

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. การแยกและคัดเลือกเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากดินตัวอย่าง

ผลจากการแยกเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากตัวอย่างดินจากเกาะตะรุเตา เกาะอาดัง และเกาะราวี จำนวน 20, 10 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหาร Glucose Yeast extract Malt agar (GYM) ที่เติมยาปฏิชีวนะ cycloheximide 50 µg/ml และ nalidixic acid 20 µg/ml สามารถแยกเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากหมู่เกาะตะรุเตาทั้งหมด 306 ไอโซเลท โดยแยกเชื้อจากเกาะตะรุเตาได้ 148 ไอโซเลท โดยเมื่อทำการวัดค่าพีเอช ของดินอยู่ระหว่าง 4.16 - 8.12 แยกเชื้อจากเกาะอาดังได้ 60 ไอโซเลท ค่าพีเอชของดิน อยู่ระหว่าง 4.57 - 8.09 แยกเชื้อจากเกาะราวีได้ 98 ไอโซเลท ค่าพีเอชของดินอยู่ ระหว่าง 4.99 - 7.75

เมื่อทำการตรวจนับปริมาณของเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากตัวอย่างต่างๆ บน อาหาร GYM agar ที่เติมยาปฏิชีวนะ โดยคัดเลือกเชื้อที่ผลิตสปอร์ซึ่งมีลักษณะเป็นผง แป้ง (ดังรูปที่ 25 และ 26, ภาคผนวก ค) มาทำให้เชื้อบริสุทธิ์และทำการศึกษาลักษณะ เส้นสายสปอร์ พบว่าสามารถแยกเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากเกาะตะรุเตาอยู่ในช่วง $2.0 \times 10^2 - 8.0 \times 10^4$ CFU/g ของดิน เกาะอาดังจำนวนเชื้อสเตรปโตมัยซีทอยู่ในช่วง $2.0 \times 10^3 - 2.6 \times 10^4$ CFU/g ของดิน และเกาะราวีจำนวนเชื้อสเตรปโตมัยซีทอยู่ในช่วง $1.6 \times 10^3 - 4.0 \times 10^4$ CFU/g ของดิน ซึ่งผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แหล่งดิน ลักษณะดิน ค่าพีเอชและปริมาณเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่แยกได้จากดินเกาะตะรุเตา เกาะอาดัง และเกาะราวี

แหล่งดิน	จุดที่	บริเวณที่เก็บดินและลักษณะดินตัวอย่าง	พีเอช	จำนวนไอโซเลท (CFU x 10 ³ /g)
เกาะตะรุเตา	1	อ่าวเมาะและดินร่วน แห้ง	7.17	1 (2.0)
	2	หาดอ่าวเมาะและ ดินทราย แห้ง	8.04	0
	3	อ่าวเมาะและป่าชายเลนดินร่วนปนทราย ชื้น	4.82	17 (24.0)
	4	ดินไต้ต้นไม้ ดินร่วนแห้งมีใบไม้ปกคลุม	5.33	26 (6.0)
	5	อ่าวตะโล๊ะวาวดินร่วน แห้ง ใบไม้ปกคลุม	4.85	4 (80)
	6	อ่าวตะโล๊ะวาว ป่าชายเลนดินทราย เปี้ยก	8.12	0
	7	อ่าวตะโล๊ะวาว ชายหาดดินทราย เปี้ยก	8.05	2 (0.4)
	8	ดินไต้ต้นไม้ดินร่วน แห้ง	6.70	3 (2.0)
	9	ดินไต้ต้นไม้ดินร่วน แห้ง	5.01	0
	10	ดินไต้ต้นไม้ดินร่วน แห้ง	4.81	2 (20.0)
	11	อ่าวพันเต ดินทราย แห้ง	5.42	0
	12	อ่าวพันเต ไต้ต้นไม้แสมแดงดินทราย แห้ง	5.43	15 (20.0)
	13	อ่าวพันเต เป็นดินทรายแห้ง มีเศษใบไม้	7.44	6 (4.0)
	14	อ่าวพันเต ไต้ต้นไม้สน ดินทราย	7.56	1 (2.0)
	15	ดินร่วนปนทราย เปี้ยก ป่าโกงกางท่าเรือ	7.82	0
	16	หน้าผาไต้บูดินร่วน แห้ง	6.47	10 (8.0)
	17	ถ้าจระเข้ดินร่วนปนดินเหนียว ชื้น	7.85	1 (0.2)
	18	อ่าวฤาษี ดินร่วน แห้ง	6.96	3 (2.0)
	19	อ่าวตะโล๊ะวาวดินร่วนสีน้ำตาลบริเวณทางน้ำ	4.16	3 (0.6)
	20	หน้าผาไต้บูดินร่วนสีแดง แห้ง	5.43	54 (70.0)
		รวม		148
เกาะอาดัง	1	ชายป่าใกล้หาดดินร่วนปนทราย แห้ง	5.27	17 (26.0)
	2	ชายหาดดินทราย ชื้น	8.09	0
	3	น้ำตกโจรสลัดดินร่วน ชื้น	4.95	6 (8.0)
	4	น้ำตกโจรสลัดดินทรายหยาบ ชื้น	5.57	6 (10.0)
	5	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วนปนทราย ชื้น	6.12	5 (8.0)
	6	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วน ชื้น	6.08	6 (2.0)
	7	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วนปนทราย ชื้น	5.07	0
	8	ผาชะโอดินร่วน หญ้าปกคลุม	4.82	5 (8.0)
	9	ผาชะโอดินร่วน ชื้น	5.20	1 (2.0)

