บทความวิชาการ

สารไซเดอโรฟอร์จากจุลินทรีย์

มานิตา คำแจ่ม และ วสุ ปฐมอารีย์*

บทคัดย่อ

ธาตุเหล็กเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญสำหรับกิจกรรมเมแทบอลิซึมและการเจริญของจุลินทรีย์ แต่พบว่าในสภาวะค่าความเป็นกรดเบสที่เป็นกลาง ธาตุเหล็กมีความสามารถในการละลายที่ต่ำมาก ดังนั้นจุลินทรีย์จึงนำเหล็กไปใช้ได้ยาก ไซเดอโรฟอร์เป็นสารที่มีมวลโมเลกุลต่ำ มีความจำเพาะต่อเฟอริกไอออน ผลิตได้จากแบคทีเรียและฟังไจบางชนิด เป็นตัวช่วยนำเหล็กเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีปริมาณเหล็กที่จำกัด หรืออยู่ในรูปที่นำไปใช้ไม่ได้ โครงสร้างและลักษณะทางเคมีของไซเดอโรฟอร์ สามารถแบ่งออกเป็นสามกลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ ไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamates, catecholates และ carboxylates กลไกการสร้างไซเดอโรฟอร์เพื่อขนส่งเหล็กเข้าสู่เซลล์ เริ่มจากสภาวะแวดล้อมที่ขาดแคลนเหล็ก กระตุ้นให้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์สร้างไซเดอโรฟอร์และโปรตีนตัวรับบริเวณผนังเซลล์ขึ้นมา และปล่อยไซเดอโรฟอร์ออกสู่สิ่งแวดล้อม เมื่อเฟอริกรวมตัวกับไซเดอโรฟอร์และจับกับโปรตีนตัวรับจะถูกส่งผ่านเข้าไปภายในเซลล์เพื่อดึงเหล็กออก กลไกข้างต้นจะดำเนินไป จนกระทั่งเมื่อภายในเซลล์มีเหล็กปริมาณมากเพียงพอ สำหรับวิธีการที่นิยมใช้ตรวจสอบคุณสมบัติในการสร้างไซเดอโรฟอร์ของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น ได้แก่ การทดสอบบนอาหาร Chrome Azurol S agar (CAS agar) ในบทความนี้นำเสนอบทบาทของไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ โครงสร้างของไซเดอโรฟอร์ ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต และการนำไซเดอโรฟอร์มาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตร สิ่งแวดล้อม และการแพทย์

คำสำคัญ: ไซเดอโรฟอร์ จุลินทรีย์ การประยุกต์ใช้

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, email: wasu.p@cmu.ac.th

Siderophores from Microorganisms

Manita Kamjam and Wasu Pathom-aree*

ABSTRACT

Iron is an essential element for metabolism and growth of microorganisms which is difficult to obtain due to its low solubility at neutral pH. Siderophores are low molecular weight, ferric iron-chelating ligands produced by some species of bacteria and fungi. They represent an important class of molecules that solubilize iron in the environment. These compounds facilitate iron uptake in iron-limiting environments. Chemical structures of siderophores are classified as hydroxamates, catecholates and carboxylates. Siderophores production is induced by iron-limiting conditions. The mechanism begins with synthesis of siderophores and membrane specific receptor proteins. Siderophores are released into the environment to bind with ferric irons in the environment. These ferric-bound siderophores bind with specific receptor proteins and release iron into cell. This cycle continue until the optimum level of intracellular iron is reached. The preliminary detection method for microbial siderophore production is usually tested on Chrome Azurol S agar (CAS agar). This article reviews the role of siderophores produced by microorganisms, siderophores structure, optimization of siderophore production and their applications in agriculture, environment and medicine.

Keywords: siderophores, microorganisms, applications

Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University

*Corresponding author, email: wasu.p@cmu.ac.th

บทนำ

ธาตุเหล็กเป็นธาตุที่พบมากเป็นอันดับสี่ของธาตุทั้งหมด ซึ่งในธรรมชาติเหล็กจะอยู่ในรูปของออกซิเดชัน 2 ตัว คือ Fe^{2+} (เฟอรัส) และ Fe^{3+} (เฟอริก) แม้จุลินทรีย์มีความต้องการเหล็กในปริมาณที่ต่ำ แต่ก็ขาดธาตุเหล็กไม่ได้ เพราะเหล็กมีอิทธิพลต่อการเจริญ ยกเว้นแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* บางสายพันธุ์ที่ไม่จำเป็นต้องใช้เหล็กในการดำรงชีวิต การดำรงชีวิตของจุลินทรีย์จำเป็นต้องอาศัยกระบวนการทางเมแทบอลิซึมซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่สำคัญโดยมีเหล็กเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง มีบทบาททั้งเป็นตัวกลางของกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยจะเป็นตัวขนส่งอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงพบเหล็กใน cytochrome และ non-heam iron electron carrier ของสายขนส่งอิเล็กตรอน นอกจากนี้เหล็กยังเป็นผลผลิตของกระบวนการเมแทบอลิซึม อีกทั้งยังเป็นส่วนประกอบของเซลล์อีกด้วย (ตารางที่ 1) [1]

ตารางที่ 1 อิทธิพลของเหล็กที่มีผลต่อเซลล์จุลินทรีย์ [1]

หน้าที่	ผลกระทบ
องค์ประกอบของเซลล์	มีผลต่อการเจริญ การสังเคราะห์ RNA, DNA สปอร์และทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง
เป็นตัวกลางในเมแทบอลิซึม	กระบวนการที่ต้องการเหล็ก ได้แก่ tricarboxylic acid cycle, electron transport, oxidative phosphorylation, nitrogen fixation, biosynthesis, photosynthesis
เป็นผลผลิตของเมแทบอลิซึม	porphyrin, toxins, vitamins, hydroxamates, cytochrome, pigments, siderophores, aromatic compounds, DNA, RNA
โปรตีนและเอนไซม์	peroxidase, nitrogenase, hydrogenase, ferritin iron sulfur protein, ribonucleotide

ในสภาวะค่าความเป็นกรดเบสที่เป็นกลาง เหล็กมีความสามารถในการละลายต่ำ ส่วนใหญ่เหล็กที่ละลายยากนั้นมักอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนพอลินิวเคลียร์เฟอริกออกซิโดไฮดรอกไซด์ (polynuclear ferric oxidohydroxide, $(Fe(OH)_3)$) ที่มีความสามารถในการละลายเพียง 10^{-38} โมลาร์ ซึ่งถือว่าน้อยมาก ในขณะที่ความสามารถในการละลายของไอออนเหล็กสูงมากถึง 10^{-17} โมลาร์ ดังนั้นเมื่อเกิดสภาวะดังกล่าวข้างต้นจุลินทรีย์จึงไม่สามารถนำเหล็กไปใช้ประโยชน์ได้ จุลินทรีย์จะสามารถนำเหล็กเข้าสู่เซลล์ได้ก็ต่อเมื่อเหล็กถูกทำปฏิกิริยาโดยกระบวนการรีดักชันเปลี่ยนเป็นเฟอรัสไอออน (Fe^{2+}) ดังนั้นจุลินทรีย์จึงจำเป็นต้องสร้างกลไกบางอย่างเพื่อจับเหล็กและขนส่งเหล็กเข้าไปในเซลล์ จุลินทรีย์หลายชนิดจะสร้างสารจับเหล็กขึ้นมา เรียกสารชนิดนี้ว่า ไซเดอโรฟอร์ (siderophore) [2]

ไซเดอโรฟอร์ เป็นสารที่มีมวลโมเลกุลที่ต่ำ (0.5-1.5 กิโลดาลตัน) มีรากศัพท์มาจากภาษากรีกที่แปลว่าตัวจับเหล็ก (iron bearer) เป็นสารธรรมชาติแบบเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) มีความจำเพาะต่อเฟอริกไอออน ผลิตจากแบคทีเรียและฟังไจ และมีคุณสมบัติในการจับกับโลหะทรานซิชันได้ เป็นตัวช่วยนำเหล็กเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีเหล็กที่จำกัด โดยสารไซเดอโรฟอร์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมานั้นจะช่วยให้เหล็กอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ทำให้จุลินทรีย์สามารถนำเหล็กไปใช้ได้ ดังนั้นไซเดอโรฟอร์จึงมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ ชนิดของไซเดอโรฟอร์ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ (ตารางที่ 2) และสภาวะในการเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ [3]

