ผลการทดลอง

1 การแยกเชื้อยีสต์จากแหล่งธรรมชาติทางทะเล น้ำ ตะกอนดิน สัตว์น้ำชนิดต่างๆ และทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ

การเก็บตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติในทะเลเพื่อแยกยีสต์นั้นทางคณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างบริเวณชายทะเล และหมู่เกาะต่างๆ รวมถึงบริเวณท้องทะเลที่มีระดับน้ำลึกเกิน 5 - 15 เมตร (ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ดร. อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ และ ผศ.ดร. อนุชิต พลับรู้การ) ทั้งทะเลฝั่งตะวันออกของประเทศไทยหรือฝั่งอ่าวไทย และทะเลทางฝั่งตะวันตกหรือฝั่งอันดามัน โดยมีรายการของชนิดตัวอย่าง รหัสตัวอย่าง ตามพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและรหัสของตัวอย่างจากทะเลที่เก็บมาเพื่อแยกยีสต์

รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
ตัวอย่างที่เก็บจากเกาะพีพี		จ. กระบี่	
PP-001	อีแปะทะเล	PP-019	ตะไคร่เหลือง
PP-002	ตะกอนปากหลุมปู กุ้ง	PP-020	ก้อนฟืนที่ย่อยสลาย
PP-003	ใบไม้เน่าเปื่อยในทะเล	PP-021	ใบไม้ผุ
PP-004	เศษพืชลอยผิวหน้าน้ำ	PP-022	ปะการังผุ
PP-005	ตะไคร่โคลนบนเปลือกหอย	PP-023	ตะกอนขุดจากปะการัง
PP-006	ใบไม้เปื่อย	PP-024	Nudebrance (Mollusca)
PP-007	สาหร่าย	PP-025	เนื้อหอยแครงน้ำลึก
PP-008	ตะกอนดิน	PP-026	ลำไส้หอยแครงน้ำลึก
PP-009	ฟองน้ำ	PP-027	ปูนิ่ม (เล็ก)ลำไส้
PP-010	ใบไม้เปื่อย	PP-028	ขนปูขน
PP-011	ตะกอนดิน	PP-029	ทางเดินอาหารปูขน
PP-012	ฟองน้ำที่เกาะกับปะการังมีชีวิต	PP-030	เหงือกปูขน
PP-013	สาหร่ายทะเล	PP-031	ขาปู
PP-014	ตะกอนดิน	PP-032	ของเสียจากปู
PP-015	ดอกไม้ทะเล	PP-033	เหงือกปู
PP-016	ฟองน้ำ	PP-034	ทางเดินอาหารปู
PP-017	กัลปังหากลมเปื่อย	PP-035	ปลิงทะเล
PP-018	เปลือกไม้เปื่อย		
ตัวอย่างที่เก็บจากเกาะเต่าชุดที่ 1			

รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
KT-1.1	หญ้าทะเล	KT-1.15	ฟองน้ำ
KT-1.2	เปลือกหอย	KT-1.16	กิ่งไม้
KT-1.3	เปลือกหอยกับเพรียง	KT-1.17	เปลือกหอย
KT-1.4	เปลือกหอย	KT-1.18	ปะการังอ่อน
KT-1.6	เปลือกหอย	KT-1.19	เปลือกหอย
KT-1.7	ฟองน้ำ	KT-1.20	ก้อนปะการัง
KT-1.8	เปลือกหอย	KT-1.21	เปลือกหอย
KT-1.9	เปลือกหอย	KT-1.22	เปลือกหอยกับสาหร่ายทะเล
KT-1.10	ก้อนหินปนดิน	KT-1.23	เปลือกหอย
KT-1.11	เปลือกหอย	KT-1.24	เปลือกหอยกับก้อนปะการัง
KT-1.12	ฟองน้ำ	KT-1.25	เปลือกหอย
KT-1.13	เปลือกหอย	KT-1.27	ปะการังอ่อน
KT-1.14	ฟองน้ำ		
ตัวอย่างที่เก็บจากเกาะเต่าชุดที่ 2			
รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
KT-2.1	สาหร่ายทะเล	KT-2.17	ก้อนปะการัง
KT-2.2	ปะการัง	KT-2.18	สาหร่ายทะเล
KT-2.3	ปะการัง	KT-2.19	ท่อนไม้
KT-2.4	สาหร่ายทะเล	KT-2.20	เศษเชือกและหอย
KT-2.5	ฟองน้ำ	KT-2.21	เปลือกหอย
KT-2.6	เปลือกหอย	KT-2.22	ก้อนปะการัง
KT-2.7	เปลือกหอย	KT-2.23	เศษใบไม้เปื่อย
KT-2.8	เปลือกหอย	KT-2.24	ก้อนปะการัง
KT-2.9	ฟองน้ำ	KT-2.25	สาหร่ายทะเล
KT-2.10	ปะการังอ่อน	KT-2.26	ปะการัง
KT-2.11	เปลือกหอย	KT-2.27	เปลือกหอย
KT-2.12	เปลือกหอย	KT-2.28	เปลือกหอย
KT-2.13	ก้อนปะการัง	KT-2.29	เปลือกหอย
KT-2.14	ปะการังอ่อน	KT-2.30	ฟองน้ำ
KT-2.15	สาหร่ายทะเล	KT-2.32	ปะการัง
KT-2.16	สาหร่ายทะเล		
ตัวอย่างจากจากเกาะเต่าชุดที่ 3			
รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
KT-3.2	เปลือกหอย	KT-3.29	หญ้าทะเล

KT-3.3	กัลปังหา	KT-3.30	ปะการัง
KT-3.4	ฟองน้ำ	KT-3.31	ฟองน้ำและสิ่งมีชีวิต
KT-3.5	เปลือกหอย	KT-3.32	ฟองน้ำ
KT-3.6	กัลปังหา	KT-3.33	เปลือกหอย
KT-3.8	ปะการังอ่อน	KT-3.34	ฟองน้ำ
KT-3.9	ฟองน้ำ	KT-3.35	ฟองน้ำ
KT-3.10	เปลือกหอย	KT-3.36	เปลือกหอย
KT-3.11	ปะการัง	KT-3.37	ปะการัง
KT-3.12	ปะการัง	KT-3.38	ฟองน้ำ
KT-3.13	ฟองน้ำ	KT-3.39	เปลือกหอย
KT-3.14	ฟองน้ำ	KT-3.40	ฟองน้ำ
KT-3.15	เปลือกหอย	KT-3.41	ฟองน้ำ
KT-3.16	ฟองน้ำ	KT-3.42	ปะการัง
KT-3.18	ฟองน้ำ	KT-3.43	สาหร่ายทะเล
KT-3.19	ฟองน้ำ	KT-3.44	เศษเชือกและหอย
KT-3.20	ก้อนหิน	KT-3.46	ฟองน้ำ
KT-3.21	ก้อนปะการัง	KT-3.47	ปะการังและเปลือกหอย
KT-3.22	ปลาดาว	KT-3.48	เปลือกหอย
KT-3.26	ฟองน้ำ	KT-3.53	เปลือกหอย
KT-3.27	ฟองน้ำ	KT-3.54	ฟองน้ำ
KT-3.28	ฟองน้ำ	KT-3.55	ฟองน้ำ
ตัวอย่างจากเกาะเต่าชุดที่ 4			
รหัสตัวอย่าง	**ชนิดตัวอย่าง**	**รหัสตัวอย่าง**	**ชนิดตัวอย่าง**
KT-4.1	ฟองน้ำ	KT-4.22	ฟองน้ำ
KT-4.2	เปลือกหอย	KT-4.23	เปลือกหอย
KT-4.4	เปลือกหอย	KT-4.24	ซากสัตว์ทะเล
KT-4.5	ฟองน้ำ	KT-4.25	เปลือกหอย
KT-4.6	เปลือกหอย	KT-4.26	เปลือกหอย
KT-4.7	เศษไม้	KT-4.27	ปะการังอ่อน
KT-4.8	ฟองน้ำ	KT-4.28	ฟองน้ำ
KT-4.9	เปลือกหอย	KT-4.29	เปลือกหอย
KT-4.10	ฟองน้ำ	KT-4.31	ปะการังอ่อนและเปลือกหอย
KT-4.11	ฟองน้ำ	KT-4.32	เปลือกหอย
KT-4.12	ซากหอย	KT-4.33	เศษไม้
KT-4.13	ปะการัง	KT-4.34	เปลือกหอย

KT-4.14	เปลือกหอย	KT-4.35	ปะการัง
KT-4.15	เปลือกหอย	KT-4.36	เปลือกหอย
KT-4.16	ฟองน้ำ	KT-4.37	เปลือกหอย
KT-4.17	ฟองน้ำ	KT-4.38	เปลือกหอย
KT-4.18	ฟองน้ำ	KT-4.39	เปลือกหอย
KT-4.19	ฟองน้ำ	KT-4.40	ปะการัง
KT-4.20	ฟองน้ำ	KT-4.41	เปลือกหอย
KT-4.21	ฟองน้ำ	KT-4.42	เปลือกหอย

ตัวอย่างจากเกาะภูเก็ต

รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
PHK 01	ทรายหยาบสีดำมีหินปะการังและเปลือกหอย น้ำขุ่นสีน้ำตาลดำ	PHK 2.8	หอยไม่ทราบชนิดมีสาหร่ายสีน้ำตาลและสีเขียวเกาะ
PHK 02	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล	PHK 2.9	ทรายละเอียดสีน้ำตาล
PHK 03	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล	PHK 2.10	เปลือกหอยไม่ทราบชนิดด้านหนึ่งสีดำ ด้านหนึ่งสีขาว
PHK 04	ทรายละเอียดสีน้ำตาล มีสาหร่ายสีเขียวปน น้ำขุ่นสีน้ำตาล	PHK 2.11	หอยทากชนิดหนึ่งฝาเดียว มีสาหร่ายเกาะบนฝา
PHK 05	ทรายสีน้ำตาล มีเปลือกหอยผสมและหินปะการัง น้ำใส	PHK 2.12	เปลือกไม้สีดำมีสาหร่ายสีเขียวเกาะ
PHK 06	ทรายสีน้ำตาล มีดินเหนียวสีน้ำตาลปนและสาหร่ายสีน้ำตาล น้ำสีดำขุ่น	PHK 2.13	ปะการังฟองน้ำสีน้ำตาล
PHK 07	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล	PHK 2.14	หินปะการัง มีสาหร่ายสีเขียวเกาะ
PHK 08	หินปะการังสีน้ำตาล ทรายละเอียดสีน้ำตาลอ่อน น้ำใส	PHK 2.15	ก้ามปูแห้ง
PHK 09	หินปะการังและปะการังสีขาว น้ำใส	PHK 2.16	หินปะการัง มีสาหร่ายสีเขียวเกาะ
PHK 10	ทรายหยาบสีน้ำตาล มีเปลือกหอยต่างชนิด 3 ชิ้น น้ำขุ่นสีน้ำตาลดำ	PHK 2.17	หอยสังข์เล็กสีดำ มีสาหร่ายสีเขียวเกาะ
PHK 11	กรวดและหินปะการัง น้ำใส	PHK 2.18	หินปะการังและปะการังฟองน้ำ
PHK 2.1	สาหร่ายสีเขียวจากโขดหิน มีทรายปน	PHK 2.19	หินปะการัง มีทรายเกาะ
PHK 2.2	หินมีดินสีน้ำตาลปน	PHK 2.20	ใบไม้เปื่อย สีน้ำตาล
PHK 2.3	สาหร่ายสีน้ำตาล	PHK 2.21	พืชน้ำสีน้ำตาล
PHK 2.4	สาหร่ายสีน้ำตาล เกาะที่ตาข่ายขนาด 0.8 x 0.8 cm	PHK 2.22	หอย 2 ฝาไม่ทราบชนิด สีขาว
PHK 2.5	ก้อนสาหร่ายสีน้ำตาล	PHK 2.23	เชือกฟางมีทรายเกาะ
PHK 2.6	หอยไม่ทราบชนิด มีสาหร่ายเกาะและทรายละเอียดปน	PHK 2.24	ถุงพลาสติกมีทรายและสาหร่ายสีเขียวเกาะ

