

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การคัดเลือกเอกติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจากดิน



เลขานว้.....**67311**
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี **2 2 พ.ย. 2549**

b. *10172752*
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Screening of Antibiotic-producing Actinomycetes from Soil



**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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจากดิน
นักศึกษา นายนันทวุฒิ นิยมวงษ์ รหัสประจำตัว 45050747
นายนันทวุฒิ ฉัตรอุทัย รหัสประจำตัว 45050748
นายนาวิน เนสุสินธุ์ รหัสประจำตัว 45050749
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.จิตติ ท่าไผ่

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดร.มารีสา จาตุพรพิพัฒน์	
กรรมการ ดร.จิตติ ท่าไผ่	
กรรมการ อาจารย์กนิงกานต์ กลั่นบุศย์	



(รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดต่อไปนี้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร อาหารส่วนใหญ่หนึ่ง
ฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอน้ำร้อน 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 ₂ HPO 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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) ₂ SO ₄	0.264	กรัม
KH ₂ PO ₄ Anhydrous	0.238	กรัม
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	0.565	กรัม
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.1	กรัม
Pridham and	0.1	มิลลิลิตร

Hlieb trace salts (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Agar	1.5	กรัม
------	-----	------

pH 6.8-7.0

trace salt (B)

CuSO ₄ 5H ₂ O	0.64	กรัม
-------------------------------------	------	------

FeSO ₄ 7H ₂ O	0.11	กรัม
-------------------------------------	------	------

MnCl ₂ 4H ₂ O	0.79	กรัม
-------------------------------------	------	------

ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.15	กรัม
-------------------------------------	------	------

DW	100	มิลลิลิตร
----	-----	-----------

7. Inorganic salts-starch agar

Soluble starch	1.0	กรัม
----------------	-----	------

KH ₂ PO ₄ Anhydrous	0.1	กรัม
---	-----	------

MgSO ₄ 7H ₂ O	1.0	กรัม
-------------------------------------	-----	------

NaCl	0.1	กรัม
------	-----	------

(NH ₄) ₂ SO 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 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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
----------------------	------	------

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05	กรัม
----------------------	------	------

NaCl	0.01	กรัม
------	------	------

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	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
----------	----	-----------

$CaCO_3$	20	มิลลิกรัม
----------	----	-----------

Vitamin B	10	มิลลิกรัม
-----------	----	-----------

Agar	15	กรัม
------	----	------

DW	1000	มิลลิลิตร
----	------	-----------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สารละลายที่ใช้ในการสกัด DNA

Saline-Na₂ 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 หลังจากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 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)

ละลายสาร Phenol ที่อยู่ในขวด ในอ่างน้ำปรับอุณหภูมิ 65 °C และผสมกับ chloroform ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) เก็บสารละลายในภาชนะที่บดแสง

RNase A solution

RNase A	20	มิลลิกรัม
0.15 M NaCl	10	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 T₁ solution

RNase T ₁	80	ไมโครลิตร
0.1 M Tris-HCl (pH 7.5)	10	มิลลิลิตร

ผสม RNase T₁ 80 µl กับ 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิลิตร และอุ่นที่ 95 °C เป็นเวลา 5 นาที เก็บ RNase T₁ solution ไว้ที่ -20 °C



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

Multiple Sequence Alignment

Multiple Sequence Alignment ของ ไอโซเลต 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_floridiae_strain_N       ACCTCCTTTCTGAGTTTGAATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGT
OKB_10-7                               GNNNNANTTNGNAGTTT-ATCCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGT

Streptomyces_praecox_strain_IF          GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-C TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-C TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_alboviridis_strai         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_californicus_stra         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-C TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_badius_strain_NRR         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATTAGT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108         -----CAANNNAACGATGAAGCC-T TTCGG-GGTGGATTAGT
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         -----CAAGTCGAACGATGAAGCC-C TTCGG-GGTGGATCAGT
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_fimicarius_strain         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCGCTTCGGTGGTGGATTAGT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T TTCGG-GGTGGATTAGT
Streptomyces_floridiae_strain_N       GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCC-T TTCGG-GGTGGATTAGT
OKB_10-7                               GCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCGCTTCGGTGGTGGATTAGT
                                         ***      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

Streptomyces_praecox_strain_IF          GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_tanashiensis_IFO         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_alboviridis_strai         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_californicus_stra         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_badius_strain_NRR         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_fimicarius_strain         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         GGCGAAC-GGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
Streptomyces_floridiae_strain_N       GGCGAACCGGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
OKB_10-7                               GGCGAACCGGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTTCACTCTGGGACA
                                         *****

Streptomyces_praecox_strain_IF          AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_cyaneofuscatus_st         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_tanashiensis_IFO         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_alboviridis_strai         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_californicus_stra         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_badius_strain_NRR         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
_Kitasatospora_arboriphila_HKI         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCCGCCCTGCATGGGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_fimicarius_strain         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_ornatus_DSM_40307         AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
Streptomyces_floridiae_strain_N       AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
OKB_10-7                               AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCCGCATGGGA
                                         *****

```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_praecox_strain_IF -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_cyaneofuscatus_st -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ -CGGGGTTGAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_alboviridis_strai -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_californicus_stra -CGGGGTTGAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_badius_strain_NRR -CGGGGTTGAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108 -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Kitasatospora_arboriphila_HKI -GTGGGTGAAAAGCTCCGGCGGTGACAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_argenteolus_JCM_4 -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_fimicarius_strain -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_ornatus_DSM_40307 -CGGGGTTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
Streptomyces_floridiae_strain_N -CGGGGTTGAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGCCCGCGGCTATCAGCT
OKB_10-7 *****

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 TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Kitasatospora_arboriphila_HKI TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4 TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_fimicarius_strain TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307 TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
Streptomyces_floridiae_strain_N TGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAG
OKB_10-7 *****

Streptomyces_praecox_strain_IF AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_alboviridis_strai AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_californicus_stra AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_badius_strain_NRR AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108 AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Kitasatospora_arboriphila_HKI AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4 AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_fimicarius_strain AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307 AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
Streptomyces_floridiae_strain_N AGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACAC-GGCCAGACT-CCTACGG
OKB_10-7 *****

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_floridiae_strain_N GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAG-CG
OKB_10-7 *****

Streptomyces_praecox_strain_IF ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_cyaneofuscatus_st ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_alboviridis_strai ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_californicus_stra ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_badius_strain_NRR ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108 ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Kitasatospora_arboriphila_HKI ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_argenteolus_JCM_4 ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_fimicarius_strain ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_ornatus_DSM_40307 ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
Streptomyces_floridiae_strain_N ACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA AACCTCTTTTCAGCAGG
OKB_10-7 *****

Streptomyces_praecox_strain_IF GAAGAAGCGAAAGTGACGGTACTGCAGAAGAAGCGCCGCTAACTACGT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_tanashiensis_IFO_
Streptomyces_alboviridis_strai
Streptomyces_californicus_stra
Streptomyces_badius_strain_NRR
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
Streptomyces_argenteolus_JCM_4
Streptomyces_fimicarius_strain
Streptomyces_ornatus_DSM_40307
Streptomyces_floridiae_strain_N
OKB_10-7

CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA
CACCGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGA

Streptomyces_praecox_strain_IF
Streptomyces_cyaneofuscatus_st
Streptomyces_tanashiensis_IFO_
Streptomyces_alboviridis_strai
Streptomyces_californicus_stra
Streptomyces_badius_strain_NRR
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
Streptomyces_argenteolus_JCM_4
Streptomyces_fimicarius_strain
Streptomyces_ornatus_DSM_40307
Streptomyces_floridiae_strain_N
OKB_10-7

AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA

Streptomyces_praecox_strain_IF
Streptomyces_cyaneofuscatus_st
Streptomyces_tanashiensis_IFO_
Streptomyces_alboviridis_strai
Streptomyces_californicus_stra
Streptomyces_badius_strain_NRR
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
Streptomyces_argenteolus_JCM_4
Streptomyces_fimicarius_strain
Streptomyces_ornatus_DSM_40307
Streptomyces_floridiae_strain_N
OKB_10-7

CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA
CGTTGGGAAGTGGTGTGGCGACATTCACGTCGTCGGTGCCGCGAGTA

Streptomyces_praecox_strain_IF
Streptomyces_cyaneofuscatus_st
Streptomyces_tanashiensis_IFO_
Streptomyces_alboviridis_strai
Streptomyces_californicus_stra
Streptomyces_badius_strain_NRR
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
Streptomyces_argenteolus_JCM_4
Streptomyces_fimicarius_strain
Streptomyces_ornatus_DSM_40307
Streptomyces_floridiae_strain_N
OKB_10-7

ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA
ACGCATTAAGTTCGCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCAA

Streptomyces_praecox_strain_IF
Streptomyces_cyaneofuscatus_st
Streptomyces_tanashiensis_IFO_
Streptomyces_alboviridis_strai
Streptomyces_californicus_stra
Streptomyces_badius_strain_NRR
Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
Streptomyces_argenteolus_JCM_4
Streptomyces_fimicarius_strain
Streptomyces_ornatus_DSM_40307
Streptomyces_floridiae_strain_N
OKB_10-7

AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTGCA

Streptomyces_praecox_strain_IF
Streptomyces_cyaneofuscatus_st
Streptomyces_tanashiensis_IFO_

CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG
CGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATATACCGGAAAGCATCAG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_californicus_stra
 Streptomyces_badius_strain_NRR
 Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
 Kitasatospora_arboriphila_HKI
 Streptomyces_argenteolus_JCM_4
 Streptomyces_fimicarius_strain
 Streptomyces_ornatus_DSM_40307
 Streptomyces_floridiae_strain_N
 OKB_10-7

GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG
 GCCCCCTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAG

Streptomyces_praecox_strain_IF
 Streptomyces_cyaneofuscatus_st
 Streptomyces_tanashiensis_IFO
 Streptomyces_alboviridis_strai
 Streptomyces_californicus_stra
 Streptomyces_badius_strain_NRR
 Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
 Kitasatospora_arboriphila_HKI
 Streptomyces_argenteolus_JCM_4
 Streptomyces_fimicarius_strain
 Streptomyces_ornatus_DSM_40307
 Streptomyces_floridiae_strain_N
 OKB_10-7

CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG
 CTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGG

Streptomyces_praecox_strain_IF
 Streptomyces_cyaneofuscatus_st
 Streptomyces_tanashiensis_IFO
 Streptomyces_alboviridis_strai
 Streptomyces_californicus_stra
 Streptomyces_badius_strain_NRR
 Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
 Kitasatospora_arboriphila_HKI
 Streptomyces_argenteolus_JCM_4
 Streptomyces_fimicarius_strain
 Streptomyces_ornatus_DSM_40307
 Streptomyces_floridiae_strain_N
 OKB_10-7

ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA
 ATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCA

Streptomyces_praecox_strain_IF
 Streptomyces_cyaneofuscatus_st
 Streptomyces_tanashiensis_IFO
 Streptomyces_alboviridis_strai
 Streptomyces_californicus_stra
 Streptomyces_badius_strain_NRR
 Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
 Kitasatospora_arboriphila_HKI
 Streptomyces_argenteolus_JCM_4
 Streptomyces_fimicarius_strain
 Streptomyces_ornatus_DSM_40307
 Streptomyces_floridiae_strain_N
 OKB_10-7

GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 GATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC
 AATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCC

Streptomyces_praecox_strain_IF
 Streptomyces_cyaneofuscatus_st
 Streptomyces_tanashiensis_IFO
 Streptomyces_alboviridis_strai
 Streptomyces_californicus_stra
 Streptomyces_badius_strain_NRR
 Streptomyces_cyaneus_ISP_5108
 Kitasatospora_arboriphila_HKI
 Streptomyces_argenteolus_JCM_4
 Streptomyces_fimicarius_strain
 Streptomyces_ornatus_DSM_40307
 Streptomyces_floridiae_strain_N
 OKB_10-7

GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG
 GTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCCAACCCCTTG

Streptomyces_praecox_strain_IF
 Streptomyces_cyaneofuscatus_st
 Streptomyces_tanashiensis_IFO
 Streptomyces_alboviridis_strai
 Streptomyces_californicus_stra

TGGGAGGGAGCT-TCGAAGGTGGG-----
 TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGG-----
 TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGG-----
 TGGGAGGGAGCTGTCGAAGGTGGGACTGGCGATTGGG-----
 TGG-AGGGAGCTGTCGAAGGTGGG-----

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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_floridiae_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_floridiae_strain_N     -----
OKB_10-7                             -----

