สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# การคัดเลือกแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจากดิน

นายนันทวุฒิ นิยมวงษ์
นายนันทวุฒิ ฉัตรอุทัย
นายนาวิน เนตุสินธุ์

เลขหมู่.........
เลขทะเบียน 67311
วัน,เดือน,ปี 22 พ.ย. 2549

.b.........
.i.........

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Screening of Antibiotic-producing Actinomycetes from Soil**

Nanthawut Niyomvong

Nanthawut Chat-uthai

Nawin Nesusinth

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| โครงงานพิเศษเรื่อง | การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจากดิน |
| นักศึกษา | นายนันทวุฒิ นิยมวงษ์ รหัสประจำตัว 45050747 |
| | นายนันทวุฒิ ฉัตรอุทัย รหัสประจำตัว 45050748 |
| | นายนาวิน เนสุสินธุ์ รหัสประจำตัว 45050749 |
| ภาควิชา | ชีววิทยาประยุกต์ |
| สาขาวิชา | จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ดร.จิตติ ท่าไว |

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

| คณะกรรมการตรวจสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| ประธานกรรมการ ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ | |
| กรรมการ ดร.จิตติ ท่าไว | |
| กรรมการ อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ | |

..................................................

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาคชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**โครงงานพิเศษเรื่อง** การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจากดิน
**นักศึกษา** นายนันทวุฒิ นิยมวงษ์
นายนันทวุฒิ ฉัตรอุทัย
นายนาวิน เนสุสินธุ์
**ภาควิชา** ชีววิทยาประยุกต์
**สาขาวิชา** จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
**ปีการศึกษา** 2548
**อาจารย์ที่ปรึกษา** ดร.จิตติ ท่าไว

## บทคัดย่อ

เชื้อแอคติโนมัยซีสท์ 49 ไอโซเลต ซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินในจังหวัดราชบุรี และกาญจนบุรี ประเทศไทย ถูกนำมาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น พบว่ามี 24 ไอโซเลตที่สามารถสร้างสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* sp. และ *Candida albicans* ATCC 10231 เชื้อแอคติโนมัยซีสท์ทั้ง 24 ไอโซ-เลตที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ สามารถจัดได้เป็น 5 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญ ได้ทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์มา 2 ไอโซเลตคือ OKB 11-2-11(2) และ OKB 10-7 ไปทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ 16S rRNA gene ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อไอโซเลต OKB 11-2-11(2) และOKB 10-7 มีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces crystallinus* JCM 5067 และ *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 ที่ระดับร้อยละความคล้ายคลึง (%similarity) 97.17 และ 99.06 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Special project title** | Screening of Antibiotic-producing Actinomycetes from Soil |
| **Name** | Mr. Nanthawut Niyomvong |
| | Mr. Nanthawut Chat-uthai |
| | Mr. Nawin Nesusinth |
| **Department** | Applied biology |
| **Program** | Industrial Microbiology |
| **Academic Year** | 2005 |
| **Special Project Advisor** | Dr. Chitti Thawai |


**Abstract**

Forty-nine actinomycete strains were isolated from twenty soil samples collected in Ratchaburi and Kanchanaburi provinces of Thailand. The preliminary test for antimicrobial activity revealed that twenty-four actinomycete strains could be produced the secondary metabolites which inhibited the growth of tested microorganisms, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Pseudomonad aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella* sp. and *Candida albicans* ATCC 1023. The twenty-four antibiotic-producing actinomycete strains could be devided to five groups using the morphological and cultural characteristics and the two actinomycete strains, OKB11-2-11(2) and OKB10-7, were selected for 16S rRNA gene sequence analyses. The result showed that strain OKB11-2-11(2) and OKB10-7 formed a clade with *Streptomyces crystalinus* JCM 5067 and *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 at similarity percentage of 97.17 and 99.06, respectively.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.จิตติ ท่าไว อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้คำปรึกษาตลอดการดำเนินงาน ตลอดจนตรวจทานแก้ไขรูปเล่มโครงงานพิเศษนี้ให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ อาจารย์คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ประธานกรรมการและกรรมการตามลำดับที่กรุณาสละเวลาตรวจทาน และพิจารณาโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ที่กรุณาอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดการศึกษา รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน

ขอขอบใจเพื่อนๆ และน้องๆ ที่ช่วยเหลือในระหว่างการดำเนินงาน และช่วยเป็นกำลังใจให้

นอกจากนั้นยังมีบิดา มารดา และผู้มีอุปการคุณที่กรุณาอบรมสั่งสอน และอุปการะผู้จัดทำให้ศึกษาจนสำเร็จได้ด้วยดี

นายนันทวุฒิ นิยมวงษ์<br>
นายนันทวุฒิ ฉัตรอุทัย<br>
นายนาวิน เนสุสินธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

| | |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| สารบัญ | ง |
| สารบัญตาราง | จ |
| สารบัญรูป | ฉ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ | 4 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย | 15 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล | 20 |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ | 49 |
| เอกสารอ้างอิง | 51 |
| ภาคผนวก | 58 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ชนิดของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ | 8 |
| 2 | ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ | 10 |
| 3 | ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดด่างของดินและไอโซเลตที่แยกได้ | 20 |
| 4 | ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ | 23 |
| 5 | ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ | 28 |
| 6 | ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 1 | 36 |
| 7 | การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 1 | 37 |
| 8 | ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 2 | 38 |
| 9 | การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 2 | 39 |
| 10 | ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 3 | 40 |
| 11 | การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 3 | 41 |
| 12 | ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 4 | 42 |
| 13 | การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 4 | 43 |
| 14 | ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 5 | 44 |
| 15 | การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 5 | 45 |
| 16 | ค่า Similarity ของไอโซเลต OKB11-2-11(2) | 46 |
| 17 | ค่า Similarity ของไอโซเลต OKB 10-7 | 47 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ไอโซเลต NRB 2-23 | 25 |
| 2 | ไอโซเลต OKB 11-2-11 | 26 |
| 3 | ไอโซเลต OKB 10-15 | 26 |
| 4 | ไอโซเลต OKB 4-17 | 27 |
| 5 | ไอโซเลต OKB 11-2-8 | 27 |
| 6 | Phylogenetic trees ของ OKB 10-7 | 48 |
| 7 | Phylogenetic trees ของ OKB 11-2-11 | 48 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

แอคติโนมัยซีทส์ จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณ G+C ในดีเอนเอสูง (higher G+C) "แอคติโนมัยซีทส์" เดิมมาจากภาษากรีก คำว่า "aktis" แปลว่ารัศมี ซึ่งรวมกับคำว่า "mykes" ที่แปลว่า เชื้อรา เนื่องมาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏให้เห็นนั่นเอง

ในอดีตแอคติโนมัยซีทส์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มระหว่างแบคทีเรีย และรา แต่ปัจจุบันถูกจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียเนื่องจากไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส(prokaryote cell) (Pendey และคณะ, 2002)

แอคติโนมัยซีทส์สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ ซึ่งช่วงทศวรรษที่ผ่านมาแอคติโนมัยซีทส์ได้กลายมาเป็นแหล่งของสารปฏิชีวนะที่สำคัญที่สุด ในช่วงปี ค.ศ. 1960 ถึง 1970 การค้นพบสารปฏิชีวนะจากอันดับ *Actimomycetales* มีมากถึงร้อยละ75- 80 ของการค้นพบสารปฏิชีวนะทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสกุล *Streptpmyces* ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับสกุลอื่นๆ ในอันดับเดียวกัน (Coyne, 1999)

ปัจจุบันมีสารประกอบ และอนุพันธ์จากสารปฏิชีวนะเหล่านี้ประมาณ 130- 140 ชนิดถูกใช้ในการเภสัชกรรม นอกจากนั้นประมาณ 15- 20 ชนิด ถูกนำมาใช้ในการเกษตรโดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำมาทำยาปราบศัตรูพืช และยาป้องกันศัตรูพืช (Moncheva และคณะ, 2002)

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากดินในแหล่งที่น่าสนใจ 3 แหล่ง เนื่องจากมีความเป็นไปได้ว่าอาจพบเชื้อแอคติโนมัยซีทส์สายพันธุ์ใหม่ ซึ่งอาจมีแนวโน้มในการสร้างสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ จากการที่เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมีการดื้อยามากขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ตามไปด้วย และแหล่งสารปฏิชีวนะนั้นส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ จึงทำให้มีการศึกษาในครั้งนี้เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ**

1. เพื่อแยก และคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากดินในธรรมชาติ และศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ

2 เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือก โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง 16S rRNA gene รวมทั้งศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาการเจริญ สรีระวิยา และชีวเคมีของเชื้อที่แยกได้

**1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ**

1. ทำการคัดเลือกแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างสารทุติยภูมิ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินในแหล่งที่น่าสนใจ

2. ทำการศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้น ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาการเจริญ สรีระวิทยา ชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือกได้ ตลอดจนลักษณะทางจีโนไทป์บางลักษณะของเชื้อแอคติ-โนมัยซีทส์ที่คัดเลือกได้

3. ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือกได้

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. สามารถแยกเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้

2. สามารถรวบรวมความรู้ทางด้านอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ที่แยกได้เพื่อไปเป็นข้อมูลในการศึกษา และวิจัยด้านอื่นต่อไป

3. การวิจัยครั้งนี้อาจค้นพบเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ชนิดใหม่ซึ่งสามารถสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ชนิดใหม่ได้

**1.5 ขั้นตอนการทำโครงงานพิเศษ**

1.การเก็บตัวอย่าง การแยกและการคัดเลือกเชื้อ

1.1 การเก็บตัวอย่าง

1.2 การแยกเชื้อ

2.การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อ

2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญ สรีระวิทยาและชีวเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การคัดเลือกเชื้อขั้นต้น

2.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย 16S rRNA gene และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ

2.2.1 การเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

2.2.2 การวิเคราะห์ลำดับนิคลีโอไทด์บนสาย 16S rRNA gene

2.2.3 การวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ (Phylogenetic analysis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและหลักการ

**2.1 แอคติโนมัยซีทส์** (Actinomycetes)

แอคติโนมัยซีทส์จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกอยู่ในอันดับ *Actinomycetales* มีลักษณะกล้ำกึ่งระหว่างรา และแบคทีเรีย ดังนี้

ลักษณะของแอคติโนมัยซีทส์ที่คล้ายรา (งามนิจ, 2537)

1. เส้นใยของแอคติโนมัยซีทส์จะแตกสาขาคล้ายเส้นใยของรา

2. แอคติโนมัยซีทส์หลายกลุ่มสร้างเส้นใยที่เจริญอยู่บนอากาศ (aerial mycelium) ซึ่งตรงปลายจะมีโคนิเดีย (conidia) คล้ายกับเส้นใยและสปอร์ของรา

3. การเจริญของแอคติโนมัยซีทส์ในอาหารเหลวไม่ค่อยจะปรากฏว่าทำให้เกิดสีขุ่น (turbidity) อันเนื่องมาจากการแขวนลอยของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียวของแบคทีเรีย แต่แอคติโนมัยซีทส์จะเจริญแบบกลุ่มก้อน

4. การเพิ่มจำนวนของแอคติโนมัยซีทส์จะคล้ายกับรา ส่วนการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียจะเป็นแบบทวีคูณ (exponential)

ลักษณะของแอคติโนมัยซีทส์ที่คล้ายแบคทีเรีย

1. มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันคือ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 - 1.2 ไมโครเมตร

2. ส่วนที่ขาดออกเป็นท่อนๆ(fragment) จะมีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียในกลุ่มMycobacterium และ Coryneform ไม่ว่าจะเป็นรูปร่างการติดสีย้อมและลักษณะทางสรีระวิทยา

3. ถูกทำลายได้โดยแบคเทอริโอฝาจและสารปฏิชีวนะประเภทเดียวกันกับที่ทำลายแบคทีเรีย

4. ผนังเซลล์ไม่มีไคติน หรือเซลลูโลสแต่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของน้ำตาล และกรดอะมิโนซึ่งคล้ายกับผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก

แอคติโนมัยซีทส์เป็นแบคทีเรียที่เจริญเป็นเส้นใยแตกกิ่งก้านอยู่ภายในดินทั้งหมด (ยกเว้นสกุล *Actinomyces*) ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Schlegel, 1997) ส่วนมากสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ผลิตสปอร์เดี่ยว คู่ หรือสายโซ่ที่เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) ซึ่งอยู่บนเส้นใยอากาศ (Coyne, 1999) บางสกุลสร้างสปอร์อยู่ในถุงหุ้มสปอร์ที่เรียกว่า สปอร์แรงเจียม (sporangium) (Buchanan และ Gibbon, 1974)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญของเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ เจริญโดยสร้างเส้นใยแตกกิ่งก้านให้เห็นได้บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์หลังจากทำการบ่มเชื้อไปแล้ว 24 ช.ม. และจะปรากฏให้เห็นโคโลนีหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้ว 3 - 4 วัน แต่เส้นใยและสปอร์จะพัฒนาเต็มที่เมื่อเวลาผ่านไป 7 - 14 วัน บางสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบเจริญช้าอาจใช้เวลานานถึง 1 เดือน การแบ่งตัวของเส้นใยจะทำให้เกิดกลุ่มของเส้นใยที่แทงผ่านลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate mycelium) และเส้นใยที่แบ่งตัวแตกกิ่งก้านทับซ้อนซ้ำๆ กันขึ้นไปบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ (aerial mycelium) จนกลายเป็นกลุ่มของเส้นใยที่ยึดกันแน่นหนาทำให้เกิดเป็นโคโลนีที่มีลักษณะเหนียวข้นมองดูคล้ายแผ่นหนัง (Williams, 1989)

แอคติโนมัยซีทส์ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ (photosynthetic) ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบอิสระเจริญบนอินทรีย์สารที่เน่าเปื่อยผุพัง บางชนิดเป็นพาหะนำโรคสู่มนุษย์เช่น *Mycrobacterium leprae* สาเหตุของโรคเรื้อน และ *M. tuberculosis* เป็นสาเหตุของโรควัณโรค แอคติโนมัยซีทส์อื่นๆเป็นพาหะนำโรคของสัตว์ และพืช แต่แอคติโนมัยซีทส์ที่พบในดินไม่เป็นอันตราย บางชนิดมีประโยชน์ เช่น แอคติโนมัยซีทส์ในสกุล *Frankia* จะอยู่รวมกับพุ่มไม้และต้นไม้ใหญ่มีส่วนช่วยในการตรึงไนโตรเจน (Coyne, 1999)

**2.2 ประชากรและสภาพแวดล้อม**

แอคติโนมัยซีทส์สามารถพบทั่วไปไม่เฉพาะแต่ในดินหลาย ชนิดอาศัยอยู่เป็นส่วนประกอบของปุ๋ยหมัก ตะกอนในแหล่งน้ำและก้นทะเลสาบ มีปริมาณมากเป็นอันดับสองของแบคทีเรียในดิน ซึ่งมีจำนวน $10^5$ - $10^8$ propagules / g soil (propagule เป็นส่วนหนึ่งของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญและสืบพันธุ์ได้) แอคติโนมัยซีทส์จะพบมากในทุ่งหญ้า ดินในแปลงเพาะปลูกและดินที่ทำการเกษตร ตามลำดับ ซึ่งจำนวนขึ้นกับสารอินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบนิเวศ ถ้าขุดดินให้ลึกลงจำนวนแอคติ-โนมัยซีทส์จะน้อยลง แต่จะมีจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆมากขึ้นเนื่องจากแอคติโนมัยซีทส์เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนสำหรับการเจริญ ฉะนั้นจะเจริญได้ไม่ดีในดินที่เปียกและไม่ทนต่อความแห้งแล้งยกเว้นสปอร์ เพราะร้อยละ 30 - 90 ของแอคติโนมัยซีทส์จะสามารถคืนสภาพได้หลังจากที่อยู่ในสภาวะที่แห้งแล้ง แอคติโนมัยซีทส์เจริญได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แยกได้จากดินที่มีความร้อนมากกว่าดินที่มีความเย็น เนื่องจากสปอร์สามารถคืนสภาพได้พบในดินที่มีความร้อนมากกว่าดินที่มีความเย็น แต่ไม่ได้หมายความว่าจะชอบอุณหภูมิสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ที่ 28 -37 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 55 - 65 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยซีทส์สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นด่างได้ดี พบว่าในดินที่เป็นด่างจุลินทรีย์ที่แยกได้มักเป็นแอคติโนมัยซีทส์ถึงร้อยละ 95 แต่ในทางกลับกันแอคติโนมัยซีทส์ไม่ทนต่อสภาวะเป็นกรดอาจและอาจเหลือเพียงร้อยละ 1 เมื่อค่าพีเอชน้อยกว่า 5 คุณสมบัติที่ไม่ทนกรดถูกนำมาใช้ควบคุมแอคติโนมัยซีทส์ที่เป็นพาหะโรคพืชได้ เช่น สามารถควบคุมโรค potato scrab ที่เกิดจาก *Streptomyces scabies* โดยปรับดินให้มีความเป็นกรดได้ แอคติโนมัยซีทส์เป็นพวก saprophytes ดังนั้นเมื่ออินทรีย์สารเพิ่มขึ้นจำนวนของแอคติโนมัยซีทส์ก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

จำนวนและชนิดของแอคติโนมัยซีทส์ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ภายในดิน เช่น อุณหภูมิของดิน ชนิดของดิน ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ปริมาณอินทรีย์สาร พืชที่อาศัยในดิน ความลึกของหน้าดิน และปริมาณความชื้น แอคติโนมัยซีทส์จะพบได้น้อยในดินที่ชุ่มน้ำซึ่งมีออกซิเจนต่ำ ดินจากป่าที่มีค่าพีเอชต่ำ จะมี *Streptomyces* ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่เป็นกรดได้ ในขณะที่พื้นที่แห้งแล้งมีค่าพีเอชเป็นเบส จะมี *Streptomyces* เล็กน้อย และไม่ค่อยพบสกุล *Actinoplanes* และ *streptosporangium* ตัวอย่างดินที่ดีควรเก็บจากผิวหน้าดินลึกลงไป 4 เซนติเมตร ควรทำการวิเคราะห์ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างถ้าเก็บไว้นานเกินไปจะทำให้ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ลดลง ดินควรเก็บไว้ในถุงพอลิเอทิลีนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่านั้นถึงจะดีที่สุด (Labeda, 1990)