PHK 2.7	เปลือกหอยสีขาวไม่ทราบชนิด	PHK 2.25	ปูไม่ทราบชนิด สีน้ำตาล
ตัวอย่างจากชายหาดปากเมง จังหวัดตรัง			
รหัสตัวอย่าง	**ชนิดตัวอย่าง**	**รหัสตัวอย่าง**	**ชนิดตัวอย่าง**
TR 01	ปะการังสีดำหยาบ	TR 12	เศษขยะเป็นเส้นใย สีน้ำตาลอ่อน
TR 02	แมงกะพรุนใส	TR 13	เศษใบไม้สีน้ำตาลอ่อน
TR 03	ปะการังใส	TR 14	เศษไม้ผุ
TR 04	ปะการังใส มีเศษขยะสีดำ	TR 15	เชือกไนล่อนสีเขียว
TR 05	กระบองเพชรดำ	TR 16	รังหอยมีขยะจำพวกใบไม้และเปลือกหอย
TR 06	ถุงพลาสติกใสมีทรายปน	TR 17	เศษไม้ผุสีดำ
TR 07	เศษไม้ผุ สีดำ	TR 18	เปลือกหอยไม่ทราบชนิดสีขาว มีรูพรุน
TR 08	เชือกไนล่อน มีขยะปน	TR 19	เศษเชือกไนล่อนสีน้ำเงิน
TR 09	เจลใสมีตัวอ่อนสีส้มขนาด 0.15 เซนติเมตร	TR 20	ปะการังหนาม มีน้ำปน
TR 10	เปลือกหอยไม่ทราบชนิดสีขาวมีทรายปน	TR 21	เปลือกหอยสีม่วงหลายตัวเกาะอยู่บนฝาหอยนางรม
TR 11	เศษใบไม้		
ตัวอย่างจากเกาะกระ จ. นครศรีธรรมราช		จุดที่ 1	ความลึก 15 เมตร
รหัสตัวอย่าง	**ชนิดตัวอย่าง**	**รหัสตัวอย่าง**	**ชนิดตัวอย่าง**
KK 9	กะลามะพร้าว	KK 28	ฟองน้ำ
KK 10	ปะการัง	KK 29	ฟองน้ำ
KK 11	ปะการัง	KK 30	ฟองน้ำ
KK 12	ปะการัง	KK 31	ปลาดาว
KK 13	ปะการัง(สาหร่ายสีแดง)	KK 32	ปลาดาว
KK 14	เศษพลาสติก	KK 33	เปลือกหอย
KK 15	ปะการัง	KK 34	ฟองน้ำ
KK 16	เปลือกหอย	KK 35	เปลือกหอย
KK 17	เปลือกหอย	KK 36	ฟองน้ำ
KK 18	เปลือกหอย	KK 37	เปลือกหอย
KK 19	เปลือกหอย	KK 38	ฟองน้ำ
KK 20	ฟองน้ำ	KK 39	ฟองน้ำ
KK 21	ปลาดาว	KK 40	ฟองน้ำ
KK 22	เปลือกหอย	KK 41	ปะการัง
-	ปะการัง	KK 42	ถุงพลาสติก

KK 23	ปลาดาว	KK 43	ฟองน้ำ
-	เปลือกหอย	KK 44	ปะการัง
KK 24	Chitid	KK 45	เศษไม้
KK 25	ฟองน้ำ	KK 46	ฟองน้ำ
KK 26	สาหร่ายสีเขียว	KK 47	ฟองน้ำ
KK 27	ใบไม้	KK 48	ปะการัง
-	ปะการัง		
ตัวอย่างจากเกาะกระ จ. นครศรีธรรมราช		จุดที่ 2	ชายหาดบนเกาะกระ
รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
KK 1	ซากปู	KK 5	ซากปู
KK 2	สาหร่ายสีเขียว	KK 6	เศษไม้
KK 3	เศษไม้	KK 7	สาหร่ายสีเขียว
KK 4	ฟองน้ำ	KK8	ก้านใบไม้
ตัวอย่างจากเกาะกระ จ. นครศรีธรรมราช		จุดที่3	ความลึก 9-12 เมตร
รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
KK 49	เปลือกหอย	KK 64	ปะการัง
KK 50	กะลามะพร้าว	KK 65	เศษกระดาษ
KK 51	กล่องกระดาษ	KK 66	เปลือกหอย
KK 52	ปะการัง	KK 67	สาหร่ายสีน้ำตาล
KK 53	เศษพลาสติก	KK 68	สาหร่ายสีน้ำตาล
KK 54	ฟองน้ำ	KK 69	เปลือกหอย
KK 55	สาหร่ายสีน้ำตาล	KK 70	ฟองน้ำ
KK 56	เปลือกเงาะ	KK 71	ช้อนเหล็ก
KK 57	เศษผ้า	KK 72	เปลือกหอย
KK 58	ฟองน้ำ	KK 73	ปะการัง
KK 59	เปลือกหอย	-	Invertebrate
KK 60	เปลือกหอย	KK 73	ฟองน้ำ
KK 61	ปลาดาว	KK 74	กระดาษ
KK 62	ฟองน้ำ	KK 75	เปลือกหอย
KK 63	เศษใบไม้	KK 76	เปลือกหอย
ตัวอย่างจากเกาะกระ จ. นครศรีธรรมราช		จุดที่ 4	ความลึก 9-12 เมตร
รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง
KK 77	ใบมะพร้าว	KK 82	ฟองน้ำ
KK 78	กิ่งไม้	KK 83	กิ่งไม้

KK 79	เปลือกหอย	KK 84	ฟองน้ำกับเปลือกหอย
KK 80	ใบมะพร้าว	KK 85	ปะการัง
KK 81	สาหร่าย		

นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างของสัตว์น้ำชนิดต่างๆ รวมถึงกุ้ง หอย ปู และ ปลาประเภทต่างๆ ที่ได้มาจากสะพานปลา จ. สงขลา จำนวน 39 ตัวอย่าง และจากตลาดสดพลาซ่าใน อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา จำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งการแยกยีสต์จะทำการแยกจากส่วนอวัยวะภายในที่เป็นทางเดินอาหารของสัตว์น้ำเป็นสำคัญ จากการแยกยีสต์ในตัวอย่างที่เก็บจากทะเลโดยใช้อาหาร YM agar ที่มีการปรับพีเอช เป็น 4.5 นั้นมักพบแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ จึงปรับมาใช้เฉพาะอาหาร YM agar ที่เติมยาปฏิชีวนะ 0.01% chloramphenical และ 0.002% Streptomycin ซึ่งพบว่าการใช้อาหารชนิดนี้ในการแยกยีสต์จากตัวอย่างที่เก็บจากฝั่งทะเลอันดามันจะไม่พบแบคทีเรียเจริญขึ้นปะปนกับยีสต์ในอาหารเลย แต่สำหรับตัวอย่างซึ่งเก็บมาจากทะเลฝั่งอ่าวไทยโดยเฉพาะเกาะเต่านั้นพบแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ และพบยีสต์บ้างเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเหล่านั้นสามารถต้านยาปฏิชีวนะ ซึ่งผู้วิจัยมีข้อคิดเห็น 2 ทางคือ อาจเป็นไปได้ว่าชนิดแบคทีเรียที่พบทางฝั่งอ่าวไทยแตกต่างจากชนิดที่พบในทะเลฝั่งอันดามันและเป็นกลุ่มที่ไม่ถูกยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะที่ใช้ทั้ง 2 ชนิด หรือไม่ก็เป็นเพราะแบคทีเรียสามารถพัฒนาขึ้นมาต้านยาปฏิชีวนะได้ ซึ่งข้อสันนิษฐานสุดท้ายมีความเป็นไปได้สูงเนื่องจากในระยะเกือบ 15 ปีที่ผ่านมาได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกันอย่างมากโดยไม่มีการควบคุมโดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงตามชายฝั่งทะเลตะวันออกของประเทศที่หนาแน่นกว่าประกอบทั้งการหมุนวนของน้ำในอ่าวไทยที่แตกต่างไปจากทะเลฝั่งอันดามันที่เปิดออกสู่มหาสมุทรใหญ่โดยตรง ซึ่งมีผลทำให้ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างถูกเจือจางลงไปได้มากกว่า การพบแบคทีเรียซึ่งสามารถต้านยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อมในทะเลสะท้อนถึงการการปนเปื้อนของสารปฏิชีวนะตกค้างในสิ่งแวดล้อมอันเป็นสาเหตุนำมาซึ่งปัญหาอีกหลายๆด้าน เช่น การเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศน์วิทยาในทะเล ยาปฏิชีวนะตกค้างในห่วงโซ่อาหาร การพัฒนาของเชื้อโรคที่ต้านยา และปัญหาภูมิแพ้จากการรับประทานอาหารทะเล เป็นต้น

จากตัวอย่างทั้งหมด 373 ตัวอย่าง สามารถแยกยีสต์ได้ 130 ไอโซเลตเท่านั้น ตัวอย่างที่เก็บที่ทะเลเกาะพีพี จังหวัดกระบี่ สามารถแยกยีสต์ได้สูงที่สุดคือ 88.57% โดยแยกยีสต์ได้ 31 ไอโซเลต จากตัวอย่างที่เก็บมาทั้งหมด 35 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บในช่วงน้ำลดในบริเวณที่เป็นหมู่ปะการังหนาแน่นที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสัตว์และพืชทะเลมากมายหลายชนิดรองลงมาเป็นตัวอย่างจากทะเลที่เกาะภูเก็ตซึ่งสามารถแยกยีสต์ได้ 28 ไอโซเลต จากตัวอย่างทั้งหมด 36 ตัวอย่าง คิดเป็น 77.78% และจากสัตว์น้ำซึ่งจับโดยเรือประมงในทะเลเปิดฝั่งอ่าวไทยโดยเฉพาะในส่วนของทางเดินอาหารของสัตว์ทะเลสามารถแยกยีสต์ได้ 31 ไอโซเลต จาก