ตารางที่ 2 ตัวอย่างไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์ [4]

จุลินทรีย์	ชนิดของไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตขึ้น
Acinetobacter calcoaceticus	Acinetobactin
Aeromonas hydrophila	Amonabactin
Aerobacter aerogenes, Salmonella sp., *Klebsiella pneumoniae*	Aerobactin
Alteromonas haloplanktis	Bisucabarin (Marine)
Escherichia coli	Enterobactin
Mycobacterium tuberculosis	Mycobactin
Pseudomonas aeruginosa	Pyoverdin และ Pyochelin
Streptomyces pilosus	Desferrioxamines
Ustilago sphaerogena	Ferrichrome
Vibrio cholerae	Vibriobactin (Marine)
Vibrio anguillarum	Anguibactin
Yersinia pestis	Yersiniabactin

โครงสร้างและลักษณะทางเคมีของไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์

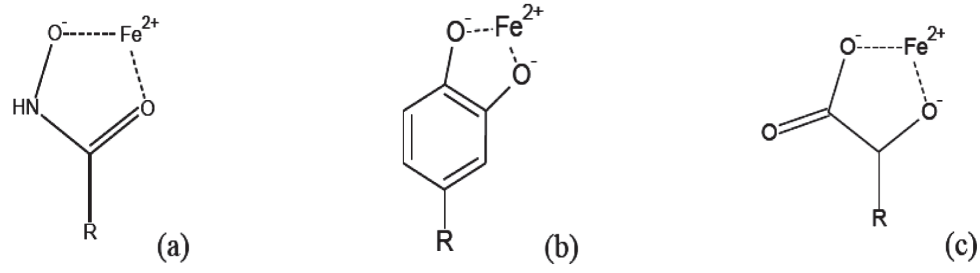
โครงสร้างและลักษณะทางเคมีของไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ hydroxamates, catecholates และ carboxylates โดยจัดจำแนกตามหมู่ฟังก์ชัน และประเภทของลิแกนด์ที่ล้อมรอบ ในแต่ละกลุ่มฟังก์ชันจะมีอะตอมของออกซิเจน 2 อะตอม หรือมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่ทำหน้าที่สร้างพันธะกับเหล็ก (รูปที่ 1)

1. “hydroxamates” ผลิตจากแบคทีเรียและฟังไจ โดย hydroxamates ที่ผลิตจากแบคทีเรียนั้น จะมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นกลุ่มของ hydroxylated และ acylated alkylamines ส่วนที่ผลิตจากฟังไจนั้นจะเป็นกลุ่มของ hydroxylated และ acylated ornithine โดยไซเดอโรฟอร์ชนิดนี้ ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยลิแกนด์ของ hydroxamate 3 คู่ที่มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน ซึ่งอยู่ในรูปของ R-CO-NH-OH โดย R จะเป็นกรดอะมิโน หรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน ไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate มีความเสถียรค่อนข้างสูงมีความ

จำเพาะในการจับเหล็กแล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบ octahedral complex

2. “catecholates” บางครั้งเรียกไซเดอโรฟอร์กลุ่มนี้ว่า phenolates ซึ่งอยู่ในรูปของสารประกอบ benzenediols ผลิตจากแบคทีเรียเท่านั้น ไซเดอโรฟอร์ชนิด catecholates มีความสามารถในการจับเหล็กได้แน่นกว่า hydroxamates ซึ่งอาจเป็นเพราะความแตกต่างของสเตอริโอไอโซเมอร์ (stereoisomer) ที่มีอยู่ในสารประกอบเชิงซ้อนนั้นๆ

3. “Carboxylates” หรือ เรียกอีกชื่อว่า “complexones” ซึ่งอยู่ในรูปของ RCOOR’ จับกับเหล็กแล้วเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันของเหล็กกับกลุ่มของ carboxyl และ hydroxyl ไซเดอโรฟอร์ชนิดนี้ผลิตจากฟังไจในกลุ่ม Zygomycota (Mucorales) และแบคทีเรียอีกสองสามชนิด ได้แก่ *Rhizobium meliloti* และ *Staphylococcus hyicus* [4, 5]



รูปที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของไซเดอโรฟอร์กลุ่ม hydroxamates (a), catecholates (b) และ carboxylates (c) [6]

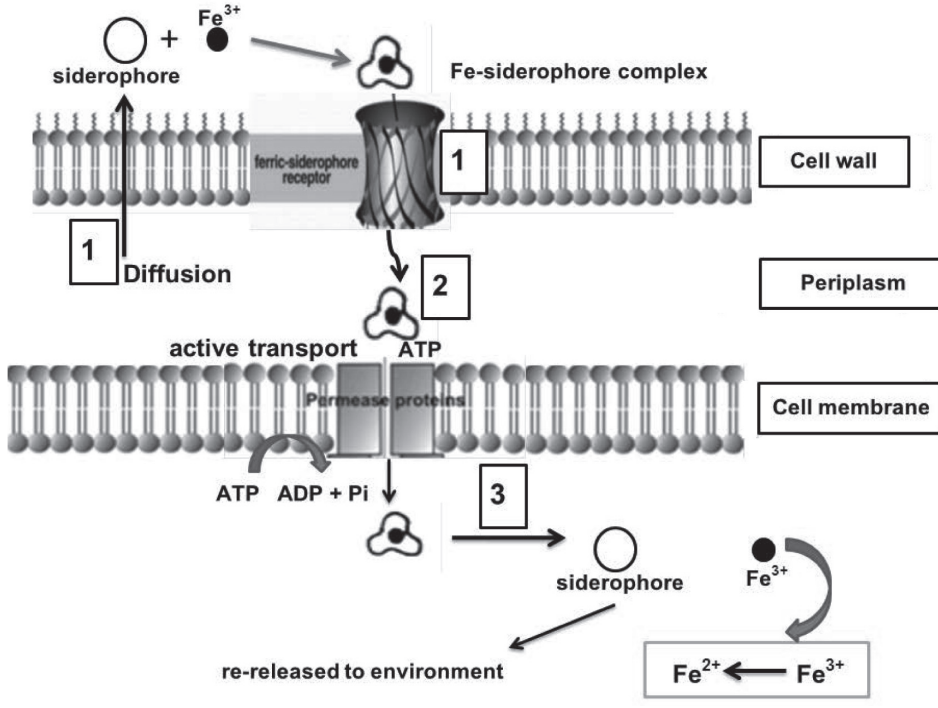
กลไกของการขนส่งไซเดอโรฟอร์

กลไกของการขนส่งไซเดอโรฟอร์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ สรุปได้เป็น 3 ขั้นตอน (รูปที่ 2) [1, 7] ดังนี้

1. สภาวะแวดล้อมที่มีเหล็กที่จำกัดกระตุ้นให้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์สังเคราะห์สารไซเดอโรฟอร์และโปรตีนตัวรับที่มีความจำเพาะเจาะจงกับสารเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์ขึ้นมา ไซเดอโรฟอร์แพร่ผ่านผนังเซลล์ (diffusion) ออกสู่สิ่งแวดล้อม

2. ไซเดอโรฟอร์จับกับเฟอริกไอออน เกิดเป็นสารเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์ (Fe-siderophore complex) สารเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์จะจับกับโปรตีนตัวรับ แล้วถูกดึงกลับมายังเซลล์โดยกระบวนการลำเลียงแบบใช้พลังงาน (active transport)

3. ระบบภายในจะแยกและดึงเหล็กออก ส่วนไซเดอโรฟอร์จะถูกส่งออกไปภายนอกอีกครั้งเพื่อจับกับเหล็กตัวใหม่



รูปที่ 2 กลไกในการขนส่งเหล็กเข้าสู่ภายในเซลล์จุลินทรีย์โดยไซเดอโรฟอร์ [ดัดแปลงจาก 1, 8, 56]