ตารางที่ 4 แหล่งดิน ลักษณะดิน ค่าพีเอชและปริมาณเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่แยกได้จากดินเกาะตะรุเตา เกาะอาดัง และเกาะราวี (ต่อ)

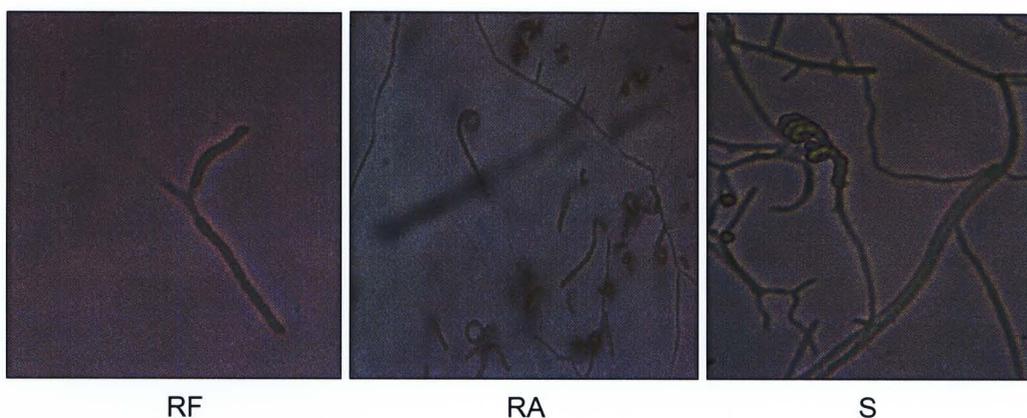
แหล่งดิน	จุดที่	บริเวณที่เกิดดินและลักษณะดินตัวอย่าง	พีเอช	จำนวนไอโซเลท (CFU x 10 ³ /g)
	10	ผาชะโด ใต้ต้นไผ่ดินร่วน ชั้น	4.57	14 (8.0)
		รวม		60
เกาะราวี	1	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วนสีดํา แห้ง	4.99	8 (4.0)
	2	หาดราวีดินทราย ชั้น	7.57	9 (1.6)
	3	บริเวณทางน้ำดินร่วนปนทราย เปี้ยก	6.91	13 (6.0)
	4	บริเวณทางน้ำมีต้นจากและรูปฤาษีดินร่วนปนทราย เปี้ยก	5.93	29 (5.6)
	5	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วนปนทราย แห้ง	5.06	14 (20.0)
	6	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วนปนทราย ชั้น	5.50	1 (2.0)
	7	ป่าทางทิศตะวันออกดินร่วน	5.26	2 (40.0)
	8	หาดราวีดินทราย แห้ง	7.75	11 (22.0)
	9	ป่าทางทิศตะวันตกดินร่วนปนทราย แห้ง	7.57	1 (20.0)
	10	ใต้ต้นกระพ้อดินร่วนปนทราย แห้ง ใบไม้ปกคลุม	5.36	10 (10.0)
		รวม		98
รวมทั้ง 3 เกาะ				306

2. การจัดจำแนกชนิดของเชื้อ *Streptomyces* spp.

2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสายสปอร์

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสายสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture ป่ม ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 5 - 21 วัน จึงตรวจดูลักษณะของเส้นใยและสายสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะของสายสปอร์ 3 แบบ (ดังแสดงในตารางที่ 11, 12 และ 13) คือ แบบที่ 1 Rectiflexibiles ซึ่งลักษณะของสายสปอร์เป็นแบบปลายตรง (straight) จนถึงคดงอเล็กน้อย (flexuous) จำนวน 188 ไอโซเลท โดยพบที่เกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 33, 54 และ 101 ไอโซเลท ตามลำดับ แบบที่ 2 Retinaculiaperti ลักษณะของสายสปอร์เป็นรูปตะขอ (hook) จนถึงม้วนเป็นห่วง (loop) จำนวน 54 ไอโซเลท เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 14, 12 และ 28 ไอโซเลท ตามลำดับ และแบบที่ 3 Spirales ลักษณะของสายสปอร์เป็นเกลียว (spiral) จำนวน 24 ไอโซเลท เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 5, 13 และ 6 ไอโซเลท ตามลำดับ และยังพบว่า 16 ไอโซเลท สร้างสายสปอร์ทั้งแบบที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากเกาะ อาดัง จำนวน 2 ไอโซเลท เกาะ

ราวี จำนวน 7 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา จำนวน 7 ไอโซเลท สร้างสายสปอร์ทั้งแบบที่ 2 และ 3 จำนวน 15 ไอโซเลท ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากเกาะอาดัง จำนวน 2 ไอโซเลท เกาะราวี จำนวน 8 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา จำนวน 8 ไอโซเลท สร้างสายสปอร์ทั้ง 3 แบบ จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากเกาะอาดัง จำนวน 4 ไอโซเลท เกาะราวี จำนวน 1 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา จำนวน 1 ไอโซเลท ซึ่งจำนวนสปอร์ที่สร้างขึ้นมีตั้งแต่ 5-50 สปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 ลักษณะของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อสเตรปโตมัยซีท RF; แบบที่ 1 Rectiflexibiles เป็นเชื้อที่แยกมาจากเกาะอาดัง รหัสเชื้อ AD1B5 อายุ 7 วัน, RA; แบบที่ 2 Retinaculiaperti เป็นเชื้อที่แยกมาจากเกาะตะรุเตา รหัสเชื้อ TS3B1 อายุ 7 วัน, S; แบบที่ 3 Spirales เป็นเชื้อที่แยกมาจากเกาะราวี รหัสเชื้อ RV4A40 อายุ 7 วัน; ภาพถ่ายลักษณะของเส้นใยและสปอร์ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ชนิด light field ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