```

Multiple Sequence Alignment ของ โอโซเลท 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_floridiae_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      TTTCGGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TTTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      TTTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073      TTTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO      TTTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_cremeus_strain_JC      TTTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_crystallinus_stra      TTTCGGTGG-GGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL      TTTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_floridiae_strain_N     TTTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      TTTCGGTGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC
OKB_11-2-11_2_                      -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI      TTTCGG-GGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAACACGTGGGCAATCTGC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      -----CTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_ornatus_DSM40307      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_praecox_IFO_13073      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_tanashiensis_IFO      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_cremeus_strain_JC      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_crystallinus_stra      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACGAC
Streptomyces_cavourensis_NRRL      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_floridiae_strain_N     CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAAACAC
OKB_11-2-11_2_                      -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI      CCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAACGAC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_ornatus_DSM40307      TCTGTCCCAGCATGGGACGGGGTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC

```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_sindenensis_IFO_1 TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073 TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_cremeus_strain_JC TCCTGCCCGCATGGGCGGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_crystallinus_stra CTGGAAGCGCATGCTTCCGGG-TGAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_floridiae_strain_N TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR TCTGTCCCAGCATGGGACGGGG-TTAAAAGCTCCGGCGGTGAAGGATGAGC
OKB_11-2-11_2 -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ CCGCCCTGCATGGGGTGGG-TGAAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGC

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_ornatus_DSM40307 CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_praecox_IFO_13073 CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_tanashiensis_IFO CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_cremeus_strain_JC CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_crystallinus_stra CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_cavourensis_NRRL CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_floridiae_strain_N CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC
OKB_11-2-11_2 -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ CCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGGCTACCAAGGCGACGAC

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_floridiae_strain_N GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
OKB_11-2-11_2 -----CGGCCACACTGGGACTTGAGACCAG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ GGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACT-GAGAC-ACG
* * * * *

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_ornatus_DSM40307 GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_praecox_IFO_13073 GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_tanashiensis_IFO GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_cremeus_strain_JC GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_crystallinus_stra GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_cavourensis_NRRL GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_floridiae_strain_N GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-ATTGCACAATGG
OKB_11-2-11_2 -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ GCCC-AGACT-CCTACGGGAGGCAGC-AGTGGGAAT-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_floridiae_strain_N GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT
OKB_11-2-11_2 -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ GCGAAAGCCTGATGCAGCGAC-GCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGT

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 TGTAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_ornatus_DSM40307 TGTAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 TGTAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 TGTAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_praecox_IFO_13073 TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Streptomyces_tanashiensis_IFO TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Streptomyces_cremeus_strain_JC TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Streptomyces_crystallinus_stra TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Streptomyces_cavourensis_NRRL TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Streptomyces_floridiae_strain_N TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Streptomyces_flavidofuscus_NRR OKB_11-2-11_2 TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 Kitasatospora_arboriphila_HKI_ TGTA AACCTCTTTCAGCAGGGAAGAA-GCGAAAGTGACGGTACCTGCAGA
 ***** ** *****

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_floridiae_strain_N AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
 Streptomyces_flavidofuscus_NRR OKB_11-2-11_2 AGAAGCGCC--GGCTAACTACGTGCCAGCAGCC-GCGGTAATACGTAGGG
 Kitasatospora_arboriphila_HKI_ AGAAGCGCC--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_floridiae_strain_N CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
 Streptomyces_flavidofuscus_NRR OKB_11-2-11_2 CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
 Kitasatospora_arboriphila_HKI_ CGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTG
 ***** ** *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_ornatus_DSM40307 TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_sindenensis_IFO_1 TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_praecox_IFO_13073 TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_tanashiensis_IFO TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_cremeus_strain_JC TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_crystallinus_stra TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_cavourensis_NRRL TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_floridiae_strain_N TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Streptomyces_flavidofuscus_NRR OKB_11-2-11_2 TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 Kitasatospora_arboriphila_HKI_ TCACGTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCATTTCGATA
 ***** ** *****

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 CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
 Streptomyces_crystallinus_stra CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
 Streptomyces_cavourensis_NRRL CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
 Streptomyces_floridiae_strain_N CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
 Streptomyces_flavidofuscus_NRR OKB_11-2-11_2 CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
 Kitasatospora_arboriphila_HKI_ CGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
 ***** ** *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGATCTCTGG
 Streptomyces_ornatus_DSM40307 GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGATCTCTGG
 Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGATCTCTGG
 Streptomyces_sindenensis_IFO_1 GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGATCTCTGG
 Streptomyces_praecox_IFO_13073 GAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGATCTCTGG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_tanashiensis_IFO_ GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_cremeus_strain_JC GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_crystallinus_stra GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_cavourensis_NRRL GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_floridiae_strain_N GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
OKB_11-2-11_2 GAAATGCCGAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ *****

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_floridiae_strain_N GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
OKB_11-2-11_2 GCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGA
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_ornatus_DSM40307 TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_praecox_IFO_13073 TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_cremeus_strain_JC TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_crystallinus_stra TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_cavourensis_NRRL TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_floridiae_strain_N TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
OKB_11-2-11_2 TACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGTTGGGAAGTGGGACAT
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_ornatus_DSM40307 TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_praecox_IFO_13073 TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_cremeus_strain_JC TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_crystallinus_stra TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_cavourensis_NRRL TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_floridiae_strain_N TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Streptomyces_flavidofuscus_NRR TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
OKB_11-2-11_2 TCCACGTCGTCGGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCTGGGGAG
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_ornatus_DSM40307 TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073 TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_cremeus_strain_JC TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_crystallinus_stra TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_floridiae_strain_N TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
OKB_11-2-11_2 TACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGC
Kitasatospora_arboriphila_HKI_ *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3 AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGGAAGAACCCTTACCAAGGC
Streptomyces_ornatus_DSM40307 AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGGAAGAACCCTTACCAAGGC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1 AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGGAAGAACCCTTACCAAGGC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1 AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGGAAGAACCCTTACCAAGGC
Streptomyces_praecox_IFO_13073 AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGGAAGAACCCTTACCAAGGC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_ AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCACCGGAAGAACCCTTACCAAGGC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```

Streptomyces_cremeus_strain_JC      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_crystallinus_stra      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_cavourensis_NRRL      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_floridiae_strain_N     AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR     AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
OKB_11-2-11_2_                      AGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGC
Kitasatospora_arboriphila_HKI_     *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_ornatus_DSM40307       TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_sindenensis_IFO_1     TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_praecox_IFO_13073     TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_tanashiensis_IFO_     TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_cremeus_strain_JC      TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_crystallinus_stra      TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_cavourensis_NRRL      TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_floridiae_strain_N     TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Streptomyces_flavidofuscus_NRR     TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
OKB_11-2-11_2_                      TTGACATATACCGGAAAGCATCAGAGATGGTGCCCCCTTGTGGTCGGTA
Kitasatospora_arboriphila_HKI_     *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_ornatus_DSM40307       TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1     TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_praecox_IFO_13073     TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_     TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_cremeus_strain_JC      TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_crystallinus_stra      TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_cavourensis_NRRL      TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_floridiae_strain_N     TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR     TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
OKB_11-2-11_2_                      TACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT-CAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTT
Kitasatospora_arboriphila_HKI_     *****

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_ornatus_DSM40307       AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_sindenensis_IFO_1     AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_praecox_IFO_13073     AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_tanashiensis_IFO_     AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_cremeus_strain_JC      AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_crystallinus_stra      AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_cavourensis_NRRL      AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_floridiae_strain_N     AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
Streptomyces_flavidofuscus_NRR     AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTC
OKB_11-2-11_2_                      -ANCC-
Kitasatospora_arboriphila_HKI_     AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTGTGTTGCCAGCGAGT-----
* **

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_ornatus_DSM40307       GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_sindenensis_IFO_1     GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_praecox_IFO_13073     GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_tanashiensis_IFO_     GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_cremeus_strain_JC      GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_crystallinus_stra      GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_cavourensis_NRRL      GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_floridiae_strain_N     GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
Streptomyces_flavidofuscus_NRR     GGGGTGATGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT
OKB_11-2-11_2_                      -----
Kitasatospora_arboriphila_HKI_     --AATGTCGGGGACTCACAGGAGACTGCCGGGTCAACTCGGAGGAAGGT

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3      GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_ornatus_DSM40307       GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1      GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_sindenensis_IFO_1     GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_praecox_IFO_13073     GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_tanashiensis_IFO_     GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG
Streptomyces_cremeus_strain_JC      GGGGACGACGTC AAGTCATCATGCCCCCTTATGCTCTGGGCTGCACACGTG