แอคติโนมัยซีทส์มีช่วงการเจริญที่ยาวนานกว่ารา และแบคทีเรีย เมื่อสารอาหารมีสูงระดับการแข่งขันในอาหารมีปริมาณมากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จะมีปริมาณน้อยลง และเมื่อสารอาหารมีอยู่อย่างจำกัดและระดับการแข่งขันน้อยลง เชื้อแอคติโนมัยซีทส์จะมีปริมาณน้อยสูงขึ้น

การใช้แหล่งคาร์บอน ประกอบด้วยโมเลกุลของคาร์บอนที่มีความซับซ้อนน้อยไปจนถึงโมเลกุลที่มีความซับซ้อนสูงจากกรดอินทรีย์และน้ำตาลจนไปถึงพอลิแซคคาไรด์ ส่วนไขมัน สารประกอบไฮโดรคาร์บอนประเภทอะลิฟาติก (aliphatic) และเซลลูโลส สามารถถูกย่อยโดยกลุ่ม Streptomycetes นอกจากนั้น *Micromonospora* ก็เป็นสกุลที่สามารถย่อยสลายไคติน เซลลูโลส กลูโคซิเดส (glucosides) และ เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) ได้

## 2.3 ประโยชน์ของเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์

สมาชิกในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์นี้มีประโยชน์ เช่น ย่อยสลายซากพืชสัตว์ในดิน ทำให้ดินอุดมสมบูรณ์ บทบาทของแอคติโนมัยซีทส์ต่อระบบนิเวศน์ของดินก็คือ เป็นตัวการย่อยสลายอินทรียวัตถุโดยเฉพาะสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น เซลลูโลส เช่นเดียวกับเชื้อราแต่จะเจริญหลังจากที่เชื้อราและแบคทีเรียได้เจริญเต็มที่และลดจำนวนลงแล้ว ตั้งแต่ช่วงปลายทศวรรษ 1970 เป็นต้นมาพบว่าแอคติโนมัยซีทส์สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนได้โดยการอยู่ร่วมกันกับรากพืชหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขตอบอุ่นประเภทผลไม้เนื้ออ่อน นอกจากนี้ก็มีรายงานด้วยว่าแอคติโนมัยซีทส์บางชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่ออยู่ร่วมกับรากข้าวในนาน้ำขังไม่เฉพาะเจาะจงเหมือนกับแบคทีเรียไรโซเบียมกับรากพืชตระกูลถั่วเท่านั้น และนอกจากทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สารหลายชนิดแล้วยังมีความสำคัญทางการแพทย์และทางอุตสาหกรรม โดยสามารถนำมาผลิตสารที่มีประโยชน์หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ วิตามิน และเอนไซม์ เป็นต้น เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อกลุ่มสำคัญที่ผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส สารฆ่าแมลง สารปราบวัชพืช รวมไปถึงสารต่อต้านมะเร็ง และสารกดระบบภูมิคุ้มกัน (Goodfellow และคณะ, 1988) แต่ที่นิยมศึกษาในเรื่องของการสร้างสารทุติยภูมิ ได้แก่ เชื้อกลุ่ม Sporostreptomycetes, Norcardioform และActinoplanete โดยเฉพาะเชื้อสกุล *Streptomyces* มีความสำคัญในการผลิตสารปฏิชีวนะที่ใช้ในทางการแพทย์ การเกษตรและอาหาร

**2.4 สารปฏิชีวนะ (Antibiotic)**

ในปี ค.ศ. 1940 ก่อนที่สารปฏิชีวนะจะได้รับการพัฒนามีเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์เพียง 5 สกุลเท่านั้นที่พบว่าสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ แต่ปัจจุบันพบว่ามีมากกว่า 80 สกุลแล้ว (Coyne, 1999)

คำว่า Antibiotic เดิมมาจากคำว่า Antiobiosis ซึ่ง Voillemin ได้เป็นผู้นำมาใช้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1889 หมายถึง สภาพสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ขับสารบางอย่างออกมาทำลายการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ต่อมาในปี ค.ศ. 1940 Waksman และคณะได้พบ Actinomycin ที่ผลิตจากเชื้อ กลุ่มแอคติ-โนมัยซีทส์ และในปี ค.ศ. 1945 พบสาร Streptomycin จากเชื้อ *Streptomyces griseus* ซึ่งพบว่าสารนี้มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ และแบคทีเรียติดสีทนกรด (Acid-fast bacteria) ในปี ค.ศ. 1945 Waksman เรียกสารที่สร้างจากจุลินทรีย์ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อว่า Antibiotic ซึ่งมีความหมายว่า สารเคมีชนิดหนึ่งที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นและมีสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ (Pelzar, 1986)

สารปฏิชีวนะจัดเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ซึ่งส่วนใหญ่มากกกว่า 6,000 ชนิด ผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ เชื้อรา และแบคทีเรียชนิดอื่น ร้อยละ 71.1, 18.2 และ 10.7 ตามลำดับ เชื้อในแอคติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดคือ *Streptomyces* โดยผลิตได้ร้อยละ 80.2 (ประมาณ 3,500 ชนิด) เชื้อ *Micromonospora* ผลิตได้ร้อยละ 6 (258 ชนิด) เชื้อ *Nocardia* ผลิตได้ร้อยละ 3.7 (156 ชนิด) นอกจากนี้ยังมีเชื้อแอคติโนมัยซีทส์สกุลต่างๆที่นำมาผลิตสารปฏิชีวนะได้ เช่น เชื้อในสกุล *Micropolyspora* (Pelza, 1986), *Streptoverticilium*, *Actinoplanes*, *Actinomadura*, *Streptosporangium*, *Saccharopolyspora*, *Dactylosporangium*, *Chiania*, *Nocardiopsis*, *Ampullariella*, *Amycolatopsis*, *Kitasatosporia*, *Pseudonocardia*, *Saccharothrix*, *Microtetraspora*, *Planobispora*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Microcellobosporia*, *Streptoalloteichus*, *Actinosporangium*, *Kibdelosporangium*, *Actinosynnema*, *Microbispora*, *Planomonospora* และ *Saccharomonospora* (Berdy, 2005)

**ตารางที่ 1** แสดงชนิดของสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

| ชนิดจุลินทรีย์ | จำนวนสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้ |
|---|---|
| **เชื้อรา** | |
| Phycomycetes | 14 |
| Ascomycetes | 299 |
| *Penicillium* | 123 |
| *Aspergillus* | 115 |
| Basidiomycetes | 140 |
| Imperfect Fungi | 315 |
| **แบคทีเรีย** | |
| *Pseudomonas* sp. | 171 |
| *Enterobacteria* | 36 |
| *Micrococci* | 16 |
| *Lactobacilli* | 28 |
| *Bacilli* | 338 |
| Miscellaneous bacteria | 274 |
| **แอคติโนมัยซีทส์** | |
| *Mycobacterium* sp. | 4 |
| *Actinoplanes* sp. | 18 |
| *Streptomyces* sp. | 3,872 |
| *Micromonospora* sp. | 41 |
| *Thermoactinomyces* sp. | 17 |
| *Nocardia* sp. | 48 |
| **แอคติโนมัยซีทส์สกุลอื่นๆ** | 2,078 |

ที่มา : Coyne, 1999

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา และจุลินทรีย์ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส(Prokaryotes cell) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ แต่จากตารางแสดงให้เห็นว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ได้มากจากเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์

สารปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ประมาณร้อยละ 75 สร้างมาจากสมาชิกในสกุล *Streptomyces* ตัวอย่างเช่น

1. Streptomycin ⟶ *Streptomyces griseus*
2. Chloramphenicol ⟶ *Streptomyces venezuela*
3. Aureomycin, tetracycline ⟶ *Streptomyces aureofacien*

**2.5 การเจริญและการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ**

Bu'Lock และคณะ (1975) เริ่มใช้คำว่า trophophase สำหรับเรียกระยะการเจริญ (growth phase) และใช้ idiophase เรียกระยะที่มีการผลิต idiolites หรือ สารทุติยภูมิ เช่น สารปฏิชีวนะ การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะนั้นเป็นลักษณะผันแปรของสิ่งมีชีวิตที่การผลิต และการสูญเสียความสามารถในการผลิตไม่ได้นำมาซึ่งการสูญเสียความสามารถในการเจริญแต่การผลิตจะเกิดขึ้นภายหลังจากมีการเจริญเกิดขึ้น (Kanoksilpatham, 1981) การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะจะเริ่มขึ้นในช่วงสุดท้ายของระยะการเจริญที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว (exponential phase) ของจุลินทรีย์ใน batch culture (Haavik, 1974a, 1974b; Malik และ Vining, 1970) ในกรณีที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีธาตุอาหารเป็นส่วนประกอบอยู่น้อย ทำให้จุลินทรีย์ที่เจริญช้าผลิตสารปฏิชีวนะได้เหมือนกัน และอัตราการเจริญ (growth rate) ของสิ่งมีชีวิตที่ผลิตสารปฏิชีวนะ ก็มีอิทธิพลบ้างเหมือนกันในรูปแบบของการผลิตในสภาพธรรมชาติ การผลิตสารปฏิชีวนะอาจจะเป็นประโยชน์ต่อการอยู่รอด เนื่องจากมีอาหารจำกัดสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ (Gottlieb, 1976) การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะบางชนิด เช่น edeine; bactracin; gramicidin; tyrocidines และ polymyxins ซึ่งเกิดขึ้นในขณะที่มีการสร้าง endospore ในแบคทีเรียกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นท่อนและสารบางชนิดเกิดขึ้นในขณะที่มีการสร้างโคนิเดียในพวก *streptomyces* (Halvorson และคณะ, 1972; Demain และ Piret, 1979) ซึ่งสารเหล่านี้มีความจำเป็นสำหรับการสร้างสปอร์ หรือเกี่ยวกับการอยู่รอดในช่วงระยะที่มีการงอกของสปอร์ เหตุผลที่สอดคล้องกันอย่างเห็นได้ชัดคือ *Bacillus polymyxa* สายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ (asporogenic strains) จะไม่สามารถผลิต polymyxins และสารที่มีผลยับยั้งการสร้างสปอร์และจะยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะในสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ด้วยเหมือนกัน (Paulus, 1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ ได้แก่ ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาพของการเลี้ยงเชื้อ ดังในตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

| ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ | สภาวะต่างๆในการหมัก |
|---|---|
| แหล่งคาร์บอน | พีเอช |
| แหล่งไนโตรเจน | อุณหภูมิ |
| ฟอสเฟตอนินทรีย์ (Inorganic phosphate) | ออกซิเจน |
| แร่ธาตุ | อื่นๆ |
| สารพรีเคอเซอร์ (Precursors) | |
| สารชักนำ | |
| สารยับยั้ง | |
| อื่นๆ | |

ที่มา : Iwai และ Omura (1982)

## 2.7 การแยกเพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตัวอย่างดิน

การแยกเพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตัวอย่างดินให้ได้ผลดีขึ้น จะต้องกำจัดหรือจำกัดการเจริญของเชื้อรา และการกระจายของแบคทีเรียในอาหารที่ใช้แยก ซึ่งอาจทำได้โดยการควบคุมองค์ประกอบของอาหาร เติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือในตัวอย่างดินก่อนที่จะนำมาแยกเชื้อ (Porter, 1971) องค์ประกอบของอาหารที่ควบคุมเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยซีทส์เจริญได้ดีกว่าเชื้อชนิดอื่นๆได้แก่ แหล่งคาร์บอน เช่น แป้ง และกลีเซอรอล แหล่งไนโตรเจน เช่น เคซีน แอสปาราจีน และ อาร์จีนีน เป็นต้น (El-Nakeeb และ Lechavalier, 1963) พบว่าการแยก *Streptomyces* จากปุ๋ยหมักโดยใช้ starch casein agar ทำให้เชื้อเจริญได้ดี (Kuster และ William, 1964)

การป้องกันและลดจำนวนเชื้อรา ทำได้โดยเติมสารยับยั้งการเจริญบางอย่างลงไป เช่น sodium propionate 0.4 เปอร์เซ็นต์ (Crook และคณะ, 1950)

Lawrence (1956) ลดการปะปนของเชื้อราและแบคทีเรียในตัวอย่างดินก่อนจะนำไปแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ โดยการเติมสารฟีนอลที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 400 ลงในตัวอย่างดินนาน 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำสารละลายดินไปปั่นด้วยแรงเหวี่ยง 1,690 กรัม นาน 20 นาที จะทำให้จุลินทรีย์อื่นๆ ตกตะกอน ยกเว้นแอคติโนมัยซีทส์ (Rechacek, 1971) rose Bengal ในปริมาณ 350 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 ลิตรจะสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและการกระจายของเชื้อราได้เช่นเดียวกัน (Ottow, 1972)

### 2.8 การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วิธีการคัดเลือกแบบต่างๆที่นำมาใช้แยกจุลินทรีย์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทำได้ทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว วิธีการศึกษาที่ใช้กันมากในระยะแรกๆ ก็คือ crowded plate techniques (Waskman, 1959) วิธีนี้ใช้ตรวจหาจุลินทรีย์ในดินที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆในดินหลังจากที่บ่มเชื้อไม่เกิน 1 ใน 2 วัน ซึ่งทำได้โดยการใส่สารละลายของตัวอย่างที่มีเชื้อเจริญอยู่ตามธรรมชาติ (natural substrates) ลงในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วตรวจหาจุลินทรีย์ที่ให้บริเวณยับยั้ง (inhibition zone) นอกจากนี้ยังได้พยายามแยกความแตกต่างระหว่างจุลินทรีย์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และไม่สร้างออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ (test organism) ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ซึ่งใส่อาหารเลี้ยงเชื้อที่เร่งให้เชื้อสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบนั้นอาจทำได้โดยพ่นทับลงบนผิวหน้าอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ หรือ water sugar suspension ของเชื้อดังกล่าว

Kelner (1948) ได้คิดวิธีทดสอบเพื่อหาเชื้อที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งประกอบด้วยชั้นของวุ้น 4 ชั้น (four agar layer plate) ชั้นแรกประกอบด้วยอาหารที่ฆ่าเชื้อแล้ว 15 มิลลิลิตร ชั้นที่สองประกอบด้วย 0.5 มิลลิลิตรของอาหารเหลว ซึ่งมีวุ้นร้อยละ 0.25 กับสารละลายดินที่จะให้เชื้อ 30-50 โคโลนีต่อจาน ชั้นที่สามประกอบด้วยชั้นของหารวุ้นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10-15 มิลลิลิตร และชั้นที่สี่จะใช้อาหารวุ้นที่มีสารละลายแบคทีเรีย 3 มิลลิลิตร เททับลงบนผิวหน้า

Lechavalier และ Corke (1953) คิดวิธีตรวจสอบหาเชื้อที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการดัดแปลงมาจากวิธีการของ Lederberg's replica plate method (Lederberg, 1952) ซึ่งทำได้โดยใส่เชื้อที่เจริญอยู่ตามธรรมชาติลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเหมาะสมต่อการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งหมดทำซ้ำ 4 ครั้งหรือมากกว่า 1 ใน 4 เก็บไว้ในตู้เย็น ส่วนที่เหลือปลูกด้วยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบแล้วตรวจหาเชื้อที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วิธีการคัดเลือกเชื้อบนอาหารแข็งที่นิยมใช้มากอีกวิธีหนึ่งคือ cross streak plate (Waskman, 1959) วิธีนี้ทั้งเชื้อแอคติโนมัยซีทส์และเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจะเจริญบนอาหารชนิดเดียวกันเพราะฉะนั้นก็ต้องเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อทั้งสองประเภท Vanek และคณะ (1958) ใช้วิธีเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ให้เจริญบนอาหารวุ้น 24 ชั่วโมง แล้วตัดวุ้นที่มีเชื้อเจริญออกเป็นชิ้นวางลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรียที่ใช้เป็นเชื้อทดสอบการเจริญอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Weinstein และคณะ (1964) พยายามคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสนใจจุลินทรีย์พวกแอคติโนมัยซีทส์ในสกุล *Micromonospora* ซึ่งมีผู้ศึกษาน้อยมาก และพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ ๆ หลายชนิดจากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในสกุลนี้ได้แก่ gentamycin, everninomicin, holomicin และ megalomicin การค้นพบนี้ทำให้การค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่มุ่งไปทางด้านวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการแยก และคัดเลือกจุลินทรีย์พวกแอคติโนมัยซีทส์ในสกุลอื่นนอกจาก *Streptomyces* มากขึ้น ในดินจะพบแอคติโนมัยซีทส์ในสกุลอื่นได้น้อยกว่า *Streptomyces* (Nonomura และ Ohara, 1969) แอคติโนมัยซีทส์ที่พบได้ยากนี้สามารถผลิตสารปฏิชีวนะใหม่ ๆ เช่น สกุล *Actinoplanes* แต่มักจะมีความสามารถในการผลิตต่ำ และการเจริญอย่างช้าๆฉะนั้นการค้นคว้าและพัฒนาเกี่ยวกับจุลินทรีย์พวกนี้จึงเป็นไปได้ยาก (Iwai และ Omura, 1982)

## 2.9 การจัดจำแนกเชื้อ (Classification)

โดยทั่วไปอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และการจัดจำแนกด้วยองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ (cell chemistry)

1. สัณฐานวิทยา ลักษณะทั่วไปที่ใช้จำแนก เช่น เส้นใย ชนิดของโคนิเดีย (conidia) สปอร์แรงเจีย (sporangia) เป็นต้น

2. องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์

แอคติโนมัยซีทส์มีผนังเซลล์ประกอบด้วย mucopeptide (N-acetyl glucosamine เชื่อมกับ N-acetyl muramic acid); L-2,6-diaminopimelic acid; glutamic acid; glycine และ alanine (Waksman และ Henrici, 1974) ในแอคติโนมัยซีทส์แต่ละกลุ่มยังมีส่วนประกอบของผนังเซลล์ที่แตกต่างกันออกไปอีก เช่น รูปแบบของน้ำตาล ซึ่งใช้เป็นหลักในการจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์สกุลต่างๆ (Buchanan และ Gibbons, 1974)