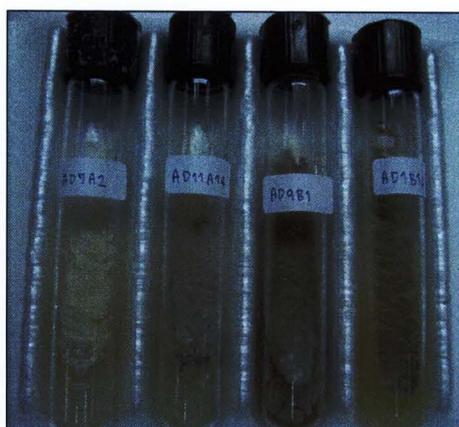
2.2 ลักษณะทางสรีรวิทยา

2.2.1 การสร้างสปอร์ที่แพร่ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะสีของสปอร์

จากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร Oatmeal agar slant (ภาคผนวก ก) พบว่าเชื้อสามารถผลิตเม็ดสีได้หลากหลาย ดังแสดงในรูปที่ 9 โดยเชื้อที่แยกได้จากเกาะอาดังเมื่อทำการจัดกลุ่มสปอร์ที่แพร่ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ สีน้ำตาล สีเหลือง สีชมพู และไม่ผลิตเม็ดสี จำนวน 11, 8, 2 และ 39 ไอโซเลท ตามลำดับ เชื้อจากเกาะราวีเมื่อทำการจัดกลุ่มสปอร์ที่แพร่ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ สีน้ำตาล สีเหลือง สีเขียว-ดำ และไม่ผลิตเม็ดสี จำนวน 11, 15, 3 และ 69 ไอโซเลท ตามลำดับ เชื้อที่แยกได้จากเกาะตะรุเตาเมื่อทำการจัดกลุ่มสปอร์ที่แพร่ออกมาในอาหารเลี้ยง

เชื้อสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ สีน้ำตาล สีเหลือง สีเขียว-ดำ และไม่ผลิตเม็ดสี จำนวน 49, 13, 2 และ 84 ไอโซเลท ตามลำดับ

ส่วนลักษณะสีของสปอร์เชื้อที่แยกได้จากเกาะอาดังเมื่อทำการจัดกลุ่มสีของสปอร์สามารถแบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ สีขาว สีเหลือง สีเขียว สีแดง และสีเทา จำนวน 4, 2, 11, 1 และ 42 ไอโซเลท ตามลำดับ เชื้อจากเกาะราวีเมื่อทำการจัดกลุ่มสีของสปอร์สามารถแบ่งเป็น 8 กลุ่ม คือ สีน้ำตาล สีเหลือง สีขาว สีแดง สีฟ้า สีเขียว สีดำ และสีเทา จำนวน 9, 8, 17, 4, 1, 11, 1 และ 47 ไอโซเลท ตามลำดับ เชื้อที่แยกได้จากเกาะตะรุเตาเมื่อทำการจัดกลุ่มสีของสปอร์สามารถแบ่งเป็น 8 กลุ่ม คือ สีน้ำตาล สีเหลือง สีขาว สีแดง สีฟ้า สีเขียว สีดำ และสีเทา จำนวน 22, 13, 10, 8, 2, 6, 1 และ 86 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 11, 12 และ 13 (ภาคผนวก ค)



ก



ข

รูปที่ 9 ลักษณะสีของสปอร์และสีที่แพร่ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อในอาหาร Oatmeal agar slant อายุ 14 วัน ก; สีของสปอร์, ข; สีที่แพร่ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.2 การสร้างเม็ดสีเมลานิน

โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร peptone yeast-extract iron agar และ tyrosine agar (ภาคผนวก ก) พบว่าเชื้อจากเกาะอาดังสามารถสร้างเม็ดสีเมลานินที่เป็นรงควัตถุสีน้ำตาล สีน้ำตาล-เขียว และสีดำในอาหาร peptone yeast-extract iron agar จำนวน 17 ไอโซเลท และในอาหาร tyrosine agar จำนวน 16 ไอโซเลท เชื้อจากเกาะราวีสามารถสร้างเม็ดสีเมลานินในอาหาร peptone yeast – extract iron agar จำนวน 19 ไอโซเลท และในอาหาร tyrosine agar จำนวน 16 ไอโซเลทเชื้อจากเกาะอาดังสามารถสร้างเม็ดสีเมลานินในอาหาร peptone yeast – extract iron agar จำนวน 66 ไอโซเลท และใน

อาหาร tyrosine agar จำนวน 61 ไอโซเลท โดยเชื้อบางไอโซเลทมีการสร้างเม็ดสีเมลานินทั้งในอาหาร peptone yeast – extract iron agar และในอาหาร tyrosine agar หรือสร้างเม็ดสีเมลานินแค่อาหาร 1 ชนิดเท่านั้นดังแสดงในตารางที่ 14, 15 และ 16 (ภาคผนวก ค)

2.2.3 การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าเชื้อจากเกาะอาดังทุกไอโซเลทเจริญที่อุณหภูมิ 20, 28 และ 37°C มีเชื้อ จำนวน 17 และ 25 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 และ 45°C ตามลำดับ เกาะราวีทุกไอโซเลทเจริญที่อุณหภูมิ 20, 28 และ 37°C มีเชื้อ จำนวน 18 และ 30 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 และ 45°C ตามลำดับ เกาะตะรุเตาทุกไอโซเลทเจริญที่อุณหภูมิ 20, 28 และ 37°C แต่อุณหภูมิ 10 และ 45°C มีเชื้อ จำนวน 60 และ 28 ไอโซเลท ตามลำดับ ที่สามารถเจริญได้ดังแสดงในตารางที่ 14, 15 และ 16 (ภาคผนวก ค)

