การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืช

นางสาวพนิดา ปรีเปรมโมทย์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
ที่มา: การ Coaching เรื่อง การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืช วันที่ 29 สิงหาคม 2566 โดยนางพิกุล เกตุชาญวิทย์ ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

ยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอยู่ในอาณาจักรฟังไจ (fungi) ซึ่งเป็นอาณาจักรเดียวกับรา (mold) มีเซลล์ชนิดยูคาริโอต (Eukariote) เป็นเซลล์เดี่ยวรูปร่างกลม รูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอน มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย (bacteria) มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 5 ไมครอน ยีสต์ส่วนมากขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (budding) แต่ยีสต์บางชนิดอาจขยายพันธ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) หรือ เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore)

ประโยชน์ของยีสต์

1. ด้านอาหาร เช่น ทำขนมปัง ไวน์ เบียร์ เป็นต้น
2. ด้านพลังงาน เช่น ผลิตเอทานอล
3. ด้านการแพทย์ เช่น การวิจัยค้นคว้าทางด้านการแพทย์ เป็นเซลล์ผู้ให้อาศัย (host) สำหรับยีนที่สนใจจากมนุษย์หรือสัตว์เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตสารที่มีคุณค่า
4. ด้านการเกษตรและสิ่งแวดล้อม เช่น การนำมาใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) นอกเหนือจากการใช้รา (mold) และแบคทีเรีย (bacteria) ข้อดีของการใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืช คือ ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มักไม่สร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ซึ่งอาจมีผลต่อผู้บริโภคที่มีภูมิคุ้มกันไว (hypersensitivity) ทำให้เกิดอาการแพ้ซึ่งอาจรุนแรงถึงเสียชีวิตดังเช่นที่พบในการใช้ราหรือแบคทีเรีย และยังมีการนำมาใช้บำบัดมลพิษในสิ่งแวดล้อม (bioremediation)

ยีสต์ควบคุมโรคพืช

การนำยีสต์มาใช้ควบคุมโรคพืช อาจต้องคำนึงถึงภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการควบคุมจุลินทรีย์โรคพืชโดยไม่แพร่กระจายไปเกิดโรคในพืชชนิดอื่น ๆ การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืชอาจใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ต่างชนิดกันหรือปรับปรุงพันธุ์ยีสต์ให้ควบคุมโรคพืชได้ดีขึ้น นอกจากนี้การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืชยังเป็นการลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ที่นำมาใช้ในทางเกษตรกรรม โดยสายพันธุ์ของยีสต์ที่มีการศึกษาใช้ในการควบคุมโรคพืชแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ควบคุมโรคพืช

สายพันธุ์ยีสต์	ชนิดของพืช	รากอโรคพืช
Cryptococcus albidus	bean, tomato, strawberry, *in vitro*	*Bortytis cinerea; Penicillim glabrum*
Cryptococcus laurentii	apples	*Penicillium expansum; B. cinerea*
Debaromyces hansenii	oranges, apples, grapefruit	*P. digitatum*
Filobasidium floriforme	apples	*B. cinerea*
Kluyveromyces marxianus	*in vitro*	*P. glabrum*
Metschnikowia pulcherrina	*in vitro*, apple	*P. glabrum* *P. expansum* *B. cinerea*
Pichia burtonii	seed	*Penicillium verrucosum*
Pichia guilliermondii	tomato, soy bean, grapefruit, apple	*B. cinerea ; Aspergillus flavus ; P. digitatum*
Pichia membranaefaciens	grapevine	*B. cinerea*
Rhodotorula glutinis	bean and tomato plants, apples	*B. cinerea* *P.expasum*
Saccharomyces cerevisiae	*Pinus sylvestris, in vitro*	*Wood decaying fungi, Alternaria alternate*
Sporidiobolus salmonicolour	apples	*B. cinerea*
Yarrowwia lipolytica	apples	*B. cinerea*

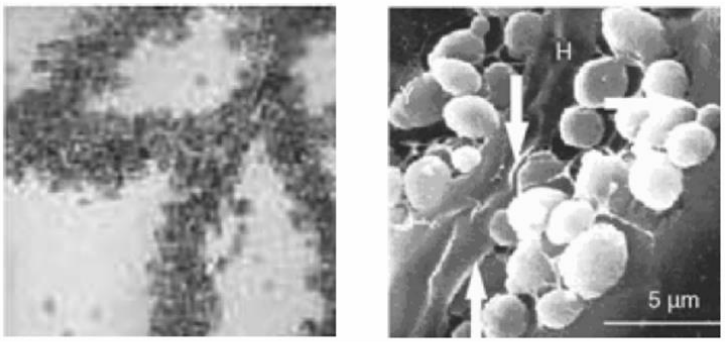
ที่มา: Druvefors (2004)