การจัดจำแนกเชื้อในชั้นแอคติโนแบคทีเรีย (Actinobacteria) ทำได้โดยใช้ 3 ลักษณะดังต่อไปนี้ ลักษณะแรกการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานเคมี (Chemotaxonomy) เป็นการตรวจความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ เช่น เปปทิโดกลัยแคน กรดไขมัน ไอโซปรีนอยด์ควิโนน ไซโตโครม และสัดส่วนของเบส (base compositon) ลักษณะที่สอง DNA-DNA reassociation เป็นการวัดความคล้ายคลึง(similarity)ระหว่างดีเอนเอสายเดี่ยวของสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงระดับสกุล (Stackebrandt และ Kendler, 1979) ลักษณะที่สามการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA genesทั้งสามวิธีที่กล่าวมานั้น เมื่อใช้ร่วมกันจะทำให้การจัดจำแนกมีความถูกต้องแม่นยำ ซึ่งเรียกการใช้ทั้งสามวิธีร่วมกันนี้ว่า “polyphasic taxonomy” (Colwell, 1970)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.10 ลักษณะทั่วไปของเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ที่สำคัญ

แบ่งเป็นกลุ่มที่สร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุด 3 กลุ่มใหญ่คือ Streptomycetes, Actinoplanete และ Norcardioform (Okami และ Hotta, 1988)

*Streptomyces* จัดเป็นสมาชิกสกุลสำคัญ มีมากถึง 90เปอร์เซ็นต์ของแอคติโนมัยซีทส์ทั้งหมด องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ประกอบด้วย เปปติโดไกลแคนชนิด A ที่มีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 3 ของสาย N-acetylmuraminic acid เป็น LL-DAP มีฟอสโฟลิปิดประเภท IT (PII type) คือ ประกอบด้วย phosphatidylinositol และ phospatidylethanolamine อนุพันธ์ของมีนาควิโนน MK-9($H_8$) และน้ำตาลภายในเซลล์ประกอบด้วย อะราบิโนส กาแลคโตส และไซโลส (Williams และคณะ, 1989) ลักษณะของ *Streptomyces* เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจะสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) ฝังลงไปในเนื้อวุ้นและสร้างเส้นในอากาศ (aerial mycelium) ซึ่งสร้างสปอร์เป็นสายสปอร์รูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ สายสปอร์แบบเส้นตรง (rectiflexibile) แบบลูป (retinaculiaperti) และแบบเวียนเกลียว (spiral) ผิวโคโลนีที่เห็นจะมีลักษณะเรียบหรือขรุขระมีหลายสี ได้แก่ ขาว เทา แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน และม่วง ซึ่งเป็นสีของสปอร์ที่อยู่ด้านบน ส่วนด้านล่างโคโลนีมีเส้นใยอาหารเป็นสีน้ำตาลส่วนใหญ่ แต่อาจพบสีอื่น ๆ เช่นเดียวกับสีสปอร์ได้ *Streptomyces* สามารถสร้างรงควัตถุเมลานินและรงควัตถุอื่นที่ละลายออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนก *Streptomyces* ออกจากแอคติโนมัยซีทส์สกุลอื่นได้ (Shirling และGottlieb, 1966) นอกจากนี้ยังผลิตสาร geosmin (trans-1,10-dimethyl decalol) ซึ่งมีกลิ่นเฉพาะตัวคล้ายกลิ่นดิน (earth odor) จุลินทรีย์กลุ่มนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 6.5-8.0 โดยใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงานได้หลายประเภท เช่น กลูโคส กลีเซอรอล และเปปโตน เป็นต้น มักจะทนเค็มได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 ขึ้นไป บางชนิดอาจทนเค็มได้ถึงร้อยละ 13 สำหรับการสร้างสารปฏิชีวนะ *Streptomyces* จำเป็นต้องอาศัยแร่ธาตุบางชนิด ได้แก่ โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น (Williams และคณะ, 1989)

*Streptomyces* สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายประเภท ได้แก่ สารต่อต้านแบคทีเรีย เช่น ampicillin และpenicillin-N ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงเบต้าแลคแทม (beta-lactem ring) ที่มีสมบัติยับยั้งการสร้างเปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย ส่วนสารซึ่งมีสมบัติต่อต้านเชื้อรา ได้แก่ nystatin, polyoxin และ anthracycline เป็นต้น nystatin มีโครงสร้างเป็น polyene มีสมบัติฆ่าเชื้อราได้หลายชนิด (broad-spectrum fungicide) สำหรับ polyoxin มีโครงสร้างเป็น nucleoside มีผลต่อการสร้างผนังเซลล์เชื้อรา ส่วน anthracycline นอกจากเป็นสารต่อต้านเชื้อราแล้วยังเป็นสารต่อต้านมะเร็งด้วย โดยมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ topoisomeraseII ในเชื้อราทำให้ไม่สามารถเกิดการจำลองดีเอ็นเอได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ *Streptomyces* ยังสามารถสร้างสารฆ่าแมลงที่ออกฤทธิ์กว้าง ได้แก่ สารในกลุ่ม macrolide เช่น avermecin สารฆ่าวัชพืช เช่น phosphinothricin สารกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressant) เช่น rapamycin และสารต่อต้านมะเร็ง เช่น limocrocin ซึ่งจะยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase ของไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรค สำหรับ *Streptomyces* ที่เป็นสาเหตุก่อโรค พบเพียงเล็กน้อย เช่น *S. scabies* ก่อโรค potato scab, *S. somaliensis* ก่อโรค actinomycetoma ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และ *S. albus* ก่อโรคหอบหืดในคน เป็นต้น (Goodfellow และคณะ, 1988)

แอคติโนมัยซีทส์กลุ่ม Norcardioform มีลักษณะที่ต่างกันอย่างหลากหลายsubstrate mycelium จะแตกหักออกเป็นท่อนสั้นๆ และบางสกุลสร้าง aerial hypha ที่ปลายมี arthrospore ประกอบด้วยสมาชิกสกุลต่างๆที่มี wall chemotypes แตกต่างกันหรือการมี mycolic acid เป็นองค์ประกอบที่ผนังเซลล์ หรือลักษณะอื่นๆ

แอคติโนมัยซีทส์กลุ่ม actinoplane สกุลที่สร้างสารปฏิชีวนะมากที่สุดคือ *Micromonospora* ผนังเซลล์ของเชื้อสกุลนี้ประกอบด้วยเปบติโดไกลแคนประเภท A โดยมีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 3 ของสาย N-acetylmuraminic acid เป็น meso-DAP มีฟอสโฟลิปิดแบบ PII และอนุพันธ์ของมีนาควิโนนเป็นแบบ MK-9(H4) , MK-10(H6) หรือ MK-12(H6) โดยน้ำตาลในเซลล์ประกอบด้วย อะราบิโนสกับไซโลส (Kawamoto, 1989) *Micromonospora* ที่เจริญบนอาหารแข็งสร้างโคโลนีขนาดเล็กซึ่งเป็นส่วนของเส้นใยอาหารมีทั้งโคโลนีสีส้ม แดง ดำ น้ำตาล เขียว และม่วง แต่ไม่สร้างเส้นใยอากาศ อาจพบการสร้างสปอร์อยู่บนผิวของโคโลนี เห็นเป็นสีดำและเป็นเมือก จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้อาจสร้างรงควัตถุสีเหลือง แดง ม่วงหรือดำในอาหารแข็งได้สปอร์ของ *Micromonospora* ทนความร้อนและความเย็นได้ดี เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการ

## 3.1 อุปกรณ์

| | |
|---|---|
| เครื่องแก้วต่างๆ | บริษัท Pyrex, USA. |
| ตู้ปลอดเชื้อ | รุ่น UV – 126 บริษัท International scientific supply, Thailand. |
| กล้องจุลทรรศน์ | บริษัท Olympus, Japan. |
| เครื่องปั่นเหวี่ยง | Sanyo รุ่น Falcon บริษัท Thaipolymedic CO., LTD., Thailand |
| หม้อนึ่งความดันไอ | HIRAYAMA รุ่น KICLAVE, Japan. |
| เครื่องวัดค่าพีเอช | EUTECH INSTRUMENT P4510, USA. |
| เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง | รุ่น BA 610 บริษัท Sartorius, Germany. |
| ตู้บ่มเชื้อ | รุ่น BE 600 บริษัท Memmert, Germany. |
| ตู้อบไอร้อน | รุ่น LUE 600 บริษัท Memmert, Germany. |
| อ่างควบคุมอุณหภูมิ | บริษัท Memmert, Germany. |

## 3.2 วิธีการทดลอง

### 3.2.1 การเก็บตัวอย่าง การแยก และการคัดเลือกเชื้อ

#### 3.2.1.1 การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างที่เก็บ ได้แก่ ดินบริเวณรากไม้และดินทั่วไปในในธรรมชาติที่มีลักษณะที่น่าสนใจ ทำการเก็บตัวอย่างดินปริมาณ 500 กรัม และรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งถึงกระบวนการแยกเชื้อ และทำการวัดพีเอชของดินตามวิธีของ Enokita (Enokita และคณะ, 1986)

#### 3.2.1.2 การแยกเชื้อ

การแยกเชื้อทำโดยวิธี Spread plate (Tortora และคณะ, 1995) นำตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาณ 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดสารละลาย 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี 1.5% Phenol ละลายใน Phosphate buffer พีเอช 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนปรับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที ดูดสารละลาย 0.5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาณ 4.5 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร และเกลี่ยบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร Humic acid - vitamin agarที่ผสมสารปฏิชีวนะ(nystatin, nalidixic acid และ cycloheximide ) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน เลือกเก็บโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อแอคติ-โนมัยซีทส์ ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร Yeast extract – malt extract agar จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารเอียง (slant) เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

**3.2.1.3 การคัดเลือกเชื้อขั้นต้น**

ทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร yeast extract – malt extract agar โดยการขีดเป็นเส้นตรงเดี่ยวยาวตามแนวนอนจากขอบหนึ่งถึงอีกขอบหนึ่ง บ่มเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน เพื่อให้เชื้อผลิตสารและแพร่สารนั้นเข้าในเนื้อวุ้น จากนั้นตรวจสอบฤทธิ์ของสารที่ผลิตได้ด้วยจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Salmonella* sp. ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 และ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยลากจุลินทรีย์ทดสอบให้ชิดกับโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ และเป็นเส้นตรงตั้งฉากกับแนวของเชื้อ แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 1-2 วัน ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวัดระยะทางจากแนวของเชื้อจนถึงระยะที่จุลินทรีย์ทดสอบสามารถเจริญได้

**3.2.2 การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อที่มีฤทธิยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ**

ทำโดยอาศัยการศึกษาลักษณะต่าง ๆของเชื้อดังนี้

**3.2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อ** (Morphological and cultural characteristics)

ตรวจสอบลักษณะทางการเจริญโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่กำหนดอยู่ใน International *Streptomyces* Project (ISP) ชนิดต่าง ๆ โดยวิธี Crosshatch streak (Shiring และ Gottlied, 1966) ตรวจผลโดยดูการเจริญ เนื้อและสีของโคโลนีด้านบน สีของโคโลนีด้านล่างและรงควัตถุที่ละลายน้ำได้เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The Jacal Color Card L2200, Japan Color Research Institute) ตรวจดูลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ด้วยเทคนิค Simple inclined coverslip (Williams and Cross, 1971)

**3.2.2.2 ลักษณะทางชีวเคมี และสรีระวิทยา** (Biochemical and Physiological Characteristics)

**การใช้แหล่งคาร์บอน**

Basal agar medium เตรียมโดยใช้ ISP (Shiring และ Gottlieb, 1966) และเติม Casanmino acid ลงไป จากนั้นเติมแหล่งคาร์บอนเพื่อปรับเข้มข้นประมาณ 1%หลังจากการนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที คนส่วนผสมที่ได้ เทส่วนผสมลงไป 25 มิลลิลิตร บนจานเพาะเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยแหล่งคาร์บอนทดสอบที่สำคัญ ที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



| | |
|---|---|
| No carbon source | nagative Control |
| D-glucose | positive Control |
| D-mannitol | D-ribose |
| L-rhamnose | D-melibiose |
| Raffinose | Glycerol |
| Inocital | Salicin |
| Lactose | D-galactose |
| L-arabinose | Cellubiose |
| D-fructose | |

ในการเตรียมหัวเชื้อ เซลล์ของเชื้อที่เตรียมถูกล้าง ด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากอาหารเอียง (slant) ยีสต์-มอลต์สกัด (yeast-malt extract) และถ่ายเชื้อลงไปในหลอดทดลองที่ฆ่าเชื้อแล้ว สารละลายเซลล์แขวนลอย จะนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสที่ได้ออกจากส่วนที่ตกตะกอนนำไปทำให้เป็นเซลล์แขวนลอยอีกครั้ง ที่ได้ในน้ำกลั่น แยกส่วนใสที่ได้ 2 ครั้ง เติมน้ำกลั่นลงไปในส่วนที่ตกตะกอน เพื่อรักษาปริมาตรเดิมไว้ หัวเชื้อที่ได้นำมาใช้ในการทดสอบการใช้คาร์บอน จานเพาะเชื้อที่ไม่มีหัวเชื้อ ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หัวเชื้อปริมาณ 1 ลูป นำมาขีดตามขวางบนผิวของอาหารบนจานเพาะเชื้อ การลงเชื้อบนจานเพาะเชื้อ จะทำซ้ำ 2 ครั้ง และบ่มไว้ที่ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 -14 วัน ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบการเจริญ หรือการใช้แหล่งคาร์บอน โดยใช้ตัวควบคุม 2 ชนิดด้วยกันคือ เจริญบนอาหาร Basal agar medium และเจริญบนอาหาร Basal agar medium ที่มีกลูโคสรวมอยู่ด้วย

**การอ่านผลการทดลองมีดังนี้**

1. มีการใช้แหล่งคาร์บอน ( + ) เมื่อมีการเจริญเติบโตบนอาหาร Basal agar medium มากกว่าการเจริญเติบโตบน Basal agar medium ที่ปราศจากคาร์บอนเลย แต่บางครั้งก็น้อยกว่าการเจริญเติบโตบนBasal agar mediumที่มีกลูโคสรวมอยู่

2. มีการใช้แหล่งคาร์บอนไม่ชัดเจนนัก ( ± ) เมื่อมีการเจริญเติบโตบน Basal agar medium มากกว่า บน Basal agar medium ที่ปราศจากคาร์บอนเพียงเล็กน้อย และน้อยกว่าการเจริญเติบโตบน Basal agar medium ที่มีกลูโคส

3. ไม่มีการใช้คาร์บอน ( - ) เมื่อมีการเจริญบน Basal agar medium ใกล้เคียงหรือน้อยกว่าการเจริญบน Basal agar medium ที่ปราศจากคาร์บอน

67311

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การย่อยสลายแป้ง**

นำเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลต มาขีดเชื้อลงบนอาหารแข็งที่มีเกลือและแป้ง (ISP-A) บนจานเพาะเชื้อ (Shiring และ Gottieb, 1996) บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วันหลังจากการบ่มเชื้อแล้วเติมสารละลายแกรมไอโอดีนลงบนอาหารที่เพาะเชื้อไว้ ถ้ามีการย่อยสลายแป้งเกิดขึ้นจะไม่เกิดสีน้ำเงินเข้มบนอาหาร

**การย่อยสลายเจลาติน**

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตลงบนอาหาร Bouillon Gelatin Broth ในหลอดทดลอง (Arai, 1975) บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน หลอดทดลองที่ใส่เชื้อไว้จะนำมาเปรียบเทียบกับหลอดทดลองควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ โดยบ่มหลอดทดลองทั้งสองที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ถ้ามีการย่อยสลายเจลาตินเกิดขึ้นจะไม่เกิดการแข็งตัวของเจลาติน

**การย่อยสลายไนเตรท**

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตลงบนอาหารเหลวเปปโตนโพแทเซี่ยมไนเตรท (Peptone $KNO_3$ broth) (Arai, 1975) บ่มที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 - 6 วัน ในวันที่ 4 ถ่ายเชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมกรดซัลฟานิลิกลงไป 2 หยดและ N,N-dimethy-l-napthyllamine solution 3 หยด ถ้ามีไนไตรท์เกิดขึ้น สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูจนถึงสีแดง

**การตกตะกอนและการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม**

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตใน Skim milk 10 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วผสมกับน้ำกลั่นบ่มที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 - 14 วัน ถ้ามีการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมเกิดขึ้นน้ำนมจะเปลี่ยนเป็นสารละลายใส ถ้ามีการตกตะกอนของโปรตีน จะเกิดการตกตะกอนในน้ำนม

**การเจริญในอาหารความเข้มข้นของเกลือปริมาณต่างๆ**

ขีดเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลต ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร YMA (ISP Medium No.2) ซึ่งเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0% 1.5% 3% 4% 5% 6% และ 7% จากนั้นนำไปทำการบ่มที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 - 14 วัน แล้วบันทึกผลการเจริญที่ความเข้มข้นที่เชื้อสามารถเจริญได้

**การเจริญของที่อุณหภูมิต่างๆ**

ขีดเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตลงบนจานเพาะเชื้อบนอาหาร YMA (ISP Medium No.2) จากนั้นนำไปทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 - 14 วันแล้วบันทึกผลอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การเจริญของเชื้อในระดับความเป็นกรดด่างต่างๆ**

ขีดเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร YMA (ISP Medium No.2) ที่มีการปรับพีเอชให้เป็น 4, 4.5, 5, 6, 7 และ 8 จากนั้นนำไปทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 - 14 วันแล้วบันทึกผลการเจริญที่พีเอชที่เชื้อสามารถเจริญได้

**3.2.2.3 การวิเคราะห์ลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอในช่วง 16S rRNA gene และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ**