2.2.4 การเจริญที่พีเอชต่าง ๆ

จากการศึกษาการเจริญที่พีเอชต่าง ๆ พบว่าเชื้อจากเกาะอาดังทุกไอโซเลทเจริญที่พีเอช 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ยกเว้นที่พีเอช 4.0, 10.0 และ 11.0 มีเชื้อ 2, 1 และ 1 ไอโซเลท ตามลำดับ ที่ไม่มีการเจริญบนอาหาร เกาะราวีทุกไอโซเลทเจริญที่พีเอช 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 แต่ที่พีเอช 4.0, 5.0, 10.0 และ 11.0 มีเชื้อ 32, 3, 3 และ 10 ไอโซเลท ตามลำดับ ที่ไม่มีการเจริญบนอาหาร เกาะตะรุเตาทุกไอโซเลทเจริญที่พีเอช 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 แต่ที่พีเอช 4.0, 5.0, 10.0 และ 11.0 มีเชื้อ 42, 2, 1 และ 30 ไอโซเลท ตามลำดับ ที่ไม่มีการเจริญบนอาหารดังแสดงในตารางที่ 14, 15 และ 16 (ภาคผนวก ค)

2.2.5 การใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอน

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อสเตรปโตมัยซีทในอาหารที่เติมคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต จำนวน 18 ชนิด พบว่าน้ำตาล Adonitol มีเชื้อ 222 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 46, 86 และ 90 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล L-arabinose มีเชื้อ 236 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 56, 87 และ 93 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล cellobiose มีเชื้อ 228

ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะ
 ตะรุเตาจำนวน 50, 89 และ 89 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล dextran มีเชื้อ 222
 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา
 จำนวน 52, 82 และ 88 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล D-fructose มีเชื้อ 233 ไอโซเลท
 ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน
 57, 81 และ 95 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล D-galactose มีเชื้อ 232 ไอโซเลทให้ผล
 การทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 59,
 87 และ 86 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล *meso*-inositol มีเชื้อ 227 ไอโซเลทให้ผล
 การทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 48,
 87 และ 92 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล inulin มีเชื้อ 227 ไอโซเลทให้ผลการ
 ทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 49, 83
 และ 95 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล D-lactose มีเชื้อ 231 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบ
 เป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 51, 85 และ 95
 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล mannitol มีเชื้อ 237 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวก
 โดยเป็นเชื้อจากเกาะ อาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 60, 83 และ 94
 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล D-mannose มีเชื้อ 221 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็น
 บวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 44, 86 และ 91
 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล D-melezitose มีเชื้อ 226 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็น
 บวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 46, 84 และ 96
 ไอโซเลท ตามลำดับ น้ำตาล raffinose มีเชื้อ 232 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวก
 โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 48, 89 และ 95 ไอโซเลท
 ตามลำดับ น้ำตาล L-rhamnose มีเชื้อ 228 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็น
 เชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 45, 89 และ 94 ไอโซเลท
 ตามลำดับ น้ำตาล sucrose มีเชื้อ 197 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็น
 เชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 51, 69 และ 77 ไอโซเลท
 ตามลำดับ น้ำตาล trehalose มีเชื้อ 242 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็น
 เชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 60, 88 และ 94 ไอโซเลท
 ตามลำดับ น้ำตาล xylitol มีเชื้อ 239 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อ
 จากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 53, 88 และ 98 ไอโซเลท ตามลำดับ
 และ น้ำตาล D-xylose มีเชื้อ 235 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจาก
 เกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 53, 86 และ 96 ไอโซเลท ตามลำดับ
 ดังแสดงในตารางที่ 17, 18 และ 19 (ภาคผนวก ค)

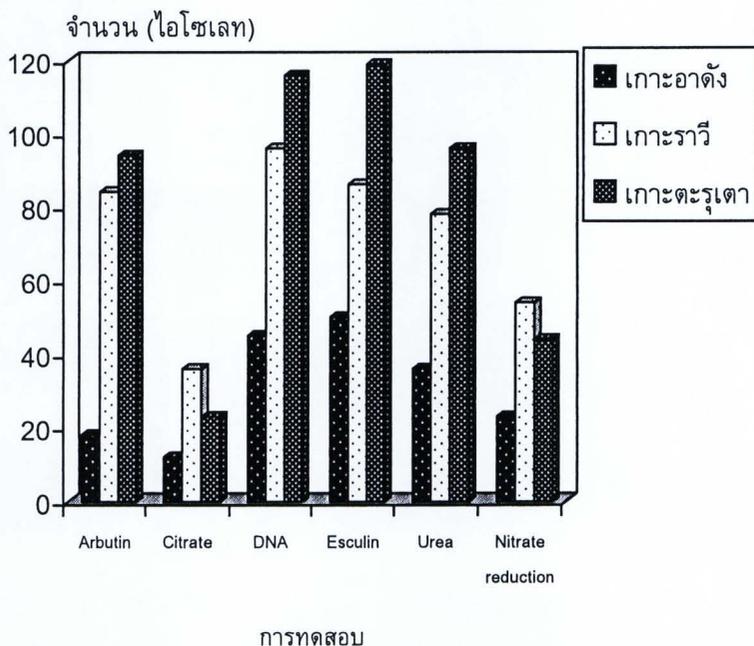
2.2.6 การเจริญในแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อสเตรปโตมัยซีทในอาหารที่เติมแหล่งไนโตรเจน 8 ชนิด พบว่า กรดอะมิโน L-arginine มีเชื้อ 262 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 52, 90 และ 121 ไอโซเลทตามลำดับ กรดอะมิโน L-histidine มีเชื้อ 243 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 52, 62 และ 129 ไอโซเลทตามลำดับ กรดอะมิโน L-methionine มีเชื้อ 191 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 39, 67 และ 85 ไอโซเลท ตามลำดับ สาร potassium nitrate มีเชื้อ 262 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 51, 89 และ 122 ไอโซเลท ตามลำดับ กรดอะมิโน L-phenylalanine มีเชื้อ 197 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 46, 56 และ 95 ไอโซเลท ตามลำดับ กรดอะมิโน L-serine มีเชื้อ 261 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 56, 74 และ 131 ไอโซเลท ตามลำดับ กรดอะมิโน L-threonine มีเชื้อ 256 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 57, 69 และ 130 ไอโซเลท ตามลำดับ และกรดอะมิโน L-valine มีเชื้อ 228 ไอโซเลทให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 50, 67 และ 111 ไอโซเลท ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 20, 21 และ 22 (ภาคผนวก ค)