ตัวอย่างสัตว์น้ำ 51 ตัวอย่าง คิดเป็น 60.78% (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ตัวอย่างที่เก็บทางฝั่งทะเลอันดามัน (กระบี่ ตรัง ภูเก็ต) มีแนวโน้มที่แยกยีสต์ได้สูงกว่าตัวอย่างที่เก็บจากทะเลฝั่งอ่าวไทย (เกาะเต่า, เกาะกระ และสงขลา) คือมีจำนวนตัวอย่างที่แยกยีสต์ได้คิดเป็น 67.93% และ 23.84 % ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่เก็บจากเกาะกระและเกาะเต่า (ฝั่งอ่าวไทย) แยกยีสต์ได้เพียง 4.44 % และ 22.86 % ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่เก็บจากเกาะพีพี (กระบี่) ภูเก็ต และชายทะเลปากเมง (ตรัง) แยกยีสต์ได้ 88.57 %, 77.78 % และ 14.29 % ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างที่เก็บในทะเลฝั่งอันดามันส่วนใหญ่เก็บจากบริเวณที่มีระดับน้ำลึกไม่เกิน 5 เมตร ส่วนตัวอย่างที่เก็บจากเกาะกระและเกาะเต่า (ฝั่งอ่าวไทย) ส่วนใหญ่เก็บที่ระดับความลึก 5-15 เมตร อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่เก็บบริเวณชายหาดของเกาะกระทั้ง 8 ตัวอย่างไม่สามารถแยกยีสต์ออกมาได้เลย จำนวนยีสต์ที่แยกได้นอกจากขึ้นกับ ที่ตั้งท้องทะเล, แหล่งที่เก็บตัวอย่าง และระดับความลึกของบริเวณที่เก็บตัวอย่างแล้ว ยังขึ้นกับประเภทของตัวอย่างด้วยเนื่องจากยีสต์ส่วนใหญ่ที่แยกได้มักมาจากตัวอย่างที่เป็นตะกอนดินชายทะเล และซากเน่าเปื่อยของสิ่งมีชีวิต เพราะยีสต์ส่วนใหญ่เป็นพวก saprophytic microorgamisms อย่างไรก็ตามตัวอย่างประเภทเดียวกันที่เก็บบริเวณน้ำลึกแทบจะไม่พบยีสต์เลย ดังแสดงในตารางที่ 2 และตารางที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fell และคณะ (2001) ที่ระบุว่า มักพบยีสต์ได้ทั่วไปใน aerobic marine habitats โดยมีการกระจายของชนิดและจำนวนแตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นและชนิดของสารอินทรีย์ บริเวณใกล้ชายฝั่งมักพบในช่วง 10-1000 เซลล์ต่อน้ำ 1 ลิตร ในขณะที่บริเวณพื้นผิวที่มีสารอินทรีย์ต่ำจนถึงทะเลลึกจะพบเพียงไม่กี่เซลล์จนถึง 10 เซลล์ต่อลิตร โดยส่วนใหญ่แล้วยีสต์เป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญและเพิ่มจำนวน จึงมักไม่พบยีสต์ในน้ำหรือตะกอนดินที่อยู่ในสภาพที่มีออกซิเจนน้อย

ตารางที่ 2 จำนวนยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างประเภทต่างๆที่เก็บจากทะเล ทั้งฝั่งตะวันออก (อ่าวไทย) และฝั่งตะวันตก (อันดามัน) ทางภาคใต้ของประเทศไทย

ประเภท	ฝั่งอันดามัน						ฝั่งอ่าวไทย					
	เกาะพีพี		ตรัง		ภูเก็ต		เกาะเต่า		เกาะกระ		สงขลา	
	จำนวนตัวอย่าง	ยีสต์ที่แยกได้	จำนวนตัวอย่าง	ยีสต์ที่แยกได้	จำนวนตัวอย่าง	ยีสต์ที่แยกได้	จำนวนตัวอย่าง	ยีสต์ที่แยกได้	จำนวนตัวอย่าง	ยีสต์ที่แยกได้	จำนวนตัวอย่าง	ยีสต์ที่แยกได้
สัตว์น้ำ	17	6	6	0	5	2	71	16	42	3	-	-
พืชน้ำ	3	4	-	-	5	4	11	6	7	0	-	-
ซากพืช	9	9	8	1	2	2	4	2	14	1	-	-
ซากสัตว์	-	-	3	1	9	1	52	8	19	0	-	-
ตะกอนดิน	6	12	-	-	13	18	2	0	-	-	-	-
ทางเดินอาหาร	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51	31
เศษขยะ	-	-	4	1	2	1	-	-	8	0	-	-
รวม	35	31	21	3	36	28	140	32	90	4	51	31
% ที่แยกได้	88.57		14.29		77.77		22.86		4.44		60.78	
% ที่แยกได้	67.39						23.84					

ตารางที่ 3 รหัสแสดงสายพันธุ์ยีสต์ที่แยกได้และตัวอย่างที่พบยีสต์

รหัส	ที่มาของเชื้อยีสต์ เกาะพีพี จ.กระบี่	รหัส	ที่มาของเชื้อยีสต์
PP 2.1	ตะกอนปากหลุมปู/กุ้ง	KT 1.1	หญ้าทะเล
PP 2.2	ตะกอนปากหลุมปู/กุ้ง	KT 1.7	ฟองน้ำ
PP 2.3	ตะกอนปากหลุมปู/กุ้ง	KT 1.8	เปลือกหอย
PP 3.1	ใบไม้เน่าปื้อยในทะเล	KT 1.12	ฟองน้ำ
PP 3.2	ใบไม้เน่าปื้อยในทะเล	KT 1.14	ฟองน้ำ
PP 3.3	ใบไม้เน่าปื้อยในทะเล	KT 1.15	ฟองน้ำ
PP 4.1	เศษพืชลอยผิวหน้าน้ำ	KT 1.18	ปะการังอ่อน
PP 4.2	เศษพืชลอยผิวหน้าน้ำ	KT 1.20	ก้อนปะการัง
PP 4.3	เศษพืชลอยผิวหน้าน้ำ	KT 1.27	ปะการังอ่อน
PP 5.1	ตะไคร่โคลนบนเปลือกหอย	KT 1.30	ฟองน้ำ
PP 5.2	ตะไคร่โคลนบนเปลือกหอย	KT 2.1	สาหร่ายทะเล
PP 5.3	ตะไคร่โคลนบนเปลือกหอย	KT 2.2	ปะการัง
PP 8.1	ตะกอนดิน	KT 2.3	ปะการัง
PP 8.2	ตะกอนดิน	KT 2.4	สาหร่ายทะเล
PP 8.3	ตะกอนดิน	KT 2.5	ฟองน้ำ
PP 11.1	ตะกอนดิน	KT 2.6	เปลือกหอย
PP 11.2	ตะกอนดิน	KT 2.7	เปลือกหอย
PP 11.3	ตะกอนดิน	KT 2.8	เปลือกหอย
PP 13.1	สาหร่ายทะเล	KT 2.9	ฟองน้ำ
PP 13.2	สาหร่ายทะเล	KT 2.10	ปะการังอ่อน
PP 13.3	สาหร่ายทะเล	KT 2.11	เปลือกหอย
PP 17.1	กัลปังหากลมเปื้อย	KT 2.12	เปลือกหอย
PP 17.2	กัลปังหากลมเปื้อย	KT 2.13	ก้อนปะการัง
PP 17.3	กัลปังหากลมเปื้อย	KT 2.14	ปะการังอ่อน
PP 19.1	ตะไคร่เหลือง	KT 2.15	สาหร่ายทะเล
PP 25.1	เนื้อหอยแครงน้ำลึก	KT 2.16	สาหร่ายทะเล
PP 25.2	เนื้อหอยแครงน้ำลึก	KT 2.17	ก้อนปะการัง
PP 25.3	เนื้อหอยแครงน้ำลึก	KT 2.18	สาหร่ายทะเล
PP 28.1	ขนปู	KT 2.19	ท่อนไม้
PP 28.2	ขนปู	KT 2.20	เศษเชือกและหอย
PP 28.3	ขนปู	KT 2.21	เปลือกหอย
KT 2.22	ก้อนปะการัง	KT 2.23	เศษใบไม้เปื้อย
PHK 1.1	ทรายหยาบสีดำมีหินปะการังและเปลือกหอย น้ำขุ่นสีน้ำตาลดำ		

PHK 1.2	ทรายหยาบสีดำมีหินปะการังและเปลือกหอย น้ำขุ่นสีน้ำตาลดำ		
PHK 1.3	ทรายหยาบสีดำมีหินปะการังและเปลือกหอย น้ำขุ่นสีน้ำตาลดำ		
PHK 2.1	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 2.2B	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 3.1	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 3.2	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 4.1	ทรายละเอียดสีน้ำตาล มีสาหร่ายสีเขียวปน น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 4.2	ทรายละเอียดสีน้ำตาล มีสาหร่ายสีเขียวปน น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 5	ทรายสีน้ำตาล มีเปลือกหอยผสมและหินปะการัง น้ำใส		
PHK 7.1	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 7.2	ทรายละเอียดสีน้ำตาลดำ น้ำขุ่นสีน้ำตาล		
PHK 8	หินปะการังสีน้ำตาล ทรายละเอียดสีน้ำตาลอ่อน น้ำใส		
PHK 9.1	หินปะการังและปะการังสีขาว น้ำใส		
PHK 9.2	หินปะการังและปะการังสีขาว น้ำใส		
PHK 10	ทรายหยาบสีน้ำตาล มีเปลือกหอยต่างชนิด 3 ชิ้น น้ำขุ่นสีน้ำตาลดำ		
PHK 11.1	กรวดและหินปะการัง น้ำใส		
PHK 11.2	กรวดและหินปะการัง น้ำใส		
PHK 2.2	หินมีดินสีน้ำตาลปน		
PHK 2.3	สาหร่ายสีน้ำตาล		
PHK 2.4	สาหร่ายสีน้ำตาล เกาะที่ตาข่ายขนาด 0.8 x 0.8 cm		
PHK 2.5	ก้อนสาหร่ายสีน้ำตาล		
PHK 2.12	เปลือกไม้สีดำมีสาหร่ายสีเขียวเกาะ		
PHK 2.14	หินปะการัง มีสาหร่ายสีเขียวเกาะ		
PHK 2.18	หินปะการังและปะการังฟองน้ำ	FS 17.3	ทางเดินอาหารปลาแป้ะกำ
PHK 2.20	ใบไม้เปื่อย สีน้ำตาล	FS 18.1	ทางเดินอาหารปลา ไม่ทราบชนิด
PHK 2.21	พืชน้ำสีน้ำตาล	FS 18.2	ทางเดินอาหารปลา ไม่ทราบชนิด
PHK 2.22	หอย 2 ฝาไม่ทราบชนิด สีขาว	FS 19	ทางเดินอาหารปลา ไม่ทราบชนิด
FS 1	ทางเดินอาหารปลา ไม่ทราบชนิด	FS 25.1	ทางเดินอาหารปลาทรายขาว
FS 2	ทางเดินอาหารปลากรด	FS 25.2	ทางเดินอาหารปลาทรายขาว
FS 3	ทางเดินอาหารปลาแป้ะจัน	FS 26	ทางเดินอาหารปลา ไม่ทราบชนิด
FS 4.1	ทางเดินอาหารปลากำ	FS 5	ทางเดินอาหารปลาช่อนทะเล
FS 4.2	ทางเดินอาหารปลากำ	FS 6	ทางเดินอาหารปลากะทิ
FS 7	ทางเดินอาหารปลาทูแขก	FS 8	กุ้งส้ม
FS 9	ทางเดินอาหารปลาทู	FS 10	ทางเดินอาหารปลาหน่วยเขือ
FS 13.1	ทางเดินอาหารปลาระกำ	FS 11	ทางเดินอาหารปลาขี้กราว
FS 13.2	ทางเดินอาหารปลาระกำ	FS 16	ทางเดินอาหารปลา ไม่ทราบชนิด
FS 14.1	ทางเดินอาหารปลาหม้าว	FS 21.1	ทางเดินอาหารปลาช่อนทะเล
FS 14.2	ทางเดินอาหารปลาหม้าว	FS 21.2	ทางเดินอาหารปลาช่อนทะเล

