

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and discussion)

ส่วนที่ 1 การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ที่แยกได้จากเขื่อนอุบลรัตน์

(Isolation and study of yeast from Ubontana Dam)

1. การเก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนตัวอย่างที่เก็บจากเขื่อนอุบลรัตน์

เส้นทางเก็บตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง
เส้นทางที่ 1	ผลไม้	น้อยหน้า, หมากหม้อ, สรร, ซาด, ลูกฮัมบัว, หมากครก, ลูกตานกกด, ขอบป่า, ขาเปีย, ต้นอาราง	10
	ดอกไม้	ข่าขาว, ดอกฮัมบัว	2
	ใบไม้	ใบเครื่อง, ตัวหมอน	2
	ดิน	ดินจากตอนต้นของแปลงที่ 1 ดินจากตอนกลางของแปลงที่ 1 ดินจากตอนท้ายของแปลงที่ 1	3
เส้นทางที่ 2	ผลไม้	กะบก, บังกะเลน, แก่นเทา, แดกโผ	4
	ดอกไม้	รอก, ค้างไก่, หญ้าทักษิณ, unknown, unknown, โสมไทย	6
	ใบไม้	ต้นตั้ง, unknown 4 ตัวอย่าง	5
	ดิน	ดินจากตอนต้นของแปลงที่ 2 ดินจากตอนกลางของแปลงที่ 2 ดินจากตอนท้ายของแปลงที่ 2	3
เส้นทางที่ 3	ผลไม้	เสี้ยว, เหมือดแอ, กุง (เหียง), มะกอก, พุทรา, หม้อหน้าผา, มะเกลือ, มะขามป้อม, รำอีรอก, หนามแท่ง, Unknown1, Unknown2	13
	ดอกไม้	สาบเสือ, หนามวัวช้างผา, ชิงช้าชาติ, เข็มป่า, ประง, ดอกรัก, จี๊ป่า, ส้มโอมง, หนอนตายยาก, Unknown1, Unknown2, Unknown3, Unknown4, Unknown5, Unknown6	15
	ดิน	จากหน้าผา, ลงเขา, Unknown1, Unknown2, Unknown 3, Unknown4, Unknown5	7
จำนวนทั้งหมด			70

ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างที่เก็บจากเขื่อนอุบลรัตน์



บั้งกะเลน



โสมไทย



ผลชาด



ยอป่า



ข้าขาว



แดงไผ่

การสุ่มเก็บตัวอย่างจาก ใบไม้ ดอกไม้ ผลไม้และดิน ดังภาพที่ 2 บริเวณป่าเขื่อนอุบลรัตน์ อำเภออุบลรัตน์ จังหวัดขอนแก่น ในช่วงวันที่ 15 มกราคม 2552 และวันที่ 3-4 กรกฎาคม 2552 การเก็บตัวอย่างมี 3 เส้นทางคือ เส้นทางที่ 1 เส้นทางที่ 2 และเส้นทางที่ 3 ผลการเก็บตัวอย่างดังตารางที่ 7 เก็บ

ตัวอย่างเส้นทางที่ 1 ได้จำนวน 17 ตัวอย่าง เส้นทางที่ 2 ได้จำนวน 18 ตัวอย่าง และเส้นทางที่ 3 ได้จำนวน 35 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 70 ตัวอย่าง

2. การคัดแยกยีสต์

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนยีสต์ที่คัดแยกจากเชื้อนอบลูร์ตัน

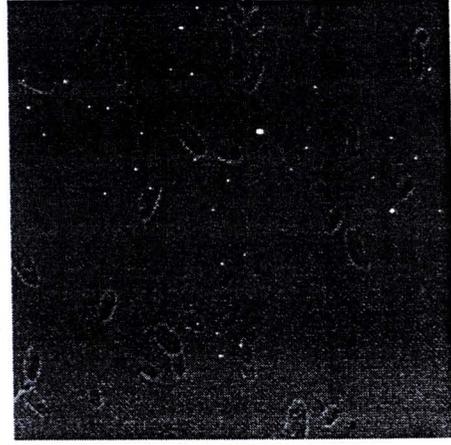
เส้นทาง เก็บตัวอย่าง	ชนิด ตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไอโซเลต	จำนวน
เส้นทางที่ 1	ผลไม้	น้อยหน้า	101-1, 101-2, 101-3, 101-4, 101-5	32
		หมากหม่อ	-	
		สทร	104-1	
		ชาด	106-1, 106-2, 106-3	
		ลูกฮัมบัว	109-1, 109-2, 109-3,	
		หมากครก	-	
		ลูกตา นกกรด	111-1, 111-2	
		ยอป่า	112-1, 112-2, 112-3	
		ขาเป็ย	113-1	
		ต้นอาราง	-	
ดอกไม้	ชำขาว	ดอกฮัมบัว	103-1	32
		ดอกฮัมบัว	107-1	
ใบไม้	ใบเครื่อง	ตัวหม่อน	105-1, 105-2, 105-3	32
		ตัวหม่อน	108-1, 108-2, 108-3, 108-4	
ดิน	ดินตอนต้นของแปลงที่ 1	ดินตอนกลางของแปลงที่ 1	S11-1	32
		ดินตอนท้ายของแปลงที่ 1	S12-1, S12-2	
			S13-1, S13-2	
เส้นทางที่ 2	ผลไม้	กะบก	202-1, 202-2, 202-3	41
		บั้งกะเลน	209-1	
		แก่นเทา	210-1, 210-2, 210-3	
		แตกไผ	213-1, 213-2, 213-3	
		unknown 21	205-1	
	ดอกไม้	รอก	201-1, 201-2	

		ด้วงไก่อ หญ้าปักกิ่ง Unknown22 Unknown23 ไส้ไหมไทย	203-1 216-1, 216-2, 216-3, 216-4 208-1, 208-2 211-1, 211-2, 211-3, 211-4, 211-5 212-1	
	ใบไม้	ดินตั่ง unknown 24 unknown25 unknown26 unknown27	215-1, 215-2, 215-3 204-1, 204-2 206-1, 206-2 207-1 214-1, 214-2, 214-3	
	ดิน	ดินจากตอนต้นของแปลงที่ 2 ดินจากตอนกลางของแปลง ที่ 2 ดินจากตอนท้ายของแปลง ที่ 2	S21-1, S21-2 S22-1 S23-1	
เส้นทางที่ 3	ผลไม้	เสี้ยว หม้อดแอ กุ้ง (เหียง) มะกอก พุทรา หม้อหน้าผา มะเกลือ มะขามป้อม รำอีรอก หนามแท่ง Unknown31 Unknown32	C1-2 C2-1, C2-4 - C6-1, C6-2, C6-3 C7-1, C7-3, C7-4 - C9-1, C9-2 - - - C3-1, C3-3, C3-4 C4-1, C4-2	45
	ดอกไม้	สาบเสือ หนามวัวช้างผา	F1-5, F1-6 F4-2, F4-3	

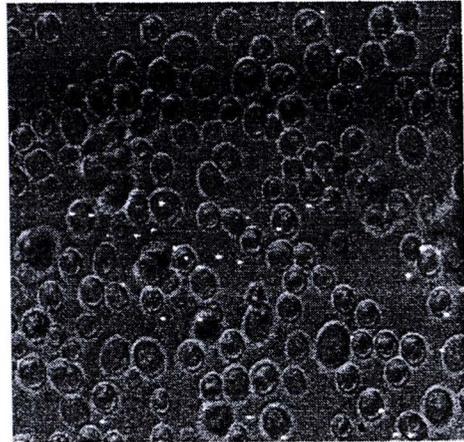
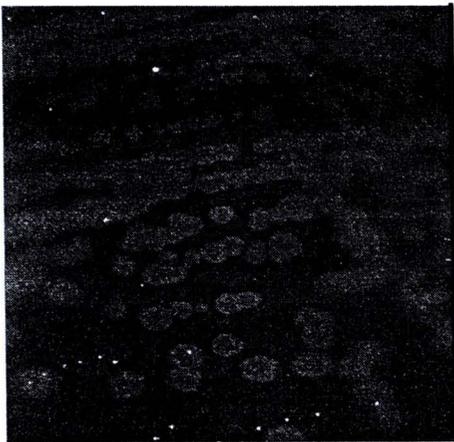
		ชิงช้าชาติ	-	
		เข็มป่า	F8-2	
		ปรง	F9-1	
		ดอกรัก	-	
		จิวป่า	F12-2, F12-3, F12-6	
		ลัมโมง	-	
		หนอนตายยาก	-	
		Unknown33	F2-1, F2-4	
		Unknown34	F3-1, F3-2, F3-3, F3-5	
		Unknown35	F5-1, F5-2	
		Unknown36	F6-1	
		Unknown37	-	
		Unknown38	F14-1, F14-2, F14-3, F14-4, F14-5	
	ดิน	จากหน้าผา	S5-1, S5-5	
		ลงเขา	S6-1	
		Unknown39	S1-1, S1-2	
		Unknown310	S2-1	
		Unknown311	-	
		Unknown312	-	
		Unknown313	-	
จำนวนทั้งหมด				118