2.3 การทดสอบทางชีวเคมี

จากการทดสอบทางชีวเคมี (ดังรูปที่ 29, ภาคผนวก ค) จำนวน 5 การทดสอบพบว่า ในการทดสอบอาบูติน มีเชื้อ 196 ไอโซเลท ที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา 18, 84 และ 94 ไอโซเลท ตามลำดับ การทดสอบซิเตรทมีเชื้อ 71 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตาจำนวน 12, 36 และ 23 ไอโซเลท ตามลำดับ การทดสอบ DNase มีเชื้อ 257 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา 45, 96 และ 116 ไอโซเลท ตามลำดับ การทดสอบ เอสคูลิน มีเชื้อ 255 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 50, 86 และ 119 ไอโซเลท ตามลำดับ การทดสอบยูเรีย มีเชื้อ 210 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 36, 78 และ 96 ไอโซเลท

ตามลำดับ ทดสอบการรีดิวซ์ ไนเตรทมีเชื้อ 121 ไอโซเลท ให้ผลการทดสอบเป็นบวกโดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 23, 54 และ 44 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังรูปที่ 10 (ตารางที่ 20, 21 และ 22, ภาคผนวก ค)

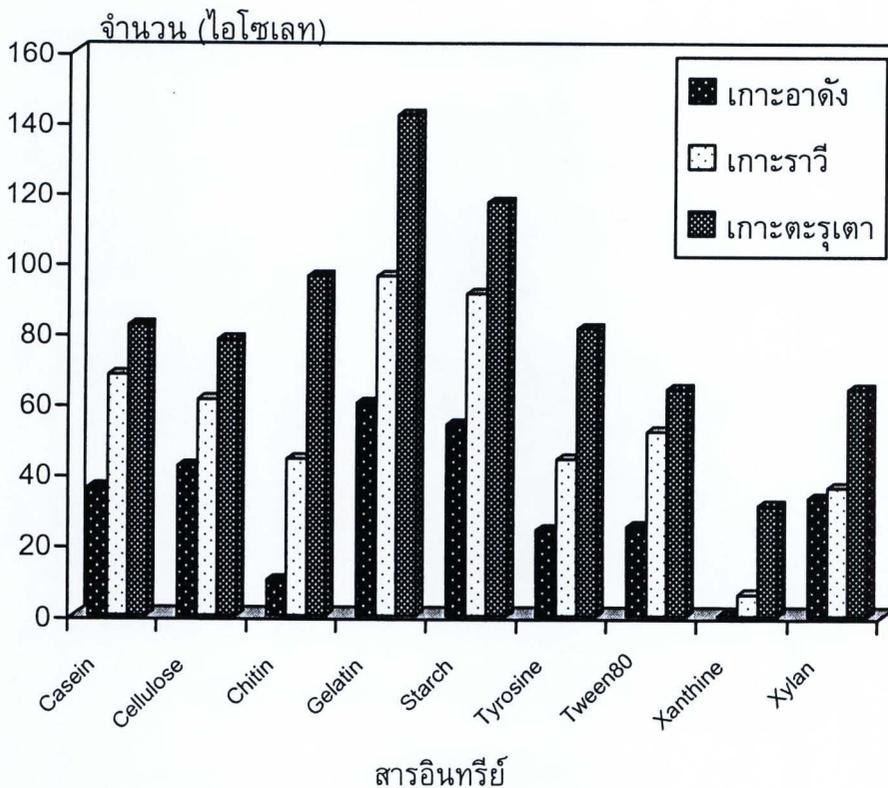


รูปที่ 10 จำนวนเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่ให้ผลบวกในการทดสอบทางชีวเคมี 6 การทดสอบ ได้แก่ การทดสอบอาบูติน ซิเตรท ดีเอ็นเอ เอสคูลิน ยูเรีย และการรีดิวซ์ไนเตรท

2.4 ผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์

จากการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (ดังรูปที่ 27, ภาคผนวก ค) จำนวน 9 ชนิด พบว่าในการย่อยเคซีนโดยใช้ skimmed milk 1% มีเชื้อที่สามารถย่อยเคซีนได้จำนวน 186 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 36 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 68 ไอโซเลทและเกาะตะรุเตาจำนวน 82 ไอโซเลท การย่อยเซลลูโลสใช้ carboxyl methyl cellulose 1% มีเชื้อที่สามารถย่อยเซลลูโลสได้จำนวน 181 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 42 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 61 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 78 ไอโซเลท การย่อยไคตินใช้ colloidal chitin 1% มีเชื้อที่สามารถย่อยไคตินได้จำนวน 150 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 10 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 44 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 96 ไอโซเลท การย่อยเจลาตินใช้ gelatin 0.4% มีเชื้อที่สามารถย่อยเจลาตินได้จำนวน 298 ไอโซเลท โดยเป็น

เชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 60 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 96 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 142 ไอโซเลท การย่อยแป้งใช้ soluble starch 1% มีเชื้อที่สามารถย่อยแป้งได้จำนวน 262 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 54 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 91 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 117 ไอโซเลท การย่อยไทโรซีนใช้ L-tyrosine 0.5% มีเชื้อที่สามารถย่อยไทโรซีนได้จำนวน 149 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 24 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 44 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 81 ไอโซเลท การย่อยทวิน 80 ใช้ tween 80 1% มีเชื้อที่สามารถย่อยทวิน 80 ได้จำนวน 141 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 25 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 52 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 64 ไอโซเลท การย่อยแซนทีนใช้ xanthine 0.4 % มีเชื้อที่สามารถย่อยแซนทีนได้จำนวน 37 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะราวีจำนวน 6 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 31 ไอโซเลท การย่อยไซแลนใช้ xylan 0.5 % มีเชื้อที่สามารถย่อยไซแลนได้จำนวน 133 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดังจำนวน 33 ไอโซเลท เกาะราวีจำนวน 36 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตาจำนวน 64 ไอโซเลท ดังรูปที่ 11 (ตารางที่ 23, 24 และ 25, ภาคผนวก ค)

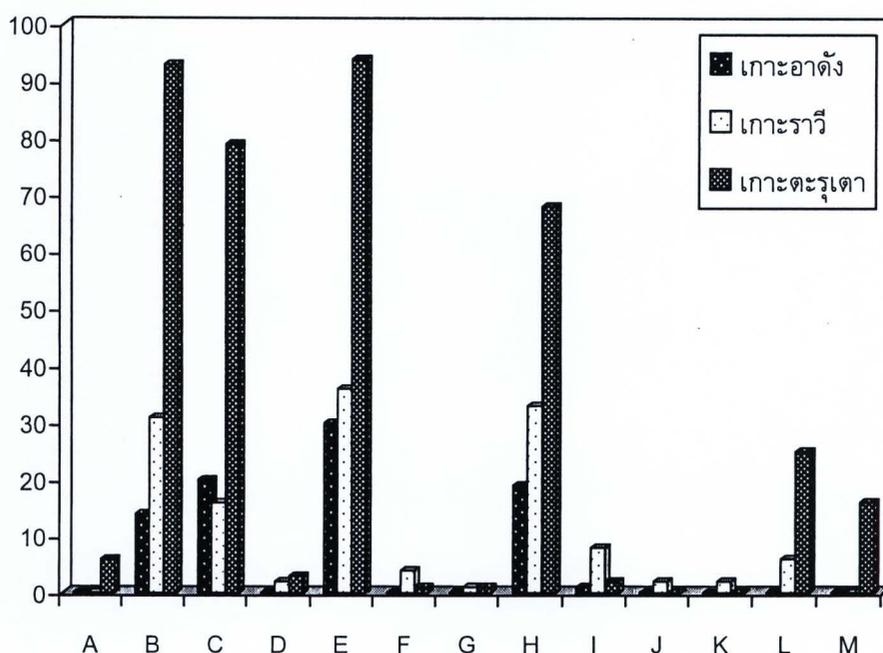


รูปที่ 11 จำนวนเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่ให้ผลบวกในการย่อยสลายสารอินทรีย์ 9 ชนิด ได้แก่ เคซีน เซลลูโลส ไคติน เจลาติน แป้ง ไทโรซีน ทวิน 80 แซนทีน และไซแลน

2.4 ผลการทดสอบความสามารถในการเจริญบนอาหารที่ผสมสารยับยั้ง

จากการศึกษาความสามารถในการเจริญบนอาหารที่ผสมสารยับยั้ง จำนวน 7 ชนิด พบว่ามีเชื้อแค่ 6 ไอโซเลทที่เจริญบนอาหารที่เติม cobalt chloride 0.01% โดยเป็นเชื้อจากเกาะตะรุเตาทั้ง 6 ไอโซเลท ในอาหารที่เติม crystal violet 0.0001% มีเชื้อ 138 ไอโซเลทที่เจริญได้บนอาหาร โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง 14 ไอโซเลท เกาะราวี 31 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา 93 ไอโซเลท อาหารที่เติม iron sulfate 0.05 และ 0.1% มีเชื้อ 115 และ 5 ไอโซเลทที่เจริญได้ โดยเป็นเชื้อจากเกาะราวี 16 และ 2 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา 79 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ ส่วนเชื้อจากเกาะอาดังเจริญได้เฉพาะที่ความเข้มข้น 0.05% จำนวน 20 ไอโซเลท ไม่พบการเจริญที่ความเข้มข้น 0.1% อาหารที่เติม phenol 0.1% มีเชื้อ 160 ไอโซเลทที่เจริญได้ โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง 30 ไอโซเลท เกาะราวี 36 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา 94 ไอโซเลท อาหารที่เติม potassium tellurite 0.001 และ 0.01% มีเชื้อ 5 และ 2 ไอโซเลทที่เจริญได้ โดยเป็นเชื้อจากเกาะราวี 4 และ 1 ไอโซเลท และเกาะตะรุเตา 1 และ 1 ไอโซเลท ตามลำดับ