กลไกการควบคุมโรคพืชของยีสต์

1. การเจริญแก่งแย่งอาหารและพื้นที่กับเชื้อก่อโรคพืช (competition for nutrients and space)

ยีสต์โดยปกติแล้วจะเจริญได้เร็วกว่าราและเจริญครอบคลุมพื้นที่ของพืชได้เร็วกว่า ดังนั้นสารอาหารบริเวณผิวของพืชจึงไม่เหลือให้กับราในการเจริญขยายพันธุ์

2. ภาวะปฏิปักษ์ (Antagonism) สร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ราที่พบมาก ได้แก่ บีตา-1, 3-กลูแคเนส (β-1, 3-glucanase) และเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) โดยเอนไซม์ดังกล่าวจะย่อยสลายโครงสร้างของผนังเซลล์ราเชื้อสาเหตุโรคพืช



ภาพที่ 1 การเกาะติดของเซลล์ยีสต์ *Pichia membranefaciens* (Y) กับเส้นใยรา *Moniliniafructicola* (H) ที่ก่อให้เกิดโรคเน่าในผลแอปเปิ้ล (a, กำลังขยาย 100×) และร่องรอยความเสียหายของเส้นใยรา (ลูกศร) จากการทำลายของยีสต์ (b, ภาพจาก SEM) (Chan and Tian, 2005)

3. การชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (induced resistance in the host tissue)

เซลล์ยีสต์หลายชนิดเมื่ออยู่รวมกับพืชจะมีบทบาทในการชักนำการสร้างสารของพืชที่มีฤทธิ์ในการต้านทานเชื้อก่อโรค กระบวนการกระตุ้นสารต้านทานของพืชโดยยีสต์จะมีลักษณะเป็นวิถี (pathway) ที่ซับซ้อน เช่น การใช้ยีสต์กระตุ้นให้เกิดการสร้างสารเอธิลีน (ethylene) ในผลองุ่นที่มีผลต่อเนื่องให้เกิดการสร้างเอนไซม์ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนียมไลเอส (phenyl alaninammoniumlyase) ขึ้นมา และเอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์กลุ่มสารยับยั้งเชื้อก่อโรค ได้แก่ สารฟีนอล (phenol) ไฟโตอะเล็กซิน (phytoalexin) และลิกนิน (lignin) กลุ่มสารไฟโตอะเล็กซินที่มีบทบาทในการป้องกันการบุกรุกของเชื้อก่อโรคพืช ได้แก่ สโคพาโรน (scoparon) และสโคโพเลทิน (scopoletin)

การผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ควบคุมโรคพืช

การผลิตเซลล์ยีสต์ในระดับการค้าเพื่อใช้ทดแทน สารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้นพบว่าจำนวนเซลล์ยีสต์มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชค่อนข้างมาก นอกจากนี้การเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์ยีสต์ในการควบคุมโรคพืชและการยืดอายุในการเก็บผลิตภัณฑ์ยีสต์ก็มีความสำคัญเช่นกัน ดังนั้นวิธีการเพาะเลี้ยงยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลล์ในระดับใหญ่ และการยืดอายุในการเก็บผลิตภัณฑ์ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. ชนิดของสารอาหารหลักใน การเพาะเลี้ยง ได้แก่ แหล่งคาร์บอน (carbon source) และแหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) ที่สามารถสนับสนุนการเจริญเพื่อผลิตมวลเซลล์ (cell mass) ให้ได้มากที่สุด อย่างไรก็ตามต้องคำนึงถึงต้นทุนของสารอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงด้วย ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งสารอาหารไม่

ควรมีราคาแพงหรือหายาก สารอาหารที่ใช้เลี้ยงยีสต์ได้ผลดี เช่น สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ซูโครส (sucrose) และโมลาส (molasses) เป็นต้น

2. การเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์ยีสต์ในการควบคุมโรคพืชและการยืดอายุในการเก็บผลิตภัณฑ์ยีสต์ให้นานขึ้นที่นิยมใช้ ได้แก่ การผสมสารตัวช่วยลงในผลิตภัณฑ์เซลล์ยีสต์เพื่อส่งเสริมประสิทธิภาพการยับยั้งโรคและป้องกันเซลล์ยีสต์ไม่ให้ตายได้ง่าย เช่น เกลือแคลเซียม (calcium salts) กลีเซอรอล (glycerol) ทรีฮาโลส (trehalose) โซเดียมอัลจิเนท (sodium alginate) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose) และไคโตซาน (chitosan) การใช้สารเคลือบผลไม้ เช่น แว็กซ์ (wax) หรือ เรซิน (resin) ที่ผลิตได้จากแมลงมาใช้ร่วมกับเซลล์ยีสต์เพื่อป้องกันผิวของผลไม้จากการทำลายของราก่อโรค พบว่าทำให้การอยู่รอดของยีสต์ที่เจริญบนผิวของผลไม้มีชีวิตอยู่ได้นานขึ้น และทำให้ผลการยับยั้งโรคดียิ่งขึ้น

3. ผลิตภัณฑ์เซลล์ยีสต์ควรเก็บไว้ได้ไม่น้อยกว่า 6 เดือน โดยทั่วไปควรใช้ได้ 2 ปี การเก็บยีสต์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำ จะช่วยรักษาการอยู่รอดของยีสต์ได้ และควรป้องกันเซลล์ยีสต์โดยการเคลือบเซลล์ด้วยนมพร่องมันเนย (skim milk) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ หรือนมพร่องมันเนยกับเพปโทน (peptone) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลการเก็บรักษาเซลล์ยีสต์ได้ดี นอกจากนี้อาจใช้แลคโตส (lactose) กลูโคส (glucose) ฟรักโทส (fructose) หรือ ซูโครส (sucrose) แทนได้ อย่างไรก็ตามพบว่าการทำให้เซลล์แห้งโดยใช้ความเย็นจัด (freezedried cells) จะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของยีสต์ลดลง

การจัดสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมกับการควบคุมโรค

ประสิทธิภาพของการควบคุมโรคได้ผลมากยิ่งขึ้นซึ่งสามารถทำได้โดยการเพิ่มสารอาหารที่ส่งเสริมการเจริญของยีสต์ แต่เชื้อก่อโรคไม่สามารถนำไปใช้ได้ เช่น แอล-แอสพาราจีน (L-asparagine) แอลโพรลีน (L-proline) แอล-กลูตามีน (L-glutamine) และ 2-ดีออกซี-ดี-กลูโคส (2-deoxy-D-glucose) โดยนำมาใช้ร่วมกับยีสต์ในการควบคุมรา *Penicillium expansum* บนผลแอปเปล พีช และส้ม เป็นต้น

เทคนิคการนำยีสต์ไปใช้ควบคุมโรคพืช

1. การใช้ยีสต์ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นควบคุมโรคพืช เช่น การใช้ยีสต์ *Saccharomyecs roseus* ร่วมกับแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* ในการควบคุมรา *Penicillium expansum* ที่ก่อโรคในพืชหลายชนิด

2. การใช้ยีสต์ควบคุมโรคพืชก่อนการเก็บเกี่ยว เช่น การใช้ *Candida sake* สายพันธุ์ที่ทนความแห้งในการควบคุมโรคราสีน้ำเงิน (blue mold) บนผลแอปเปิ้ลก่อนการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้อาจใช้จุลินทรีย์ผสม เช่น การใช้ยีสต์ *Aureobasidium pullulans* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมรา *Penicillium expansum* และ *Botrytis cinerea* บนผลแอปเปิ้ล ซึ่งพบว่าได้ผลดีเทียบเท่ากับสารเคมีกันรา

3. การใช้ยีสต์ร่วมกับวิธีอื่น ได้แก่

3.1 การใช้สารเคมีที่ไม่เป็นอันตรายร่วมกับการใช้ยีสต์ เช่น การใช้แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) ร่วมกับยีสต์ในการควบคุมรา *Penicillium expansum* บนผลแอปเปิ้ล การใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) หรือผงฟูร่วมกับยีสต์ *Pantoea agglomerans* ในการควบคุมราเขียว

3.2 การใช้เอทานอลร่วมกับยีสต์ *Metschnikowia pulcherrima* ในการควบคุมโรคพืช

3.3 ใช้สารสกัดจากพืชหรือสัตว์ที่สามารถควบคุมโรคพืชได้ร่วมกับยีสต์ควบคุมโรคพืช