จากการเก็บตัวอย่างจาก ใบไม้ ดอกไม้ ผลไม้และดิน บริเวณป่าเขื่อนอุบลรัตน์ทั้งหมด 70 ตัวอย่าง เมื่อนำมาคัดแยกยีสต์โดยคุณลักษณะโคโลนีใหญ่ ทึบแสง เป็นต้น พบว่าเส้นทางที่ 1 แยกยีสต์ได้ 32 ไอโซเลต เส้นทางที่ 2 แยกยีสต์ได้ 41 ไอโซเลต เส้นทางที่ 3 แยกยีสต์ได้ 45 ไอโซเลต รวมทั้งสามเส้นทาง ได้ 118 ไอโซเลต การคัดแยกนี้ยังพบยีสต์ที่อยู่ในกลุ่ม Basidiomycetus yeast ซึ่งมีลักษณะ โคโลนีเป็นสี เช่น สีแดง ชมพู เหลือง เป็นต้น ดังภาพที่ 3

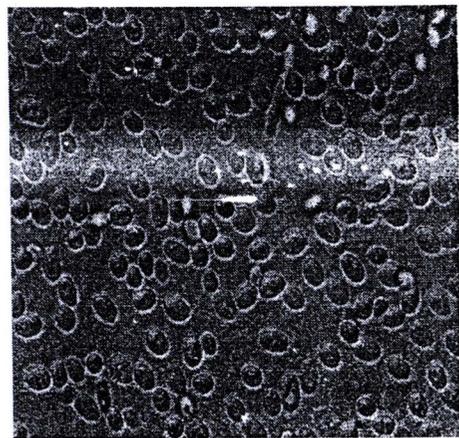
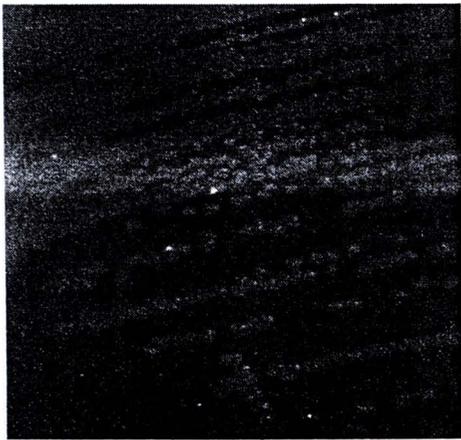
ภาพที่ 3 แสดงลักษณะ โคลโลนิของยีสต์และลักษณะเซลล์ที่คัดแยกได้จากเชื้ออูบลรัตน์



216-4 จากตัวอย่างหญ้าทักษิณ



103-1 จากตัวอย่างข้าวขาว



215-2 จากตัวอย่างต้นต้ง

3. การศึกษาคุณสมบัติของยีสต์

3.1 ทดสอบประสิทธิภาพการเจริญเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ

ตารางที่ 9 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆของยีสต์

Isolate code	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C
101-1	3+	3+	3+	1+	1+	-
101-2	3+	3+	3+	-	-	-
101-3	3+	3+	3+	2+	-	-
101-4	3+	3+	3+	2+	1+	-
101-5	3+	3+	3+	-	-	-
103-1	3+	3+	3+	-	-	-
104-1	3+	3+	3+	2+	1+	-
105-1	3+	3+	3+	-	-	-
105-2	3+	3+	3+	-	-	-
105-3	3+	3+	3+	-	-	-
106-1	3+	3+	3+	-	-	-
106-2	3+	3+	3+	-	-	-
106-3	3+	3+	3+	-	-	-
107-1	3+	3+	3+	1+	-	-
108-1	3+	3+	3+	1+	1+	-
108-2	3+	3+	3+	1+	-	-
108-3	3+	3+	3+	-	-	-
108-4	3+	3+	3+	-	-	-
109-1	3+	3+	3+	-	-	-
109-2	3+	3+	3+	-	-	-
109-3	3+	3+	3+	1+	-	-
111-1	3+	3+	3+	3+	1+	-
111-2	3+	3+	3+	3+	-	-
112-1	3+	3+	3+	3+	1+	-
112-2	3+	3+	3+	-	-	-
112-3	3+	3+	3+	-	-	-
113-1	3+	3+	3+	-	-	-
S11-1	3+	3+	3+	2+	1+	-
S12-1	3+	3+	3+	-	-	-

ตารางที่ 9 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

Isolate code	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C
S12-2	3+	3+	3+	3+	-	-
S13-1	3+	3+	3+	3+	2+	-
S13-2	3+	3+	3+	3+	2+	-
201-1	3+	3+	3+	-	-	-
201-2	3+	3+	3+	3+	-	-
202-1	3+	3+	3+	-	-	-
202-2	3+	3+	3+	-	-	-
202-3	3+	3+	3+	1+	-	-
203-1	3+	3+	3+	1+	1+	-
204-1	3+	3+	3+	3+	2+	-
204-2	3+	3+	3+	1+	1+	-
205-1	3+	3+	3+	-	-	-
206-1	3+	3+	3+	1+	-	-
206-2	3+	3+	3+	1+	1+	-
207-1	3+	3+	3+	1+	1+	-
208-1	3+	3+	3+	-	-	-
208-2	3+	3+	3+	-	-	-
209-1	3+	3+	3+	-	-	-
210-1	3+	3+	3+	-	2+	-
210-2	3+	3+	3+	-	-	-
210-3	3+	3+	3+	3+	1+	-
211-1	3+	3+	3+	-	-	-
211-2	3+	3+	3+	-	-	-
211-3	3+	3+	3+	-	-	-
211-4	3+	3+	3+	-	-	-
211-5	3+	3+	3+	-	-	-
212-1	3+	3+	3+	-	-	-
213-1	3+	3+	3+	-	-	-
213-2	3+	3+	3+	-	1+	-
213-3	3+	3+	3+	-	1+	-
214-1	3+	3+	3+	-	1+	-

ตารางที่ ๑ แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

Isolate code	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C
214-2	3+	3+	3+	-	-	-
214-3	3+	3+	3+	-	-	-
215-1	3+	3+	3+	-	-	-
215-2	3+	3+	3+	-	-	-
215-3	3+	3+	3+	-	-	-
216-1	3+	3+	3+	1+	1+	-
216-2	3+	3+	3+	-	-	-
216-3	3+	3+	3+	-	1+	-
216-4	3+	3+	3+	-	-	-
S21-1	3+	3+	3+	3+	1+	-
S21-2	3+	3+	3+	3+	2+	-
S22-1	3+	3+	3+	-	-	-
S23-1	3+	3+	3+	1+	1+	-
C1-2	3+	3+	3+	-	-	-
C2-1	2+	3+	3+	-	-	-
C2-4	3+	3+	3+	1+	1+	-
C3-1	3+	3+	3+	-	1+	-
C3-3	3+	3+	3+	-	1+	-
C3-4	3+	3+	3+	-	1+	-
C4-1	3+	3+	3+	-	-	-
C4-2	3+	3+	3+	-	-	-
C6-1	3+	3+	3+	-	-	-
C6-2	3+	3+	3+	-	1+	-
C6-3	3+	3+	3+	-	2+	-
C7-1	3+	3+	3+	-	1+	-
C7-3	3+	3+	3+	-	1+	-
C7-4	3+	3+	3+	-	2+	-
C9-1	3+	3+	3+	-	1+	-
C9-2	3+	3+	3+	-	2+	1+
F12-2	3+	3+	3+	-	2+	-

