KC. Biofilm production by *Aureobasidium pullulans* improves biocontrol against sour rot in citrus. *Food Microbiol*. 2018;69:1–10.
- Köhl, J, R Kolnaar and WJ Ravensberg. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Front Plant Sci*. 2019;10:845;doi:10.3389/fpls.2019.00845
- Konsue W, T Dethoup and S Limtong. Biological Control of Fruit Rot and Anthracnose of postharvest mango by antagonistic yeasts from economic crops leaves. *Microorganisms*. 2020;8:317;doi: 10.3390/microorganisms8030317
- Kowalska J, Drozdzyński D, Remlein–Starosta D, Sas–Paszt L, Malusá E. Use of *Cryptococcus albidus* for controlling grey mould in the production and storage of organically grown strawberries. *J Plant Dis Protect*. 2012;119:174–178.
- Lai J, Cao X, Yu T, Wang Q, Zhang Y, Zheng X, Lu H. Effect of *Cryptococcus laurentii* on inducing disease resistance in cherry tomato fruit with focus on the expression of defense–related genes. *Food Chem*. 2018;254:208–216.
- Langner T, Gohre V. Fungal chitinases: function, regulation, and potential roles in plant/pathogen interactions. *Curr Genet*. 2015;62:243–254.
- Leclere V, Bechet M, Adam A, Guez J S, Wathelet B, Ongena M, Thonart P, Gancel F, Chollet–Imbert M, and Jacques P. *Mycosubtilin* overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism’s antagonistic and biocontrol activities. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71:45774584.
- Lee G, Lee SH, Kim KM, Ryu CM. Foliar application of the leaf–colonizing yeast *Pseudozyma churashimaensis* elicits systemic defense of pepper against bacterial and viral pathogens. *Sci Rep*. 2017;7:39432;doi.org/10.1038/srep39432.
- Li B Q, and S P Tian. Effects of trehalose on stress tolerance and biocontrol efficacy of *Cryptococcus laurentii*. *J Appl Microbiol*. 2006;100:854–861.
- Li BQ, Zhou ZW, Tian SP. Combined effects of endo– and exogenous trehalose on stress tolerance and biocontrol efficacy of two antagonistic yeasts. *Biol Control*. 2008;46:187–193.
- Li R, Zhang H, Liu W, Zheng X. Biocontrol of postharvest gray and blue mold decay of apples with *Rhodotorula mucilaginosa* and possible mechanisms of action. *Int J Food Microbiol*. 2011;146:151–56.

- Limtong S, Into P, Attarat P. Biocontrol of rice seedling rot disease caused by *Curvularia lunata* and *Helminthosporium oryzae* by epiphytic yeasts from plant leaves. *Microorganisms*. 2020;8(5):647; doi.org/10.3390/microorganisms 8050647
- Liu GL, Chi Z, Wang GY, Wang ZP, Li Y, Chi ZM. Yeast killer toxins, molecular mechanisms of their action and their applications. *Crit Rev Biotechnol*. 2015;35:222–234
- Liu J, Tian SP, Li BQ, Qin GZ. Enhancing viability of two biocontrol yeasts in liquid formulation by applying sugar protectant combined with antioxidant. *Biol Control*. 2009;54:817–824.
- Lo C. General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. *Plant Patho Bull*. 1998;7:155–166.
- Lopes MR, Klein MN, Ferraz LP, da Silva AC, Kupper KC. *Saccharomyces cerevisiae*: a novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. *Microbiol Res*. 2015;175:93–99.
- Lopes MR, Klein MN, Ferraz LP, da Silva AC, Kupper KC. *Saccharomyces cerevisiae*: a novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. *Microbiol Res*. 2015;175:93–99.
- Lu L, Lu H, Wu C, Fang W, Yu C, Ye C, Shi Y, Yu T, Zheng X. *Rhodosporidium paludigenum* induces resistance and defense-related responses against *Penicillium digitatum* in citrus fruit. *Postharvest Biol Technol*. 2013a;85:196–202.
- Lu L, Ye C, Guo S, Sheng K, Shao L, Zhou T, Yu T, Zheng X. Preharvest application of antagonistic yeast *Rhodosporidium paludigenum* induced resistance against postharvest diseases in mandarin orange. *Biol Control*. 2013b;67:130–136.
- Luo Y, Zeng K, Ming J. Control of blue and green mold decay of citrus fruit by *Pichia membranefaciens* and induction of defense responses. *Sci Hortic*. 2012;135:120–127.
- Macarasin D, Droby S, Bauchan G, Wisniewski M. Superoxide anion and hydrogen peroxide in the yeast antagonist–fruit interaction: a new role for reactive oxygen species in postharvest biocontrol? *Postharvest Biol Technol*. 2010;58:194–202.
- Mannazzu I, Domizio P, Carboni G, Zara S, Zara G, Comitini F, Budroni M, Ciani M. Yeast killer toxins: from ecological significance to application. *Crit Rev Biotechnol*. 2019;39(5):603–617.
- Marquina D, Barroso J, Santos A, Peinado JM. Production and characteristics of *Debaryomyces hansenii* killer toxin. *Microbiol Res*. 2001;156:387–391.
- Maserti B, Podda A, Giorgetti L, Del Carratore R, Chevret D, Migheli Q. Proteome changes during yeast-like and pseudohyphal growth in the biofilm-forming yeast *Pichia fermentans*. *Amino Acids*. 2015; 47:1091–1106.

- Melin P, kansson SH, Eberhard TH, Schn€urer J. Survival of the biocontrol yeast *Pichia anomala* after long term storage in liquid formulations at different temperatures, assessed by flow cytometry. *J Appl Microbiol.* 2006;100:264–271.
- Mimee B, Labbe C, Pelletier R, Belanger RR. Antifungal activity of flocculosin, a novel glycolipid isolated from *Pseudozyma flocculosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1597–1599.
- Morath SU, Hung R, Bennett JW. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biol Rev.* 2012;26:73–83.
- Moyne AL, Shelby R, Clevel TE, Tuzun S. Bacillomycin D: an iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *J Appl Microbiol.* 2001;90(4):622–629.
- Nunes CA. Biological control of postharvest diseases of fruit. *Eur J Plant Pathol.* 2012;133:181–196.
- Nutaratat P, Srisuk N, Arunrattiyakorn P, Limtong S. Plant growth–promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. *Fungal Biol.* 2014;118:683–694.
- Oporto CI, Villarroel CA, Tapia SM, Garcia V, Cubillos FA. Distinct transcriptional changes in response to patulin underlie toxin biosorption differences in *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxins (Basel).* 2019;11(7):400;doi.org/10.3390/toxins11070400
- Opulente DA, Langdon QK, Buh KV, Haase MA, Sylvester K, Moriarty RV, Jarzyna M, Considine SL, Schneider RM, Hittinger CT. Pathogenic budding yeasts isolated outside of clinical settings. *FEMS Yeast Res.* 2019;foz032;doi.org/10.1093/femsyr/foz032
- Oro L, Feliziani E, Ciani M, Romanazzi G, Comitini F. Volatile organic compounds from *Wickerhamomyces anomalus*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* inhibit growth of decay causing fungi and control postharvest diseases of strawberries. *Int J Food Microbiol.* 2017;265:18–22.
- Ortu G, Demontis MA, Budroni M, Goyard S, d’Enfert C, Migheli Q. Study of biofilm formation in *Candida albicans* may help understanding the biocontrol capability of a flor strain of *Saccharomyces cerevisiae* against the phytopathogenic fungus *Penicillium expansum*. *J Plant Pathol.* 2005;87:300.
- Pal KK, BM Gardener. Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor.* 2006;10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Parafati L, Cirvilleri G, Restuccia C, Wisniewski M. Potential role of exoglucanase genes (WaEXG1 and WaEXG2) in the biocontrol activity of *Wickerhamomyces anomalus*. *Microb Ecol.* 2017b;73:876–884.
- Parafati L, Vitale A, Restuccia C, Cirvilleri G. Biocontrol ability and action mechanism of food–isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post–harvest bunch rot of table grape. *Food Microbiol.* 2015;47:85–92.

- Parafati L, Vitale A, Restuccia C, Cirvilleri G. Performance evaluation of volatile organic compounds by antagonistic yeasts immobilized on hydrogel spheres against gray, green and blue postharvest decays. *Food Microbiol.* 2017a;63:191–198.
- Patino–Vera M, Jimenez B, Balderas K, Ortiz M, Allende R, Carrillo A, Galindo E. Pilot–scale production and liquid formulation of *Rhodotorula minuta*, a potential biocontrol agent of mango anthracnose. *J Appl Microbiol.* 2005;99:540–550.
- Perez MF, L Contreras, NM Garnica, MV Fernández–Zenoff, M E Farías, M Sepulveda, J Ramallo, JR Dib. Native killer yeasts as biocontrol agents of postharvest fungal diseases in lemons. *PLoS ONE.* 2016;11:e0165590.
- Philpott CC, O Protchenko. Response to iron deprivation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell.* 2008;7:20–27.
- Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SC, Bakker PA. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol.* 2014;52:347–375.
- Platania C, Restuccia C, Muccilli S, Cirvilleri G. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). *Food Microbiol.* 2012;30:219–225.
- Pretscher J, Fischkal T, Branscheidt S, Jäger L, Kahl S, Schlander M, Thines E, Claus H. Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation.* 2018;4:31;doi:10.3390/fermentation4020031
- Pu L, Jingfan F, Kai C, Chao–an L, Yunjiang C. Phenylethanol promotes adhesion and biofilm formation of the antagonistic yeast *Kloeckera apiculata* for the control of blue mold on citrus. *FEMS Yeast Res.* 2014;14:536–546.
- Rosa, MM, Tauk–Tornisiello SM, Rampazzo PE, Ceccato–Antonini SR. Evaluation of the biological control by the yeast *Torulaspota globosa* against *Colletotrichum sublineolum* in sorghum. *World J Microbiol Biotechnol.* 2010;26:1491–1502.
- Sanna ML, Zara G, Zara S, Migheli Q, Budroni M, Mannazzu I. A putative phospholipase C is involved in *Pichia fermentans* dimorphic transition. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1840:344–349.
- Santos A, Marquina D. Killer toxin of *Pichia membranifaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mould disease of grapevine. *Microbiology.* 2004;150:2527–2534.
- Scherm B, Ortu G, Muzzu A, Budroni M, Arras G, Migheli Q. Biocontrol activity of antagonistic yeasts against *Penicillium expansum* on apple. *J Plant Pathol.* 2003;85:205–213.
- Sharma RR, Singh D, Singh R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. *Biol Control.* 2009;50:205–221.

- Spadaro D, Droby S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends Food Sci Technol*. 2016;47:39–49.
- Spadaro DA, Zhang CD, Garibaldi A, Gullino ML. Effect of culture media and pH on the biomass production and biocontrol efficacy of a *Metschnikowia pulcherrima* strain to be used as a biofungicide for postharvest disease control. *Can J Microbiol*. 2010;56:128–137.
- Sun C, Fu D, Lu H, Zhang J, Zheng X, Yu T. Autoclaved yeast enhances the resistance against *Penicillium expansum* in postharvest pear fruit and its possible mechanisms of action. *Biol Control*. 2018;119:51–58.
- Teichmann B, Labbe C, Lefebvre F, Bolker M, Linne U, Belanger RR. Identification of a biosynthesis gene cluster for flocculosin a cellobiose lipid produced by the biocontrol agent *Pseudozyma flocculosa*. *Mol Microbiol*. 2011;79:1483–1495.
- Tilocca B, Balmas V, Hassan ZU, Jaoua S, Migheli Q. A proteomic investigation of *Aspergillus carbonarius* exposed to yeast volatilome or to its major component 2-phenylethanol reveals major shifts in fungal metabolism. *Int J Food Microbiol*. 2019;306:108265.
- Tjamos EC, Tjamos SE, Antoniou PP. Biological management of plant diseases: highlights on research and application. *J Plant Pathol*. 2010;92:17–21.
- Turkel S, Korukluoglu M, Yavuz M. Biocontrol activity of the local strain of *Metschnikowia pulcherrima* on different postharvest pathogens. *Biotechnol Res Int*. 2014(2);397167;doi.org/10.1155/2014/397167
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Prigent-Combaret C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front Plant Sci*. 2013;doi.org/10.3389/fpls.2013.00356
- Van Loon LC, Rep M, Pieterse CMJ. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol*. 2006;44:135–162.
- Wachowska U, Głowacka K, Mikołajczyk W, Kucharska K. Biofilm of *Aureobasidium pullulans* var. *pullulans* on winter wheat kernels and its effect on other microorganisms. *Microbiology*. 2016;85:523–530.
- Wisniewski M, Biles C, Droby S, McLaughlin R, Wilson C, Chalutz E. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. Characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiol Mol Plant Pathol*. 1991;39:245–258.

- Wisniewski M, Droby S, Norelli J, Liu J, Schena L. Alternative management technologies for postharvest disease control: The journey from simplicity to complexity. *Postharvest Biol. Technol.* 2016;122:3–10.
- Wisniewski M, Droby S. 2012. Biopreservation of food and feed by postharvest biocontrol with microorganisms. In: Sundh I, Wilcks A, Goettel MS (Eds), *Beneficial microorganisms in agriculture, food and the environment*. CABI International, Oxfordshire, pp 57–66.
- Xu H, Nobile CJ, Dongari-Bagtzoglou A. Glucanase induces filamentation of the fungal pathogen *Candida albicans*. *PLoS ONE*. 2013;8:e63736;doi.org/10.1371/journal.pone.0063736
- Zajc J, ˇCernoša A, Di Francesco A, Casteria R, De Curtis F, Lima G, Badri H, Jijakli H, Ippolito A, GostinˇCar C, et al. Characterization of *Aureobasidium pullulans* isolates selected as biocontrol agents against fruit decay pathogens. *Fungal Genomics Biol.* 2020;10(1):163.
- Zajc J, Gostincar C, Cernosa A, Gunde-Cimerman N (2019) Stresstolerant yeasts: opportunistic pathogenicity versus biocontrol potential. *Genes (Basel)* 10:42.
- Zajc J, Gostincar C, Cernosa A, Gunde-Cimerman N. Stress tolerant yeasts: opportunistic pathogenicity versus biocontrol potential. *Genes (Basel)*. 2019;10:42;doi.org/10.3390/genes10010042
- Zhang D, Spadaro D, Garibaldi A, Gullino ML. Potential biocontrol activity of a strain of *Pichia guilliermondii* against grey mold of apples and its possible modes of action. *Biol Control*. 2011;57:193–201.
- Zhang Q, Zhao L, Li Z, Li C, Li B, Gu X, Zhang X, Zhang H. Screening and identification of an antagonistic yeast controlling postharvest blue mold decay of pears and the possible mechanisms involved. *Biol Control*. 2019;133:26–33.
- Zhang X, Li B, Zhang Z, Chen Y, Tian S. Antagonistic Yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *J Fungi*. 2020;6:158;doi.org/10.3390/jof6030158

ความเสียหายของผลผลิตทางการเกษตรที่มีสาเหตุมาจากราเป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญทางการเกษตร การเจริญของราส่งผลต่อความเสียหายอย่างมหาศาลของพืชผัก ผลไม้ และธัญพืช ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว (Wilson and Pusey 1985; Spadaro and Gullino 2004) นอกจากนี้ การเจริญของราในอาหารและอาหารสัตว์ส่งผลกระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการ รวมทั้งเราสามารถสร้างสปอร์ (spore) ซึ่งก่อให้เกิดการแพ้ และอาจสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายในอาหารเหล่านั้นได้ (Magan et al. 2003) สารพิษจากรา (mycotoxin) เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างจากราหลากหลายชนิด และคาดว่าประมาณร้อยละ 25 ของสินค้าเกษตรทั่วโลกปนเปื้อนสารพิษที่ราสร้างขึ้น (Koppen et al. 2010; World Health Organization 2018) สารพิษแอฟลาท็อกซิน (aflatoxin) สร้างขึ้นจากราสกุล *Aspergillus* บางสปีชีส์และบางสายพันธุ์ที่ปนเปื้อนในผลิตผลทางการเกษตร ซึ่งนับเป็นปัญหาสำคัญอย่างยิ่งปัญหาหนึ่ง โดยเฉพาะในประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทย ซึ่งเป็นสภาพอากาศ และสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา ปัจจุบันพบการปนเปื้อนของแอฟลาท็อกซินในผลิตภัณฑ์อาหาร รวมทั้งผลิตผลทางการเกษตรที่วางจำหน่ายในท้องตลาดจำนวนมาก เช่น ผลิตภัณฑ์จากแป้ง ผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง อาหารแห้ง ข้าวโพด มันสำปะหลัง นับว่าเป็นภัยเงียบที่น่ากังวลซึ่งส่งผลกระทบต่อปัญหาสุขภาพของผู้บริโภค (Henry et al. 1999; Songsermsakul 2015)

การผลิตแอฟลาท็อกซิน

แอฟลาท็อกซินเป็นสารพิษกลุ่มหนึ่งที่สร้างจากราบางสายพันธุ์ในบางสปีชีส์ในสกุล *Aspergillus* ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* และ *A. nomius* (Abbas 2005) ราในสกุลนี้มีรูปร่างคล้ายพัด ที่ปลายก้านชูโคนิเดีย (conidiophore) พองออกเป็นรูปกะเปาะ สปอร์ไม่มีสิ่งห่อหุ้มเกาะกลุ่มกันจำนวนมากอยู่ที่ปลายก้านชูโคนิเดีย (ภาพที่ 3.1) สปอร์มีสีเขียวมเหลือง และสปอร์สามารถแพร่กระจายได้ง่าย การเจริญของราและการสร้างสารพิษในอาหารมีอิทธิพลมาจากหลายปัจจัย ประกอบด้วยสารอาหาร ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ ความชื้น และปฏิสัมพันธ์กับจุลินทรีย์อื่น (Magan and Aldred 2007) *A. flavus* เจริญและสร้างสารพิษในช่วงอุณหภูมิและความชื้นกว้าง

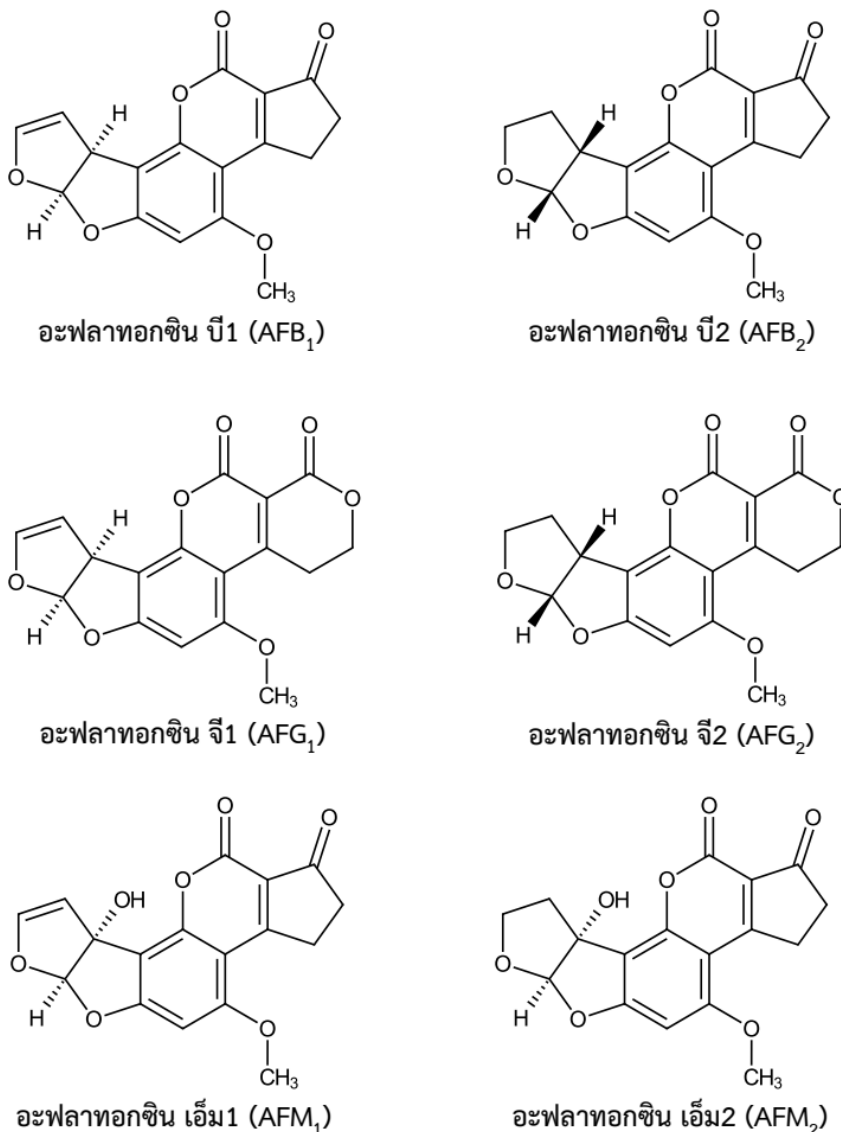
โดยภาวะที่เหมาะสมอยู่ที่อุณหภูมิช่วง 28 ถึง 30 องศาเซลเซียส และที่ความชื้นสูง (Schmidt–Heydt et al. 2009; Abdel–Hadi et al. 2012)

แอฟลาท็อกซิน

แอฟลาท็อกซินสามารถจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีได้ 2 ชนิด คือ แอฟลาท็อกซิน บี (AFB) เกิดจากสารในกลุ่มคูมาริน (coumarin) เชื่อมกับวงแหวนไซโคลเพนทาโนน (cyclopentanone ring) และแอฟลาท็อกซิน จี (AFG) เกิดจากสารในกลุ่มคูมารินเชื่อมกับวงแหวนแลกโตน (lactone ring) (ภาพที่ 3.2) กลุ่มสารพิษแอฟลาท็อกซินมีมากกว่า 20 ชนิด อย่างไรก็ตามมีเพียง 4 ชนิดที่พบบ่อยตามธรรมชาติ ได้แก่ แอฟลาท็อกซิน บี₁ (AFB₁) แอฟลาท็อกซิน บี₂ (AFB₂) แอฟลาท็อกซิน จี₁ (AFG₁) และแอฟลาท็อกซิน จี₂ (AFG₂) ซึ่งพบบ่อยในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรส่วนใหญ่ เช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เครื่องเทศ (Magan et al. 2003; Waenlor and Wiwanitkit 2003; Guchi 2015; Mannaa and Kim 2016) นอกจากนี้ยังพบแอฟลาท็อกซิน เอ็ม₁ (AFM₁) และแอฟลาท็อกซิน เอ็ม₂ (AFM₂) ในน้ำนม ซึ่งแอฟลาท็อกซินทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นอนุพันธ์ของแอฟลาท็อกซิน บี₁ และแอฟลาท็อกซิน บี₂ จากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยการเกิดไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) ซึ่งจะสะสมอยู่ในน้ำนม และกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ได้รับ แอฟลาท็อกซิน บี₁ และแอฟลาท็อกซิน บี₂ เข้าสู่ร่างกาย (Akhtar et al. 2017; Udomkun et al. 2017)



ภาพที่ 3.1 สัณฐานวิทยาของ *Aspergillus flavus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (1000x)



ภาพที่ 3.2 โครงสร้างทางเคมีของแอฟลาท็อกซิน

ความเป็นพิษของแอฟลาท็อกซิน

แอฟลาท็อกซินจัดเป็นสารพิษรุนแรงและเป็นสารก่อมะเร็งในคนและสัตว์ แอฟลาท็อกซิน บี1 จัดว่ามีความเป็นพิษสูงกว่าแอฟลาท็อกซินชนิดอื่น เนื่องจากพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 8-9 ในวงแหวนไบฟูแรน (bifuran ring) สามารถเปลี่ยนเป็นอีพอกไซด์ (epoxide) ซึ่งจับกับดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) และอัลบูมิน (albumin) ได้ง่าย ส่งผลให้เซลล์มีความผิดปกติกลายเป็นเนื้องอกหรือมะเร็งในที่สุด โดยส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตับ

โดยองค์การวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (The International Agency for Research on Cancer: IARC) ได้จัดให้แอฟลาท็อกซินเป็นสารก่อมะเร็งในคนกลุ่มที่ 1 (Group 1 carcinogen) (IARC, 2002;

Min et al. 2011) นอกจากนี้สัตว์ที่บริโภคอาหารที่ปนเปื้อนแอฟลาท็อกซินสามารถส่งสารพิษไปยังเนื้อสัตว์ นม และไข่ ซึ่งส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ (FDA, 2020)

ข้อกำหนดระดับการปนเปื้อนของแอฟลาท็อกซิน

เนื่องจากแอฟลาท็อกซินสามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ทำให้ประเทศต่าง ๆ มีการกำหนดปริมาณสูงสุด (Maximum Level: ML) ของแอฟลาท็อกซินที่อนุญาตให้มีการปนเปื้อนได้ในอาหาร และอาหารสัตว์ ซึ่งแต่ละประเทศมีข้อกำหนดแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเสี่ยงของผู้บริโภคในประเทศนั้น ๆ และโอกาสการได้รับสารพิษจากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอาหารที่บริโภคมากน้อยเพียงใด ตามกฎขององค์การอาหารและยาของสหประชาชาติ (ตารางที่ 3.1) (Waenlor and Wiwanitkit 2003; Ehrlich 2014; Panrapee et al. 2016) สำหรับประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 มีข้อกำหนดให้มีระดับการปนเปื้อนของแอฟลาท็อกซินสูงสุดได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ปริมาณแอฟลาท็อกซินที่อนุญาตให้มีได้สูงสุดในอาหาร และอาหารสัตว์

ประเทศ	ปริมาณ (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)
ออสเตรเลีย	0.2-1
เนเธอร์แลนด์	0.02-5
ฝรั่งเศส	0.1-10
สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี	5
ญี่ปุ่น	10
สหราชอาณาจักร	10
อินเดีย	30
มาเลเซีย	35
เม็กซิโก	20
ไทย	20
สหรัฐอเมริกา	20

ที่มา: Ehrlich (2014) และ http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P98.pdf

การควบคุมทางชีวภาพโดยยีสต์ปฏิปักษ์

การแก้ปัญหาการปนเปื้อนราในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรนิยมทำโดยทั่วไปด้วยสารฆ่ารา (fungicide) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงหลายปัจจัย เช่น สุขภาพของผู้บริโภค ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งปัญหาการต้านยาที่ใช้ ทำให้จำเป็นต้องหาวิธีการทางเลือกเพื่อมาทดแทนการใช้สารเคมี ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา นักวิจัยหลายประเทศทั่วโลกให้ความสำคัญในการศึกษาและพัฒนาวิธีการควบคุมรากล่อโรคด้วยชีววิธี และได้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้สำหรับควบคุมและลดการปนเปื้อนของราและสารพิษที่สร้างขึ้นในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร มีรายงานจำนวนมากแสดงให้เห็นว่ายีสต์หลายชนิดมีประสิทธิภาพควบคุมรากล่อโรคพืชได้ และมีชีวผลิตภัณฑ์จากยีสต์หลากหลายชนิดที่เข้าสู่ตลาดการค้า เช่น Aspire® (Janisiewicz and Korsten 2002; Janisiewicz et al. 2003), Yield Plus® Shemer® (Kurtzman and Droby 2001), Candifruit® (Calvo-Garrido et al. 2014) ปัจจุบันยังไม่มีผลิตภัณฑ์ควบคุมราผลิตแอปพลาที่ออกซินจากยีสต์ในเชิงพาณิชย์ มีเพียงผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจาก *A. flavus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ (non-toxigenic strain) เท่านั้น เช่น Afla-Guard® ผลิตจาก *A. flavus* NRRL21882 ใช้ควบคุมแอปพลาที่ออกซินในข้าวโพดและถั่ว ส่วน *Aspergillus flavus* AF36 Prevail® ผลิตจาก *A. flavus* AF36 ซึ่งใช้สำหรับควบคุมแอปพลาที่ออกซินในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ข้าวโพด อัลมอนต์ (Isakeit 2012; Moral et al. 2020)

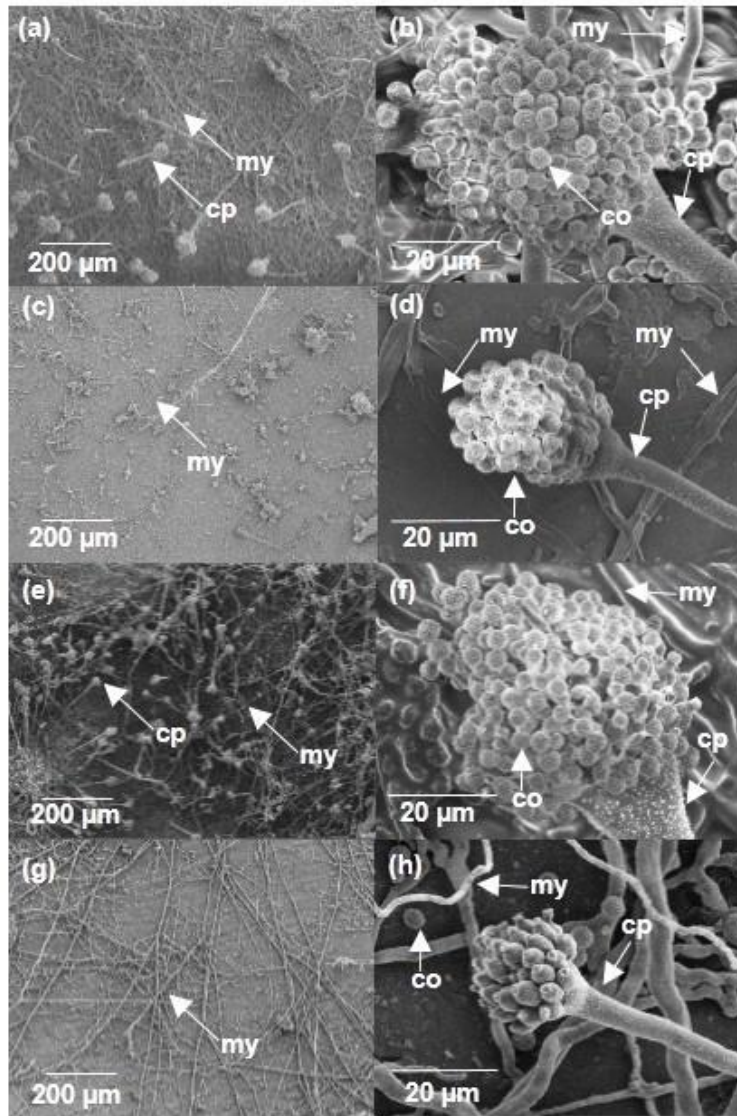
จนถึงปัจจุบันมีรายงานถึงศักยภาพของยีสต์หลายสายพันธุ์ที่อาจใช้เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพราผลิตสารพิษรวมถึงแอปพลาที่ออกซินได้ เช่น *Candida parapsilosis* IP1698 สามารถลดแอปพลาที่ออกซินรวม (total aflatoxin) ได้สูงสุด 99.59 เปอร์เซ็นต์เมื่อบ่มยีสต์ร่วมกับ *Aspergillus* spp. ในอาหารยีสต์สกัดแตรกต์ซูโครสบรอต (yeast extract sucrose broth, YES broth) เป็นเวลา 7 วัน (Niknejad et al. 2012) *Kluyveromyces thermotolerans* สายพันธุ์ RCKT4 และ RCKT5 ซึ่งแยกจากผลองุ่น สามารถควบคุมการเจริญของ *Aspergillus carbonarius* และ *A. niger* รวมทั้งสามารถลดการสะสมของสารพิษโอคราที่ออกซิน เอ (ochratoxin A, OTA) ในผลองุ่น (Ponsone et al. 2011) ยีสต์ขนมปัง หรือเบเกอร์สยีสต์ (baker's yeast) ซึ่งเป็น *Saccharomyces cerevisiae* สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของรา *A. niger* และ *A. ochraceus* และการปนเปื้อนของโอคราที่ออกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟกะลา (parchment coffee) และผลกาแฟ (coffee cherry) ได้อย่างมีนัยสำคัญโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพและกลิ่นรสของกาแฟเมื่อแช่เมล็ดกาแฟกะลา และผลกาแฟในบ่อคอนกรีตที่มียีสต์ (ความหนาแน่น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 เป็นเวลา 10 นาที (Velmourougane et al. 2011) นอกจากนี้ยังพบว่า ยีสต์แซโปรไฟต์ (saprophyte) *Pichia anomala* WRL-076 และ *Candida krusei* WRL-038 ซึ่งแยกได้จากผลอัลมอนต์ พิสตาชิโอ และ

วอลนัท สามารถยับยั้งการสังเคราะห์แอฟลาท็อกซินของ *A. flavus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Hua et al. 1999) *Cryptococcus albidus*, *C. hungaricus*, *Pseudozyma fusiformata*, *Rhodotorula fragaria* และ *R. hinula* ซึ่งแยกได้จากผลและใบของต้นพิสตาชิโอ มีศักยภาพสูงในการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *A. flavus* PTCC5006 โดย *P. fusiformata* มีประสิทธิภาพลดการสร้างสปอร์ (84.6 เปอร์เซ็นต์) และการยับยั้งการผลิตแอฟลาท็อกซิน ปี 1 ได้สูงสุด (89.1 เปอร์เซ็นต์) (Afsah-Hejri 2013) *Debaryomyces hansenii* บางสายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. paraciticus* และลดปริมาณแอฟลาท็อกซินในเนื้อสัตว์แปรรูปประเภทเนื้อหมักได้อย่างมีนัยสำคัญในภาวะค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity, a_w) 0.092 (Peromingo et al. 2019) นอกจากนี้รายงานวิจัยพบว่ายีสต์หลากหลายสายพันธุ์ที่แยกได้จากใบพืชในพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตรในประเทศไทยมีศักยภาพควบคุม *A. flavus* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษแอฟลาท็อกซินได้ (Jaibangyang et al. 2020; Nasanit et al. 2022)