อาหารที่เติม sodium chloride 4, 7, 10 และ 13% มีเชื้อ 120, 11, 2 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับที่เจริญได้โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง 19 และ 1 ไอโซเลท ที่ sodium chloride 4 และ 7% ตามลำดับ แต่ไม่พบการเจริญที่ 10 และ 13% ทำนองเดียวกับเกาะตะรุเตา พบการเจริญที่ 4 และ 7% จำนวน 68 และ 2 ไอโซเลท ส่วนเกาะราวีพบว่ามีการเจริญทุก ความเข้มข้นที่ทดสอบ จำนวน 33, 8, 2 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ อาหารที่เติม sodium azide 0.01 และ 0.02% มีเชื้อ 31 และ 16 ไอโซเลทที่เจริญได้ โดยเป็นเชื้อ จากเกาะราวี 6 ไอโซเลทเจริญที่ 0.01% แต่ไม่พบการเจริญที่ความเข้มข้น 0.02% และ เกาะตะรุเตามี 25 และ 16 ไอโซเลท ตามลำดับ และทั้ง 2 ความเข้มข้นเชื้อจากเกาะ อาดังไม่พบการเจริญ ดังรูปที่ 12 (ตารางที่ 26, 27 และ 28)

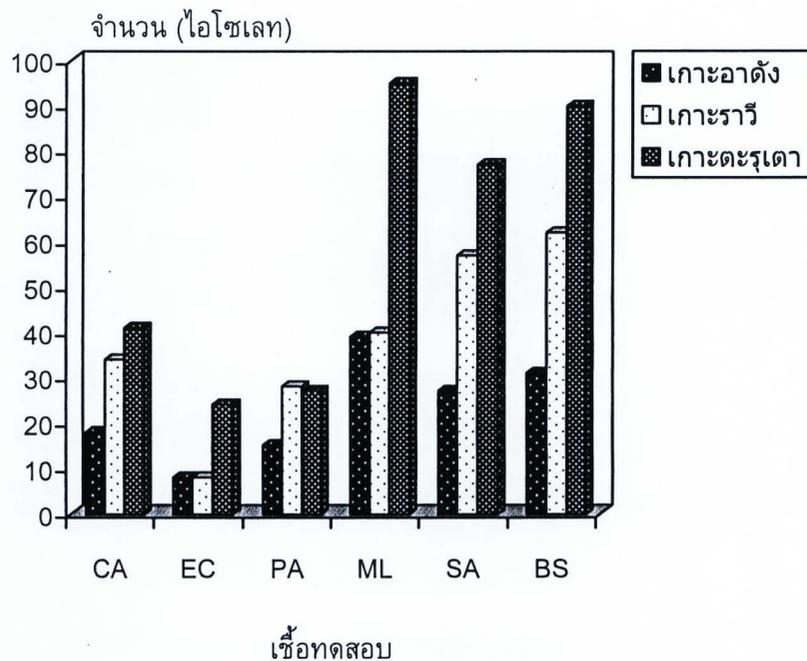


สารยับยั้ง

รูปที่ 12 จำนวนเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่ให้ผลบวกในการทดสอบความสามารถในการเจริญ ในอาหารที่เติมสารยับยั้ง 7 ชนิด ได้แก่ A; cobalt chloride 0.0001%, B; crystal violet 0.0005%, C; iron sulfite 0.05%, D; iron sulfite 0.1%, E; phenol 0.001%, F; potassium tellurite 0.001%, G; potassium tellurite 0.01%, H; sodium chloride 4%, I; sodium chloride 7%, J; sodium chloride 10%, K; sodium chloride 13%, L; sodium azide 0.01% และ M; sodium azide 0.02%

2.5 ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Agar spot (Spelhaug and Harlander, 1989)

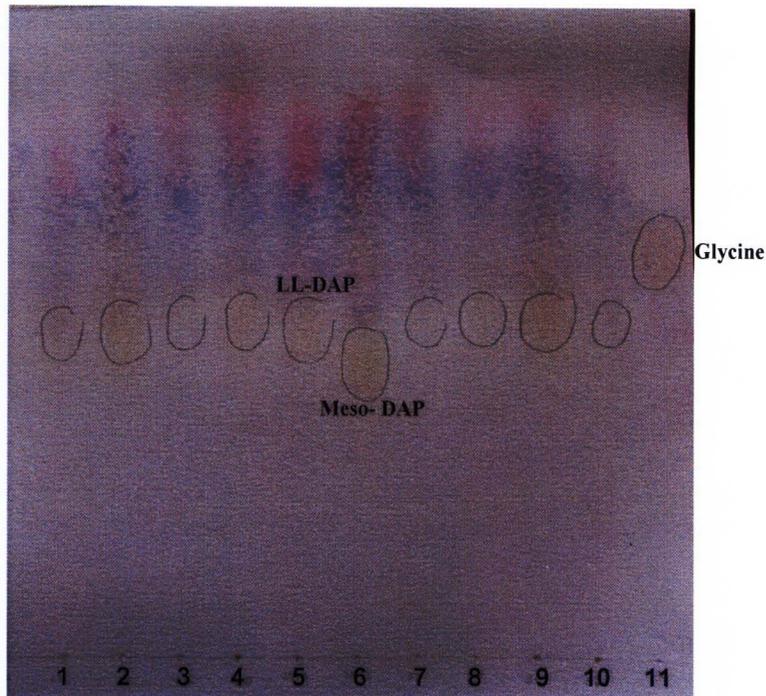
จากทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์บนอาหารแข็งโดยวิธี Agar spot (ดังรูปที่ 28, ภาคผนวก ค) จากเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดจาก 3 เกาะจำนวน 306 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อ 250 ไอโซเลท คิดเป็น 81.7% ของจำนวนเชื้อทั้งหมด ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบชนิดใดชนิดหนึ่งจากตัวแทนทั้ง 6 ชนิดที่นำมาทดสอบ (ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 90028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633) โดยมีบางตัวอย่างที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ทั้ง 6 ชนิด ทั้งนี้พบว่าเชื้อจำนวน 93 ไอโซเลท สามารถยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 โดยเป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 18, 34 และ 41 ไอโซเลท ตามลำดับ มี 40 ไอโซเลท ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 8, 8 และ 24 ไอโซเลท ตามลำดับ 70 ไอโซเลทยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 15, 28 และ 27 ไอโซเลท ตามลำดับ 174 ไอโซเลทยับยั้ง *Micrococcus luteus* เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 39, 40 และ 95 ไอโซเลท ตามลำดับ 161 ไอโซเลทยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 27, 57 และ 77 ไอโซเลท ตามลำดับ 183 ไอโซเลทยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 เป็นเชื้อจากเกาะอาดัง เกาะราวี และเกาะตะรุเตา จำนวน 31, 62 และ 90 ไอโซเลท ตามลำดับ ดังรูปที่ 13 (ตารางที่ 23, 24 และ 25)