FS 14.3	ทางเดินอาหารปลาหม้าว	FS 24.1	ทางเดินอาหารปลาท่องเที่ยว
FS 15	ทางเดินอาหารปลาวัว	FS 24.2	ทางเดินอาหารปลาท่องเที่ยว
FS 17.2	ทางเดินอาหารปลาแป๊ะกำ	FS 27	ทางเดินอาหารปลาสลิดหิน
KK 3	เศษไม้จากเกาะกระ จ.นครศรีธรรมราช	TR 10	เปลือกหอย จ.ตรัง
KK 4	ฟองน้ำจากเกาะกระ จ.นครศรีธรรมราช	TR 15	เยื่อกในล่อนสีเขียว
KK 25	ฟองน้ำจากเกาะกระ จ.นครศรีธรรมราช	TR 16	เศษใบไม้และเปลือกหอย
KK 40	ฟองน้ำจากเกาะกระ จ.นครศรีธรรมราช		

2 การคัดเลือกยีสต์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกเบื้องต้น โดยนำยีสต์ที่แยกได้มาทดสอบคุณสมบัติดังต่อไปนี้

2.1 ความสามารถในการย่อยสลายแป้ง โปรตีนและไขมัน โดยการเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มีแป้ง, เคซีน และ Tributyrin ตามลำดับ คัดเลือกยีสต์ที่มีการย่อยสลายสารประกอบเหล่านี้ได้ดีที่สุด

เมื่อนำยีสต์ที่แยกได้ทั้ง 130 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการใช้อาหารที่มีแป้งโดยการ inoculate เชื้อยีสต์ที่แยกได้บนอาหาร MHA ซึ่งมี soluble starch เมื่อนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่ 25°ซ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบการใช้แป้งโดยการวางเกล็ดไอโอดีนบนฝาจานแล้วคว่ำส่วนจานอาหารที่มีโคโลนียีสต์เจริญอยู่ ไอของไอโอดีนจะไปจับกับโมเลกุลของแป้งที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนยีสต์ที่สามารถย่อยแป้งรอบๆโคโลนีได้จะปรากฏเป็นวงใสในขณะที่ส่วนของแป้งที่ไม่ถูกย่อยจะทำปฏิกิริยากับไอโอดีนได้ปรากฏเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งจากการทดสอบพบเพียง 5 ไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งได้คือ FS 9, KT 1.12, PHK 3.1, TR 15 และ KK25 ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งยีสต์เหล่านี้แยกมาจากทางเดินอาหารของปลาทู, ฟองน้ำ, ตะกอนดิน, เศษเยื่อก และ ฟองน้ำ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้งของยีสต์ที่แยกได้

รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง
KT 1.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 1.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 7	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.7	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 1.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 9	พบการย่อยแป้ง
KT 1.8	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 1.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 13.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.12	พบการย่อยแป้ง	PHK 2.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 13.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.14	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.2B	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 14.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.15	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 3.1	พบการย่อยแป้ง	FS 14.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.18	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 3.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 14.3	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.20	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 4.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 15	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 1.27	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 4.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 17.2	ไม่พบการย่อยแป้ง

KT 1.30	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 5	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 17.3	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 7.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 18.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 7.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 18.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 8	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 19	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.4	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 9.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 25.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.5	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 9.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 25.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.6	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 10	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 26	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.7	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 11.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 5	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.8	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 11.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 6	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.9	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 8	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.10	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 10	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.11	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.4	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 11	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.12	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.5	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 16	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.13	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.12	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 21.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.14	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.14	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 21.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.15	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.18	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 24.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.16	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.20	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 24.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.17	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.21	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 27	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.18	ไม่พบการย่อยแป้ง	PHK 2.22	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 2.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.19	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 2.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.20	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 2.3	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.21	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 3	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 3.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.22	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 4.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 3.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
KT 2.23	ไม่พบการย่อยแป้ง	FS 4.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 3.3	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 4.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 11.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 28.1	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 4.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 13.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 28.2	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 4.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 13.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 28.3	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 5.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 13.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	TR 10	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 5.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 17.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	TR 15	พบการย่อยแป้ง
PP 5.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 17.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	TR 16	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 8.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 17.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	KK 3	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 8.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 19.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	KK 4	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 8.3	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 25.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	KK 25	พบการย่อยแป้ง
PP 11.1	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 25.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	KK 40	ไม่พบการย่อยแป้ง
PP 11.2	ไม่พบการย่อยแป้ง	PP 25.3	ไม่พบการย่อยแป้ง		

จากการนำยีสต์ทั้ง 130 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการย่อยโปรตีนซึ่งจากการทดลองได้ทำการเลี้ยงยีสต์บนอาหารแข็งที่มีการเติมโปรตีนเคซีน โดยยีสต์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้จะปรากฏวงใสรอบๆโคโลนี จากการทดสอบพบว่า มีเพียง 2 ไอโซเลต เท่านั้นที่สามารถย่อยโปรตีนเคซีนได้คือ FS9 และ KK25 ดังผลการทดลองที่รายงานในตารางที่ 5 ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกมาจาก ทางเดินอาหารของปลาทู และ ฟองน้ำตามลำดับ

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเคซีนของยีสต์ที่แยกได้

รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง
KT 1.1	ไม่พบการย่อย	PHK 1.1	ไม่พบการย่อย	FS 7	ไม่พบการย่อย
KT 1.7	ไม่พบการย่อย	PHK 1.2	ไม่พบการย่อย	FS 9	พบการย่อยเคซีน
KT 1.8	ไม่พบการย่อย	PHK 1.3	ไม่พบการย่อย	FS 13.1	ไม่พบการย่อย
KT 1.12	ไม่พบการย่อย	PHK 2.1	ไม่พบการย่อย	FS 13.2	ไม่พบการย่อย
KT 1.14	ไม่พบการย่อย	PHK 2.2B	ไม่พบการย่อย	FS 14.1	ไม่พบการย่อย
KT 1.15	ไม่พบการย่อย	PHK 3.1	ไม่พบการย่อย	FS 14.2	ไม่พบการย่อย
KT 1.18	ไม่พบการย่อย	PHK 3.2	ไม่พบการย่อย	FS 14.3	ไม่พบการย่อย
KT 1.20	ไม่พบการย่อย	PHK 4.1	ไม่พบการย่อย	FS 15	ไม่พบการย่อย
KT 1.27	ไม่พบการย่อย	PHK 4.2	ไม่พบการย่อย	FS 17.2	ไม่พบการย่อย
KT 1.30	ไม่พบการย่อย	PHK 5	ไม่พบการย่อย	FS 17.3	ไม่พบการย่อย
KT 2.1	ไม่พบการย่อย	PHK 7.1	ไม่พบการย่อย	FS 18.1	ไม่พบการย่อย
KT 2.2	ไม่พบการย่อย	PHK 7.2	ไม่พบการย่อย	FS 18.2	ไม่พบการย่อย
KT 2.3	ไม่พบการย่อย	PHK 8	ไม่พบการย่อย	FS 19	ไม่พบการย่อย
KT 2.4	ไม่พบการย่อย	PHK 9.1	ไม่พบการย่อย	FS 25.1	ไม่พบการย่อย
KT 2.5	ไม่พบการย่อย	PHK 9.2	ไม่พบการย่อย	FS 25.2	ไม่พบการย่อย
KT 2.6	ไม่พบการย่อย	PHK 10	ไม่พบการย่อย	FS 26	ไม่พบการย่อย
KT 2.7	ไม่พบการย่อย	PHK 11.1	ไม่พบการย่อย	FS 5	ไม่พบการย่อย
KT 2.8	ไม่พบการย่อย	PHK 11.2	ไม่พบการย่อย	FS 6	ไม่พบการย่อย
KT 2.9	ไม่พบการย่อย	PHK 2.2	ไม่พบการย่อย	FS 8	ไม่พบการย่อย
KT 2.10	ไม่พบการย่อย	PHK 2.3	ไม่พบการย่อย	FS 10	ไม่พบการย่อย
KT 2.11	ไม่พบการย่อย	PHK 2.4	ไม่พบการย่อย	FS 11	ไม่พบการย่อย
KT 2.12	ไม่พบการย่อย	PHK 2.5	ไม่พบการย่อย	FS 16	ไม่พบการย่อย
KT 2.13	ไม่พบการย่อย	PHK 2.12	ไม่พบการย่อย	FS 21.1	ND
KT 2.14	ไม่พบการย่อย	PHK 2.14	ไม่พบการย่อย	FS 21.2	ND
KT 2.15	ไม่พบการย่อย	PHK 2.18	ไม่พบการย่อย	FS 24.1	ND
KT 2.16	ไม่พบการย่อย	PHK 2.20	ไม่พบการย่อย	FS 24.2	ND
KT 2.17	ไม่พบการย่อย	PHK 2.21	ไม่พบการย่อย	FS 27	ND
KT 2.18	ไม่พบการย่อย	PHK 2.22	ไม่พบการย่อย	PP 2.1	ไม่พบการย่อย

KT 2.19	ไม่พบการย่อย	FS 1	ไม่พบการย่อย	PP 2.2	ไม่พบการย่อย
KT 2.20	ไม่พบการย่อย	FS 2	ไม่พบการย่อย	PP 2.3	ไม่พบการย่อย
KT 2.21	ไม่พบการย่อย	FS 3	ไม่พบการย่อย	PP 3.1	ไม่พบการย่อย
KT 2.22	ไม่พบการย่อย	FS 4.1	ไม่พบการย่อย	PP 3.2	ไม่พบการย่อย
KT 2.23	ไม่พบการย่อย	FS 4.2	ไม่พบการย่อย	PP 3.3	ไม่พบการย่อย
PP 4.1	ไม่พบการย่อย	PP 11.3	ไม่พบการย่อย	PP 28.1	ไม่พบการย่อย
PP 4.2	ไม่พบการย่อย	PP 13.1	ไม่พบการย่อย	PP 28.2	ไม่พบการย่อย
PP 4.3	ไม่พบการย่อย	PP 13.2	ไม่พบการย่อย	PP 28.3	ไม่พบการย่อย
PP 5.1	ไม่พบการย่อย	PP 13.3	ไม่พบการย่อย	TR 10	ไม่พบการย่อย
PP 5.2	ไม่พบการย่อย	PP 17.1	ไม่พบการย่อย	TR 15	ไม่พบการย่อย
PP 5.3	ไม่พบการย่อย	PP 17.2	ไม่พบการย่อย	TR 16	ไม่พบการย่อย
PP 8.1	ไม่พบการย่อย	PP 17.3	ไม่พบการย่อย	KK 3	ไม่พบการย่อย
PP 8.2	ไม่พบการย่อย	PP 19.1	ไม่พบการย่อย	KK 4	ไม่พบการย่อย
PP 8.3	ไม่พบการย่อย	PP 25.1	ไม่พบการย่อย	KK 25	พบการย่อย
PP 11.1	ไม่พบการย่อย	PP 25.2	ไม่พบการย่อย	KK 40	ไม่พบการย่อย
PP 11.2	ไม่พบการย่อย	PP 25.3	ไม่พบการย่อย		