ตารางที่ 9 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

Isolate code	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C
F12-3	3+	3+	2+	-	2+	-
F12-6	3+	3+	3+	-	1+	-
F14-1	3+	3+	3+	3+	2+	-
F14-2	3+	3+	3+	3+	2+	-
F14-3	3+	3+	3+	3+	2+	-
F14-4	3+	3+	3+	3+	3+	-
F14-5	3+	3+	3+	3+	2+	-
F1-5	3+	3+	3+	-	2+	-
F1-6	3+	3+	3+	-	-	-
F2-1	3+	3+	3+	-	1+	-
F2-4	3+	3+	3+	-	2+	-
F3-1	3+	3+	3+	-	1+	-
F3-2	3+	3+	3+	-	-	-
F3-3	3+	3+	3+	-	-	-
F3-5	3+	3+	3+	-	-	-
F4-2	3+	3+	3+	-	-	-
F4-3	3+	3+	3+	-	1+	-
F5-1	3+	3+	3+	-	2+	-
F5-2	3+	3+	3+	-	-	-
F6-1	3+	3+	3+	-	1+	-
F8-2	3+	3+	3+	-	1+	1+
F9-1	3+	3+	3+	-	1+	-
S1-1	3+	3+	3+	3+	3+	-
S1-2	3+	3+	3+	3+	2+	-
S2-1	3+	3+	3+	-	-	-
S5-1	3+	3+	3+	3+	1+	-
S5-5	3+	3+	3+	1+	1+	-
S6-1	3+	3+	3+	3+	1+	-

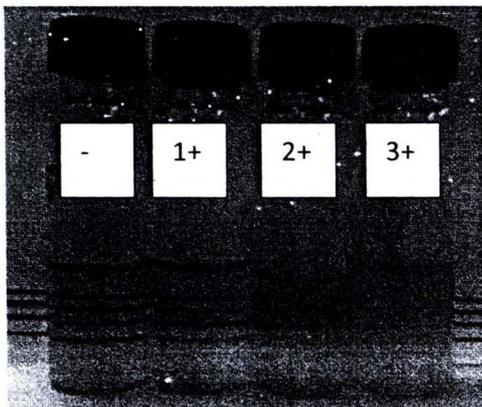
3+ หมายถึง มีการเจริญดี

2+ หมายถึง มีการเจริญปานกลาง

1+ หมายถึง มีการเจริญน้อย

จากตารางที่ 9 ความสามารถของยีสต์ในการเจริญที่สภาวะอุณหภูมิต่างๆ โดยการเทียบความ
 ชุ่มของอาหาร ดังภาพที่ 4 ส่วนมากยีสต์เจริญได้ดีในอุณหภูมิช่วง 25-35 องศาเซลเซียส และมีบาง
 ไอโซเลตที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เช่น 111-1, 111-2, 112-1, S12-1, S13-1, S13-2,
 201-2, 204-1, 210-3, 215-2, S21-1, S21-2, F14-1, F14-2, F14-3, F14-4, F14-5, S5-1, S6-1, S1-1
 และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส F14-4 และ S1-1 สามารถเจริญได้ดีด้วยเช่นกัน ส่วน อุณหภูมิ 50
 องศาเซลเซียส มีเพียง C9-2 และ F8-2 ที่เจริญได้น้อย

ยีสต์ส่วนใหญ่ชอบเจริญที่อุณหภูมิปานกลางซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimal temperature
) เหมาะสำหรับการเจริญในช่วง 20-28 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้ต่ำกว่า
 46 องศาเซลเซียส (Nakasr, 2001) ยีสต์บางชนิดเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง 50-51 องศาเซลเซียส และ
 บางชนิดเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ 20 องศาเซลเซียส บางชนิดพวกที่สร้างแบคทีโอสปอร์เจริญได้ที่
 อุณหภูมิสูง 0 องศาเซลเซียส ดังนั้นการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆจึงเป็นลักษณะหนึ่งที่ใช้ในการจัด
 จำแนกยีสต์



- คือ ไม่มีการเจริญ
- 1+ คือ มีการเจริญน้อย
- 2+ คือ มีการเจริญปานกลาง
- 3+ คือ มีการเจริญดี

ภาพที่ 4 แสดงความชุ่มของการเจริญของยีสต์ที่อุณหภูมิต่างๆ

3.2 การทดสอบการเจริญของยีสต์ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 30, 50, 60, 70 และ 80 %
 ตารางที่ 10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่างๆของยีสต์

Isolate code	ความเข้มข้นของกลูโคส				
	30%	50%	60%	70%	80%
101-1	3+	3+	3+	2+	1+
101-2	3+	3+	3+	-	-
101-3	3+	3+	3+	2+	1+
101-4	3+	3+	3+	2+	1+
101-5	3+	3+	3+	2+	1+
103-1	3+	3+	3+	2+	
104-1	3+	3+	3+	2+	1+
105-1	3+	3+	3+	2+	1+
105-2	3+	3+	3+	2+	1+
105-3	3+	3+	3+	2+	1+
106-1	1+	-	-	-	-
106-2	1+	-	-	-	-
106-3	2+	3+	3+	2+	1+
107-1	3+	3+	3+	2+	1+
108-1	3+	3+	3+	2+	1+
108-2	3+	3+	3+	2+	1+
108-3	3+	3+	3+	2+	1+
108-4	3+	3+	3+	2+	2+
109-1	3+	3+	3+	2+	2+
109-2	3+	3+	3+	2+	1+
109-3	3+	3+	3+	-	-
111-1	3+	3+	3+	2+	1+
111-2	3+	3+	3+	2+	1+
112-1	3+	3+	3+	-	
112-2	3+	3+	3+	2+	1+
112-3	3+	3+	3+	2+	2+
113-1	3+	3+	3+	2+	2+
S11-1	3+	3+	-	-	-
S12-1	3+	3+	-	-	-



ตารางที่ 10 การทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

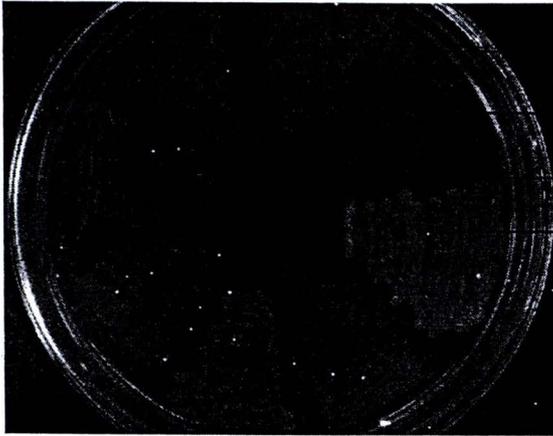
Isolate code	ความเข้มข้นของกลูโคส				
	30%	50%	60%	70%	80%
S12-2	1+	3+	-	-	-
S13-1	3+	3+	-	-	-
S13-2	3+	3+	3+	2+	2+
201-1	3+	3+	3+	2+	1+
201-2	3+	3+	3+	2+	2+
202-1	3+	3+	2+	-	-
202-2	3+	3+	2+	-	-
202-3	3+	3+	3+	2+	2+
203-1	3+	3+	3+	2+	2+
204-1	3+	3+	3+	2+	2+
204-2	3+	3+	3+	2+	1+
205-1	3+	3+	-	-	-
206-1	3+	3+	3+	2+	2+
206-2	3+	3+	3+	2+	-
207-1	3+	3+	3+	2+	-
208-1	3+	3+	3+	2+	-
208-2	3+	3+	3+	2+	-
209-1	3+	3+	3+	2+	-
210-1	3+	3+	3+	2+	-
210-2	3+	3+	-	-	-
210-3	3+	3+	3+	2+	2+
211-1	-	3+	3+	2+	2+
211-2	-	3+	3+	2+	1+
211-3	3+	3+	3+	2+	-
211-4	3+	3+	3+	2+	2+
211-5	3+	-	3+	2+	1+
212-1	3+	3+	3+	2+	-
213-1	3+	3+	3+	2+	1+
213-2	3+	3+	3+	2+	1+
213-3	3+	3+	3+	2+	1+

ตารางที่ 10 การทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

Isolate code	ความเข้มข้นของกลูโคส				
	30%	50%	60%	70%	80%
214-1	3+	3+	3+	2+	1+
214-2	3+	3+	3+	2+	-
214-3	3+	3+	3+	-	-
215-1	3+	3+	-	-	-
215-2	3+	3+	-	-	-
215-3	3+	3+	3+	1+	1+
216-1	3+	3+	3+	1+	1+
216-2	1+	3+	-	-	-
216-3	2+	3+	3+	2+	1+
216-4	3+	3+	3+	2+	-
S21-1	3+	3+	3+	2+	1+
S21-2	3+	3+	3+	2+	1+
S22-1	3+	3+	3+	2+	1+
S23-1	2+	1+	3+	2+	-
C1-2	3+	3+	-	-	-
C2-1	3+	3+	-	-	-
C2-4	3+	3+	3+	2+	-
C3-1	3+	3+	3+	2+	-
C3-3	3+	3+	3+	2+	1+
C3-4	3+	3+	3+	2+	1+
C4-1	3+	3+	-	-	-
C4-2	3+	3+	3+	2+	1+
C6-1	3+	3+	3+	2+	1+
C6-2	3+	3+	-	-	-
C6-3	3+	3+	3+	-	-
C7-1	3+	3+	-	-	-
C7-3	3+	3+	3+	2+	-
C7-4	3+	3+	2+	2+	-
C9-1	3+	3+	3+	2+	-
C9-2	3+	3+	-	-	-