โดยทั่วไปในสภาวะปกติหากมีเหล็กในสิ่งแวดล้อมปริมาณมาก จุลินทรีย์จะสามารถดึงเหล็กที่อยู่ภายนอกเข้ามาใช้ได้โดยตรงโดยกระบวนการซึมผ่านตามปกติ แต่เมื่อใดปริมาณเหล็กในสิ่งแวดล้อมมีน้อย กลไกการขนส่งเหล็กด้วยไซเดอโรฟอร์จึงเกิดขึ้น (รูปที่ 2) เริ่มจากการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ขึ้นมาภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ และถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมโดยกระบวนการแพร่ (diffusion) ผ่านผนังเซลล์ และขณะเดียวกันก็มีการสร้างโปรตีนที่เป็นตัวรับ (receptor) บริเวณผนังเซลล์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเฟอริกที่รวมตัวกับไซเดอโรฟอร์ หรือ ferric siderophore การสังเคราะห์ของโปรตีนตัวรับชนิดนี้ถูกเหนี่ยวนำจากสภาวะขาดเหล็กภายในเซลล์ เมื่อไซเดอโรฟอร์จับกับเฟอริกไอออน จะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์ (Fe-siderophore complex) ที่สามารถจับกับโปรตีนตัวรับ จากนั้นจะถูกขนส่งผ่านผนังเซลล์โดยกระบวนการลำเลียงแบบใช้พลังงาน (active transport) เข้ามายังบริเวณไซโทพลาสซึม และระบบภายในจะแยกและดึงเหล็กออก โดยบริเวณโมเลกุลที่เป็นลิแกนด์ที่เชื่อมต่อกับเฟอริกไอออนจะถูกสลายด้วยเอนไซม์ หรือเฟอริกไอออนอาจถูกปลดปล่อยโดยปฏิกิริยารีดักชัน เฟอริกไอออนถูกเปลี่ยนเป็นเฟอรัสไอออน ส่วนของโมเลกุลไซเดอโรฟอร์จะถูกส่งออกไปภายนอกอีกครั้งเพื่อจับกับเหล็กตัวใหม่ กลไกข้างต้นจะดำเนินไปจนกระทั่งเมื่อภายในเซลล์มีเหล็กปริมาณมากเพียงพอ จะมีการสร้างโปรตีน repressor ไปควบคุมกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพของไซเดอโรฟอร์และโปรตีนตัวรับสำหรับ ferric siderophore เป็นอันสิ้นสุดกลไก [9]

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์

สำหรับการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์นั้น วิธีการที่เป็นที่นิยมในการตรวจสอบคุณสมบัติในการสร้างไซเดอโรฟอร์ของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น คือ วิธีการของ Schwyn และ Neilands [10] โดยมีหลักการว่า ไซเดอโรฟอร์มีความสามารถในการจับเหล็ก และมีความสามารถในการแย่งจับสูง ดังนั้น Schwyn และ Neilands [10] จึงพัฒนาอาหารที่ใช้ในการทดสอบคือ Chrome Azurol S agar (CAS agar) ซึ่งประกอบด้วย CAS solution, สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$ solution), hexadecyl trimethylammonium bromide (HDTMA solution) สารเหล่านี้สามารถรวมตัวกันเป็นสารประกอบสีน้ำเงิน เมื่อสารประกอบนี้ถูกดึงเฟอริกไอออนออกไปจากสารประกอบเชิงซ้อนนี้ สีของตัวบ่งชี้ก็จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีส้มตามสมการ

$$Fe^{3+}\text{-dye (blue)} + \text{siderophore} \longrightarrow Fe^{3+}\text{-siderophore} + \text{dye (orange)}$$

ปริมาณของไซเดอโรฟอร์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ และสภาวะในการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ซึ่งจะแตกต่างกันในจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์

1. ความเค็ม

ปัจจุบันมีนักวิจัยจำนวนมากที่เล็งเห็นถึงความสำคัญของแหล่งของจุลินทรีย์ชนิดที่มีศักยภาพในการผลิตสารไซเดอโรฟอร์ โดยเฉพาะการสร้างสารไซเดอโรฟอร์จากจุลินทรีย์ทางทะเล ไม่ว่าจะเป็นในน้ำทะเล บริเวณหาดทราย บริเวณป่าชายเลน เนื่องจากเหล็กมีความสามารถในการละลายในทะเลต่ำ โดย Bruland และคณะ [11] ได้ศึกษาการละลายของเหล็กในทะเลแปซิฟิกเหนือ พบว่า เหล็กละลายได้สูงสุดเพียง 0.37 $nmolkg^{-1}$ บริเวณผิวน้ำทะเล และมีการละลายเฉลี่ยในทะเลลึก (500-4,000 m) เท่ากับ 0.38 $nmolkg^{-1}$ ในส่วนที่เหนือสุดของมหาสมุทรแปซิฟิกเหล็กละลายได้ต่ำกว่า 0.1 $nmolkg^{-1}$ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่อาศัยในทะเลจึงจำเป็นต้องสร้างไซเดอโรฟอร์เพื่อใช้ในการจับเหล็ก มีไซเดอโรฟอร์จำนวนมากที่ผลิตจากจุลินทรีย์ทางทะเล ซึ่งมีรายงานการค้นพบไซเดอโรฟอร์ชนิดใหม่ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เหล่านี้ [12] ตัวอย่าง เช่น pseudoalterobactins A และ B ซึ่งเป็นไซเดอโรฟอร์ชนิดใหม่ที่ผลิตจากแบคทีเรียทางทะเล *Pseudoalteromonas* sp. KP20-4 [13] และ tenacibactin A-D ที่ผลิตจาก *Tenacibaculum* sp. A4K-17 [14] นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบ streptobactin ซึ่งเป็นไซเดอโรฟอร์ catecholate ชนิดใหม่ที่ผลิตจาก *Streptomyces* sp. YM5-799 [12] เป็นต้น มีรายงานการศึกษาการผลิตไซเดอโรฟอร์ในฟังไจบ่งชี้ว่า “การผลิตไซเดอโรฟอร์โดยธรรมชาตินั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์” พบว่าฟังไจชนิดเดียวกันทั้งที่แยกจากทะเลและบนบกมีประสิทธิภาพในการผลิตไซเดอโรฟอร์ไม่แตกต่างกัน [15] สำหรับประสิทธิภาพการผลิตไซเดอโรฟอร์ในสภาวะที่มีความเค็ม บางงานวิจัยพบว่าประสิทธิภาพการผลิตไซเดอโรฟอร์ลดลงในสภาวะที่มีความเค็มตัวอย่างเช่น Argandoña และคณะ [16] ที่ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Chromohalobacter salexigens* ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือ 0.75 M, 1.5 M และ 2.5 M NaCl พบว่า ความเค็มมีอิทธิพลต่อความต้องการเหล็กในการเจริญของ *Chromohalobacter salexigens* โดยจะผลิตไซเดอโรฟอร์ได้มากที่สุดเมื่อความเข้มข้นของเกลือต่ำที่สุด และผลิตได้ลดลงตามความเข้มข้นของเกลือที่เพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับ Shrivastava และ Kumar [17] ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของเกลือต่อ

การสร้างไซเดอโรฟอร์โดยพบว่า การผลิตไซเดอโรฟอร์ลดลง เมื่อเปอร์เซ็นต์ของเกลือสูงขึ้น โดยเชื้อจะไม่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้เลย ที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 7.5% อย่างไรก็ดี มีงานวิจัยที่พบว่าประสิทธิภาพการผลิตไซเดอโรฟอร์ของจุลินทรีย์บางชนิดเพิ่มขึ้นในสภาวะที่มีความเค็ม ตัวอย่างเช่น Sadeghi และคณะ [18] ที่ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Streptomyces* ในสภาวะที่มีความเค็มพบว่า การผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Streptomyces* เพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีปริมาณของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น จะเห็นได้ว่าความเค็มมีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตไซเดอโรฟอร์แตกต่างออกไปตามชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาโดยละเอียดต่อไปถึงอิทธิพลของเกลือที่มีผลกับการผลิตไซเดอโรฟอร์