**ก. การสกัด DNA**

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ใน Yeast extract – Malt extract brothที่เติมไกลซีนร้อยละ 0.1-0.3 โดยเลี้ยงใน shaker ที่ 180 rpm อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2-3วัน เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสออก ล้างเซลด้วย saline-EDTA 2 ครั้งจากนั้นเติม 10mM Tris-HCl และ Lysozyme เพื่อทำลายผนังเซลล์ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เติม Tris-SDS 1 มิลลิลิตร นำไปแช่ไว้ในอ่างน้ำปรับอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ตกตะกอนโปรตีนด้วย phenol:chloroform เขย่าเบาๆ 10 นาทีเพื่อให้ตกตะกอนทั่วถึง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส เติม 99% cold ethanol 2/3 ของสารละลายทั้งหมด คนด้วยแท่งแก้ว(Spooling) ล้างด้วย 70% ethanol และ 99% ethanol จากนั้นตาก DNA ที่อุณหภูมิห้องรอจนแห้ง คน DNAที่พันอยู่ในแท่งแก้ว ใส่ 1xSSC ใส่หลอดทดลองแล้วปิดปากหลอดด้วย parafilm แล้วนำไปเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้ DNA บริสุทธิ์ โดยใช้ RNase T1 และ RNase A เพื่อทำลาย RNA ที่เหลือหลังจากนั้นทำตากขั้นตอนการสกัดเช่นเดิม

**ข. การวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ**

นำ DNA ที่แยกได้ (Tamaoka, 1994) มาเพิ่มปริมาณ DNA ในช่วง 16S rDNA โดยใช้ Universal primer ทำปฏิกิริยาในเครื่อง DNA Thermal cycler (GeneAmp PCR System 9700; Applied Biosystems) 16S rDNA ที่เพิ่มปริมาณได้จะถูกทำให้บริสุทธิ์และวิเคราะห์ลำดับเบสโดยใช้ ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystem) (DNA technology กำแพงแสน) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จะถูกทำการเปรียบเทียบ และalignment กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลของ Genbank/EMBL/DDBJ โดยใช้BLAST n program และ alignment software (ในกรณีนี้ใช้ CLUSTAL W program package) จำลองข้อมูลเป็น multi-data set และสร้าง phylogenetic trees ใน MEGA software program version 2.1 และวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการวิจัย

### 4.1 ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากดิน 20 ตัวอย่าง

เมื่อทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากดิน 20 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างของดินมี 3 ชนิดคือ ดินสวน(Garden Soil) ดินในนาข้าว (Rice field soil) และ ดินในบริเวณที่มีน้ำท่วมขัง (flooding soil) โดยดินสวน และดินในนาข้าว ได้มาจากจังหวัดราชบุรี ส่วนดินในบริเวณน้ำท่วมขัง ได้มาจากจังหวัดกาญจนบุรี

ค่าความเป็นกรดด่างของดินอยู่ในชาวง 7.08-7.95 จากการบนอาหาร Humic acid -Vitamin Agar สามารถคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ได้ 49 ไอโซเลตดัง แสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดด่าง และรหัสเชื้อที่สามารถแยกได้

| ลักษณะตัวอย่าง | รหัสตัวอย่าง | สถานที่ | ค่าความเป็นกรดด่าง | รหัสเชื้อ |
|---|---|---|---|---|
| ดินสวน | NRB2 | จ. ราชบุรี | 7.21 | 2-6<br>2-25<br>2-9<br>2-23 |
| ดินสวน | NRB3 | จ. ราชบุรี | 7.08 | 3-8<br>3-2<br>3-7<br>3-7(3) |
| ดินในนาข้าว | NRB4 | จ. ราชบุรี | 7.46 | 4-67<br>4-17<br>4-47<br>4-27 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3** ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดด่าง และรหัสเชื้อที่สามารถแยกได้ (ต่อ)

| ลักษณะตัวอย่าง | รหัสตัวอย่าง | สถานที่ | ค่าความเป็นกรดด่าง | รหัสเชื้อ |
|---|---|---|---|---|
| ดินในนาข้าว | NRB5 | จ. ราชบุรี | 7.83 | 5-25<br>5-48<br>5-22 |
| ดินในบริเวณน้ำท่วมขัง | OKB2 | จ.กาญจนบุรี | 7.95 | 2-12<br>9-2 |
| ดินในบริเวณน้ำท่วมขัง | OKB3 | จ.กาญจนบุรี | 7.69 | 3-1 |
| ดินในบริเวณน้ำท่วมขัง | OKB10 | จ.กาญจนบุรี | 7.82 | 10-4<br>10-4(1)<br>10-15<br>10-8<br>10-3<br>10-2<br>10-10<br>10-23<br>10-61<br>10-16<br>10-33<br>10-21<br>10-6<br>10-11<br>10-17<br>10-7 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3** ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดด่าง และรหัสเชื้อที่สามารถแยกได้ (ต่อ)

| ลักษณะตัวอย่าง | รหัสตัวอย่าง | สถานที่ | ค่าความเป็นกรดด่าง | รหัสเชื้อ |
|---|---|---|---|---|
| ดินในบริเวณน้ำท่วมขัง | OKB11-2 | จ.กาญจนบุรี | 7.55 | 11-2-3<br>11-2-6<br>11-2-4<br>11-2-7<br>11-2-11<br>11-2-9<br>11-2-8<br>11-2-13<br>11-2-1<br>11-2-2<br>11-2-5<br>11-2-11(2)<br>11-2-14<br>11-2-16 |
| ดินในบริเวณน้ำท่วมขัง | KB12 | จ.กาญจนบุรี | 7.24 | 12-2 |

**4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ**

ในจำนวนเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้ทั้ง 49 ไอโซเลต พบว่ามี 24 ไอโซเลตที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ ซึ่งส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แกรมบวกได้ดีกว่าจุลินทรีย์แกรมลบ มีเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp., *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *M. luteus* และ *B. subtilis* ได้ 5, 3, 4, 23 และ21 ไอโซเลต ตามลำดับ ในจำนวนเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้ง 24 ไอโซเลตนั้น มีอยู่ 16 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4** ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ

| รหัสเชื้อ | บริเวณการยับยั้ง (ซ.ม.) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Salmonella* sp. | *E. coli* | *Ps. aeruginosa* | *M. luteus* | *B. subtilis* | *C. albicans* |
| NRB 2-23 | - | - | - | 3.3 | 3.1 | - |
| OKB10-10 | - | - | - | 2.1 | 1 | 1.8 |
| OKB 10-23 | - | - | - | - | - | - |
| NRB3-7(3) | - | - | - | 4.7 | 4 | - |
| OKB 11-2-11 | - | - | - | 4.7 | 4.8 | 2 |
| OKB10-61 | - | - | - | - | - | - |
| NRB4-47 | - | - | - | - | - | - |
| ORB3-2 | - | - | - | - | - | - |
| NRB2-6 | - | - | - | - | 5.3 | - |
| NRB5-48 | - | - | - | 2.5 | 1.1 | - |
| OKB10-16 | - | - | - | - | - | - |
| OKB10-2 | - | - | - | - | - | - |
| NRB4-17 | - | - | - | 4.4 | - | - |
| OKB11-2-1 | - | - | 0.7 | 4.4 | 4.6 | - |
| NRB5-25 | - | - | - | - | - | - |
| NRB3-7 | - | - | - | - | 1.3 | - |
| OKB10-7 | 5 | 3.7 | - | 4.4 | 4.3 | 4.5 |
| OKB11-2-13 | 3.1 | - | - | 1.5 | 1.7 | 0.9 |
| OKB10-4(1) | 4.5 | - | - | 3.2 | 3 | - |
| OKB10-11 | - | - | - | 4.5 | - | - |
| NRB2-9 | - | - | - | 4.5 | 4.3 | 1.1 |
| OKB11-2-6 | - | - | - | - | 2.5 | 1.7 |
| OKB11-2-16 | - | - | - | 4.4 | 2.8 | - |
| KB12-2 | - | - | - | 4 | 3 | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4** ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ(ต่อ)

| รหัสเชื้อ | บริเวณการยับยั้ง (ซ.ม.) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Salmonella* sp. | *E. coli* | *Ps. aeruginosa* | *M. luteus* | *B. subtilis* | *C. albicans* |
| ORB13-8 | - | - | - | - | - | - |
| OKB10-4 | - | - | - | 1.5 | 1.5 | 1.8 |
| OKB10-6 | - | - | - | 4.5 | 4 | 4.5 |
| OKB10-15 | 1 | 1 | 1 | 4 | - | 2.5 |
| OKB11-2-3 | - | - | - | - | - | - |
| OKB11-2-4 | - | - | - | 4 | 3.5 | 4 |
| OKB10-8 | - | - | - | 4 | 1.8 | 4 |
| OKB10-21 | - | - | - | - | - | - |
| OKB2-12 | - | - | - | 3.8 | 3.5 | - |
| OKB11-2-14 | - | - | - | - | - | - |
| OKB11-2-9 | - | - | - | 3.8 | 3.5 | 2.4 |
| OKB11-2-11(2) | - | - | - | 4.3 | 4 | 1.8 |
| NRB2-25 | - | - | - | 4 | 4 | 2.6 |
| OKB11-2-8 | - | - | - | 0.7 | - | 1.5 |
| OKB11-2-7 | - | - | - | - | - | 1.8 |
| NRB4-67 | - | - | - | - | - | - |
| OKB10-17 | - | | 3.2 | - | - | - |
| OKB10-3 | - | - | - | - | - | - |
| OKB11-2-5 | - | - | - | - | - | - |
| OKB3-1 | - | - | - | - | - | - |
| OKB10-33 | - | - | - | - | - | - |
| OKB11-2-2 | - | - | - | - | - | 1.3 |
| NRB4-27 | - | - | - | - | - | - |
| OKB2-9 | - | - | - | - | - | - |
| NRB5-22 | - | - | - | 4 | 4.3 | 3.8 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

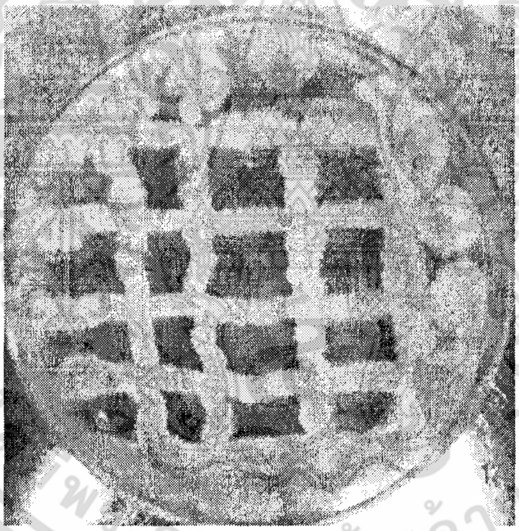
**4.3 ลักษณะทางฟีโนไทป์ของเชื้อที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ**

จากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้งหมด 49 ไอโซเลตที่คัดแยกได้ พบว่าสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 24 ไอโซเลต จากนั้นจึงนำเชื้อทั้ง 24 ไอโซเลตไปศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน โดยทำการศึกษาลักษณะต่างๆ ดังนี้

***4.3.1 ลักษณะการเจริญ และสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้***

ซึ่งเป็นการทดสอบลักษณะสีของเส้นใยอากาศ และเส้นใยอาหาร เมื่อทำการเลี้ยงในอาหาร ISP ชนิดต่างๆ สามารถจัดเชื้อเป็นกลุ่มได้ 5 กลุ่มดังนี้

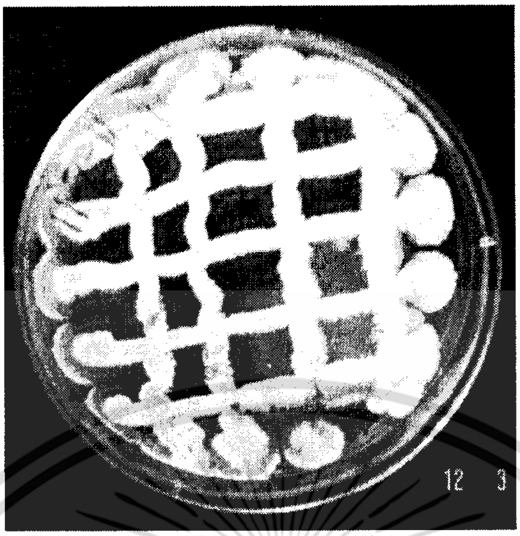
กลุ่มที่ 1 สร้างเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหารสีทอง เชื้อในกลุ่มนี้มี 5 ไอโซเลต ได้แก่ NRB 5-48 ซึ่งสามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาล, NRB 2-23, NRB 5-22, NRB 2-25 สามารถสร้างรงควัตถุสีเขียวมะกอก และ OKB 10-17 สามารถสร้างรงควัตถุสีส้ม



**รูปที่ 1** ไอโซเลต NRB 2-23

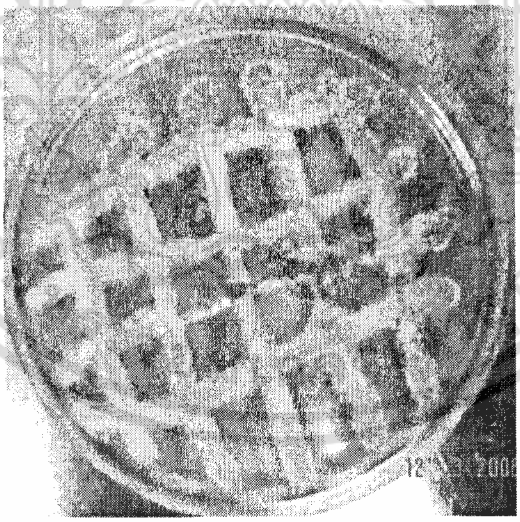
กลุ่มที่ 2 สร้างเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหารเป็นสีขาว เชื้อในกลุ่มนี้มี 10 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 11-2-9, OKB 11-2-2, OKB11-2-13 ซึ่งสามารถสร้างรงควัตถุสีเขียวมะกอก OKB 11-2-11, OKB 11-2-11(2), OKB 11-2-16 สร้างรงควัตถุสีน้ำตาลเข้ม OKB 10-11, OKB 11-2-4 สร้างรงควัตถุสีเขียวเข้ม และOKB 10-4(1), OKB10-4 สามารถสร้างรงควัตถุสีเขียวอมน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 2** ไอโซเลต OKB 11-2-11

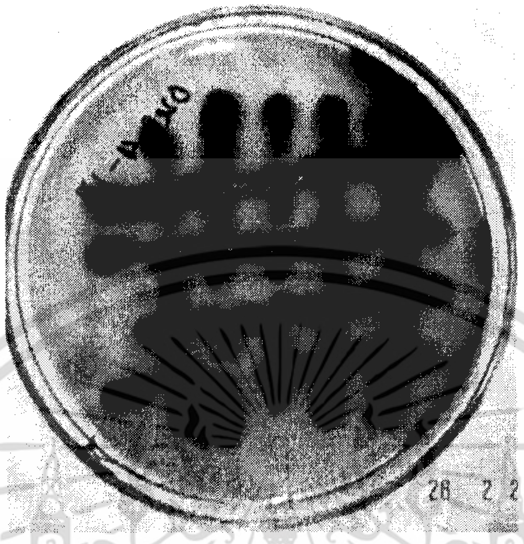
กลุ่มที่ 3 สร้างเส้นใยอากาศสีเทา เชื้อในกลุ่มนี้มี 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 10-6, OKB 10-15 ซึ่งสามารถสร้างรงควัตถุสีส้ม และ OKB 10-8



**รูปที่ 3** ไอโซเลต OKB 10-15

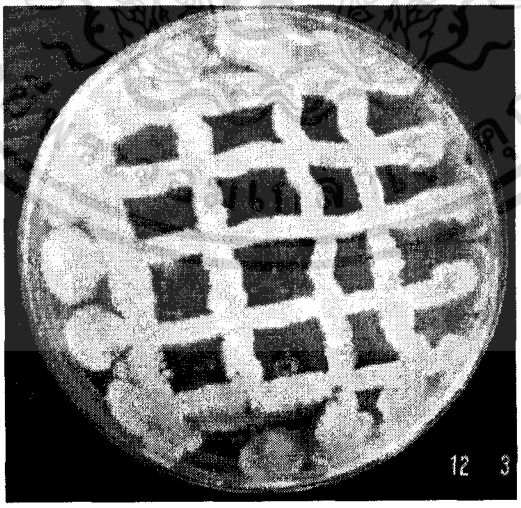
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 สร้างเส้นใยอากาศเป็นสีดำ เชื้อในกลุ่มนี้มี 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 2-12, NRB 3-7 และ NRB 4-17 ซึ่งทั้ง 3 ไอโซเลตสร้างรงควัตถุสีส้ม




**รูปที่ 4** ไอโซเลต OKB 4-17

กลุ่มที่ 5 สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวอมเหลือง โดยเชื้อในกลุ่มนี้มี 3 ไอโซเลต ได้แก่ KB 12-2 ซึ่งสร้างรงควัตถุสีส้ม, OKB 10-7 สร้างรงควัตถุสีน้ำตาล และ OKB 11-2-8 สร้างรงควัตถุสีเขียวมะกอก ดังแสดงในตารางที่ 5




