

บทคัดย่อ

การคัดเลือกยีสต์จากตัวอย่างใบไม้ ดอกไม้ ผลไม้ และดินทั้งหมด 70 ตัวอย่าง บริเวณเขื่อนสิรินธร ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี คัดแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 97 ไอโซเลต พบว่ายีสต์ส่วนมากเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 25-45°C โดย ไอโซเลต SF 2, SFL 20-1, SF 1-2 สามารถเจริญได้ที่ 50°C และพบว่ายีสต์ส่วนมากเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 30 % (w/v) พบยีสต์จำนวน 17 ไอโซเลต สามารถเจริญในน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 70% และ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ (NaCl) 3 % (w/v) จากการศึกษาความสามารถของยีสต์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ พบว่าตรวจไม่พบยีสต์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ และ ตรวจพบยีสต์จำนวน 6 ไอโซเลตสามารถย่อยแป้ง คือ SF 22-2, SL 7-2, SS 13-2, SS 7, SF 8-1 และ SFL 13 พบว่า ไอโซเลต SL 13-2 มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งสูงสุด พบยีสต์จำนวน 2 ไอโซเลต ที่สามารถย่อย xylan ได้ คือ ไอโซเลต SFL 1 และ SFL13 พบยีสต์ที่สามารถย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสได้สูงจำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต SFL 14-2, SS 9, SL 7-2, SF2, SFL 6, SS 6 ยีสต์ที่มีความสามารถในการย่อยสลาย 4-methylumbelliferyl- β -D-glucoside ได้สูงบนอาหารแข็ง ได้แก่ ไอโซเลต SF 22-1, SF 7-1, SF 21, SL 1, SS 9, SF 8-2, SF 13 เมื่อศึกษาการบ่งบอกสายพันธุ์ยีสต์โดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ D1/D2 ของ 26S rRNA พบ 3 ไอโซเลต เป็นยีสต์ที่คาดว่าจะป็นสายพันธุ์ใหม่ คือ ไอโซเลต SF 7-1 มีความเหมือน *Pichia anomala* [U74592](#) 99% (567/573), ไอโซเลต SF 2 มีความเหมือน *Issatchenkia terricola* [EF550233.1](#) 99% (554/562), ไอโซเลต SF 8-2 มีความเหมือน *Pichia anomala* [U74592.1](#) 99% (567/573)

Abstract

The ninety seven yeast strains were isolated from 70 samples of leafs, flowers, fruits and soils in the forests of Sirindhorn Dam under Plant Genetic Conservation Project as The Royal Initiation of Her Royal highness Princess Maha Chakri Sirindhorn (RSPG) The Bureau of The Royal Household. The isolates yeasts were isolated from seventy samples of flowers, fruits, leafs and soil samples. Almost of yeast strain grew well at 25-45°C and 3 isolates, SF 2, SFL 20-1, SF 1-2, could grow well at 50°C. In addition most of isolated yeast grew well at 30 % (w/v) glucose and 3 % (w/v) NaCl. The ability of protein digestion were not found all of yeast isolates. Six isolates, SF 22-2, SL 7-2, SS 13-2, SS 7, SF 8-1 และ SFL 13, were shown ability of starch digestion. The isolate SL 13-2 was shown the highest starch digestion. Xylan digestion were found in SFL 1 และ SFL13. Moreover, 6 isolates, SFL 14-2, SS 9, SL 7-2, SF2, SFL 6, SS 6, and 7 isolates, SF 22-1, SF 7-1, SF 21, SL 1, SS 9, SF 8-2, SF 13 could utilize carboxymethyl cellulose and 4-methylumbelliferyl- β -D-glucoside, respectively. The yeast strains were identified via analysis of nucleotide sequences from the D1/D2 domain of 26S ribosomal DNA. The sequence obtained from 3 yeast isolates were shown as new yeast specieses. Isolate SF 7-1, SF 2 and SF 8-2 was 99 percent identical to that of *Pichia anomala* [U74592](#), *Issatchenkia terricola* [EF550233.1](#) and *Pichia anomala* [U74592](#) , respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่และบุคลากร สำนักงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่กรุณาอำนวยความสะดวก และประสานงานเป็นอย่างดี และต้องขอขอบคุณ บุคลากรจาก โครงการ อพ.สธ. สำนักพระราชวัง และเจ้าหน้าที่การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย เป็นอย่างสูง ที่ให้การสนับสนุน และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เขื่อน

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 มหาวิทยาลัยขอนแก่น และอยู่ภายใต้ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	11
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	16
บทที่ 5 ข้อเสนอสรุปและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก	49

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1 ชนิดและจำนวนตัวอย่าง	16
ตารางที่ 4.2 จำนวนยีสต์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง	17
ตารางที่ 4.3 การทดสอบการเจริญของยีสต์ที่อุณหภูมิต่างๆ	21
ตารางที่ 4.4 การทดสอบการเจริญของยีสต์ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่างๆ	25
ตารางที่ 4.5 การทดสอบการเจริญของยีสต์ที่ความเข้มข้นของเกลือความเข้มข้นต่างๆ	29
ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง	33
ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	39
ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อย 4-methylumbelliferyl- β -D-glucoside	41
ตารางที่ 4.9 ผลการจัดจำแนกยีสต์โดยใช้บริเวณ D1/D2 ของ 26S rRNA	42

สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างใบไม้ ดอกไม้และผลไม้จากเขื่อนสิรินธร	20
ภาพที่ 4.2 การเจริญของยีสต์ในอาหารเหลวในอาหารชนิดต่างๆ หรือบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ	32
ภาพที่ 4.3 ตัวอย่างไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งได้และที่ไม่สามารถย่อยแป้งได้	37
ภาพที่ 4.4 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการย่อย xylan หลังจากกราดด้วย congo red	37
ภาพที่ 4.5 ลักษณะ clear zone ที่เกิดจากการย่อย Carboxymethyl cellulose หลังกราดด้วย Congo red	38
ภาพที่ 4.6 การเกิดโซนเรืองแสงของยีสต์จากการย่อยสลาย 4-methylumbelliferyl- β -D-glucoside ภายหลังจากนำไปส่องไฟรังสีอัลตราไวโอเล็ต	40