```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptomyces_crystallinus_stra
Streptomyces_cavourensis_NRRL
Streptomyces_floridiae_strain_N
Streptomyces_flavidofuscus_NRR
OKB_11-2-11_2_
Kitasatospora_arboriphila_HKI_

GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG
GGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG

GGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTG

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3
Streptomyces_ornatus_DSM40307
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1
Streptomyces_sindenensis_IFO_1
Streptomyces_praecox_IFO_13073
Streptomyces_tanashiensis_IFO_1
Streptomyces_cremeus_strain_JC
Streptomyces_crystallinus_stra
Streptomyces_cavourensis_NRRL
Streptomyces_floridiae_strain_N
Streptomyces_flavidofuscus_NRR
OKB_11-2-11_2_
Kitasatospora_arboriphila_HKI_

CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT
CTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT

CTACAATGGCCGGTACAAAGGGTGGCGATGCCGCGAGGCGGAGCGAATCT

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3
Streptomyces_ornatus_DSM40307
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1
Streptomyces_sindenensis_IFO_1
Streptomyces_praecox_IFO_13073
Streptomyces_tanashiensis_IFO_1
Streptomyces_cremeus_strain_JC
Streptomyces_crystallinus_stra
Streptomyces_cavourensis_NRRL
Streptomyces_floridiae_strain_N
Streptomyces_flavidofuscus_NRR
OKB_11-2-11_2_
Kitasatospora_arboriphila_HKI_

CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA
CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA

CAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAA

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3
Streptomyces_ornatus_DSM40307
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1
Streptomyces_sindenensis_IFO_1
Streptomyces_praecox_IFO_13073
Streptomyces_tanashiensis_IFO_1
Streptomyces_cremeus_strain_JC
Streptomyces_crystallinus_stra
Streptomyces_cavourensis_NRRL
Streptomyces_floridiae_strain_N
Streptomyces_flavidofuscus_NRR
OKB_11-2-11_2_
Kitasatospora_arboriphila_HKI_

GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT
GTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT

GTTGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTT

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3
Streptomyces_ornatus_DSM40307
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1
Streptomyces_sindenensis_IFO_1
Streptomyces_praecox_IFO_13073
Streptomyces_tanashiensis_IFO_1
Streptomyces_cremeus_strain_JC
Streptomyces_crystallinus_stra
Streptomyces_cavourensis_NRRL
Streptomyces_floridiae_strain_N
Streptomyces_flavidofuscus_NRR
OKB_11-2-11_2_
Kitasatospora_arboriphila_HKI_

CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG
CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG

CCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCG

Streptomyces_anulatus_NRRL_B-3
Streptomyces_ornatus_DSM40307
Streptomyces_acrimycini_AS_4.1
Streptomyces_sindenensis_IFO_1
Streptomyces_praecox_IFO_13073
Streptomyces_tanashiensis_IFO_1
Streptomyces_cremeus_strain_JC
Streptomyces_crystallinus_stra

AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGGACTG
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGGACTG
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGC-----
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGG----
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCT-TGCAAGGTGGG----
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGG----
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGG----
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGGACTG
AAGCCGGTGGCCCAACCCCTTGTGGGAGGAGCTGTGCAAGGTGGGACTG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

แอสโคไมซีตัส จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณ G+C ในดีเอ็นเอสูง (higher G+C) “แอสโคไมซีตัส” เดิมมาจากภาษากรีก คำว่า “aktis” แปลว่ารังสี ซึ่งรวมกับคำว่า “mykes” ที่แปลว่า เชื้อรา เนื่องมาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏให้เห็นนั่นเอง

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

แอสโคไมซีตัสสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากระบวนการเมแทบอลิซึมที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ ซึ่งช่วงทศวรรษที่ผ่านมาแอสโคไมซีตัสได้กลายมาเป็นแหล่งของสารปฏิชีวนะที่สำคัญที่สุด ในช่วงปี ค.ศ. 1960 ถึง 1970 การค้นพบสารปฏิชีวนะจากอันดับ *Actinomycetales* มีมากถึงร้อยละ 75- 80 ของการค้นพบสารปฏิชีวนะทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสกุล *Streptomyces* ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับสกุลอื่นๆ ในอันดับเดียวกัน (Coyne, 1999)

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

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอสโคไมซีตัสจากดินในแหล่งที่น่าสนใจ 3 แหล่ง เนื่องจากมีความเป็นไปได้ว่าอาจพบเชื้อแอสโคไมซีตัสสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งอาจมีแนวโน้มในการสร้างสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ จากการที่เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมักการดื้อยามากขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ตามไปด้วย และแหล่งสารปฏิชีวนะนั้นส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อกลุ่มแอสโคไมซีตัส จึงทำให้มีการศึกษาในครั้งนี้เกิดขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1. เพื่อแยก และคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทส์จากดินในธรรมชาติ และศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ
2. เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือก โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง 16S rRNA gene รวมทั้งศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาการเจริญ สรีระวิทยา และชีวเคมีของเชื้อที่แยกได้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

1. ทำการคัดเลือกแอกติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างสารทุติยภูมิ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินในแหล่งที่น่าสนใจ
2. ทำการศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้น ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาการเจริญ สรีระวิทยาชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือกได้ ตลอดจนลักษณะทางจีโนมไปบางลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือกได้
3. ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นจากเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือกได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถแยกเชื้อในกลุ่มแอกติโนมัยซีทส์ที่ผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพได้
2. สามารถรวบรวมความรู้ทางด้านอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อในกลุ่มแอกติโนมัยซีทส์ที่แยกได้เพื่อไปเป็นข้อมูลในการศึกษา และวิจัยด้านอื่นต่อไป
3. การวิจัยครั้งนี้อาจค้นพบเชื้อกลุ่มแอกติโนมัยซีทส์ชนิดใหม่ซึ่งสามารถสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ชนิดใหม่ได้

1.5 ขั้นตอนการทำโครงการพิเศษ

1. การเก็บตัวอย่าง การแยกและการคัดเลือกเชื้อ
 - 1.1 การเก็บตัวอย่าง
 - 1.2 การแยกเชื้อ
2. การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อ
 - 2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญ สรีระวิทยาและชีวเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การคัดเลือกเชื้อเริ่มต้น

2.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย 16S rRNA gene และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ

2.2.1 การเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

2.2.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย 16S rRNA gene

2.2.3 การวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ (Phylogenetic analysis)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 แอคติโนมัยซีทส์ (Actinomycetes)

แอกติโนมัยซีทส์จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวกอยู่ในอันดับ *Actinomycetales* มีลักษณะคล้ายกิ่งระหว่างรา และแบคทีเรีย ดังนี้

ลักษณะของแอกติโนมัยซีทส์ที่คล้ายรา (งามนิจ, 2537)

1. เส้นใยของแอกติโนมัยซีทส์จะแตกสาขาคลายเส้นใยของรา
2. แอกติโนมัยซีทส์หลายกลุ่มสร้างเส้นใยที่เจริญอยู่บนอากาศ (aerial mycelium) ซึ่งตรงปลายจะมีโคนิเดีย (conidia) คล้ายกับเส้นใยและสปอร์ของรา

3. การเจริญของแอกติโนมัยซีทส์ในอาหารเหลวไม่ค่อยจะปรากฏว่าทำให้เกิดสีขุ่น (turbidity) อันเนื่องมาจากการแขวนลอยของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวของแบคทีเรีย แต่แอกติโนมัยซีทส์จะเจริญแบบกลุ่มก้อน

4. การเพิ่มจำนวนของแอกติโนมัยซีทส์จะคล้ายกับรา ส่วนการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียจะเป็นแบบทวีคูณ (exponential)

ลักษณะของแอกติโนมัยซีทส์ที่คล้ายแบคทีเรีย

1. มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันคือ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 - 1.2 ไมโครเมตร
2. ส่วนที่ขาดออกเป็นท่อนๆ (fragment) จะมีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Mycobacterium* และ *Coryneform* ไม่ว่าจะป็นรูปร่างการติดสีข้อมและลักษณะทางสรีระวิทยา

3. ถูกทำลายได้โดยแบคทีเรียโอฟาจและสารปฏิชีวนะประเภทเดียวกันกับที่ทำลายแบคทีเรีย

4. ผนังเซลล์ไม่มีโคติน หรือเซลล์ลูโลสแต่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของน้ำตาล และกรดอะมิโนซึ่งคล้ายกับผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก

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

การเจริญของเชื้อกลุ่มแอกติโนมัยซีทส์ เจริญโดยสร้างเส้นใยแตกกิ่งก้านให้เห็นได้บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์หลังจากทำการบ่มเชื้อไปแล้ว 24 ชม. และจะปรากฏให้เห็นโคโลนีหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้ว 3 - 4 วัน แต่เส้นใยและสปอร์จะพัฒนาเต็มที่เมื่อเวลาผ่านไป 7 - 14 วัน บางสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตเร็วใช้เวลาจนถึง 1 เดือน การแบ่งตัวของเส้นใยจะทำให้เกิดกลุ่มของเส้นใยที่แทงผ่านลงไปใ้อาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate mycelium) และเส้นใยที่แบ่งตัวแตกกิ่งก้านทับซ้อนซ้ำๆ กันขึ้นไปบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ (aerial mycelium) จนกลายเป็นกลุ่มของเส้นใยที่ยึดกันแน่นหนาทำให้เกิดเป็นโคโลนีที่มีลักษณะเหนียวข้นมองดูคล้ายแผ่นหนัง (Williams, 1989)