**รูปที่ 5** ไอโซเลต OKB 11-2-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| OKB 11-2-8 | Y.M. | ดีมาก | เหลืองอมเทา | เหลืองอมเทา | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | ทอง | เขียวมะกอก |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมเหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดีมาก | ม่วงอมแดงอ่อน | ส้ม | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เหลืองอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | น้อย | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | P.I.A. | ดี | แดงอมเทา | ทอง | - |
| OKB 10-15 | Y.M. | ดีมาก | เทาอ่อน | ฟ้าอมเทา | - |
| | O.M. | ดีมาก | เทาอ่อน | น้ำตาลอมเหลือง | ส้ม |
| | I.S. | ดี | เทาอ่อน | น้ำตาลอ่อนอมเหลือง | - |
| | T.A. | ดี | ขาวอมเทา | ฟ้าอมเทา | - |
| | Gly.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | แดงอมเหลืองอ่อน | เหลืองอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | P.I.A. | ปานกลาง | ขาว | เทาอ่อน | - |
| OKB 11-2- 11(2) | Y.M. | ดีมาก | ขาว | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองสว่าง | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | ขาว | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | ขาว | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| OKB 11-2-11 | Y.M. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองสว่าง | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | ขาว | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | ขาว | - |
| OKB2-12 | Y.M. | ดีมาก | เขียวอมน้ำเงิน | เขียวอมน้ำเงิน | - |
| | O.M. | ดีมาก | เขียวอมเทา | เขียวอมเหลืองเข้ม | - |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เทาอ่อน | - |
| | T.A. | ดีมาก | ขาวอมน้ำตาล | ทอง | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | ส้มเข้ม | ส้ม |
| | Glu.A. | ดีมาก | ทอง | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | ขาวอมน้ำตาล | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ทอง | ทอง | - |
| KB12-2 | Y.M. | ดีมาก | เขียวใบไม้อมเทา | เขียวใบไม้อมเทา | - |
| | O.M. | ดี | ส้มสว่าง | ส้มสว่าง | - |
| | I.S. | ดีมาก | น้ำตาลอมเหลือง | น้ำตาลอมเหลือง | - |
| | T.A. | ดีมาก | น้ำตาล | น้ำตาล | ส้ม |
| | Gly.A. | ดี | ส้มสว่าง | น้ำตาล | - |
| | Glu.A. | ดี | ส้มอมเหลือง | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ปานกลาง | ส้มอมเหลือง | ส้มอมเหลือง | - |
| | P.I.A. | ปานกลาง | ส้มอมเหลือง | ส้มอมเหลือง | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| NRB2-25 | Y.M. | ดีมาก | ทอง | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | ทอง | เขียวมะกอก |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดีมาก | เทาอ่อน | แดงอมเทา | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Glu.A. | น้อย | เหลืองอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | เหลืองแก่ | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| OKB11-2-4 | Y.M. | ดีมาก | ขาว | น้ำตาลอมเทา | - |
| | O.M. | ดีมาก | ชมพูอมเขียว | เทาอ่อน | เขียวเข้ม |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมเหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดี | ชมพูอมม่วงอ่อน | น้ำตาลอมเทา | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Glu.A. | ดี | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | แดงเข้ม | - |
| OKB11-2-2 | Y.M. | ดีมาก | ขาว | เขียวมะกอก | - |
| | O.M. | ดีมาก | เขียวอมเทา | เหลืองอ่อน | เขียวมะกอก |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมเหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดี | ชมพูอมม่วงอ่อน | เขียวมะกอก | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Glu.A. | ดี | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | แดงเข้ม | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| NRB5-48 | Y.M. | ดีมาก | ทอง | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | เหลืองอมเทา | ทอง | น้ำตาล |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เขียวมะกอก | - |
| | T.A. | ดีมาก | เทาอมชมพู | ทอง | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | เทาอ่อน | - |
| | Glu.A. | น้อย | เหลืองอมเทา | ขาว | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | เหลืองสว่าง | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| NRB5-22 | Y.M. | ดีมาก | ทอง | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | เขียวมะกอกอมน้ำตาล | เขียวมะกอก |
| | I.S. | ดี | เขียวใบไม้อมเทา | เขียวอมเหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดี | ม่วงอมแดงอ่อน | ทอง | - |
| | Gly.A. | ดี | ขาว | เทาอ่อน | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เหลืองอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | เทาอ่อน | เหลืองอมแดง | - |
| | P.I.A. | ดี | ขาว | ส้มอมเหลือง | - |
| NRB2-23 | Y.M. | ดีมาก | เหลืองอมแดง | เหลืองอมแดงอ่อน | - |
| | O.M. | ดีมาก | เขียวอมเทา | น้ำตาลเข้ม | - |
| | I.S. | ดี | ฟ้าอมเทา | ขาวอมชมพู | - |
| | T.A. | ดี | เทาอมน้ำตาล | แดงเข้ม | - |
| | Gly.A. | ดี | ขาว | แดงอมน้ำตาล | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาว | ส้มอมเหลือง | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ปานกลาง | ม่วงอมเทา | ขาว | - |
| | P.I.A. | ดี | ขาว | ทอง | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| NRB3-7 | Y.M. | ดีมาก | เขียวอมน้ำเงิน | เขียวอมน้ำเงิน | - |
| | O.M. | ดีมาก | น้ำตาลเข้ม | น้ำตาลเข้ม | - |
| | I.S. | ปานกลาง | เทาอมน้ำตาลเข้ม | เทาอมน้ำตาลเข้ม | - |
| | T.A. | ปานกลาง | น้ำเงินเข้ม | ฟ้าอมเทา | - |
| | Gly.A. | ปานกลาง | น้ำเงินเข้ม | ฟ้าอมเทา | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เหลืองอมเทา | ชมพูอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ปานกลาง | เหลืองอมแดง | เหลืองอมส้ม | - |
| | P.I.A. | น้อย | เหลืองอมแดง | เหลืองอมส้ม | - |
| OKB11-2-16 | Y.M. | ดีมาก | ขาว | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | เหลืองอ่อน | น้ำตาลเข้ม | น้ำตาลเข้ม |
| | I.S. | ดี | ขาว | ทอง | - |
| | T.A. | ดี | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | Gly.A. | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เหลืองอมเทา | เหลืองอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | ขาว | - |
| OKB 11-2-13 | Y.M. | ดีมาก | ขาว | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | ทอง | เขียวมะกอก |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | เขียวมะกอก | น้ำตาล |
| | T.A. | ดีมาก | ชมพูอมม่วงอ่อน | ม่วงอมแดงเข้ม | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | ขาว | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เหลืองอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดีมาก | น้ำตาลอ่อนอมชมพู | ทอง | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ม่วงอ่อน | น้ำตาลอมแดง | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| OKB 11-2-9 | Y.M. | ดีมาก | เขียวอมเหลือง | ขาว | - |
| | O.M. | ดีมาก | เขียวอมเหลือง | เขียวมะกอก | - |
| | I.S. | ดีมาก | เขียวอมเหลืองอ่อน | เขียวอมเหลืองอ่อน | - |
| | T.A. | ดีมาก | เทาอมชมพู | ขาว | - |
| | Gly.A. | ดีมาก | ขาว | เทาอมชมพู | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เหลืองอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | ขาวเหลืองอ่อน | - |
| OKB 10-6 | Y.M. | ดีมาก | ขาวอมเทา | เหลืองอมเทา | - |
| | O.M. | ดีมาก | ทอง | ทอง | - |
| | I.S. | ดี | เขียวอ่อน | เขียวอมเหลืองเข้ม | - |
| | T.A. | ดี | เขียวใบไม้อมเทา | แดงอมม่วง | - |
| | Gly.A. | ดี | เหลืองอมเทา | เขียวใบไม้อมเทา | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาวอมเทา | ขาวอมเทา | - |
| | Cz. sucrose | ปานกลาง | ขาว | ขาวอมเทา | - |
| | N.A. | ดี | เหลืองอมเทา | น้ำตาลอ่อน | - |
| | P.I.A. | ดี | ขาว | ส้มอมแดง | - |
| OKB 10-8 | Y.M. | ดีมาก | แดงอมเทา | เหลืองอ่อน | - |
| | O.M. | ดีมาก | เทาอ่อน | เทาอ่อน | - |
| | I.S. | ดี | เขียวอ่อน | เขียวอมเหลืองเข้ม | - |
| | T.A. | ดี | เขียวใบไม้อมเทา | แดงอมม่วง | - |
| | Gly.A. | ดี | ม่วงอ่อน | เขียวมะกอกอมน้ำตาล | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาวอมเทา | ขาวอมเทา | - |
| | Cz. Sucrose | ปานกลาง | ขาว | ขาวอมเทา | - |
| | N.A. | ดี | เหลืองอมเทา | น้ำตาลอ่อน | - |
| | P.I.A. | ดี | ขาว | ส้มเข้มอมแดง | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| NRB4-17 | Y.M. | ดีมาก | เขียวอมน้ำเงิน | เขียวอมน้ำเงิน | - |
| | O.M. | ดีมาก | เข้ม | เข้ม | - |
| | I.S. | ดี | เขียวมะกอก | น้ำตาลอมเทา | - |
| | T.A. | ดี | เทาอ่อน | เทาอ่อน | - |
| | Gly.A. | ปานกลาง | เข้ม | เข้ม | - |
| | Glu.A. | น้อย | ส้ม | ส้ม | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ปานกลาง | เขียวเข้ม | เขียวเข้ม | - |
| | P.I.A. | ดี | เขียวเข้ม | เขียวเข้ม | - |
| OKB 10-11 | Y.M. | ดีมาก | เทาอ่อน | เขียวอมเทา | - |
| | O.M. | ดีมาก | เหลืองอมเทา | เหลืองอมเทา | - |
| | I.S. | ดี | เทาเข้ม | เทาอ่อน | - |
| | T.A. | ดี | เทาอ่อน | เขียวอมเทา | - |
| | Gly.A. | ปานกลาง | น้ำเงินเข้ม | เทาอ่อน | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เทาอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | น้อย | เขียวอ่อนอมเทา | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | เทาเข้ม | น้ำตาลอมเทา | - |
| | P.I.A. | ดี | เหลืองอมแดงอ่อน | เหลืองอ่อน | - |
| OKB 10-4 | Y.M. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมน้ำเงิน | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมน้ำเงิน | เขียวอมน้ำเงิน |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | แดงเข้ม | - |
| | T.A. | ดี | เทาอ่อน | ทอง | - |
| | Gly.A. | ปานกลาง | ขาว | น้ำตาลอมแดง | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองเข้ม | - |
| | Cz. sucrose | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาวอมเหลือง | เขียวอ่อนอมเหลือง | - |
| | P.I.A. | ดี | ขาว | เหลืองอ่อน | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

| รหัสเชื้อ | อาหาร | การเจริญ | ลักษณะสีของเส้นใยอากาศ | ลักษณะสีของเส้นใยอาหาร | สีของรงควัตถุที่สร้าง |
|---|---|---|---|---|---|
| OKB 104(1) | Y.M. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมน้ำเงิน | - |
| | O.M. | ดีมาก | ขาว | เขียวอมน้ำเงิน | เขียวอมน้ำเงิน |
| | I.S. | ดีมาก | ขาว | แดงเข้ม | - |
| | T.A. | ดี | เทาอ่อน | ทอง | - |
| | Gly.A. | ดี | ขาว | แดงเข้ม | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาว | เหลืองเข้ม | - |
| | Cz. sucrose | ดี | ขาว | ขาว | - |
| | N.A. | ดี | ขาวอมเหลือง | เขียวอ่อนอมเหลือง | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอ่อน | - |
| OKB 10-17 | Y.M. | ดีมาก | เขียวใบไม้อมเทา | ทอง | - |
| | O.M. | ดีมาก | เทาอ่อน | ส้มเข้ม | ส้ม |
| | I.S. | ดี | เขียวใบไม้อมเทา | เหลืองอ่อน | น้ำตาล |
| | T.A. | ดี | ขาวอมเหลือง | ทอง | - |
| | Gly.A. | ดี | เหลืองอ่อน | เหลืองอ่อนอมแดง | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | ขาวอมน้ำเงิน | เหลืองอ่อน | - |
| | Cz. sucrose | ดีมาก | เหลืองอ่อน | ขาว | - |
| | N.A. | ดีมาก | ขาว | ขาวอมเหลือง | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |
| OKB 10-7 | Y.M. | ดีมาก | เขียวอมเหลืองอ่อน | น้ำตาลเข้ม | - |
| | O.M. | ดีมาก | เทาอ่อน | ส้มเข้ม | น้ำตาล |
| | I.S. | ดี | เขียวอมเหลืองอ่อน | น้ำตาลเข้ม | - |
| | T.A. | ดี | ขาว | เหลืองอมแดง | - |
| | Gly.A. | ปานกลาง | ส้มอมเหลือง | ส้มอมเหลือง | - |
| | Glu.A. | ปานกลาง | เขียวอ่อนอมเทา | ขาว | - |
| | Cz. sucrose | ดีมาก | เทาอ่อน | ขาว | - |
| | N.A. | ดีมาก | ขาวอมน้ำตาล | เหลืองอ่อน | - |
| | P.I.A. | ดีมาก | ขาว | เหลืองอมเทา | - |

หมายเหตุ Y. M. = Yeast extract malt extract agar, O. M. = Oatmeal agar, I. S. = Inorganic salts starch agar.
T. A. = Tyrosine agar, Gly. A = Glycerol - Asparagine agar, Glu. A = Glucose - Asparagines agar,
Cz. sucrose = Czapek sucrose agars, N. A. = Nutrient agar, P.I.A = Peptone iron agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.3.2 ลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือก**

เมื่อทำการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ ที่สามารถสร้างสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ 24 ไอโซเลต จากนั้นทำการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางการเจริญ และสรีระวิทยาของเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ สามารถจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้ง 24 ไอโซเลตได้ 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีทอง ประกอบด้วยสมาชิก 5 ไอโซเลต ได้แก่ OKB10-17, NRB5-48, NRB5-22, NRB2-25 และ NRB2-23

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้เกือบทุกชนิดยกเว้นในบางไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้น้ำตาล D-Ribose, Salicin, L-Arabinose, D-Fructose และ D-Xylose ได้ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้ สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract- malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้ที่ร้อยละ 7 ยกเว้นไอโซเลต NRB 5-22 ซึ่งสามารถเจริญที่ระดับความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้เพียงร้อยละ 4 เชื้อส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชระหว่าง 5 – 8 ยกเว้นไอโซเลต OKB 2-25 และ NRB 2-25 ที่สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอช 6 – 8 ตลอดจนสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิสูงสุดที่ 37 องศาเซลเซียส เชื้อในกลุ่มที่ 1 นี้สามารถย่อยสลายโปรตีนในนม และเจลาตินได้ พบว่าไอโซเลต OKB10-17, NRB5-22 และNRB2-23 สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ในขณะที่ไอโซเลต NRB5-48และ NRB5-22 ไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ แสดงดังตารางที่ 6 และ7

**ตารางที่ 6** ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 1

| รหัสเชื้อ | ความเข้มข้นเกลือ(%) | | | | | | | พีเอช | | | | | อุณหภูมิ($C^o$) | | | | | Skim milk | | Gelatin liquefaction | Nitrate Reduction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1.5 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 4.5 | 5 | 6 | 8 | 20 | 37 | 40 | 45 | 50 | Coagulation | Peptronization | | |
| OKB10-17 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | + | ± |
| NRB5-48 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | - |
| NRB5-22 | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | - | + | - | - | - | ± | ± | + | ± |
| NRB2-25 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | - |
| NRB2-23 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | + | - | - | - | + | - | + | + |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 7** การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 1

| แหล่งคาร์บอน | รหัสเชื้อ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | NRB 5-22 | NRB 5-48 | NRB 2-25 | OKB 10-17 | NRB 2-23 |
| D-Mannitol | + | + | + | + | + |
| D-Ribose | - | + | + | - | + |
| L-rhammose | + | ± | + | + | ± |
| D-melibiose | ± | + | ± | ± | + |
| D-Raffinose | ± | ± | ± | ± | ± |
| Glycerol | + | ± | + | + | ± |
| Salicin | + | - | ± | ± | ± |
| Lactose | + | + | + | + | + |
| D-Galactose | + | + | + | + | + |
| L-Arabinose | + | - | + | + | + |
| Cellobiose | + | ± | + | + | + |
| D-Fructose | + | - | + | + | ± |
| D-Xylose | + | - | + | + | - |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 2 กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีขาว ประกอบด้วยสมาชิก 10 ไอโซเลต ได้แก่ OKB11-2-13, OKB11-2-11, OKB11-2-2, OKB11-2-11(2), OKB10-11, OKB10-4OKB10-4(1), OKB11-2-16, OKB11-2-9 และOKB11-2-4

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์กลุ่มนี้ มี 6 ไอโซเลต ที่ใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้ทุกชนิด แต่ปรากฏว่าว่ามี 4 ไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, L-Rhamnose, D-Raffinose, Salicin และ D-melibiose ได้ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 2 นี้ สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract- malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้ที่ร้อยละ 7 และส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชระหว่าง 5 – 8 ยกเว้นไอโซเลต OKB10-4(1) ที่สามารถเจริญในได้เฉพาะที่พีเอช 8 อุณหภูมิที่เชื้อในกลุ่มนี้สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 20 - 37 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายเจลาติน และตกตะกอนโปรตีนในนมได้ ดังแสดงในตารางที่ 8 และ9

**ตารางที่ 8** ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 2

| รหัสเชื้อ | ความเข้มข้นเกลือ(%) | | | | | | | พีเอช | | | | | อุณหภูมิ(C°) | | | | | Skim milk | | Gelatin liquefaction | Nitrate Reduction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1.5 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 4.5 | 5 | 6 | 8 | 20 | 37 | 40 | 45 | 50 | Coagulation | Peptronization | | |
| OKB11-2-13 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | - |
| OKB11-2-11 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | ± | ± | + | ± |
| OKB11-2-2 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | - |
| OKB11-2-11(2) | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | ± | ± | + | ± |
| OKB10-11 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | + | ± |
| OKB10-4 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | + | ± |
| OKB10-4(1) | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + |
| OKB11-2-16 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | ± |
| OKB11-2-9 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | ± |
| OKB11-2-4 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | ± | + | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 9** การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 2

| แหล่งคาร์บอน | รหัสเชื้อ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | OKB11-2-13 | OKB 11-2-11 | OKB 11-2-11(2) | OKB 11-2-16 | OKB 11-2-9 | OKB 11-2-2 | OKB 10-11 | OKB 10-4 | OKB 11-2-4 | OKB 10-4(1) |
| D-Mannitol | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-Ribose | + | + | + | ± | + | - | ± | + | - | + |
| L-rhammose | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-melibiose | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | - |
| D-Raffinose | ± | ± | ± | ± | ± | ± | - | ± | ± | ± |
| Glycerol | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Salicin | + | + | + | + | + | + | + | ± | + | - |
| Lactose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-Galactose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| L-Arabinose | + | + | + | ± | ± | ± | + | + | ± | + |
| Cellobiose | + | + | + | + | + | ± | + | + | ± | + |
| D-Fructose | + | + | + | + | + | ± | + | + | ± | + |
| D-Xylose | + | ± | ± | ± | ± | ± | + | + | ± | + |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศสีเทา ประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 10-6, OKB 10-8 และOKB 10-15