กลไกการควบคุมการผลิตแอฟลาท็อกซินของยีสต์ปฏิปักษ์

โดยทั่วไปกลไกของตัวควบคุมทางชีวภาพเพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรคเป้าหมายยังไม่เข้าใจกันดีนัก เนื่องจากมีข้อจำกัดและความยากในการออกแบบการทดลองที่สามารถกำจัดกลไกอื่น ๆ ที่อาจเป็นไปได้ในสภาพแวดล้อมที่มีความซับซ้อน สำหรับสิ่งมีชีวิตที่เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพส่วนใหญ่มีกลไกการออกฤทธิ์ (mode of action) หลายรูปแบบ เช่น การแข่งขันเพื่อสารอาหารและพื้นที่ การสร้างสารปฏิชีวนะ การผลิตเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์รา การเป็นเชื้อปรสิต การชักนำการต้านทานโรค สำหรับยีสต์ปฏิปักษ์ที่แสดงศักยภาพในการควบคุมทางชีวภาพของราผลิตแอฟลาท็อกซินกลไกที่เป็นไปได้ อาจเกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์และเมแทบอลิท์ที่ส่งผลยับยั้งการเจริญของรา และการยับยั้งการผลิตแอฟลาท็อกซินโดยลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารพิษ (Ren et al. 2020) เช่น *Kwoniella heveanensis* DMKU-CE82 สามารถผลิตไฮเดรอร์โรเฟอร์ซึ่งสร้างเพื่อการใช้เหล็ก ซึ่งอาจส่งเสริมการยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* สายพันธุ์ที่ผลิตแอฟลาท็อกซิน บนเมล็ดข้าวโพด นอกจากนี้ *K. heveanensis* DMKU-CE82 สามารถผลิตเอนไซม์กลูคาเนส (glucanase) ไคตินเนส (chitinase) และเซลลูเลส (cellulase) การเลี้ยงยีสต์ *Kwoniella heveanensis* DMKU-CE82 ร่วมกับ *A. flavus* บนเมล็ดข้าวโพด (ภาพที่ 3.3c, d) ส่งผลให้โครงสร้างเส้นใยของราถูกทำลาย และมีการยับยั้งการสร้างสปอร์ของรา เมื่อเทียบกับผลการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเพาะยีสต์ร่วมด้วย (ภาพที่ 3.3a, b) (Jaibangyang et al. 2021) นอกจากนี้พบว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ผลิตจากยีสต์หลากหลายสายพันธุ์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราก่อโรคในผลิตผลทางการเกษตร และราผลิตสารพิษ (ตารางที่ 3.2) รายงานวิจัยพบว่ายีสต์เอนโดไฟต์ (endophyte) และอีพิไฟต์ (epiphyte) ที่แยกได้จากใบพืชเศรษฐกิจ คือ ข้าว ข้าวโพด

และอ้อยในประเทศไทย สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของ *A. flavus* ได้ รวมทั้งสามารถลดปริมาณของสารพิษแอฟลาท็อกซินในเมล็ดข้าวโพดที่ปนเปื้อน *A. flavus* ได้ โดยจากการศึกษาพบว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหลักที่สร้างจาก *Candida nivariensis* DMKU-CE18 ได้แก่ 1-โพรพานอล-2-เมทิล (1-propanol-2-methyl), 1-บิวทานอล-3-เมทิล-แอซิเตต (1-butanol-3-methyl-acetate) และ 1-โพรพานอล (1-pentanol) ซึ่งยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์รา รวมทั้งช่วยลดปริมาณแอฟลาท็อกซินในข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนรา *A. flavus* A39 ได้ถึง 74.8 ± 6.5 เปอร์เซ็นต์ (Jaibangyang et al. 2020) ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ผลิตจากยีสต์ *Kwoniella heveanensis* DMKU-CE82 ต่อโครงสร้างของรา พบว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ยีสต์สร้างขึ้นสามารถทำลายโครงสร้างเส้นใยของรา และก้านชูสปอร์ รวมทั้งยับยั้งการสร้างสปอร์ของราได้ (ภาพที่ 3.3g, h) (Jaibangyang et al. 2021) และสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายกลุ่มเอสเทอร์ และแอลกอฮอล์ที่สร้างโดยยีสต์ *Wickerhamomyces anomalus* (ชื่อเดิม *Pichia anomala*) 4 สายพันธุ์ (S12, S13, S16 และ S17) *P. kluyveri* 2 สายพันธุ์ (S8Y5 และ S7Y1) และ *Hanseniaspora uvarum* S15Y2 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *A. ochraceus* ในระหว่างกระบวนการผลิตกาแฟซึ่งช่วยป้องกันการผลิตไอคราท็อกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟ โดยพบว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายฟีนิล-เอทิลแอซิเตต (phenyl ethyl acetate) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อใช้ความเข้มข้นของสาร 48 ไมโครกรัมต่อปริมาตรอากาศ 1 ลิตร (Masoud et al. 2005) และมีรายงานว่า 2-ฟีนิลเอทานอล (2-phenylethanol) ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหลักที่ *P. anomala* WRL-076 สร้างขึ้น ส่งผลกระทบต่ออาการงอกของสปอร์ การเจริญ และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แอฟลาท็อกซินของ *A. flavus* ได้ (Hua et al. 2014) เช่นเดียวกับสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่สร้างจากยีสต์ *Hanseniaspora opuntiae* L479 และ *Hanseniaspora uvarum* L793 (ตารางที่ 3.2) ที่ส่งผลต่อการเจริญของ *A. flavus* และการแสดงออกของยีนควบคุมวิถีการสังเคราะห์แอฟลาท็อกซิน (Tejero et al. 2021)



ภาพที่ 3.3 โครงสร้างของ *A. flavus* A39 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy) บนพื้นผิวของเมล็ดข้าวโพด (a-b) ผลการทดลองควบคุมเมื่อบ่มเฉพาะราบนเมล็ดข้าวโพด (c-d) ผลการทดลองเมื่อบ่มราและยีสต์ *Kwonionella heveanensis* DMKU-CE82 ร่วมกันโดยตรง (e-f) ผลการทดลองควบคุมเมื่อบ่มเฉพาะราในการทดสอบฤทธิ์ของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายจากยีสต์ (g-h) ผลของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่ยีสต์สร้างขึ้นในระหว่างการบ่มร่วมกับรา

ที่มา: Jaibangyang et al. (2021)

ตารางที่ 3.2 ยีสต์ผลิตสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งราก่อโรคในผลิตผลทางการเกษตร และราผลิตสารพิษ

ยีสต์	สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหลักที่สร้าง	ราก่อโรค	เอกสารอ้างอิง
<i>Aureobasidium</i> sp. DMKU-PAL120 (รากคล้ายยีสต์)	2-phenylethanol และ 3-methyl-1-butanol	<i>Aspergillus flavus</i>	Nasanit et al. (2022)
<i>Aureobasidium</i> sp. DMKU-PAL144 (รากคล้ายยีสต์)	methyl benzeneacetate และ 3-methyl-1-butanol		
<i>Rhodotorula</i> sp. DMKU-PAL99, <i>Solicoccozyma keelungensis</i> DMKU-PAL84	2-methyl-1-butanol และ 3-methyl-1-butanol		
<i>Aureobasidium pullulans</i> (L1 และ L8) (รากคล้ายยีสต์)	2-phenyl, 1-butanol-3-methyl, 1-butanol-2-methyl และ 1-propanol-2-methyl	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Colletotrichum acutatum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Penicillium digitatum</i> , <i>Penicillium italicum</i>	Di Francesco et al. (2015)
<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ethyl alcohol, 3-methyl-1-butanol, phenylethyl alcohol, ethyl acetate และ isoamyl acetate		Contarino et al. (2019)
<i>Candida friedrichii</i> 778, <i>Candida intermedia</i> 235, <i>Cyberlindnera jadinii</i> 273 <i>Lachancea thermotolerans</i> 751	2-phenylethanol	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i>	Farbo et al. (2018)

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

ยีสต์	สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหลักที่สร้าง	ราก่อโรค	เอกสารอ้างอิง
<i>Candida intermedia</i> C410	1,3,5,7-cyclooctatetraene และ 3-methyl-1-butanol	<i>Botrytis cinerea</i>	Huang et al. (2011)
<i>Candida nivariensis</i> DMKU-CE18	1-propanol-2-methyl, 1-butanol-3-methyl-acetate และ 1-pentanol	<i>Aspergillus flavus</i>	Jaibangyang et al. (2020)
<i>Candida sake</i> (41E และ F36A)	3-methylbutyl hexanoate, 3-methylbutylpentanoate, 2-methylpropyl hexanoate และ pentylhexanoate.	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Alternaria arborescens</i>	Arrarte et al. (2017)
<i>Hanseniaspora opuntiae</i> L479, <i>Hanseniaspora uvarum</i> L793	acetic acid และ 2-methylbutanoic acid, ethyl acetate, isoamyl acetate, 2-phenylethyl acetate, 2-methyl-1-butanol, และ phenethyl alcohol	<i>Aspergillus flavus</i>	Tejero et al. (2021)
<i>Kodamaea ohmeri</i> (DMKU-RE27 และ DMKU-RE65)	3-methyl-1-butanol	<i>Rhizoctonia solani</i>	Khunnamwong et al. (2019)

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

ยีสต์	สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายหลักที่สร้าง	ราก่อโรค	เอกสารอ้างอิง
<i>Kwoniella heveanensis</i> DMKU-CE82	2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol, hydrazine-1-1-dimethyl และ butanoic acid-3-methyl	<i>Aspergillus flavus</i>	Jaibangyang et al. (2021)
<i>Pichia anomala</i> (S12, S13, S16, S17), <i>P. kluyveri</i> (S8Y5, S7Y1), <i>Hanseniaspora uvarum</i> (S15Y2)	ethyl acetate, isobutyl acetate, 2-phenyl ethyl acetate, ethyl propionate และ isoamyl alcohol	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Masoud et al. (2005)
<i>Pichia anomala</i> (WRL-076)	2-phenylethanol	<i>Aspergillus flavus</i>	Hua et al. (2014)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3-methyl-1-butanol และ 2-methyl-1-butanol	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Colletotrichum acutatum</i>	Rezende et al. (2015)
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> (YCXT3)	2-ethyl-1-hexanol	<i>Botrytis cinerea</i>	Huang et al. (2012)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ethyl acetate	<i>Botrytis cinerea</i>	Oro et al. (2018)
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> (DMKU-RE13, DMKU-CE52)	3-methyl-1-butyl acetate และ 3-methyl-1-butanol	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Fusarium moniliforme</i>	Khunnamwong et al. (2019)

การควบคุมทางชีวภาพของราผลิตแอฟลาท็อกซินโดยยีสต์ปฏิปักษ์

จากข้อมูลกลไกการควบคุมทางชีวภาพต่าง ๆ ของยีสต์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งราก่อโรคในผลิตผลทางการเกษตรที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น แม้ปัจจุบันจะยังไม่รู้รายละเอียดกลไกที่สมบูรณ์เนื่องจากข้อจำกัดและความยากในระหว่างการศึกษาการปฏิสัมพันธ์ที่ซับซ้อนระหว่างพืชเจ้าบ้าน (host) เชื้อก่อโรค เชื้อปฏิปักษ์ และเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่อาศัยร่วมด้วย อย่างไรก็ตามมีกลไกการควบคุมทางชีวภาพหลายกลไกที่อาจเป็นไปได้สำหรับการควบคุมราผลิตแอฟลาท็อกซิน โดยรายงานวิจัยของ Hua et al. (1999) พบว่ายีสต์ที่แยกจากพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนแอฟลาท็อกซินสามารถลดระดับของกรดนอร์โซโลโรนิก (norsolorinic acid) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของแอฟลาท็อกซิน นอกจากนี้ใบพืชก็เป็นแหล่งสำหรับแยกยีสต์ปฏิปักษ์ที่ต้านต่อราหลายชนิด รวมทั้งราผลิตแอฟลาท็อกซิน (Limtong and Nasanit 2017; Into et al. 2020; Jaibangyang et al. 2020; Nasanit et al. 2022)

การปนเปื้อนของราและสารพิษจากราในผลิตผลทางการเกษตรอาจเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยว (preharvest) และหลังการเก็บเกี่ยว (postharvest) ดังนั้นการศึกษาวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมหรือยับยั้งราเหล่านี้ ซึ่งนำไปสู่การลดการปนเปื้อนของสารพิษได้อย่างมีประสิทธิภาพจึงเป็นสิ่งจำเป็น โดยทั่วไปการควบคุมทางชีวภาพของผลิตผลทางการเกษตรอาจทำได้ 2 แนวทาง คือ การใช้ก่อนการเก็บเกี่ยวและการใช้หลังการเก็บเกี่ยว

การใช้ก่อนการเก็บเกี่ยว

การควบคุมทางชีวภาพก่อนการเก็บเกี่ยวมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันราที่อาศัยอยู่ในพื้นที่การเพาะปลูกที่นำไปสู่การปนเปื้อนของราในพืช เช่น การติดเชื้อรา *Aspergillus* spp. ในดอกข้าวโพดในแปลงปลูกส่งผลให้เกิดการเจริญของราในระหว่างการเก็บรักษาผลผลิตและนำไปสู่การปนเปื้อนแอฟลาท็อกซินในข้าวโพด (Sarrocchio and Vannacci 2018) โดยกลไกควบคุมทางชีวภาพก่อนการเก็บเกี่ยวที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็นการแข่งขันการใช้สารอาหารจากพืช (Yin et al. 2008) ผลการทดสอบการควบคุมทางชีวภาพในพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดและถั่ว ด้วย *A. flavus* และ *A. parasiticus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารพิษ แสดงให้เห็นว่าปริมาณของแอฟลาท็อกซินลดลงอย่างมีนัยสำคัญถึงประมาณ 60–90 เปอร์เซ็นต์ (Abbas et al. 2006; Dorner 2009)

การใช้หลังการเก็บเกี่ยว

การควบคุมทางชีวภาพหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญของราที่ปนเปื้อนผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว และเพื่อลดการปนเปื้อนของสารพิษในผลผลิต การควบคุมเพื่อ

ยับยั้งการเจริญของรา อาจทำได้โดยการสเปรย์เชื้อปฏิปักษ์ หรือจุ่มแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อปฏิปักษ์ ตัวอย่างเช่น รายงานวิจัยโดย Velmourougane et al. (2011) แสดงให้เห็นว่า *S. cerevisiae* สามารถลดการปนเปื้อนของรา *A. niger* และ *A. ochraceus* และลดปริมาณของโคโนราที่ออกซิน เอ ในเมล็ดกาแฟกะลาและผลกาแฟได้อย่างมีนัยสำคัญโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพและกลิ่นรสของกาแฟ เมื่อแช่เมล็ดกาแฟกะลาและผลกาแฟในบ่อคอนกรีตที่มียีสต์ (10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้การบ่มเมล็ดกาแฟในภาวะที่มีสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่มีฤทธิ์ปฏิปักษ์ต่อราสร้างสารพิษในบรรยากาศสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของรา และการผลิตสารพิษได้เช่นกัน โดย Jaibangyang et al. (2021) แสดงให้เห็นว่าสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายที่สร้างจากยีสต์ปฏิปักษ์หลายสายพันธุ์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ และการงอกของสปอร์ *A. flavus* รวมทั้งช่วยลดปริมาณแอฟลาท็อกซินในเมล็ดข้าวโพดได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานจำนวนหนึ่งแสดงให้เห็นว่ายีสต์ปฏิปักษ์บางชนิดสามารถลดการปนเปื้อนของสารพิษที่สร้างจากราได้โดยเมแทบอลิซึม ซึ่งสามารถเปลี่ยนโครงสร้างสารพิษให้อยู่ในรูปของสารประกอบที่ไม่เป็นพิษ จึงช่วยลดผลกระทบที่อันตรายของสารพิษเหล่านั้นต่อผู้บริโภค (Taheur et al. 2019) ตัวอย่างเช่น *S. cerevisiae* หลายสายพันธุ์สามารถลดความเป็นพิษของแอฟลาท็อกซินได้ (Chlebicz et al. 2019)

แม้จะมีผลการศึกษามากมายแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการควบคุมทางชีวภาพ หลังการเก็บเกี่ยวด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด อย่างไรก็ตามการค้นหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพด้านราผลิตสารพิษได้หลากหลายชนิดนั้นค่อนข้างยาก ดังนั้นการแยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพียงอย่างเดียวคงไม่เพียงพอ การใช้จุลินทรีย์ควบคุมทางชีวภาพร่วมกับวิธีการควบคุมอื่น ๆ จึงเป็นแนวทางที่ใช้กันโดยทั่วไปในปัจจุบัน ซึ่งสามารถส่งเสริมประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพได้เป็นอย่างดี วิธีการเหล่านี้ ได้แก่ การปฏิบัติทางเกษตรที่ดี (good agricultural practices) มีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของราและการผลิตสารพิษในห่วงโซ่อาหาร ได้แก่ ปัจจัยทางชีวภาพ เช่น ความแข็งแรงของพืช ราสร้างสารพิษที่เข้ากันได้กับพืชนั้น และปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม อุณหภูมิและความชื้นในระหว่างการเก็บเกี่ยว ตลอดจนการเก็บรักษา ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่อาจส่งผลต่อการเจริญของราและการผลิตสารพิษในผลิตผลทางการเกษตรระหว่างการเก็บรักษา โดยภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเมล็ดพืชเพื่อลดการเจริญของราอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 10 ถึง 35 องศาเซลเซียส ในระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (Montross et al. 1999; Williams and McDonald 1983) ความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้รา *A. flavus* และ *A. parasiticus* บางสายพันธุ์ผลิตสารพิษแอฟลาท็อกซิน (Boller and Schroeder 1974; Northolt et al. 1977; Marin et al. 1998) ดังนั้นการปฏิบัติทางเกษตรที่ดีตั้งแต่เริ่มต้นเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว จนกระทั่งการเก็บรักษาผลิตผลควบคู่กับการควบคุมทางชีวภาพสามารถลดการปนเปื้อนและความเสียหายของผลิตผล

ทางการเกษตร (Wilson et al. 2006; Blandino et al. 2009) นอกจากนั้นการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดร่วมกัน (antagonist mixture) วิธีการนี้มีข้อดี คือ ช่วยเพิ่มศักยภาพการควบคุมเชื้อก่อโรคได้หลากหลายชนิด เพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมจากกลไกการออกฤทธิ์ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิด และช่วยลดการสูญเสียประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อก่อโรคอันเนื่องมาจากสภาพสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิด (Calvo et al. 2003) การใช้สารเติมแต่งทางชีวภาพ (biological agent additive) เช่น เกลือ น้ำตาล เอทานอล ซิลิโคน (silicone) ไนซิน (nisin) ไคโตซาน (chitosan) สารเติมแต่งเหล่านี้สามารถส่งเสริมประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ (Janisiewicz and Conway 2010) และการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับวิธีการอื่น ๆ เช่น วิธีการทางเคมี วิธีการทางกายภาพ (Lima et al. 2006) อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพโดยยีสต์ได้

นอกจากนี้วิธีการหนึ่งที่น่าจะได้รับความสนใจในอนาคตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมทางชีวภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ คือการปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อให้เหมาะสมต่อการพัฒนาของเชื้อก่อโรค (Spadaro and Gullino 2004)

เอกสารอ้างอิง

- Abbas HK. 2005. Aflatoxin and food safety. CRC Press. Boca Raton.
- Abbas HK, Zablotowicz RM, Bruns HA, Abel CA. Biocontrol of aflatoxin in corn by inoculation with non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* isolates. *Biocontrol Sci Technol.* 2006;16(5):437–449
- Abdel-Hadi A, Schmidt-Heydt M, Parra R, Geisen R, Magan N. A systems approach to model the relationship between aflatoxin gene cluster expression, environmental factors, growth and toxin production by *Aspergillus flavus*. *J R Soc Interface.* 2012;9(69):757–767
- Afsah-Hejri L. Saprophytic yeasts: effective biocontrol agents against *Aspergillus flavus*. *Int Food Res J.* 2013;20(6):3403–3409
- Akhtar S, Shahzad M A, Yoo S, Ismail A. Determination of aflatoxin M1 and heavy metals in infant formula milk brands available in Pakistani markets. *Korean J Food Sci An.* 2017;37(1):79–86
- Arrarte E, Garmendia G, Rossini C, Wisniewski M, Vero S. Volatile organic compounds produced by Antarctic strains of *Candida sake* play a role in the control of postharvest pathogens of apples. *Biol Control.* 2017;109:14–20
- Blandino M, Reyneri A, Vanara F, Tamietti G, Pietri A. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection, fumonisin and deoxynivalenol contamination of maize kernels. *World Mycotoxin J.* 2009;2(4):409–418

- Boller R, Schroeder H. Influence of relative humidity on production of aflatoxin in rice by *Aspergillus parasiticus*. *Phytopathology*. 1974;64:17–21
- Calvo–Garrido C, Teixido N, Roudet J, Vinas I, Usall J, Fermaud M. Biological control of *Botrytis* bunch rot in Atlantic climate vineyards with *Candida sake* CPA–1 and its survival under limiting conditions of temperature and humidity. *Biol Control*. 2014;79:24–35
- Calvo J, Calvente V, de Orellano ME, Benuzzi D, de Tosetti MIS. Improvement in the biocontrol of postharvest diseases of apples with the use of yeast mixtures. *BioControl*. 2003;48:579–593
- Chlebicz A, Slizewska K. *In vitro* detoxification of aflatoxin B1, deoxynivalenol, fumonisins, T–2 toxin and zearalenone by probiotic bacteria from genus *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Probiotics Antimicro*. 2019;12(1):289–301
- Contarino R, Brighina S, Fallico B, Cirvilleri G, Parafati L, Restuccia C. Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. *Food Microbiol*. 2019;82:70–74
- Di Francesco A, Ugolini L, Lazzeri L, Mari M. Production of volatile organic compounds by *Aureobasidium pullulans* as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens. *Biol Control*. 2015;81:8–14
- Dorner JW. Biological control of aflatoxin contamination in corn using a nontoxigenic strain of *Aspergillus flavus*. *J Food Prot*. 2009;72(4):801–804
- Ehrlich KC. Non aflatoxigenic *Aspergillus flavus* to prevent aflatoxin contamination in crops: advantages and limitations. *Front Microbiol*. 2014;5:50;doi: 10.3389/fmicb.2014.00050.
- Farbo MG, Urgeghe PP, Fiori S, Marcello A, Oggiano S, Balmas V, Hassan ZU, Jaoua S, Migheli Q. Effect of yeast volatile organic compounds on ochratoxin A–producing *Aspergillus carbonarius* and *A. ochraceus*. *Int J Food Microbiol*. 2018;284:1–10
- FDA. 2020. Chemical hazards. Available in: <https://www.fda.gov/animal–veterinary/biological–chemical–and–physical–contaminants–animal–food/chemical–hazards>. Accessed on 30 April. 2020.
- Guchi E. Implication of aflatoxin contamination in agricultural products. *Am J Food Nutr*. 2015;3(1):12–20
- Henry SH, Bosch FX, Troxell TC, Bolger PM. Reducing liver cancer–global control of aflatoxins. *Science*. 1999;286(5449):2453–2454
- Hua SST, Baker JL, Flores–Espiritu M. Interactions of saprophytic yeasts with a nor mutant of *Aspergillus nidulans*. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65(6):2738–2740
- Hua SST, Beck JJ, Sarreal SBL, Gee W. The major volatile compound 2–phenylethanol from the biocontrol yeast, *Pichia anomala*, inhibits growth and expression of aflatoxin biosynthetic genes of *Aspergillus flavus*. *Mycotoxin Res*. 2014;30(2):71–78

- Huang R, Che HJ, Zhang J, Yang L, Jiang DH, Li GQ. Evaluation of *Sporidiobolus pararoseus* strain YCXT3 as biocontrol agent of *Botrytis cinerea* on post-harvest strawberry fruits. *Biol Control*. 2012;62(1):53–63
- Huang R, Li G, Zhang J, Yang L, Che H, Jiang D, Huang H. Control of postharvest *Botrytis* fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology*. 2011;101(7):859–869
- IARC. 2002. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 82, some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene, IARC Press. Lyon. pp. 171–274.
- Into P, Khunnamwong P, Jindamoragot S, Am-in S, Intanoo W, Limtong S. Yeast associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. *Microorganisms*. 2020;8(3):362;doi:10.3390/microorganisms8030362.
- Isakeit T. 2012. Prevention of aflatoxin contamination of corn using af-36 or afla-guard®. Available in: http://amarillo.tamu.edu/files/2010/11/09_FS_FC004_Atoxigenic.pdf. Accessed on 9 May. 2020.
- Jaibangyang S, Nasanit R, Limtong S. Biological control of aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* by volatile organic compound-producing antagonistic yeasts. *BioControl*. 2020;65:377–386
- Jaibangyang S, Nasanit R, Limtong S. Effects of temperature and relative humidity on Aflatoxin B1 reduction in corn grains and antagonistic activities against aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* by a volatile organic compound-producing yeast, *Kwoniella heveanensis* DMKU-CE82. *BioControl*. 2021;66:433–443
- Janisiewicz WJ, Conway WS. Combining biological control with physical and chemical treatments to control fruit decay after harvest. *Stewart Postharvest Rev*. 2010;6(1):1–16
- Janisiewicz WJ, Korsten L. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu Rev Phytopathol*. 2002;40:411–441
- Janisiewicz WJ, Leverentz B, Conway WS, Saftner RA, Reed AN, Camp MJ. Control of bitter rot and blue mold of apples by integrating heat and antagonist treatments on 1-MCP treated fruit stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biol Tec*. 2003;29(2):129–143
- Khunnamwong P, Lertwattanasakul N, Jindamorakot S, Suwannarach N, Matsui K, Limtong S. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. *Folia Microbiol*. 2019;65:573–590
- Koppen R, Koch M, Siegel D, Merkel S, Maul R, Nehls I. Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010;86(6):1595–1612

- Kurtzman CP, Droby S. *Metschnikowia fructicola*, a new ascosporic yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots. *Syst Appl Microbiol*. 2001;24(3):395–399
- Lima G, De Curtis F, Piedimonte D, Spina AM, De Cicco V. Integration of biocontrol yeast and thiabendazole protects stored apples from fungicide sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biol Tec*. 2006;40(3):301–307
- Limtong S, Nasanit R. 2017. Phylloplane yeasts in tropical climates. In P. Buzzini, M.A. Lachance and A. Yurkov. (eds). *Yeasts in natural ecosystems: Diversity*. Springer, Cham. pp. 199–223.
- Magan N, Aldred D. 2007. Why do fungi produce mycotoxins? In J. Dijksterhuis and R.A. Samson (eds). *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food*, CRC Press, Boca Raton. pp. 121–133.
- Magan N, Hope R, Cairns V, Aldred D. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *Eur J Plant Pathol*. 2003;109:723–730
- Mannaa M, Kim KD. Microbe-mediated control of mycotoxigenic grain fungi in stored rice with focus on aflatoxin biodegradation and biosynthesis inhibition. *Mycobiology*. 2016;44(2):67–78
- Marin S, Companys E, Sanchis V, Ramos A, Magan N. Effect of water activity and temperature on competing abilities of common maize fungi. *Mycol Res*. 1998;102(8):959–964
- Masoud W, Poll L, Jakobsen M. Influence of volatile compounds produced by yeasts predominant during processing of *Coffea arabica* in East Africa on growth and ochratoxin A (OTA) production by *Aspergillus ochraceus*. *Yeast*. 2005;22(14):1133–1142
- Min WK, Kwein DH, Park K, Park YC, Seo JH. Characterisation of monoclonal antibody against aflatoxin B1 produced in hybridoma 2C12 and its single-chain variable fragment expressed in recombinant *Escherichia coli*. *Food Chem*. 2011;126(3):1316–1323
- Montross JE, Montross MD, Bakker-Arkema FW. Grain storage. In: Bakker-Arkema FW, editor. *CIGR handbook of agricultural engineering*. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineering; 1999. p. 46–59.
- Moral J, Garcia-Lopez MT, Camiletti BX, Jaime R, Michailides TJ, Bandyopadhyay R, Ortega-Beltran A. Present status and perspective on the future use of aflatoxin biocontrol products. *Agron*. 2020;10(4):491;doi:10.3390/agronomy10040491.
- Nasanit R, Jaibangyang S, Onwibunsiri T, Khunnamwong P. Screening of volatile organic compound-producing yeasts and yeast-like fungi against aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Microbiol Biotechnol Lett*. 2022;50:202–210

- Niknejad F, Zaini F, Faramarzi MA, Amini M, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Safara M. *Candida parapsilosis* as a potent biocontrol agent against growth and aflatoxin production by *Aspergillus* species. Iranian J Publ Health. 2012;41(10):72–80
- Northolt MD, van Egmond HP, Paulsch WE. Differences between *Aspergillus flavus* strains in growth and aflatoxin B1 production in relation to water activity and temperature. J Food Prot. 1977;40(11):778–781
- Oro L, Feliziani E, Ciani M, Romanazzi G, Comitini F. Volatile organic compounds from *Wickerhamomyces anomalus*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* inhibit growth of decay causing fungi and control postharvest diseases of strawberries. Int J Food Microbiol. 2018;265:18–22
- Panrapee I, Kooprasertying O, Thanapoom M, Nampeung A, Warapa M. Exposure to aflatoxin B1 in Thailand by consumption of brown and color rice. Mycotoxin Res. 2016;32(1):19–25
- Peromingo B, Andrade MJ, Delgado J, Sánchez–Montero L, Núñez F. Biocontrol of aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* by native *Debaryomyces hansenii* in dry–cured meat products. Food Microbiology. 2019;82:269–276
- Ponsone ML, Chiotta ML, Combina M, Dalcero A, Chilze S. Biocontrol as a strategy to reduce the impact of ochratoxin A and *Aspergillus* section *Nigri* in grapes. Int J Food Microbiol. 2011;151(1):70–77
- Ren X, Zhang Q, Zhang W, Mao J, Li P. Control of aflatoxigenic molds by antagonistic microorganisms: Inhibitory behaviors, bioactive compounds, related mechanisms, and influencing factors. Toxins. 2020;12(1):24
- Rezende DC, Fialho MB, Brand SC, Blumer S, Pascholati SF. Antimicrobial activity of volatile organic compounds and their effect on lipid peroxidation and electrolyte loss in *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* mycelia. Afr J Microbiol Res. 2015;9(23):1527–1535
- Sarrocco S, Vannacci G. Preharvest application of beneficial fungi as a strategy to prevent postharvest mycotoxin contamination: A review. Crop Prot. 2018;110:160–170
- Schmidt–Heydt M, Abdel–Hadi A, Magan N, Geisen R. Complex regulation of the aflatoxin biosynthesis gene cluster of *Aspergillus flavus* in relation to various combinations of water activity and temperature. Int J Food Microbiol. 2009;135(3):231–237
- Songsermsakul P. Mycotoxins contamination of food in Thailand (2000–2010): Food safety concerns for the world food exporter. Int Food Res J. 2015;22(2):426–434
- Spadaro D, Gullino ML. State of the art and future prospects of biological control of postharvest fruit diseases. Int J Food Microbiol. 2004;91(2):185–194

- Taheur FB, Kouidhi B, Al Qurashi YMA, Ben Salah-Abbes J, Chaieb K. Review: Biotechnology of mycotoxins detoxification using microorganisms and enzymes. *Toxicon*. 2019;160:12–22
- Tejero P, Martín A, Rodríguez A, Galván AI, Ruiz-Moyano S, Hernández A. *In vitro* biological control of *Aspergillus flavus* by *Hanseniaspora opuntiae* L479 and *Hanseniaspora uvarum* L793, producers of antifungal volatile organic compounds. *Toxins*. 2021;13(9):663
- Udomkun P, Wiredu AN, Nagle M, Muller J, Vanlauwe B, Bandyopadhyay R. Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application – A review. *Food Control*. 2017;76:127–138
- Velmourougane K, Bhat R, Gopinandhan TN, Panneerselvam P. Management of *Aspergillus ochraceus* and ochratoxin-A contamination in coffee during on-farm processing through commercial yeast inoculation. *Biol Control*. 2011;57(3):215–221
- Waenlor W, Wiwanitkit V. Aflatoxin contamination of food and food products in Thailand: an overview. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2003;34:184–190
- Williams R, McDonald D. Grain molds in the tropics: problems and importance. *Ann Rev of Phytopathol*. 1983;21(1):153–178
- Wilson CL, Pusey PL. Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Dis*. 1985;69:375–378
- Wilson JP, Jurjevic Z, Hanna WW, Wilson DM, Potter TL, Coy AE. Host-specific variation in infection by toxigenic fungi and contamination by mycotoxins in pearl millet and corn. *Mycopathologia*. 2006;161(2):101–107
- World Health Organization. 2018. Aflatoxin. In: Food safety digest. DIALOG. Available in: https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_EN.pdf?fbclid=IwAR23wb_6iGDd-MFJVJKRXTM11qEK7_n9BSw4QZr89yTocEpUlxqpVoNt5T8. Accessed on 30 April 2020.
- Yin Y-N, Yan L-Y, Jiang J-H, Ma Z-H. Biological control of aflatoxin contamination of crops. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2008;9(10):787–792