ตารางที่10 การทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

Isolate code	ความเข้มข้นของกลูโคส				
	30%	50%	60%	70%	80%
F12-2	3+	3+	2+	2+	-
F12-3	3+	3+	3+	2+	-
F12-6	3+	3+	2+	2+	-
F14-1	3+	3+	3+	2+	-
F14-2	-	-	-	-	-
F14-3	3+	3+	3+	2+	-
F14-4	3+	3+	-	-	-
F14-5	3+	3+	3+	2+	-
F1-5	3+	3+	3+	2+	-
F1-6	3+	3+	3+	2+	-
F2-1	3+	3+	3+	2+	-
F2-4	3+	3+	3+	2+	-
F3-1	3+	3+	3+	2+	-
F3-2	3+	3+			-
F3-3	3+	3+	3+	2+	1+
F3-5	3+	-	-	-	-
F4-2	2+	2+	2+		-
F4-3	3+	3+	2+	1+	-
F5-1	2+	-	-	-	-
F5-2	2+	-	-	-	-
F6-1	3+	3+	3+	2+	1+
F8-2	3+	3+	2+	2+	1+
F9-1	3+	3+	3+	2+	1+
S1-1	2+	3+	3+	2+	2+
S1-2	2+	3+	3+	2+	-
S2-1	3+	3+	-	-	-
S5-1	3+	3+	3+	1+	-
S5-5	2+	1+	1+	-	-
S6-1	3+	3+	3+	2+	-



2+ คือ มีการเจริญของยีสต์ปานกลาง

- คือ ไม่เจริญ

1+ คือ มีการเจริญของยีสต์น้อย

3+ คือ มีการเจริญของยีสต์ดี

ภาพที่ 5 การเจริญของยีสต์บนอาหารที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล

ยีสต์ที่พบจากแหล่งน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงมักเป็นพวกที่ทนแรงดันออสโมซิส จากตารางที่ 10 จะเห็นว่าส่วนมากยีสต์ที่คัดแยกได้นั้นสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงๆ ส่วนมากเจริญได้ดีในช่วง 30%-50% กลูโคส มีเพียง 106-1, 106-2, S12-2, F14-2 เจริญได้น้อยที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 30%

3.3 การทดสอบการเจริญของยีสต์ที่ความเข้มข้นของเกลือ 3, 5, 10, 15 และ 20%

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบ การเจริญที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆของยีสต์

Isolate code	ความเข้มข้นของ NaCl				
	3%	5%	10%	15%	20%
101-1	3+	3+	3+	-	-
101-2	3+	-	-	-	-
101-3	3+	3+	3+	-	-
101-4	3+	3+	2+	-	-
101-5	3+	3+	1+	-	-
103-1	3+	3+	3+	-	-
104-1	3+	3+	3+	-	-
105-1	2+	3+	1+	-	-
105-2	3+	3+	3+	-	-
105-3	3+	3+	3+	-	-
106-1	-	-	-	-	-
106-2	2+	-	-	-	-
106-3	3+	3+	1+	-	-
107-1	3+	3+	2+	-	-
108-1	3+	3+	2+	1+	-
108-2	3+	3+	-	-	-
108-3	3+	3+	3+	2+	-
109-1	3+	3+	3+	-	-
109-2	3+	3+	2+	-	-
109-3	3+	-	-	-	-
111-1	3+	3+	2+	-	-
111-2	3+	3+	3+	-	-
112-1	3+	3+	3+	-	-
112-2	3+	3+	-	-	-
112-3	3+	3+	-	-	-
113-1	3+	3+	3+	-	-
S11-1	3+	3+	-	-	-
S12-1	3+	3+	-	-	-
S12-2	-	-	-	-	-

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบ การเจริญที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆของยีสต์

Isolate code	ความเข้มข้นของ NaCl				
	3%	5%	10%	15%	20%
S13-1	3+	3+	1+	-	-
S13-2	3+	3+	-	-	-
201-1	2+	1+	-	-	-
201-2	3+	3+	3+	-	-
202-1	2+	-	-	-	-
202-2	3+	3+	-	-	-
202-3	3+	3+	3+	3+	-
203-1	3+	3+	3+	-	-
204-1	3+	3+	1+	1+	-
204-2	3+	3+	3+	-	-
205-1	3+	2+	-	-	-
206-1	3+	3+	3+	-	-
206-2	3+	3+	3+	-	-
207-1	3+	3+	3+	1+	-
208-1	-	-	-	-	-
208-2	3+	3+	3+	-	-
209-1	3+	3+	3+	-	-
210-1	3+	3+	-	-	-
210-2	3+	2+	-	-	-
210-3	3+	3+	3+	-	-
211-1	3+	3+	3+	-	-
211-2	3+	3+	3+	-	-
211-3	3+	3+	3+	-	-
211-4	2+	-	-	-	-
211-5	3+	3+	3+	-	-
212-1	3+	3+	3+	-	-
213-1	3+	3+	-	-	-
213-2	2+	3+	-	-	-
213-3	3+	3+	3+	-	-
214-1	3+	3+	3+	2+	-

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบ การเจริญที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

Isolate code	ความเข้มข้นของ NaCl				
	3%	5%	10%	15%	20%
214-2	3+	3+	3+	-	-
214-3	3+	1+	-	-	-
215-1	3+	3+	-	-	-
215-2	3+	3+	3+	-	-
215-3	3+	3+	3+	3+	-
216-1	3+	3+	2+	-	-
216-2	3+	3+	3+	-	-
216-3	3+	3+	3+	-	-
216-4	3+	3+	3+	-	-
S11-1	3+	3+	-	-	-
S12-1	3+	3+	-	-	-
S12-2	-	-	-	-	-
S13-1	3+	3+	1+	-	-
S13-2	3+	3+	-	-	-
S21-1	3+	3+	-	-	-
S21-2	3+	3+	-	-	-
S22-1	3+	3+	3+	1+	-
S23-1	3+	3+	2+	1+	-
C1-2	3+	3+	3+	-	-
C2-1	3+	3+	3+	-	-
C2-4	3+	3+	3+	3+	-
C3-1	3+	3+	3+	3+	-
C3-3	3+	3+	3+	3+	-
C3-4	3+	3+	3+	3+	-
C4-1	3+	3+		-	-
C4-2	3+	3+	3+	-	-
C6-1	3+	3+	3+	3+	-
C6-2	-	-	-	-	-
C6-3	-	-	-	-	-
C7-1	3+	3+	-	-	-

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบ การเจริญที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆของยีสต์ (ต่อ)

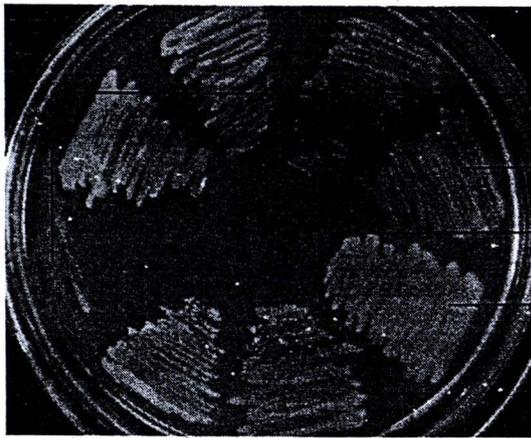
Isolate code	ความเข้มข้นของ NaCl				
	3%	5%	10%	15%	20%
C7-3	3+	3+	-	-	-
C7-4	3+	3+	1+	-	-
C9-1	3+	3+	1+	-	-
C9-2	-	-	-	-	-
F12-2	3+	3+	3+	-	-
F12-3	3+	3+	3+	-	-
F12-6	3+	3+	3+	-	-
F14-1	3+	3+	-	-	-
F14-2	-	-	-	-	-
F14-3	3+	3+	-	-	-
F14-4	3+	3+	-	-	-
F14-5	3+	3+	-	-	-
F1-5	3+	3+	3+	-	-
F1-6	3+	3+	3+	3+	-
F2-1	3+	3+	3+	-	-
F2-4	3+	3+	3+	-	-
F3-1	3+	3+	3+	-	-
F3-2	3+	3+	3+	-	-
F3-3	3+	3+	3+	-	-
F4-3	3+	3+	3+	-	-
F5-1	-	-	-	-	-
F5-2	-	-	-	-	-
F6-1	3+	3+	3+	-	-
F8-2	3+	3+	3+	-	-
F9-1	3+	3+	3+	-	-
S1-1	3+	3+	1+	-	-
S1-2	3+	3+	1+	-	-
S2-1	3+	3+	-	-	-
S5-1	3+	3+	-	-	-
S5-5	3+	3+	-	-	-
S6-1	3+	3+	2+	-	-