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้ สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract- malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้ที่ร้อยละ 7 และเชื้อส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชระหว่าง 5 – 8 เชื้อทุกไอโซเลตในกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิสูงสุดที่ 37 องศาเซลเซียส และสามารถย่อยสลายเจลาติน ตกตะกอนโปรตีนในนม รวมทั้งเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ทุกไอโซเลตยกเว้นไอโซเลต OKB 10-6 เชื้อในกลุ่มสีเทานี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นในบางไอโซ-เลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, L-Rhamnose, L-Arabinose, D-Xylose และ D-Fructose ได้ ดังแสดงในตารางที่ 10 และ 11

**ตารางที่ 10** ลักษณะทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 3

| รหัสเชื้อ | ความเข้มข้นเกลือ(%) | | | | | | | พีเอช | | | | | อุณหภูมิ(C°) | | | | | Skim milk | | Gelatin liquefaction | Nitrate Reduction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1.5 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 4.5 | 5 | 6 | 8 | 20 | 37 | 40 | 45 | 50 | Coagulation | Peptronization | | |
| OKB10-8 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | + |
| OKB10-6 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - | + | - | - | - | + | ± | + | - |
| OKB 10-5 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | ± | ± | + | ± |

หมายเหตุ

+ = positive reaction

- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 11** การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 3

| แหล่งคาร์บอน | รหัสเชื้อ | | |
|---|---|---|---|
| | OKB 10-6 | OKB 10-8 | OKB 10-15 |
| D-Mannitol | + | + | + |
| D-Ribose | - | + | - |
| L-rhammose | ± | - | + |
| D-melibiose | ± | ± | ± |
| D-Raffinose | ± | ± | ± |
| Glycerol | + | + | + |
| Salicin | ± | + | + |
| Lactose | + | + | + |
| D-Galactose | + | + | + |
| L-Arabinose | - | - | + |
| Cellobiose | + | + | + |
| D-Fructose | + | + | - |
| D-Xylose | - | + | ± |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีดำ ประกอบด้วยสมาชิก 3 ไอโซเลต ได้แก่ NRB 4-17, NRB 3-7 และOKB 2-12

ในกลุ่มนี้พบว่าไอโซเลต NRB 4-17 และ OKB 2-12 สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract - malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้ที่ร้อยละ 7 ส่วนไอโซเลต NRB 3-7 นั้นสามารถเจริญได้สูงสุดเพียงร้อยละ 2 เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 4 นี้สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชสูงสุด 8 ยกเว้นไอโซเลต NRB 3-7 เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ที่พีเอช 6 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อกลุ่มนี้คือ 37 องศาเซลเซียส โดยเชื้อในกลุ่มสีดำนี้สามารถย่อยสลายเจลาติน และตกตะกอนโปรตีนในนมได้ ยกเว้นไอโซเลต NRB 4-17 และส่วนใหญ่ไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ยกเว้นไอโซเลต NRB 3-7 เชื้อในกลุ่มที่ 4 นี้มีอยู่ 2 ไอโซเลตที่ใช้ D-Ribose ไม่ได้ คือ ไอโซเลต NRB 4-17 และNRB 3-7 นอกนั้นใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบชนิดอื่นได้หมด ดังแสดงในตารางที่ 12 และ 13

**ตารางที่ 12** ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 4

| รหัสเชื้อ | ความเข้มข้นเกลือ(%) | | | | | | | พีเอช | | | | | อุณหภูมิ(C°) | | | | | Skim milk | | Gelatin liquefaction | Nitrate Reduction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1.5 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 4.5 | 5 | 6 | 8 | 20 | 37 | 40 | 45 | 50 | Coagulation | Peptronization | | |
| NRB4-17 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| NRB3-7 | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | + | + | + | - | + | ± | - | ± |
| OKB2-12 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | ± | ± | - | - |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 13** การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 4

| แหล่งคาร์บอน | รหัสเชื้อ | | |
|---|---|---|---|
| | OKB 2-12 | NRB 3-7 | NRB 4-17 |
| D-Mannitol | + | ± | + |
| D-Ribose | + | - | - |
| L-rhammose | ± | ± | + |
| D-melibiose | ± | ± | + |
| D-Raffinose | ± | ± | ± |
| Glycerol | + | + | + |
| Salicin | + | + | + |
| Lactose | + | + | + |
| D-Galactose | + | + | + |
| L-Arabinose | + | + | + |
| Cellobiose | + | + | + |
| D-Fructose | + | + | + |
| D-Xylose | + | + | + |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศสีเขียวอมเหลือง ประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 10-7, OKB 11-2-8 และKB 12-2

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract- malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้ที่ร้อยละ 7 โดยไอโซเลต OKB 11-2-8 และKB 12-2 สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชสูงสุดที่ 8 แต่ไอโซเลต OKB 10-7 ไม่สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชที่ใช้ทดสอบ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อในกลุ่มที่ 5 นี้คือ 37 องศาเซลเซียส และยังสามารถย่อยสลายเจลาตินและตกตะกอนโปรตีนในนมได้ทุกไอโซเลต พบว่ามีเพียงไอโซเลต OKB 10-7 เท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้ทุกชนิด ยกเว้น ไอโซเลต KB 12-2 ที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, D-Raffinose, Salicin, L-Arabinoseและ D-Xylose ได้ ดังแสดงในตารางที่ 14 และ 15

**ตารางที่ 14** ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 5

| รหัสเชื้อ | ความเข้มข้นเกลือ(%) | | | | | | | พีเอช | | | | | อุณหภูมิ(C°) | | | | | Skim milk | | Gelatin liquefaction | Nitrate Reduction |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1.5 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 4.5 | 5 | 6 | 8 | 20 | 37 | 40 | 45 | 50 | Coagulation | Peptronization | | |
| OKB11-2-8 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + | ± | + | - |
| KB12-2 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | ± | ± | - | - |
| OKB10-7 | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | + | ± | + | ± |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 15** การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 5

| แหล่งคาร์บอน | รหัสเชื้อ | | |
|---|---|---|---|
| | OKB 10-7 | OKB 11-2-8 | KB 12-2 |
| D-Mannitol | + | + | ± |
| D-Ribose | - | ± | - |
| L-rhammose | + | - | + |
| D-melibiose | ± | ± | + |
| D-Raffinose | ± | ± | - |
| Glycerol | + | ± | + |
| Salicin | + | + | - |
| Lactose | + | + | + |
| D-Galactose | + | + | + |
| L-Arabinose | + | + | - |
| Cellobiose | + | + | + |
| D-Fructose | + | ± | + |
| D-Xylose | + | ± | - |

หมายเหตุ

\+ = positive reaction

\- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.4 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอในช่วง 16S rRNA gene และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ**

จากข้อมูลทางการเจริญ สรีระวิทยา และชีวเคมี ตลอดจนการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบเบื้องต้น ได้ทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลตที่น่าสนใจมา 2 ไอโซเลต คือ OKB 11-2-11(2) และOKB 10-7 เพื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง 16S rRNA gene เนื่องจากเชื้อทั้งสองไอโซเลตมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบอย่างมีประสิทธิภาพ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต OKB 11-2-11(2) มีความคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces crystallinus* JCM 5067 มากที่สุดด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์(%similarity)ร้อยละ 97.1 (ดังตารางที่16) ที่ระดับความเชื่อมั่นของ bootstrap values บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 47.0 สำหรับเชื้อไอโซเลต OKB 10-7 มีความคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 มากที่สุดที่ระดับความคล้ายคลึงลำดับนิวคลีโอไทด์ร้อยละ 99.0 (ดังตารางที่17) ที่ระดับความเชื่อมั่นของ bootstrap values บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 99.0

**ตารางที่ 16** ตารางแสดงค่า Similarity ของเชื้อไอโซเลต OKB11-2-11(2) เทียบกับเชื้อ *Streptomyces* สายพันธุ์ที่ใกล้เคียงที่สุด

| สายพันธุ์ OKB11-2-11(2) | ความคล้ายคลึง (% similarity) |
|---|---|
| *Streptomyces crystallinus* JCM 5067 | 97.1 |
| *Streptomyces cavourensis* NRRL B-8030 | 97.0 |
| *Streptomyces sindenensis* IFO 12915 | 97.0 |
| *Streptomyces cyaneus* ISP 5108 | 96.9 |
| *Streptomyces ornatus* DSM40307 | 96.9 |
| *Streptomyces praecox* IFO 13073 | 96.9 |
| *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 | 96.9 |
| *Streptomyces floridae* NRRL 2423 | 96.7 |
| *Streptomyces cremeus* JCM 4362 | 96.6 |
| *Kitasatospora arboriphila* HKI 0189 | 94.4 |

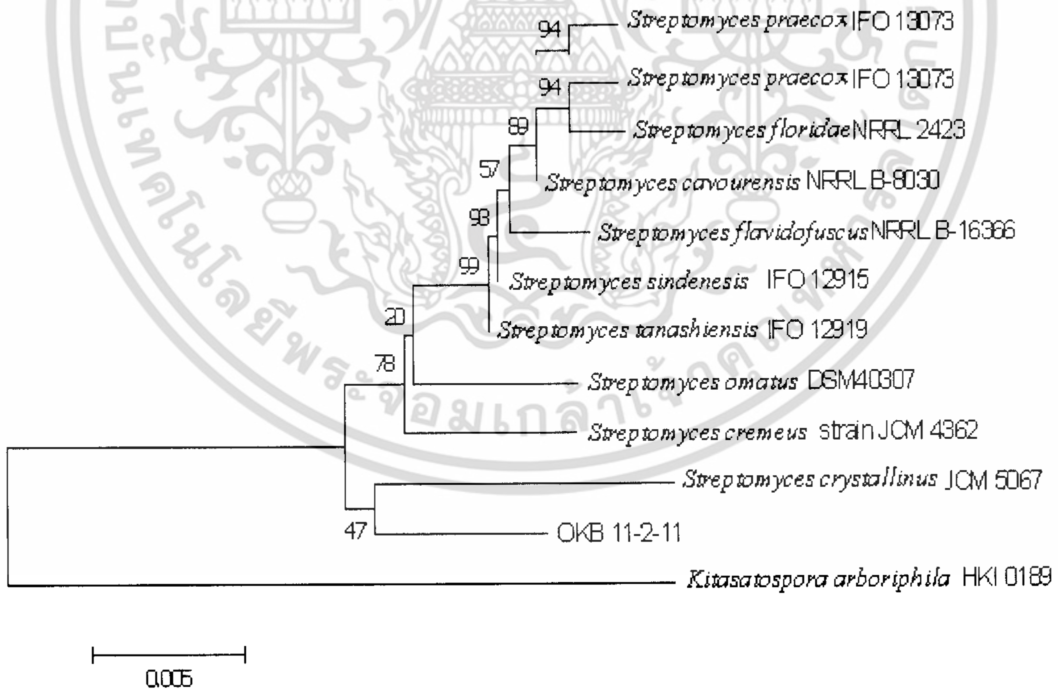
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 17** ตารางแสดงค่า Similarity ของไอโซเลต OKB 10-7เทียบกับเชื้อ *Streptomyces* สายพันธุ์ที่ใกล้เคียงที่สุด

| สายพันธุ์ OKB 10-7 | ความคล้ายคลึง (% similarity) |
|---|---|
| *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 | 99.0 |
| *Streptomyces praecox* IFO 13073 | 97.8 |
| *Streptomyces badius* NRRL B-2567 | 97.7 |
| *Streptomyces cyaneofuscatus* JCM 4364 | 97.6 |
| *Streptomyces alboviridis* JCM 4449 | 97.6 |
| *Streptomyces californicus* IFO 12750 | 97.3 |
| *Streptomyces argenteolus* JCM 4623 | 97.2 |
| *Streptomyces ornatus* DSM 40307 | 97.1 |
| *Streptomyces cyaneus* ISP 5108 | 97.0 |
| *Streptomyces floridae* NRRL 2423 | 96.8 |
| *Kitasatospora arboriphila* HKI 0189 | 94.4 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 6** Phylogenetic trees ของ OKB 10-7




**รูปที่ 7** Phylogenetic trees ของ OKB 11-2-11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้งหมด 49 ไอโซเลตที่แยกได้จากดินตัวอย่างสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 24 ไอโซเลต ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แกรมบวกได้ดีกว่าจุลินทรีย์แกรมลบ จากนั้นนำเชื้อทั้ง 24 ไอโซเลตนั้นมาจัดกลุ่มตามลักษณะสีของเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ ซึ่งสามารถจัดจำแนกเชื้อได้ 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีทอง ขาว เทา ดำ และเขียวอมเหลือง

เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้ง 5 กลุ่ม สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract - malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดร้อยละ 7 ที่ช่วงพีเอช 5 - 8 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อทุกกลุ่ม คือ 37 องศาเซลเซียส แต่มีบางไอโซเลตในกลุ่มสีดำ และเขียวอมเหลืองที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และทั้ง 5 กลุ่มมีลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีที่แตกต่างกัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีทอง สมาชิกในกลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นในบางไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose และ RB5-48 ที่ไม่สามารถใช้ Salicin, L-Arabinose, D-Fructose และ D-Xylose ได้ เชื้อกลุ่มนี้สามารถตกตะกอนโปรตีนในนม และย่อยสลายเจลาตินได้ ไอโซเลต OKB10-17, NRB5-22 และNRB2-23 สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ในขณะที่ไอโซเลต NRB5-48และ NRB5-22 ไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 6 และ7

กลุ่มที่ 2 กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีขาว สมาชิกในกลุ่มนี้มี 5 ไอโซเลต ที่ใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้ทุกชนิด แต่มี 4 ไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, L-Rhamnose, D-Raffinose, Salicin และ D-melibiose ได้ เชื้อกลุ่มนี้ไม่สามารถย่อยสลายเจลาติน และตกตะกอนโปรตีนในนม ได้ 3 ไอโซเลต คือ OKB10-11, OKB10-4 และ OKB11-2-4 แต่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ 7 ไอโซเลต ไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ 3 ไอโซเลต คือ ไอโซเลตOKB11-2-13 OKB11-2-2 และ OKB11-2-4 ดังแสดงในตารางที่ 8 และ9

กลุ่มที่ 3 กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศสีเทา เชื้อในกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายเจลาติน ตกตะกอนโปรตีนในนมและเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ทุกไอโซเลต มีเพียงไอโซเลต OKB 10-6 เท่านั้นที่ไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ เชื้อกลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้เกือบทุกชนิดยกเว้นในบางไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, L-Rhamnose, L-Arabinose, D-Xylose และ D-Fructose ได้ ดังแสดงในตารางที่ 10 และ 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีดำ เชื้อในกลุ่มนี้ไม่สามารถย่อยสลายเจลาติน และตกตะกอนโปรตีนในนมได้เพียงไอโซเลตเดียว คือ NRB 4-17 และมีเพียง NRB 3-7 ไอโซเลตเดียวเท่านั้นที่สามารถไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ พบว่าในกลุ่มนี้มี 2 ไอโซเลตที่ใช้ D-Ribose ไม่ได้ คือ ไอโซเลต NRB 4-17 และNRB 3-7 นอกนั้นสามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบชนิดอื่นได้หมด ดังแสดงในตารางที่ 12 และ 13

กลุ่มที่ 5 กลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศสีเขียวอมเหลือง สมาชิกในกลุ่มนี้ สามารถย่อยสลายเจลาตินและตกตะกอนโปรตีนในนมได้ทุกไอโซเลต พบว่ามีเพียงไอโซเลต OKB 10-7 เท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ เชื้อในกลุ่มที่ 5 นี้ ส่วนใหญ่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้ทุกชนิด ยกเว้น ไอโซเลต KB 12-2 ที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, D-Raffinose, Salicin, L-Arabinoseและ D-Xylose ได้ ดังแสดงในตารางที่ 14 และ 15

เมื่อทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลตที่น่าสนใจ คือ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลิน-ทรีย์ทดสอบได้เป็นบริเวณกว้างและมีประสิทธิภาพ มา 2 ไอโซเลต คือ OKB 11-2-11(2) และ OKB 10-7 เพื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วงของ 16s rRNA gene แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ NCBI เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายคลึงกับไอโซเลตดังกล่าว ผลปรากฏว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต OKB 11-2-11(2) มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces crystallinus* JCM 5067 มากที่สุด ด้วยระดับความคล้ายคลึง (%similarity) ที่ร้อยละ 97.1 (ดังตารางที่ 16) ด้วยระดับความเชื่อมั่นของค่า bootstrap บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 47 จากข้อมูลนี้ทำให้ทราบว่า เชื้อไอโซเลต OKB 11-2-11(2) มีความเป็นไปได้สูงว่าอาจเป็นเชื้อชนิดใหม่ ( Stackebrandt and Goebel,1994;Keswani and Whitman,2001) สำหรับเชื้อไอโซเลต OKB 10-7 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 มากที่สุดที่ระดับความคล้ายคลึงที่ร้อยละ 99 (ดังตารางที่17) ด้วยระดับความเชื่อมั่นของค่า bootstrap บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 99

แต่ทั้งนี้ยังไม่สามารถบอกได้ว่า เชื้อไอโซเลต OKB10-7 นี้เป็นเชื้อชนิดเดียวกับ *Streptomyces tanashiensis* หรือไม่ เพราะข้อมูลยังไม่เพียงพอในการสรุป ดังนั้นจึงควรมีการทดสอบด้วยวิธี DNA – DNA hybridization และควรมีการเปรียบเทียบข้อมูลทางฟีโนไทป์ และเคโมไทป์ของเชื้อทั้งสอง

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า มีเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บางไอโซเลตสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังมีแนวโน้มที่จะเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งอาจมีแนวโน้มในการสร้างสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ และหากมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องก็จะสามารถพัฒนาสารนั้นให้เป็นสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ เพื่อใช้ประโยชน์ในอนาคตต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

งามนิจ นนทโส. 2537. Systematic Bacteriology Laboratory. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Arai, T. 1975. Culture Media for Actinomycetes. The Society for Actinomycetes. Japan.