2. ค่าความเป็นกรดเบส (pH) และอุณหภูมิ

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ดีที่ค่าความเป็นกรดเบสที่เป็นกลาง (pH 7) เนื่องจาก pH 7 มีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยทั่วไป และธาตุเหล็กมีความสามารถในการละลายต่ำในสภาวะค่าความเป็นกรดเบสที่เป็นกลาง ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จุลินทรีย์จะผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ดี มีการศึกษาการผลิตไซเดอโรฟอร์จากจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า เกิดการเปลี่ยนแปลง pH บนอาหารเลี้ยงเชื้อโดย pH จะเพิ่มสูงขึ้น (เบสอ่อน) ระหว่างที่มีการสร้างไซเดอโรฟอร์ของจุลินทรีย์ [2] อย่างไรก็ตาม ในสภาพแวดล้อมที่มีค่า pH แตกต่างกัน ทำให้การผลิตไซเดอโรฟอร์ของจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันด้วย โดยจะพบการผลิตไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate ในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอ่อนส่วนสภาพแวดล้อมที่เป็นกลางไปถึงเบสอ่อน ส่วนใหญ่จะพบการผลิตไซเดอโรฟอร์ชนิด catecholate มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับค่าความเป็นกรดเบส (pH) และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ซึ่งค่าความเป็นกรดเบส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์นั้นจะแตกต่างกันไปในจุลินทรีย์แต่ละชนิด ตัวอย่างการศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431 พบว่า ค่าความเป็นกรดเบสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไซเดอโรฟอร์ของเชื้อ คือ pH 8 ขณะที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 20-40 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญและการผลิตไซเดอโรฟอร์ของเชื้อ [20] ในขณะที่มีการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ใน *Pseudomonas* พบว่า อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ ขณะที่อุณหภูมิที่สูงกว่า 33 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Pseudomonas* [49, 55]

3. แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน

แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ของจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันไปในจุลินทรีย์แต่ละชนิด สำหรับแหล่งคาร์บอน พบว่า กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมกับการผลิตไซเดอโรฟอร์ในแบคทีเรียหลายชนิด ตัวอย่างเช่น จากการศึกษาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมผลต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431 พบว่า กลีเซอรอล ซูโครส และกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุด ตามลำดับ สำหรับแหล่งไนโตรเจน แอมโมเนียคลอไรด์ โซเดียม-ไนเตรต และยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ ตามลำดับ [20] ในขณะที่การศึกษาในแบคทีเรีย *Pseudomonas* พบว่า กลีเซอรอล โซเดียมซักซิเนต ซูโครส และกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดี ขณะที่กรดอะมิโนโดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดกลูตามิกและแอสปาราจีน (asparagine) เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Pseudomonas* [54]

4. ความเข้มข้นของเหล็ก

ความเข้มข้นของเหล็กเฟอริก เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์ของจุลินทรีย์เป็นอย่างมาก ในสภาวะที่มีปริมาณเหล็กที่จำกัดจะกระตุ้นการสร้างไซเดอโรฟอร์ในปริมาณที่สูง มีรายงานว่าความเข้มข้นของเหล็ก เฟอริกเพียง 100 μM มีผลในการยับยั้งการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Pseudomonas (Ps.) fluorescens* และ *Ps. chlororaphis* [53]

การศึกษาเกี่ยวกับไซเดอโรฟอร์ยังคงดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง ไม่ว่าจะเป็นการแยกไซเดอโรฟอร์ชนิดใหม่ๆ ปัจจัยการส่งเสริมการผลิต ตลอดจนการนำไปประยุกต์ใช้จริง ตัวอย่างเช่น มีการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์โดย Nakouti และคณะ [19] พบว่า การเติมสารจับเหล็ก 2,2'-dipyridyl (iron chelator) ลงไปในอาหารที่ใช้แยกเชื้อนั้น จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกแอกติโนไมซีสต์ ที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ เนื่องจาก สารจับเหล็กชนิดนี้จะไปจับกับเหล็กที่มีอยู่ในอาหาร ทำให้อาหารขาดแคลนเหล็ก ในสภาวะที่ขาดแคลนเหล็กเช่นนี้เชื้อที่จะเจริญบนอาหารชนิดนี้ได้ส่วนใหญ่จะต้องมีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์

การประยุกต์ใช้ไซเดอโรฟอร์

1. ด้านการเกษตร

ไซเดอโรฟอร์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตร โดยนำไปใช้ประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชและส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น แบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant-growth promoting rhizobacteria) ที่สามารถสร้างไซเดอโรฟอร์ได้จะมีส่วนช่วยในการลดการเจริญหรือลดเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ก่อโรคที่ไม่สามารถผลิตสารชนิดนี้ได้โดยการไปแย่งจับเหล็กกับจุลินทรีย์ก่อโรค ส่งผลให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ เนื่องจากขาดแคลนเหล็กซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในการเจริญ [21] นอกจากนี้ไซเดอโรฟอร์มีส่วนช่วยในการละลายและขนส่งเหล็กไปยังพืช และยังมีผลทางอ้อมในการกระตุ้นการสังเคราะห์สารต้านจุลชีพ (antimicrobial compounds) โดยการทำให้สารประกอบเหล่านี้ง่ายต่อการนำไปใช้ [22] อีกทั้งพบว่าไซเดอโรฟอร์สามารถทำงานร่วมกับระบบภูมิคุ้มกัน ระบบฮอร์โมน และกิจกรรมที่ทำให้เกิดการแตกสลาย (lytic activity) ของพืชได้อีกด้วย [23] นอกจากนี้จากการศึกษาประสิทธิภาพของไซเดอโรฟอร์ในด้านการส่งเสริมการเจริญของพืช โดยการแช่เมล็ดมะเขือเทศและข้าวโพดในสารละลายไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์ที่แยกได้จาก *Ps. aeruginosa* พบว่า ทำให้การงอกของเมล็ด ความสูงและน้ำหนักแห้งของผลผลิตมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น [24] Qi และ Zhao [25] ได้ทำการศึกษาถึงผลของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma asperellum* Q1 ที่มีสารไซเดอโรฟอร์เป็นส่วนประกอบ (siderophore-containing culture filtrate; SCF) ต่อการเจริญของต้นแตงกวาภายใต้สภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 60 mmol l^{-1} ซึ่งในสภาวะที่มีเกลือหรือสภาวะที่มีความเค็มนี้ เหล็กมีความสามารถในการละลายได้น้อยมาก ส่งผลให้พืชและจุลินทรีย์จึงไม่สามารถนำเหล็กไปใช้ประโยชน์ได้ จึงได้มีการศึกษาทดลองเกี่ยวกับการเจริญของต้นแตงกวาภายใต้สภาวะที่มีเกลือคลอไรด์ 60 mmol l^{-1} โดยมีผลมาจากการใช้ siderophore-containing culture filtrate (SCF) ของเชื้อ *T. asperellum* Q1 ที่มีการเติมและไม่มีการเติมเฟอริกคลอไรด์ และการเติมเฟอริกคลอไรด์เพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการใช้ SCF ของเชื้อและไม่มีการเติมเฟอริกคลอไรด์ จากผลการทดลอง พบว่า SCF และเฟอริกไอออนมีอิทธิพลต่อการเจริญของ