แอกติโนมัยซีทส์ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ (photosynthetic) ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบอิสระเจริญบนอินทรีย์สารที่เน่าเปื่อยผุพัง บางชนิดเป็นพาหะนำโรคลุ่มนุษย์เช่น *Mycobacterium leprae* สาเหตุของโรคเรื้อน และ *M. tuberculosis* เป็นสาเหตุของโรควัณโรค แอกติโนมัยซีทส์อื่นๆ เป็นพาหะนำโรคของสัตว์ และพืช แต่แอกติโนมัยซีทส์ที่พบในดินไม่เป็นอันตราย บางชนิดมีประโยชน์ เช่น แอกติโนมัยซีทส์ในสกุล *Frankia* จะอยู่ร่วมกับพุ่มไม้และต้นไม้ใหญ่มีส่วนช่วยในการตรึงไนโตรเจน (Coyne, 1999)

2.2 ประชากรและสภาพแวดล้อม

แอกติโนมัยซีทส์สามารถพบทั่วไปไม่เฉพาะแต่ในดินหลาย ชนิดอาศัยอยู่เป็นส่วนประกอบของปุ๋ยหมัก ตะกอนในแหล่งน้ำและก้นทะเลสาบ มีปริมาณมากเป็นอันดับสองของแบคทีเรียในดิน ซึ่งมีจำนวน $10^5 - 10^6$ propagules / g soil (propagule เป็นส่วนหนึ่งของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญและสืบพันธุ์ได้) แอกติโนมัยซีทส์จะพบมากในทุ่งหญ้า ดินในแปลงเพาะปลูกและดินที่ทำการเกษตรตามลำดับ ซึ่งจำนวนขึ้นกับสารอินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบนิเวศ ถ้าขุดดินให้ลึกลงจำนวนแอกติโนมัยซีทส์จะน้อยลง แต่จะมีจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ มากขึ้นเนื่องจากแอกติโนมัยซีทส์เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนสำหรับการเจริญ ฉะนั้นจะเจริญได้ไม่ดีในดินที่เปียกและไม่ทนต่อความแห้งแล้งยกเว้นสปอร์ เพราะร้อยละ 30 - 90 ของแอกติโนมัยซีทส์จะสามารถคืนสภาพได้หลังจากที่อยู่ในสภาวะที่แห้งแล้ง แอกติโนมัยซีทส์เจริญได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แยกได้จากดินที่มีความร้อนมากกว่าดินที่มีความเย็น เนื่องจากสปอร์สามารถคืนสภาพได้พบในดินที่มีความร้อนมากกว่าดินที่มีความเย็น แต่ไม่ได้หมายความว่าชอบอุณหภูมิสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ที่ 28 - 37 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 55 - 65 องศาเซลเซียส

แอกติโนมัยซีทส์สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นค้างได้ดี พบว่าในดินที่เป็นค้างจุลินทรีย์ที่แยกได้มักเป็นแอกติโนมัยซีทส์ถึงร้อยละ 95 แต่ในทางกลับกันแอกติโนมัยซีทส์ไม่ทนต่อสภาวะเป็นกรดอาจและอาจเหลือเพียงร้อยละ 1 เมื่อค่าพีเอชน้อยกว่า 5 คุณสมบัติที่ไม่ทนกรดถูกนำมาใช้ควบคุมแอกติโนมัยซีทส์ที่เป็นพาหะโรคพืชได้ เช่น สามารถควบคุมโรค potato scab ที่เกิดจาก *Streptomyces scabies* โดยปรับดินให้มีความเป็นกรดได้ แอกติโนมัยซีทส์เป็นพวก saprophytes ดังนั้นเมื่ออินทรีย์สารเพิ่มขึ้นจำนวนของแอกติโนมัยซีทส์ก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

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

แอกติโนมัยซีทส์มีช่วงการเจริญที่ยาวนานกว่ารา และแบคทีเรีย เมื่อสารอาหารมีสูงระดับการแข่งขันในอาหารมีปริมาณมากเชื้อแอกติโนมัยซีทส์จะมีปริมาณน้อยลง และเมื่อสารอาหารมีอยู่อย่างจำกัดและระดับการแข่งขันน้อยลง เชื้อแอกติโนมัยซีทส์จะมีปริมาณน้อยสูงขึ้น

การใช้แหล่งคาร์บอน ประกอบด้วยโมเลกุลของคาร์บอนที่มีความซับซ้อนน้อยไปจนถึงโมเลกุลที่มีความซับซ้อนสูงจากกรดอินทรีย์และน้ำตาลจนไปถึงพอลิแซ็กคาไรด์ ส่วนไขมัน สารประกอบไฮโดรคาร์บอนประเภทอะลิฟาติก (aliphatic) และเซลลูโลส สามารถถูกย่อยโดยกลุ่ม *Streptomyces* นอกจากนั้น *Micromonospora* ก็เป็นสกุลที่สามารถย่อยสลายโคติน เซลลูโลส กลูโคไซด์ (glucosides) และ เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) ได้

2.3 ประโยชน์ของเชื้อกลุ่มแอกติโนมัยซีทส์

สมาชิกในกลุ่มแอกติโนมัยซีทส์นี้มีประโยชน์ เช่น ย่อยสลายซากพืชสัตว์ในดิน ทำให้ดินอุดมสมบูรณ์ บทบาทของแอกติโนมัยซีทส์ต่อระบบนิเวศน์ของดินก็คือ เป็นตัวการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ โดยเฉพาะสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น เซลลูโลส เช่นเดียวกับเชื้อราแต่จะเจริญหลังจากที่เชื้อราและแบคทีเรียได้เจริญเต็มที่และลดจำนวนลงแล้ว ตั้งแต่ช่วงปลายทศวรรษ 1970 เป็นต้นมาพบว่าแอกติโนมัยซีทส์สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนได้โดยการอยู่ร่วมกันกับรากพืชหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไม้

เขตอบอุ่นประเภทผลไม้เนื้ออ่อน นอกจากนี้ก็มีรายงานด้วยว่าแอคติโนมัยซีทส์บางชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่ออยู่ร่วมกับรากข้าวในนาข้าวไม่เฉพาะเจาะจงเหมือนกับแบคทีเรียไรโซเบียมกับรากพืชตระกูลถั่วเท่านั้น และนอกจากทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สารหลายชนิดแล้วยังมีความสำคัญทางการแพทย์และทางอุตสาหกรรม โดยสามารถนำมาผลิตสารที่มีประโยชน์หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ วิตามิน และเอนไซม์ เป็นต้น เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อกลุ่มสำคัญที่ผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส สารฆ่าแมลง สารปราบวัชพืช รวมไปถึงสารต่อต้านมะเร็ง และสารก่อกวนระบบภูมิคุ้มกัน (Goodfellow และคณะ, 1988) แต่ที่นิยมศึกษาในเรื่องของการสร้างสารทุติยภูมิ ได้แก่ เชื้อกลุ่ม *Sporostreptomycetes*, *Nocardioform* และ *Actinoplanete* โดยเฉพาะเชื้อสกุล *Streptomyces* มีความสำคัญในการผลิตสารปฏิชีวนะที่ใช้ในทางการแพทย์ การเกษตรและอาหาร

2.4 สารปฏิชีวนะ (Antibiotic)

ในปี ค.ศ. 1940 ก่อนที่สารปฏิชีวนะจะได้รับการพัฒนามีเชื้อกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์เพียง 5 สกุลเท่านั้นที่พบว่าสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ แต่ปัจจุบันพบว่ามียากกว่า 80 สกุลแล้ว (Coynce, 1999)

คำว่า Antibiotic เดิมมาจากคำว่า Antiobiosis ซึ่ง Voilcmin ได้เป็นผู้นำมาใช้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1889 หมายถึง สภาพสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ขับสารบางอย่างออกมาทำลายการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ต่อมาในปี ค.ศ. 1940 Waksman และคณะได้พบ Actinomycin ที่ผลิตจากเชื้อ กลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ 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) ซึ่งส่วนใหญ่มากกว่า 6,000 ชนิดผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ 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), *Streptoverticillium*, *Actinoplanes*, *Actinomadura*, *Streptosporangium*, *Saccharopolyspora*, *Dactylosporangium*, *Chiania*, *Nocardioopsis*, *Ampullariella*, *Amycolatopsis*, *Kitasatosporia*, *Pseudonocardia*, *Saccharothrix*, *Microtetraspora*, *Planobispora*,

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

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

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

ที่มา : Coyne, 1999

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา และจุลินทรีย์ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส(Prokaryotes cell) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ แต่จากตารางแสดงให้เห็นว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ได้มาจากเชื้อกลุ่มแอกติโนมัยซีท์ส์

สารปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อแอกติโนมัยซีท์ส์ประมาณร้อยละ 75 สร้างมาจากสมาชิกในสกุล *Streptomyces* ตัวอย่างเช่น

- | | | |
|-----------------------------|--------|---------------------------------|
| 1. Streptomycin | —————▶ | <i>Streptomyces griseus</i> |
| 2. Chloramphenicol | —————▶ | <i>Streptomyces venezuela</i> |
| 3. Aureomycin, tetracycline | —————▶ | <i>Streptomyces aureofacien</i> |

2.5 การเจริญและการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ

Bu'Lock และคณะ (1975) เริ่มใช้คำว่า trophophase สำหรับเรียกระยะการเจริญ (growth phase) และใช้ idiophase เรียกระยะที่มีการผลิต idiolites หรือ สารทุติยภูมิ เช่น สารปฏิชีวนะ การสังเคราะห์สารปฏิชีวนะนั้นเป็นลักษณะผันแปรของสิ่งมีชีวิตที่การผลิต และการสูญเสียความสามารถในการผลิตไม่ได้นำมาซึ่งการสูญเสียความสามารถในการเจริญแต่การผลิตจะเกิดขึ้นภายหลังจากการเจริญเกิดขึ้น (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; bacitracin; gramicidin; tyrocidines และ polymyxins ซึ่งเกิดขึ้นในขณะที่มีการสร้าง endospore ในแบคทีเรียกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นท่อนและสารบางชนิดเกิดขึ้นในขณะที่มีการสร้างโคนิเดียในพวก *streptomyces* (Halvorson และคณะ, 1972; Demain และ Pirt, 1979) ซึ่งสารเหล่านี้มีความจำเป็นสำหรับการสร้างสปอร์ หรือเกี่ยวกับการอยู่รอดในช่วงระยะที่มีการงอกของสปอร์ เหตุผลที่สอดคล้องกันอย่างเห็นได้ชัดคือ *Bacillus polymyxa* สายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ (asporogenic strains) จะไม่สามารถผลิต polymyxins และสารที่มีผลยับยั้งการสร้างสปอร์และจะยับยั้งการผลิตสารปฏิชีวนะในสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ด้วยเหมือนกัน (Paulus, 1967)