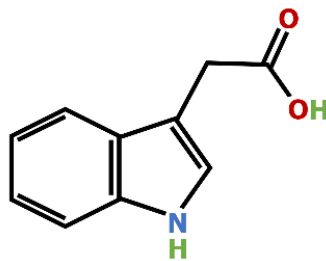
4

การผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยยีสต์

นันทนา สีสุข

ช่วงปลายศตวรรษที่ 19 นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมนี ชื่อ Julian von Sachs รายงานการค้นพบออกซินซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชชนิดแรก โดยพบว่าสร้างขึ้นภายในพืชแล้วจึงส่งต่อไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืชเพื่อตอบสนองต่อแสงและแรงโน้มถ่วงของโลก ต่อมา Charles Darwin และ Francis Darwin สนับสนุนรายงานการค้นพบออกซิน โดยสังเกตเห็นการโค้งงอของพืชเข้าหาแสงที่เกิดเนื่องมาจากสัญญาณ (signal) บางอย่างภายในต้นพืช ซึ่งภายหลังทราบว่าสัญญาณนั้น คือ กรดอินโดล-3-แอซีติก (indole-3-acetic acid, IAA) (Spartz and Gray 2008; Masuda and Kamisaka 2000)

กรดอินโดล-3-แอซีติก จัดอยู่ในกลุ่มของออกซินซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบอินโดลที่มีความสำคัญและพบมากที่สุด สูตรโมเลกุลของกรดอินโดล-3-แอซีติก คือ $C_{10}H_9NO_2$ และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 175.18 กรัมต่อโมล โครงสร้างของกรดอินโดล-3-แอซีติกมีลักษณะเป็นวงแหวนอินโดล (indole ring) ที่ไม่อิ่มตัว (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 โครงสร้างของกรดอินโดล-3-แอซีติก

กรดอินโดล-3-แอซีติกนอกจากผลิตได้โดยพืชแล้ว ยังมีจุลินทรีย์อีกหลายชนิดทั้งแบคทีเรีย แอ็กทีโนแบคทีเรีย ยีสต์ และราเส้นใยที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ โดยอาจเป็นจุลินทรีย์ที่ดำรงชีวิตแบบอิสระ (free living microbe) และจุลินทรีย์มีการเจริญเกี่ยวข้องกับพืช (plant associated microbe) จุลินทรีย์เหล่านี้ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ปริมาณต่างกันและผลิตได้ดีที่สภาพแวดล้อมแตกต่างกันด้วย ชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกส่วนใหญ่เกิดขึ้นได้โดยมีแอล-ทริปโทเฟน (L-tryptophan) เป็นสารตั้งต้น (precursor) จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่กับพืชได้รับแอล-

ทริโอฟเอนที่พืชปลดปล่อยออกมาบริเวณราก (Ahmad et al. 2005) จุลินทรีย์จึงนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อการสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกแล้วปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ สำหรับจุลินทรีย์ที่มีถิ่นอาศัยร่วมกับพืชผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกออกมาเพื่อทำหน้าที่เป็นสารสื่อสัญญาณที่มีบทบาทสำคัญช่วยการสื่อสารระหว่างพืชและจุลินทรีย์ รวมทั้งช่วยส่งเสริมการเติบโตของพืชด้วย (Spaepen et al. 2007; Sessitsch et al. 2004)

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ที่ผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกได้ โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช (rhizobacteria) และช่วยส่งเสริมการเติบโตของพืช จึงเรียกว่าเป็นแบคทีเรียรากพืชที่ส่งเสริมการเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria) เรียกย่อว่า พีจีพีอาร์ (PGPR) แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Agrobacterium*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Azotobacter* และ *Pseudomonas* (Lindow et al. 1998; Shokri and Emtiazi 2010) คุณสมบัติหนึ่งของแบคทีเรียกลุ่มพีจีพีอาร์ คือ การสร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกที่มีผลช่วยกระตุ้นการยืดขยายของเซลล์พืชและเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์พืชเจ้าบ้านเพื่อการดูดซึมแร่ธาตุและสารอาหารในดิน (Shokri and Emtiazi 2010) นอกจากนี้แบคทีเรียแล้ว ยังมีรายงานว่าแอ็กทีโนแบคทีเรีย เช่น *Streptomyces olivaceoviridis*, *S. rimosus*, *S. griseoviridis* K61, *S. lydicus* ซึ่งแยกได้จากดินรอบรากพืช สามารถผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกได้เช่นกัน (Khamna et al. 2010)

ราเป็นจุลินทรีย์ยูแคริโอตที่ผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกได้ โดยตัวอย่างของราเส้นใยและเห็ดที่ผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกได้ ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* (Maor et al. 2004), *Ustilago maydis* (Reineke et al. 2008), *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Paecilomyces* sp. (Ruanpanun et al. 2010), *Pleurotus ostreatus* (Bose et al. 2013), *Phanerochaete chrysosporium* (Yurekli et al. 2003) และ *Fusarium oxysporum* (Mehmood et al. 2018) ส่วนยีสต์หลายชนิดมีรายงานว่าผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกได้ ได้แก่ *Cyberlindnera saturnus* (ชื่อเดิม *Williopsis saturnus*) (Nassar et al. 2005), *Rhodotorula glutinis*, *Rh. graminis*, *Rh. mucilaginosa* (Xin et al. 2009; Ignatova et al. 2015), *Candida tropicalis* (Amprayn et al. 2012), *C. maltose* (Limtong and Koowadjanakul 2012), *Hannaella sinensis*, *Cryptococcus flavus*, *Rhodotorula paludigena* (ชื่อเดิมคือ *Rhodospidium paludigenum*), *Torulasporea globosa* (Nutaratat et al. 2014), *Hannaella coprosmaensis* และ *Pseudozyma aphidis* (Sun et al. 2014; Fu et al 2016) การศึกษาเกี่ยวกับการผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์ขยายวงมากขึ้นตลอดช่วงระยะเวลาสิบปีที่ผ่านมา โดยในบทนี้จะได้กล่าวถึงความก้าวหน้าของการผลิตและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตรวดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์ต่อไป

นอกจากราเส้นใยและยีสต์แล้วยังพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตยูแคริโอตในอาณาจักร *Plantae* สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ เช่น *Cladophora glomerata* (GórkaPiotr and Wieczorek 2017), *Scenedesmus armatus*, *Chlorella pyrenoidosa* (Mazur et al. 2001), *S. obliquus* (Prieto et al. 2011) อย่างไรก็ตามพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกในสาหร่ายขนาดเล็กยังไม่แพร่หลายมากนักเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์กลุ่มอื่น

จากที่กล่าวข้างต้นจะพบว่าจุลินทรีย์ทั้งโพรแคริโอตและยูแคริโอต รวมทั้งสาหร่ายขนาดเล็กสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ แต่ปริมาณการผลิตโดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับภาวะและระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และความสามารถใช้สารอาหารของจุลินทรีย์ รวมทั้งสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ด้วย

บทบาทของกรดอินโดล-3-แอซีติกในพืชและจุลินทรีย์

กรดอินโดล-3-แอซีติกมีบทบาทสำคัญในพืช ช่วยส่งเสริมการเติบโตของพืชโดยควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา คือ การแบ่งเซลล์ การยืดยาวออกของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในการเติบโต และการตอบสนองต่อแสงและแรงโน้มถ่วง (Teale et al. 2006) กรดอินโดล-3-แอซีติกช่วยกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของราก ใบ และดอก (Phillips et al. 2011) โดยจะช่วยกระตุ้นการเกิดรากแขนงเฉพาะในพืชใบเลี้ยงคู่ แต่สำหรับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวพบว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดรากพิเศษ (Mc Steen 2010) นอกจากนี้กรดอินโดล-3-แอซีติกยังมีส่วนช่วยให้เกิดการเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญ (cambium) และการพัฒนาระบบท่อลำเลียง ส่วนในพืชตระกูลสนและพืชดอกนั้น พบว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกช่วยกระตุ้นการสร้างผนังเซลล์ทุติยภูมิ (secondary wall) ให้หนาขึ้น และเพิ่มขนาดเซลล์บริเวณท่อน้ำ ช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเยื่อเจริญทำให้พืชมีเนื้อไม้มากขึ้น เกิดการเติบโตด้านข้างเพิ่มขึ้น (Uggla et al. 1996) กรดอินโดล-3-แอซีติกยังทำหน้าที่เป็นสารสื่อสัญญาณกรณีที่เกิดความบกพร่องของการเติบโตหลักเลี้ยงร่วมไม้อื่น มีรายงานว่าพืชที่ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกได้จะสูญเสียความสามารถในการเติบโตที่ร่วมและจะเจริญแบบแคระแกรนในที่สุด (Tao et al. 2008) กรดอินโดล-3-แอซีติกยังควบคุมการร่วงหล่นของใบพืชและการสุกงอมของผลไม้ ช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดและส่วนหัวของพืชที่อยู่ใต้ดิน เพิ่มอัตราการพัฒนารากของท่อลำเลียงน้ำและราก ควบคุมการเติบโตของลำต้น ควบคุมการเกิดตาข้าง (lateral bud) กระตุ้นการสร้างรากแขนงและรากที่เกิดจากส่วนอื่น ๆ ของพืช ออกซินในปริมาณที่พอเหมาะจะช่วยกระตุ้นการเกิดรากสำหรับการตอน การปักชำกิ่ง และการบานของดอกไม้ มีผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การสร้างเม็ดสี การสังเคราะห์สารต่าง ๆ และความต้านทานต่อภาวะเครียดต่าง ๆ ของพืช (Glick 2012)

การศึกษาเกี่ยวกับต้นกล้าของ *Arabidopsis* ที่เลี้ยงให้เติบโตพร้อมกับยีสต์และราคล้ายยีสต์ (yeast-like fungi) พบว่าการดอินโดล-3-แอซีติกที่สร้างจากยีสต์และราคล้ายยีสต์ที่ศึกษามีส่วนช่วยปรับระบบโครงสร้างรากของ *Arabidopsis* ได้โดยราคล้ายยีสต์ *Ustilago esculenta* JYC070 และยีสต์ *Hannaella coprosmaensis* YL-10 ทำให้เกิดการยับยั้งการยืดยาวของรากแก้ว และ *U. esculenta* JYC070 ช่วยเพิ่มจำนวนรากแขนงได้มากขึ้นถึงสิบเท่า นอกจากนี้กรดอินโดล-3-แอซีติกที่ยีสต์และราคล้ายยีสต์สร้างขึ้นยังช่วยกระตุ้นการแสดงออกของยีนในพืชที่เป็นยีนเครื่องหมายที่เหนี่ยวนำโดยออกซิน (auxin inducible gene marker) ด้วย (Sun et al. 2014)

การตอบสนองของพืชต่อสารควบคุมการเติบโตของพืชจะขึ้นกับปริมาณของสารที่ได้รับ (dose-response) ซึ่งลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเติบโตกับการแสดงผลตอบสนองของพืชจะมีรูปร่างเป็นระฆังคว่ำ โดยเมื่อมีสารที่ระดับความเข้มข้นต่ำการตอบสนองของพืชจะเกิดผลเชิงบวก คือ การกระตุ้นให้มีการตอบสนองเพิ่มขึ้น แต่เมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจนกระทั่งสูงสุดจากนั้นจะเริ่มมีผลเชิงลบ คือการยับยั้งการเติบโต เช่น ออกซินความเข้มข้นต่ำช่วยกระตุ้นความยาวของราก แต่เมื่อมีออกซินความเข้มข้นที่สูงมาก ๆ จะส่งผลยับยั้งความยาวของราก (Madhaiyan et al. 2007)

สำหรับบทบาทของกรดอินโดล-3-แอซีติกต่อจุลินทรีย์นั้น มีรายงานว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกมีส่วนกระตุ้นการยืดยาวของเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) และการสร้างสปอร์ของ *Streptomyces* spp. (Matsukawa et al. 2007) การศึกษาการเจริญของยีสต์และราคล้ายยีสต์ที่อาศัยร่วมกับพืชกินแมลง (Sun et al. 2014) พบว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกความเข้มข้น 5,000 มิลลิโมลาร์ ส่งผลยับยั้งการเจริญของยีสต์และราเส้นใยเกือบทั้งหมดที่แยกได้จากใบพืชกินแมลงนั้น โดยกรดอินโดล-3-แอซีติกความเข้มข้นต่ำ (312.5–625 มิลลิโมลาร์) จะช่วยส่งเสริมการเจริญ หรือไม่มีผลยับยั้งราในไฟลัม *Ascomycota* ที่พบเพียง 2 ชนิด ขณะที่กรดอินโดล-3-แอซีติกความเข้มข้นสูง (1,250–5,000 มิลลิโมลาร์) ยับยั้งการเจริญของยีสต์ 2 ชนิดนี้ได้ ขณะที่ยีสต์และราคล้ายยีสต์ในไฟลัม *Basidiomycota* ซึ่งพบถึง 9 สปีชีส์มีการตอบสนองต่อกรดอินโดล-3-แอซีติกแบบไม่ขึ้นกับสปีชีส์และสายพันธุ์เลย มีรายงานว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกยังทำให้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* มีการเจริญเป็นเส้นใยหรือเส้นใยเทียมที่ผิดปกติไป (Prusty et al. 2004) นอกจากนี้ Rao et al. (2010) ยังพบว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญปลายยอดของเส้นใย (hyphal tip growth) ในยีสต์ *Candida albicans* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในคน ดังนั้นกรดอินโดล-3-แอซีติกจึงอาจเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่สื่อสัญญาณและควบคุมการเปลี่ยนรูปร่างจากลักษณะเซลล์เดี่ยวไปเป็นเส้นใยแล้วส่งผลต่อความรุนแรงของเชื้อก่อโรค เช่น *C. albicans* ได้

วิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติก

การศึกษาวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกของจุลินทรีย์ แสดงให้เห็นว่าวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกที่พบในแบคทีเรีย ราเส้นใย ยีสต์ สาหร่ายขนาดเล็ก และพืช นั้น มีสายวิวัฒนาการที่เป็นอิสระแตกต่างกัน แต่มีการศึกษาที่บ่งชี้ว่ากรดอินโดล-3-แอซีติกที่พืชสร้างขึ้นมีส่วนควบคุมการตอบสนองทางกายภาพของจุลินทรีย์และการแสดงออกของยีนในจุลินทรีย์ ซึ่งการมีวิวัฒนาการที่มาบรรจบกันเช่นนี้นำไปสู่สมมติฐานว่า การคัดเลือกโดยธรรมชาติ (natural selection) ทำให้กรดอินโดล-3-แอซีติกเป็นเสมือนรหัสทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับพืช (Fu et al. 2015)

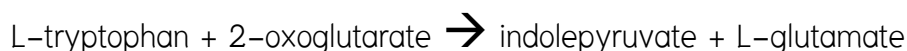
จุลินทรีย์หลายชนิดสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกเมื่อมีแอล-ทริปโทเฟน (Pedraza et al. 2004) จึงกล่าวได้ว่าแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับการสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติก จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชสามารถนำแอล-ทริปโทเฟนที่ปลดปล่อยออกมาจากพืชที่กำลังเติบโตหรือจากเซลล์พืชที่ถูกย่อยสลายมาใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกแล้วปลดปล่อยกรดอินโดล-3-แอซีติกซึ่งเป็นสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิให้แก่พืช เป็นการตอบสนองผลประโยชน์ให้กับแหล่งผู้ให้ทริปโทเฟน จึงอาจกล่าวได้ว่าลักษณะการอยู่ร่วมกันระหว่างพืชกับจุลินทรีย์เป็นรูปแบบความสัมพันธ์ที่ได้รับประโยชน์ร่วมกัน (Chaiham and Lumyong 2010; Xin et al. 2009)

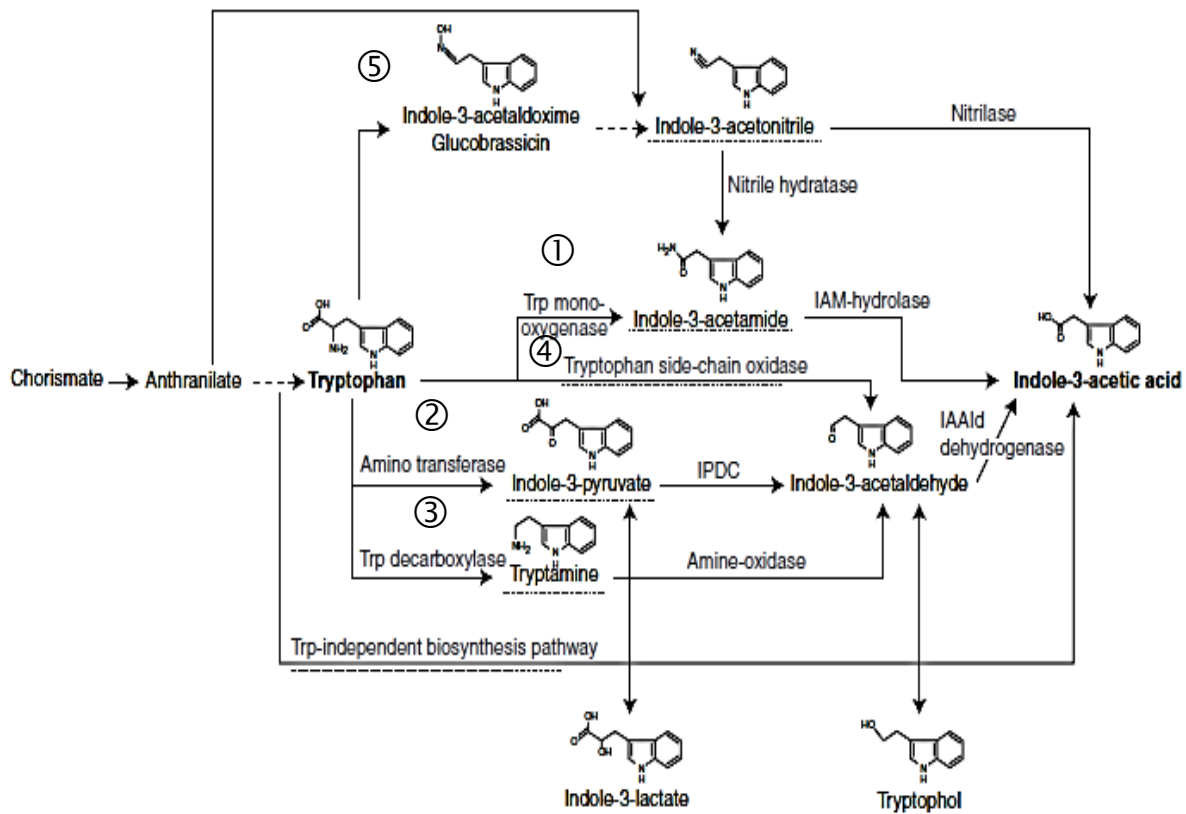
วิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกของจุลินทรีย์และพืชมีความคล้ายคลึงกันมาก แม้ว่าจะมีสารสื่อกลาง (intermediate) ที่แตกต่างกันบ้าง แต่ทั้งพืชและจุลินทรีย์มีวิถีชีวสังเคราะห์อินโดล-3-แอซีติกทั้งที่ต้องใช้และไม่ต้องใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น (Mano and Nemoto 2012; Sitbon et al. 2000; Spaepen et al. 2007) โดยข้อมูลที่มีรายงานส่วนใหญ่เป็นวิถีชีวสังเคราะห์ที่เกิดผ่านแอล-ทริปโทเฟน ส่วนวิถีที่ไม่ต้องใช้แอล-ทริปโทเฟนนั้น ปัจจุบันยังไม่พบการระบุขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงและยีนที่เกี่ยวข้องอย่างชัดเจน สำหรับวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกในพืชพบว่าวิถีที่ใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นรวม 4 วิถีด้วยกัน คือ (1) วิถีที่มีสารตัวกลางเป็นอินโดล-3-แอซีทาไมด์ (indole-3-acetamide, IAM) (2) วิถีที่มีสารตัวกลางเป็นกรดอินโดล-3-ไพรูวิก (indole-3-pyruvic acid, IPA) (3) วิถีที่มีสารตัวกลางเป็นทริปทามีน (tryptamine, TAM) และ (4) วิถีที่เกิดผ่านสารตัวกลางอินโดล-3-แอซีทาลดอกซิม (indole-3-acetaldoxime, IAOx) (Mano and Nemoto, 2012) ส่วนวิถีที่ไม่ต้องใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นนั้นยังมีข้อมูลเกี่ยวกับเอนไซม์และสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องน้อยมาก

ในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา มีการเสนอวิถีชีวสังเคราะห์ของกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยอาศัยการศึกษาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีหรือการศึกษาสารตัวกลางของวิถี (Arshad and Frankenberger 1991; Spaepen and Vanderleyden 2011; Lehmann et al. 2010) การศึกษาในแบคทีเรียพบว่าวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น (tryptophan-dependent pathway) ได้ 5 วิถี (Spaepen et al. 2007) แสดงในภาพที่ 4.2 และมีรายละเอียดดังนี้

1. การสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านสารตัวกลางอินโดล-3-แอซีทาไมด์ (IAM) มีเอนไซม์ทริปโทเฟน 2-โมนอกซิจีเนส (tryptophan 2-monooxygenase, EC 1.13.12.3) เป็นเอนไซม์สำคัญของวิถี ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแอล-ทริปโทเฟนไปเป็นอินโดล-3-แอซีทาไมด์ซึ่งจะเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติก โดยกิจกรรมของเอนไซม์อินโดล-3-แอซีทาไมด์-ไฮโดรเลส (IAM hydrolase) การศึกษายีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดที่กล่าวข้างต้น ทำให้รู้ว่าแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae*, *Pantoea agglomerans*, *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium* อาจใช้วิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางอินโดล-3-แอซีทาไมด์ (Sekine et al. 1989; Clark et al. 1993; Morris 1995; Theunis et al. 2004) เดิมทีเข้าใจกันว่าวิถีนี้เป็นวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกสำหรับแบคทีเรียเท่านั้น แต่ต่อมาเมื่อใช้เทคนิคตรวจวิเคราะห์ที่มีความไวมากขึ้นพบว่าในพืช *Arabidopsis thaliana* ตรวจพบวิถีนี้เช่นกัน (Piotrowski et al. 2001; Pollmann et al. 2003) นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ *Rhodospiridiobolus fluvialis* DMKU-CP293 ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกได้จากผิวใบข้าวโพดสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางวิถีอินโดล-3-แอซีทาไมด์ด้วยเช่นกัน เนื่องจากตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปโทเฟน 2-โมนอกซิจีเนส และในน้ำเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *R. fluvialis* DMKU-CP293 ยังพบอินโดล-3-แอซีทาไมด์ที่เป็นสารตัวกลางของวิถีสังเคราะห์นี้ด้วย (Bunsangiam et al. 2019)

2. การสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านสารตัวกลางกรดอินโดล-3-ไพรูวิก (IPA) มีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง 3 ชนิด คือ แอมิโนทรานสเฟอเรส (aminotransferase) หรือแอล-ทริปโทเฟนทรานส์แอมิเนส (L-tryptophan transaminase) ซึ่งชื่อตามระบบการตั้งชื่อ (systematic name) คือ แอล-ทริปโทเฟน: 2-ออกโซกลูตาเรตแอมิโนทรานสเฟอเรส (L-tryptophan: 2-oxoglutarate amino-transferase, EC 2.6.1.27) เป็นเอนไซม์แรกที่สำคัญของวิถี ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่เอมีนออกจากแอล-ทริปโทเฟนทำให้เกิดอินโดลไพรูเวต ตามปฏิกิริยาต่อไปนี้





ภาพที่ 4.2 วิธีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติก

ที่มา : Spaepen et al. (2007)

จากนั้นเอนไซม์อินโดล-3-ไพรูเวตดีคาร์บอกซีเลส (indole-3-pyruvate decarboxylase, IPDC, EC 4.1.1.74) จะดึงหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ออกจากกรดอินโดล-3-ไพรูวิกเกิดเป็นอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ (indole-3-acetaldehyde, IAAld) ซึ่งจะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยกิจกรรมของเอนไซม์อินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (IAAld dehydrogenase, Aldehyde dehydrogenase, EC 1.2.1.3)

วิธีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพรูวิกนี้ พบได้แพร่หลายในแบคทีเรียหลากหลายกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียก่อโรคพืช เช่น *Pantoea agglomerans* และแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ เช่น *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Enterobacter cloacae* รวมทั้งไซยาโนแบคทีเรีย (Spaepen et al. 2007) นอกจากนี้แบคทีเรียแล้ว ยีสต์ *Rh. paludigena* DMKU-RP301 ซึ่งเป็นยีสต์ในไฟลัม *Basidiomycota* ที่แยกได้จากผิวใบข้าว สังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยมีแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น และใช้วิธีสังเคราะห์ผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพรูวิกเป็นสารตัวกลางของวิถี เนื่องจากตรวจพบกรดอินโดล-3-ไพรูวิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ พร้อมกับ

ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แอมินทรานสเฟอเรสซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญของวิถีด้วย นอกจากนี้เมื่อเติมกรดอินโดล-3-ไพริวริกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทดแทนแอล-ทริปโทเฟน พบว่ายีสต์ *Rh. paludigena* DMKU-RP301 สร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกแล้วปลดปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เป็นการยืนยันว่ายีสต์ชนิดนี้สังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยใช้วิถีสังเคราะห์ผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพริวริก (Nutaratat et al. 2016) ส่วนยีสต์ *Rhodospiridiobolus fluvialis* DMKU-CP293 ซึ่งเป็นยีสต์ในไฟลัม *Basidiomycota* เช่นเดียวกับ *Rh. paludigena* DMKU-RP301 แต่ *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 แยกได้จากผิวใบข้าวโพดสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยมีแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นเช่นกัน แต่พบว่านอกจากใช้วิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพริวริกเป็นวิถีหลักแล้ว ยังคาดว่า *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 สังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยเส้นทางอื่นร่วมด้วย คือ วิถีอินโดล-3-แอซีทาไมด์ดังที่กล่าวมาแล้วและวิถีทริปทามีนที่จะกล่าวถึงต่อไป (Bunsangiam et al. 2019)

3. การสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านสารตัวกลางทริปทามีน โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง 3 ชนิด คือ ทริปโทเฟนดีคาร์บอกซีเลส (tryptophan decarboxylase, EC 4.1.1.105) เป็นเอนไซม์แรกที่สำคัญของวิถี ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแอล-ทริปโทเฟนไปเป็นทริปทามีนซึ่งจะถูกเร่งปฏิกิริยาต่อไปโดยเอนไซม์แอมินออกซิเดส (amine oxidase, EC 1.4.3.4) ให้เปลี่ยนเป็นอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ที่จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยกิจกรรมของอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส เช่นเดียวกับอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นจากวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพริวริก

ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ใช้วิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางทริปทามีน ได้แก่ *Bacillus cereus* เนื่องจากตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปโทเฟนดีคาร์บอกซีเลส (Perley and Stowe 1966) และแบคทีเรีย *Azospirillum* sp. ตรวจพบการเปลี่ยนทริปทามีนที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ (Hartmann et al. 1983) สำหรับยีสต์ *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 ใช้วิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางทริปทามีน โดย Bunsangiam et al. (2019) ตรวจพบทริปทามีนในน้ำเลี้ยงเซลล์ ร่วมกับการตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปโทเฟนดีคาร์บอกซีเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักของวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางทริปทามีน สำหรับพืชใช้วิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางทริปทามีนเช่นกัน แต่พืชจะมีปฏิกิริยาที่ควบคุมวิถี คือ ปฏิกิริยาการเปลี่ยนทริปทามีนไปเป็นเอน-ไฮดรอกซิล-ทริปทามีน (N-hydroxyl-tryptamine) โดยโปรตีนที่มีกิจกรรมคล้ายกับเอนไซม์ฟลาวินโมโนออกซิจีเนส (flavin monooxygenase) แต่ยังคงต้องยืนยันชนิดของสารตัวกลางที่อยู่ลำดับต่อมาจากเอน-ไฮดรอกซิล-ทริปทามีนด้วย (Bak et al. 2001; Zhao et al. 2001)

4. การสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกด้วยกิจกรรมของเอนไซม์เอนไซม์ทริปโทเฟนไซด์เซนออกซิเดส (tryptophan side-chain oxidase, TSO) วิธีสังเคราะห์นี้เป็นการเปลี่ยนแอล-ทริปโทเฟนไปเป็นอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ทริปโทเฟนไซด์เซนออกซิเดส จากนั้นอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยกิจกรรมของเอนไซม์แอลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส เช่นเดียวกับอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นจากวิธีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพรวริกและทริปทามีน ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ใช้วิธีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ทริปโทเฟนไซด์เซนออกซิเดสนี้แสดงไว้เฉพาะในแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* CHAO โดยยังไม่พบว่าพืชสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกด้วยวิธีนี้

5. การสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านสารตัวกลางอินโดล-3-แอซีโทไนไตรล์ (indole-3-acetonitrile, IAN) ในวิธีนี้แอล-ทริปโทเฟนจะถูกเปลี่ยนเป็นอินโดล-3-แอซีทาลดอกซิมโดยกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductase) ในพืชพบว่าเกิดโดยกิจกรรมของเอนไซม์ไซโทโครม พี450 ออกซิโดรีดักเทส (cytochrome P450 oxidoreductase) แต่ยังไม่มียางานว่าพบเอนไซม์ออกซิโดรีดักเทสที่เร่งปฏิกิริยานี้ในแบคทีเรีย สำหรับอินโดล-3-แอซีทาลดอกซิมที่เกิดขึ้นอาจถูกเปลี่ยนไปเป็นอินโดล-3-แอซีโทไนไตรล์โดยกิจกรรมของเอนไซม์อินโดล-3-แอซีทาลดอกซิมดีไฮเดรเตส (indoleacetaldoxime dehydratase, EC 4.99.1.6) จากนั้นอินโดล-3-แอซีโทไนไตรล์จะถูกเปลี่ยนโดยตรงไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยกิจกรรมของเอนไซม์ไนไตรเลส (nitrilase, nitrile aminohydrolase, EC 3.5.5.1) ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ของไนไตรล์ (nitrile) ไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและแอมโมเนียโดยไม่เกิดสารสื่อกลางชนิดเอไมด์ (amide) มียางานว่าตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไนไตรเลสที่มีความจำเพาะกับอินโดล-3-แอซีโทไนไตรล์ในแบคทีเรีย *Alcaligenes faecalis* (Nagasawa et al. 1990; Kobayashi et al. 1993) ส่วน *Agrobacterium tumefaciens* และ *Rhizobium* spp. ตรวจพบทั้งกิจกรรมของไนไตรล์ไฮเดรเตส (nitrile hydratase, Nhases, EC 4.2.1.84) และเอมิเดส (amidase) ซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงอินโดล-3-แอซีโทไนไตรล์ไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยวิธีอินโดล-3-แอซีทาไมด์ (Kobayashi et al. 1995) อย่างไรก็ตามเมื่อเอนไซม์ไนไตรล์ไฮเดรเตสเร่งปฏิกิริยาการดึงน้ำออกจากไนไตรล์ แล้วไนไตรล์เปลี่ยนไปเป็นอินโดล-3-แอซีทาไมด์ซึ่งอาจถูกเร่งปฏิกิริยาต่อไปโดยเอนไซม์อินโดล-3-แอซีทาไมด์ไฮโดรเลส (IAM hydrolase, EC 3.5.1.-) ได้เป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกในที่สุด

แม้ว่าการสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกที่กล่าวมาทั้ง 5 วิธีจะมีแอล-ทริปโทเฟนทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นที่เป็นหลัก แต่ในบางภาวะของการเจริญของจุลินทรีย์นั้น ทริปโทเฟนอาจ

ขาดแคลนหรือมีปริมาณน้อยเกินไปสำหรับจะนำมาใช้เพื่อการสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกได้ จุลินทรีย์บางชนิดจึงสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกได้โดยไม่ต้องใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็น สารตั้งต้นได้ แต่ปัจจุบันก็ยังไม่มียังมีข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับเอนไซม์และสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับ วิธีนี้อย่างละเอียดแน่ชัด

ข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกในจุลินทรีย์ มักได้มา จากการศึกษาในแบคทีเรียร่วมกับข้อมูลประกอบจากวิถีชีวสังเคราะห์ในพืช แบคทีเรียสังเคราะห์ กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยวิธีหลักที่มีสารตัวกลาง คือ อินโดล-3- แอซีทาไมด์ กรดอินโดล-3- ไพรูวิก และอินโดล-3-แอซีโทไนไทรล์ (Duca et al. 2014) มีการศึกษาที่แสดงว่าแบคทีเรีย *Azospirillum brasilense* ซึ่งเป็นแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนได้และมีถิ่นอาศัยบริเวณรอบรากหญ้าหลาย ชนิดที่มีวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกหลายวิธีด้วยกัน โดยอาจสังเคราะห์กรดอินโดล-3- แอซีติกได้โดยไม่ต้องอาศัยแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น และสังเคราะห์จากแอล-ทริปโทเฟนผ่าน อินโดล-3-แอซีทาไมด์ กรดอินโดล-3-ไพรูวิก และอินโดล-3-แอซีโทไนไทรล์ (Zakharova et al. 1999) อย่างไรก็ตามการทดลองเติมสารตัวกลางที่ติดฉลาก ชี้ให้เห็นว่าวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล- 3-แอซีติกที่ไม่ต้องใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นในแบคทีเรียชนิดนี้ ก็ยังต้องอาศัยสารตัวกลาง ที่เกิดจากวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกที่ผ่านแอล-ทริปโทเฟนด้วย (Spaepen et al. 2007; Zakharova et al. 1999) แต่ก็ไม่สามารถระบุชนิดของเอนไซม์หรือยีนที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนเหล่านี้ได้ แต่อย่างใด