ต้นแตงกวา การใช้ SCF ของเชื้อ *T. asperellum* Q1 ที่มีการเติมเฟอริกคลอไรด์ 30 μmol l^{-1} มีผลทำให้ความยาวของรากและลำต้น รวมถึงน้ำหนักแห้งของต้นแตงกวาเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่า SCF ซึ่งมีส่วนประกอบของไซเดอโรฟอร์ละลายอยู่ ไซเดอโรฟอร์นี้จะจับกับเหล็กเฟอริกคลอไรด์ที่เติมลงไป ช่วยละลายและขนส่งเหล็กไปยังพืช ช่วยลดผลกระทบจากการขาดแคลนเหล็กในสภาวะที่มีความเค็ม (รูปที่ 3) ในขณะเดียวกัน การเติมเฟอริกคลอไรด์ 30 μmol l^{-1} เพียงอย่างเดียวมีผลทำให้ความยาวของรากและลำต้น รวมถึงน้ำหนักแห้งของต้นแตงกวาเพิ่มสูงขึ้นรองลงมา แสดงให้เห็นว่า ต้นแตงกวามีความตอบสนองต่อสภาวะที่มีความเค็มโดยสามารถสร้างไฟโตไซเดอโรฟอร์ (phytosiderophore) ของตัวเองขึ้นมาเพื่อช่วยละลายและขนส่งเหล็กเข้าสู่เซลล์ งานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาและอธิบายเกี่ยวกับความสามารถของสารไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากจุลินทรีย์ในการยับยั้งและควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพืช ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาการควบคุมแบบชีววิธีต่อเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรคพืช โดยการใช้แบคทีเรีย *Ps. fluorescens* และ *Ps. putida* นอกจากจะสามารถสร้างและปลดปล่อยไซเดอโรฟอร์ได้แล้ว แบคทีเรียดังกล่าวยังสามารถกระตุ้นให้พืชเจริญได้ดีอีกด้วย [9] นอกจากนี้ยังมีการใช้สารไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตจากเชื้อ *Ps. aeruginosa, Ps. putida* biovar B, *Ps. marginalis* และ *Burkholderia cepacia* ที่แยกจากบริเวณรากพืช บริเวณผิวใบของกุหลาบและดอกอัลสโตรมีเรีย ในการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *Botrytis cinerea* [26] และมีการใช้สารไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรีย *Burkholderia* sp. ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Penicillium expansum, Colletotrichum gloesporoides* โดยปริมาณการผลิตไซเดอโรฟอร์และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราจะเพิ่มสูงขึ้นในระยะ stationary phase ของการเจริญ ซึ่งเป็นระยะที่เกิดขึ้นหลังจากที่แบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ ทำให้เกิดการขาดแคลนเหล็กในอาหารอย่างรุนแรง แบคทีเรียจึงจำเป็นต้องสร้างไซเดอโรฟอร์ในปริมาณที่สูงขึ้นและมีผลต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อรา [27, 28]

2. ด้านสิ่งแวดล้อม

นอกจากลิแกนด์ของไซเดอโรฟอร์มีความสามารถในการจับกับเหล็ก โดยสร้างพันธะกับเหล็กได้ดีแล้ว ยังมีความสามารถในการจับกับโลหะอื่นๆ ได้อีกด้วย เช่น อะลูมิเนียม (Al), แคดเมียม (Cd), ทองแดง (Cu), แกลเลียม (Ga), ตะกั่ว (Pb), สังกะสี (Zn), radionuclides รวมไปถึง ยูเรเนียม (U) และไนโอเบียม (Np) แม้ว่าความแรงหรือความจำเพาะของการจับอาจจะไม่เท่ากับเหล็กก็ตาม [29] Tansupo และคณะ [30] ได้ศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Ps. aeruginosa* R' กับไอออนของทองแดง ตะกั่ว วาเนเดียม และโครเมียม โดยเปรียบเทียบกับเหล็ก พบว่า ความแรงของการจับกับโลหะของไซเดอโรฟอร์สามารถเรียงลำดับจากน้อยไปหามาก คือ ตะกั่ว โครเมียม วาเนเดียม ทองแดง และเหล็ก ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ไซเดอโรฟอร์เป็นสารจับโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม โดยบริเวณที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักหรือสารที่เป็นพิษนั้น จุลินทรีย์จะมีการสร้างกลไกตอบสนองต่อสภาวะดังกล่าว กลไกหนึ่ง คือ การขับสารไซเดอโรฟอร์ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อจับกับไอออนของโลหะหนักเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน กลไกนี้จะช่วยป้องกันโลหะหนักเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์และลดความเป็นพิษของโลหะหนักที่จะก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ นับเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยตรึงโลหะหนักในดิน และยังลดการแพร่กระจายของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย [52] มีการศึกษาประสิทธิภาพของไซเดอโรฟอร์ต่อการสกัดโลหะหนักออกจากดินที่ปนเปื้อนพบว่า สามารถสกัดทองแดงและเหล็กออกมาได้ และสามารถสกัดไอออนของอะลูมิเนียมออกมาจาก aluminium silicate ได้อีกด้วย [31] การศึกษาของ Nair

รูปที่ 3 การเจริญของต้นแตงกวาภายใต้สภาวะที่มีเกลือคลอไรด์ 60 mmol l^{-1} ที่มีผลมาจาก

(A) การใช้ siderophore-containing culture filtrate (SCF) ของเชื้อ *Trichoderma asperellum* Q1 ที่มีการเติมเฟอริกคลอไรด์ 30 μmol l^{-1}

(B) การเติมเฟอริกคลอไรด์ 30 μmol l^{-1}

(C) การใช้ SCF ของเชื้อ *T. asperellum* Q1 ที่ไม่มีการเติมเฟอริกคลอไรด์

(D) ไม่มีการใช้ SCF ของเชื้อ *T. asperellum* Q1 และไม่มีการเติมเฟอริกคลอไรด์ [25]

และคณะ [32] พบว่า ไซเดอโรฟอร์มีประสิทธิภาพในการกำจัดสาร ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), citric acid (CA) และสารหนูได้ 92.8%, 77.3% และ 70.0% ตามลำดับ อีกทั้งยังมีรายงานการศึกษาพบว่า แบคทีเรียที่อาศัยบริเวณดินรอบรากพืชที่มีการปนเปื้อนของโลหะส่วนใหญ่ นอกจากจะมีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์และมีความสามารถในการต้านทานโลหะได้แล้ว ยังมีผลทำให้รากของพืชที่เป็นโฮสต์มีความต้านทานโลหะได้อีกด้วย ดังนั้น การปลูกพืชร่วมกับแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์จะสามารถช่วยให้พืช (โฮสต์) มีความต้านทานต่อโลหะหนัก ทำให้พืชเจริญได้ในบริเวณที่มีโลหะหนักได้ จะเห็นได้ว่า นอกจากไซเดอโรฟอร์จะมีบทบาทในการช่วยจับเหล็กแล้ว ยังมีบทบาทในการช่วยส่งเสริมให้พืชต้านทานต่อพิษที่เกิดจากโลหะชนิดต่างๆ ได้อีกด้วย [37-40]

จากการที่ไซเดอโรฟอร์มีความสามารถในการจับโลหะอื่นๆ ได้ นอกเหนือจากเหล็กนั้น ทำให้สามารถนำคุณสมบัติข้อนี้มาใช้ประโยชน์ในการเพิ่มปริมาณการผลิตไซเดอโรฟอร์ ตัวอย่างเช่น มีการเติมโลหะพวก Ca^{2+}, Mo^{2+}, Mn^{2+} ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า จะมีส่วนเพิ่มการผลิตไซเดอโรฟอร์ถึง 34-100% เปอร์เซ็นต์ [33] เนื่องจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไซเดอโรฟอร์อิสระกับโลหะหนัก ทำให้ความเข้มข้นของไซเดอโรฟอร์อิสระในอาหารมีปริมาณลดลง ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องผลิตไซเดอโรฟอร์เพิ่มมากขึ้น [34]

นอกจากนี้มีการศึกษาผลกระทบของโลหะหนักต่อการผลิตไซเดอโรฟอร์พบว่า โลหะหนักมีผลในการเพิ่มปริมาณการผลิตไซเดอโรฟอร์ ตัวอย่างเช่น โครเมียม (Cr), ปรอท (Hg) และ ตะกั่ว (Pb) มีผลต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตไซเดอโรฟอร์ของ *Ps. aeruginosa* [35] อะลูมิเนียม (Al), แคดเมียม (Cd), ทองแดง (Cu) และ นิเกิล (Ni) มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไซเดอโรฟอร์ชนิด desferrioxamine E (DFOE), desferrioxamine B (DFOB) และ coelichelin (Cch) ที่สร้างจาก *Streptomyces* spp. [36]