3+ หมายถึง มีการเจริญดี

2+ หมายถึง มีการเจริญปานกลาง

1+ หมายถึง มีการเจริญน้อย

จากตารางที่ 11 ผลการเจริญของยีสต์ที่ความเข้มข้นของเกลือ 3%, 5%, 10%, 15%, 20% พบว่ายีสต์สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นของเกลือ 3 - 5%, และสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือสูงถึง 15% คือ 202-3, 215-3, C2-4, C3-1, C3-3, C3-4, C6-1, F1-5, F1-6, F2-1, F2-4, F3-1, F3-2, F3-3, F4-2, F4-3, F6-1, F8-2 และ F9-1 ยีสต์ที่ไม่สามารถเจริญได้เลยคือ 106-1, S12-1, 208-1, C6-2, C6-3, C9-2, F14-2, F5-1, F5-2



- คือ ไม่เจริญ
- 2+ คือ มีการเจริญของยีสต์ปานกลาง
- 1+ คือ มีการเจริญของยีสต์น้อย
- 3+ คือ มีการเจริญของยีสต์ดี

ภาพที่ 6 การเจริญของยีสต์บนอาหารที่มีองค์ประกอบของเกลือ



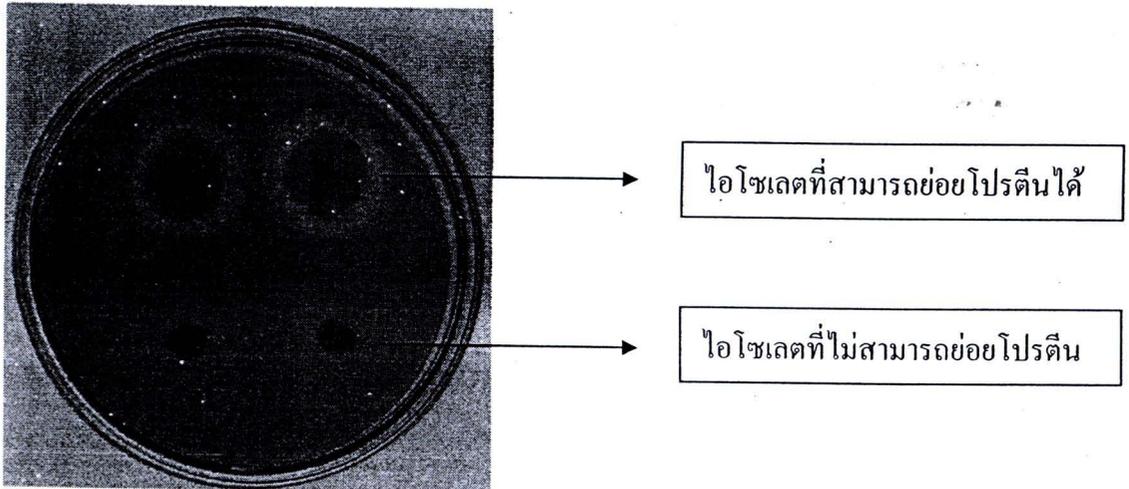
3.4 ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสเตรท

การทดสอบความสามารถประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน

Isolate code	clear zone (cm)	colony zone (cm)	clear zone - colony zone (cm)
C2-4	1.6	1.2	0.4
C3-1	2.0	1.5	0.5
C3-4	1.1	0.7	0.4
F4-2	1.0	0.6	0.4
F4-3	1.2	0.6	0.6
S1-1	1.3	0.5	0.8
F3-3	1.6	1.0	0.6
101-5	2.3	0.7	0.6
105-1	2.7	0.5	2.2
109-1	1.0	0.8	0.2
109-2	1.8	1.6	0.2
113-1	1.1	0.9	0.2
202-3	1.0	0.7	0.3
203-1	1.3	0.6	0.7
204-2	1.1	0.5	0.6
205-1	1.0	0.5	0.5
208-2	1.2	0.7	0.5
210-2	1.8	0.7	1.1
211-1	1.4	0.8	0.6
211-2	1.4	1.1	0.3
211-5	1.7	1.3	0.4
213-1	2.1	0.7	0.4
214-1	1.0	0.5	0.5
214-2	1.6	1.2	0.4
216-3	1.9	1.5	0.4
S13-1	1.5	0.5	0.5
S13-2	1.2	0.6	0.6
S21-1	1.8	0.5	1.3
S21-2	1.8	0.5	1.3

ภาพที่ 7 ตัวอย่างไอโซเลตที่สามารถย่อยโปรตีนได้และที่ไม่สามารถย่อยโปรตีนได้



การทดสอบการย่อยโปรตีนโดยใช้ Skim milk เป็นสับสเตรต ไอโซเลตที่สามารถย่อยโปรตีนได้จะเกิดโซนใสรอบๆโคโลนีดังภาพที่ 7

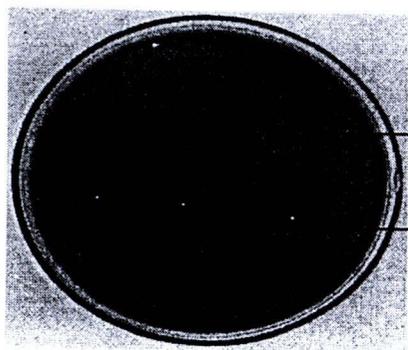
จากตารางที่ 12 พบว่ายีสต์ 118 ไอโซเลต มียีสต์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้จำนวน 29 ไอโซเลต และ ไอโซเลต S21-1 S21-2 ที่แยกได้จากดินเส้นทางที่ 2 บริเวณป่าเขื่อนอุบลรัตน์มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนมากที่สุดเนื่องจากความแตกต่างระหว่าง clear zone และ colony zone มากที่สุดคือ 1.3 เซนติเมตร และตามด้วยไอโซเลต 210-2 ที่แยกได้จากแก่นเทา มีความแตกต่างระหว่าง clear zone และ colony zone คือ 1.1 เซนติเมตร

การทดสอบความสามารถประสิทธิภาพการย่อยแป้ง

การทดสอบการย่อยแป้ง โดยวัด clear zone หลังการบ่มตัวอย่างแล้ว 72 ชั่วโมง เมื่อวางเก็ลดีด ไอโอดีนลงบนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อและคว่ำงานยีสต์ลงบนฝาจานทิ้งไว้ 10-20 นาที เพื่อให้ ไอโอดีนทำปฏิกิริยากับแป้ง บริเวณที่ไม่ถูกย่อยจะเกิด โซนใสรอบๆ โคลนนี้ ดังภาพที่ 8 ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง

Isolate code	clear zone (cm)	colony zone (cm)	clear zone - colony zone (cm)
F14-1	0.9	0.8	0.1
F14-3	0.5	0.4	0.1
F14-4	0.5	0.4	0.1
F14-5	0.5	0.4	0.1
S5-5	1.5	1.3	0.2
101-2	2.2	1.7	0.5
103-1	2.1	1.9	0.2
106-2	1.4	1.1	0.3
111-2	1.6	1.3	0.3
202-2	0.9	0.5	0.4
208-2	0.8	0.7	0.1
210-3	1.8	1.5	0.3
213-3	1.8	1.3	0.5
216-2	0.9	0.6	0.3
S11-1	1.5	0.7	0.8
S23-1	1.2	1.0	0.2

ยีสต์ 118 ไอโซเลต มี 16 ไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งได้ และไอโซเลต S11-1 ที่แยกได้จากดินมี ประสิทธิภาพการย่อยแป้งมากที่สุด โดยความแตกต่าง ระหว่าง clear zone กับ colony zone เท่ากับ 0.8 เซนติเมตร นอกจากนั้น ไอโซเลต 101-2, 213-3 มี clear zone กับ colony zone ต่างกัน 0.5 ซม.



ไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งได้

ไอโซเลตที่สามารถย่อยโปรตีนได้

ภาพที่ 8 ตัวอย่าง ไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งได้และที่ไม่สามารถย่อยแป้งได้

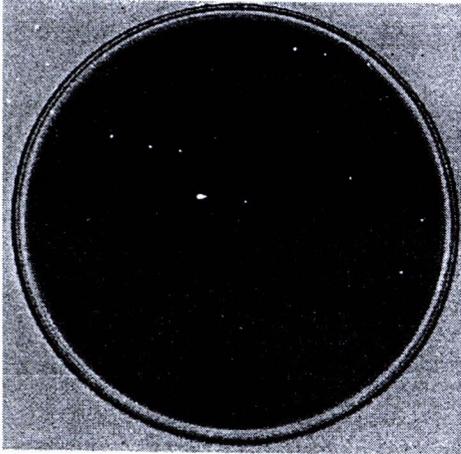
การทดสอบความสามารถประสิทธิภาพการย่อย Xylan

การทดสอบประสิทธิภาพการย่อย Xylan โดยวัด clear zone ที่เกิดขึ้นหลังรดด้วย congo red และล้างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 % ที่บ่มแล้ว 72 ชั่วโมง โชนไฮรอปฯ โคโลนีที่เกิดขึ้น ดังภาพที่ 9

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการย่อย Xylan

Isolate code	clear zone (cm)	colony zone (cm)	clear zone - colony zone (cm)
C7-3	1.1	0.9	0.2
C9-2	1.5	1.3	0.2
F12-2	1.5	1.3	0.2
F12-6	1.0	0.8	0.2
F14-1	1.4	1.0	0.4
F1-5	1.5	1.2	0.3
F5-1	1.4	1.0	0.4
F5-2	1.3	9.0	0.4
F6-1	1.5	1.3	0.2
S5-1	1.3	0.8	0.5
S5-5	2.4	2.2	0.2
108-2	3.2	2.6	0.6
201-2	2.3	1.9	0.4
207-1	1.1	0.7	0.4
209-1	1.3	0.9	0.4
210-3	1.4	1.0	0.4
211-3	1.1	0.8	0.3
211-5	2.3	1.9	0.4
213-3	1.3	1.1	0.2
214-2	1.9	1.8	0.1
216-2	1.5	0.6	0.9
S22-1	1.3	1.2	0.1

จากตารางที่ 14 ผลการทดลองพบว่า ซีสต์ 118 ไอโซเลต มี 22 ไอโซเลตที่สามารถย่อย Xylan ได้ และไอโซเลต 216-2 ที่แยกได้จากหญ้าทักมิมมีประสิทธิภาพการย่อย Xylan มากที่สุด โดยความแตกต่าง ระหว่าง clear zone กับ colony zone เท่ากับ 0.9 เซนติเมตร นอกจากนี้ ไอโซเลต 108-2, S5-1 มี clear zone กับ colony zone ต่างกัน 0.6 และ 0.5 เซนติเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 9 clear zone ที่เกิดจากการย่อย Xylan หลังราดด้วย congo red

3.5 การทดสอบการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ
 ตารางที่ 15 ผลการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ

Isolate code	ความเข้มข้นของเอทานอล			
	5%	10%	15%	20%
C1-2	1+	-	-	-
C2-4	3+	-	-	-
C6-2	2+	-	-	-
C6-3	2+	-	-	-
C7-1	1+	-	-	-
C7-3	1+	-	-	-
C7-4	2+	-	-	-
C9-1	3+	-	-	-
C9-2	2+	-	-	-
F12-2	2+	-	-	-
F12-3	1+	-	-	-
F12-6	3+	-	-	-
F14-1	3+	-	-	-
F14-2	1+	-	-	-
F14-3	3+	1+	-	-
F14-4	3+	-	-	-
F14-5	3+	-	-	-
F1-5	3+	-	-	-
F2-1	3+	-	-	-
F2-4	3+	2+	1+	-
F6-1	1+	-	-	-
F9-1	3+	-	-	-
S1-1	2+	2+	1+	-
S1-2	2+	2+	-	-
S5-1	3+	-	-	-
S6-1	3+	1+	-	-
F1-6	2+	-	-	-
F3-3	2+	-	-	-
F3-5	3+	-	-	-

ตารางที่ 15 ผลการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ(ต่อ)

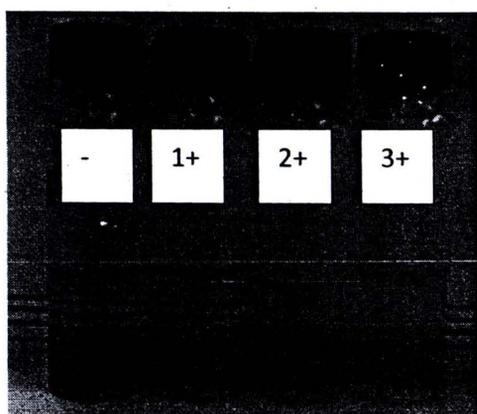
Isolate code	ความเข้มข้นของเอทานอล			
	5%	10%	15%	20%
F8-2	3+	-	-	-
S2-1	2+	-	-	-
101-1	3+	-	-	-
101-2	2+	-	-	-
101-3	3+	-	-	-
101-4	3+	-	-	-
101-5	3+	-	-	-
103-1	3+	-	-	-
104-1	3+	-	-	-
105-1	3+	-	-	-
105-2	2+	-	-	-
105-3	3+	-	-	-
106-3	1+	-	-	-
107-1	3+	2+	-	-
108-1	3+	-	-	-
108-2	3+	-	-	-
108-3	3+	-	-	-
108-4	3+	-	-	-
109-1	3+	-	-	-
109-3	1+	-	-	-
111-1	3+	-	-	-
111-2	3+	3+	-	-
112-1	3+	3+	-	-
112-2	3+	-	-	-
113-1	2+	-	-	-
201-1	2+	-	-	-
201-2	3+	2+	-	-
202-1	3+	-	-	-
202-3	3+	-	-	-

ตารางที่ 15 ผลการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ (ต่อ)

Isolate code	ความเข้มข้นของเอทานอล			
	5%	10%	15%	20%
203-1	3+	-	-	-
204-1	3+	2+	-	-
204-2	3+	2+	-	-
205-1	3+	-	-	-
206-1	3+	-	-	-
206-2	3+	-	-	-
207-1	3+	-	-	-
208-2	2+	-	-	-
209-1	3+	-	-	-
210-1	3+	-	-	-
210-2	2+	-	-	-
210-3	3+	-	-	-
211-3	2+	-	-	-
213-1	3+	-	-	-
213-2	2+	-	-	-
213-3	3+	-	-	-
214-1	3+	-	-	-
215-2	3+	-	-	-
215-3	3+	-	-	-
216-1	3+	-	-	-
S11-1	1+	-	-	-
S12-1	3+	-	-	-
S12-2	3+	2+	-	-
S13-1	3+	3+	-	-
S13-2	3+	-	-	-
S21-1	3+	1+	-	-
S21-2	3+	3+	-	-
S22-1	2+	-	-	-
S23-1	2+	-	-	-

หมายเหตุ แสดงผลเฉพาะ ไอโซเลตที่สามารถเจริญในเอทานอลได้

จากการทดลองความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ วัดโดยเทียบความขุ่นของอาหาร ดังภาพที่ 10 พบว่ายีสต์สามารถเจริญได้ดีที่ 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอล ไอโซเลตที่เจริญได้ดีที่ 10 % ethanol คือ 111-2, 112-1, S13-1, S21-2 และที่สามารถเจริญได้ปานกลางที่ 10 เปอร์เซ็นต์เอทานอล คือ F2-4, S1-1, S1-2, 107-1, 201-2, 204-1, 204-2, S12-2, S13-1, S21-1



- คือ ไม่มีการเจริญ
- 1+ คือ มีการเจริญน้อย
- 2+ คือ มีการเจริญปานกลาง
- 3+ คือ มีการเจริญดี

ภาพที่ 10 แสดงการเจริญของยีสต์ในอาหารที่มีเอทานอล



3.6 การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์

การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ จะทำการเลือกไอโซเลตยีสต์ที่มีศักยภาพดี โดยประเมินผลจาก ประสิทธิภาพการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เลือกไอโซเลตยีสต์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นของเกลือสูง ความสามารถในการย่อยโปรตีน ความสามารถในการย่อยแป้ง ความสามารถในการย่อย Xylan และความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ ได้ ดังตารางที่ 17 ในภาคผนวก ก จำนวน 7 ไอโซเลต ได้แก่ S1-1, S5-5, S11-1, S13-1, 109-1, 204-1, 216-2