ND= not detected

เมื่อนำยีสต์ทั้ง 130 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการไขมันซึ่งจากการทดลองได้ทำการเลี้ยงยีสต์บนอาหารแข็งที่มีการเติมไตรกลีเซอไรด์คือ ไตรบิวทิริน (tributyrin) พบว่ายีสต์หลายไอโซเลตสามารถย่อยไตรบิวทิรินได้มากน้อยต่างกัน แต่มีเพียง 3 ไอโซเลต คือ FS 9, KT 1.15 และ KK25 ที่สามารถย่อยไตรบิวทิรินได้ในระดับสูงมากโดยมีวงใสขนาดใหญ่รอบๆ โคโลนีขนาด ???? ซม. ซึ่งชนิดแรกแยกมาจากทางเดินอาหารของปลาทู ส่วนอีกสองไอโซเลตหลังแยกมาจากฟองน้ำ ส่วนกลุ่มที่สามารถย่อยไตรบิวทิรินได้ดีรองลงมาพบ 16 ไอโซเลต โดยส่วนใหญ่เป็นยีสต์ที่แยกจากซากพืช (ใบไม้ และสาหร่าย) 6 ไอโซเลต คือ KT 2.4, PHK 2.4, PP 3.1, PP 3.2, PP 3.3 และ TR 16 แยกจากทางเดินอาหารของปลาชนิดต่างๆ 5 ไอโซเลต คือ FS 11, FS 13.1, FS 14.1, FS 18.2 FS 19 แยกจากฟองน้ำ 2 ไอโซเลตคือ KT 1.7 และ KK4 นอกจากนั้นเป็นยีสต์ที่แยกจาก ตะกอนดิน หอย ปะการัง อย่างละ 1 ไอโซเลต คือ PHK 4.1, PHK 2.22 และ KT 2.3 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย Tributyrin ของยีสต์ที่แยกได้

รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง
KT 1.1	C	PHK 1.1	C	FS 7	C
KT 1.7	A	PHK 1.2	C	FS 9	A

KT 1.8	C	PHK 1.3	C	FS 13.1	A
KT 1.12	C	PHK 2.1	C	FS 13.2	C
KT 1.14	C	PHK 2.2B	C	FS 14.1	A
KT 1.15	A+	PHK 3.1	C	FS 14.2	B
KT 1.18	C	PHK 3.2	C	FS 14.3	B-
KT 1.20	C	PHK 4.1	A	FS 15	C
KT 1.27	C	PHK 4.2	D	FS 17.2	B-
KT 1.30	C	PHK 5	C	FS 17.3	C
KT 2.1	C	PHK 7.1	C	FS 18.1	C
KT 2.2	C	PHK 7.2	C	FS 18.2	A
KT 2.3	A	PHK 8	C	FS 19	A
KT 2.4	A	PHK 9.1	C	FS 25.1	B
KT 2.5	C	PHK 9.2	C	FS 25.2	C
KT 2.6	C	PHK 10	C	FS 26	C
KT 2.7	C	PHK 11.1	C	FS 5	C-
KT 2.8	C	PHK 11.2	C	FS 6	B
KT 2.9	C	PHK 2.2	C	FS 8	C-
KT 2.10	C	PHK 2.3	C	FS 10	B
KT 2.11	C	PHK 2.4	A	FS 11	A
KT 2.12	C	PHK 2.5	C	FS 16	C
KT 2.13	C	PHK 2.12	C	FS 21.1	ND
KT 2.14	C	PHK 2.14	C	FS 21.2	ND
KT 2.15	C	PHK 2.18	C	FS 24.1	ND
KT 2.16	C	PHK 2.20	C	FS 24.2	ND
KT 2.17	C	PHK 2.21	C	FS 27	ND
KT 2.18	C	PHK 2.22	A	PP 2.1	C
KT 2.19	C	FS 1	C	PP 2.2	C
KT 2.20	C	FS 2	C	PP 2.3	C
KT 2.21	C	FS 3	C	PP 3.1	A
KT 2.22	C	FS 4.1	C	PP 3.2	A
KT 2.23	C	FS 4.2	C	PP 3.3	A
PP 4.1	C	PP 11.3	C	PP 28.1	C
PP 4.2	C	PP 13.1	C	PP 28.2	C
PP 4.3	C	PP 13.2	C	PP 28.3	C
PP 5.1	C	PP 13.3	C	TR 10	C
PP 5.2	C	PP 17.1	C	TR 15	C
PP 5.3	C	PP 17.2	C	TR 16	A
PP 8.1	C	PP 17.3	C	KK 3	C-

PP 8.2	C	PP 19.1	C	KK 4	A
PP 8.3	C	PP 25.1	C	KK 25	A^{-}
PP 11.1	C	PP 25.2	C	KK 40	C^{-}
PP 11.2	C	PP 25.3	C		

ND = not detected; A^{+} = ดีมาก, A = ดี, B^{+} = ปานกลาง, B = พอใช้, C^{+} = น้อย, C = น้อยมาก

2.2 ผลการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท ไนไตรท์ ของยีสต์ที่แยกได้

จากการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท ไนไตรท์ของยีสต์ที่แยกได้พบว่าส่วนใหญ่เป็นยีสต์ที่แยกจากทางเดินอาหารปลา 5 ไอโซเลต คือ FS 5, FS 7, FS 13.2, FS 25.2, FS 26; จากตะกอนดิน 3 ไอโซเลตคือ PHK 1.2, PHK 4.2, PHK 7.2; จากฟองน้ำ 2 ไอโซเลต คือ KK 4, KK 40; จากปะการัง 1 ไอโซเลตคือ PHK 9.2 และ จากเปลือกหอย 1 ไอโซเลตคือ KT 1.8 รวมทั้งหมด 12 ไอโซเลตจากยีสต์ 130 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท ไนไตรท์ ของยีสต์ที่คัดแยกได้

รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง
KT 1.1	ลบ	PHK 1.1	ลบ	FS 7	บวก
KT 1.7	ลบ	PHK 1.2	บวก	FS 9	ลบ
KT 1.8	บวก	PHK 1.3	ลบ	FS 13.1	ลบ
KT 1.12	ลบ	PHK 2.1	ลบ	FS 13.2	บวก
KT 1.14	ลบ	PHK 2.2B	ลบ	FS 14.1	ลบ
KT 1.15	ลบ	PHK 3.1	ลบ	FS 14.2	ลบ
KT 1.18	ลบ	PHK 3.2	ลบ	FS 14.3	ลบ
KT 1.20	ลบ	PHK 4.1	ลบ	FS 15	ลบ
KT 1.27	ลบ	PHK 4.2	บวก	FS 17.2	ลบ
KT 1.30	ลบ	PHK 5	ลบ	FS 17.3	ลบ
KT 2.1	ลบ	PHK 7.1	ลบ	FS 18.1	ลบ
KT 2.2	ลบ	PHK 7.2	บวก	FS 18.2	ลบ
KT 2.3	ลบ	PHK 8	ลบ	FS 19	ลบ
KT 2.4	ลบ	PHK 9.1	ลบ	FS 25.1	ลบ
KT 2.5	ลบ	PHK 9.2	บวก	FS 25.2	บวก
KT 2.6	ลบ	PHK 10	ลบ	FS 26	บวก
KT 2.7	ลบ	PHK 11.1	ลบ	FS 5	บวก

KT 2.8	ลบ	PHK 11.2	ลบ	FS 6	ลบ
KT 2.9	ลบ	PHK 2.2	ลบ	FS 8	ลบ
KT 2.10	ลบ	PHK 2.3	ลบ	FS 10	ลบ
KT 2.11	ลบ	PHK 2.4	ลบ	FS 11	ลบ
KT 2.12	ลบ	PHK 2.5	ลบ	FS 16	ลบ
KT 2.13	ลบ	PHK 2.12	ลบ	FS 21.1	ลบ
KT 2.14	ลบ	PHK 2.14	ลบ	FS 21.2	ลบ
KT 2.15	ลบ	PHK 2.18	ลบ	FS 24.1	ลบ
KT 2.16	ลบ	PHK 2.20	ลบ	FS 24.2	ลบ
KT 2.17	ลบ	PHK 2.21	ลบ	FS 27	ลบ
KT 2.18	ลบ	PHK 2.22	ลบ	PP 2.1	ลบ
KT 2.19	ลบ	FS 1	ลบ	PP 2.2	ลบ
KT 2.20	ลบ	FS 2	ลบ	PP 2.3	ลบ
KT 2.21	ลบ	FS 3	ลบ	PP 3.1	ลบ
KT 2.22	ลบ	FS 4.1	ลบ	PP 3.2	ลบ
KT 2.23	ลบ	FS 4.2	ลบ	PP 3.3	ลบ
PP 4.1	ลบ	PP 11.3	ลบ	PP 28.1	ลบ
PP 4.2	ลบ	PP 13.1	ลบ	PP 28.2	ลบ
PP 4.3	ลบ	PP 13.2	ลบ	PP 28.3	ลบ
PP 5.1	ลบ	PP 13.3	ลบ	TR 10	ลบ
PP 5.2	ลบ	PP 17.1	ลบ	TR 15	ลบ
PP 5.3	ลบ	PP 17.2	ลบ	TR 16	ลบ
PP 8.1	ลบ	PP 17.3	ลบ	KK 3	ลบ
PP 8.2	ลบ	PP 19.1	ลบ	KK 4	บวก
PP 8.3	ลบ	PP 25.1	ลบ	KK 25	ลบ
PP 11.1	ลบ	PP 25.2	ลบ	KK 40	บวก
PP 11.2	ลบ	PP 25.3	ลบ		

2.3 ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำ *Vibrio harveyi* ของยีสต์ที่แยกได้

จากการทดสอบกิจกรรมการยับยั้ง *V. harveyi* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในกุ้ง โดยวิธี agar spot assay ซึ่งเป็นการ inoculate ยีสต์ลงบนอาหารแข็งและบ่มให้ยีสต์เจริญเป็นกลุ่มโคโลนี หลังจากนั้นจึง overlay อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ผสม *V. harveyi* (10^5 CFU/มล.