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ ได้แก่ ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาพของการเลี้ยงเชื้อ ดังในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารปฏิชีวนะ

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ	สถานะต่างๆในการหมัก
แหล่งคาร์บอน	พีเอช
แหล่งไนโตรเจน	อุณหภูมิ
ฟอสเฟตอนินทรีย์ (Inorganic phosphate)	ออกซิเจน
แร่ธาตุ	อื่นๆ
สารพรีเคอร์เซอร์ (Precursors)	
สารชักนำ	
สารยับยั้ง	
อื่นๆ	

ที่มา : Iwai และ Omura (1982)

2.7 การแยกเพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตัวอย่างดิน

การแยกเพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์จากตัวอย่างดินให้ได้ผลดีขึ้น จะต้องกำจัดหรือจำกัดการเจริญของเชื้อรา และการกระจายของแบคทีเรียในอาหารที่ใช้แยก ซึ่งอาจทำได้โดยการควบคุมองค์ประกอบของอาหาร เติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือในตัวอย่างดินก่อนที่จะนำมาแยกเชื้อ (Porter, 1971) องค์ประกอบของอาหารที่ควบคุมเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยซีทส์เจริญได้ดีกว่าเชื้อชนิดอื่นๆ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน เช่น แป้ง และกลีเซอรอล แหล่งไนโตรเจน เช่น เกฮีน แอสปารากีน และ อาร์จีนิน 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

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

2.8 การคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

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

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

Lechavalier และ Corke (1953) คิดวิธีตรวจสอบหาเชื้อที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการคัดแปลงมาจากวิธีการของ Lederberg's replica plate method (Lederberg, 1952) ซึ่งทำได้โดยใส่เชื้อที่เจริญอยู่ตามธรรมชาติลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเหมาะสมต่อการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทั้งหมดทำซ้ำ 4 ครั้งหรือมากกว่า 1 ใน 4 เก็บไว้ในตู้เย็น ส่วนที่เหลือปลูกด้วยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ แล้วตรวจหาเชื้อที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วิธีการคัดเลือกเชือบนอาหารแข็งที่นิยมใช้มากอีกวิธีหนึ่งคือ cross streak plate (Waskman, 1959) วิธีนี้ทั้งเชื้อแอกติโนมัยซีทส์และเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจะเจริญบนอาหารชนิดเดียวกันเพราะฉะนั้นก็ต้องเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อทั้งสองประเภท Vanek และคณะ (1958) ใช้วิธีเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ให้เจริญบนอาหารวุ้น 24 ชั่วโมง แล้วตัดวุ้นที่มีเชื้อเจริญออกเป็นชิ้นวางลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรียที่ใช้เป็นเชื้อทดสอบการเจริญอยู่

Weinstein และคณะ (1964) พยายามคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสนใจจุลินทรีย์พวกแอกติโนมัยซีทส์ในสกุล *Micromonospora* ซึ่งมีผู้ศึกษาน้อยมาก และพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ ๆ หลายชนิดจากเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ในสกุลนี้ได้แก่ gentamycin, everninomicin, holomicin และ megalomicin การค้นพบนี้ทำให้การค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่มุ่งไปทางด้านวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการแยก และคัดเลือกจุลินทรีย์พวกแอกติโนมัยซีทส์ในสกุลอื่นนอกจาก *Streptomyces* มากขึ้น ในดินจะพบแอกติโนมัยซีทส์ในสกุลอื่นได้น้อยกว่า *Streptomyces* (Nonomura และ Ohara, 1969) แอกติโนมัยซีทส์ที่พบได้ยากนี้สามารถผลิตสารปฏิชีวนะใหม่ ๆ เช่น สกุล *Actinoplanes* แต่มักจะมีความสามารถในการผลิตต่ำ และการเจริญอย่างช้าๆจะเน้นการค้นคว้าและพัฒนาเกี่ยวกับจุลินทรีย์พวกนี้จึงเป็นไปได้ยาก (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

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

การจัดจำแนกเชื้อในชั้นแอกติโนแบคทีเรีย (Actinobacteria) ทำได้โดยใช้ 3 ลักษณะดังต่อไปนี้ ลักษณะแรกการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานเคมี (Chemotaxonomy) เป็นการตรวจความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ เช่น เปปทิโดไกลัยแคน กรดไขมัน ไอโซพรีนอยด์ควิโนน ไฮโดรโครม และสัดส่วนของเบส (base composition) ลักษณะที่สอง DNA-DNA reassociation เป็นการวัดความคล้ายคลึง (similarity) ระหว่างดีเอ็นเอสายเดี่ยวของสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงระดับสกุล (Stackebrandt และ Kandler, 1979) ลักษณะที่สามการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA genes ทั้งสามวิธีที่กล่าวมานั้น เมื่อใช้ร่วมกันจะทำให้การจัดจำแนกมีความถูกต้องแม่นยำ ซึ่งเรียกการใช้ทั้งสามวิธีร่วมกันนี้ว่า "polyphasic taxonomy" (Colwell, 1970)

2.10 ลักษณะทั่วไปของเชื้อกลุ่มแอกติโนมัยซีท์ที่สำคัญ

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

Streptomyces จัดเป็นสมาชิกสกุลสำคัญ มีมากถึง 90เปอร์เซ็นต์ของแอกติโนมัยซีท์ทั้งหมด องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ประกอบด้วย เปปติโดไกลแคนชนิด A ที่มีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 3 ของสาย N-acetylmuraminic acid เป็น LL-DAP มีฟอสโฟลิปิดประเภท IT (PII type) คือ ประกอบด้วย phosphatidylinositol และ phosphatidylethanolamine อนุพันธ์ของมีนาควิโนน MK-9(H₈) และน้ำตาลภายในเซลล์ประกอบด้วย อะราบิโนส กาแลคโตส และไซโลส (Williams และคณะ, 1989) ลักษณะของ *Streptomyces* เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจะสร้างเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) ฝังลงไปใต้อาหารและสร้างเส้นใยในอากาศ (aerial mycelium) ซึ่งสร้างสปอร์เป็นสายสปอร์รูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ สายสปอร์แบบเส้นตรง (rectiflexibile) แบบรูป (retinaculiaperti) และแบบเวียนเกลียว (spiral) ผิวโคโลนีที่เห็นจะมีลักษณะเรียบหรือขรุขระมีหลายสี ได้แก่ ขาว เทา แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน และม่วง ซึ่งเป็นสีของสปอร์ที่อยู่ด้านบน ส่วนด้านล่าง โคลินี้มีเส้นใยอาหารเป็นสีน้ำตาลส่วนใหญ่ แต่อาจพบสีอื่น ๆ เช่นเดียวกับสีสปอร์ได้ *Streptomyces* สามารถสร้างรงควัตถุเมลาโนนและรงควัตถุอื่นที่ละลายออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนก *Streptomyces* ออกจากแอกติโนมัยซีท์สกุลอื่นได้ (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 และเปปโตเน 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 topoisomerase II ในเชื้อราทำให้ไม่สามารถเกิดการจำลองดีเอ็นเอได้

นอกจากนี้ *Streptomyces* ยังสามารถสร้างสารฆ่าแมลงที่ออกฤทธิ์กว้าง ได้แก่ สารในกลุ่ม macrolide เช่น avermectin 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)

แอกติโนมัยซีทส์กลุ่ม Norcardioform มีลักษณะที่ต่างกันอย่างหลากหลาย substrate mycelium จะแตกหักออกเป็นท่อนสั้นๆ และบางสกุลสร้าง aerial hypha ที่ปลายมี arthrospore ประกอบด้วยสมาชิกสกุลต่างๆที่มี wall chemotypes แตกต่างกันหรือการมี mycolic acid เป็นองค์ประกอบที่ผนังเซลล์ หรือลักษณะอื่นๆ

แอกติโนมัยซีทส์กลุ่ม actinoplanc สกุลที่สร้างสารปฏิชีวนะมากที่สุดคือ *Micromonospora* ผนังเซลล์ของเชื้อสกุลนี้ประกอบด้วยเปปติโดไกลแคนประเภท A โดยมีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 3 ของสาย N-acetylmuramic acid เป็น meso-DAP มีฟอสโฟลิปิดแบบ PII และอนุพันธ์ของมินาคิวโนนเป็นแบบ MK-9(H4) , MK-10(H6) หรือ MK-12(H6) โดยน้ำตาลในเซลล์ประกอบด้วย อะราบิโนสกับไซโลส (Kawamoto, 1989) *Micromonospora* ที่เจริญบนอาหารแข็งสร้างโคโลนีขนาดเล็กซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของเส้นใยอาหารมีทั้งโคโลนีสีส้ม แดง ดำ น้ำตาล เขียว และม่วง แต่ไม่สร้างเส้นใยอากาศ อาจพบการสร้างสปอร์อยู่บนผิวของโคโลนี เห็นเป็นสีดำและเป็นเมือก จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้อาจสร้างรงควัตถุสีเหลือง แดง ม่วงหรือดำในอาหารแข็งได้สปอร์ของ *Micromonospora* ทนความร้อนและความเย็นได้ดี เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส

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.
ตู้อบเชื้อ	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 ดินบริเวณรากไม้และดินทั่วไปในธรรมชาติที่มีลักษณะที่น่าสนใจ 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 คูดสารละลาย 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี 1.5% Phenol ละลายใน Phosphate buffer พีเอช 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนปรับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที คูดสารละลาย 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาณ 4.5 มิลลิลิตร คูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร และเกลี่ยบน