3. ด้านการแพทย์

ตั้งแต่อดีตได้มีนักวิจัยจำนวนมากที่นำไซเดอโรฟอร์ไปประยุกต์ใช้ในขั้นตอนการรักษาทางการแพทย์ในลักษณะต่างๆ (ตารางที่ 3) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการรักษาผู้ป่วยโรค β-thalassemia ซึ่งมีปริมาณธาตุเหล็กในร่างกายมากเกินพอ อันเป็นผลข้างเคียงจากขั้นตอนการรักษา [41] ถึงแม้ว่าเหล็กจะเป็นโลหะที่จำเป็น และมีบทบาทที่สำคัญอย่างมากต่อมนุษย์ แต่กลับพบว่า เมื่อมีปริมาณที่ไม่เหมาะสม เหล็กสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายขึ้นได้ โดยเหล็กในรูปอิสระที่มีปริมาณมากเกินพอในร่างกาย เป็นหนึ่งในตัวการสำคัญของการเกิดอนุมูลอิสระที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง การเกิดปฏิกิริยาในลักษณะดังกล่าวเป็นผลก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์เป็นอย่างมาก [42] จำเป็นต้องมีการควบคุมเหล็กให้อยู่ในระดับปกติ มีการใช้ไซเดอโรฟอร์ Desferrioxamine B ที่สร้างจาก *Streptomyces pilosus* ในการรักษาโรค β-thalassemia [43] นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษาการติดเชื้อของ *Listeria monocytogenes* โดยนำไปลดปริมาณเหล็กในร่างกายผู้ป่วย เพราะเชื้อก่อโรคต้องการเหล็กในการเจริญและก่อความรุนแรงของโรค [44]

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารไซเดอโรฟอร์จากจุลินทรีย์หลากหลายชนิดในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาของ Wang และคณะ (2009) [46] ที่ศึกษาสารไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์จากยีสต์ *Aureobasidium pullulans* HN6.2 ซึ่งแยกได้จากทะเล พบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์ทะเล *Vibrio anguillarum* ได้ และเมื่อศึกษาสภาวะการยับยั้งเชื้อของสารไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์ พบว่า ในสภาวะที่ปราศจากเฟอริกไอออนเท่านั้นที่สารไซเดอโรฟอร์อย่างหยาบ (crude siderophore) และไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์ (purified siderophore) จะมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ นอกจากนั้นยังมีการศึกษา พบว่า สารไซเดอโรฟอร์ชนิด catecholate ที่ได้จากเชื้อ *Azospirillum lipoferum* M มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์หลากหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย *Rhizobium, Azotobacter* sp., *Escherichia coli, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus* และ *Bacillus* sp. และมีผลในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของรา *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporium, Aspergillus niger, Aspergillus sydowii, Aspergillus variecolor* และ *Penicilium funiculosum* ซึ่งการที่สารไซเดอโรฟอร์สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆได้ อาจมีสาเหตุมาจาก ประการแรก สารไซเดอโรฟอร์มีการทำงานคล้ายกับยาปฏิชีวนะ (antibiotic-like activity) หรือช่วยกระตุ้นการสร้างหรือทำงานร่วมกับสารต้านทานจุลชีพ (antibacterial substance) ที่เชื้อสร้างขึ้น ประการที่สอง ไซเดอโรฟอร์มีส่วนช่วยในการลดการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยการไปแย่งจับเหล็ก ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ [47]

ตารางที่ 3 ศักยภาพของไซเดอโรฟอร์ในการนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์ [45]

อาการของโรค	สารไซเดอโรฟอร์	หน้าที่ของไซเดอโรฟอร์
- อาการตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน (Acute pancreatitis)	Desferrioxamine	- กำจัดอนุมูลอิสระของออกซิเจน
- โรคผิวหนังเป็นพิษที่เกิดจากการสัมผัสกับไนโตรเจน (Skin exposed to nitrogen mustard)	Desferrioxamine	- ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ และป้องกันการถูกทำลายของเซลล์
- ภาวะเลือดออกบริเวณหลังลูกตา (Retrobulbar haematoma)	Desferrioxamine	- ชะลอความเสื่อมลงของก้อนเลือดบริเวณหลังลูกตา
- ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจผิดปกติจากการมีเหล็กไปสะสม (Iron-overload cardiomyopathy)	Desferrioxamine	- ลดปริมาณเหล็กที่มีการสะสมบริเวณกล้ามเนื้อหัวใจ อันจะก่อให้เกิดความผิดปกติของสัญญาณคลื่นไฟฟ้าของกล้ามเนื้อหัวใจ
- มะเร็ง (cancer)	Desferrioxamine	- ยับยั้งการเจริญของมะเร็ง
- ภาวะกล้ามเนื้อลายขาดเลือด (Skeletal muscle ischemia)	Desferrioxamine	- เพิ่มการสร้างเส้นเลือดใหม่และการคืนสู่สภาพปกติจากภาวะกล้ามเนื้อลายขาดเลือด
- โรคตกขาวจากเชื้อ *Trichomonas vaginalis*	Desferrioxamine	- ยับยั้ง *Trichomonas vaginalis* ที่ทำให้เกิดอาการตกขาว
- ภาวะที่มีเหล็กสะสมในร่างกายเนื่องจากมีการให้เลือด (Hyper-transfusion)	Desferrioxamine	- การลดปริมาณเหล็กที่มีการสะสมซึ่งเป็นผลข้างเคียงจากการให้เลือด
- อาการเยื่อบุช่องท้องอักเสบในหนู (Peritonitis in rat)	Desferrioxamine	- ช่วยส่งเสริมการรักษาโดยยาปฏิชีวนะ ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการซึมผ่านของยาปฏิชีวนะให้ดีขึ้น
- โรคพยาธิจากเชื้อ *Trypanosoma brucei*	Desferrioxamine	- ยับยั้งการติดเชื้อ *Trypanosoma brucei* ในกระแสเลือด
- โรคปอดอักเสบจากเชื้อ *Pneumocystis carinii*	Desferrioxamine	- ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pneumocystis carinii*

งานวิจัยเกี่ยวกับไซเดอโรฟอร์ในประเทศ

มีการศึกษาวิจัยในประเทศไทยจำนวนไม่น้อยที่ศึกษาเกี่ยวกับสารไซเดอโรฟอร์ มีรายงานการแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์จากดินแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย ตัวอย่างเช่น การแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์จากดินรอบรากข้าวในบางจังหวัดทางภาคเหนือพบว่า 23% ของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดมีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ และมีการประยุกต์ใช้ไอโซเลทที่มีความสามารถในการผลิต ไซเดอโรฟอร์ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในข้าว พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* (37.5%), *Alternaria* (35.4%), *Pyricularia oryzae* (31.2%) และ *Sclerotium* sp. (10.4%) ตามลำดับ [49] มีการคัดแยกแอกติโนไมซีสต์ จากดินรอบรากพืชในจังหวัดลำพูน พบว่า 27.5% ของแอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้ทั้งหมดมีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ และบางสปีชีส์ ตัวอย่างเช่น

Streptomyces spp. และ *Actinomadura* spp. สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ทั้งชนิด hydroxamate และ catecholate โดยไอโซเลทที่มีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ส่วนใหญ่แยกได้จากดินรอบรากต้นขมิ้นขาว และอยู่ในจีนัส *Streptomyces* [50] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาคัดแยกแอกติโนไมซีสต์ จากดินตะกอนป่าชายเลนจากจังหวัดเพชรบุรี ฉะเชิงเทรา และชลบุรี พบว่า 89.2% ของแอกติโนไมซีสต์ที่แยกได้ทั้งหมดมีความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ โดยไอโซเลทที่สร้างไซเดอโรฟอร์ปริมาณสูงสุดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* [51] เฉลิม และคณะ (2546) ได้ศึกษาผลของไซเดอโรฟอร์ต่อการเจริญของพืชเศรษฐกิจบางชนิด โดยใช้ไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์ผลิตจากเชื้อ *Pseudomonas putida* (KKU2) ที่แยกได้จากดินในจังหวัดอุดรธานีพบว่า ไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์ ไม่มีผลต่อการเพิ่มความสูง แต่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักแห้งของพืชอย่างมีความแตกต่างทางสถิติ [48]