อาหารเลี้ยงเชื้อ) ทับบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีของยีสต์เจริญอยู่ บ่มให้ *V. harveyi* เจริญ ยีสต์ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้จะแสดงวงใสซึ่งไม่มีการเจริญของ *V. harveyi* รอบๆโคโลนีของยีสต์ ทางคณะผู้วิจัยพบว่า จากยีสต์ที่แยกได้ทั้งหมด 130 ไอโซเลต นั้นมีเพียง 4 ไอโซเลตเท่านั้นที่พบวงใสรอบโคโลนี (ตารางที่ 8) คือ KT1.12, KT1.14, PHK 3.1 PHK 4.1 ซึ่ง 2 ไอโซเลตแรกเป็นยีสต์ที่แยกได้จากฟองน้ำ และอีกสองไอโซเลตหลังแยกได้จากตะกอนดินจากเกาะภูเก็ตดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งยีสต์ส่วนใหญ่ (126 ไอโซเลต) ไม่มีผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi*) ซึ่งผลการยับยั้งที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากการที่ยีสต์ใช้น้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วสร้างกรดเป็นผลให้เกิดการยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าว ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบโดยการนำส่วนใสที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์มาทำการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งต่อ *V. harveyi* ต่อไป

ตารางที่ 8 ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำ *Vibrio harveyi* โดยเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้โดยวิธี Agar Spot Assay

รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง	รหัสยีสต์	ผลการทดลอง
KT 1.1	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 1.1	ไม่พบการยับยั้ง	FS 7	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.7	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 1.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 9	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.8	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 1.3	ไม่พบการยับยั้ง	FS 13.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.12	พบการยับยั้ง	PHK 2.1	ไม่พบการยับยั้ง	FS 13.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.14	พบการยับยั้ง	PHK 2.2B	ไม่พบการยับยั้ง	FS 14.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.15	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 3.1	พบการยับยั้ง	FS 14.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.18	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 3.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 14.3	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.20	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 4.1	พบการยับยั้ง	FS 15	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.27	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 4.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 17.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 1.30	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 5	ไม่พบการยับยั้ง	FS 17.3	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.1	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 7.1	ไม่พบการยับยั้ง	FS 18.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.2	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 7.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 18.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.3	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 8	ไม่พบการยับยั้ง	FS 19	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.4	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 9.1	ไม่พบการยับยั้ง	FS 25.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.5	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 9.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 25.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.6	ไม่พบการยับยั้ง.	PHK 10	ไม่พบการยับยั้ง	FS 26	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.7	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 11.1	ไม่พบการยับยั้ง	FS 5	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.8	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 11.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 6	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.9	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.2	ไม่พบการยับยั้ง	FS 8	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.10	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.3	ไม่พบการยับยั้ง	FS 10	ไม่พบการยับยั้ง

KT 2.11	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.4	ไม่พบการยับยั้ง	FS 11	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.12	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.5	ไม่พบการยับยั้ง	FS 16	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.13	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.12	ไม่พบการยับยั้ง	FS 21.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.14	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.14	ไม่พบการยับยั้ง	FS 21.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.15	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.18	ไม่พบการยับยั้ง	FS 24.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.16	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.20	ไม่พบการยับยั้ง	FS 24.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.17	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.21	ไม่พบการยับยั้ง	FS 27	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.18	ไม่พบการยับยั้ง	PHK 2.22	ไม่พบการยับยั้ง	PP 2.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.19	ไม่พบการยับยั้ง	FS 1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 2.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.20	ไม่พบการยับยั้ง	FS 2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 2.3	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.21	ไม่พบการยับยั้ง	FS 3	ไม่พบการยับยั้ง	PP 3.1	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.22	ไม่พบการยับยั้ง	FS 4.1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 3.2	ไม่พบการยับยั้ง
KT 2.23	ไม่พบการยับยั้ง	FS 4.2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 3.3	ไม่พบการยับยั้ง
PP 4.1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 11.3	ไม่พบการยับยั้ง	PP 28.1	ไม่พบการยับยั้ง
PP 4.2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 13.1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 28.2	ไม่พบการยับยั้ง
PP 4.3	ไม่พบการยับยั้ง	PP 13.2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 28.3	ไม่พบการยับยั้ง
PP 5.1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 13.3	ไม่พบการยับยั้ง	TR 10	ไม่พบการยับยั้ง
PP 5.2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 17.1	ไม่พบการยับยั้ง	TR 15	ไม่พบการยับยั้ง
PP 5.3	ไม่พบการยับยั้ง	PP 17.2	ไม่พบการยับยั้ง	TR 16	ไม่พบการยับยั้ง
PP 8.1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 17.3	ไม่พบการยับยั้ง	KK 3	ไม่พบการยับยั้ง
PP 8.2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 19.1	ไม่พบการยับยั้ง	KK 4	ไม่พบการยับยั้ง
PP 8.3	ไม่พบการยับยั้ง	PP 25.1	ไม่พบการยับยั้ง	KK 25	ไม่พบการยับยั้ง
PP 11.1	ไม่พบการยับยั้ง	PP 25.2	ไม่พบการยับยั้ง	KK 40	ไม่พบการยับยั้ง
PP 11.2	ไม่พบการยับยั้ง	PP 25.3	ไม่พบการยับยั้ง		

เมื่อทำการทดสอบกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* ของส่วนใสที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์รหัส KT 1.12, KT 1.14, PHK 3.1 PHK 4.1 โดยมีการนำส่วนใสที่เหวี่ยงเซลล์ยีสต์แยกออกแล้วมาปรับพีเอชให้เป็นกลาง (พีเอช 7) ด้วย 2 N NaOH แล้วกรองเพื่อทำให้ปลอดเชื้อแล้วนำส่วนใสมาทดสอบกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรีย โดยวิธี Agar diffusion assay กลับไม่พบกิจกรรมการยับยั้งของยีสต์ทั้งสี่ไอโซเลตเลย (ตารางที่ 9) ไม่ว่าจะเป็นส่วนใสที่ผ่านการปรับหรือยังไม่ปรับค่าพีเอช ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่ากรดหรือสารยับยั้งที่ยีสต์สร้างขึ้นในส่วนใสมีความเจือจางมากจนไม่สามารถพบกิจกรรมการยับยั้งเมื่อทดสอบโดยวิธี agar diffusion assay ได้ อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยได้คัดเลือกยีสต์ทั้ง 4 ไว้เพื่อนำมาพิจารณาในการคัดเลือกโดยใช้เกณฑ์ความสามารถในการย่อยสารอาหารข้างต้น

ตารางที่ 9 กิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *Vibrio harveyi* ของส่วนใสจากการเลี้ยงยีสต์ที่ผ่านการปรับและไม่ปรับพีเอชเป็น 7

รหัสยีสต์	กิจกรรมการยับยั้ง		รหัสยีสต์	กิจกรรมการยับยั้ง	
	ก่อนปรับพีเอช	หลังปรับพีเอช		ก่อนปรับพีเอช	หลังปรับพีเอช
KT 1.12	-	-	PHK 3.1	-	-
KT 1.14	-	-	PHK 4.1	-	-

- ไม่พบกิจกรรมการยับยั้ง + พบกิจกรรมการยับยั้ง

เมื่อทำการคัดเลือกยีสต์โดยอาศัยคุณสมบัติที่ทดสอบในข้อ 2 เป็นเกณฑ์ โดยเปรียบเทียบยีสต์ที่มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้ง *V. harveyi* เป็นเกณฑ์หลักและความสามารถในการย่อยแป้ง ไขมัน เคซีนและ การรีดิวซ์ในเตรท/ไนไตรท์ เป็นเกณฑ์รอง ดังสรุปไว้ในตารางที่ 10 ซึ่งยีสต์ที่มีคุณสมบัติที่มีกิจกรรมการยับยั้ง *V. harveyi* และมีคุณสมบัติในการย่อยสารอาหารที่เป็นแป้งด้วยมี จำนวน 2 ไอโซเลต คือ KT 1.12 และ PHK 3.1 ซึ่งแยกมาจากฟองน้ำและตะกอนดิน ตามลำดับ ส่วนยีสต์ KT 1.14 และ PHK 4.1 มีกิจกรรมการยับยั้งก็จริงแต่ไม่มีคุณสมบัติในการย่อยสารอาหารต่างๆ นอกจากนี้ยีสต์ที่สามารถย่อยสารอาหารทั้งที่เป็นแป้งโปรตีน ไขมัน และ เคซีนได้ดีคือ FS 9 ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกมาจากทางเดินอาหารปลาทู อย่างไรก็ตามเมื่อนำยีสต์ PHK 3.1 มาทดสอบคุณสมบัติการยับยั้ง *V. harveyi* เปรียบเทียบกับ KT 1.12 กลับไม่พบกิจกรรมการยับยั้ง ส่วน KK 25 แทบจะไม่พบกิจกรรมการย่อยแป้งเลยเมื่อนำมาทดสอบซ้ำ คณะผู้วิจัยจึงคัดเลือกยีสต์ KT 1.12 และ FS 9 เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 10 สรุปผลการทดสอบคุณสมบัติในการเป็นโปรไบโอติกของยีสต์ที่แยกได้จากทะเล

คุณสมบัติ	รหัสยีสต์
มีกิจกรรมการยับยั้ง	KT 1.12, KT 1.14, PHK 3.1, PHK 4.1
สามารถย่อยแป้ง	FS 9, KT 1.12, PHK 3.1, TR 15, KK25
สามารถย่อยเคซีน	FS 9, KK 25
สามารถย่อยไขมันได้ระดับสูง	FS 9, KT 1.15, KK 25
สามารถรีดิวซ์ในเตรท/ไนไตรท์	FS 5, FS 7, FS 13.2, FS 25.2, FS 26, PHK 1.2, PHK 4.2, PHK 7.2, KK 4, KK 40, PHK 9.2, KT 1.8

3 การจัดจำแนก และพิสูจน์เอกลักษณ์ของยีสต์ที่คัดเลือกได้

จากผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ D1/D2 บน 26s rRNA (Kurtzman and Robnett, 1998) (electropherogram แสดงในภาคผนวก ง) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ D1/D2 บน 26s rRNA ของยีสต์ KT 1.12 คือ

AAACCAACAGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATT
TGAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGGT
CTGGCTCTTGTCTATGTTTCTTGGAACAGAACGTCACAGAGGGTGAGAATCCCGT
GCGATGAGATGATCCAGGCCTATGTAAAGTTCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGG
GAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGA
GACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGA
GAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGATCAGACTTGG
TATTTTGTATGTTACTTCTTCGGGGGTGGCCTCTACAGTTTATCGGGCCAGCATCA
GTTTGGGCGGTAGGAGAATTGCGTTGGAATGTGGCACGGCTTCGGTTGTGTGTTA
TAGCCTTCGTCGATACTGCCAGCCTAGACTGAGGACTGCGGTTTATACCTAGGAT
GTTGGCATAATGATCTTAAGTCGC

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับฐานข้อมูลของ GeneBank โดยใช้ BLASTn พบว่ายีสต์ KT1-12 มีลำดับเบสเหมือนกับ Type Strain ของ *Candida tropicalis* (NRRL Y-12968^{T} , GenBank accession no. U45749) 100% (570/570 bp) ดังนั้นจึงจำแนกยีสต์ KT1-12 เป็น *Candida tropicalis* ผลการเปรียบเทียบนิวคลีโอไทด์ 10 อันดับแรก ระหว่าง KT1-12 กับฐานข้อมูลของ GenBank แสดงดังต่อไปนี้