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

3.2.1.3 การคัดเลือกเชื้อขั้นต้น

ทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร yeast extract – malt extract agar โดยการจีดเป็นเส้นตรงเดี่ยวยาวตามแนวอนจากขอบหนึ่งถึงอีกขอบหนึ่ง บ่มเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน เพื่อให้เชื้อผลิตสารและแพร่สารนั้นเข้าไปในเนื้อวุ้น 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 โดยลากจุลินทรีย์ทดสอบให้ชิดกับโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ และเป็นเส้นตรงตั้งฉากกับแนวของเชื้อ แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 1-2 วัน ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวัดระยะทางจากแนวของเชื้อจนถึงระยะที่จุลินทรีย์ทดสอบสามารถเจริญได้

3.2.2 การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ

ทำโดยอาศัยการศึกษาลักษณะต่างๆของเชื้อดังนี้

3.2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อ (Morphological and cultural characteristics)

ตรวจสอบลักษณะทางการเจริญโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่กำหนดอยู่ใน International Streptomyces Project (ISP) ชนิดต่าง ๆ โดยวิธี Crosshatch streak (Shiring และ Gottlieb, 1966) ตรวจสอบผลโดยดูการเจริญ เนื้อและสีของโคโลนีด้านบน สีของโคโลนีด้านล่างและรงควัตถุที่ละลายน้ำได้เทียบกับกระดาศสีมาตรฐาน (The Jacal Color Card L2200, Japan Color Research Institute) ตรวจสอบลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ด้วยเทคนิค 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% หลังจากการนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที คนส่วนผสมที่ได้ เทส่วนผสมลงไป 25 มิลลิลิตร บนจานเพาะเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยแหล่งคาร์บอนทดสอบที่สำคัญ ที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

No carbon source	negative 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 เซลล์ของเชื้อที่เตรียมลูกกล้าง ด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร จากอาหารเอียง (slant) ยีสต์-มอลต์สกัด (yeast-malt extract) และถ่ายเชื้อลงไปในหลอดทดลองที่ฆ่าเชื้อแล้ว สารละลาย เซลล์แขวนลอย จะนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสที่ได้ออกจากส่วนที่ ตกตะกอนนำไปทำให้เป็นเซลล์แขวนลอยอีกครั้ง ที่ได้ในน้ำกลั่น แยกส่วนใสที่ได้ 2 ครั้ง เติมน้ำกลั่น ลงไปในส่วนที่ตกตะกอน เพื่อรักษาปริมาตรเดิมไว้ หัวเชื้อที่ได้นำมาใช้ในการทดสอบการใช้คาร์บอน งานเพาะเชื้อที่ไม่มีหัวเชื้อ ทั้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หัวเชื้อปริมาณ 1 ลูกป นำมาจัดตามขวางบนผิว ของอาหารบนงานเพาะเชื้อ การลงเชื้อบนงานเพาะเชื้อ จะทำซ้ำ 2 ครั้ง และบ่มไว้ที่ 28-30 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 10 -14 วัน ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบการเจริญ หรือการใช้แหล่งคาร์บอน โดยใช้ตัว ควบคุม 2 ชนิดด้วยกันคือ เจริญบนอาหาร Basal agar medium และเจริญบนอาหาร Basal agar medium ที่มีกลูโคสรวมอยู่ด้วย

การอ่านผลการทดลองมีดังนี้

1. มีการใช้แหล่งคาร์บอน (+) เมื่อมีการเจริญเติบโตบนอาหาร Basal agar medium มากกว่า การเจริญเติบโตบน Basal agar medium ที่ปราศจากคาร์บอนเลย แต่บางครั้งก็น้อยกว่าการเจริญเติบโต บนBasal agar mediumที่มีกลูโคสรวมอยู่
2. มีการใช้แหล่งคาร์บอนไม่ชัดเจนนัก (\pm) เมื่อมีการเจริญเติบโตบน Basal agar medium มากกว่า บน Basal agar medium ที่ปราศจากคาร์บอนเพียงเล็กน้อย และน้อยกว่าการเจริญเติบโตบน Basal agar medium ที่มีกลูโคส
3. ไม่มีการใช้คาร์บอน (-) เมื่อมีการเจริญบน Basal agar medium ใกล้เคียงหรือน้อยกว่าการ เจริญบน Basal agar medium ที่ปราศจากคาร์บอน

การย่อยสลายแป้ง

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลต มาฉีดเชื้อลงบนอาหารแข็งที่มีเกล็ดและแป้ง (ISP-A) บนจานเพาะเชื้อ (Shiring และ Gottlieb, 1996) บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วันหลังจากการบ่มเชื้อแล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมไอโอดีนลงบนอาหารที่เพาะเชื้อไว้ ถ้ามีการย่อยสลายแป้งเกิดขึ้นจะไม่เกิดสีน้ำเงินเข้มบนอาหาร

การย่อยสลายเจลาติน

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

การย่อยสลายไนเตรท

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตลงบนอาหารเหลวเปปโตนิโพแทสเซียมไนเตรท (Peptone KNO₃ broth) (Arai, 1975) บ่มที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 - 6 วัน ในวันที่ 4 ถ่ายเชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมกรดซัลฟานิลิกลงไป 2 หยดและ N,N-dimethyl-naphthylamine solution 3 หยด ถ้ามีไนเตรทเกิดขึ้น สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูจนถึงสีแดง

การตกตะกอนและการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตใน Skim milk 10 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วผสมกับน้ำกลั่นบ่มที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 - 14 วัน ถ้ามีการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมเกิดขึ้น น้ำนมจะเปลี่ยนเป็นสารละลายใส ถ้ามีการตกตะกอนของโปรตีน จะเกิดการตกตะกอนในน้ำนม

การเจริญในอาหารความเข้มข้นของเกล็ดปริมาณต่างๆ

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

การเจริญของที่อุณหภูมิต่างๆ

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

การเจริญของเชื้อในระดับความเป็นกรดต่างๆ

ฉีดเชื้อแอสคิโนมัยซีทส์ทุกไอโซเลตลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร 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

เลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีทส์ใน Yeast extract – Malt extract broth ที่เติมไกลซีนร้อยละ 0.1-0.3 โดยเลี้ยงใน shaker ที่ 180 rpm อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2-3 วัน เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสออก ล้างเซลล์ด้วย 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 DNA ที่พันอยู่ในแท่งแก้ว ใส่ 1xSSC ใส่หลอดทดลองแล้วปิดปากหลอดด้วย parafilm แล้วนำไปเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้ DNA บริสุทธิ์ โดยใช้ RNase T1 และ RNase A เพื่อทำลาย RNA ที่เหลือหลังจากนั้นทำตกชั้นตอนการสกัดเช่นเดิม

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 และ alignment กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลของ Genbank/EMBL/DDBJ โดยใช้ BLAST 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

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

ค่าความเป็นกรดต่างของดินอยู่ในช่วง 7.08-7.95 จากการบอนุอาหาร Humic acid -Vitamin Agar สามารถคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ได้ 49 ไอโซเลตดัง แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดต่าง และรหัสเชื้อที่สามารถแยกได้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดด่าง และรหัสเชื้อที่สามารถแยกได้ (ต่อ)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ตัวอย่างดินจากบริเวณต่างๆ ค่าความเป็นกรดด่าง และรหัสเชื้อที่สามารถแยกได้ (ต่อ)

ลักษณะตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	สถานที่	ค่าความเป็นกรดด่าง	รหัสเชื้อ
ดินในบริเวณน้ำท่วมขัง	OKB11-2	จ.กาญจนบุรี	7.55	11-2-3
				11-2-6
				11-2-4
				11-2-7
				11-2-11
				11-2-9
				11-2-8
				11-2-13
				11-2-1
				11-2-2
				11-2-5
				11-2-11(2)
				11-2-14
				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 และ 21 ไอโซเลต ตามลำดับ ในจำนวนเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้ง 24 ไอโซเลตนั้น มีอยู่ 16 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (ซ.ม.)					
	<i>Salmonella</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบ(ต่อ)

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (ซ.ม.)					
	<i>Salmonella sp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

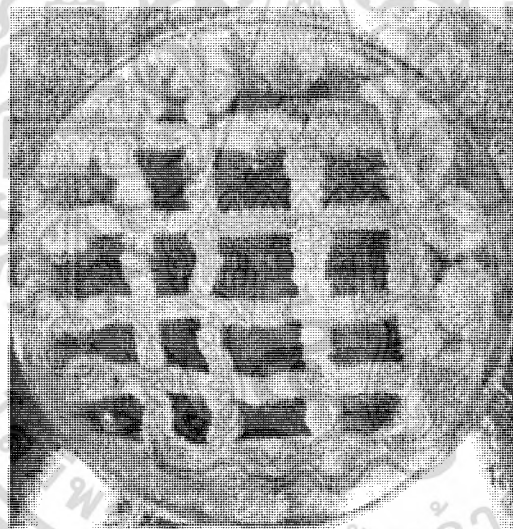
4.3 ลักษณะทางฟิสิกส์ของเชื้อที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ทั้งหมด 49 ไอโซเลตที่คัดแยกได้ พบว่าสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 24 ไอโซเลต จากนั้นจึงนำเชื้อทั้ง 24 ไอโซเลตไปศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน โดยทำการศึกษาลักษณะต่างๆ ดังนี้

4.3.1 ลักษณะการเจริญ และสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่คัดแยกได้

ซึ่งเป็นการทดสอบลักษณะสีของเส้นใยอากาศ และเส้นใยอาหาร เมื่อทำการเลี้ยงในอาหาร ISP ชนิดต่างๆ สามารถจัดเชื้อเป็นกลุ่มได้ 5 กลุ่มดังนี้

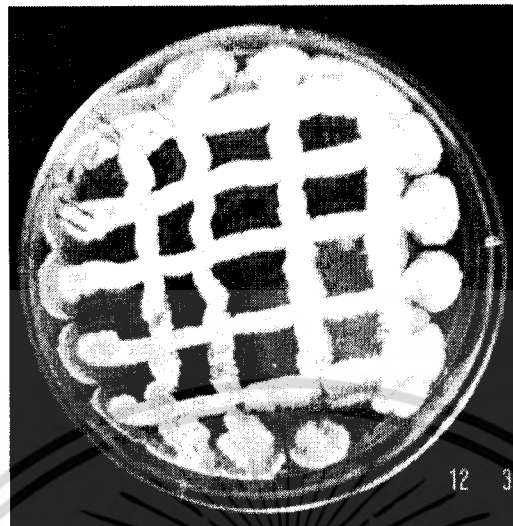
กลุ่มที่ 1 สร้างเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหารสีทอง เชื้อในกลุ่มนี้มี 5 ไอโซเลต ได้แก่ NRB 5-48 ซึ่งสามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาล, NRB 2-23, NRB 5-22, NRB 2-25 สามารถสร้างรงควัตถุสีเขียวมะกอก และ OKB 10-17 สามารถสร้างรงควัตถุสีส้ม