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า ไซเดอโรฟอร์มีบทบาทที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตและมีประโยชน์ต่อมนุษย์มากมาย ปัจจุบันการศึกษาไซเดอโรฟอร์จึงขยายวงกว้างขึ้น เพื่อให้การนำไปประยุกต์ใช้บรรลุประโยชน์สูงสุด แต่ปัญหาที่สำคัญ คือ ขั้นตอนการผลิตไซเดอโรฟอร์จากจุลินทรีย์ในอาหารสังเคราะห์ที่มีปริมาณธาตุเหล็กจำกัด เมื่อทำให้บริสุทธิ์จะได้ปริมาณน้อย ไม่เพียงพอต่อความต้องการ เป็นผลให้สารนี้มีราคาสูงขึ้นตามไปด้วย [48] ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อพัฒนาแนวทางในการผลิตไซเดอโรฟอร์ให้ได้ปริมาณที่สูง และลดต้นทุนการผลิตต่อไป

สรุป

ไซเดอโรฟอร์ เป็นโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อเฟอริกไอออน ผลิตจากแบคทีเรียและฟังไจ เป็นตัวช่วยนำเหล็กเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ในสภาวะแวดล้อมที่มีเหล็กจำกัด ซึ่งมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ อีกทั้งเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์หลายสาขาจึงได้นำคุณสมบัตินี้มาใช้ให้เป็นประโยชน์ในด้านต่างๆ มากมาย ไม่ว่าจะเป็น ด้านการเกษตรนำไปใช้ประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชและส่งเสริมการเจริญของพืช ด้านการแพทย์นำไปรักษาผู้ป่วยในรูปแบบต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยโรค β-thalassemia และใช้ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคหลากหลายชนิด รวมถึง ด้านสิ่งแวดล้อม นำไปประยุกต์ใช้ในการจับโลหะหนักชนิดต่างๆ แต่อย่างไรก็ตามกลไกที่เกี่ยวข้องในการนำไปสู่กระบวนที่เกิดขึ้นดังกล่าว บางกระบวนการมีความซับซ้อน และมีความเชื่อมโยงของหลายกลไกเข้าด้วยกันเนื่องมาจากโครงสร้างของไซเดอโรฟอร์แต่ละชนิดมีความหลากหลายสูง ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์สามารถสังเคราะห์สารไซเดอโรฟอร์จากจุลินทรีย์บางชนิดขึ้นมาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ แต่เนื่องจากต้นทุนในการผลิตมีราคาสูง ดังนั้นจึงได้มีการวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อหาแนวทางในการพัฒนาการผลิตไซเดอโรฟอร์ให้ได้ปริมาณที่สูง ต้นทุนการผลิตที่ต่ำ และนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างคุ้มค่า รวมทั้งการค้นหาสารไซเดอโรฟอร์ชนิดใหม่ๆ ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ เพื่อรองรับความต้องการที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Neilands, J. B. 1981. Microbial Iron Compounds. *Annual Reviews of Biochemistry* 50: 715-731.
2. Braun, V., and Braun, M. 2002. Iron Transport and Signaling in *Escherichia coli. FEBS Letters* 529: 78-85.
3. Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M. N. 1980. Pseudomonas Siderophores: A Mechanism Explaining Disease Suppression in Soils. *Current Microbiology* 4: 317-320.
4. Mohandass, C. 2004. Bacterial Siderophores and Their Biotechnological Applications. In: Ramaiah, N., Editor. Marine Microbiology: Facets & Opportunities. Goa. National Institute of Oceanography. p. 169-174.
5. Drechsel, H., Tschierske, M., Thieken, A., Jung, G., Zahner, H., and Winkelmann, G. 1995. The Carboxylate Type Siderophore Rhizoferrin and Its Analogs Produced by Direct Fermentation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 14: 105-111.
6. Albrecht-Gary, A. M. and Crumbliss, A. L. 1998. Coordination Chemistry of Siderophores: Thermodynamics and Kinetics of Iron Chelation and Release. *Metal Ions in Biological Systems* 35: 239-327.
7. เฉลิม เรืองวิริยะชัย และ พลสัณห์ มหาขันธ์. 2539. รายงานการวิจัยเรื่อง การแยก การทำให้บริสุทธิ์ และการศึกษาหาลักษณะโครงสร้างทางเคมีของไซเดอโรฟอร์บางชนิดในประเทศไทย. โครงการความร่วมมือระหว่างไทย-เยอรมัน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2538-2539. กรุงเทพฯ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. หน้า 1-134.
8. โสรัจสิริ อมรพันธุ์ และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2536. รายงานการวิจัยเรื่อง การคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถผลิต ไซเดอโรฟอร์. ขอนแก่น. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 1-30.
9. Leong, J. 1986. Siderophores: Their Biochemistry and Possible Role in the Biocontrol of Plant Pathogens. *Annual Reviews of Phytopathology* 24: 187-209.
10. Schwyn, B., and Neilands, J. B. 1987. Universal CAS Assay for the Detection and Determination of Siderophores. *Analytical Biochemistry* 160: 47-60.
11. Bruland, K. W., Orians, K. J., and Cowen, J. P. 1994. Reactive Trace Metals in the Stratified Central North Pacific. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58: 3178-3182.
12. Matsuo, Y., Konoh, K., Jang, H. J., Adachi, K., Matsuda, S., MiKi, O., Kato, T., and Shizuri, Y. 2011. Streptobactin, a Tricatechol-Type Siderophore from Marine-Derived *Streptomyces* sp. YM5-799. *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy* 74: 2371-2376.
13. Kanoh, K., Kamino, K., Guan, L. L., Adachi, K., and Shizuri, Y. 2003. Pseudoalterobactin A and B, New Sidrophores Excreted by Marine Bacterium *Pseudoalteromonas* sp. KP20-4. *The Journal of Antibiotics* 56: 871-875.

14. Jang, J. H., Kanoh, K., Adachi, K., Matsuda, S., and Shizuri, Y. 2007. Tenacibactins A-D, Hydroxamate Siderophores from a Marine-Derived Bacterium, *Tenacibaculum* sp. A4K-17. *Journal of Natural Products* 70 (4): 563-566.
15. Baakza, A., Vala, A. K., Dave, B. P., and Dube, H. C. 2004. A Comparative Study of Siderophore Production by Fungi from Marine and Terrestrial Habitats. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 311: 1-9.
16. Argandoña, M., Nieto, J. J., Guerra, F. L., Caldeón, M .I., Estepa, R. G., and Vargas, C. 2010. Interplay Between Iron Homeostasis and the Osmotic Stress Response in the Halophilic Bacterium *Chromohalobacter salexigens. Applied and Environmental Microbiology* 76: 3575-3589.
17. Shrivastava, U. P., and Kumar, A. 2011. Biochemical Characterization of Siderophore Producing Plant Growth Promoting Rhizobacteria of Rhizosphere. Nepalese *Journal of Integrated Sciences* 1: 31-37.
18. Sadeghi, A. Karimi, E. Dahaji , P. A., Javid, M.G., Dalvand, Y., and Askari, H. 2012. Plant Growth Promoting Activity of an Auxin and Siderophore Producing Isolate of *Streptomyces* Under Saline Soil Conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28: 1503-1509.
19. Nakouti, I., Sihanonth, P., and Hobbs, G. 2012. A New Approach to Isolating Siderophore-Producing Actinobacteria. *Letters in Applied Microbiology* 55: 68-72.
20. Bendale, M. S., Chaudhari, B. L., and Chincholkar, S.B. 2009. Influence of Environmental Factors on Siderophore Production by *Streptomyces fulvissimus* ATCC 27431. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* 3(4): 362-371.
21. Neilands, J. B. 1995. Siderophores: Structure and Function of Microbial Iron Transport Compounds. *Journal of Biological Chemistry* 270: 26723-26726.
22. Dikin, A., Sijam, K., Kadir, J., and Seman, I.A. 2007. Mode of Action of Antimicrobial Substances from *Burkholderia multivorans* and *Microbacterium testaceum* Against *Scizophyllum commune. Journal of Agriculture and Biology* 9: 311-314.
23. Neilands, J. B., and Leong, S. A. 1986. Siderophore in Relation to Plant Growth and Disease. *Annual Reviews of Plant Physiology* 37: 187-208.
24. Rumpaneenin, O., 2000. Isolation and Purification of Siderophores and its Application on Growth of Some Plant. Master of Science in Chemistry. Khon Kaen. Khon Kaen University.
25. Qi, W., and Zhao, L. 2012. Study of the Siderophore-Producing *Trichoderma asperellum* Q1 on Cucumber Growth Promotion Under Salt Stress. *Journal of Basic Microbiology* 52: 1-10.