การศึกษาด้วยเทคนิคการเติมสารตัวกลางของวิถีแล้วตรวจการเกิดกรดอินโดล-3- แอซีติกในราเส้นใย พบว่า *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* สังเคราะห์ กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางอินโดล-3-แอซีทาไมด์ และกรดอินโดล-3-ไพรูวิก โดยมีอินโดล- 3-แอซีทาไมด์เป็นวิธีหลักของการสังเคราะห์ (Robinson et al, 1998) สำหรับรา *Fusarium delphinoides* GPK นั้น เมื่อนำน้ำเลี้ยงเซลล์มาศึกษาด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีพบว่าราสาย พันธุ์นี้สังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทางวิถีกรดอินโดล-3-ไพรูวิก อินโดล-3-แอซีทาไมด์ และทริปทามีน (Kulkarni et al. 2013)

การศึกษาด้วยการเติมสารตั้งต้นติดฉลากให้กับแบคทีเรีย *Azospirillum brasilense* แสดง ให้เห็นว่าเมื่อขาดแอล-ทริปโทเฟนในอาหารเลี้ยงเชื้อ แบคทีเรียสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติก ปริมาณถึง 90 เปอร์เซ็นต์ผ่านทางวิถีชีวสังเคราะห์ที่ไม่ใช่แอล-ทริปโทเฟน ในขณะที่มีกรดอินโดล- 3-แอซีติกเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่แบคทีเรียสังเคราะห์ผ่านทางวิถีอินโดล-3-แอซีทาไมด์ (Prinsen et al. 1993)

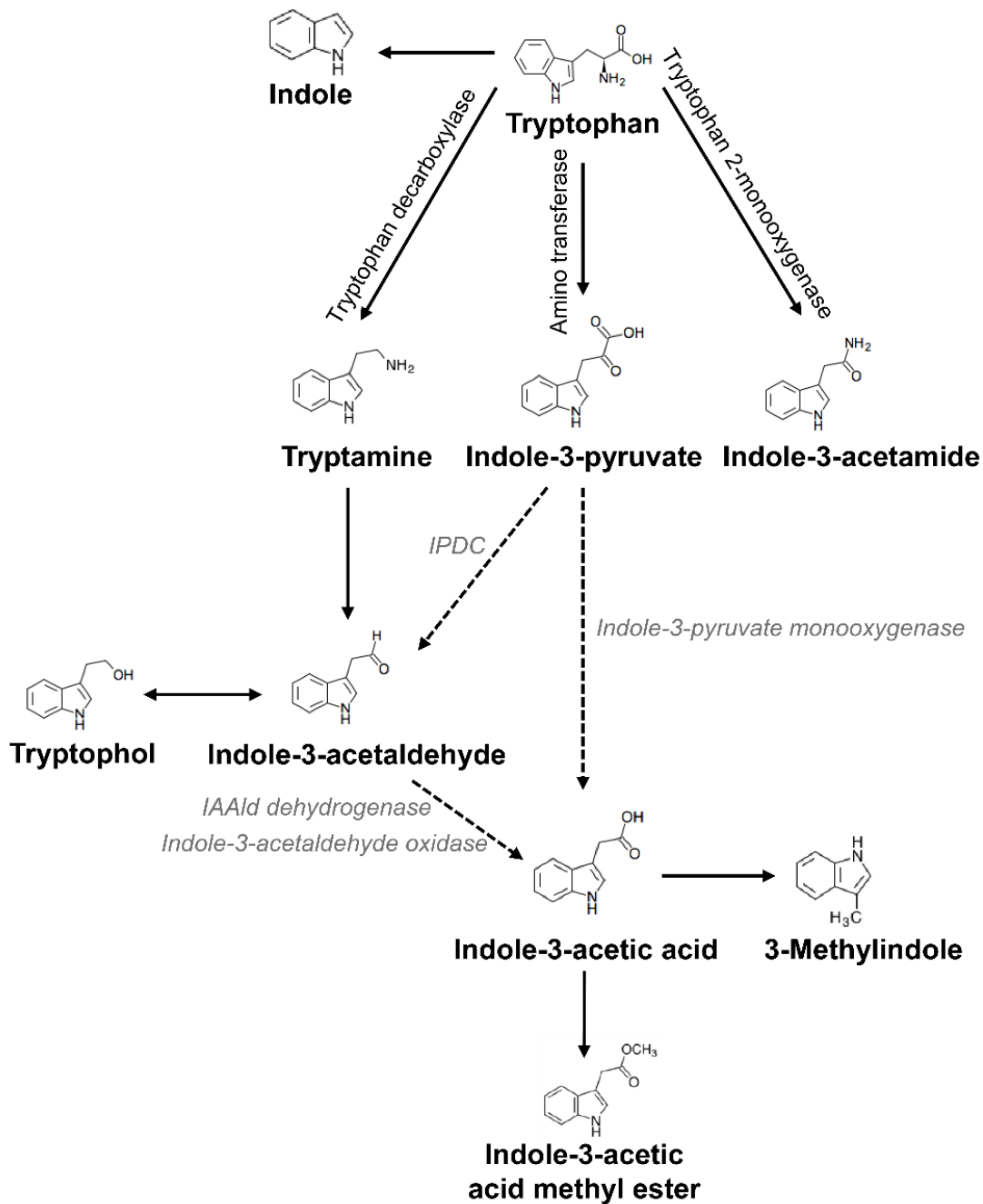
ใน ค.ศ. 2010 Rao et al. ได้ศึกษาการสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ดัดแปลงพันธุกรรมให้ขาดความสามารถสร้างเอนไซม์อินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์-ดีไฮโดรจีเนสซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ (indole-3-acetaldehyde) ไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติก ดังนั้นยีสต์สายพันธุ์ดัดแปลงพันธุกรรมนี้จึงไม่สามารถเปลี่ยนแอล-ทริปโทเฟนไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ แต่กระนั้นก็ยังตรวจพบกรดอินโดล-3-แอซีติกในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณกรดอินโดล-3-แอซีติกที่พบในยีสต์สายพันธุ์ที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมมีปริมาณเพียง 240.3 ไมโครกรัมต่อลิตร โดย Rao et al. (2010) อ้างว่าเป็นปริมาณที่สูงกว่าสายพันธุ์ปกติถึงสี่เท่า ซึ่งสายพันธุ์ปกติผลิตได้เพียง 59.8 ไมโครกรัมต่อลิตรเท่านั้น แล้วสรุปว่ายีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมนี้สังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกได้ด้วยวิถีที่ไม่ต้องอาศัยแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น (tryptophan-independent pathway) ได้ (Rao et al. 2010)

Sun et al. (2014) แยกได้ยีสต์และราคล้ายยีสต์จากผิวใบพืชกินแมลง *Drosera indica* L. และในจำนวนนี้มียีสต์ในไฟลัม *Basidiomycota* คือ *Pseudozyma aphidis* YL-16 และ *Cryptococcus flavus* YL-2 ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้เท่ากับ 57.0 ± 3.5 และ 46.6 ± 0.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแอล-ทริปโทเฟน ซึ่งผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ปริมาณมากกว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมแอล-ทริปโทเฟนที่ผลิตได้เท่ากับ 38.7 ± 1.5 และ 38.6 ± 1.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จึงเป็นการยืนยันว่ามีวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกที่ไม่ต้องอาศัยแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นในยีสต์และราคล้ายยีสต์

การศึกษาการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์ส่วนใหญ่่นั้น เกิดขึ้นลักษณะเดียวกับการค้นคว้าวิจัยในจุลินทรีย์กลุ่มอื่น คือ เป็นการเริ่มต้นศึกษาจากการคัดเลือกยีสต์ที่ส่งเสริมการเติบโตของพืช ซึ่งการสร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกเป็นคุณสมบัติหนึ่งที่ต้องการ เนื่องจากฮอร์โมนพืชช่วยส่งเสริมการเติบโตของพืชทางตรง อย่างไรก็ตามแม้จะมีการศึกษาและคัดเลือกยีสต์ที่มีคุณสมบัติดังกล่าวอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงสิบปีที่ผ่านมา แต่อาจกล่าวได้ว่ายังมีการศึกษาวิถีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์น้อยมาก เมื่อเทียบกับการศึกษาในพืชและแบคทีเรีย อย่างไรก็ตาม Nassar et al. (2005) เคยรายงานการพบยีสต์เอนโดไฟต์ (endophytic yeast) *Cyb. saturnus* ที่แยกจากเนื้อเยื่อของรากข้าวโพด (*Zea mays* L.) ว่าสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ 13.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแอล-ทริปโทเฟน

ยีสต์สายพันธุ์ปกติส่วนใหญ่ที่มีรายงานพบการสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกโดยใช้แอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น การศึกษาวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกของยีสต์ *Rhodospiridiobolus fluvialis* DMKU-CP293 ด้วย gas chromatography mass spectrometry (GCMS)

ซึ่งแยกวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารในภาวะแก๊สแล้วตรวจวัดแบบวิเคราะห์มวลสาร (Bunsangiam et al. 2019) แสดงให้เห็นว่านอกจากกรดอินโดล-3-แอซีติกแล้ว ในน้ำเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 ยังมีสารประกอบอินโดลชนิดต่าง ๆ คือ ทริปทามีน และอินโดล-3-แอซีทาไมด์ที่เป็นสารตัวกลางของวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านทริปทามีนและอินโดล-3-แอซีทาไมด์และยังพบทริปโทโพล (tryptophol, TOL) ซึ่งเป็นแอโรแมติกแอลกอฮอล์ (aromatic alcohol) ที่เป็นผลิตภัณฑ์เกิดจากปฏิกิริยารีดักชันของอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ซึ่งทั้งอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์และกรดอินโดล-3-ไพรวูริกเป็นสารตัวกลางที่ไม่เสถียร จึงมีความเป็นไปได้ที่อินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์และกรดอินโดล-3-ไพรวูริกจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของทริปโทโพลแทน นอกจากนั้นแล้วยังพบ 3-เมทิลอินโดล (3-methylindole) และกรดอินโดล-3-แอซีติก-เมทิลเอสเทอร์ (indole-3-acetic acid methyl ester) ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของกรดอินโดล-3-แอซีติก จากการตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แอมิโนทรานสเฟอเรส ทริปโทเฟน 2-โมโนออกซิจีเนส และทริปโทเฟนดี-คาร์บอกซีเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักของวิถีสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านกรดอินโดล-3-ไพรวูริก อินโดล-3-แอซีทาไมด์ และทริปทามีนตามลำดับ จึงเป็นที่น่าสนใจว่ายีสต์ชนิดนี้สังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกจากแอล-ทริปโทเฟนได้อย่างน้อย 3 เส้นทาง แต่คาดว่า *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 ใช้วิถีสังเคราะห์ผ่านทางกรดอินโดล-3-ไพรวูริกเป็นวิธีหลัก เนื่องจากพบการสะสมกรดอินโดล-3-แอซีติกในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเติมกรดอินโดล-3-ไพรวูริกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทดแทนแอล-ทริปโทเฟน อย่างไรก็ตามแม้จะตรวจพบอินโดล-3-แอซีทาไมด์ในน้ำเลี้ยงเซลล์ *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 รวมทั้งพบกิจกรรมของเอนไซม์สำคัญของวิถีอินโดล-3-แอซีทาไมด์แต่ก็ตรวจไม่พบกรดอินโดล-3-แอซีติกเมื่อเติมอินโดล-3-แอซีทาไมด์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทดแทนแอล-ทริปโทเฟน ส่วนการเติมทริปทามีนนั้นแม้จะตรวจไม่พบการสะสมกรดอินโดล-3-แอซีติกเช่นกัน แต่พบว่าทริปทามีนลดปริมาณลงตามเวลาที่เพาะเลี้ยง ซึ่งอาจเนื่องจากทริปทามีนเปลี่ยนไปเป็นอินโดล-3-แอซีทาลดีไฮด์ที่จะเปลี่ยนไปเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ต่อไป ตามภาพที่ 4.3 (Bunsangiam et al. 2019)



ภาพที่ 4.3 วิธีชีวสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์ *Rhodosporidiobolus fluvialis* DMKU-CP293
ที่มา: Bunsangiam et al. (2019)

การผลิตและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยจุลินทรีย์

เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าพืชสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้เอง แต่การเติบโตที่ดีของพืชก็อาจต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ร่วมอาศัยที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเติบโตของพืช

ทั้งทางตรง เช่น การช่วยละลายสารอาหารให้พืชดูดซึมไปใช้ได้ หรือการผลิตฮอร์โมนพืช และการส่งเสริมการเติบโตของพืชทางอ้อม เช่น การสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เชื้อก่อโรคพืช การสร้างสารระเหยที่ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืช การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในแบคทีเรีย และเป็นไปลักษณะเดียวกับการผลิตเมแทบอลิต์ชนิดอื่นซึ่งจะได้รับอิทธิพลจากปัจจัยแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดอย่างแตกต่างกัน

องค์ประกอบของอาหารที่เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แหล่งเกลือแร่ แหล่งวิตามิน ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งในแง่ของชนิดและปริมาณ ซึ่งยังส่งผลต่อเนื่องไปถึงการผลิตเมแทบอลิต์โดยจุลินทรีย์ โดยอาจเป็นการผลิตเมแทบอลิต์แบบสัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์ กรณีที่เป็นเมแทบอลิต์ปฐมภูมิ หรืออาจเป็นการผลิตแบบไม่สัมพันธ์กับการเจริญในกรณีที่เป็นเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ สำหรับกรดอินโดล-3-แอซีติกนั้น แม้มิได้เป็นเมแทบอลิต์ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญหรือมีส่วนส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์อย่างชัดเจน แต่เมื่อจุลินทรีย์มีการเจริญผ่านไประยะเวลาหนึ่ง พบว่าจุลินทรีย์ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกควบคู่ไปกับการเพิ่มชีวมวลของจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งพบได้ในยีสต์ *Rh. paludigena* DMKURP301 (Nutaratat et al. 2015) *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 (Bunsangiam et al. 2021) และในแบคทีเรีย *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 (Nutaratat et al. 2019) เนื่องจากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันใช้แหล่งของสารอาหารเพื่อการเจริญได้แตกต่างกัน ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ก็จะใช้แหล่งคาร์บอนที่ใช้เพื่อการเจริญนี้สำหรับการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกด้วย

จากที่กล่าวมาแล้วว่าสิ่งมีชีวิตที่ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ส่วนใหญ่ทั้งพืชและจุลินทรีย์มักใช้วิถีชีวสังเคราะห์แบบที่มีแอล-ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้น ซึ่งการทดลองกับแบคทีเรียพบว่าแบคทีเรียใช้แอล-ทริปโทเฟนเพื่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ดีกว่าไอโซเมอร์รูปดี-ทริปโทเฟนและดีแอล-ทริปโทเฟน แม้ว่าในแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถสังเคราะห์กรดอินโดล-3-แอซีติกได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้ทริปโทเฟนเป็นสารตั้งต้นก็ตาม (Mandal et al. 2007) ดังนั้น แอล-ทริปโทเฟนจึงเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเซลล์ที่สำคัญเพื่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกสำหรับแบคทีเรีย รวมทั้งจุลินทรีย์อีกหลายชนิด ทั้งนี้จุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม แต่ละชนิดอาจต้องการปริมาณแอล-ทริปโทเฟนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกที่แตกต่างกันไป

พืชของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิการเพาะเลี้ยง ส่งผลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกผ่านการสร้างและการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและเมแทบอลิซึม

ของจุลินทรีย์ ซึ่งหากเอนไซม์ทำงานได้ดีการเจริญของจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย แล้วส่งผลต่อเนื่องไปถึงการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกของจุลินทรีย์นั่นเอง

แรงดันออสโมซิส ส่งผลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกของจุลินทรีย์ผ่านการเจริญของจุลินทรีย์ในแง่ของปริมาณน้ำอิสระที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อขับเคลื่อนเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ของเซลล์

การให้อากาศกับจุลินทรีย์ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยเฉพาะในกรณีของจุลินทรีย์กลุ่มที่ต้องการอากาศหรือออกซิเจนเพื่อการเจริญ โดยอาจให้อากาศในรูปการปรับความเร็วรอบของการเขย่าหลอดหรือขวด หรือปรับความเร็วรอบการหมุนของใบพัดในถังหมัก ซึ่งการดำเนินการทั้ง 2 แบบนี้ นอกจากจะช่วยให้จุลินทรีย์ได้รับอากาศหรือออกซิเจนแล้ว ยังจะส่งผลให้ชีวมวลจุลินทรีย์ได้สัมผัสและใช้สารอาหารได้อย่างทั่วถึง จึงส่งเสริมการเจริญและการสร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกของจุลินทรีย์ให้เพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้การให้อากาศโดยตรงด้วยการพ่นอากาศลงในอาหารเหลวก็ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ แต่อาจต้องพิจารณาให้เหมาะสมเนื่องจากการซึมผ่านและการละลายได้ของออกซิเจนในของเหลวจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของเซลล์ในอาหารเหลวเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการให้อากาศในลักษณะนี้มักทำเมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมักที่มีป้อนลมเพื่อช่วยพ่นอากาศลงในอาหารเหลวขณะที่เพาะเลี้ยง

การควบคุมปัจจัยที่กล่าวมานี้ให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ย่อมส่งผลให้จุลินทรีย์ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ปริมาณสูงสุด แต่อย่างไรก็ตามปริมาณการผลิตและระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่จะพบการผลิตสูงสุดนั้นแตกต่างกันไปในจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มและชนิด ดังนั้นการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกให้ได้ปริมาณมากและมีความคุ้มค่าจึงจำเป็นต้องหาภาวะของการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ข้อมูลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกส่วนใหญ่แล้วได้มาจากการศึกษาในแบคทีเรียหลายชนิดโดยการศึกษาภาวะที่เหมาะสมอาจใช้วิธีการศึกษาแบบผันแปรทีละปัจจัย (one factor at a time) วิธีการพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology) หรือทั้ง 2 วิธีร่วมกัน

การศึกษาแบคทีเรียในสกุล *Rhizobium* ที่แยกได้จากต่างแหล่งกัน พบว่า *Rhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากต้น *Cajanus cajan* สามารถเจริญได้เร็วมาก และผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุด 99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมแอล-ทริปโทเฟน และสามารถเพิ่มการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงขึ้นมากเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ นิกเกิลคลอไรด์ (NiCl_2) 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และกรดกลูตามิก 0.5 กรัมต่อลิตร (Datta and Basu 2000) ส่วน *Rhizobium* sp. จากปมรากต้น *Vigna mungo* (L.) Hepper สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุด 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมแอล-ทริปโทเฟน และพบว่า

แบคทีเรียผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ดีเมื่อใช้กลูโคสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน และโพแทสเซียมไนเตรดความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม (Mandal et al. 2007) สำหรับ *Rhizobium* strain 13 ที่แยกจากรากของ *Sesbania sesban* (L.) Merr. ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ 26.6-28.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวยีสต์เอ็กแทรกต์ มิเนอรัลบรอต (yeast extract mineral broth, YEM broth) ที่เติมแอล-ทริปโทเฟนความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีกลูโคสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน และมีกรดคาซามิโน (casamino acid) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม (Seridevi and Mallaiah 2007)

มีรายงานการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกในแบคทีเรียอีกหลายชนิด ได้แก่ *Pantoea agglomerans* PVM ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุด 2.191 กรัมต่อลิตร ในเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารสกัดจากเนื้อ (meat extract) 0.8 เปอร์เซ็นต์ และมีแอล-ทริปโทเฟน 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารตั้งต้น ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 6.8 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 120 รอบต่อนาที และเมื่อศึกษาการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกในแหล่งคาร์บอนต่างชนิด พบว่าสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ปริมาณสูงสุด 1.308 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสูงกว่าเมื่อเลี้ยงในกลูโคสหรือฟรุกโทส (Apine and Jadhav, 2011) ขณะที่แบคทีเรีย *Acetobacter diazotrophicus* L1 ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุด 26.28 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงนาน 6 วัน ในอาหาร LGI ที่เติมซูโครส 12 เปอร์เซ็นต์ แอล-ทริปโทเฟน 0.12 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชเป็น 6 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที (Patil et al. 2011) แบคทีเรีย *Klebsiella* SN 1.1 ที่แยกจากดินรอบรากข้าวที่พบว่ามีความสัมพันธ์การละลายฟอสเฟตได้ดีและผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุด 291.97 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงนาน 9 วัน ในอาหารที่เติมแอล-ทริปโทเฟน (Chaiharn and Lumyong 2011) Balaji et al. (2012) ใช้วิธีการทางสถิติเข้ามาช่วยหาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยใช้การออกแบบการทดลอง Plackett-Burman design เพื่อคัดเลือกปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ที่แยกจากดิน แล้วใช้ central composite design (CCD) ออกแบบการทดลองเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมของการผลิต พบว่าแบคทีเรียผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุด 245 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมกลีเซอรอล 2.5 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน และยีสต์เอ็กแทรกต์ (yeast extract) 0.3 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งไนโตรเจน ปรับพีเอชอาหารเป็น 7 เลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส ต่อมาใน ค.ศ. 2013 มีรายงานการศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* UB1 ซึ่งผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ 591.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมเพื่อการผลิต

กรดอินโดล-3-แอสซีติกได้สูงสุด คือ ซูโครส 0.5 เปอร์เซ็นต์ และแอมโมเนียมซัลเฟต 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเติมแอล-ทริปโทเฟน 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นสารตั้งต้น (Bharucha et al. 2013) Nutaratat et al. (2017) ใช้ Box-Behnken design ออกแบบการทดลอง เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกโดย *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 พบว่าผลิตได้สูงสุด 3,804.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารที่ประกอบด้วย แล็กโทส 0.85 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์เอ็กแทรกต์ 1.3 เปอร์เซ็นต์ แอล-ทริปโทเฟน 1.1 เปอร์เซ็นต์ และไซเตียมคลอไรด์ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชอาหารเป็น 5.8 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบหมุนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในถังหมักขนาด 2 ลิตร พบว่าสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกได้ถึง 5,561.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อมา Srisuk et al. (2019) ใช้การออกแบบการทดลอง Box-Behnken design เช่นเดิม เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกโดย *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อต้นทุนต่ำ โดยพบการผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกสูงถึง 3,963 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารที่ประกอบด้วย สวีตเวย์ (sweet whey) 1.48 เปอร์เซ็นต์เพื่อทดแทนแล็กโทส ยีสต์เอ็กแทรกต์ 1.42 เปอร์เซ็นต์ และ แอล-ทริปโทเฟน 0.88 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชอาหารเป็น 6 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบหมุนด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน ต่อมามีการศึกษาเพื่อลดต้นทุนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกโดย *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 ลงอีกโดยการใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาจาก Srisuk et al. (2018) แต่ไม่เติมแอล-ทริปโทเฟน เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในถังหมักขนาด 2 ลิตร ให้อากาศ 2 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที (volume per volume per minute, vvm) และอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที พบว่าแบคทีเรียนี้ไม่ผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกในภาวะที่ไม่มีแอล-ทริปโทเฟน จึงปรับมาใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมแอล-ทริปโทเฟนเกรดอาหารสัตว์ซึ่งมีราคาถูกกว่าแอล-ทริปโทเฟนเกรดรีเอเจนต์ พบว่าแบคทีเรียผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกได้ลดลง 5.3 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถลดต้นทุนอาหารเลี้ยงเชื้อลงได้ถึง 52 เท่าเมื่อเทียบกับอาหารที่เติมแอล-ทริปโทเฟนเกรดรีเอเจนต์ ต่อมาได้ขยายขนาดการเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 15 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อต้นทุนต่ำที่พัฒนาขึ้น พบว่าเมื่อใช้กล้าเชื้อ *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกได้ 3,340.8 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราผลผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกเท่ากับ 27.8 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีค่าผลได้ของกรดอินโดล-3-แอสซีติกเท่ากับ 1.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม แอล-ทริปโทเฟน (Nutaratat and Srisuk 2019)

มีรายงานการศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกโดยแบคทีเรีย จากรอบรากหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) พบว่า ผลิตกรดอินโดล-3-แอสซีติกได้สูงสุดเท่ากับ

104 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเดกโทรส 1 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอชเป็น 9 เลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส (Chandra et al. 2018) การศึกษาใน *Enterobacter cloacae* arab05 พบว่าแบคทีเรียผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงสุดเท่ากับ 494.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหาร King's B medium ที่ปรับพีเอชเป็น 7 และเติมแอล-ทริปโทเฟน 0.1 เปอร์เซ็นต์ แล็กโทส 0.5 เปอร์เซ็นต์ และทริปโทน 1 เปอร์เซ็นต์ บ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า ความเร็ว 120 รอบต่อนาที นาน 120 ชั่วโมง (Upadhyay et al. 2019) ในปีเดียวกันนี้ Scheidt et al. (2019) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยแบคทีเรีย *Herbaspirillum seropedicae* BR11417 ซึ่งเป็นแบคทีเรียรอบรากที่ส่งเสริมการเติบโตของพืชด้วยการตรึงไนโตรเจน เมื่อออกแบบการทดลองแบบ central composite rotatable designs (CCRDs) พบว่าแบคทีเรียผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ 11.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งก็ช่วยส่งเสริมคุณสมบัติการเป็นพืชฟิอาร์ของแบคทีเรียชนิดนี้ได้

แอ็กทีโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์ส่งเสริมการเติบโตของพืชได้ดี และการสร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีส่วนส่งเสริมการเติบโตของพืชเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามพบว่าการศึกษาเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกของแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็ยังมีไม่มากนัก Khamna et al. (2010) แยกได้ *Streptomyces* CMU-H009 ที่ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ดี จากดินบริเวณกอดตะไคร้ โดยพบว่าผลิตได้ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารยีสต์แอสแตรกต์มอลต์แอสแตรกต์บรอกที่เติมแอล-ทริปโทเฟน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชเป็น 7.0 บ่มบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน ต่อมา Myo et al. (2019) รายงานการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดย *Streptomyces fradiae* NKZ-259 ด้วยวิธีการผันแปรที่ละปัจจัยร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman design พบว่าแอ็กทีโนแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ 82.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารเหลว Gause's No.1 ที่เติมแป้ง 2 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) 0.1 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.04 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ทริปโทเฟน 0.2 เปอร์เซ็นต์ และเลี้ยงนาน 6 วัน

การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกในอาหารเหลว แต่ก็มีรายงานการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยการหมักแบบแข็ง (solid state fermentation) ได้เช่นกัน Swan และ Ray (2008) ใช้ *Bacillus subtilis* CM5 ที่แยกได้จากมูลวัวผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยการหมักบนกากมันสำปะหลัง และเมื่อใช้วิธีพื้นผิวตอบสนองและใช้ CCD ออกแบบการทดลอง พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ 23.5 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของซัสเตรตเมื่อหมักนาน 6 วันบนซัสเตรดที่ปรับให้มีความชื้นเริ่มต้น 70 เปอร์เซ็นต์ และพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0

ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา มีรายงานการศึกษาการผลิตและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยจุลินทรีย์อย่างกว้างขวางในแบคทีเรียมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น สำหรับในยีสต์นั้นเคยมีรายงานมาตั้งแต่ ค.ศ. 1941 ว่ายีสต์สร้างออกซินได้ แต่มิได้เจาะจงว่าเป็นกรดอินโดล-3-แอซีติก และปล่อยออกมาอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณที่มากกว่าที่ตรวจพบในเซลล์ยีสต์เอง Robinson และ Stier (1941) ตรวจพบออกซินในอาหารเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* ในปริมาณใกล้เคียงกับที่พบในอาหารเลี้ยงรา *Rhizopus* และแบคทีเรีย *Rhizobium* ด้วย ปัจจุบันเริ่มมีรายงานการศึกษาการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกในยีสต์เพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง

ยีสต์มีการเจริญและเพิ่มจำนวนในถิ่นอาศัยที่เป็นแหล่งธรรมชาติที่แตกต่างกัน ได้แก่ ยีสต์ที่เพิ่มจำนวนและอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชเจ้าบ้านที่สมบูรณ์โดยไม่ก่อโรคกับพืชเจ้าบ้าน และยังมีส่วนส่งเสริมการเติบโตและความแข็งแรงของพืชเจ้าบ้านด้วย คือ ยีสต์เอนโดไฟต์ และยีสต์ที่เจริญผิวของพืช คือ ยีสต์อีพิไฟต์ (epiphytic yeast) ซึ่งรวมถึงกลุ่มของยีสต์ที่พบบนผิวใบพืช ที่เรียกว่า ยีสต์ผิวใบพืช (phylloplane yeast) ด้วย ซึ่งยีสต์ผิวใบพืชเป็นยีสต์กลุ่มที่มีรายงานเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องว่าส่งเสริมการเติบโตของพืชได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม รวมถึงการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกด้วย ซึ่งจะได้กล่าวถึงต่อไป นอกจากนี้ยีสต์ที่มีถิ่นอาศัยร่วมกับพืชแล้ว ยีสต์จากดินมีรายงานว่าผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้เช่นกัน ยีสต์เอนโดไฟต์ *Cyb. saturnus* ที่แยกจากเนื้อเยื่อรากข้าวโพด (*Zea mays* L.) สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติก และกรดอินโดล-3-ไพรวริกในหลอดทดลองได้ 28 และ 7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเติมแอล-ทริปโทเฟนในอาหารเลี้ยงเชื้อ และ *Cyb. saturnus* ช่วยส่งเสริมการเติบโตของข้าวโพดได้เมื่อเพาะยีสต์ลงในดินปลูก โดยยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนในชั้นคอร์เท็กซ์ (cortex) ของรากข้าวโพดได้นานถึง 8 สัปดาห์ (Nassar et al. 2005) ยีสต์เอนโดไฟต์จากต้น *Populus* ที่มีความใกล้ชิดกับ *Rh. graminis* มากที่สุด พบว่าผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้มากกว่า 35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ในภาวะที่เติมแอล-ทริปโทเฟนในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 7 วัน (Xin et al. 2008) ผิวใบพืชเป็นแหล่งตัวอย่างในธรรมชาติอีกแหล่งหนึ่งที่พบยีสต์ได้หลากหลายชนิด ยีสต์ผิวใบพืชมีการเจริญได้โดยใช้สารอาหารที่พืชปล่อยออกมาทางปากใบอย่างต่อเนื่องจากเมแทบอลิซึมของพืช ในปัจจุบันมีการศึกษาด้านการส่งเสริมการเติบโตของพืชโดยยีสต์ผิวใบพืชค่อนข้างแพร่หลายทั้งการส่งเสริมการเติบโตทางตรงและทางอ้อม ยีสต์ *Candida maltose* เป็นตัวอย่างยีสต์ผิวใบพืชที่แยกได้จากผิวใบข้าวที่พบว่าผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูง โดยมีค่าอยู่ที่ 121–234 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหาร ยีสต์เอ็กแทรกต์มอลต์เอ็กแทรกต์บรอก (yeast extract malt extract broth, YM broth) ที่เติมแอล-ทริปโทเฟนความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Limtong and Koowadjanakul 2012) ซึ่งการศึกษานี้พบว่ามียีสต์ถึง 39 ไอโซเลตจากยีสต์ที่แยกได้ทั้งหมด 114 ไอโซเลต ที่พบว่าผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้และเป็นการรายงาน

ครั้งแรกเกี่ยวกับยีสต์ผิวใบพืชในประเทศไทยที่ผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกได้ด้วย ยีสต์จากผิวใบข้าว *Rh. paludigena* DMKU-RP301 ซึ่งเป็นยีสต์ในไฟลัม *Basidiomycota* ผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกได้ไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่ปรับส่วนประกอบให้เหมาะสม ในฟลาสก์แบบเขย่า และในถังหมักขนาด 2 ลิตร โดยผลิตได้ 1,623 และ 1,627 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีซูโครส 0.9 เปอร์เซ็นต์ และยีสต์เอ็กแทรกต์ 0.9 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ และเติมแอล-ทริปโทเฟน 0.45 เปอร์เซ็นต์เป็นสารตั้งต้น (Nutaratat et al. 2015) เมื่อปรับรูปแบบการเพาะเลี้ยงยีสต์ *R. paludigenum* DMKU-RP301 เป็นแบบเปิด-แบตช์ในถังหมักขนาด 2 ลิตร พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกได้เป็น 2,743 มิลลิกรัมต่อลิตร (คิดเป็นค่าอัตราการผลิตเท่ากับ 25.4 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงแบบเปิด-แบตช์ช่วยเพิ่มการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกโดยยีสต์ *Rh. paludigena* DMKU-RP301 ได้ในแง่ของความเข้มข้นและอัตราการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติก (Nutaratat et al. 2016) นอกจากนี้ *Rhodosporidiobolus fluvialis* DMKU-CP293 ซึ่งเป็นยีสต์ผิวใบที่อยู่ในไฟลัม *Basidiomycota* เช่นกัน แต่แยกมาจากใบข้าวโพด สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกได้สูง จึงศึกษาประสิทธิภาพการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติก โดยเริ่มจากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติก พบว่าแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่เหมาะสมเพื่อการเจริญและการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกในฟลาสก์ คือ กลีเซอรอล จึงได้ศึกษาการลดต้นทุนการผลิตโดยการใช้กลีเซอรอลดิบทดแทนกลีเซอรอลบริสุทธิ์ ซึ่งกลีเซอรอลดิบมีราคาถูกกว่าเนื่องจากเป็นผลผลิตพลอยได้จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification) ของน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ในการผลิตไบโอดีเซล การศึกษาภาวะที่เหมาะสมโดยใช้วิธีศึกษาที่ละปัจจัยร่วมกับวิธีพื้นผิวตอบสนองพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกประกอบด้วยกลีเซอรอลดิบ 4.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ทริปโทเฟน (กรดอาหารสัตว์) 0.55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 ผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกได้เพิ่มขึ้นจากเดิม 3.3 เท่า เมื่อเลี้ยงยีสต์นาน 5 วัน คิดเป็นค่าการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกเท่ากับ 29.29 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและค่าผลได้ของกรดอินโดล-3-แอสีติกเท่ากับ 0.65 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมของแอล-ทริปโทเฟน และเมื่อใช้อาหารสูตรเหมาะสมนี้ทำให้ลดต้นทุนอาหารเลี้ยงยีสต์ลงได้ 3.6 เท่า จากนั้นได้ขยายการผลิตโดยเพาะเลี้ยงยีสต์ในถังหมักแบบกวนขนาดนำร่อง (pilot scale fermentor) ปริมาตร 100 ลิตร แต่เนื่องจากปัญหาที่มักเกิดขึ้นจากการขยายระดับการผลิตเมแทบอลิต์โดยจุลินทรีย์ คือ การเจริญและผลผลิตที่ลดลง ดังนั้นการผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกในถังหมักขนาด 100 ลิตรจึงใช้กลยุทธ์การรักษาความเร็วของปลายใบพัดกวน (impeller tip speed, V_{tip}) ให้คงที่ ส่งผลให้ผลิตกรดอินโดล-3-แอสีติกได้สูงถึง