ในการเลือกยีสต์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ จะเลือกที่มีความสามารถหลายๆด้านประกอบกัน เพราะการที่เจริญในความเข้มข้นของน้ำตาลสูง สามารถอธิบายได้ว่า ไอโซเลตนั้นสามารถที่จะใช้น้ำตาลได้มากและอาจส่งผลให้ได้เอทานอลมากเช่นกัน ในการเจริญที่อุณหภูมิสูงทำให้ได้ประโยชน์ในด้านการทนต่อกระบวนการผลิต การใช้ความร้อนในการผลิตด้วย และนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ได้ เป็นต้น

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ของยีสต์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography

Isolate code	ลักษณะในช่วงการหมัก	ปริมาณเอทานอล (% v/v)
S1-1	มีฟองอากาศเกิดขึ้นเล็กน้อย เจริญดี	3.1
S5-5	ไม่มีฟองอากาศ เจริญช้ามีตะกอนก้นหลอด	-
S11-1	ไม่มีฟองอากาศ เจริญดี	<0.6
S13-1	มีฟองอากาศและสร้างแก๊ส เจริญดี	5.6
109-1	มีฟองอากาศและสร้างแก๊ส เจริญดี	2.5
204-1	มีฟองอากาศ สร้างแก๊สเล็กน้อย เจริญดี	3.1
216-2	ไม่มีฟองอากาศ ไม่สร้างแก๊ส เจริญช้า	<0.6
QA23*	มีฟองอากาศและสร้างแก๊ส เจริญดี	7.4

* คือ ไอโซเลตที่มีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหมัก (*Saccharomyces* QA 23)

จากตารางที่ 16 พบว่า 7 ไอโซเลต มี S13-1 ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน บริเวณเส้นทางที่ 1 ของป่าเขื่อนอุบลรัตน์ มีปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุดที่ 5.6 % v/v แต่น้อยกว่า QA23* และตามด้วย 204-1 เป็นไอโซเลตที่แยกได้จากใบไม้ เส้นทางที่ 2 และไอโซเลต S1-1 แยกได้จากตัวอย่างดิน บริเวณเส้นทางที่ 3 มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.1 % v/v ไอโซเลต S5-5 ไม่พบแอลกอฮอล์ ส่วน S11-1, 216-2 มีปริมาณแอลกอฮอล์ <0.6 % v/v

ส่วนที่ 2

การจัดจำแนกประเภทยีสต์โดยเปรียบเทียบนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของยีสต์

Known species

Code	BLAST results	Accession No.
S13-1	<i>Candida cf. glabrata</i>	AF313362.1
S1-1	<i>Candida glabrata</i>	EU585756.1
109-1	<i>Candida orthopsilosis</i>	FJ746063.1
214-1	<i>Candida orthopsilosis</i>	FJ746063.1
203-1	<i>Candida orthopsilosis</i>	FJ746063.1
F1-5	<i>Candida parapsilosis</i>	AB500887.1
F14-2	<i>Candida sp. EN28S10</i>	FJ527133.1
105-1	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	FM180549.1
204-2	<i>Kodamaea ohmeri</i>	FM180533.1
210-3	<i>Kodamaea ohmeri</i>	FM180533.1
204-1	<i>Pichia fabianii</i>	EF550321.1
210-1	<i>Pichia kluyveri</i>	FM180553.1
F14-1	<i>Pichia sydowiorum</i>	AB436464.1
F12-6	<i>Saccharomyces sp. HZ10</i>	GU213452.1
109-3	<i>Sporobolomyces sp. TY-228</i>	AY313052.1
S5-5	<i>Trichosporon asahii</i>	EU882103.1
216-2	<i>Ustilago alcornii</i>	AY740165.1

New species and Sister species

Code	BLAST Results	Accession No.	Number of Nucleotide Substitution	Gaps	Identities	Remark
F5-1	<i>Candida sp.</i> EN28S10	<u>FJ527133.1</u>	5	2	550/557 (98%)	Sister sp.
S11-1	<i>Debaryomyces polymorphus</i>	<u>U45836.1</u>	26	20	530/576 (92%)	New sp.
204-2	<i>Kodamaea ohmeri</i>	<u>FM180533.1</u>	4	1	498/503 (99%)	Sister sp.

0 -1 bp = Known sp.

2 -5 bp = Sister sp.

≥ 6 bp = New sp.

No.	Test	204-2	K. ohmeii	F5-1	C. ponderosae	S11-1	D. polymorphus	L1	P. sydowiorum	FR7-1	Candida nseudohaemulonii FW10	Candida nseudohaemulonii S3-1-2	T. delbrueckii
21	Erythritol	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
22	Ribitol	+	+	-	-	+	+	+	+	+	v	+	v
23	Galactitol	-	-	-	-	-	+	-	-	+	v	+	v
24	D-Mannitol	+	+	+	-	+	+	+	+	+	v	+	v
25	D-Glucitol	+	+	w	-	+	+	+	+	+	v	+	v
26	α -Me-gluc.	+	+	-	nd	+	+	+	+	+	v	+	v
27	Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
28	δ -Gluc.Lact.	+	nd	+	nd	l	nd	+	nd	+	l	+	l
29	2-Ketogluc.	+	+	-	-	+	+	-	-	+	l	+	l
30	5-Ketogluc.	w	nd	-	+	-	v	-	-	-	-	-	w
31	DL-lactic acid	l	l	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+
32	Succinic acid	+	+	+	+	+	+	-	+	+	l	+	l
33	Citric acid	+	+	+	+	+	+	-	+	+	l	+	l
34	Inositol	-	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
35	D-Glucur.acid	-	-	-	-	-	nd	-	nd	-	-	-	-
36	D-Galactur.acid	-	-	-	-	-	nd	-	nd	-	-	-	-
37	Xylitol	-	-	-	+	-	nd	+	nd	+	l	+	l
38	L-Arabinitol	-	-	-	-	-	nd	w	nd	w	l	w	l
39	D-Gluconate	l	l	w	w	w	+	+	+	+	l	+	l
40	D-Glucosamine	+	l	-	-	+	v	-	-	+	l	+	l

No.	Test	204-2	K. ohmeii	F5-1	C. ponderosae	S11-1	D. polymorphus	L1	P. sydowiorum	FR7-1	Candida pseudobaemulonii	FW10	Candida pseudobaemulonii	S3-1-2
41	N-Acetyl-D.glu	+	nd	-	nd	+	+	-	-	+	l	+	l	-
42	Propane 1,2 diol	w	-	+	-	w	-	+	-	w	-	w	-	w
43	Butane 2,3 diol	-	-	+	-	-	nd	w	nd	-	-	-	-	-
44	Methanol	-	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Hexadecane	-	nd	-	nd	-	v	-	-	-	l	-	l	-

+ = บวก (positive) คือ อ่านผลเป็น +2 หรือ +3 หลังจาก 1 หรือ 2 สัปดาห์

l = บวกล่าช้า (delayed positive, latent) คือ อ่านผลเป็น +2 หรือ +3 อย่างรวดเร็วแต่หลังจาก 2 สัปดาห์

- s = บวกช้า (slow positive) คือ อ่านผลเป็น +2 หรือ +3 ช้าๆ ในระยะเวลาที่มากกว่า 2 สัปดาห์

w = บวกน้อย (week positive) อ่านผล 1+

- = ลบ (negative)

(+) = นานๆ จึงมีผลบวก (seldom positive)

v = ผันแปร (variable) คือ บางสายพันธุ์เป็นบวก และ บางสายพันธุ์เป็นลบ

+/- = บวก หรือ บวกน้อย คือ ทุกสายพันธุ์เจริญแต่บางสายพันธุ์เจริญช้า

w/- = บวกน้อย หรือ ลบ

nd = ยังไม่มีการทดลอง

ตารางแสดงผล Fermentation of carbohydrates

No	carbohydrates	204-2	F5-1	S11-1	L1	FR7-1	FW10	S3-1-2
1	Glucose	+	+	+	+	+	+	+
2	Galactose	+w	-	-	+w	-	-	-
3	Sucrose	-	-	-	+w	+w	+w	+
4	Maltose	-	-	-	+w	-	-	-
5	Lactose	-	-	-	-	-	-	-
6	Raffinose	+w	-	-	-	-	-	+w
7	Melibiose	-	-	-	-	-	-	-

+ = มีการหมักแบบรุนแรง (strong positive) คือ สังเกตจากการที่มีแก๊สเต็มหลอด Durham ภายใน 7 วัน

l = การหมักเกิดล่าช้า (delayed positive, latent) สังเกตจากการที่มีแก๊สเต็มหลอด Durham อย่างเร็ว แต่ เกิดหลังจากบ่ม 7 วัน

s = การหมักเกิดช้า ๆ (slow positive) สังเกตจากการที่มีแก๊สค่อย ๆ เข้าไปจนเต็มหลอด Durham หลังจากบ่ม 7 วัน