26. Páez, M., Martinez-Nieto, P., and Bernal-Castillo, J. 2005. Siderophore Producing *Pseudomonas* as Pathogenic *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea* Antagonists. *Universitas Scientiarum* 10: 65-74.
27. Kim, K. -J., and Yang, Y. -J. 2006. Antagonistic Action of Siderophore Produced from *Burkholderia* sp. CAS-5 Upon the Postharvest Pathogen *Penicillium expansum. The 27th International Horticultural Congress & Exhibition.* 13-19 August 2006. Seoul. Korea.
28. de. Los. Santos-Villalobos, S., Barrera-Galicia, G. C., Miranda-Salcedo, M. A., and Peña-Cabriales, J. J. 2012. *Burkholderia cepacia* XXVI Siderophore with Biocontrol Capacity Against *Colletotrichum gloeosporioides. World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28(8): 2615-2623.
29. Kiss, T., and Farkas, E. 1998. Metal-binding Ability of Desferrioxamine B. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 32: 385-403.
30. Tansupo, P. Sriutha, M. Chanthai, C., and Ruangviriyachai, C. 2005. The Application of Siderophore for Remediation of Some Heavy Metals. *The 31st Congress on Science and Technology of Thailand.* 18-20 October 2005. Suranaree University of Technology. Nakhon Ratchasima. Thailand.
31. Yarnell, A., and Washington, E. N. 2003. Nature's Tiniest Geoengineers. *Science and Technology* 81: 24-25.
32. Nair, A., Asha, A. J., and Sanjeev, K.S. 2007. Production and Characterization of Siderophores and Its Application in Arsenic Removal from Contaminated Soil. *Water Air Soil Pollution* 180: 199-212.
33. Bar-Ness, E., Hardar, Y., Chen, Y., Shanzer, A., and Libman, J. 1992. Iron Uptake by Plants from Microbial Siderophores. *Plant Physiology* 99: 1335-1352.
34. Hofte, M. Dong, Q., Kourambas,. S., Krishnapillai, V., Sherratt, D., and Mergeay, M. 1994. The sss Gene Product, which Affects Pyoverdine Production in *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2, is a Site-Specific Recombinase. *Molecular Microbiology* 14: 1011-1020.
35. Braud, A. Jézéquel, K., Bazot, S., and Lebeau, T. 2009. Enhanced Phytoextraction of an Agricultural Cr-, Hg- and Pb-Contaminated Soil by Bioaugmentation with Siderophore Producing Bacteria. *Chemosphere* 74: 280-286.
36. Dimkpa, C. O., Svatoš, A., Dabrowska, P., Schmidt, A., Boland, W., and Kothe, E. 2008. Involvement of Siderophores in the Reduction of Metal-Induced Inhibition of Auxin Synthesis in *Streptomyces* spp. *Chemosphere* 74: 19-25.
37. Idris, R., Trifonova, R., Puschenreiter, M., Wenzel, W. W., and Sessitsch, A. 2004. Bacterial Communities Associated with Flowering Plants of the Ni Hyperaccumulator *Thlaspi goesingense. Applied and Environmental Microbiology* 70: 2667-2677.

38. Rajkumar, M., Ae, N., and Freitas, H. 2009. Endophytic Bacteria and Their Potential to Enhance Heavy Metal Phytoextraction. *Chemosphere* 77: 153-160.
39. Carrillo-Castaneda, G. Muñoz, J. J., Peralta-Videa, J. R., Gomez, E., and Gardea-Torresdey, J. L. 2003. Plant Growth-Promoting Bacteria Promote Copper and Iron Translocation from Root to Shoot in Alfalfa Seedlings. *Journal of Plant Nutrition* 26: 1801-1814.
40. Tripathi, M., Munot, H. P., Shouche, Y., Meyer, J. M., and Goel, R. 2005. Isolation and Functional Characterization of Siderophore-Producing Lead-and Cadmium-Resistant *Pseudomonas putida* KNP9. *Current Microbiology* 50: 233-237.
41. Day, J. P., and Ackrill, P. 1993. The Chemistry of Desferrioxamine Chelation for Aluminium Overload in Renal Dialysis Patients. *Therapeutic Drug Monitoring* 15: 598-601.
42. Morel, I., Cillard, J., Lescoat, G., Sergent, O., Pasdeloup, N., and Ocaktan, A. Z. 1992. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of the Iron Chelators Pyoverdin and Hydroxypyrid-4-ones on Iron-loaded Hepatocyte Cultures: Comparison of Their Mechanism of Protection with that of Desferrioxamine. *Free Radical Biology and Medicine* 13: 499-508.
43. Neilands, J. B. 1989. Siderophore Systems of Bacteria and Fungi. In: Beveridge, T.J. and Doyle, R.J., Editors. Metal Ion & Bacteria. New York. John Willey & Sons. Inc. p. 141-163.
44. Scroth, M. N., and Hancock, J.G. 1982. Disease-Suppressive Soil and Root-Colonizing Bacteria. *Science* 216: 1376-1381.
45. Chincholkar, S. B., Chaudhari, B. L., and Rane, M. R. 2007. Microbial Siderophores: State of Art. In: Chincholkar, S.B., and Varma, A., Editors. Microbial Siderophores. Germany. Springer Verlag. p. 233-242.
46. Wang, W., Chi, Z., and Liu, G. 2009. Chemical and Biological Characterization of Siderophore Produced by the Marine-derived *Aureobasidium pullulans* HN6.2 and Its Antibacterial Activity. *Biometals* 22: 965-972.
47. Shah, S., Karkhanis, V., and Desai, A. 1992. Isolation and Characterization of Siderophore, with Antimicrobial Activity from *Azospirillum lipoferum M. Current Microbiology* 25: 347-351.
48. เฉลิม เรืองวิริยะชัย ปวีณา พงษ์ดนตรี ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย วรรณดี บัญญัตรัชต จุฑาพร แสวงแก้ว และ อรุณศรี ปรีเปรม. 2546. รายงานการวิจัยเรื่องเทคโนโลยีชีวภาพของไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2545-2546. ขอนแก่น. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 1-122.
49. Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., and Lumyong, S. 2009. Screening Siderophore Producing Bacteria as Potential Biological Control Agent for Fungal Rice Pathogens in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 1919-1928.

50. Khamna, S., Yokota, A., and Lumyong, S. 2009. Actinomycetes Isolated from Medicinal Plant Rhizosphere Soil: Diversity and Screening of Antifungal Compound, Indole-3-acetic acid and Siderophore Production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 649-655.
51. Yimyai, T., Srisuk, N., and Duangmal, K. 2013. Siderophores Production and L-Asparaginase Activity of Actinomycetes from Mangrove. Proceeding of the 29th National Graduate Research Conference. 24-25 October 2013. Mae Fah Luang University. Chiang Rai. p. 199-206.
52. Dimkpa, C., Svatos, A., Merten, D., Büchel, G., and Kothe, E. 2008. Hydroxamate Siderophores Produced by *Streptomyces acidiscabies* E13 Bind Nickel and Promote Growth in Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Under Nickel Stress. *Canadian Journal of Microbiology* 54: 163-172.
53. Neilands, J. B. 1984. Methodology of Siderophores. *Structure and Bonding* 58: 1-24.
54. Linget, C., Slylianou, D. G., Dell, A., Wolff, R. E, Piemont, Y., and Abdallah, M. A. 1992. Bacterial Siderophores: The Structure of a Desferribactin Produced by *Pseudomonas fluorescens* ATTC 13525. *Tetrahedron Letters* 33: 3851-3854.
55. Loper, J. E., and Schroth, M. N. 1986 Importance of Siderophores in Microbial Interactions in the Rhizosphere. In: Swinburne, T.R., Editor. Iron, Siderophores and Plant Diseases. New York. Plenum Press. p. 85-98.
56. Corsa, J. H., and Walsh, C. T. 2002. Genetic and Assembly Line Enzymology of Siderophore Biosynthesis in Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66: 223-249.
57. Syed, S. A., and Vidhale, N. N. 2011. Evaluation of Siderophore Produced by Different Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa. International Journal of Microbiology Research* 3: 131-135.

ได้รับบทความวันที่ 21 ตุลาคม 2556
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 6 พฤษภาคม 2557