Atlas, R.M. 1995. Principles of Microbiology. Mosby – Year Book, Inc. USA. 888 p.

Brock, T.D., Smith, W., and Madigan, M.T. 1984. Biology of Microorganisms. 4$^{th}$ed. Englewood. Cliffs, Prentice Hall, Inc. New Jersey.

Buchanan, R.E., and Gibbons, N.E. 1974. Order *Actinomycetales*. *In* Cowan, S.T., Holt, J.K., Liston, J., Murray, R.G.E., Niven, C.F., and Ravin, A.W., Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol.4. United State of America. Williams and Wilkins. Baltimore. 675- 881.

Bu'Lock, J.D., Hamilton, D., Hulme, M.A., Powell, A.J., Smalley, H.M., Shepherd D., and Smith, G.N. 1975 Metabolic development and secondary biosynthesis in Penicillium uriticae. Can. J. Microbial. 11: 765-778.

Cross, T. and Goodfellow, M. 1973. Taxonomy and classification of the actinomycetes. 254-261. *In* Sykes, G., and Skiner, F.A., Actinomycetes: Characteristics and Practical Importance. Academic Press, London.

Coyne, M. S. 1999. Soil micrology: an exploratory. Approach. International Thomson Publishing company, USA .102- 106.

Crook, P., Carpenter, C.C., and Klens, P.F. 1950. The use of sodium propionate in isolating Actinomycetes from soils. 10: 655-656.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Demain, A.L. and Pirct, J. 1979. Relationship between antibiotics biosynthesis and sporulation. *In* Lacker, M., and Schreiber, K. (eds.). Regulation of Secondary Product and Plant Hormone Metabolism. Pergamon Press, New York. 183-188.

El-Nakeeb, M.A. and Lechavalier, H.A. 1963. Selective isolation of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol. 11: 75-77.

Enokita, R., Okazaki, T., Torikata, A. and Arai, M. 1986. Personal communication. Sankyo Fermentation Research Laboratories. Tokyo. Japan.

Felsenstein, J. 1985 Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

Gaden, E.L., Jr. 1960. Microbiological process discussion Bioengineering and Fermentation. Appl. Microbiol. 8: 123-131.

Goodfellow, M., Williams, S.T. 1983. Ecology of Actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.* 37: 189-216.

Goodfellow, M., Williams, S.T., and Mordaski, M. 1988. Actinomyces in biotechnology. Academic Press Limited, London. 501.

Hayakawa, M., Sadakata, T., Kajiura, T., and Nonomura, H. 1991(b). New methods for the highly selective isolation of *Micromonospora* and *Microbispora* from soil. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 72(5): 320 - 326.

Halvorson, H.O., Hansen, R., and Campbell (eds.). 1972. Sporulation antibiotics of Bacillus spp., Spore V. Am. Society of Microbiology. American Society for Microbiology, Washington D.C. 370.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Haavik, H.I. 1974a. Studies on the formation of bacitracin by Bacillus licheniformis: Effect of glucose. J. Gen. Microbial. 81: 383-390.

Haavik, H.I. 1974b. Studies on the formation of bacitracin by Bacillus licheniformis: Role of catabolite repression and organic acids. J. Gen. Microbial. 84: 321-326.

Holt. J. G., Krieg, N. R., Sneath, P.H.A., Staley, J. T., And Williams, S. T. 1994., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9$^{th}$ ed. Williams and Wilkins. Baltimore. 605-623.

Iwai, Y., Awaya, J., Kesado, T., Yamada, H., Omura, S., and Hata, I. 1973. Selective production of cerulenin by *Cephalosporium caerelens* KF-140. J. Ferment. Technol. 51: 575-581.

Iwai, Y. and Omura, S. 1982. Culture condition for screening foc new antibiotics. J. Antibiotics. 35: 123-141.

Kawamoto, I. 1989. Genus *Micromonospora. In* Williams, S.T., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (eds.). Bergey's manual of determinative bacteria. Vol 4. Williams and Wilkins. Baltimore. USA. 2442-2450.

Keswani, J. and Whitman, W.B. 2001. Relationship of 16S rRNA sequence similarity to DNA hybridization in prokaryotes. Int. J. syst. Evol. Microbiol. 51:667-678.

Kanoksilpatham, W. 1981. Studies and antibiotic production by Streptomyces and especially a Streptoverticillium species. Bangkok : A thesis for Master Degree of Science (Microbioligy), Mahidol University.

Kluge, A. G., and Farris, F. S. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst Zool* 18: 1–32.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I.B., Nei, M. MEGA 2: molecular evolutionary genetics analysis Software. 2001. Tempe (AZ). Arizona State University.

Lawrence, C.H. 1956. A method of isolating actinomycetes from scabby potato tissues and Soil with minimal contamination. Can. J. Bot. 34 : 44-47.

Labeda, D.P. and Shearer, M.C. 1990. Isolation of actinomycetes for biotechnological application. *In* Labeda, D.P. (ed.). Isolation of biotechnological organism from nature. McGraw-Hill, USA. 1-19.

Lechavalier, H.A. and Corke, C.T. 1953. The replica plate method for screening antibiotic Producing organisms. Appl. Microbiol. 1: 110-112.

Lederberg, J. and Lederberg, E.M. 1952. Replica plating and indirect selection of bacterial Mutants. J. Bacterial. 63: 339-406.

Liu, C.M., McDaniel, L. E., and Schaffner, C.P. 1975. Factors affecting the production of Candicidin. Aitimicrob. Agents Chemother. 7: 196-202.

Malik, V.S. and Vining, L.C. 1970. Metabolism of chloramphenical by the producing organism. Can. J. Microbial. 16: 175-179.

Martin, A. 1999. Microbial Ecology: Introduction to soil microbiology. 2$^{nd}$ ed. 36- 50.

Matin, J.F., and Demain, A.L. 1980. Control of antibiotic biosynthesis. Microbial. Reviewa. 44: 230-251.

Martin, J.F. 1977. Control of antibiotics synthesis by phosphate Adv. Biochem. Eng. 6: 105-127.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nonomura, H. and Ohara, Y. 1969. Distribution of actinomycetes in soil. VI. A culture method Effective for both preferential isolation and enumeration of Microbiosporam and Streptrosporangium strains in soil. J. Ferment. Technol. 47: 463-469.

Okami, Y. and Hotta, K. 1988. Search and discovery of new antibiotics. *In* Goodfellow, M. Williams, S.T., and Mordarski, M.(eds.). Actinomycetes in biotechnology. Academic Press, London. 36-58.

Paulus, H. 1967. Polymycins, *In* Gottlieb, D., and Shaw, P.D. (eds.). Antibiotics Vol. 2. Springer-Verlag, Inc. New York. 254-267.

Porter, J.N. 1971. Prevalence and distribution of antibiotic producing actinomycetes. Adv. Appl. Microbial. 14: 73-92.

Schlegel, G. 1997. The system of prokaryotes. General microbiology 6$^{th}$ ed. 92- 419.

Shiring, E.B., and Gottlieb, D. 1966. Methods for Characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 16: 313-340.

Stansly, P.G. 1974. A bacterial spray appararus useful in searching for antibiotic producing Microorganisms. J. Bacteriol. 54: 443-445.

Stackebrandt, E., and Goebel, B.M. (1994). Taxonomic note: A place for DNA – DNA reassociation and 16S sRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. Int. J. Syst. Bacteriol. 44: 846-849.

Tamaoka, J. 1994. Determination of DNA Base Composition. *In Chemical Methods in Prokaryotic Systematics.* Edited by Goodfellow, M., and O'Donnell, A.G.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.

Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L. 1995. *Microbiology, An Introduction.* 5th ed. Bridge Parkway: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.

Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L. 1992. *Microbiology, An Introduction* 4th ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 810.

Traffile, C.M., and Pinho, F. 1970. determination of oxygen transfer coefficients in viscous streptomycetes fermentation. Biotechnol. Bioeng. 12: 849-871.

Vanek, Z., Dolezilova, L., and Rehacek, Z. 1958. Formation of a mixture of antibiotic substaces Including antibiotics of a poluene character by strains of actinomycetes freshly isolated from soil samples. J. Gen. Micerobiol. 18: 649-657.

Wasksman, S.A. 1959. The actinomycetes Vol. 1: Nature, Occurrence and Activities. The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 327.

Waksman, S.A. and Henrici. 1974. Streptomycetaceae. *In* Buchanan, R.E. and Gibbbons, N.E. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed., the Williams and Wilkins Company, Baltimore. 747-753.

Weinberg, E.D. 1973. Secondary metabolism : Control by temperature and inorganic phosphate. Dev. Ind. Microbiol. 15: 70-81.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Weinberg, M.J., Luedemann, G.M., Oden, E.M., and Wagman, G.H. 1964. Gentamicin, a new broad-spectrum antibiotic complex. Antimicrob. Agents Chemother. 1963: 1-7.

Williams, S.T., Goodfellow, M., and Alderson, G. 1989. Genus Streptomyces. *In* Williams, S.T., Sharpe, M.E., and Holt, J.G. (eds.). Bergey's manual of determinative bacteria. Vol 4. Williams and Wilkins. Baltimore, USA. . 2452-2492.

Williams, S.T., and Cross, T. 1971. Actinomycetes: Physiological properties .*In Method in Microbiology*, 4th edited by C. Booth, Academic Press, Inc. London. 320.

Williams, S.T. 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol.4. United State of America: Williams and Wilkins. Baltimore. 2340- 2347.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

# สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดต่อไปนี้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร อาหารส่วนใหญ่นึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอน้ำร้อน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ยกเว้นการเตรียมน้ำตาลในการทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน โดยใช้ความร้อนฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

1. Sodium-caseinate agar (SCN)

| | | |
|---|---|---|
| Sodium caseinate | 0.2 | กรัม |
| Glucose | 0.1 | กรัม |
| $K_2HPO_4$ | 0.02 | กรัม |
| $MgSO_4$ | 0.02 | กรัม |
| Agar | 1.5 | กรัม |
| DW | 100 | มิลลิลิตร |

2. Yeast extract-malt extract agar (YMA), ISP medium no.2

| | | |
|---|---|---|
| Yeast extract | 0.4 | กรัม |
| Malt extract | 1.0 | กรัม |
| Glucose | 0.4 | กรัม |
| Agar | 1.5 | กรัม |
| DW | 100 | มิลลิลิตร |

pH 7.3

3. Yeast extract-malt extract broth (YMB)

| | | |
|---|---|---|
| Yeast extract | 0.4 | กรัม |
| Malt extract | 1.0 | กรัม |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| Glucose | 0.4 | กรัม |
| Glycine | 0.1-0.3 | กรัม (ขึ้นอยู่กับเชื้อที่นำมาเลี้ยง) |
| DW | 100 | มิลลิลิตร |
| pH 7.3 | | |

4. Nutrient agar

| | | |
|---|---|---|
| Meat extract | 1 | กรัม |
| Peptone | 1 | กรัม |
| NaCl | 0.1-0.2 | กรัม |
| Agar | 1.5 | กรัม |

5. Mueller-Hinton agar (Difco)

| | | |
|---|---|---|
| Beef infusion from | 30 | กรัม |
| Casamino acid, Technical | 1.75 | กรัม |
| Starch | 0.15 | กรัม |
| Agar | 1.7 | กรัม |
| pH 7.3 | | |

6.Carbon utilization medium (ISP-9)

| | | |
|---|---|---|
| carbohydrate | 1.0 | กรัม |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.264 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ Anhydrous | 0.238 | กรัม |
| $K_2HPO_4$ $3H_2O$ | 0.565 | กรัม |
| $MgSO_4$ $7H_2O$ | 0.1 | กรัม |
| Pridham and Hlieb trace salts (B) | 0.1 | มิลลิลิตร |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| Agar | 1.5 | กรัม |
| pH 6.8-7.0 | | |
| trace salt (B) | | |
| $CuSO_4$ $5H_2O$ | 0.64 | กรัม |
| $FeSO_4$ $7H_2O$ | 0.11 | กรัม |
| $MnCl_2$ $4H_2O$ | 0.79 | กรัม |
| $ZnSO_4$ $7H_2O$ | 0.15 | กรัม |
| DW | 100 | มิลลิลิตร |

7. Inorganic salts-starch agar

| | | |
|---|---|---|
| Soluble starch | 1.0 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ Anhydrous | 0.1 | กรัม |
| $MgSO_4$ $7H_2O$ | 1.0 | กรัม |
| NaCl | 0.1 | กรัม |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.2 | กรัม |
| $CaCO_3$ | 0.2 | กรัม |
| Trace salts Solution (A) | 0.1 | มิลลิลิตร |
| Agar | 2.0 | กรัม |

8. Nutrient gelatin broth

| | | |
|---|---|---|
| Beef extract | 1.0 | กรัม |
| Peptone | 1.0 | กรัม |
| NaCl | 0.1 | กรัม |
| Gelatin | 10.1 | กรัม |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. Skim milk broth

| | | |
|---|---|---|
| Skim milk (Difco) | 10.1 | กรัม |

10. Tyrosine agar

| | | |
|---|---|---|
| Glycerol | 1.5 | กรัม |
| L-tyrosine | 0.05 | กรัม |
| L-asparagine | 0.1 | กรัม |
| $K_2HPO_4$ anhydrous | 0.05 | กรัม |
| $MgSO_4$ $7H_2O$ | 0.05 | กรัม |
| NaCl | 0.01 | กรัม |
| $FeSO_4$ $7H_2O$ | 0.01 | กรัม |
| Trace salts solution(A) | 0.1 | กรัม |
| Agar | 2.0 | กรัม |

11. Humic acid - Vitamin agar ( pH 7.3)

| | | |
|---|---|---|
| Humic acid | 1 | กรัม |
| $Na_2HPO_4$ | 0.5 | กรัม |
| KCl | 1.71 | กรัม |
| $MgSO_4$ | 50 | มิลลิกรัม |
| $FeSO_4$ | 10 | มิลลิกรัม |
| CaCO3 | 20 | มิลลิกรัม |
| Vitamin B | 10 | มิลลิกรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| DW | 1000 | มิลลิลิตร |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

# สารละลายที่ใช้ในการสกัดDNA

**Saline-$Na_2$ EDTA**

0.1 M NaCl

50 mM EDTA.2Na (pH 8.0)

**1 M Tris-HCl pH 8.0**

ละลาย tris 121.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร จากนั้นปรับให้ได้ pH โดยเติม HCl เข้มข้น 42 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปล่อยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สุดท้ายจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร จึงนำไปฆ่าเชื้อโดยการ autoclave

**0.1 M Tris-HCl buffer, pH 9**

| | | |
|---|---|---|
| Tris | 1.21 | มิลลิกรัม |
| Distilled water | 100 | มิลลิลิตร |

Adjust the pH to 9 with HCl.

**Phenol:Chloroform (1:1 v/v)**

ละลายสารPhenolที่อยู่ในขวด ในอ่างน้ำปรับอุณหภูมิ 65 $^{\circ}C$ และผสมกับ chloroform ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) เก็บสารละลายในภาชนะทึบแสง

**RNase A solution**

| | | |
|---|---|---|
| RNase A | 20 | มิลลิกรัม |
| 0.15 M NaCl | 10 | มิลลิลิตร |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลาย RNase A 20 มิลลิกรัม ใน 0.15 M NaCl 10 มิลลิลิตร และอุ่นที่ 95 °C เป็นเวลา 5-10 นาที เก็บ RNase A solution ไว้ที่ -20 °C

**RNase $T_1$ solution**

| | | |
|---|---|---|
| RNase $T_1$ | 80 | ไมโครลิตร |
| 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5) | 10 | มิลลิลิตร |

ผสม RNase $T_1$ 80 μl กับ 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิลิตร และอุ่นที่ 95 °C เป็นเวลา 5 นาที เก็บ RNase $T_1$ solution ไว้ที่ -20 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