3,569.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกของการผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกโดยจุลินทรีย์ในระดับนำร่อง (pilot scale) (Bunsangiam et al. 2021)

การศึกษาการเจริญของยีสต์และราค้ายีสต์ที่อาศัยร่วมกับพืชกินแมลง (Sun et al. 2014) พบยีสต์ *Cryptococcus flavus* YL12 และ JYC073 ซึ่งเป็นยีสต์ในไฟลัม *Basidiomycota* ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ในช่วง 85-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารยีสต์เอ็กแทรกต์เพปไทด์โตสบรอต (yeast extract malt peptone broth, YPD broth) ที่เติมแอล-ทริปโทเฟน 0.1 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ดินจากการเพาะปลูกเป็นแหล่งของยีสต์ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกเช่นกัน โดยการแยกยีสต์จากดินโคนต้นถั่วหลายชนิดได้ยีสต์ 538 ไอโซเลต เมื่อศึกษาพบว่ามียีสต์ 77 ไอโซเลตที่ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ โดยไอโซเลต YA05 และ YR07 ผลิตได้มากที่สุด คือ 80-90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารที่เติมแอล-ทริปโทเฟน 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Ignatova et al. 2015) ส่วน Fu et al. (2016) แยกยีสต์และราค้ายีสต์จากผิวใบและรอบรอกของพืชกินแมลง (*Drosera spatulata* Lab.) ได้ยีสต์จากผิวใบ 32 ไอโซเลตและจากรอบรอก 8 ไอโซเลต ในจำนวนนี้พบว่ายีสต์ *Rh. paludigena* JYC100 ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้มากที่สุด คือ 400.59 ± 52.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหาร YPD broth ที่เติมแอล-ทริปโทเฟนให้มีความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชเป็น 6.5 และบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่ 28 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ยีสต์ *Rh. mucilaginosa* ที่แยกผิวใบอ้อยในประเทศบราซิล ผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ถึง 655 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารโพเทโทบรอต (potato broth) ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เติมแอล-ทริปโทเฟน 0.054 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชเท่ากับ 6.0 (Scarcella et al. 2017)

การประยุกต์ใช้กรดอินโดล-3-แอซีติก

การใช้ประโยชน์จากกรดอินโดล-3-แอซีติกส่วนใหญ่แล้วเป็นการประยุกต์ใช้เป็นฮอร์โมนพืชที่ช่วยส่งเสริมการเติบโตของพืช เนื่องจากการใช้จุลินทรีย์ที่สังเคราะห์ฮอร์โมนพืช เช่น กรดอินโดล-3-แอซีติก มีข้อดีมากกว่าการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ เพราะจุลินทรีย์นอกจากสามารถผลิตออกซินแล้ว ยังสามารถผลิตสารหรือมีกิจกรรมอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อพืช เช่น การผลิตไซโตไคนนินที่ช่วยจับเหล็กให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ หรือผลิตวิตามินซึ่งมีความจำเป็นต่อการเติบโตของพืชได้ด้วย (Tsavkelova et al. 2006) และยังช่วยให้พืชเติบโตได้ในภาวะแวดล้อมที่มีสารพิษปนเปื้อน เช่น การส่งเสริมการเติบโตของข้าวฟ่างในดินที่ปนเปื้อนฟีนแอนทรีน (phenanthrene) (Golubev et al. 2009) เนื่องจากรดอินโดล-3-แอซีติกที่ผลิตจากจุลินทรีย์เป็นสารชีวภาพ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกที่ผลิตจากจุลินทรีย์

ส่งเสริมการเติบโตของพืช ย่อมดีกว่าการใช้ปุ๋ยที่ผลิตจากกระบวนการทางเคมีที่หากตกค้างจะเป็นการทำลายสิ่งแวดล้อมและเป็นพิษทั้งกับคนและสัตว์

นอกจากการประยุกต์ใช้ในแง่การส่งเสริมการเติบโตของพืชแล้ว ยังมีการประเมินเพื่อประยุกต์ใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของยีสต์ *Papiliotrema laurentii* (ชื่อเดิม *Cryptococcus laurentii*) ที่เป็นยีสต์ปฏิปักษ์ต่อรา *Penicillium expansum* สาเหตุของโรคเน่าจากราสีน้ำเงิน (blue mold rot) บนผลแอปเปิ้ล โดยพบว่า การควบคุมโรคจะได้ผลดีหากเติมกรดอินโดล-3-แอซีติกให้มีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในเซลล์แขวนลอยของยีสต์ *P. laurentii* นานกว่า 12 ชั่วโมง ซึ่งกรดอินโดล-3-แอซีติกมีผลช่วยเหนี่ยวนำให้แอปเปิ้ลต้านทานต่อโรค แต่ก็ไม่สามารถกำจัดราก่อโรคได้โดยสิ้นเชิง (Yu et al. 2009)

ด้วยเหตุที่กรดอินโดล-3-แอซีติกออกฤทธิ์เป็นสารส่งเสริมการเติบโตของพืชที่ความเข้มข้นต่ำ แต่หากพืชได้รับกรดอินโดล-3-แอซีติกปริมาณมากก็อาจส่งผลในทางตรงกันข้ามได้ ปริมาณของกรดอินโดล-3-แอซีติกที่มากเกินไปจะเป็นพิษต่อเซลล์พืช และทำให้พืชไวต่อการเกิดโรคจากแบคทีเรีย ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของพืชบกพร่องลง (Spaepen et al. 2007) จึงเริ่มมีการศึกษาการใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกเพื่อเป็นสารกำจัดวัชพืช Park et al. (2015) พบว่าแบคทีเรีย *Enterobacter* sp. 1-3 สร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกได้เมื่อเติมแอล-ทริปโทเฟนในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทดลองใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกที่ *Enterobacter* sp. 1-3 สร้างขึ้นมาทดสอบการยับยั้งการเติบโตของผักกาดหอมที่ใช้เป็นตัวแทนของวัชพืช พบว่าอาหารเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย *Enterobacter* sp. 1-3 ที่เติมทริปโทเฟน มีกรดอินโดล-3-แอซีติกความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ให้ผลยับยั้งความยาวและความกว้างของใบผักกาดหอม รวมทั้งลดความยาวรากให้สั้นลง แต่กลับพบว่า มีจำนวนรากแขนงเพิ่มขึ้น Bunsangiam et al. (2021) ได้ทดลองนำกรดอินโดล-3-แอซีติกที่ผลิตจากยีสต์ *Rh. fluvialis* DMKU-CP293 ไปใช้ยับยั้งการเจริญของหญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) ซึ่งเป็นวัชพืชที่กำจัดได้ยาก พบว่าการใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกที่ผลิตจากยีสต์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งการเจริญของหญ้าแห้วหมูได้จริง จึงเป็นการยืนยันศักยภาพของกรดอินโดล-3-แอซีติกที่ผลิตโดยยีสต์ด้วยกระบวนการทางชีวภาพว่ามีแนวโน้มในการนำไปใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชเพื่อทดแทนสารเคมีกำจัดวัชพืชได้ ดังนั้นการการใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกเพื่อส่งเสริมการเติบโตของพืชอาจต้องพิจารณาปริมาณการใช้งานที่เหมาะสม มีการนำออกซินสังเคราะห์มาใช้เป็นยากำจัดวัชพืชได้แก่ กรด 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) กรด 2,4,5-ไตรคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2,4,5-T) กรด 2-เมทิล-4-คลอโรฟีนอกซี-แอซีติก (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid, MCPA) และกรดพาราคลอโรฟีนอกซี-แอซีติก (p-chloro-phenoxy-acetic acid, 4-CPA หรือ pCPA) ซึ่งสารที่นิยมใช้ คือ 2,4-D

รองลงมาคือ 4-CPA เนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีฤทธิ์ของออกซินสูงมากจึงใช้กำจัดวัชพืชได้ (จรัสสัมฤทธิ์, 2536)

นอกจากผลต่อเซลล์พืชแล้วกรดอินโดล-3-แอซีติกยังอาจส่งผลต่อเซลล์สัตว์ได้ด้วย โดยการทดลองในหนูแสดงว่าปริมาณของกรดอินโดล-3-แอซีติกที่สูงจะทำให้เกิดอะพอพอโทซิส (apoptosis) กับเซลล์ระบบประสาทและอาจก่อให้เกิดภาวะหัวใจเล็กในสัตว์ได้ (Satoshi et al. 2005; Celik et al. 2006) จากอิทธิพลของกรดอินโดล-3-แอซีติกต่อเซลล์สัตว์ดังกล่าว ทำให้มีการศึกษาเพื่อใช้กรดอินโดล-3-แอซีติกเป็นสารเร่งการสลายตัวด้วยแสง (photosensitizer) เพื่อรักษาสิวและมะเร็งผิวหนัง เนื่องจากกรดอินโดล-3-แอซีติกในสภาพปกติเป็นสารที่ไม่มีพิษ แต่อาจเปลี่ยนเป็นสารพิษได้หากถูกเร่งปฏิกิริยาออกซิเดทีฟดีคาร์บอกซิเลชัน (oxidative decarboxylation) โดยเอนไซม์ ฮอสมเรดิชเพอร์ออกซิเดส (horseradish peroxidase, HRP) แล้ว จะทำให้เซลล์รวมทั้งเซลล์มะเร็งตายได้ (Folkes et al. 2001; Wardman et al. 2002; Na et al. 2011; Kim et al. 2004; Huh et al. 2012) นอกจากนี้กรดอินโดล-3-แอซีติกยังเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพอโทซิสของเซลล์มะเร็งผิวหนังที่เกิดจากการสัมผัสรังสีอัลตราไวโอเลตบี (ultraviolet B) (Kim et al. 2006) การศึกษาผลของกรดอินโดล-3-แอซีติกต่อเซลล์สัตว์เป็นงานวิจัยที่อาจต้องการการศึกษาเพื่อยืนยันผลในสัตว์ทดลองเพื่อขยายผลการใช้ประโยชน์ในวงกว้างต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. ฮอสมเรดิชเพอร์ออกซิเดสและสารควบคุมการเติบโตของพืช. โรงพิมพ์สหมิตร ออฟเซท, กรุงเทพฯ.
- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk J Biol.* 2005;29:29–34.
- Amprayna KO, Rose MT, Kecskes M, Pereg L, Nguyen HT, Kennedy IR. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. *Appl Soil Ecol.* 2012;61:295–299.
- Apine OA, Jadhav JP. Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. *J Appl Microbiol.* 2011;110:1235–1244.
- Arshad M, Frankenberger WT. Microbial production of plant hormones. *Plant Soil.* 1991;133:1–8.
- Bak S, Tax FE, Feldmann KA, Galbraith DW, Feyereisen R. CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic branch point in auxin and indole glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2001; 13:101–111.

- Balaji N, Lavanya SS, Muthamizhselvi S, Tamilarasan K. Optimization of fermentation condition for indole acetic acid production by *Pseudomonas* species. *Int J Adv Biotechnol Res*. 2012;3(4):797–803.
- Bharucha U, Patel K, Trivedi UB. Optimization of indole acetic acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growth-promoting rhizobacteria on mustard (*Brassica nigra*). *Agr Res*. 2013;2(3):215–221.
- Bose A, Shah D, Keharia H. Production of indole-3-acetic-acid (IAA) by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* under submerged condition of *Jatropha* seedcake. *Mycology*. 2013;4(2):103–111.
- Bunsangiam S, Sakpuntoon V, Srisuk N, Ohashi T, Fujiyama K, Limtong S. Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in basidiomycetous yeast *Rhodospordiobolus fluvialis*. *Mycobiology*. 2019;47(3):292–300.
- Bunsangiam S, Thongpae N, Limtong S, Srisuk N. Large scale production of indole-3-acetic acid and evaluation of the inhibitory effect of indole-3-acetic acid on weed growth. *Sci Rep*. 2021;11:13094.
- Celik I, Tuluçe Y, Turker M. Antioxidant and immune potential marker enzymes assessment in the various tissues of rats exposed to indole acetic acid and kinetin: a drinking water study. *Pestic Biochem Physiol*. 2006;86(3):180–185.
- Chaiharn M, Lumyong S. Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization from rhizobacteria aimed at improving plant growth. *Curr Microbiol*. 2011;62:173–181.
- Chandra S, Askari K, Kumari M. Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *J Genet Eng Biotechnol*. 2018;16(2):581–586. doi:10.1016/j.jgeb.2018.09.001.
- Clark E, Manulis S, Ophir Y, Barash I, Gafni Y. Cloning and characterization of *iaaM* and *iaaH* from *Erwinia herbicola* pathovar *gypsophila*. *Phytopathology*. 1993;83:234–240.
- Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, Glick BR. Indole-3-acetic acid in plant – microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014;106:85–125
- Datta C, Basu PS. Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub, *Cajanus cajan*. *Res Microbiol*. 2000;155,123–127.
- Folkes LK, Wardman P. Oxidative activation of indole-3-acetic acids to cytotoxic species—A potential new role for plant auxins in cancer therapy. *Biochem Pharmacol*. 2001;61(2):129–136.
- Fu SF, Wei JY, Chen HW, Liu YY, Lu HY, Chou JY. Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signal Behav*. 2015;10(8):e1048052.

- Fu SF, Sun PF, Lu HY, Wei JY, Xiao HS, Fang WT, Cheng BY, Chou JY. Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of *Drosera spatulata* Lab. Fungal Biol. 2016; 433–448.
- Glick BR. 2012. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. Article ID 963401. Hindawi Publishing Corporation Scientifica <http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>
- Golubev SN, Schelud'ko AV, Muratova AY, Makarov OE, Turkovskaya OV. Assessing the potential of rhizobacteria to survive under phenanthrene pollution. Water Air Soil Pollut. 2009;198:5–16.
- Górka B, Wieczorek P. Simultaneous determination of nine phytohormones in seaweed and algae extracts by HPLC–PDA. J Chromatogr B. 2017;1057:32–39.
- Hartmann A, Singh M, Klingmuller W. Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amounts of indole acetic acid. Can J Microbiol. 1983;29:916–923.
- Huh SY, Na JI, Huh CH, Park KC. The effect of photodynamic therapy using indole-3-acetic acid and green light on acne vulgaris. Ann Dermatol. 2012;24(1):56–60.
- Ignatova LV, Brazhnikova YV, Berzhanova RZ, Mukashev TD. Plant growth-promoting and antifungal activity of yeasts from darkchestnut soil. Microbiol Res. 2015;175:78–83.
- Khamna S, Yokota A, Peberdy JF, Lumyong S. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. Eurasia J Biosci. 2010;4:23–32.
- Kim DS, Jeon SE, Park KC. Oxidation of indole-3-acetic acid by horseradish peroxidase induces apoptosis in G361 human melanoma cells. Cell Signal. 2004;16:81–88.
- Kim DS, Kim SY, Jeong YM, Jeon SE, Kim MK, Kwon SB, Na JI, Park KC. Light-activated indole-3-acetic acid induces apoptosis in g361 human melanoma cells. Biol PharmBull. 2006;29(12):2404–2409.
- Kobayashi M, Suzuki T, Fujita T, Masuda M, Shimizu S. Occurrence of enzymes involved in biosynthesis of indole-3-acetic acid from indole-3-acetonitrile in plant-associated bacteria, *Agrobacterium* and *Rhizobium*. P Natl Acad Sci USA. 1995;92:714–718.
- Kulkarni GB, Sanjeevkumar S, Kirankumar B, Santoshkumar M, Karegoudar TB. Indole-3-acetic acid biosynthesis in *Fusarium delphinoides* strain GPK, a causal agent of wilt in chickpea. Appl Biochem Biotech. 2013;169:1292–305.
- Lehmann T, Hoffmann M, Hentrich M, Pollmann S. Indole-3-acetamide-dependent auxin biosynthesis: a widely distributed way of indole-3-acetic acid production? Eur J Cell Biol. 2010;89:895–905.
- Limtong S, Koowadjanakul N. Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. World J Microb Biot. 2012;28:3323–3335.

- Lindow E, Desurmont C, Elkins R, McCourty G, Clark E, Maria TB. Occurrence of indole-3-acetic acid-producing bacteria on pear trees and their association with fruit russet. *Phytopathology*. 1998;88:1149–1157.
- Mandal SM, Mondal KC, Dey S, Pati BR. Optimization of cultural and nutritional conditions for indole-3-acetic acid (IAA) production by a *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Res J Microbiol*. 2007;2:239–246.
- Maor R, Haskin S, Levi-Kedmi H, Sharon A. In planta production of indole-3-acetic acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. *Appl Environ Microb*. 2004;70(3):1852–1854
- Masuda Y, Kamisaka S. 2000. Discovery of auxin, pp 43–49. In Kung SD, Yang SF (eds). *Discoveries in Plant Biology: Volume 3*. World Scientific.
- Matsukawa E, Nakagawa Y, Iimura Y, Hayakawa M. Stimulatory effect of indole-3-acetic on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetologica*. 2007;21:32–39.
- Mazur H, Konop A, Synak R. Indole-3-acetic acid in the culture medium of two axenic green microalgae. *J Appl Phycol*. 2001;13:35–42.
- McSteen P. Auxin and monocot development. *CSH Perspect Biol*. 2010;2:1–27.
- Mehmood A, Khan N, Irshad M, Hamayun M, Ismail, Husna, Javed A, Hussain A. IAA producing endopytic fungus *Fusarium oxysporum* wlv colonize maize roots and promoted maize growth under hydroponic condition. *Euro J Exp Bio*. 2018;8(4):24
- Madhaiyan M, Poonguzhali S, Sa T. Characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase containing *Methylobacterium oryzae* and interactions with auxins and ACC regulation of ethylene in canola (*Brassica campestris*). *Planta*. 2007;226(4):867–76.
- Mano Y, Nemoto K. The pathway of auxin biosynthesis in plants. *J Exp Bot*. 2012;63:2853–2872.
- Morris RO. 1995. Genes specifying auxin and cytokinin biosynthesis in prokaryotes. pp.318–339. In Davies PJ (ed). *Plant Hormones* (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht).
- Myo EM, Ge B, Ma J, Cui H, Liu B, L Shi, Jiang M, Zhang K. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC Microbiol*. 2019;19:155.
- Na JI, Kim SY, Kim JH, Youn SW, Huh CH, Park KC. Indole-3-acetic acid: A potential new photosensitizer for photodynamic therapy of acne vulgaris. *Lasers Surg Med*. 2011;43:200–205.

- Nassar AH, El-Tarabily KA, Sivasithamparam K. Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. *Biol Fert Soils*. 2005;42:97–108.
- Nutaratat P, Srisuk N, Arunrattiyakorn P, Limtong S. Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. *Fungal Biol*. 2014;118:683–694.
- Nutaratat P, Amsri W, Srisuk N, Arunrattiyakorn P, Limtong S. Indole-3-acetic acid production by newly isolated red yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *J Gen Appl Microbiol*. 2015;61:1–9.
- Nutaratat P, Srisuk N, Arunrattiyakorn P, Limtong S. Indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in the basidiomycetous yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Arch Microbiol*. 2016;198(5):429–437.
- Nutaratat P, Monprasit A, Srisuk N. High-yield production of indole-3-acetic acid by *Enterobacter* sp. DMKU-RP206, a rice phyllosphere bacterium that possesses plant growth-promoting traits. *3Biotech*. 2017;7:305. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0937-9>
- Park JM, Radhakrishnan R, Kang SM, Lee IJ. IAA Producing *Enterobacter* sp. I-3 as a potent bio-herbicide candidate for weed control: A special reference with lettuce growth inhibition. *Indian J Microbiol*. 2015;55(2):207–212.
- Patil NB, Gajbhiye M, Ahiwale SS, Gunjal AB, Kapadnis BP. Optimization of Indole 3 acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from sugarcane. *Int J Environ Sci*. 2011;2(1):295–302.
- Pedraza RO, Ramírez-Mata A, Xiqui ML, Baca BE. Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;233(1):15–21.
- Perley JW, Stowe BB. On the ability of *Taphrina deformans* to produce indoleacetic acid from tryptophan by way of tryptamine. *Plant Physiol*. 1966;41:234–237.
- Phillips KA, Skirpan AL, Liu X, Christensen A, Slewinski TL, Hudson C, Barazesh S, Cohen JD, Malcomber S, McSteen P. vanishing tassel2 Encodes a grass specific tryptophan aminotransferase required for vegetative and reproductive development in maize. *Plant Cell*. 2011;23:550–566.
- Piotrowski M, Schonfelder S, Weiler EW. The *Arabidopsis thaliana* isogene NIT4 and its orthologs in tobacco encode beta-cyano-L-alanine hydratase/nitrilase. *J Biol Chem*. 2001;276:2616–2621.
- Pollmann S, Neu D, Weiler EW. Molecular cloning and characterization of an amidase from *Arabidopsis thaliana* capable of converting indole-3-acetamide into the plant growth hormone, indole-3-acetic acid. *Phytochemistry*. 2003;62: 293–300.

- Prieto C RE., Cordoba C NM, Montenegro J AM, González–Mariño GE. Production of indole–3–acetic acid in the culture medium of microalga *Scenedesmus obliquus* (UTEX 393). J Braz Chem Soc. 2011; 22(12):2355–2361.
- Prinsen E, Costacurta A, Michiels K, Vanderleyden J, Van Onckelen H. *Azospirillum brasilense* indole–3–acetic acid biosynthesis: evidence for a non–tryptophan dependent pathway. Mol Plant Microbe In. 1993;6:609–615.
- Prusty R, Grisafi P, Fink GR. The plant hormone indoleacetic acid induces invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae*. P Natl Acad Sci USA. 2004;101(12):4153–7.
- Rao RP, Hunter A, Kashpur O, Normanly J. Aberrant synthesis of indole–3–acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae* triggers morphogenic transition, a virulence trait of pathogenic fungi. Genetics. 2010;185(1):211–220.
- Reineke G, Heinze B, Schirawski J, Buettner H, Kahmann R, Basse CW. Indole–3–acetic acid (IAA) biosynthesis in the smut fungus *Ustilago maydis* and its relevance for increased IAA levels in infected tissue and host tumour formation. Mol Plant Pathol. 2008;9(3):339–355.
- Robinson M, Riov J, Sharon A. Indole–3–acetic acid biosynthesis in *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. Appl Environ Microb. 1998;64:5030–5032.
- Ruanpanun P, Tangchitsomkid N, Hyde KD, Lumyong S. Actinomycetes and fungi isolated from plant parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole–3–acetic acid and siderophore production. World J Microb Biot. 2010;26:1569–1578.
- Satoshi F, Koji U, Masayoshi A, Izumi O. Effect of indole–3 –acetic acid derivatives on neuroepithelium in rat embryos. J Toxicoll Sci. 2005;30(3):165–174.
- de Almeida Scarcella AS, Bizarria Junior R, Bastos RG, Magri MMR. Temperature, pH and carbon source affect drastically indole acetic acid production of plant growth promoting yeasts. Braz J Cheml Eng. 2017;34(2):42 –438.
- Scheidt W, dos Santos Pedroza ICP, Fontana J, da Cruz Meleiro LA, de Barros Soares LH, Reis VM. Optimization of culture medium and growth conditions of the plant growth–promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* BR11417 for its use as an agricultural inoculant using response surface methodology (RSM). Plant Soil. 2019;https://doi.org/10.1007/s11104–019–04172–0
- Sekine M, Watanabe K, Syono K. Molecular cloning of a gene for indole–3–acetamide hydrolase from *Bradyrhizobium japonicum*. J Bacteriol. 1989;171:1718–1724.
- Sessitsch A, Reiter B, Berg G. Endophytic bacterial communities of field–grown potato plants and their plant–growth–promoting and antagonistic abilities. Can J Microbiol. 2004;50:239–249.

- Shokri D, Emtiazi G. Indole-3-acetic acid (IAA) production in symbiotic and non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria and its optimization by Taguchi design. *Curr Microbiol.* 2010;61:217–225.
- Sitbon F, Astot C, Edlund A, Crozier A, Sandberg G. The relative importance of tryptophan-dependent and tryptophan-independent biosynthesis of indole-3-acetic acid in tobacco during vegetative growth. *Planta.* 2000;211:715–721.
- Spaepen S, Vanderleyden J. Auxin and plant-microbe interactions. *CSH Perspect Biol.* 2011;doi:10.1101/cshperspect.a001438.
- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 2007;31:425–448.
- Spartz AK, Gray WM. Plant hormone receptors: new perceptions. *Genes Dev.* 2008;22:2139–2148.
- Sridevi M, Mallaiah KV. Bioproduction of indole acetic acid by *Rhizobium* strains isolated from root nodules of green manure crop, *Sesbania sesban* (L.) Merr. *Iran J Biotechnol.* 2007;5(3): 178–182.
- Srisuk N, Sakpuntoon V, Nutaratat P. Production of indole-3-acetic acid by *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 using sweet whey as a low-cost feed stock. *J Microbiol Biotechn.* 2018;28(9):1511–1516.
- Sun PF, Fang WT, Shin LY, Wei JY, Fu SF, Chou JY. Indole-3-acetic acid-producing yeasts in the phyllosphere of the carnivorous plant *Drosera indica* L. *PLoS One.* 2014;.doi.org/10.1371/journal.pone.0114196
- Swain MR, Ray RC. Optimization of cultural conditions and their statistical interpretation for production of indole-3-acetic acid by *Bacillus subtilis* CM5 using cassava fibrous residue. *J Sci Ind Res.* 2008; 97(8):622–628.
- Tao Y, Ferrer JL, Ljung K, Pojer F, Hong F, Long JA, Li L, Moreno JE, Bowman ME, Ivans LJ, Cheng Y, Lim J, Zhao Y, Ballaré CL, Sandberg G, Noel JP, Chory J. Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell.* 2008; 133:164–176.
- Teale WD, Paponov IA, Palme K. Auxin in action: signaling, transport and the control of plant growth and development. *Nat Rev Mol Cell Bio.* 2006;7:847–859.
- Theunis M, Kobayashi H, Broughton WJ, Prinsen E. Flavonoids, NodD1, NodD2, and nod-box NB15 modulate expression of the y4wEFG locus that is required for indole-3-acetic acid synthesis in *Rhizobium* sp. strain NGR234. *Mol Plant Microbe In.* 2004;17:1153–1161.
- Tsavkelova EA, Yu. Klimova S, Cherdyntseva TA, and Netrusov AI. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. *Appl Biochem Microbiol.* 2006;42(2):117–126.

- Uggla C, Moritz T, Sandberg G, Sundberg B. Auxin as a positional signal in pattern formation in plants. *P Natl Acad Sci USA*. 1996;93:9282–9286.
- Upadhyay A, Birmole R, Aruna K. Optimization and characterization of indole acetaic acid produced by *Enterobacter cloacae* arab05 isolated from rhizospheric region of *Triticum aestivum*. *Int J Recent Sci Res*. 2019;10(12D):36467–36476.
- Wardman P. Indole-3-acetic acids and horseradish peroxidase: A new prodrug/enzyme combination for targeted cancer therapy. *Curr Pharm Design*. 2002;8(15):1363–1374.
- Xin G, Glawe D, Doty SL. Characterization of three endophytic, indole-3-acetic acid-producing yeasts occurring in *Populus* trees. *Mycol Res*. 2009;113:973–980.
- Yu T, Chen J, Lu H, Zheng X. Indole-3-acetic acid improves postharvest biological control of blue mold rot of apple by *Cryptococcus laurentii*. *Phytopathology*. 2009;99:258–264.
- Yurekli F, Geckil H, Topcuoglu F. The synthesis of indole-3-acetic acid by the industrially important white-rot *Lentinus djajor-caju* under different culture conditions. *Mycol Res*. 2003;107(3):305–309.
- Zakharova EA, Shcherbakov AA, Brudnik VV, Skripko NG, Bulkhin NS, Ignato VV. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. *Eur J Biochem*. 1999;259:572–576.
- Zhao Y, Christensen SK, Fankhauser C, Cashman JR, Cohen JD, Weigel D, Chory J. A role for flavin monooxygenase like enzymes in auxin biosynthesis. *Science*. 2001;291: 306–309.