รูปที่ 1 ไอโซเลต NRB 2-23

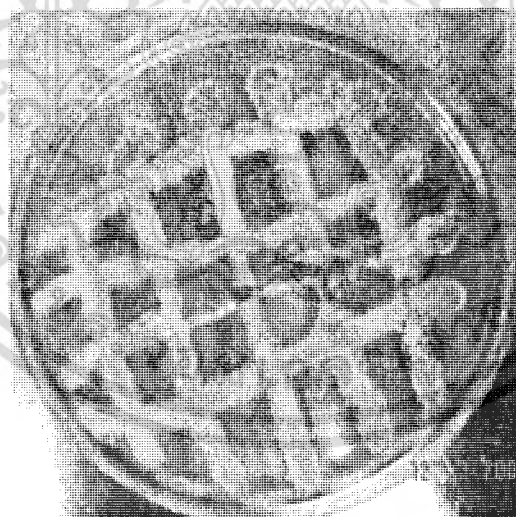
กลุ่มที่ 2 สร้างเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหารเป็นสีขาว เชื้อในกลุ่มนี้มี 10 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 11-2-9, OKB 11-2-2, OKB11-2-13 ซึ่งสามารถสร้างรงควัตถุสีเขียวมะกอก OKB 11-2-11, OKB 11-2-11(2), OKB 11-2-16 สร้างรงควัตถุสีน้ำตาลเข้ม OKB 10-11, OKB 11-2-4 สร้างรงควัตถุสีเขียวเข้ม และ OKB 10-4(1), OKB10-4 สามารถสร้างรงควัตถุสีเขียวอมน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 ไอโซเลต OKB 11-2-11

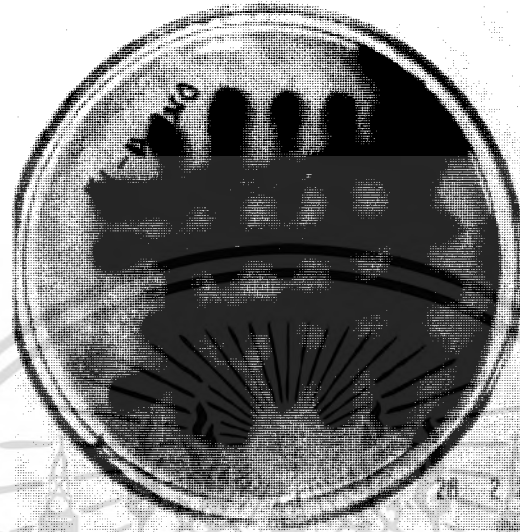
กลุ่มที่ 3 สร้างเส้นใยอากาศสีเทา เชื้อในกลุ่มนี้มี 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 10-6, OKB 10-15 ซึ่งสามารถสร้างรังควัตถุสีส้ม และ OKB 10-8



รูปที่ 3 ไอโซเลต OKB 10-15

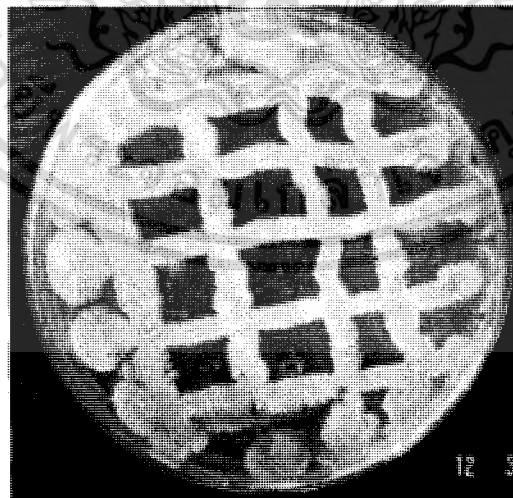
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทสับบนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย อากาศ	ลักษณะสีของเส้นใย อาหาร	สีของรงควัตถุที่ สร้าง
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์บนอาหารแข็งชนิดต่างๆ (ต่อ)

รหัสเชื้อ	อาหาร	การเจริญ	ลักษณะสีของเส้นใย		สีของรงควัตถุที่สร้าง
			อากาศ	อาหาร	
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
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่คัดเลือก

เมื่อทำการคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ ที่สามารถสร้างสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพได้ 24 ไอโซเลต จากนั้นทำการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางการเจริญ และสรีระวิทยาของเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ สามารถจัดกลุ่มเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ทั้ง 24 ไอโซเลตได้ 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีทอง ประกอบด้วย สมาชิก 5 ไอโซเลต ได้แก่ OKB10-17, NRB5-48, NRB5-22, NRB2-25 และ NRB2-23

เชื้อแอกติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้ สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้เกือบทุกชนิดยกเว้นในบาง ไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้น้ำตาล D-Ribose, Salicin, L-Arabinose, D-Fructose และ D-Xylose ได้ พบว่า เชื้อแอกติโนมัยซีทส์ในกลุ่มนี้ 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 และ 7

ตารางที่ 6 ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 1

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	Peptonization		
OKB10-17	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	±
NRB5-48	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	±	+	-
NRB5-22	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	±	±	+	±
NRB2-25	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	±	+	-
NRB2-23	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีตส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 1

แหล่งคาร์บอน	รหัสเชื้อ				
	NRB 5-22	NRB 5-48	NRB 2-25	OKB 10-17	NRB 2-23
D-Mannitol	+	+	+	+	+
D-Ribose	-	+	+	-	+
L-rhamnose	+	±	+	+	±
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 2 กลุ่มเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีขาว ประกอบด้วยสมาชิก 10 ไอโซเลต ได้แก่ 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 และ OKB11-2-4

เชื้อแอกติโนมัยซีทส์กลุ่มนี้ มี 6 ไอโซเลต ที่ใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้ทุกชนิด แต่ปรากฏว่ามี 4 ไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose, L-Rhamnose, D-Raffinose, Salicin และ D-melibiose ได้ พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ในกลุ่มที่ 2 นี้ สามารถเจริญบนอาหาร Yeast extract- malt extract ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงสุดได้ที่ร้อยละ 7 และส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชระหว่าง 5 – 8 ยกเว้น ไอโซเลต OKB10-4(1) ที่สามารถเจริญในได้เฉพาะที่พีเอช 8 อุณหภูมิที่เชื้อในกลุ่มนี้สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 20 - 37 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายเจลาติน และตกตะกอนโปรตีนในนมได้ ดังแสดงในตารางที่ 8 และ 9

ตารางที่ 8 ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ กลุ่มที่ 2

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	Peptonization		
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 ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอกคิโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ 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-rhamnose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศสีเทา ประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 10-6, OKB 10-8 และ OKB 10-15

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

ตารางที่ 10 ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ 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			Peptonization
OKB10-8	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	±	+	+
OKB10-6	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	±	+	-
OKB 10-5	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	±	±	+	±

หมายเหตุ

+ = positive reaction

- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 3

แหล่งคาร์บอน	รหัสเชื้อ		
	OKB 10-6	OKB 10-8	OKB 10-15
D-Mannitol	+	+	+
D-Ribose	-	+	-
L-rhamnose	±	-	+
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีดำ ประกอบด้วยสมาชิก 3 ไอโซเลต ได้แก่ NRB 4-17, NRB 3-7 และ OKB 2-12

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

ตารางที่ 12 ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ 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	Peptonization			
NRB4-17	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NRB3-7	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	±	-	-	±
OKB2-12	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	±	±	-	-	-

หมายเหตุ

+ = positive reaction

- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีตส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 4

แหล่งคาร์บอน	รหัสเชื้อ		
	OKB 2-12	NRB 3-7	NRB 4-17
D-Mannitol	+	±	+
D-Ribose	+	-	-
L-rhamnose	±	±	+
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศสีเขียวอมเหลือง ประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ OKB 10-7, OKB 11-2-8 และ KB 12-2

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

ตารางที่ 14 ลักษณะทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทส์ 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			Peptonization
OKB11-2-8	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	±	+	-	
KB12-2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	±	±	-	-	
OKB10-7	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	±	+	±

หมายเหตุ

+ = positive reaction

- = negative reaction

± = weakly reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ กลุ่มที่ 5

แหล่งคาร์บอน	รหัสเชื้อ		
	OKB 10-7	OKB 11-2-8	KB 12-2
D-Mannitol	+	+	±
D-Ribose	-	±	-
L-rhamnose	+	-	+
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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอในช่วง 16S rRNA gene และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ

จากข้อมูลทางการเจริญ สรีระวิทยา และชีวเคมี ตลอดจนการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบเบื้องต้น ได้ทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลตที่น่าสนใจมา 2 ไอโซเลต คือ OKB 11-2-11(2) และ OKB 10-7 เพื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในช่วง 16S rRNA gene เนื่องจากเชื้อทั้งสองไอโซเลตมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบอย่างมีประสิทธิภาพ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลต OKB 11-2-11(2) มีความคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces crystallinus* JCM 5067 มากที่สุด ด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์(%similarity) ร้อยละ 97.1 (ดังตารางที่ 16) ที่ระดับความเชื่อมั่นของ bootstrap values บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 47.0 สำหรับเชื้อไอโซเลต OKB 10-7 มีความคล้ายกับเชื้อ *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 มากที่สุดที่ระดับความคล้ายคลึงลำดับนิวคลีโอไทด์ร้อยละ 99.0 (ดังตารางที่ 17) ที่ระดับความเชื่อมั่นของ bootstrap values บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 99.0