# Multiple Sequence Alignment

## Multiple Sequence Alignment ของไอโซเลต OKB 10-7

```
CLUSTAL W (1.83) Multiple Sequence Alignments

Streptomyces_praecox_strain_IF      --------------------------------------------CGGCGT
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      ---------------------------------------GCTGGCGGCGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      --------------------------------------------CGGCGT
Streptomyces_alboviridis_strai      ----------------------------------------------GCGT
Streptomyces_californicus_stra      --------------------------------------------CGGCGT
Streptomyces_badius_strain_NRR      -----------------------CTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       --------------------------------------------------
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      --------------------------------------------------
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      --------------------------GCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGT
Streptomyces_fimicarius_strain      -----------------------CTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      ------------AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGT
Streptomyces_floridae_strain_N      ACCTCCTTTCTGAGTTTGAATCCTGGCTCAGGACGAACGCCTGGCGGCGT
OKB_10-7                            GNNNNANTTNGNAGTTT-ATCCCTGGCTCAGGACGAACCGCTGGCGGCGT


Streptomyces_praecox_strain_IF      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-CTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-TTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-CTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_alboviridis_strai      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-TTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_californicus_stra      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-CTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_badius_strain_NRR      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATTAGT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       ------------CAANNNNAACGATGAAGCC-TTTCGG-GGTGGATTAGT
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      ------------CAAGTCGAACGGTGAAGCC-CTTCGG-GGTGGATCAGT
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-TTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_fimicarius_strain      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATTAGT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-TTTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_floridae_strain_N      GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-TTTCGG-GGTGGATTAGT
OKB_10-7                            GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAACCGCTTCGGTGGTGGATTAGT
                                                ***    **** **** **  ***** ******* ***

Streptomyces_praecox_strain_IF      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_alboviridis_strai      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_californicus_stra      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_badius_strain_NRR      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_fimicarius_strain      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_floridae_strain_N      GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
OKB_10-7                            GGCGAACCGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
                                    ******* ***************************** ************

Streptomyces_praecox_strain_IF      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_alboviridis_strai      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCTGCATGGGA
Streptomyces_californicus_stra      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCTGCATGGGA
Streptomyces_badius_strain_NRR      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCCGCCCCTGCATGGGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_fimicarius_strain      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_floridae_strain_N      AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCTGCATGGGA
OKB_10-7                            AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
                                    ******************************  ** *   ** *******
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_praecox_strain_IF        -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_cyaneofuscatus_st        -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_        -CGGGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_alboviridis_strai        -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_californicus_stra        -CGGGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_badius_strain_NRR        -CGGGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108         -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
_Kitasatospora_arboriphila_HKI        -GTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_argenteolus_JCM_4        -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_fimicarius_strain        -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         CGGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
Streptomyces_floridae_strain_N         CG-GGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
OKB_10-7                               CG-GGGTTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCT
                                          ****  *************** ***********************

Streptomyces_praecox_strain_IF         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_alboviridis_strai         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_californicus_stra         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_badius_strain_NRR         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108          TGTTGGTGGGGTGATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         TGTTGGTGGGGTGATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_fimicarius_strain         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_floridae_strain_N         TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
OKB_10-7                               TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
                                       ************ *************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_alboviridis_strai         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_californicus_stra         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_badius_strain_NRR         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108          AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_fimicarius_strain         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_floridae_strain_N         AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCCAGACT-CCTACGG
OKB_10-7                               AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACCCCGGCCCAGATTTCCTACGG
                                       ***************************** * ******** * *******

Streptomyces_praecox_strain_IF         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_alboviridis_strai         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_californicus_stra         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_badius_strain_NRR         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108          GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_fimicarius_strain         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
Streptomyces_floridae_strain_N         GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
OKB_10-7                               GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGGCG
                                       *********************************************** **

Streptomyces_praecox_strain_IF         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_alboviridis_strai         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_californicus_stra         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_badius_strain_NRR         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108          ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_fimicarius_strain         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
Streptomyces_floridae_strain_N         ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
OKB_10-7                               ACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGG
                                       **************************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF         GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_alboviridis_strai      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_californicus_stra      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_badius_strain_NRR      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GAAGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGT
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_fimicarius_strain      GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GAAGAAGCGAGAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
Streptomyces_floridae_strain_N      GAAGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
OKB_10-7                            GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGT
                                    ********* ************************ ***************

Streptomyces_praecox_strain_IF      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_alboviridis_strai      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_californicus_stra      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_badius_strain_NRR      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_fimicarius_strain      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
Streptomyces_floridae_strain_N      GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
OKB_10-7                            GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG
                                    ************************** ** ********************

Streptomyces_praecox_strain_IF      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_alboviridis_strai      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_californicus_stra      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_badius_strain_NRR      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCCTGTCGCGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_fimicarius_strain      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
Streptomyces_floridae_strain_N      GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
OKB_10-7                            GGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGG
                                    *********************** **** *********************

Streptomyces_praecox_strain_IF      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_alboviridis_strai      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_californicus_stra      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTTTGGTAGGG
Streptomyces_badius_strain_NRR      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_fimicarius_strain      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
Streptomyces_floridae_strain_N      GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
OKB_10-7                            GCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGG
                                    ******************************* ********* ********

Streptomyces_praecox_strain_IF      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_alboviridis_strai      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_californicus_stra      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCCCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_badius_strain_NRR      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCTGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_fimicarius_strain      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
Streptomyces_floridae_strain_N      GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
OKB_10-7                            GAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAA
                                    *********************** ********* ****************

Streptomyces_praecox_strain_IF      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_alboviridis_strai      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_californicus_stra      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_badius_strain_NRR      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_fimicarius_strain      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
Streptomyces_floridae_strain_N      CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
OKB_10-7                            CACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
                                    **************************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_alboviridis_strai      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_californicus_stra      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_badius_strain_NRR      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_fimicarius_strain      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
Streptomyces_floridae_strain_N      AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
OKB_10-7                            AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA
                                    **************************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_alboviridis_strai      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_californicus_stra      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_badius_strain_NRR      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_fimicarius_strain      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
Streptomyces_floridae_strain_N      CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
OKB_10-7                            CGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTA
                                    **************************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_alboviridis_strai      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_californicus_stra      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_badius_strain_NRR      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_fimicarius_strain      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
Streptomyces_floridae_strain_N      ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
OKB_10-7                            ACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAA
                                    **************************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_alboviridis_strai      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_californicus_stra      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_badius_strain_NRR      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_fimicarius_strain      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
Streptomyces_floridae_strain_N      AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
OKB_10-7                            AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGA
                                    **************************************************

Streptomyces_praecox_strain_IF      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_alboviridis_strai      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_californicus_stra      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_badius_strain_NRR      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACGCCGGAAACGTCCAG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_fimicarius_strain      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
Streptomyces_floridae_strain_N      CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
OKB_10-7                            CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
                                    **********************************  *******    ***

Streptomyces_praecox_strain_IF      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_alboviridis_strai      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_californicus_stra      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_badius_strain_NRR      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      AGATGGGCGCCCCCTTGTGGTC-GGTGTACAGGTGGT-GCATGGTTGTCG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_fimicarius_strain      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
Streptomyces_floridae_strain_N      AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTC-GGTATACAGGTGGT-GCATGGCTGTCG
OKB_10-7                            AGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCCNGTATACANGTGGTCGCATGGCNGTNT
                                    ******   *************  ** **** ***** ******  **

Streptomyces_praecox_strain_IF      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_alboviridis_strai      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_californicus_stra      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_badius_strain_NRR      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_fimicarius_strain      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
Streptomyces_floridae_strain_N      TCA-GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC
OKB_10-7                            TGGCAAACGTGTCCNTAGNAANTGGN--AANCCCC---------------
                                    *      ******   **    ***   **  ***

Streptomyces_praecox_strain_IF      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGG-TGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_alboviridis_strai      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_californicus_stra      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_badius_strain_NRR      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCGAGT-------AATGTCGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCACGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_fimicarius_strain      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCAATGCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
Streptomyces_floridae_strain_N      CTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTCGGGGTGATGGGGACTCACAGGA
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_alboviridis_strai      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_californicus_stra      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_badius_strain_NRR      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCAT
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_fimicarius_strain      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GACTGCCGGG-TCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
Streptomyces_floridae_strain_N      GACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_alboviridis_strai      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_californicus_stra      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_badius_strain_NRR      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAAAGGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_fimicarius_strain      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
Streptomyces_floridae_strain_N      GCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_alboviridis_strai      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_californicus_stra      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_badius_strain_NRR      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       CTGCGATGTCGCAAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_fimicarius_strain      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      CTGCGATGGCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
Streptomyces_floridae_strain_N      CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_alboviridis_strai      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_californicus_stra      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_badius_strain_NRR      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTTGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_fimicarius_strain      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
Streptomyces_floridae_strain_N      ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_alboviridis_strai      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_californicus_stra      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_badius_strain_NRR      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GATCAGCAT-GCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_fimicarius_strain      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
Streptomyces_floridae_strain_N      AATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_alboviridis_strai      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_californicus_stra      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_badius_strain_NRR      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108       GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
_Kitasatospora_arboriphila_HKI      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCCTT--
Streptomyces_argenteolus_JCM_4      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_fimicarius_strain      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307      GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
Streptomyces_floridae_strain_N      GTCACGTCACGAAAGTCGGTACACCCGAAGCCGG----------------
OKB_10-7                            --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF      TGGGAGGGAGCT-TCGAAGGTGGG--------------------------
Streptomyces_cyaneofuscatus_st      TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGG---------------------
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGG--------------------------
Streptomyces_alboviridis_strai      TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGG-------------
Streptomyces_californicus_stra      TGG-AGGGAGCTGTCGAAGGTGGG--------------------------
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_badius_strain_NRR       TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAAC
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108        TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAAC
_Kitasatospora_arboriphila_HKI       -GGGAGGGAGCCGTCGAAGGTGGGACCAGCGATTGGGACGAAGTCGTAAC
Streptomyces_argenteolus_JCM_4       TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAAC
Streptomyces_fimicarius_strain       TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAAC
Streptomyces_ornatus_DSM_40307       TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGGACGAAGTCGTAAC
Streptomyces_floridae_strain_N       --------------------------------------------------
OKB_10-7                             --------------------------------------------------

Streptomyces_praecox_strain_IF       ----------------------------------------
Streptomyces_cyaneofuscatus_st       ----------------------------------------
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       ----------------------------------------
Streptomyces_alboviridis_strai       ----------------------------------------
Streptomyces_californicus_stra       ----------------------------------------
Streptomyces_badius_strain_NRR       AAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCT-------------
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108        AAGGTAGCCGTACCGGAAGG--------------------
_Kitasatospora_arboriphila_HKI       AAGGTAGCCGTACCGGAAGG--------------------
Streptomyces_argenteolus_JCM_4       AAGGTAGCCGTACCGGAAGG--------------------
Streptomyces_fimicarius_strain       AAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCT-------------
Streptomyces_ornatus_DSM_40307       AAGGTAGCCGTACCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCCTT
Streptomyces_floridae_strain_N       ----------------------------------------
OKB_10-7                             ----------------------------------------
```

Multiple Sequence Alignment ของไอโซเลต OKB 10-7

```
Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       --------------------------------------------------
Streptomyces_ornatus_DSM40307        GGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       ------------GGCGTGCTTA-CACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       -----------CGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073       -----------CGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-C
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       -----------CGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-C
Streptomyces_cremeus_strain_JC       ----------GCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCC-T
Streptomyces_crystallinus_stra       CGAACGC-TGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCA-C
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       ---------------------AACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T
Streptomyces_floridae_strain_N       CGAACGCCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       CGAACGCCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGC
OKB_11-2-11_2_                       --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       -----------------------------CAAGTCGAACGGTGAAGCC-C

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       --------------------------------------------------
Streptomyces_ornatus_DSM40307        TTTCGGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       TTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       TTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073       TTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       TTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_cremeus_strain_JC       TTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_crystallinus_stra       TTCGGTGG-GGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       TTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_floridae_strain_N       TTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       TTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC
OKB_11-2-11_2_                       --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       TTCGG-GGTGGATCAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       ---------------------------------CTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_ornatus_DSM40307        CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_praecox_IFO_13073       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_cremeus_strain_JC       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_crystallinus_stra       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGAC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_floridae_strain_N       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACAC
OKB_11-2-11_2_                       --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       CCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGAC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       TCTGTCCCGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_ornatus_DSM40307        TCTGTCCCGCATGGGACGGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       TCTGTCCCGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       TCTGTCCCGCATGGACGGGG-TTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073       TCTGTCCCGCATGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       TCTGTCCCGCATGGACGGGG-TTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_cremeus_strain_JC       TCCTGCCCGCATGGGCGGGGG-TTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_crystallinus_stra       CTGGAAGCGCATGCTTCCGGG-TGGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       TCTGTCCCGCATGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_floridae_strain_N       TCTGTCCTGCATGGACGGGG-TTGAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       TCTGTCCCGCATGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
OKB_11-2-11_2_                       --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       CCGCCCCTGCATGGGGGTGGG-TGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_ornatus_DSM40307        CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_praecox_IFO_13073       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_cremeus_strain_JC       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_crystallinus_stra       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_floridae_strain_N       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC
OKB_11-2-11_2_                       --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       CCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGAC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_ornatus_DSM40307        GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_praecox_IFO_13073       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_cremeus_strain_JC       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_crystallinus_stra       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_floridae_strain_N       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
OKB_11-2-11_2_                       -----------------------CGGCCCACACTGGGACTTGAGACCACG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
                                                            * * ************* ***** ***

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_ornatus_DSM40307        GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_praecox_IFO_13073       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_cremeus_strain_JC       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_crystallinus_stra       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_floridae_strain_N       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
OKB_11-2-11_2_                       GCCCCAGACTTCCTACGGGAGGCAGCCAGTGGGGAATTATTGCACAATGG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGGAAT-ATTGCACAATGG
                                     **** ***** *************** ********** ************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_ornatus_DSM40307        GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_praecox_IFO_13073       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_cremeus_strain_JC       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_crystallinus_stra       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_floridae_strain_N       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
OKB_11-2-11_2_                       GCGAAAGCCTGATGCAGCGACCGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
                                     ********************* ****************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_ornatus_DSM40307        TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAGAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_praecox_IFO_13073         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_cremeus_strain_JC         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_crystallinus_stra         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_cavourensis_NRRL_         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_floridae_strain_N         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGCAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
OKB_11-2-11_2_                         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Kitasatospora_arboriphila_HKI_         TGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGCAAGTGACGGTACCTGCAGA
                                       ************************** *** *******************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_ornatus_DSM40307          AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_praecox_IFO_13073         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_cremeus_strain_JC         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_crystallinus_stra         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_floridae_strain_N         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR         AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
OKB_11-2-11_2_                         AGAAAGCCCCGGGCTAATTACGTGCCAGCAGCCCGCGGTAATACGTAGGG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_         AGAAGCACC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
                                       ****   **  ****** *************** ****************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_ornatus_DSM40307          CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_praecox_IFO_13073         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_cremeus_strain_JC         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_crystallinus_stra         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_floridae_strain_N         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
OKB_11-2-11_2_                         CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_         TGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCCTG
                                        ** ******************************************* **

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_ornatus_DSM40307          TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_praecox_IFO_13073         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_cremeus_strain_JC         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_crystallinus_stra         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_cavourensis_NRRL_         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_floridae_strain_N         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
OKB_11-2-11_2_                         TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
Kitasatospora_arboriphila_HKI_         TCGCGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTCGATA
                                       ** ***********************************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_ornatus_DSM40307          CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_praecox_IFO_13073         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_cremeus_strain_JC         CGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_crystallinus_stra         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_cavourensis_NRRL_         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_floridae_strain_N         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
OKB_11-2-11_2_                         CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
Kitasatospora_arboriphila_HKI_         CGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCTGT
                                       *****  **************************************** **

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3         GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_ornatus_DSM40307          GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1         GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1         GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_praecox_IFO_13073         GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_cremeus_strain_JC      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_crystallinus_stra      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_floridae_strain_N      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
OKB_11-2-11_2_                      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
                                    **************************************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_ornatus_DSM40307       GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_praecox_IFO_13073      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_cremeus_strain_JC      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_crystallinus_stra      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_floridae_strain_N      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
OKB_11-2-11_2_                      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
                                    **************************************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_ornatus_DSM40307       TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_praecox_IFO_13073      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_cremeus_strain_JC      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_crystallinus_stra      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_floridae_strain_N      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
OKB_11-2-11_2_                      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACTAGGTGTTGGCGACAT
                                    **************************************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_ornatus_DSM40307       TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_praecox_IFO_13073      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_cremeus_strain_JC      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_crystallinus_stra      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_floridae_strain_N      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      TCCACGTCGACGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
OKB_11-2-11_2_                      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      TCCACGTCGTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAG
                                    ********* ****************************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_ornatus_DSM40307       TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_cremeus_strain_JC      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_crystallinus_stra      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_floridae_strain_N      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
OKB_11-2-11_2_                      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      TACGGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
                                    **************************************************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_ornatus_DSM40307       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_cremeus_strain_JC       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_crystallinus_stra       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_floridae_strain_N       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
OKB_11-2-11_2_                       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
                                     **************************** *********************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_ornatus_DSM40307        TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_praecox_IFO_13073       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_cremeus_strain_JC       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_crystallinus_stra       TTGACATATACCGGAAAGCATTAGAGATAGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_floridae_strain_N       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
OKB_11-2-11_2_                       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCCTTGTGGTCGGTA
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       TTGACATACGCCGGAAACGTCCAGAGATGGGCGCCCCCTTGTGGTCGGTG
                                     ********  *******     ****** *   ****************

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_ornatus_DSM40307        TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_praecox_IFO_13073       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_cremeus_strain_JC       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_crystallinus_stra       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_floridae_strain_N       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
OKB_11-2-11_2_                       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGCAACTCGTGTCNTGGAATGTTGGGT-
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       TACAGGTGGTGCATGGTTGTCGT-CAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
                                     **************** ****** ** ******** **  *********

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_ornatus_DSM40307        AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCAATGCCTTC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_praecox_IFO_13073       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_cremeus_strain_JC       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCACGCCCTTC
Streptomyces_crystallinus_stra       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_floridae_strain_N       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
OKB_11-2-11_2_                       -ANCCC--------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCTGTGTTGCCAGCGAGT-----
                                      *  **

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_ornatus_DSM40307        GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGG-TCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_praecox_IFO_13073       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       GGG-TGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_cremeus_strain_JC       GGGGTGGTGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_crystallinus_stra       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_cavourensis_NRRL_       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_floridae_strain_N       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
OKB_11-2-11_2_                       --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_       --AATGTCGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGT

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3       GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_ornatus_DSM40307        GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1       GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1       GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_praecox_IFO_13073       GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_       GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_cremeus_strain_JC       GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Streptomyces_crystallinus_stra      GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_floridae_strain_N      GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
OKB_11-2-11_2_                      --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      GGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_ornatus_DSM40307       CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGGCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_praecox_IFO_13073      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_cremeus_strain_JC      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGTCGTGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_crystallinus_stra      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGTGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_floridae_strain_N      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
OKB_11-2-11_2_                      --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      CTACAATGGCCGGTACAAAGGGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_ornatus_DSM40307       CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_praecox_IFO_13073      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_cremeus_strain_JC      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_crystallinus_stra      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_floridae_strain_N      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
OKB_11-2-11_2_                      --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_ornatus_DSM40307       GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_praecox_IFO_13073      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_cremeus_strain_JC      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_crystallinus_stra      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTT-
Streptomyces_floridae_strain_N      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAAATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTC
OKB_11-2-11_2_                      --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      GTTGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT-GCTGCGGTGAATACGTTC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_ornatus_DSM40307       CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_praecox_IFO_13073      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_cremeus_strain_JC      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_crystallinus_stra      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
Streptomyces_cavourensis_NRRL_      --------------------------------------------------
Streptomyces_floridae_strain_N      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTA-CACCCG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
OKB_11-2-11_2_                      --------------------------------------------------
Kitasatospora_arboriphila_HKI_      CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTG
Streptomyces_ornatus_DSM40307       AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGC-----------------
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTNGAAGGTGGG----
Streptomyces_praecox_IFO_13073      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCT-TCGAAGGTGGG----
Streptomyces_tanashiensis_IFO_      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGG----
Streptomyces_cremeus_strain_JC      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTG
Streptomyces_crystallinus_stra      AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTG
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้