ลิพิดจากจุลินทรีย์ (microbial lipids) หรือน้ำมันเซลล์เดี่ยว (single cell oils; SCOs) คือ ลิพิดที่ผลิตโดยจุลินทรีย์อุดมไขมัน หรือจุลินทรีย์โอเลอจิเนส (oleaginous microorganism) ซึ่งอาจเป็นแบคทีเรีย สาหร่ายขนาดเล็ก ราเส้นใย และยีสต์ สปีชีส์ที่สามารถผลิตและสะสมลิพิดภายในเซลล์ได้ปริมาณสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Ageitos et al. 2011) ลิพิดที่ได้จากจุลินทรีย์เหล่านี้ประกอบด้วยไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol: TAG) ซึ่งมีองค์ประกอบของกรดไขมันใกล้เคียงกับในน้ำมันพืชหลายชนิด 80–90 เปอร์เซ็นต์ (Ratledge 1982) ข้อดีของการใช้จุลินทรีย์ผลิตลิพิดเมื่อเปรียบเทียบกับพืช (Li et al. 2008) ได้แก่

1. จุลินทรีย์มีวงจรชีวิต (life cycle) สั้น จึงสามารถเจริญได้รวดเร็ว
2. ต้องการพื้นที่ในการผลิตน้อย และใช้แรงงานในการผลิตน้อย
3. การผลิตสามารถทำได้ตลอดปี โดยไม่ขึ้นกับฤดูกาลและสภาพภูมิอากาศ
4. สามารถควบคุมการผลิตและขยายขนาดการผลิต (scale up) ได้ง่าย
5. จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในวัตถุดิบที่หลากหลายและมีราคาถูก

ลิพิดจากจุลินทรีย์เป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมเคมีโอเลโอ (oleochemicals) เช่น ไบโอดีเซล สบู่ พลาสติก สี ผงซักฟอก ลิงทอ ยาง สารลดแรงตึงผิว น้ำมันหล่อลื่น สารแต่งเติมในอาหาร เครื่องสำอาง (Probst et al. 2016) เป็นทางเลือกใช้ทดแทนผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียม (petrochemical) เนื่องจากไม่เป็นพิษ (nontoxic) สามารถสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable) และสามารถสร้างขึ้นมาใหม่ได้ (renewable) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ (Blomqvist et al. 2018) และผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงอื่น ๆ เช่น ลิพิดที่มีเหมือนกับเนยที่ได้จากโกโก้ (cocoa butter-like lipid) (Ageitos et al. 2011)

ชนิดของจุลินทรีย์อุตสาหกรรมน้ำมัน

แบคทีเรีย

แบคทีเรียมีข้อได้เปรียบ คือ สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายและมีอัตราการเจริญสูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียบางชนิดสามารถสะสมลิพิดได้ภายใต้ภาวะการเพาะเลี้ยงที่จำเพาะเท่านั้น และลิพิดจากแบคทีเรียมีองค์ประกอบที่แตกต่างจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่จะสะสมลิพิดชนิดพิเศษ เช่น พอลิไฮดรอกซีบิวทีเรต (polyhydroxy-butyrate PHB) และพอลิไฮดรอกซีอัลคานอยด์ (polyhydroxyalkanoate, PHA) แอลกอฮอล์ไขมัน (fatty alcohol) ไกลโคลิพิด (glycolipid) ซัลโฟลิพิด (sulfolipid) ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) เปปไทด์ลิพิด (peptidolipid) แวกซ์เอสเทอร์ (wax ester) ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) แบคทีเรียบางสายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มแบซิลลัส (bacillus) และแอคทิโนแบคทีเรีย (actinobacteria) (Azocar et al. 2010; Martinez et al. 2015) อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่ใช่สายพันธุ์ที่สะสมลิพิดได้สูง การสกัดลิพิดจากเซลล์แบคทีเรียทำได้ยาก เนื่องจากลิพิดสร้างขึ้นที่เยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) ดังนั้นการใช้แบคทีเรียในการผลิตลิพิดจึงไม่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม (Meng et al. 2009)

สาหร่ายขนาดเล็ก

โดยทั่วไปสาหร่ายมีการเจริญแบบออโตโทรฟิก (autotrophic growth) สามารถใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนในรูปคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงานในการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) สาหร่ายบางชนิดมีการเจริญแบบเฮเทอโรโทรฟิก (heterotrophic growth) โดยการปรับเปลี่ยนภาวะในการเพาะเลี้ยงหรือการดัดแปลงพันธุกรรมทำให้สามารถใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอน (เช่น กลูโคส แอซิเตต กลีเซอรอล) เป็นแหล่งคาร์บอนในที่มืด นอกจากนี้ สาหร่ายบางชนิดอาจเจริญภายใต้ภาวะที่มีแสงและสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน เรียกว่า การเจริญแบบมิคโซโทรฟิก (mixotrophic growth) ข้อจำกัดในการขยายขนาดการผลิตของสาหร่ายซึ่งมีการเจริญแบบออโตโทรฟิก คือ ปัจจัยเรื่องแสง การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด (open system) ที่อาศัยแสงจากธรรมชาติจึงต้องการพื้นที่ขนาดใหญ่ในการเพาะเลี้ยง โดยการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดมีความแปรผันสูงในระหว่างช่วงวันหรือช่วงฤดูกาล เนื่องจากสภาพอากาศ และมีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียและโพรโตซัว การเพาะเลี้ยงแบบนี้ได้เซลล์ความหนาแน่นต่ำ จึงต้องเพาะเลี้ยงในปริมาณสูง ๆ ทำให้ต้องใช้น้ำปริมาณมาก ส่วนการเพาะเลี้ยงในระบบปิด (closed system) โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบใช้แสง

(photobioreactor) ซึ่งใช้แสงสังเคราะห์จากเครื่องกำเนิดแสงต่าง ๆ ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานสูง ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กที่เป็นเฮเทอโรโทรฟ (heterotrophic microalgae) แม้จะสามารถเพาะเลี้ยงได้ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) ทั่วไป แต่ความต้องการแหล่งคาร์บอนอินทรีย์สำหรับการสะสมลิพิดอาจเป็นข้อจำกัดในการประยุกต์ใช้สาหร่ายกลุ่มนี้ในการผลิตลิพิด (Li et al. 2008) นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ สาหร่ายใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่นานกว่า

ราเส้นใยและยีสต์

ลิพิดจากราเส้นใยและยีสต์เป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ด้านต่าง ๆ โดยราเส้นใยและยีสต์มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการผลิตลิพิดในระดับอุตสาหกรรม เช่น สามารถเจริญได้รวดเร็ว ให้มวลชีวภาพสูง ไม่ต้องการแสงในการเจริญจึงสามารถเพาะเลี้ยงและควบคุมการผลิตได้ง่ายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพทั่วไป และด้วยโครงสร้างของราเส้นใยที่เจริญเป็นเส้นใย หรือเม็ดกลมเล็ก (pellet) จึงทำให้สามารถเก็บเกี่ยวได้ง่ายกว่าสาหร่ายขนาดเล็กและยีสต์ (Yang et al. 2019) โดยพบว่าราเส้นใยจะสามารถสังเคราะห์ลิพิดที่มีระดับของความไม่อิ่มตัว (degree of unsaturation) สูงกว่าลิพิดที่ได้จากยีสต์ ดังนั้นราเส้นใยส่วนใหญ่จึงถูกใช้ในการผลิตลิพิดที่มีมูลค่าสูงจำพวกกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ (high-value polyunsaturated fatty acid; PUFAs) เช่น กรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid, ARA) กรดแกมมาไลโนเลนิก (gamma-linolenic acid, GLA) กรดอีโคซะเพนทาเอโนอิก (eicosapentaenoic acid, EPA) กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก (docosahexaenoic acid, DHA) (Li et al. 2008) และเนื่องจากลิพิดจากราเส้นใยมีปริมาณของกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid: SFA) สูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ จึงถูกนำมาใช้ผลิตลิพิดที่มีสมบัติเหมือนกับเนยที่ได้จากโกโก้ (Cocoa butter) (Thevenieau and Nicaud 2013) อย่างไรก็ตาม ราเส้นใยมีอัตราการเจริญต่ำกว่ายีสต์ และมีความยุ่งยากในเพาะเลี้ยงมากกว่ายีสต์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์เซลล์เดียว ตัวอย่างของจุลินทรีย์อุดมน้ำมันกลุ่มต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ตัวอย่างของจุลินทรีย์อุดมน้ำมันกลุ่มต่าง ๆ

จุลินทรีย์	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง)
แบคทีเรีย	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	27–38
<i>Arthrobacter</i> sp.	> 40
<i>Bacillus alcalophilus</i>	18–24
<i>Rhodococcus opacus</i>	24–26

ตารางที่ 5.1 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ปริมาณลิกพิด (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง)
สาหร่ายขนาดเล็ก	
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chaetoceros gracilis</i>	15–60
<i>Chlorella protothecoides</i>	48–64
<i>Chlorella zofingiensis</i>	52
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Scenedesmus obliquus</i>	13–58
<i>Schizochytrium</i> spp.	50–77
ราเส้นใย	
<i>Aspergillus oryzae</i>	18–57
<i>Cunninghamella echinulata</i>	18–32
<i>Humicola lanuginose</i>	75
<i>Mortierella isabellina</i>	54–74
<i>Mortierella vinacea</i>	66
<i>Mucor mucedo</i>	62
ยีสต์	
<i>Candida curvata</i>	29–58
<i>Cryptococcus albidus</i>	25–46
<i>Cryptococcus curvatus</i>	25–46
<i>Lipomyces starkeyi</i>	61–68
<i>Rhodosporidiobolus fluvialis</i>	68
<i>Rhodosporidium toruloides</i>	58–68
<i>Rhodotorula glutinis</i>	72
<i>Trichosporon cutaneum</i>	52
<i>Yarrowia lipolytica</i>	36

ที่มา: Hu et al. (2011); Jones et al. (2019); Meng et al. (2009); Poontawee et al. (2017); Sapsirisuk et al. (2022); Thevenieau and Nicaud (2013)

ยีสต์อุดมน้ำมัน

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ในธรรมชาติ ทั้งในดิน น้ำจืด และน้ำเค็ม มียีสต์ประมาณ 1,958 สปีชีส์ เป็นสมาชิกอยู่ใน 100 สกุล โดยมีเพียงประมาณ 160 สปีชีส์เท่านั้นที่สามารถสะสมลิพิดได้ในปริมาณสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือประมาณ 8.2 เปอร์เซ็นต์ของยีสต์สปีชีส์ทั้งหมด (Poontawee et al. 2023) ยีสต์อุดมน้ำมันสกุลที่รู้จักกันดีและมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย ได้แก่ *Candida*, *Cryptococcus*, *Lipomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Trichosporon* และ *Yarrowia* (Ageitos et al. 2011; Li et al. 2008) ยีสต์เหล่านี้สามารถสะสมลิพิดโดยเฉลี่ยประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ยีสต์อุดมน้ำมันบางสายพันธุ์อาจสะสมลิพิดได้สูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเพาะเลี้ยงในภาวะที่มีสารอาหารบางชนิดจำกัด (Beopoulos et al. 2011) ลิพิดเหล่านี้มีองค์ประกอบหลักเป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (80–90 เปอร์เซ็นต์) ประกอบด้วยกรดไขมันสายยาวที่มีคาร์บอนระหว่าง 14–20 อะตอม (ส่วนใหญ่มีคาร์บอน 16 หรือ 18 อะตอม) โดยมีทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว นอกจากนี้ ยังประกอบด้วยกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) สเตอรอล (sterol) และนิวทรัลลิพิด (neutral lipid) อื่น ๆ เช่น โมโนเอซิลกลีเซอรอล (monoacylglycerol) ไดเอซิลกลีเซอรอล (diacylglycerol) สเตอริลเอสเทอร์ (steryl ester) และลิพิดที่มีขั้ว (polar lipid) เช่น ฟอสโฟลิพิด สฟิงโกลิพิด (sphingolipid) และไกลโคลิพิด ซึ่งจะเก็บอยู่ในรูปเม็ดลิพิด (lipid body) เพื่อเป็นแหล่งพลังงานสำรองของเซลล์ โดยปริมาณและองค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดจากยีสต์จะแตกต่างกันไปในแต่ละสปีชีส์หรือสายพันธุ์ของยีสต์ (Beopoulos et al. 2009; Sapsirisuk et al. 2022; Thevenieau and Nicaud 2013) และยังพบว่ายีสต์อุดมน้ำมันที่มีการรายงาน ส่วนใหญ่เป็นพวกเบซิดิโอไมซีตัสยีสต์ (basidiomycetous yeast) (Poontawee et al. 2023; Sitepu et al. 2014)

เป็นเวลาหลายทศวรรษที่มีการศึกษาการใช้ยีสต์เป็นแหล่งของลิพิดอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเคมีโอเลโอ ได้แก่ การผลิตเชื้อเพลิง สารเคมี ส่วนผสมในอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ (Sitepu et al. 2014) อาจกล่าวได้ว่ายีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการผลิตลิพิดในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากมีข้อได้เปรียบหลายประการเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ ได้แก่ ยีสต์มีวงจรชีวิตสั้น มีอัตราการเจริญสูง และมีความสามารถในการสะสมลิพิดได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง การดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อปรับปรุงความสามารถในการสะสมลิพิดในยีสต์สามารถได้ง่าย และยังสามารถปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ได้โดยการปรับเปลี่ยนภาวะในการเพาะเลี้ยง (Kot et al. 2019) ยีสต์มีความไวต่อการถูกทำลายจากไวรัสต่ำ (Sitepu et al. 2014) ไม่สร้างเอ็นโดท็อกซิน

(Beopoulos et al. 2011) โดยยีสต์ส่วนใหญ่จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่าปลอดภัย (generally recognized as safe, GRAS) (Papanikolaou and Aggelis 2011) การเพาะเลี้ยงและการขยายขนาดการผลิตสามารถทำได้ง่ายกว่าสาหร่ายขนาดเล็กเนื่องจากไม่ต้องการแสงในการเจริญ จึงสามารถเพาะเลี้ยงได้ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพทั่วไปและให้ความหนาแน่นของเซลล์สูงขึ้นได้อย่างรวดเร็ว (Li et al. 2008; Sawangkeaw and Ngamprasertsith 2013) ยีสต์สามารถสะสมลิพิดภายในเซลล์ได้ในเวลาอันสั้น โดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 5–9 วัน ขึ้นกับสายพันธุ์ของยีสต์ (Patel et al. 2017) ในระหว่างการเพาะเลี้ยงสามารถควบคุมการปนเปื้อนจากแบคทีเรียได้โดยการปรับภาวะในการเพาะเลี้ยงให้มีพีเอชต่ำ (Sitepu et al. 2014) หรือบางกรณีสามารถดำเนินการภายใต้ภาวะที่ไม่ปลอดเชื้อ (non-sterile conditions) จึงช่วยลดค่าใช้จ่ายในขั้นตอนของการทำให้ปลอดเชื้อ (Polburee and Limtong 2020; Santamauro et al. 2014) นอกจากนี้ เทคโนโลยีสำหรับการเพาะเลี้ยงยีสต์ได้มีการพัฒนาเพื่อให้ผลิตมวลชีวภาพและลิพิดได้ในปริมาณสูง (Ageitos et al. 2011) ยีสต์สามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ง่ายโดยการปั่นเหวี่ยงหรือการกรอง และการสกัดน้ำมันออกจากเซลล์ยีสต์สามารถทำได้ง่าย

ลิพิดจากยีสต์

ความแปรผันของปริมาณลิพิดในเซลล์และองค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดจากยีสต์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ สปีชีส์หรือสายพันธุ์ของยีสต์ ระยะของการเจริญ (growth phase) ชั้สเตรตที่ใช้และองค์ประกอบของอาหารเพาะเชื้อ เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจน (C/N molar ratio) รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง เช่น อุณหภูมิ พีเอชเริ่มต้นของอาหาร ปริมาณกล้าเชื้อ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง การให้อากาศ (Poontawee et al. 2018) โดยองค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดในยีสต์บางชนิดแสดงดังตารางที่ 5.2 จะเห็นว่าชนิดของกรดไขมันหลักในลิพิดจากยีสต์ส่วนใหญ่ คือ กรดพาลมิติก (palmitic acid, C16:0) กรดสเตียริก (stearic acid, C18:0) กรดโอเลอิก (oleic acid, C18:1) และกรดลิโนเลอิก (linoleic acid, C18:2) โดยพบกรดโอเลอิกปริมาณสูงที่สุด ตามด้วย กรดพาลมิติก กรดลิโนเลอิก และกรดสเตียริก ตามลำดับ ซึ่งองค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดจากยีสต์ส่วนใหญ่มีลักษณะใกล้เคียงกับในน้ำมันพืชจึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบทดแทนน้ำมันพืช

ตารางที่ 5.2 ปริมาณลิพิดและองค์ประกอบของกรดไขมันในลิพิดจากยีสต์อุดมน้ำมันเปรียบเทียบกับน้ำมันจากพืชบางชนิด

แหล่งของลิพิด	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนัก เซลล์แห้ง)	องค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)											เอกสารอ้างอิง
		C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	C24:0	
		น้ำมันปาล์ม	-	0.1	1.0	42.8	n	4.5	40.5	10.1	0.2	n	
น้ำมันถั่วเหลือง	-	0.1	0.1	10.2	n	3.7	22.8	53.7	8.6	n	n	n	Ma and Hanna (1999)
น้ำมันเมล็ดฝ้าย	-	0.1	0.7	20.1	n	2.6	19.2	55.2	0.6	n	n	n	Ma and Hanna (1999)
เนยที่ได้จากโกโก้	-	n	n	25.2	n	35.5	35.2	5.2	0.2	n	n	1.5	Zhang et al. (2011)
<i>Cryptococcus albidus</i>	65.0	n	n	12	1	3	73	12	-	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)
<i>Cryptococcus curvatus</i>	58.0	n	n	25	T	10	57	7	-	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)
<i>Cryptococcus curvatus</i>	65.1	n	n	30.1	n	18.5	39.3	8.3	1.2	n	n	1.5	Zhang et al. (2011)
<i>Cryptococcus podzolicus</i>	31.8	n	n	18.4	0.3	5.3	59.4	8.7	0.9	n	n	n	Schulze et al. (2014)
<i>Cystobasidium iriomotense</i>	33.0	n	0.77	30.2	0.13	8.13	36.3	22.7	0.17	n	0.29	1.18	Tanimura et al. (2018)
<i>Lipomyces lipofer</i>	61.6	n	0.8	27.3	0.4	1.3	59	9.9	n	-	-	0.7	Dien et al. (2016)
<i>Lipomyces starkeyi</i>	63.0	n	n	34	6	5	51	3	-	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)
<i>Lipomyces starkeyi</i>	64.9	n	0.7	36.3	4.2	5.0	50.1	3.7	n	n	n	n	Lin et al. (2011)
<i>Lipomyces tetrasporous</i>	61.6	n	-	16.6	2.3	3.2	74.3	2.0	n	0.5	-	0.4	Dien et al. (2016)
<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	21.6	2.9	1.5	18.1	0.2	21.4	25.1	18.2	n	n	3.5	8.7	Tanimura et al. (2016)
<i>Pichia segobiensis</i>	24.6	n	n	19.1	16.0	2.0	51.8	7.5	0.5	n	n	n	Schulze et al. (2014)

ตารางที่ 5.2 (ต่อ)

แหล่งของลิพิด	ปริมาณลิพิด (เปอร์เซ็นต์ของ น้ำหนักเซลล์ แห้ง)	องค์ประกอบของกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)											เอกสารอ้างอิง
		C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	C24:0	
		<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i>	68.3	n	1.2	23.7	0.8	9.8	43.4	17.6	3.5	n	
<i>Rhodospiridium toruloides</i>	57.7	n	1.8	23.1	0.8	11.6	53.2	7.9	1.6	n	n	n	Poontawee et al. (2017)
<i>Rhodoturula glutinis</i>	72.0	n	n	37	1	3	47	8	-	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)
<i>Rhodoturula graminis</i>	n	n	n	22.9	n	2.71	53.5	15.5	2.0	n	n	n	Galafassi et al. (2012)
<i>Rhodoturula graminis</i>	36.0	n	n	30	2	12	36	15	4	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)
<i>Rhodoturula taiwanensis</i>	33.8	n	1.0	20.2	0.3	10.1	50.7	14.7	3.0	n	n	n	Poontawee et al. (2017)
<i>Rhodospiridium paludigenum</i>	26.8	n	1.9	25.6	0.7	8.8	51.2	9.0	2.8	n	n	n	Poontawee et al. (2017)
<i>Trichosporon cutaneum</i>	52.4	n	n	48.6	0.6	19.2	31.7	-	n	n	n	n	Hu et al. (2011)
<i>Trichosporon pullulans</i>	65.0	n	n	15	-	2	57	24	1	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)
<i>Trichosporon porosum</i>	34.1	n	n	19.5	0.3	17.0	40.4	17.8	1.3	n	n	n	Schulze et al. (2014)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	36.0	n	n	11	6	1	28	51	1	n	n	n	Beopoulos et al. (2009)

น: ไม่มีข้อมูล; -: ไม่พบ; T: พบน้อย; C12:0: กรดลอริก (lauric acid); C14:0: กรดไมริสติก (myristic acid); C16:0: กรดพาลมิติก (palmitic acid); C16:1: กรดพาลมิโทเลอิก (palmitoleic acid); C18:0: กรดสเตียริก (stearic acid); C18:1: กรดโอเลอิก (oleic acid); C18:2: กรดลิโนเลอิก (linoleic acid); C18:3: กรดลิโนเลนิก (linolenic acid); C20:0: กรดอะราคิไดนิค (arachidic acid); C22:0: กรดบีฮีนิก (behenic acid); C24:0: กรดลิกโนซีริก (lignoceric acid)

การสังเคราะห์และควบคุมการสะสมลิพิดในจุลินทรีย์อุดมน้ำมัน

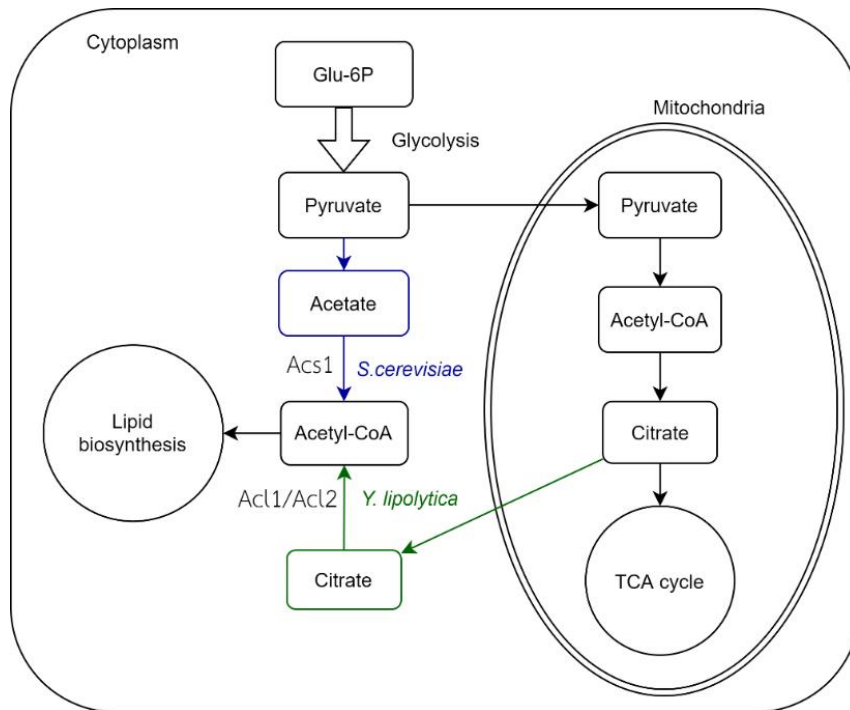
การสะสมลิพิดในจุลินทรีย์ต้องเลี้ยงจุลินทรีย์ในภาวะที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนเกินพอ และจำกัดปริมาณไนโตรเจน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตและสะสมลิพิดจำนวนมาก ๆ ในเซลล์ ต้องสามารถเข้าสู่การสังเคราะห์ลิพิดได้ทันที โดยจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์ลิพิดได้สูง ต้องมีความสามารถในการผลิตแอสีทิล-โคเอ (acetyl-CoA) ได้อย่างต่อเนื่องภายในเซลล์ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์กรดไขมัน และมีความสามารถในการผลิต NADPH มากเพียงพอเพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน การสังเคราะห์แอสีทิล-โคเอ ในจุลินทรีย์อุดมน้ำมันจะเกิดขึ้นเมื่อมีเอนไซม์เอทีพี: ซิเตรตไลเอส [ATP: citrate lyase (Acl1/Acl2)] ซึ่งจะไม่พบในจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่จุลินทรีย์อุดมน้ำมัน (non-oleaginous species) ดังสมการที่ 1



ในยีสต์ที่สะสมลิพิดต่ำ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* การผลิตแอสีทิล-โคเอที่อยู่ภายในไซโทพลาซึมจะเกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาของการเปลี่ยนแปลงแอสีเตต (acetate) จากการทำงานของเอนไซม์แอสีทิล-โคเอซินเทส (acetyl-CoA synthase, Acs1) ในไกลโคไลซิส (glycolysis) ในขณะที่ยีสต์อุดมน้ำมัน เช่น *Yarrowia lipolytica* และจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่สามารถสะสมลิพิดสูง เมื่ออยู่ในภาวะที่มีสารอาหารจำกัด การสังเคราะห์แอสีทิล-โคเอ ในไซโทพลาซึมจะเกิดขึ้นโดยการทำงานของเอนไซม์เอทีพี: ซิเตรตไลเอส จากซิเตรตที่สังเคราะห์ขึ้นภายในไมโทคอนเดรียดังภาพที่ 5.1

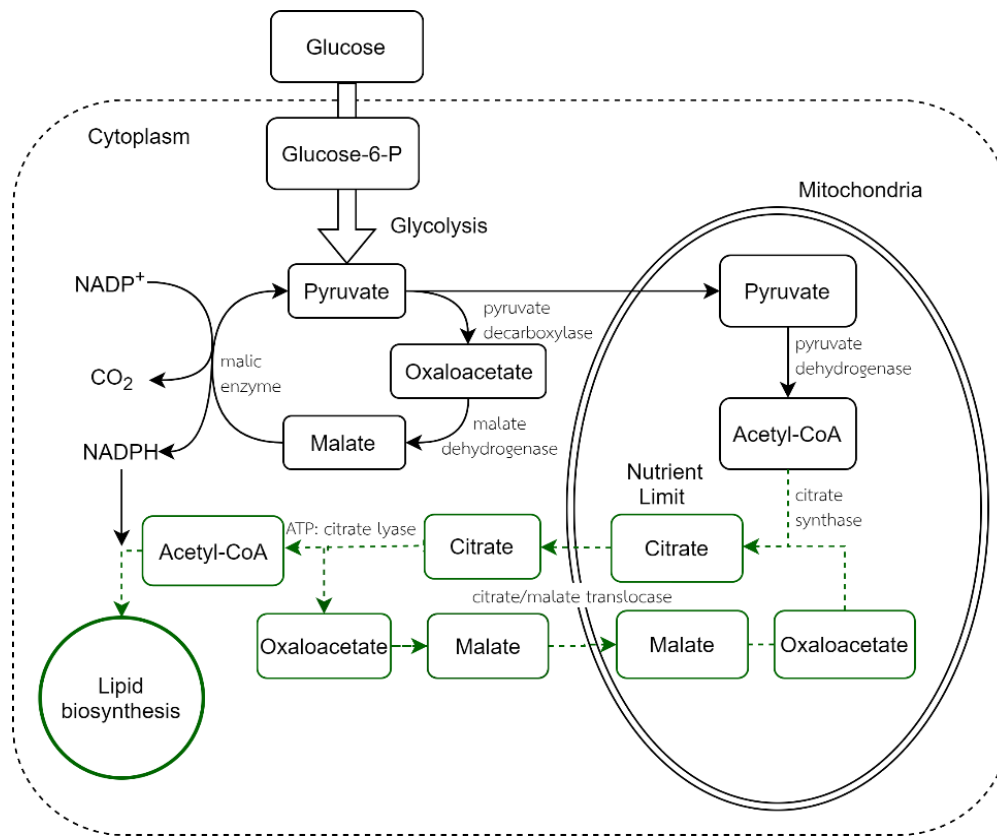
เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจะต้องมีกรดซิตริก (citric acid) ในปริมาณที่เพียงพอ ซึ่งกรดดังกล่าวผลิตได้จากวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิด (tricarboxylic acid cycle: TCA) ซึ่งเกิดขึ้นภายในไมโทคอนเดรีย โดยสมบัติประการหนึ่งที่สำคัญของจุลินทรีย์อุดมน้ำมัน คือ สามารถสะสมกรดซิตริกภายในเซลล์ได้ดี เนื่องจากถูกควบคุมโดยกิจกรรมของเอนไซม์ไอโซซิเตรตดีไฮโดรจีเนส (isocitrate dehydrogenase) เมื่อมีอดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (adenosine monophosphate, AMP) เกิดขึ้นในวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิด โดยความเข้มข้นของอดีโนซีนโมโนฟอสเฟตถูกควบคุมโดยเอนไซม์อดีโนซีนโมโนฟอสเฟตดีอะมิเนส (AMP deaminase) (Ratledge 2004) ดังสมการที่ 2





ภาพที่ 5.1 การสร้างแอสีทิล-โคเอ สำหรับการสังเคราะห์กรดไขมันใน *Saccharomyces cerevisiae* และ *Yarrowia lipolytica* โดยแอสีทิล-โคเอซินเทส (Acs1) และ เอทีพี: ซีเทรตไลเอส (Acl1/Acl2) **ที่มา:** ดัดแปลงจาก Fakas (2017)

การสังเคราะห์ลิพิดของจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ดีเมื่อมีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเมื่อไนโตรเจนมีปริมาณจำกัด จะไปส่งเสริมการสร้างแอสีทิล-โคเอ (Donzella et al. 2019) เซลล์จะมีกิจกรรมของเอนไซม์อดีโนซีนโมโนฟอสเฟตดีอะมิเนสเพิ่มขึ้นเป็น 5 เท่าของการเลี้ยงเซลล์ในภาวะที่ไม่จำกัดปริมาณไนโตรเจน การเพิ่มกิจกรรมของอดีโนซีนโมโนฟอสเฟตดีอะมิเนส จะลดการสะสมของอดีโนซีนโมโนฟอสเฟตภายในเซลล์และในไมโทคอนเดรีย การลดลงของอดีโนซีนโมโนฟอสเฟตในไมโทคอนเดรียจะไประงับหรือหยุดกิจกรรมของไอโซซิเทรตดีไฮโดรจีเนส เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์นี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของอดีโนซีนโมโนฟอสเฟต ผลที่ได้คือ ไอโซซิเทรต (isocitrate) จะไม่ถูกเปลี่ยนแต่จะสะสมภายในไมโทคอนเดรียในรูปของซิเทรต จากนั้นซิเทรตถูกส่งไปสู่ยังไซโทพลาซึม (cytoplasm) ถูกสลายด้วยเอนไซม์เอทีพี: ซีเทรตไลเอส ได้เป็นแอสีทิล-โคเอ และออกซาโลแอสีเทต (oxaloacetate) ซึ่งแอสีทิล-โคเอจะถูกนำไปสังเคราะห์กรดไขมัน ส่วนออกซาโลแอสีเทตถูกเปลี่ยนไปเป็นมาเลต (malate) โดยเอนไซม์มาเลตดีไฮโดรจีเนส (malate dehydrogenase) จากนั้นจะถูกส่งเข้าไปในไมโทคอนเดรีย เพื่อทำหน้าที่ในการส่งซิเทรตจากไมโทคอนเดรียออกสู่ไซโทพลาซึม ดังภาพที่ 5.2



ภาพที่ 5.2 วัฏจักรซีเทรต/มาเลต (เส้นประ) ในจุลินทรีย์อุดมไขมัน

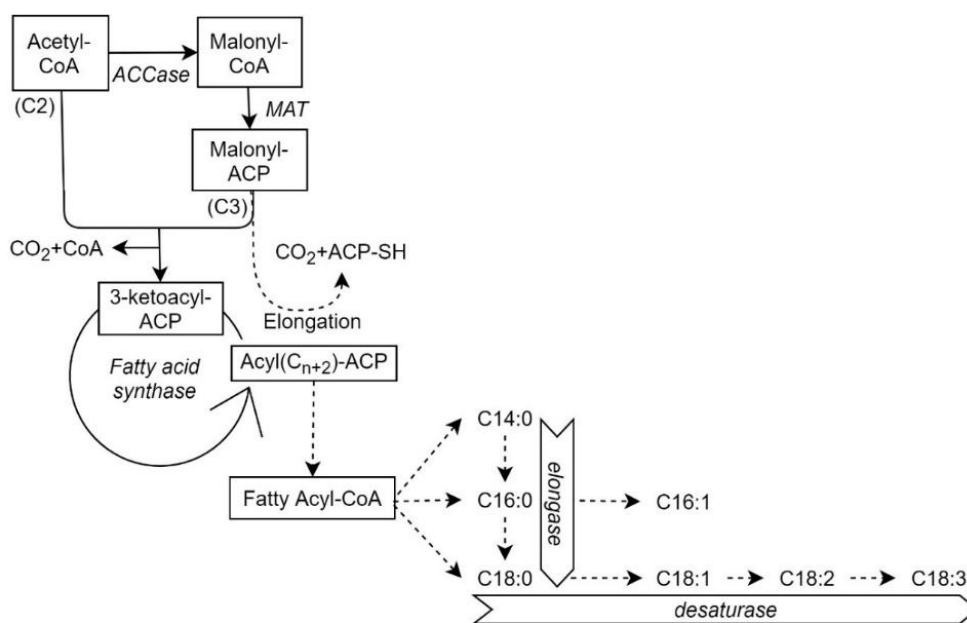
ที่มา: ดัดแปลงจาก Ratledge (2004)

การสังเคราะห์กรดไขมันที่มีคาร์บอน 18 อะตอม จำนวน 1 โมล ต้องการ NADPH จำนวน 16 โมล แหล่งของ NADPH สำหรับการสังเคราะห์กรดไขมันที่สำคัญคือเอนไซม์มาลิก (malic enzyme) ดังสมการที่ 3



เอนไซม์มาลิกพบมากในจุลินทรีย์อุดมไขมัน ซึ่งจะทำให้เกิดสารเชิงซ้อนเมแทบอลอน (metabolon complex) โดยประกอบด้วย ACL และแฟตทีแอซิดซินเทส (fatty acid synthase, FAS) (Liang and Jiang 2015) เพื่อทำหน้าที่เปลี่ยนแอซิติล-โคเอเป็นกรดไขมัน และจากนั้นกรดไขมันจะรวมกับกลีเซอรอลได้เป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล และสะสมในเมมเบรนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum) ในรูปของหยดของกรดไขมัน (fatty acid droplets) ชนิดกรดพาลมิติก (C16:0) จากนั้นมีการเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอม และเพิ่มพันธะคู่ได้เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัวอย่างยิ่งยวดสายยาว (long chain polyunsaturated fatty acid: LCPUFAs) การสังเคราะห์กรดไขมันในจุลินทรีย์จะเริ่มจากการสังเคราะห์กรดพาลมิติก (จากแอซิติล-โคเอ และ

NADPH โดยเกิดขึ้นในไซโทพลาซึม ส่วนแอสีทิล-โคเอซึ่งอยู่ในไมโทคอนเดรียจะถูกส่งออกมาที่ไซโทพลาซึมโดยอาศัยซิเทรตจากนั้นเข้าสู่การสังเคราะห์กรดไขมันในไซโทพลาซึมโดยการควบคุมของเอนไซม์แพตที่แอสิดซินเทส (Tehlivets et al. 2007) เริ่มจากแอสีทิล-โคเอทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์ได้เป็นมาโลนิล-โคเอ (malonyl-CoA) โดยใช้พลังงานจาก ATP จากนั้นแอสีทิล-โคเอและมาโลนิลโคเอทำปฏิกิริยากับโปรตีนบรรทุกเอซิล (acyl carrier protein, ACP) ได้เป็นแอสีทิล-เอซีพี (acetyl-ACP) และ มาโลนิล-เอซีพี (malonyl-ACP) ซึ่งจะรวมกันได้เอซิล-เอซีพี (acyl ACP, C4) และใช้ NADPH 2 โมเลกุล จากนั้นปฏิกิริยาจะดำเนินซ้ำแบบเดิมจำนวน 4 ขั้นตอน จนได้กรดพาล์มิติก ดังภาพที่ 5.3



ภาพที่ 5.3 การสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวในยีสต์ โดยแสดงเอนไซม์เป็นอักษรตัวเอียง โดยแอสีทิล-โคเอคาร์บอกซิเลส (acetyl-CoA carboxylase: ACC) และมาโลนิล-โคเอ-เอซีพี-ทรานแอสิลเลส (malonyl-CoA-ACP transacylase: MAT)

กรดไขมันที่สิ่งมีชีวิตสังเคราะห์ขึ้นส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่มีคาร์บอน 16 หรือ 18 อะตอม จากนั้นกรดไขมันเหล่านั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเอนไซม์ดีแซทูเรส (desaturase) และอีลองเกส (elongase) การเพิ่มพันธะคู่ในกรดไขมันเริ่มจากพาล์มิตอยล์-โคเอ (palmitoyl-CoA, C16:0) เปลี่ยนไปเป็นสเตียโรอิล-โคเอ (stearoyl-CoA, C18:0) จากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็นโอลีอิล (oleoyl-CoA C18:1) การเพิ่มพันธะคู่ในกรดไขมันจะมีปฏิกิริยาการต่อสาย (chain elongation) โดยเอนไซม์อีลองเกสทำหน้าที่เพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอม และปฏิกิริยาการเติมพันธะคู่ (desaturation) โดยเอนไซม์ดีแซทูเรส หน้าที่เพิ่มหรือเติมพันธะคู่ ตามลำดับ จากนั้นก็จะมี

การเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและพันธะคู่ไปเรื่อย ๆ จนได้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว การสร้างพันธะคู่ในกรดไขมันโดยการใช้ออกซิเจนและอาศัยระบบขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport system) เรียกระบบนี้ว่า microsomal desaturase system เช่น พาล์มิทอยล์-โคเอ เปลี่ยนเป็น พาล์มิทอยล์-โคเอ (palmitoyl-CoA, C16:1) โดยอาศัยออกซิเจน และ NADPH โดยปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม กรดไขมันที่สังเคราะห์ได้ในจุลินทรีย์จะเก็บสะสมในรูปของ ไทรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และฟอสฟอกลีเซอไรด์ (phosphoglyceride) เนื่องจากกรดไขมันละลายน้ำได้ยาก และจะอยู่ในรูปไมเซลล์ (micelle) อีกทั้งสมบัติของการเป็นกรด และเป็นตัวออกซิไดส์ (oxidizing agent) ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ จึงสร้างพันธะเอสเทอร์กับสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่เป็นกลีเซอรอล ได้เป็นกลีเซอไรด์ โดยแฟทีเอซิล-โคเอ (fatty acyl-CoA) รวมตัวกับ กลีเซอรอล-3-ฟอสเฟต (glycerol-3-phosphate) เกิดเป็นฟอสฟาติเตต (phosphatidate) เมื่อกำจัดหมู่ฟอสเฟตออกไปจะได้กลีเซอไรด์ซึ่งสามารถรวมตัวกับสารอื่น เช่น โคลีน (choline) ซีรีน (serine) อินอซิทอล (inositol) กลายเป็นฟอสฟอกลีเซอไรด์ แต่จากการรวมตัวกันนั้นฟอสฟาติเตตจะถูกเปลี่ยนไปเป็นรูปที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา (active form) ในรูปอนุพันธ์ของไซทิดีนไดฟอสเฟต (cytidine diphosphate, CDP) คือ ซีดีพี-ไดเอซิลกลีเซอรอล (CDP-diacylglycerol) แล้วจึงรวมกับสารอื่น ๆ

การสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอล

เอซิลกลีเซอรอลหรือกลีเซอไรด์เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล ซึ่งหมู่ไฮโดรอกซิลของกลีเซอรอลจะถูกแทนที่ด้วยกรดไขมันตั้งแต่ 1, 2 และ 3 ตำแหน่ง ซึ่งเรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) ไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) และไตรกลีเซอไรด์ ตามลำดับ โดยกลีเซอไรด์เป็นลิพิดที่พบมากที่สุดที่เซลล์มีถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของลิพิดทั้งหมด และกลีเซอไรด์ที่พบมากที่สุด คือ ไทรกลีเซอไรด์ กรดไขมันที่พบในไตรกลีเซอไรด์ในยีสต์ที่พบมีจำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 8-24 อะตอม โดยชนิดที่มีคาร์บอนอะตอม 16-18 อะตอม (C16, C18) พบมากที่สุด (ตารางที่ 5.3)

การสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอลในยีสต์สามารถเกิดขึ้นได้ 2 กระบวนการหลัก (ภาพที่ 5.4) คือ กระบวนการที่อาศัยเอซิล-โคเอ (acyl-CoA-dependent) และกระบวนการที่ไม่อาศัยเอซิล-โคเอในการเกิดปฏิกิริยา (acyl-CoA-independent) โดยปฏิกิริยาที่อาศัยเอซิล-โคเอ เป็นการเติมกลุ่มเอซิล (acyl group) จากเอซิล-โคเอให้กับไดเอซิลกลีเซอรอล โดยเอนไซม์เอซิล-โคเอ-ไดเอซิลกลีเซอรอล เอซิลทรานสเฟอร์เรส (acyl-CoA diacylglycerol acyltransferase, DAGAT; EC 2.3.1.20) ซึ่งมักพบที่บริเวณเมมเบรนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และเป็นกระบวนการหลักในการสังเคราะห์ไตรเอซิลกลีเซอรอลในยีสต์ ในอีกทางหนึ่งการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่อาศัยเอซิล-โคเอ จะใช้

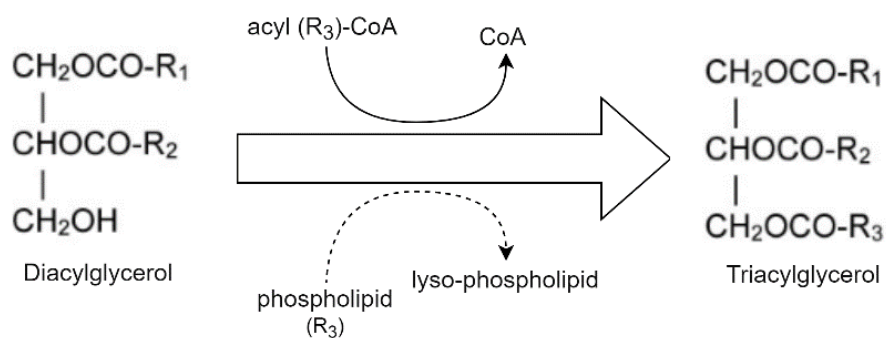
กลุ่มเอซิล ที่ได้จากการสลายของกลีเซอโรฟอสโฟลิพิด (glycerophospholipid) เป็นสารตั้งต้น โดยใช้ เอนไซม์ฟอสโฟไลเปส (phospholipase) และเอซิลทรานสเฟอเรส (acyltransferase) จากปฏิกิริยา ดังกล่าว หมู่กรดไขมัน ที่ตำแหน่งที่สองของกลีเซอโรฟอสโฟลิพิดจะย้ายไปเข้ากับไดเอซิล- กลีเซอรอล ในอีกกลไกหนึ่งคือ การย้ายหมู่ฟังก์ชันของไดเอซิลกลีเซอรอล 2 โมเลกุล และเกิดเป็น ไทรเอซิลกลีเซอรอลและโมโนเอซิลกลีเซอรอล อย่างไรก็ตามเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาดังกล่าวมักพบ กลุ่มเซลล์ยูแคริโอตชั้นสูง เช่น พืชหรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ยังไม่มียีนในยีสต์ (Athenstaedt, 2019)

ตารางที่ 5.3 องค์ประกอบของลิพิดในยีสต์อุดมไขมันบางสายพันธุ์

สายพันธุ์ยีสต์	ปริมาณและชนิดของลิพิด (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)							
	TG	DG	MG	FFA	S	SE	PL	G
<i>Cryptococcus albidus</i>	92	2.5	1	3	1	1	2	-
<i>Lipomyces starkeyi</i>	95	1	-	<1	1	-	3	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	67	-	-	4	2	7	11	6
<i>Trichosporon pullulans</i>	82	1	-	-	10	1	4	-

TG: ไทรกลีเซอไรด์; DG: ไดกลีเซอไรด์; MG: โมโนกลีเซอไรด์; FFA: กรดไขมันอิสระ; S: สเตอรอล; SE: สเตอรอลเอสเทอร์; PL: ฟอสโฟลิพิด; G: ไกลโคลิพิด

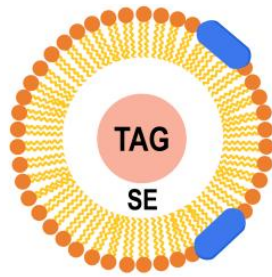
ที่มา: ดัดแปลงจาก Ratledge and Tan (1990)



ภาพที่ 5.4 กลไกการสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ โดยกระบวนการที่ต้องใช้เอซิล-โคเอ (→) หรือ ไม่ใช้เอซิล-โคเอ (---→)

การสร้างเม็ดลิพิดในยีสต์

เมื่อเซลล์อยู่ในภาวะขาดแคลนสารอาหารบางชนิด แต่มีแหล่งคาร์บอนในปริมาณสูง จะเกิดการสะสมลิพิดประเภทไตรกลีเซอไรด์ภายในเซลล์โดยเฉพาะในกลุ่มของยีสต์ไขมันสูงหรือยีสต์อุดมไขมัน ทั้งนี้ลิพิดไม่มีขั้วดังกล่าวไม่สามารถเข้ากันได้กับโครงสร้างอื่น ๆ ภายในเซลล์ จึงรวมตัวอยู่ในไซโทพลาซึมของเซลล์ในรูปของกลุ่มไขมันที่เรียกว่า “เม็ดลิพิด” หรือ “หยดลิพิด (lipid droplet)” (Garay et al. 2014) โดยองค์ประกอบของโมเลกุลที่มีลักษณะเป็นแกนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic core) ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์และสเตอรอลเอสเทอร์จะถูกห่อหุ้มด้วยฟอสโฟลิพิดที่มีชั้นเดียว (phospholipid monolayer) และมีโครงสร้างของโปรตีนแทรกอยู่บางส่วน (ภาพที่ 5.5)



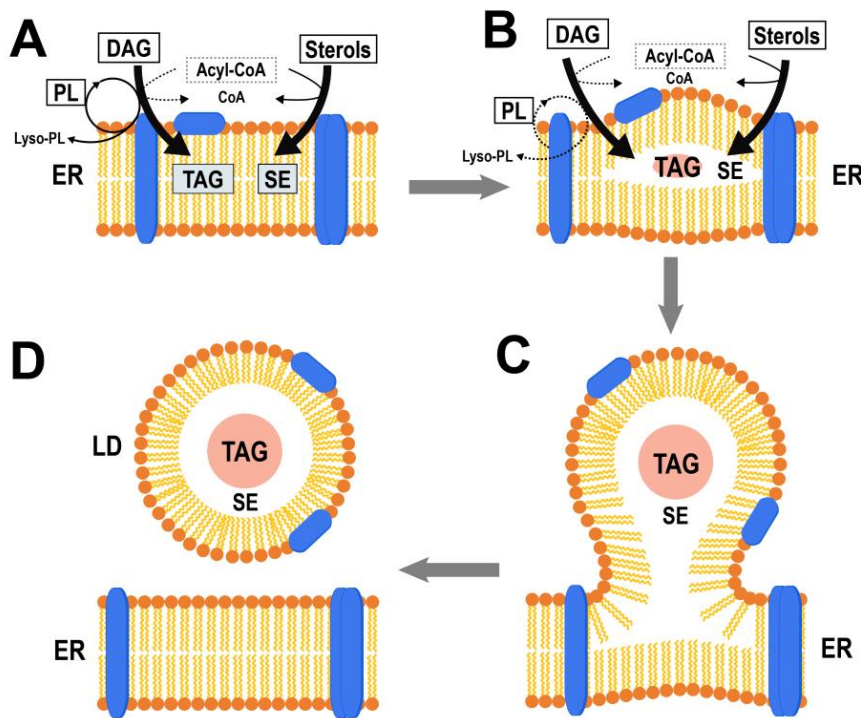
ภาพที่ 5.5 ลักษณะของเม็ดลิพิด โดยองค์ประกอบที่อยู่ภายในสุดเป็น hydrophobic core ในรูปของแกนไตรกลีเซอไรด์ (TAG core) ซึ่งห่อหุ้มด้วยชั้นของสเตอรอลเอสเทอร์ (SE) และฟอสโฟลิพิดที่มีชั้นเดียว ที่ชั้นนอกสุด และมีโครงสร้างของโปรตีน (แสดงเป็นท่อนยาวในภาพ) แทรกอยู่บางส่วน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Athenstaedt (2019)

โดยทั่วไปยีสต์อุดมไขมัน เช่น *Y. lipolytica* (Athenstaedt et al. 2006), *Pichia pastoris* (Ivashov et al. 2013) มักมีการสะสมของไตรกลีเซอไรด์เป็นหลัก แตกต่างจากสายพันธุ์ยีสต์โดยทั่วไป เช่น *S. cerevisiae* ที่มีสัดส่วนของไตรกลีเซอไรด์และสเตอรอลเอสเทอร์ในปริมาณเท่ากัน และขนาดเม็ดลิพิดภายในเซลล์ของ *S. cerevisiae* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3–0.4 ไมโครเมตร จนถึงขนาดใหญ่สุดที่มีรายงานคือ 1.2–1.6 ไมโครเมตร (Grillitsch et al. 2011) ขณะที่เม็ดลิพิดที่พบในยีสต์อุดมไขมัน *Y. lipolytica* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าถึงสองเท่าเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ยีสต์โดยทั่วไป และมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเลี้ยงในภาวะที่ขาดแคลนสารอาหาร โดยพบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดลิพิดเพิ่มขึ้นจาก 0.65 ไมโครเมตร เป็น 2.5 ไมโครเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบของกรดโอเลอิก (Athenstaedt et al. 2006)

การสร้างเม็ดลิพิดยังคงเป็นที่สนใจและยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนทางวิชาการ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยอมรับการสร้างเม็ดลิพิดในรูปแบบของการแตกหน่อ (budding model) (Athenstaedt

2019; Garay et al. 2014) ซึ่งมีรายงานยืนยันว่าการสร้างเม็ดลิพิดในยีสต์เกิดขึ้นระหว่างชั้นเมมเบรนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม โดยการสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ที่บริเวณเมมเบรนชั้นนอกภายในเอนโดพลาซึมก่อน จึงเริ่มมีการสังเคราะห์ที่ผนังชั้นในของเอนโดพลาซึม (Choudhary et al. 2015) ทั้งนี้เนื่องจากไตรกลีเซอไรด์เป็นลิพิดที่ไม่มีขั้วทำให้ไม่สามารถรวมเข้ากับชั้นฟอสโฟลิพิดซึ่งเป็นเยื่อของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมได้ จนเกิดการสะสมไตรกลีเซอไรด์ระหว่างชั้นของเยื่อและมีการยืดขยายของฟอสโฟลิพิดในลักษณะคล้ายเลนส์นูนที่บริเวณดังกล่าวและการเพิ่มขึ้นของโปรตีนซึ่งเป็นแอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ลิพิด (Teixeira et al. 2018) การสังเคราะห์ลิพิดอย่างต่อเนื่องทำให้ขนาดของเมมเบรนบริเวณดังกล่าวโป่งนูน และยืดขยายออกไปทางด้านไซโทพลาซึมกระทั่งขยายขนาดจนถึง “ขนาดวิกฤต (critical size)” จนเกิดลักษณะของการแตกหน่อและเม็ดลิพิดหลุดออกจากส่วนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม ดังภาพที่ 5.6



ภาพที่ 5.6 แบบจำลองการสร้างเม็ดลิพิด โดย (A) ฟอสโฟลิพิด (PL) หรือเอซิล-โคเอ รวมตัวกับ ไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) ได้เป็นไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) ซึ่งเป็นกลุ่มของลิพิดที่ไม่มีขั้วและสะสมอยู่ภายในชั้นของเยื่อ (B) การสังเคราะห์ลิพิดที่บริเวณดังกล่าวนำไปสู่ลักษณะการนูนออกของเมมเบรน (C) ซึ่งยังคงยึดติดกับเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมโดยการยืดขยายออกของฟอสโฟลิพิดและเกิดเป็นหน่อของเม็ดลิพิดที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (D) เม็ดลิพิดขยายขนาดจนถึงขนาดวิกฤต และหลุดออกจากเมมเบรนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม

ที่มา: ดัดแปลงจาก Athenstaedt (2019)

วัตถุดิบสำหรับการผลิตลิพิดโดยยีสต์

การประเมินศักยภาพของจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในการผลิตลิพิดต้องคำนึงถึงปัจจัยสำคัญ 3 ประการ คือ (1) ปริมาณลิพิดที่ผลิตได้ โดยจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมลิพิดในเซลล์ปริมาณสูงจะได้รับความสนใจในทางอุตสาหกรรม (2) คุณภาพของลิพิดที่ได้ ซึ่งลิพิดจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่แตกต่างกันออกไป เช่น ไขมันอิ่มตัว สหราชอาณาจักรขนาดเล็กสามารถผลิตกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวหลายพันธะ (polyunsaturated fatty acids; PUFAs) ที่มีความยาวของสายคาร์บอนและมีพันธะคู่จำนวนมากกว่าที่พบในน้ำมันพืช และไขมันอิ่มตัวจะสามารถสังเคราะห์ลิพิดที่มีระดับของความไม่อิ่มตัวสูงกว่าลิพิดที่ได้จากยีสต์ และ (3) ความสามารถในการใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูก ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายส่วนของวัตถุดิบในการผลิต (Thevenieau and Nicaud 2013) ซึ่งข้อได้เปรียบประการหนึ่งของการใช้ยีสต์ในการผลิตลิพิด คือ ยีสต์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่หลากหลายในการเจริญเพื่อผลิตมวลชีวภาพและลิพิด โดยกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงยีสต์และลิพิดมากที่สุด แหล่งคาร์บอนชนิดอื่น ๆ ที่มีรายงาน ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ (เช่น ซิโลส ซูโครส เซลโลไบโอส) โพลีแซคคาไรด์ (เช่น แป้งที่สามารถละลายน้ำได้ แป้งมันสำปะหลัง เพกติน แก่นตะวัน) กรดอินทรีย์ (เช่น กรดแอสซิติค กรดซิตริก กรดบิวทิริก กรดโพรพิโอนิก) กลีเซอรอลบริสุทธิ์ นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้วัตถุดิบราคาถูก (low-cost substrates) ประเภทวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ผลพลอยได้ทางอุตสาหกรรม ของเสียอินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรมและชุมชน เช่น กากน้ำตาลจากอ้อยและหัวบีทซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตน้ำตาล หางนมซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตเนยแข็ง กลีเซอรอลดิบซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตไบโอดีเซล รวมทั้งไฮโดรไลเสตของลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose hydrolysates) เช่น ฟางข้าว ฟางข้าวสาลี ต้นข้าวโพดซังข้าวโพด ชานอ้อย ต้นข้าวฟ่างหวาน ยอดอ้อย จากความสามารถในการใช้แหล่งวัตถุดิบที่มีราคาถูกจึงทำให้ยีสต์มีความสามารถในการแข่งขันทางเศรษฐกิจสูงกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ วัตถุดิบที่มีรายงานการใช้เพื่อผลิตลิพิดโดยยีสต์อุดมไขมันแสดงดังตารางที่ 5.4

ตารางที่ 5.4 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลิพิดจากยีสต์อุดมไขมัน

วัตถุดิบ	ยีสต์	อ้างอิง
Glucose	<i>Lipomyces mesembrius</i> SWU-NGP 14-6	Sapsirisuk et al. (2022)
Xylose	<i>Lipomyces starkeyi</i> AS 2.1560	Lin et al. (2014)
Glucose and xylose	<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Yu et al. (2014)
Glucose and cellobiose	<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Yu et al. (2014)
Xylose and cellobiose	<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Yu et al. (2014)

ตารางที่ 5.4 (ต่อ)

วัตถุดิบ	ยีสต์	อ้างอิง
Arabinose	<i>Rhodospiridium toruloides</i> CBS14	Wiebe et al. (2012)
Sucrose	<i>Rhodotorula glutinis</i> IIP-30	Johnson et al. (1995)
Volatile fatty acids	<i>Cryptococcus albidus</i> ATCC 10672	Fei et al. (2011)
Acetic acid	<i>Rhodospiridium toruloides</i> AS 2.1389	Huang et al. (2016)
	<i>Trichosporon fermentans</i> CICC 1368	Liu et al. (2015)
	<i>Yarrowia lipolytica</i> CICC 31596	Gao et al. (2017)
Butyric acid	<i>Yarrowia lipolytica</i> CICC 31596	Gao et al. (2017)
Propionic acid	<i>Yarrowia lipolytica</i> CICC 31596	Gao et al. (2017)
Sugarcane molasses	<i>Rhodospiridium toruloides</i> CCT 0783	Vieira et al. (2014)
Sugar beet molasses	<i>Rhodotorula glutinis</i> TR29	Taskin et al. (2016)
Pure glycerol	<i>Candida freyschussii</i> DBVPG 6208	Amaretti et al. (2012)
Crude glycerol	<i>Rhodospiridium fluviale</i> DMKU-RK253	Polburee et al. (2016)
Soluble starch	<i>Cryptococcus terricola</i> JCM 24523	Tanimura et al. (2014)
Potato starch	<i>Lipomyces starkeyi</i> NRRL Y-11557	Wild et al. (2010)
Cassava starch hydrolysate	<i>Rhodospiridium toruloides</i> 21167	Wang et al. (2012)
Jerusalem artichoke hydrolysate	<i>Rhodospiridium toruloides</i> Y4	Zhao et al. (2011)
Galacturonate (Pectin-derived carbohydrate)	<i>Trichosporon cutaneum</i> AS 2.571, <i>Trichosporon fermentans</i> CICC 1368, <i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Wang et al. (2015)
Monosodium glutamate wastewater	<i>Lipomyces starkeyi</i> GIM2.142	Liu et al. (2012)
Olive oil mill wastewater	<i>Lipomyces starkeyi</i>	Yousuf et al. (2010)
Palm oil mill wastewater	<i>Rhodotorula glutinis</i> TISTR 5159	Saenge et al. (2011)
Butanol fermentation wastewater	<i>Trichosporon coremiiforme</i> CH005	Chen et al. (2012)
Bioethanol wastewater	<i>Rhodospiridium toruloides</i> Y2	Zhou et al. (2013)
Distillery wastewater	<i>Rhodospiridium toruloides</i> AS 2.1389	Ling et al. (2013)
Livestock wastewater	<i>Candida pseudolambica</i>	Chung et al. (2016)
Pulp and paper industry wastewater	<i>Rhodospiridium kratochvilovae</i> HIMPA1	Patel et al. (2017)

ตารางที่ 5.4 (ต่อ)

วัตถุดิบ	ยีสต์	อ้างอิง
Waste office paper hydrolysate	<i>Cryptococcus curvatus</i> DSM 70022	Annamalai et al. (2018)
Spent yeast hydrolysate	<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Ryu et al. (2013)
Cheese whey	<i>Yarrowia lipolytica</i> B9	Taskin et al. (2015)
Cheese whey and sugarcane molasse	<i>Cryptococcus laurentii</i> 11	Castanha et al. (2014)
Levoglucosan	<i>Rhodotorula glutinis</i> ATCC204091	Lian et al. (2013)
Sugar beet pulp hydrolysate	<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Wang et al. (2015)
Food waste leachate hydrolysate	<i>Yarrowia lipolytica</i> DSM 8218	Johnravindar et al. (2018)
Corncob hydrolysate	<i>Cryptococcus</i> sp. SM5S05	Chang et al. (2015)
Corn stover hydrolysate	<i>Rhodotorula graminis</i> DBVPG 4620	Galafassi et al. (2012)
Rice bran hydrolysate	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Enshaeieh et al. (2015)
Rice straw hydrolysate	<i>Rhodotorula glutinis</i> BCRC 22360	Yen and Chang (2015)
Sugarcane bagasse hydrolysate	<i>Yarrowia lipolytica</i> Po1g	Tsigie et al. (2011)
Sugarcane top hydrolysate and crude glycerol	<i>Rhodospiridiobolus fluvialis</i> DMKU-SP314	Poontawee and Limtong (2020); Poontawee et al. (2018)
Sweet sorghum bagasse hydrolysate	<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	Liang et al. (2012)
Wheat straw hydrolysate	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Enshaeieh et al. (2015)

วิธีการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตลิพิดโดยจุลินทรีย์

การเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ (Batch cultivation)

การเพาะเลี้ยงแบบแบตช์เป็นวิธีการพื้นฐานที่นิยมใช้ในการศึกษาการผลิตลิพิดจากจุลินทรีย์มากที่สุด ทั้งในฟลาสก์เขย่า (shake flask) จนถึงระดับถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่ายและช่วยส่งเสริมให้เกิดภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสะสมลิพิด โดยเป็นที่ทราบกันว่าในภาวะที่มีสารอาหารบางชนิดจำกัด (เช่น แหล่งไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ สังกะสี) เป็นกลไกกระตุ้นการสะสมลิพิดในจุลินทรีย์ (Li et al. 2007) การผลิตลิพิดด้วยการเพาะเลี้ยง

แบบแบตช์โดยทั่วไปจะใช้อาหารเพาะเชื้อที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนมากเกินไป คือ มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) สูง โดยในระยะแรกของการเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนยังไม่ถูกจำกัด แหล่งคาร์บอนจะถูกใช้ไปเพื่อการเจริญและสร้างมวลชีวภาพ (growth phase) จากนั้นเมื่อแหล่งไนโตรเจนถูกใช้จนหมด ทำให้เซลล์อยู่ในภาวะขาดแคลนแหล่งไนโตรเจน เซลล์เกือบทั้งหมดจะหยุดเจริญและเข้าสู่ระยะสะสมลิพิด (lipid accumulation phase) หรือลิพोजีนิกเฟส (lipogenic phase) แหล่งคาร์บอนที่เหลืออยู่จะถูกใช้ไปเพื่อการสะสมลิพิด โดยพบว่าหากมวลชีวภาพที่ผลิตขึ้นในช่วงการเจริญสูง จะส่งผลให้อัตราการผลิตลิพิดในระยะสะสมลิพิดสูงตามไปด้วย (Rossi et al. 2011) ซึ่งการผลิตมวลชีวภาพจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนเริ่มต้นในอาหารเพาะเชื้อด้วย (Beopoulos et al. 2009) แต่การใช้อาหารเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนเริ่มต้นสูง ๆ อาจส่งผลยับยั้งจุลินทรีย์หรือที่เรียกว่า การยับยั้งด้วยซับสเตรต (substrate inhibition) และอาจมีการผลิตผลผลิตข้างเคียงอื่น ๆ เช่น กรดอินทรีย์ (Rossi et al. 2011) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ความหนาแน่นของเซลล์สูง ๆ จึงไม่สามารถทำได้ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ (Li et al. 2007)

การเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์ (Fed-batch cultivation)

การเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์เป็นระบบที่มีการเติมสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญหรือการสร้างผลผลิตลงไปในระบบเป็นระยะ (intermittent feeding) หรือเติมแบบต่อเนื่อง (continuous feeding) ทำให้สามารถควบคุมความเข้มข้นของสารอาหาร โดยเฉพาะอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจนที่เป็นตัวแปรสำคัญในการสะสมลิพิดให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม (optimal level) ซึ่งสามารถทำได้โดยการปรับอัตราเร็วในการเติมสารอาหาร (feed rate) และองค์ประกอบของอาหาร ส่งผลให้ได้ความเข้มข้นของลิพิด (lipid concentration) หรือผลผลิตลิพิด (lipid yield) สูงสุดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการ (Lim 2013; Yamanè and Shimizu 1984) โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์ถูกนำมาใช้เพื่อหลีกเลี่ยงผลการยับยั้งจากการใช้ซับสเตรตเริ่มต้นความเข้มข้นสูง หรือผลการกดตันจากแคทาโบไลต์หรือกลูโคส (catabolite repression/glucose repression) ที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ ข้อได้เปรียบของการเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์ คือ ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้น ได้ความเข้มข้นมวลชีวภาพสูง เพิ่มอัตราการผลิตต่อหน่วยเวลา (productivity) ช่วยลดปัญหาการยับยั้งจากการใช้ซับสเตรตเริ่มต้นความเข้มข้นสูง รวมทั้งผลการยับยั้งจากผลิตภัณฑ์สุดท้าย (end-product inhibition) ลดการสูญเสียน้ำจากระบบที่เกิดจากการระเหย ลดความหนืดของน้ำหมัก (culture broth) จึงส่งผลให้อัตราการละลายของออกซิเจนสูง (Chang et al. 2013; Yamanè and Shimizu 1984) การเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อ

ผลิตลิวินิต โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์มีประสิทธิภาพในการผลิตมวลชีวภาพและลิวินิต สูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ (Chang et al. 2013; Fei et al. 2016; Pereira et al. 2019; Zhang et al. 2011)

โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์จะเก็บเกี่ยวน้ำหมักเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง โดย อาจเก็บเกี่ยวทั้งหมดหรือบางส่วน ซึ่งการเก็บเกี่ยวน้ำหมักบางส่วนออกจากระบบ แล้วเติม สารอาหารใหม่ลงไปเพื่อเริ่มต้นการหมักในรอบถัดไปเรียกว่า การเพาะเลี้ยงแบบรีฟิต เฟด-แบตช์ (repeated fed-batch cultivation) เซลล์ที่เหลืออยู่ในระบบจะทำหน้าที่เป็นกล้าเชื้อ (seed culture) สำหรับการหมักในรอบถัดไป ทำให้มั่นใจได้ว่ามีปริมาณกล้าเชื้อที่มากเพียงพอสำหรับการหมักใน รอบถัดไป โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงแบบรีฟิต เฟด-แบตช์ จะประกอบด้วย 3 ระยะ ได้แก่ การบรรจุ (filling) อาหาร การจัดการกระบวนการแบบแบตช์ (batch processing) และการเก็บเกี่ยว (harvesting) น้ำหมัก โดยการเพาะเลี้ยงแบบนี้สามารถทำซ้ำได้หลายรอบ (Lim 2013) และมีข้อดี คือ ช่วยลด ขั้นตอน เวลา และค่าใช้จ่ายในการเตรียมถังปฏิกรณ์ชีวภาพและการเตรียมกล้าเชื้อ

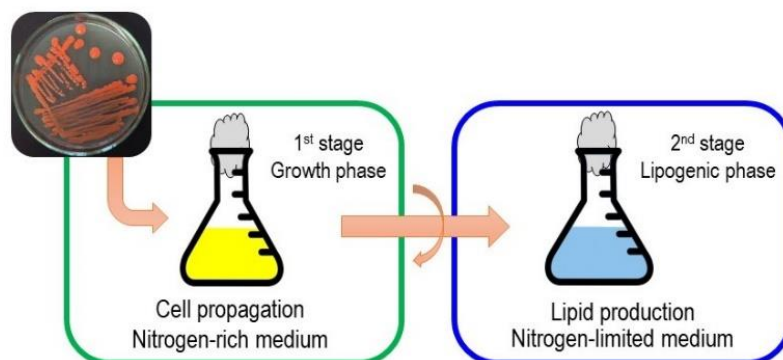
การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (Continuous cultivation)

การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องเป็นการเติมอาหารใหม่ลงในระบบพร้อม ๆ กับถ่ายน้ำหมัก ออกจากระบบอย่างต่อเนื่อง ซึ่งรูปแบบการเติมอาหารเข้าไปในระบบอย่างต่อเนื่องนั้นจะช่วย หลีกเลี่ยงการยับยั้งที่เกิดจากการใช้ซับสเตรตความเข้มข้นสูงเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงแบบเฟด- แบตช์ โดยปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการสะสมลิวินิตของจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องขึ้นอยู่กับ อัตราการเจือจาง (dilution rate; D) และอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจนใน อาหารเพาะเชื้อ (Ratledge 1994; Ykema et al. 1986) โดยมีรายงานว่าที่อัตราการเจือจางต่ำ จะส่งเสริมการสะสมลิวินิตและมีการใช้ซับสเตรตอย่างสมบูรณ์ ในทางตรงกันข้าม การเพิ่มอัตราการ เจือจางจะช่วยเพิ่มกำลังการผลิต (volumetric productivity) โดยการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องมีข้อดี เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ คือ สามารถดำเนินการได้ในระยะยาว โดยสามารถ ควบคุมปริมาณมวลชีวภาพให้อยู่ในระดับคงที่ และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้อย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตาม การดำเนินการหมักในระยะยาวอาจพบปัญหาการอุดตันเนื่องจากตะกอนของอาหาร เพาะเชื้อ หรือการเกิดไบโอฟิล์มเมื่อเซลล์มีความหนาแน่นสูง และมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน ซึ่งจะส่งผลให้ปริมาณผลผลิตค่อย ๆ ลดลง (Karamerou and Webb 2019)

การเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอน (Two-stage cultivation)

จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการส่งเสริมการสะสมลิพิดของยีสต์อุณหภูมิมักมีภาวะที่แตกต่างกันในการส่งเสริมการเจริญของเซลล์หรือการเพิ่มชีวมวล การเพาะเลี้ยงยีสต์ควรเพาะเลี้ยงในภาวะที่มีอาหารสมบูรณ์ ทั้งในปริมาณของแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และองค์ประกอบของอาหารอื่น ๆ อย่างไรก็ตามภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อส่งเสริมการสะสมลิพิดในเซลล์ควรอยู่ในภาวะที่มีสารอาหารบางอย่างขาดแคลน เช่น การเพาะเลี้ยงในแหล่งอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณจำกัด แต่มีปริมาณของแหล่งคาร์บอนในปริมาณที่มากเกินไป โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเพื่อส่งเสริมการผลิตลิพิดในยีสต์ มักเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำกว่า 20 ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงในภาวะดังกล่าวส่งผลต่อผลผลิตชีวมวล เป็นผลทำให้ค่าความเข้มข้นของลิพิด (หน่วยเป็นกรัมต่อลิตร) ต่ำไปด้วย แม้ปริมาณลิพิดสะสมภายในเซลล์ (lipid content) ซึ่งหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ของลิพิดต่อน้ำหนักเซลล์แห้งจะสูงก็ตาม