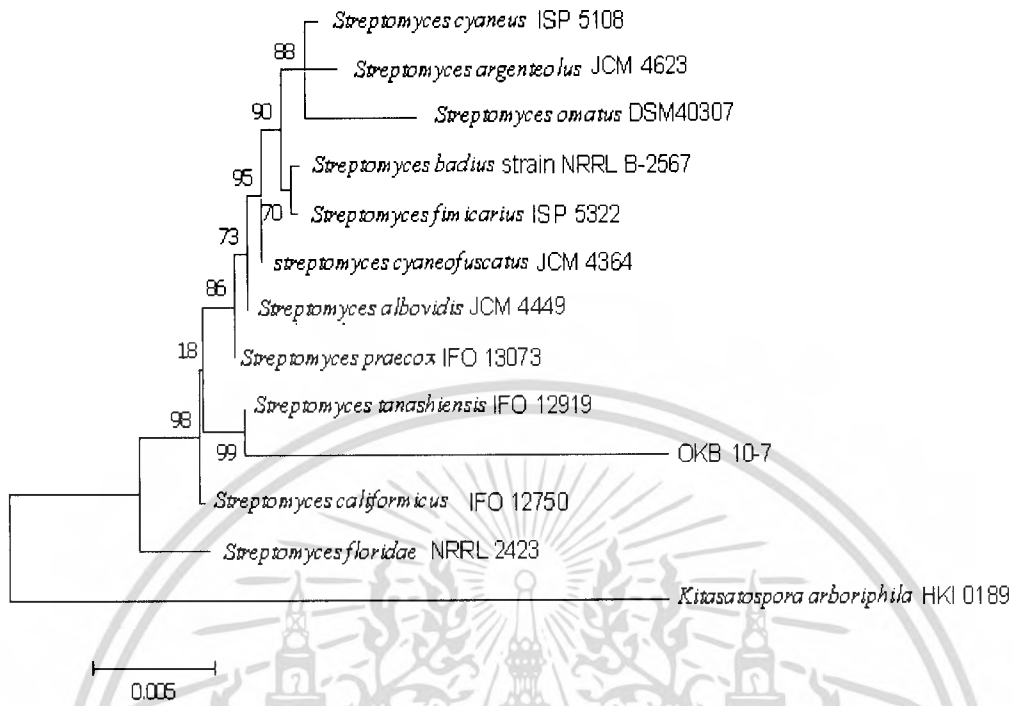
ตารางที่ 16 ตารางแสดงค่า Similarity ของเชื้อไอโซเลต OKB11-2-11(2) เทียบกับเชื้อ *Streptomyces* สายพันธุ์ที่ใกล้เคียงที่สุด

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

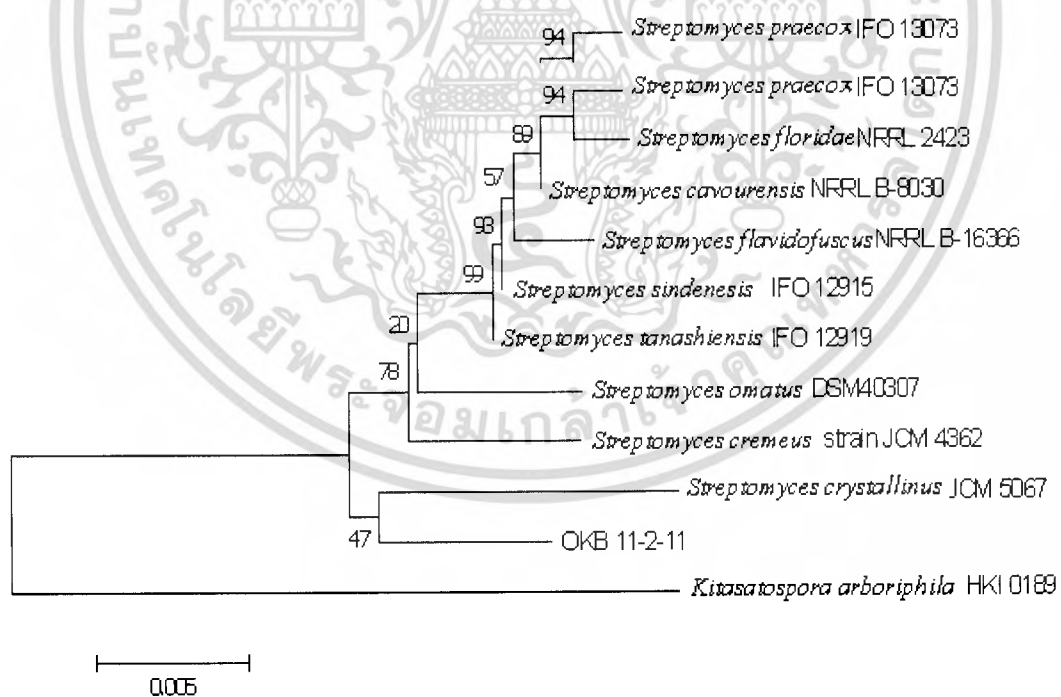
ตารางที่ 17 ตารางแสดงค่า Similarity ของไอโซเลต OKB 10-7เทียบกับเชื้อ *Streptomyces* สายพันธุ์ที่ใกล้เคียงที่สุด

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 Phylogenetic trees ของ OKB 10-7



รูปที่ 7 Phylogenetic trees ของ OKB 11-2-11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

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

เชื้อแอสกีโทไมซีทส์ทั้ง 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 เชื้อแอสกีโทไมซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีทอง สมาชิกในกลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนทดสอบได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นในบางไอโซเลตที่ไม่สามารถใช้ D-Ribose และ RB5-48 ที่ไม่สามารถใช้ Salicin, L-Arabinose, D-Fructose และ D-Xylose ได้ เชื้อกลุ่มนี้สามารถตกตะกอนโปรตีนในนม และย่อยสลายเจลาตินได้ ไอโซเลต OKB10-17, NRB5-22 และ NRB2-23 สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ในขณะที่ไอโซเลต NRB5-48 และ NRB5-22 ไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7

กลุ่มที่ 2 กลุ่มเชื้อแอสกีโทไมซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศสีขาว 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 ไอโซเลต OKB11-2-13 OKB11-2-2 และ OKB11-2-4 ดังแสดงในตารางที่ 8 และ 9

กลุ่มที่ 3 กลุ่มเชื้อแอสกีโทไมซีทส์ที่สร้างเส้นใยอาหาร 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

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

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

เมื่อทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ไอโซเลตที่น่าสนใจ คือ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้เป็นบริเวณกว้างและมีประสิทธิภาพ 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 (ดังตารางที่ 17) ด้วยระดับความเชื่อมั่นของค่า bootstrap บน phylogenetic tree ที่ร้อยละ 99

แต่ทั้งนี้ยังไม่สามารถบอกได้ว่า เชื้อไอโซเลต OKB 10-7 นี้เป็นเชื้อชนิดเดียวกับ *Streptomyces tanashiensis* หรือไม่ เพราะข้อมูลยังไม่เพียงพอในการสรุป ดังนั้นจึงควรมีการทดสอบด้วยวิธี DNA – DNA hybridization และควรมีการเปรียบเทียบข้อมูลทางพีโนไทป์ และเคโมไทป์ของเชื้อทั้งสอง

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า มีเชื้อแอคติโนมัยซีทส์บางไอโซเลตสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังมีแนวโน้มที่จะเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งอาจมีแนวโน้มในการสร้างสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ และหากมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องก็จะสามารถพัฒนาสารนั้นให้เป็นสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ เพื่อใช้ประโยชน์ในอนาคตต่อไป

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. 4th 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 urticae*. Can.
J. Microbial. 11: 765-778.

Cross, T. and Goodfellow, M. 1973. Taxonomy and classification of the actinomycetes. 254-261. In
Sykes, G., and Skinner, 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Demain, A.L. and Pirt, 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Haavik, H.I. 1974a. Studies on the formation of bacitracin by *Bacillus licheniformis*: Effect of glucose. *J. Gen. Microbiol.* 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. Microbiol.* 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*. 9th 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 caereleus* KF-140. *J. Ferment. Technol.* 51: 575-581.
- Iwai, Y. and Omura, S. 1982. Culture condition for screening for 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 (Microbiology), Mahidol University.
- Kluge, A. G., and Farris, F. S. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst Zool* 18: 1-32.

- 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*. 2nd 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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 Streptosporangium 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* 6th 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 apparatus 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 rRNA 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.

- 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*. 5thed. Bridge Parkway: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L. 1992. *Microbiology, An Introduction* 4thed. 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 substances Including antibiotics of a poluene character by strains of actinomycetes freshly isolated from soil samples. *J. Gen. Micerobiol.* 18: 649-657.
- Waksman, 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 Gibbons, 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.

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
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะจากดิน
นักศึกษา	นายันทวุฒิ นิมวงษ์
	นายันทวุฒิ จัทรอุทัย
	นายนาวัน เนสุสินธุ์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2548
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.จิตติ ทำไ้

บทคัดย่อ

เชื้อแอคติโนมัยซีท์ 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 เชื้อแอคติโนมัยซีท์ทั้ง 24 ไอโซเลตที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ สามารถจัดได้เป็น 5 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญ ได้ทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีท์มา 2 ไอโซเลตคือ OKB 11-2-11(2) และ OKB 10-7 ไปทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ 16S rRNA gene ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อไอโซเลต OKB 11-2-11(2) และ OKB 10-7 มีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces crystallinus* JCM 5067 และ *Streptomyces tanashiensis* IFO 12919 ที่ระดับร้อยละความคล้ายคลึง (%similarity) 97.17 และ 99.06 ตามลำดับ

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 divided 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.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.จิตติ ท่าไว อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ให้คำปรึกษาตลอดการดำเนินงาน ตลอดจนตรวจทานแก้ไขรูปเล่มโครงการพิเศษนี้ให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.มาริสา จาคูพรพิพัฒน์ อาจารย์คณิศร กัณฑ์บุษย์ ประธานกรรมการ และกรรมการตามลำดับที่กรุณาสละเวลาตรวจทาน และพิจารณาโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ที่กรุณาอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดการศึกษา รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน

ขอขอบใจเพื่อนๆ และน้องๆ ที่ช่วยเหลือในระหว่างการศึกษา และช่วยเป็นกำลังใจให้

นอกจากนั้นยังมีบิดา มารดา และผู้มีอุปการคุณที่กรุณาอบรมสั่งสอน และอุปการะผู้จัดทำให้ศึกษาจนสำเร็จได้ด้วยดี

นายนั้นทวุฒิ นียมวงษ์
นายนั้นทวุฒิ ฉัตรอุทัย
นายนาวัน เนสุสินธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้