+w = การหมักอ่อน (week positive) มีแก๊สไม่เต็มหลอด Durham (ถ้ามีแก๊สน้อยกว่า หนึ่งในสามของหลอด)

- = ไม่มีการหมักในหลอด Durham ไม่มีแก๊ส

v = บางสายพันธุ์หมักน้ำตาลได้ บางสายพันธุ์ไม่หมัก

ตารางแสดงผลการทดสอบชีวเคมีอื่น ๆ

No	Test	204-2	F5-1	S11-1	L1	FR7-1	FW10	S3-1-2
1	50% Glucose	+	-	w	+	+	+	+
2	60% Glucose	w	-	w	-	-	w	-
1	10%NaCl/5%glucose	+	-	-	+	+	+	w
2	15%NaCl/5%glucose	+	-	-	w	+	+	-
	Growth in vitamin free medium	+	W	+	+	+	+	+
	Cycloheximide resistance							
1	0.01%	-	-	+	-	+	+	-
2	0.1%	-	-	-	-	-	-	-
	Assimilation of nitrogen compounds							
1	N1= (NH ₄) ₂ PO ₄	+	+	+	+	+	+	+
2	N2= KNO ₃	-	-	-	+	-	-	-
3	N3= NaNO ₂	+	-	-	+	+	+	-
4	N4= Ethylamine	+	+	+	+	+	+	-
5	N5= L-Lysine	+	+	+	+	+	+	+
6	N6= Cadaverine	+	+	+	+	+	+	-

No	Test	204-2	F5-1	S11-1	L1	FR7-1	FW10	S3-1-2
	Growth at 25, 30, 35, 37, 40, 42 °c							
1	25 °c	+	+	+	+	+	+	+
2	30 °c	+	+	+	+	+	+	+
3	35 °c	+	+	+	+	+	+	+
4	37 °c	+	W	+	w	+	+	+
5	40 °c	+	-	w	-	-	-	-
6	42 °c	-	-	-	-	-	-	-
	Liquefaction of gelatin	-	-	-	+	-	-	-
	Hydrolysis of urea	-	-	-	-	-	-	-
	starch formation	-	-	-	-	-	-	-
	Acid production	+	+	-	-	+	-	+

+ = มีการเจริญ

- = ไม่มีการเจริญ

w = มีการเจริญน้อย

ลักษณะการเจริญบนอาหาร YM broth

รหัสเชื้อ	ลักษณะที่พบ
204-2	ไม่เจริญที่ผิวหน้าอาหาร
F5-1	เจริญที่ส่วนบนของอาหาร เป็นวงรอบติดที่ขอบหลอด
S11-1	เจริญที่ส่วนบนของอาหาร เป็นวงรอบติดที่ขอบหลอด
L1	ไม่เจริญที่ผิวหน้าอาหาร
FR7-1	ไม่เจริญที่ผิวหน้าอาหาร
FW10	เจริญที่ส่วนบนของอาหาร เป็นวงรอบติดที่ขอบหลอด
S3-1-2	ไม่เจริญที่ผิวหน้าอาหาร



ลักษณะการเจริญบนอาหาร YM agar slant

รหัสเชื้อ	ลักษณะที่พบ
204-2	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ
F5-1	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ
S11-1	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ
L1	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ
FR7-1	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ
FW10	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ
S3-1-2	ทั้งใน streak และ stab การเจริญจะสม่ำเสมอตามแนวที่ปลูกเชื้อ

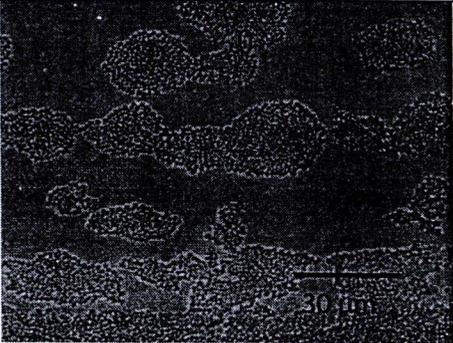
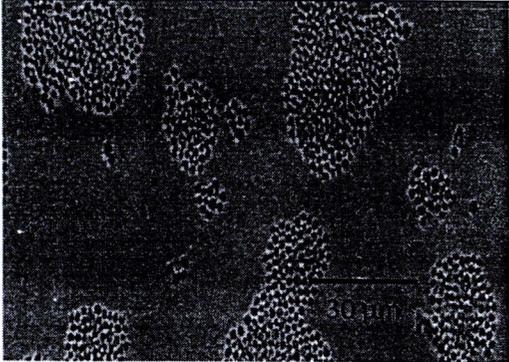
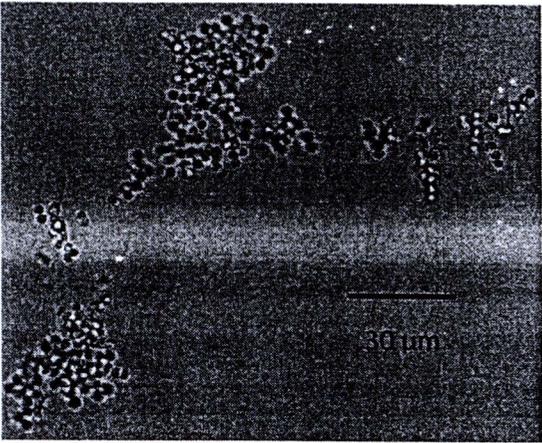
โคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร (Surface colonies plate culture)

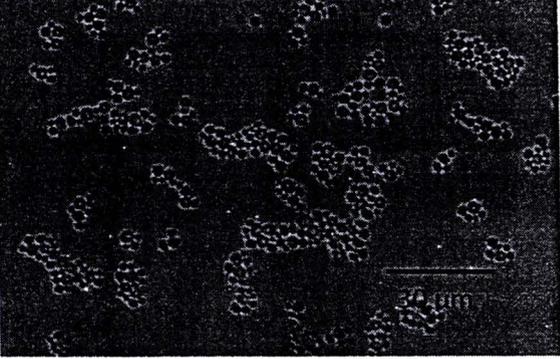
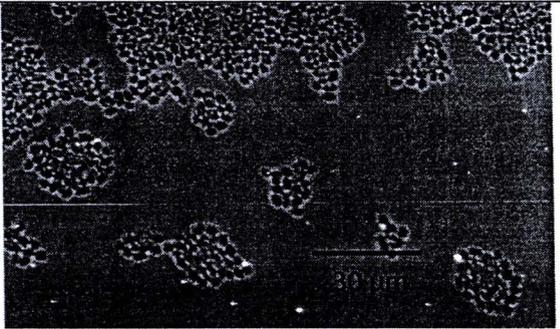
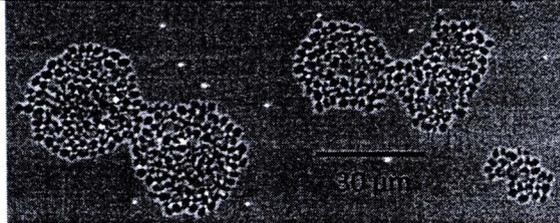
รหัสเชื้อ	ลักษณะที่พบ
204-2	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเป็นคลื่น ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม
F5-1	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้า ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม
S11-1	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้า ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม
L1	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้า ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม
FR7-1	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้า ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม
FW10	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้า ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม
S3-1-2	โคโลนีรูปร่างกลม โคโลนีนูน โค้งจากผิวหน้าอาหารมีรูปร่างกลมแต่จะไม่สูงกว่าผิวหน้าอาหารเท่าใดนัก ผิวหน้าเกลี้ยงเงลา ริมขอบเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้า ทึบไม่ให้แสงผ่าน เนื้อในและคล้ายเนยเหลว มีสีครีม

การสร้าง Ascospore

รหัสเชื้อ	ลักษณะที่พบ
204-2	ไม่พบการสร้าง Ascospore
F5-1	ไม่พบการสร้าง Ascospore
S11-1	ไม่พบการสร้าง Ascospore
L1	ไม่พบการสร้าง Ascospore
FR7-1	ไม่พบการสร้าง Ascospore
FW10	ไม่พบการสร้าง Ascospore
S3-1-2	ไม่พบการสร้าง Ascospore

การสร้าง Pseudomycelium

รหัสเชื้อ	ลักษณะที่พบ
204-2	
F5-1	
S11-1	

L1		
FR7-1		
FW10		
S3-1-2	