การส่งเสริมการผลิตลิพิดโดยการปรับปรุงกระบวนการผลิต เพื่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณชีวมวลและส่งเสริมการสะสมลิพิดภายในเซลล์ จึงมีการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอนขึ้น เป็นการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ 2 ครั้งติดต่อกัน (ภาพที่ 5.7) โดยปรับภาวะการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมสำหรับการส่งเสริมการเจริญของเซลล์ในขั้นตอนที่ 1 เช่น การเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนอุดมสมบูรณ์ (nitrogen-rich medium) และปรับภาวะการเพาะเลี้ยงเพื่อส่งเสริมการสะสมลิพิดภายในเซลล์ในขั้นตอนที่ 2 เช่น การเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนจำกัด (nitrogen-limited medium) การเพาะเลี้ยงในภาวะดังกล่าวเซลล์จะเปลี่ยนการไหลของแหล่งคาร์บอน (carbon flux) จากการใช้เพื่อการผลิตชีวมวลโดยวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิด เป็นการใช้แหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตลิพิดโดยการสังเคราะห์แอซิติล-โคเอทเดแทน ซึ่งการเพาะเลี้ยงดังกล่าวจะส่งผลให้ได้ผลผลิตชีวมวลในปริมาณสูง เช่นเดียวกับการส่งเสริมการสะสมลิพิดภายในเซลล์



ภาพที่ 5.7 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอนเพื่อผลิตลิพิดจากยีสต์

การปรับเปลี่ยนชนิดของแหล่งคาร์บอนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงสองขั้นตอน เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มศักยภาพการผลิตลิวิน การเพาะเลี้ยง *R. toruloides* AS 2.1389 (Huang et al. 2016) โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ (C/N ratio = 15) เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นถ่ายเซลล์เพื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเชื้อที่มีกรดแอสซิติคเป็นแหล่งคาร์บอนภายใต้ภาวะที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง (C/N ratio = 200) ซึ่งกลูโคสในการเพาะเลี้ยงขั้นแรกสามารถใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญของยีสต์ได้ดี ขณะที่กรดแอสซิติคซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญ จะถูกนำมาในการเพาะเลี้ยงขั้นที่สอง ซึ่งเป็นขั้นตอนการเพาะเลี้ยงที่ไม่ต้องการส่งเสริมการเจริญ โดยพบว่าสามารถผลิตชีวมวลได้ 4.21 กรัมต่อลิตร และลิวินสะสมภายในเซลล์ที่ 38.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ในอีกทางหนึ่งการเพาะเลี้ยงยีสต์เมื่อใช้แหล่งอาหารราคาถูก เช่น การเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodospiridiobolus fluvialis* DMKU-SP314 โดยใช้ไฮโดรไลเสตของยอดอ้อยเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ในการเพาะเลี้ยงระยะที่ 1 และใช้กลีเซอรอลดิบจากการผลิตไบโอดีเซลเพื่อส่งเสริมการสะสมลิวินของยีสต์ในการเพาะเลี้ยงขั้นตอนที่ 2 ซึ่งได้ผลผลิตชีวมวลถึง 21.07 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นลิวินที่ 15.85 กรัมต่อลิตร และเปอร์เซ็นต์ของลิวินสะสมภายในเซลล์ที่ 73.04 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Boonyarit et al. 2020)

จากการศึกษาก่อนหน้า โดยการเพาะเลี้ยงยีสต์ *R. fluvialis* DMKU-RK253 (Polburee et al. 2016) ในเออเลนเมเยอร์ฟลาสก์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร เมื่อใช้กลีเซอรอลดิบซึ่งเป็นของเหลือจากการผลิตไบโอดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอน และใช้ผงชูรสเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงขั้นตอนที่ 1 และการเพาะเลี้ยงได้ถูกปรับปรุงในการเพาะเลี้ยงขั้นที่สอง เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตลิวิน โดยเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมัก (จาก 30 องศาเซลเซียส เป็น 25 องศาเซลเซียส) ร่วมกับการใช้เซลล์ความเข้มข้นสูง ได้ปริมาณลิวินสูงถึง 14.11 กรัมต่อลิตร เมื่อมีชีวมวลเท่ากับ 22.17 กรัมต่อลิตร (เท่ากับสะสมลิวิน 63.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) และตรวจพบเม็ดลิวินขนาดเล็กในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง รายงานดังกล่าวแสดงให้เห็นว่านอกจากการปรับความเข้มข้นของแหล่งอาหารเพาะเชื้อให้เหมาะสมสำหรับการผลิตลิวินแล้ว ภาวะการเพาะเลี้ยง เช่น อุณหภูมิ พีเอช ความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้นในการเพาะเลี้ยง ย่อมส่งผลต่อความสามารถในการสะสมลิวินของเซลล์เช่นกัน

วิธีการเพาะเลี้ยงสองขั้นตอนยังคงได้รับความนิยม และมีการศึกษาอย่างกว้างขวาง (Karamerou and Webb 2019) แม้ว่าวิธีการดังกล่าวจะสามารถดำเนินการได้โดยการเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงสองขั้นตอนมีข้อเสียเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในขนาดใหญ่ เนื่องจากต้องใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพมากกว่า 1 ถัง และมีความยุ่งยากในการถ่ายเชื้อระหว่างการเพาะเลี้ยง ซึ่งส่งผลให้ค่าใช้จ่ายสูงขึ้น นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงขั้นที่สองที่มีการเปลี่ยนแปลง

สารอาหารระหว่างขั้นตอนการเพาะเลี้ยงส่งผลให้เกิดระยะแล็ก (lag phase) ของยีสต์ ซึ่งเซลล์ไม่เพิ่มจำนวนส่งผลให้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่ยาวนานขึ้น และประสิทธิภาพการผลิตที่อาจลดลง โดย Poontawee and Limtong (2020) ได้พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแบบเฟด-แบตช์ร่วมกับการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอน ที่เรียกว่า การเพาะเลี้ยงสองขั้นตอนเฟด-แบตช์ (two-stage fed-batch cultivation) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 3 ลิตร เพื่อให้สามารถดำเนินการได้ง่ายขึ้น โดยลดขั้นตอนการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงและถ่ายเชื้อระหว่างการหมัก จึงช่วยลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ ลดปัญหาการสูญเสียเซลล์ออกจากระบบ รวมทั้งลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนในขั้นตอนดังกล่าวด้วย โดยในขั้นแรกเป็นการเพาะเลี้ยงยีสต์ *R. fluvialis* DMKU-SP314 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากไฮโดรไลเสตของยอดอ้อยที่เติมแหล่งไนโตรเจนเพื่อส่งเสริมการผลิตมวลชีวภาพ จากนั้นเมื่อปริมาณแหล่งคาร์บอนในรูปแบบน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงต่ำกว่า 10 กรัมต่อลิตร จึงเติมสารละลายกลีเซอรอลดิบซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยได้ศึกษาถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมสารละลายกลีเซอรอลดิบ รูปแบบของการเติมสารละลายกลีเซอรอลดิบ (การเติมแบบรวดเร็วและการเติมแบบต่อเนื่องที่ละน้อย) และอัตราเร็วในการเติมสารละลายกลีเซอรอลดิบ พบว่าได้ผลผลิตมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 38.5 กรัมต่อลิตร และผลผลิตลิวซิน 23.6 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์ถึง 1.27 และ 1.24 เท่า ตามลำดับ (30.3 และ 19.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) และสามารถเพิ่มอัตราการผลิตลิวซินเป็น 98.4 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน

การสกัดลิวซิน

การสกัดลิวซินแบ่งได้เป็นการสกัดโดยใช้วิธีทางเคมี และวิธีทางกล การใช้สารเคมีจะใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วเล็กน้อย เช่น เบนซีน คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ หรือเฮกเซน เพื่อทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และสกัดลิวซินซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในสารละลายดังกล่าว แล้วระเหยตัวทำละลายเพื่อเข้าสู่การทำบริสุทธิ์ต่อไป หรือใช้เป็นระบบตัวทำละลายผสม เช่น สารละลายผสมคลอโรฟอร์มต่อเมทานอลต่อ น้ำ อัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 0.8 โดยปริมาตรต่อปริมาตร โดยลิวซินจะละลายในสารละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น คลอโรฟอร์ม ซึ่งแยกชั้นจากน้ำและเมทานอล ตามวิธีของ Bligh and Dyer (1959) ทั้งนี้การสกัดโดยใช้วิธีทางเคมี อาจอาศัยวิธีทางกล เช่น การกวนผสมด้วยความเร็วสูง เพื่อส่งเสริมการเข้าทำปฏิกิริยาของตัวทำละลายและเม็ดไขมันในเซลล์ หรือการใช้เม็ดบีด เพื่อส่งเสริมการทำลายของผนังเซลล์ร่วมด้วย ตลอดจนการสกัดด้วยตัวทำละลายพร้อมใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic frequency) เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด และการเติมสารบางอย่าง เช่น เกลือ น้ำ และการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง เพื่อให้สารอินทรีย์แยกชั้นออกจากน้ำ ทั้งนี้ลิวซินที่ถูกรีดิวซ์ออกมาได้ ก่อนนำมาวิเคราะห์หาปริมาณและ

ชนิดกรดไขมันต้องแยกให้บริสุทธิ์ก่อนโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีต่าง ๆ ในปัจจุบันการสกัดลิพิดยังคงเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก มีต้นทุนการผลิตสูงในระดับอุตสาหกรรม มีของเสียและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงยังคงต้องมีการพัฒนาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Villa TG. Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;90(4):1219–1227.
- Amaretti A, Raimondi S, Leonardi A, Rossi M, editors. *Candida freyschussii*: an oleaginous yeast producing lipids from glycerol. IBIC2012 Industrial Biotechnology International Conference; 2012.
- Annamalai N, Sivakumar N, Oleskowicz-Popiel P. Enhanced production of microbial lipids from waste office paper by the oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus*. *Fuel.* 2018;217:420–426.
- Athenstaedt K, Jolivet P, Boulard C, Zivy M, Negroni L, Nicaud J–M, et al. Lipid particle composition of the yeast *Yarrowia lipolytica* depends on the carbon source. *Proteomics.* 2006;6(5):1450–1459.
- Athenstaedt K. Nonpolar lipids in yeast: Synthesis, storage, and degradation. *Biogenesis of Fatty Acids, Lipids and Membranes.* 2019. p. 363–373.
- Azocar L, Ciudad G, Heipieper HJ, Navia R. Biotechnological processes for biodiesel production using alternative oils. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010;88(3):621–636.
- Beopoulos A, Cescut J, Haddouche R, Uribebarrea JL, Molina–Jouve C, Nicaud JM. *Yarrowia lipolytica* as a model for bio–oil production. *Prog Lipid Res.* 2009;48(6):375–387.
- Beopoulos A, Nicaud JM, Gaillardin C. An overview of lipid metabolism in yeasts and its impact on biotechnological processes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;90(4):1193–1206.
- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959;37(8):911–917.
- Blomqvist J, Pickova J, Tilami SK, Sampels S, Mikkelsen N, Brandenburg J, et al. Oleaginous yeast as a component in fish feed. *Sci Rep.* 2018;8(1):15945.
- Boonyarit J, Polburee P, Khaenda B, Zhao ZK, Limtong S. Lipid production from sugarcane top hydrolysate and crude glycerol with *Rhodospiridiobolus fluvialis* using a two–stage batch–cultivation strategy with separate optimization of each stage. *Microorganisms.* 2020;8(3):453
- Castanha RF, Mariano AP, Morais LASd, Scramin S, Monteiro RTR. Optimization of lipids production by *Cryptococcus laurentii* 11 using cheese whey with molasses. *Braz J Microbiol.* 2014;45(2):379–387.

- Chang YH, Chang KS, Hsu CL, Chuang LT, Chen CY, Huang F-Y, et al. A comparative study on batch and fed-batch cultures of oleaginous yeast *Cryptococcus* sp. in glucose-based media and corncob hydrolysate for microbial oil production. *Fuel*. 2013;105:711–717.
- Chang YH, Chang KS, Lee CF, Hsu CL, Huang CW, Jang HD. Microbial lipid production by oleaginous yeast *Cryptococcus* sp. in the batch cultures using corncob hydrolysate as carbon source. *Biomass Bioenergy*. 2015;72:95–103.
- Chen XF, Huang C, Xiong L, Chen XD, Chen Y, Ma LL. Oil production on wastewaters after butanol fermentation by oleaginous yeast *Trichosporon coremiiforme*. *Bioresour Technol*. 2012;118:594–597.
- Choudhary V, Ojha N, Golden A, Prinz WA. A conserved family of proteins facilitates nascent lipid droplet budding from the ER. *J Cell Biol*. 2015;211(2):261–271.
- Chung J, Lee I, Han J-I. Biodiesel production from oleaginous yeasts using livestock wastewater as nutrient source after phosphate struvite recovery. *Fuel*. 2016;186:305–310.
- Dien BS, Slininger PJ, Kurtzman CP, Moser BR, O'Bryan PJ. Identification of superior lipid producing *Lipomyces* and *Myxozyma* yeasts. *AIMS Environ Sci*. 2016;3(1):1–20.
- Donzella S, Cucchetti D, Capusoni C, Rizzi A, Galafassi S, Chiara G, et al. Engineering cytoplasmic acetyl-CoA synthesis decouples lipid production from nitrogen starvation in the oleaginous yeast *Rhodospiridium azoricum*. *Microb Cell Fact*. 2019;18(1):199.
- Enshaeieh M, Abdoli A, Madani M. Single Cell Oil (SCO) Production by *Rhodotorula mucilaginosa* and Its Environmental Benefits. *J Agric Sci Technol*. 2015;17:387–400.
- Fakas S. Lipid biosynthesis in yeasts: A comparison of the lipid biosynthetic pathway between the model nonoleaginous yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the model oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. *Eng Life Sci*. 2017;17(3):292–302.
- Fei Q, Chang HN, Shang L, Choi J-d-r. Exploring low-cost carbon sources for microbial lipids production by fed-batch cultivation of *Cryptococcus albidus*. *Biotechnol Bioprocess Eng*. 2011;16(3):482–487.
- Fei Q, O'Brien M, Nelson R, Chen X, Lowell A, Dowe N. Enhanced lipid production by *Rhodospiridium toruloides* using different fed-batch feeding strategies with lignocellulosic hydrolysate as the sole carbon source. *Biotechnol Biofuels*. 2016;9:130.
- Galafassi S, Cucchetti D, Pizza F, Franzosi G, Bianchi D, Compagno C. Lipid production for second generation biodiesel by the oleaginous yeast *Rhodotorula graminis*. *Bioresour Technol*. 2012;111:398–403.
- Gao R, Li Z, Zhou X, Cheng S, Zheng L. Oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* culture with synthetic and food waste-derived volatile fatty acids for lipid production. *Biotechnol Biofuels*. 2017;10:247.

- Garay LA, Boundy–Mills KL, German JB. Accumulation of high–value lipids in single–cell microorganisms: a mechanistic approach and future perspectives. *J Agric Food Chem.* 2014;62(13):2709–2727.
- Grillitsch K, Connerth M, Köfeler H, Arrey TN, Rietschel B, Wagner B, et al. Lipid particles/droplets of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* revisited: lipidome meets proteome. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1811(12):1165–1176.
- Hu C, Wu S, Wang Q, Jin G, Shen H, Zhao ZK. Simultaneous utilization of glucose and xylose for lipid production by *Trichosporon cutaneum*. *Biotechnol Biofuels.* 2011;4(1):25.
- Huang XF, Liu JN, Lu LJ, Peng KM, Yang GX, Liu J. Culture strategies for lipid production using acetic acid as sole carbon source by *Rhodospiridium toruloides*. *Bioresour Technol.* 2016;206:141–149.
- Ivashov VA, Grillitsch K, Koefeler H, Leitner E, Baeumlisberger D, Karas M, et al. Lipidome and proteome of lipid droplets from the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1831(2):282–290.
- Johnravindar D, Karthikeyan OP, Selvam A, Murugesan K, Wong JW. Lipid accumulation potential of oleaginous yeasts: A comparative evaluation using food waste leachate as a substrate. *Bioresour Technol.* 2018;248:221–228.
- Johnson VW, Singh M, Saini VS, Adhikari DK, Sista V, Yadav NK. Utilization of molasses for the production of fat by an oleaginous yeast, *Rhodotorula glutinis* IIP–30. *J Ind Microbiol.* 1995;14(1):1–4.
- Jones AD, Boundy–Mills KL, Barla GF, Kumar S, Ubanwa B, Balan V. Microbial Lipid Alternatives to Plant Lipids. *Microbial Lipid Production: Methods and Protocols.* 2019. p. 1–32.
- Karamerou EE, Webb C. Cultivation modes for microbial oil production using oleaginous yeasts – A review. *Biochem Eng J.* 2019;151:107322
- Kot AM, Blazejak S, Kieliszek M, Gientka I, Brys J. Simultaneous production of lipids and carotenoids by the red yeast *Rhodotorula* from waste glycerol fraction and potato wastewater. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2019;189(2):589–607.
- Li Q, Du W, Liu D. Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2008;80(5):749–756.
- Li Y, Zhao Z, Bai F. High–density cultivation of oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* Y4 in fed–batch culture. *Enzyme Microb Technol.* 2007;41(3):312–317.
- Lian J, Garcia–Perez M, Chen S. Fermentation of levoglucosan with oleaginous yeasts for lipid production. *Bioresour Technol.* 2013;133:183–189.
- Liang Y, Tang T, Umagiliyage AL, Siddaramu T, McCarroll M, Choudhary R. Utilization of sorghum bagasse hydrolysates for producing microbial lipids. *Appl Energy.* 2012;91(1):451–458.

- Liang YJ, Jiang JG. Characterization of malic enzyme and the regulation of its activity and metabolic engineering on lipid production. *RSC Adv.* 2015;5(56):45558–45570.
- Lim H, Shin H. Introduction to Fed-Batch Cultures. *Fed-Batch Cultures: Principles and Applications of Semi-Batch Bioreactors.* Cambridge Series in Chemical Engineering. 2013. p. 1–18.
- Lin J, Li S, Sun M, Zhang C, Yang W, Zhang Z, et al. Microbial lipid production by oleaginous yeast in d-xylose solution using a two-stage culture mode. *RSC Adv.* 2014;4(66):34944–34949.
- Lin J, Shen H, Tan H, Zhao X, Wu S, Hu C, et al. Lipid production by *Lipomyces starkeyi* cells in glucose solution without auxiliary nutrients. *J Biotech.* 2011;152(4):184–188.
- Ling J, Nip S, Shim H. Enhancement of lipid productivity of *Rhodospiridium toruloides* in distillery wastewater by increasing cell density. *Bioresour Technol.* 2013;146:301–309.
- Liu JX, Yue QY, Gao BY, Ma ZH, Zhang PD. Microbial treatment of the monosodium glutamate wastewater by *Lipomyces starkeyi* to produce microbial lipid. *Bioresour Technol.* 2012;106:69–73.
- Liu Zj, Liu Lp, Wen P, Li N, Zong M-h, Wu H. Effects of acetic acid and pH on the growth and lipid accumulation of the oleaginous yeast *Trichosporon fermentans*. *BioResources.* 2015;10(3):4152–4166.
- Ma F, Hanna MA. Biodiesel production: a review. *Bioresour Technol.* 1999;70(1):1–15.
- Martinez EJ, Raghavan V, Gonzalez-Andres F, Gomez X. New biofuel alternatives: integrating waste management and single cell oil production. *Int J Mol Sci.* 2015;16(5):9385–9405.
- Meng X, Yang J, Xu X, Zhang L, Nie Q, Xian M. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renew Energy.* 2009;34(1):1–5.
- Papanikolaou S, Aggelis G. Lipids of oleaginous yeasts. Part II: Technology and potential applications. *Eur J Lipid Sci Technol European.* 2011;113(8):1052–1073.
- Patel A, Arora N, Mehtani J, Pruthi V, Pruthi PA. Assessment of fuel properties on the basis of fatty acid profiles of oleaginous yeast for potential biodiesel production. *Renew Sustain Energy Rev.* 2017;77:604–616.
- Pereira RN, Silveira JMd, Burkert JFdM, Ores JdC, Burkert CAV. Simultaneous lipid and carotenoid production by stepwise fed-batch cultivation of *Rhodotorula mucilaginosa* with crude glycerol. *Braz J Chem Eng.* 2019;36 (3):1099–1108.
- Polburee P, Limtong S. Economical lipid production from crude glycerol using *Rhodospiridiobolus fluvialis* DMKU-RK253 in a two-stage cultivation under non-sterile conditions. *Biomass Bioenergy.* 2020; 138.

- Polburee P, Yongmanitchai W, Honda K, Ohashi T, Yoshida T, Fujiyama K, et al. Lipid production from biodiesel-derived crude glycerol by *Rhodospiridium fluviale* DMKU-RK253 using temperature shift with high cell density. *Biochem Eng J.* 2016;112:208–218.
- Poontawee R, Limtong S. Feeding Strategies of Two-Stage Fed-Batch Cultivation Processes for Microbial Lipid Production from Sugarcane Top Hydrolysate and Crude Glycerol by the Oleaginous Red Yeast *Rhodospiridiobolus fluvialis*. *Microorganisms.* 2020;8(2).
- Poontawee R, Yongmanitchai W, Limtong S. Efficient oleaginous yeasts for lipid production from lignocellulosic sugars and effects of lignocellulose degradation compounds on growth and lipid production. *Process Biochem.* 2017;53:44–60.
- Poontawee R, Yongmanitchai W, Limtong S. Lipid production from a mixture of sugarcane top hydrolysate and biodiesel-derived crude glycerol by the oleaginous red yeast, *Rhodospiridiobolus fluvialis*. *Process Biochem.* 2018;66:150–161.
- Probst KV, Schulte LR, Durrett TP, Rezac ME, Vadlani PV. Oleaginous yeast: a value-added platform for renewable oils. *Crit Rev Biotechnol.* 2016;36(5):942–955.
- Ratledge C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. *Biochimie.* 2004;86(11):807–815.
- Ratledge, C. Microbial oils and fats: an assessment of their commercial potential. In: Bull MJ, editor. *Progress Industrial Microbiology.* Oxford. Elsevier Scientific Publishers; 1982. p. 119–206.
- Ratledge, C. Yeasts, moulds, algae and bacteria as sources of lipids. In: Kamel, B.S., Kakuda Y. editors. *Technological advances in improved and alternative sources of lipids.* Boston, MA: Springer; 1994. p. 235–291.
- Rossi M, Amaretti A, Raimondi S, Leonardi A. Getting lipids for biodiesel production from oleaginous fungi. In: Stoytcheva M, editor. *Biodiesel-feedstocks and processing technologies.* 2011. p. 72–74.
- Ryu BG, Kim J, Kim K, Choi YE, Han JI, Yang JW. High-cell-density cultivation of oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus* for biodiesel production using organic waste from the brewery industry. *Bioresour Technol.* 2013;135:357–364.
- Saenge C, Cheirsilp B, Suksaroge TT, Bourtoom T. Efficient concomitant production of lipids and carotenoids by oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* cultured in palm oil mill effluent and application of lipids for biodiesel production. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 2011;16(1):23–33.
- Santamauro F, Whiffin FM, Scott RJ, Chuck CJ. Low-cost lipid production by an oleaginous yeast cultured in non-sterile conditions using model waste resources. *Biotechnol Biofuels.* 2014;7(1):34.

- Sawangkeaw R, Ngamprasertsith S. A review of lipid-based biomasses as feedstocks for biofuels production. *Renew Sustain Energy Rev.* 2013;25:97–108.
- Sapsirisuk S, Polburee P, Lorliam W, Limtong S. Discovery of oleaginous yeast from mountain forest soil in Thailand. *J Fungi.* 2022;8(10):1100.
- Schulze I, Hansen S, Grosshans S, Rudszuck T, Ochsenreither K, Syldatk C, et al. Characterization of newly isolated oleaginous yeasts – *Cryptococcus podzolicus*, *Trichosporon porosum* and *Pichia segobiensis*. *AMB Express.* 2014;4:24.
- Sitepu IR, Garay LA, Sestric R, Levin D, Block DE, German JB, et al. Oleaginous yeasts for biodiesel: current and future trends in biology and production. *Biotechnol Adv.* 2014;32(7):1336–1360.
- Tanimura A, Sugita T, Endoh R, Ohkuma M, Kishino S, Ogawa J, et al. Lipid production via simultaneous conversion of glucose and xylose by a novel yeast, *Cystobasidium iriomotense*. *Plos One.* 2018;13(9):1–13.
- Tanimura A, Takashima M, Sugita T, Endoh R, Kikukawa M, Yamaguchi S, et al. *Cryptococcus terricola* is a promising oleaginous yeast for biodiesel production from starch through consolidated bioprocessing. *Sci Rep.* 2014;4:4776.
- Tanimura A, Takashima M, Sugita T, Endoh R, Ohkuma M, Kishino S, et al. Lipid production through simultaneous utilization of glucose, xylose, and L-arabinose by *Pseudozyma hubeiensis*: a comparative screening study. *AMB Express.* 2016;6(1):58.
- Taskin M, Ortucu S, Aydogan MN, Arslan NP. Lipid production from sugar beet molasses under non-aseptic culture conditions using the oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* TR29. *Renew Energy.* 2016;99:198–204.
- Taskin M, Saghafian A, Aydogan MN, Arslan NP. Microbial lipid production by cold-adapted oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* B9 in non-sterile whey medium. *Biofuel Bioprod Biorefin.* 2015;9(5):595–605.
- Tehlivets O, Scheuringer K, Kohlwein SD. Fatty acid synthesis and elongation in yeast. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1771(3):255–270.
- Teixeira PG, David F, Siewers V, Nielsen J. Engineering lipid droplet assembly mechanisms for improved triacylglycerol accumulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.* 2018;18(6).
- Thevenieau F, Nicaud J–M. Microorganisms as sources of oils. *Oil seeds and fats, Crops and Lipids.* 2013;20(6).
- Tsigie YA, Wang CY, Truong CT, Ju YH. Lipid production from *Yarrowia lipolytica* Po1g grown in sugarcane bagasse hydrolysate. *Bioresour Technol.* 2011;102(19):9216–222.

- Vieira JP, Ienczak JL, Rossell CE, Pradella JG, Franco TT. Microbial lipid production: screening with yeasts grown on Brazilian molasses. *Biotechnol Lett.* 2014;36(12):2433–2442.
- Wang Q, Guo F–J, Rong Y–J, Chi Z–M. Lipid production from hydrolysate of cassava starch by *Rhodospiridium toruloides* 21167 for biodiesel making. *Renew Energy.* 2012;46:164–168.
- Wang Y, Gong Z, Yang X, Shen H, Wang Q, Wang J, et al. Microbial lipid production from pectin–derived carbohydrates by oleaginous yeasts. *Process Biochem.* 2015;50(7):1097–1102.
- Wiebe MG, Koivuranta K, Penttilä M, Ruohonen L. Lipid production in batch and fed–batch cultures of *Rhodospiridium toruloides* from 5 and 6 carbon carbohydrates. *BMC Biotechnol.* 2012;12:26.
- Wild R, Patil S, Popović M, Zappi M, Dufreche S, Bajpai R. Lipids from *Lipomyces starkeyi*. *Food Technology and Biotechnology.* 2010;48(3):329–335.
- Yamanè T, Shimizu S. Fed–batch techniques in microbial processes. In: *Bioprocess Parameter Control. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, Vol 30.* Heidelberg. Springer, Berlin; 1984. doi.org/10.1007/ BFb0006382.
- Yang Y, Heidari F, Hu B. Fungi (Mold)–Based Lipid Production. *Methods Mol Biol.* 2019;1995:51–89. doi:10.1007/978–1–4939–9484–7_3. PMID:31148121.
- Yen HW, Chang JT. Growth of oleaginous *Rhodotorula glutinis* in an internal–loop airlift bioreactor by using lignocellulosic biomass hydrolysate as the carbon source. *J Biosci Bioeng.* 2015;119(5):580–584.
- Ykema A, Verbree E, Van Verseveld H, Smit H. Mathematical modelling of lipid production by oleaginous yeasts in continuous cultures. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1986;52(6):491–506.
- Yousuf A, Sannino F, Addorisio V, Pirozzi D. Microbial conversion of olive oil mill wastewaters into lipids suitable for biodiesel production. *J Agric Food Chem.* 2010;58(15):8630–8635.
- Yu X, Zheng Y, Xiong X, Chen S. Co–utilization of glucose, xylose and cellobiose by the oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus*. *Biomass Bioenergy.* 2014;71:340–349.
- Zhang J, Fang X, Zhu X–L, Li Y, Xu H–P, Zhao B–F, et al. Microbial lipid production by the oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus* O3 grown in fed–batch culture. *Biomass Bioenergy.* 2011;35(5):1906–1911.
- Zhao X, Hu C, Wu S, Shen H, Zhao ZK. Lipid production by *Rhodospiridium toruloides* Y4 using different substrate feeding strategies. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2011;38(5):627–632.
- Zhou W, Wang W, Li Y, Zhang Y. Lipid production by *Rhodospiridium toruloides* Y2 in bioethanol wastewater and evaluation of biomass energetic yield. *Bioresour Technol.* 2013;127:435–440.

ประวัติผู้เขียน



ชื่อ ศาสตราจารย์ ดร.สาวิตรี ลิ้มทอง

สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ
ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์ และ ผู้อำนวยการ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วท.บ. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2517)
- ปริญญาโท วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2519)
- ปริญญาเอก D. Eng. (Fermentation Technology) Osaka University ประเทศญี่ปุ่น (2530)

ความเชี่ยวชาญ

- ชีววิทยาของยีสต์ (Yeast biology)
- อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของยีสต์ (Yeast Molecular Taxonomy)
- ความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาของยีสต์ (Yeast Biodiversity and Ecology)
- เทคโนโลยีชีวภาพยีสต์ (Yeast Biotechnology)

ผลงานวิชาการ/วิชาชีพที่สำคัญ

- สารคดี ลี้มทอง. 2549. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 611 หน้า
- บทในหนังสือภาษาไทย 4 บท ภาษาอังกฤษ 2 บท
- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติในฐานข้อมูล Web of Science และ Scopus 187 เรื่อง

รางวัลที่ได้รับที่สำคัญ

- เมธีวิจัยอาวุโส สกว. ประจำปี 2554 และ 2560 จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
- นิสิตเก่าดีเด่น ประเภทนักวิชาการ จากสมาคมนิสิตเก่ามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ปี 2550
- Osaka University Global Alumni Fellow จากมหาวิทยาลัยโอซากา ประเทศญี่ปุ่น
- รางวัลอายุโนะโมะโตะ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรม



ชื่อ รองศาสตราจารย์ ดร.รุจิกาญจน์ นาสนิท

สังกัด ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำ

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วท.บ. (เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ประเทศไทย (2542)
- ปริญญาโท วท.ม. (พันธุวิศวกรรม) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2546)
- ปริญญาเอก D. Phil. (Chemistry) มหาวิทยาลัยเบอร์มิงแฮม สหราชอาณาจักร (2552)

ความเชี่ยวชาญ

- การควบคุมทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์
- แบคทีรีโอเฟจ
- ความหลากหลายของจุลินทรีย์

ผลงานวิชาการ/วิชาชีพที่สำคัญ

- คิวซ์ พงษ์เพ็ญจันทร์ รณบรรจบ อภิรติกุล รุจิกาญจน์ นาสนิท. (2562). PM2.5 มัจจุราชเงียบ. กรุงเทพฯ: บ็อค ดอท คอม. 176 หน้า.

- Limtong S., Nasanit R. (2017). Phylloplane Yeasts in Tropical Climates. In Yeasts in Natural Ecosystems: Diversity, Buzzini P., Lachance MA., Yurkov A. (eds), Springer, Cham, p. 199–223.
- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติในฐานข้อมูล Web of Science และ Scopus 22 เรื่อง

รางวัลที่ได้รับ

- รางวัลผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2559 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ประเภทงานวิจัยประยุกต์



ชื่อ รองศาสตราจารย์ ดร.นันทนา ลีสุข

สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ
ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำ

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2530)
- ปริญญาโท วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2533)
- ปริญญาเอก D. Phil. (Biochemistry) Edinburgh University สหราชอาณาจักร (2538)

ความเชี่ยวชาญ

- ยีสต์เมแทบอลิซึม
- เทคโนโลยีชีวภาพของยีสต์

ผลงานวิชาการ/วิชาชีพที่สำคัญ

- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติในฐานข้อมูล Web of Science และ Scopus 59 เรื่อง



ชื่อ ดร.รุจิราลัย พูลทวี

สังกัด สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วท.บ. (จุลชีววิทยา) เกียรตินิยมอันดับสอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเทศไทย (2547)
- ปริญญาโท วท.ม. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2550)
- ปริญญาเอก ปร.ด. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2560)

ความเชี่ยวชาญ

- เทคโนโลยีการหมัก การผลิตลิปิดจากจุลินทรีย์

ผลงานวิชาการ/วิชาชีพที่สำคัญ

- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติในฐานข้อมูล Web of Science และ Scopus จำนวน 4 เรื่อง



ชื่อ ดร.พิรพรรณ พลบุรี

สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำ

ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรี วท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2552)
- ปริญญาเอก ประ.ด. (จุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย (2558)

ความเชี่ยวชาญ

- จุลชีววิทยา
- เทคโนโลยีชีวภาพ
- เทคโนโลยีการหมัก
- การผลิตน้ำมันจุลินทรีย์

ผลงานวิชาการ/วิชาชีพที่สำคัญ

- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติในฐานข้อมูล Web of Science และ Scopus 13 เรื่อง

รางวัลที่ได้รับ

- รางวัลวิทยานิพนธ์ดีมาก ประจำปี 2560 จากสภาวิจัยแห่งชาติ
- รางวัลศิษย์เก่าผู้ประสบความสำเร็จ/ผู้บำเพ็ญคุณประโยชน์ จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2561