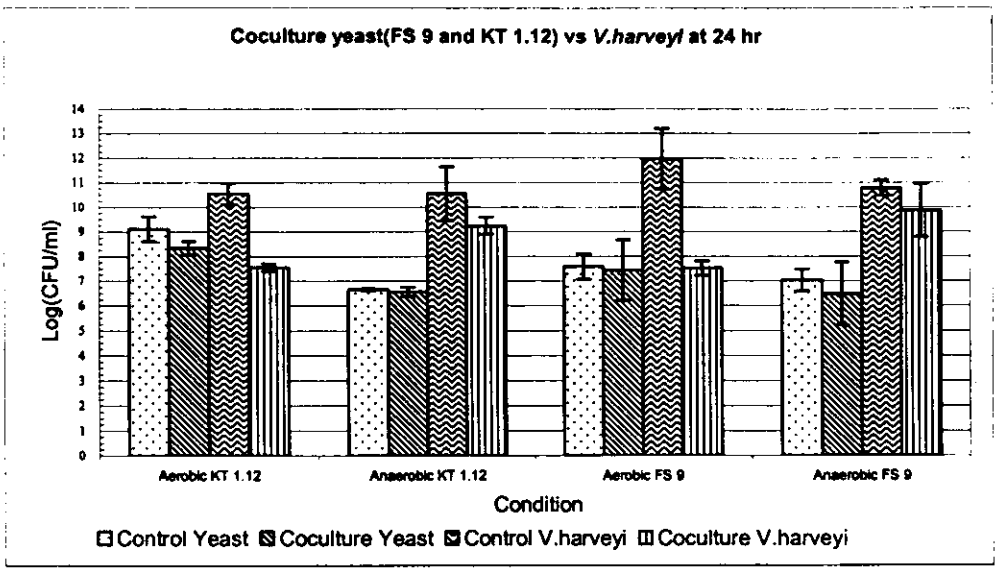
Sequences producing significant alignments:	(bits)	Value
gi|2062274|gb|U45749.1|CTU45749 Candida tropicalis 26S ribo...	1130	0.0
gi|8099636|gb|AF257268.1|AF257268 Candida tropicalis KCTC 7...	1126	0.0
gi|49457179|emb|AJ749824.1| Candida tropicalis 26S rRNA gen...	1122	0.0
gi|8575727|gb|AF267497.1| Candida tropicalis 26S ribosomal ...	1080	0.0
gi|4038801|gb|U71070.1|CSU71070 Candida sojae 26S ribosomal...	1065	0.0
gi|11345035|gb|AF178051.1|AF178051 Candida oleophila strain...	1035	0.0
gi|33333755|gb|AF545635.1| Candida tropicalis 26S ribosomal...	1029	0.0
gi|12382233|gb|AF245404.1| Candida neerlandica 26S ribosoma...	1019	0.0
gi|11527565|dbj|AB034686.1| Candida maltosa gene for 26S rR...	1005	0.0
gi|11527564|dbj|AB034685.1| Candida maltosa gene for 26S rR...	1005	0.0

ในทำนองเดียวกันผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ D1/D2 บน 26s rRNA ของยีสต์ FS 9 (electropherogram แสดงในภาคผนวก ง) มีลำดับเบสเหมือนกับ Type Strain ของ *Pseudozyma antractica* (CBS 214.83^{T} , GenBank accession no. AJ235302) 100% (568/568 bp) ดังนั้นจึงจำแนกยีสต์ KT1-12 และ FS 9 เป็น *Candida tropicalis* TH 112 และ *Pseudozyma antractica* TH 9

4 การเป็น antagonist ของยีสต์ *Candida tropicalis* TH 112 และ *Pseudozyma antractica* TH 9 ต่อแบคทีเรียที่ก่อโรคในกุ้ง *Vibrio harveyi* โดยใช้เทคนิคการเลี้ยงร่วมกัน (co-culture technique)

เมื่อนำยีสต์ *Candida tropicalis* TH 112 และ *Pseudozyma antractica* TH 9 มาเลี้ยงร่วมกับ *V. harveyi* ในอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ YMB ผสมอาหารเลี้ยง *V. harveyi* TSB ซึ่งจัดเป็นอาหารที่เหมาะสมทั้งกับยีสต์ และ *V. harveyi* ทำการศึกษาโดยเลี้ยงร่วมกันทั้งในสภาวะมีอากาศและไร้อากาศ โดยเติมเชื้อเริ่มต้นทั้งยีสต์และแบคทีเรียในปริมาณเท่ากันคือ $1\text{-}2.5\text{x}10^5$ CFU/ml เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณยีสต์ในหลอดเลี้ยงร่วมกับ *V. harveyi* ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศนั้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อเทียบกับหลอดควบคุมยีสต์ซึ่งมียีสต์เพียงอย่างเดียว โดยที่การเลี้ยง *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 ในสภาวะมีอากาศมีจำนวนยีสต์ 8.74, 9.22 และ 7.24, 7.63 Log CFU/ml สำหรับชุดควบคุมซึ่งมียีสต์เพียงชนิดเดียว และชุดที่เลี้ยงร่วมกับ *V. harveyi* ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1 ส่วนในสภาวะไร้อากาศให้ผลการทดลองในทำนองเดียวกันคือมีจำนวน *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 7.46, 6.96 และ 6.60, 7.00 Log CFU/ml สำหรับชุดควบคุมซึ่งมียีสต์เพียงชนิดเดียว และชุดที่เลี้ยงร่วมกับ *V. harveyi* ตามลำดับ แต่เมื่อนับจำนวน *V. harveyi* ในหลอดที่มีการเลี้ยงร่วมกันพบว่าจำนวน *V. harveyi* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในสภาวะมีอากาศ คือ ลดลงจาก 11.42 เป็น 7.34 Log CFU/ml (ลดลง 4.08 Log CFU/ml) และจาก 11.67 เป็น 7.41 Log CFU/ml (ลดลง 4.26 Log CFU/ml) เมื่อเลี้ยงร่วมกับ *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเลี้ยงร่วมกับยีสต์ในสภาวะไร้อากาศมีผลควบคุมให้จำนวน *V. harveyi* น้อยลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มี *V. harveyi* เพียงชนิดเดียว คือ จำนวน *V. harveyi* ลดลงจาก 10.77 เป็น 10.00 Log CFU/ml (ลดลง 0.77 Log CFU/ml) และจาก 11.53 เป็น 9.62 Log CFU/ml (ลดลง 1.91 Log CFU/ml) เมื่อเลี้ยงร่วมกับ *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ยีสต์ควบคุมการเจริญของ *V. harveyi* อย่างมีประสิทธิภาพนั้นควรเป็นสภาวะที่มีอากาศ

เมื่อทำการนับจำนวน *V. harveyi* ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า จำนวน *V. harveyi* ในชุดที่เลี้ยงร่วมกับยีสต์ทั้ง 2 ชนิด ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ มีน้อยกว่า 1 LogCFU/ml (นับไม่ได้ด้วยวิธี plate count) ในขณะที่ชุดควบคุมซึ่งมี *V. harveyi* เพียงอย่างเดียวนั้นยังมีจำนวน *V. harveyi* อยู่มากกว่า 3 LogCFU/ml ส่วน จำนวนยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ในทุกชุดการทดลองทั้งในสภาวะมีและไม่มีอากาศยังคงมีจำนวนไม่เปลี่ยนแปลงไปจากที่เวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงยีสต์ร่วมกับ *V. harveyi* มีผลต่อการลดการเจริญและสามารถใช้ควบคุม *V. harveyi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพดีมาก



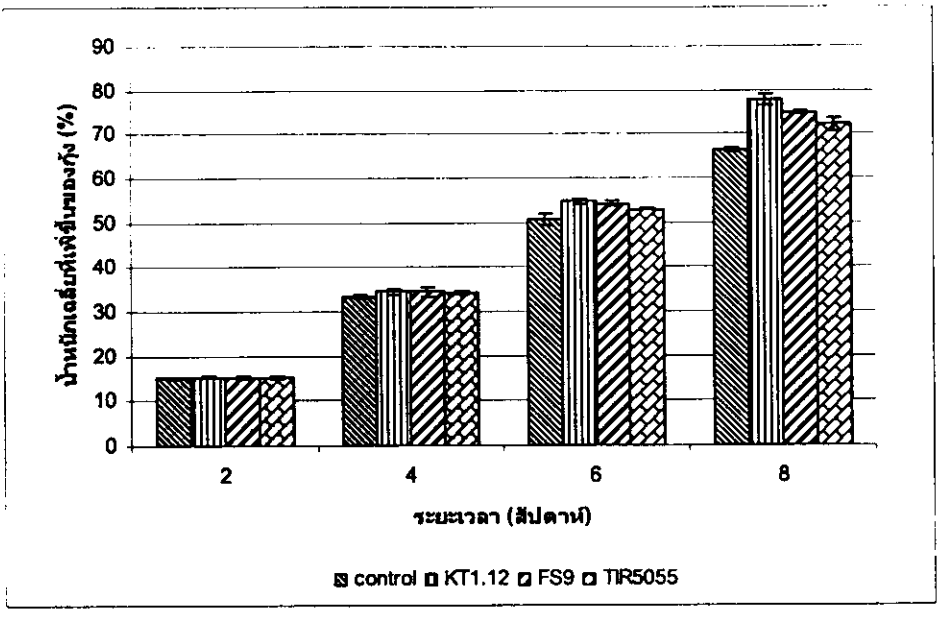
ภาพที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรีย *V. harveyi* และ ยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยง *V. harveyi* ร่วมกับยีสต์ในสภาวะมีอากาศ และไร้อากาศในอาหารผสม MYB และ TSB

5 ผลของการใช้ยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 และยีสต์ขนมปัง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5055 ต่อการเจริญ อัตราการรอด และภาวะภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ

5.1 ผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของกุ้ง

จากการทดลองให้กุ้งกุลาดำกินอาหารที่มีการผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* จำนวน 2-5x10^8 CFU/กรัมอาหาร โดยมีกุ้งชุดที่กินอาหารปกติที่เคลือบน้ำมันปลาทูน่าแต่ไม่มียีสต์ พบว่า การเพิ่มของน้ำหนักกุ้งที่กินอาหารผสมยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* ใน 4 สัปดาห์แรกนั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากกุ้งที่กินอาหารปกติที่ไม่มียีสต์ ดังแสดงในภาพที่ 2 คือ มี % การเพิ่มของน้ำหนักเฉลี่ยเป็น 34.52, 34.55 และ 34.13 % ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งชุดควบคุมมี % การเพิ่มของน้ำหนักเฉลี่ยเป็น 33.49 % อย่างไรก็ตามกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยยีสต์มีแนวโน้มที่จะมีน้ำหนักตัวดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ผสมยีสต์ ซึ่งผลการชั่งน้ำหนักกุ้งในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์มีการเพิ่มน้ำหนักตัวสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงโดยอาหารที่ไม่ผสมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะกุ้งชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *C. tropicalis* TH 112 มี % การเพิ่มของน้ำหนักสูงสุดรองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9 และ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 ซึ่งมี % การเพิ่มน้ำหนักเป็น

54.84, 54.12, 52.98 และ 77.57, 74.76, 72.05 % ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มียีสต์มีน้ำหนักเป็น 50.77 และ 66.35 % ตามลำดับ



ภาพที่ 2 เปอร์เซนต์น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* เปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำชุดควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยีสต์ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์

เมื่อคำนวนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์เปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ผสมยีสต์ พบว่า กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วย *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (% FCR = %Feed Conversion Ratio) ต่ำสุด คือสามารถใช้อาหารเปลี่ยนเป็นเนื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9 และ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 โดยมีค่า % FCR เป็น 2.161, 2.246 และ 2.328 ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมซึ่งไม่ผสมยีสต์ มีค่า % FCR เป็น 2.528% ดังแสดงในตารางที่ 11

การใช้ยีสต์ที่คัดเลือกได้มาผสมในอาหารเพื่อใช้ในการเลี้ยงกุ้งนี้ไม่ได้ส่งผลที่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำ และยังมีผลทำให้กุ้งมีอัตราการรอดจากการเลี้ยงในสภาวะการทดลองที่สูงขึ้นกว่าชุดการทดลองที่กินอาหารไม่ผสมยีสต์ โดยที่กุ้งกุลาดำที่กินอาหารที่ผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 มีอัตราการรอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำที่กินอาหารที่ผสมยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 11 % Feed Conversion Ratio ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 เปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำชุดควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยีสต์ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	% FCR
ชุดควบคุม	2.528
ชุดที่กินอาหารผสม *C. tropicalis* TH 112	2.161
ชุดที่กินอาหารผสม *P. antractica* TH 9	2.246
ชุดที่กินอาหารผสม *S. cerevisiae* TISTR 5055	2.328

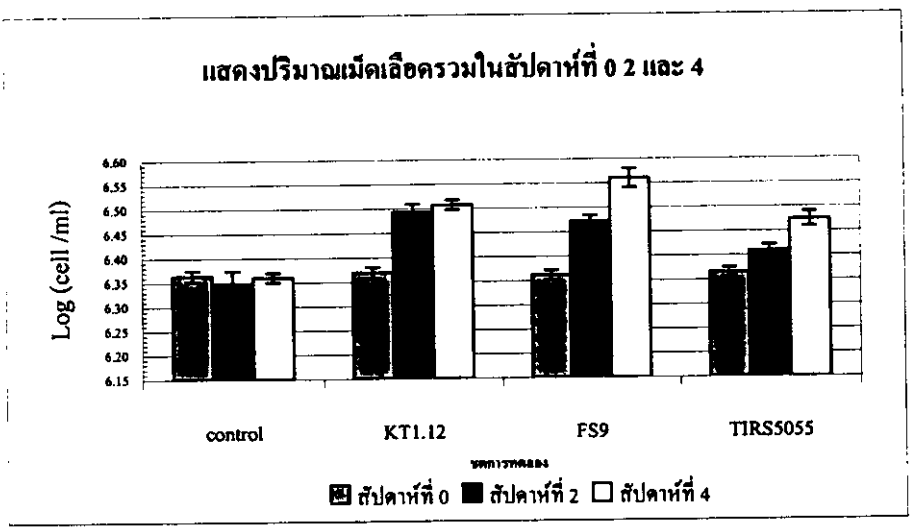
ตารางที่ 12 อัตราการรอดของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 เปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำชุดควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยีสต์ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
Control	100	100	98.3	96.66	91.65
TH 112	100	100	98.3	98.3	98.3
TH 9	100	100	100	98.3	98.3
TISTR 5055	100	100	98.3	98.3	96.66

นอกจากนี้การเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารผสมยีสต์ยังส่งผลให้จำนวนเม็ดเลือดรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเทียบกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมซึ่งไม่มีการผสมยีสต์ ดังแสดงในตารางที่ 13 โดยที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9 เมื่อครบ 8 สัปดาห์ มีจำนวนเม็ดเลือดสูงสุด คือ 3.75×10^6 cells/ml รองลงมาเป็นกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112, *S. cerevisiae* TISTR 5055 และ อาหารชุดควบคุม ซึ่งมีจำนวนเม็ดเลือด 3.34×10^6, 3.14×10^6 และ 2.29×10^6 cells/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 13 จำนวนเม็ดเลือดรวม (เซลล์/มล.) ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* เปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำชุดควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมยีสต์ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (สัปดาห์)			
	0	2	4	6
ชุดควบคุม	2.31×10^6	2.24×10^6	2.29×10^6	2.29×10^6
TH 112	2.34×10^6	2.31×10^6	3.22×10^6	3.34×10^6
TH 9	2.30×10^6	2.97×10^6	3.63×10^6	3.75×10^6
TISTR 5055	2.32×10^6	2.57×10^6	2.98×10^6	3.14×10^6



5.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์ (challenge test)

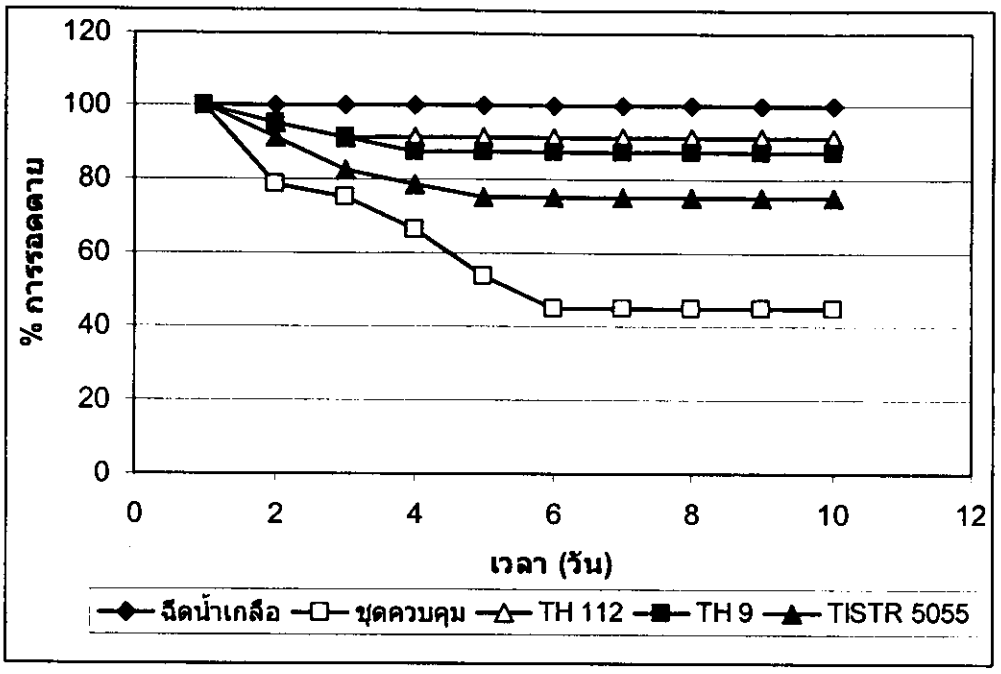
หลังจากการให้อาหารกุ้งครบระยะเวลา 8 สัปดาห์ นำกุ้งที่เหลือในทุกชุดการทดลองมาทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* (challenge test) โดยทำการแบ่งกุ้งในแต่ละชุดการทดลอง (4 ชุดการทดลอง) ออกเป็น 2 กลุ่มซึ่งกลุ่มหนึ่งกุ้งจะถูกฉีดสารแขวนลอยของ *V. harveyi* ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ 10^8 CFU/ml (เจือจางด้วย 1.5 % น้ำเกลือ) อีกกลุ่มหนึ่งเป็นกุ้งกลุ่มควบคุมซึ่งถูกฉีดด้วย 1.5 % น้ำเกลือปลอดเชื้อ เมื่อปล่อยกุ้งทั้งหมดกลับไปในถัง แล้วเลี้ยงกุ้งทุกชุดต่อด้วยอาหารธรรมดาพบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับเชื้อ *V. harveyi* เริ่มแสดงอาการของโรคและตายหลังจากได้รับเชื้อไป 1 วัน และตายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆหลังจากได้รับเชื้อวันที่ 2, 3 และ4 แล้ว % การรอดเริ่มคงที่สำหรับกุ้ง

ที่รับอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 ส่วนกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5055 และชุดควบคุมนั้น อัตราการรอดเริ่มคงที่หลังจากวันที่ 5 และ 6 ตามลำดับโดยกุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับเชื้อ (ถูกฉีดด้วยน้ำเกลือ) ของแต่ละชุดการทดลอง ไม่พบการตายเกิดขึ้นเลย ยืนยันว่าการตายของกุ้งไม่ได้เกิดจากการฉีด ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ก่อนหน้ามีอัตราการรอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ผ่านการเลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมยีสต์เลยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในทุกชุดการทดลอง (ภาพที่ 3) โดยมีอัตราการรอดเป็น 91.25, 87.50 และ 75.00 % ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีอัตราการรอดเพียง 45 % เท่านั้น แสดงว่าการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่มีการผสมยีสต์ที่มีชีวิตส่งผลให้กุ้งกุลาดำมีความสามารถในการต้านทานและรอดชีวิตจากการติดเชื้อ *V. harveyi* ได้ดีซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจนับเม็ดเลือดที่สูงกว่าของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์

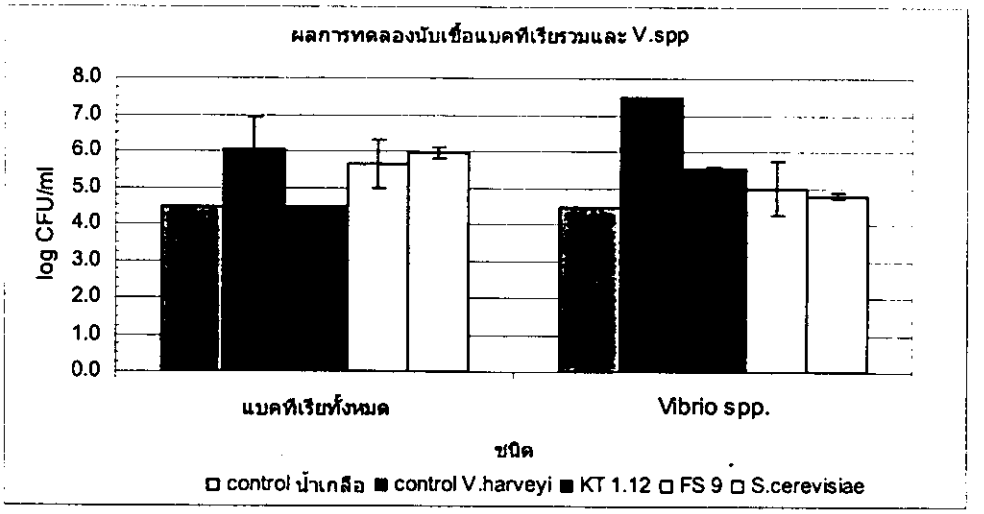
จากการเปรียบเทียบอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มียีสต์แต่ละชนิดในภาพที่ 3 พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการรอดสูงสุด ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยยีสต์ขนมปังมีอัตราการรอดต่ำกว่า ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกับผลของน้ำหนัก % FCR และการนับเม็ดเลือด ที่ยืนยันว่าการใช้ยีสต์ที่แยกมาจากทะเลให้ผลในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำดีกว่าในภาพรวม เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ขนมปัง ซึ่งให้ผลดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารที่ไม่ผสมยีสต์เลย

5.3 ผลของการใช้ยีสต์ต่อความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* ออกจากระบบไหลเวียน (Clearance test)

เมื่อนำกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดต่างๆ ครบ 8 สัปดาห์ มานับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด และ *V. harveyi* ที่พบในเลือดหลังจากการฉีดด้วยสารแขวนลอย *V. harveyi* ครบ 3 ชั่วโมงพบว่ากุ้งกุลาดำที่ผ่านการเลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม ซึ่งไม่มียีสต์ผสมมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด และ *V. harveyi* สูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งแสดงว่าระบบเลือดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์สามารถกำจัด *V. harveyi* ออกจากระบบเลือดได้ดีกว่าชุดควบคุม



ภาพที่ 3 อัตราการรอดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ภายหลังจากการได้รับเชื้อ *V. harveyi*



ภาพที่ 4 จำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และ *V. harveyi* ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ หลังจากการฉีด *V. harveyi* ได้ 3 ชั่วโมง