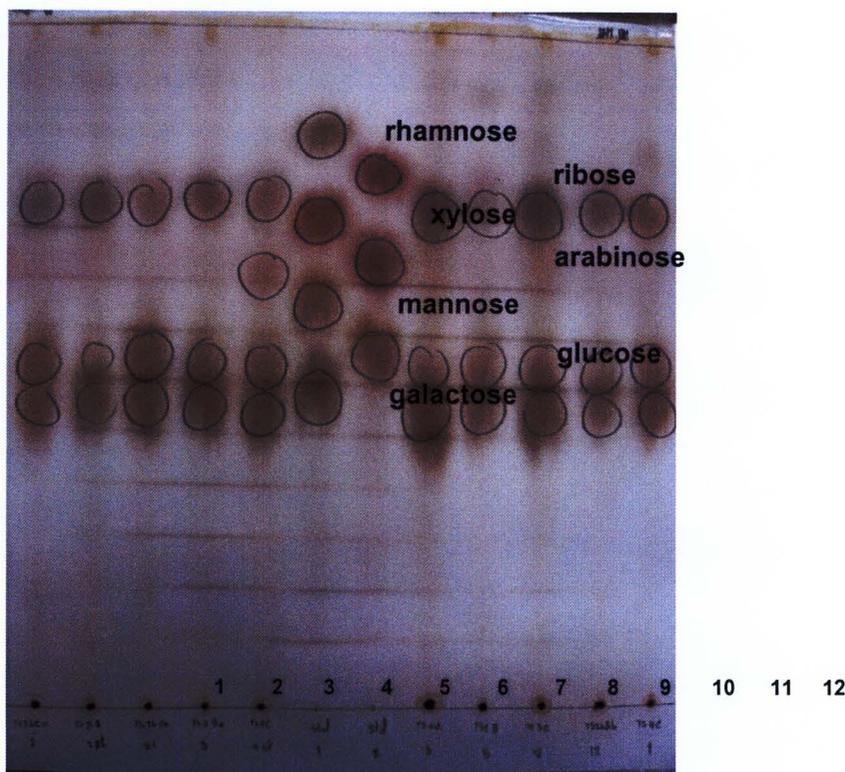
รูปที่ 13 จำนวนเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่ยับยั้งเชื้อทดสอบ 6 ชนิด คือ CA; *Candida albicans* ATCC 90028, EC; *Escherichia coli* ATCC 25922, PA; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, ML; *Micrococcus luteus*, SA; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, BS; *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์วิเคราะห์หาชนิดของ Diaminopimelic acid (DAP) และชนิดของน้ำตาลภายในเซลล์

จากการวิเคราะห์หาชนิดของ Diaminopimelic acid (DAP) และชนิดของน้ำตาลภายในเซลล์ ด้วยวิธี Paper Chromatography (รูปที่ 14 และ 15 ตามลำดับ) ของเชื้อสเตรปโตมัยซีทจำนวน 306 ไอโซเลท (ดังแสดงในภาคผนวก ง) พบว่าสามารถจัดกลุ่มเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี DAP เป็นชนิด LL-DAP มี glycine และชนิดของน้ำตาลเป็นแบบ type C มีแบบแผนของน้ำตาลที่ไม่มีรูปแบบตายตัว โดยแบ่งเป็น 30 กลุ่ม จำนวน 289 ไอโซเลท ซึ่งเป็นรูปแบบของกรดอะมิโนที่จัดอยู่ใน Cell wall Type I กลุ่มที่ 2 ชนิด LL-DAP มี glycine และชนิดของน้ำตาลเป็นแบบ type A มีน้ำตาล arabinose, galactose โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม จำนวน 14 ไอโซเลท ซึ่งเป็นรูปแบบของกรดอะมิโนที่จัดอยู่ใน Cell wall Type I และกลุ่มที่ 3 ชนิด meso-DAP มี glycine และชนิดของน้ำตาลเป็นแบบ type A โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม จำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งเป็นรูปแบบของกรดอะมิโนที่จัดอยู่ใน Cell wall Type II



รูปที่ 14 การวิเคราะห์ชนิดของ DAP ด้วยวิธี paper chromatography; No. 1 คือ RV10B19, No. 2 คือ RV10C6, No. 3 คือ TS12C5, No. 4 คือ TS4A7, No. 5 คือ TS12C9, No. 6 คือ เชื้อมาตรฐาน cau 211 (*meso*-DAP), No. 7 คือ เชื้อมาตรฐาน LL42 (*LL*-DAP), No. 8 คือ AD1A1, No. 9 คือ AD1B12, No. 10 คือ AD9B1 และ No. 11 คือ glycine (Fluka)

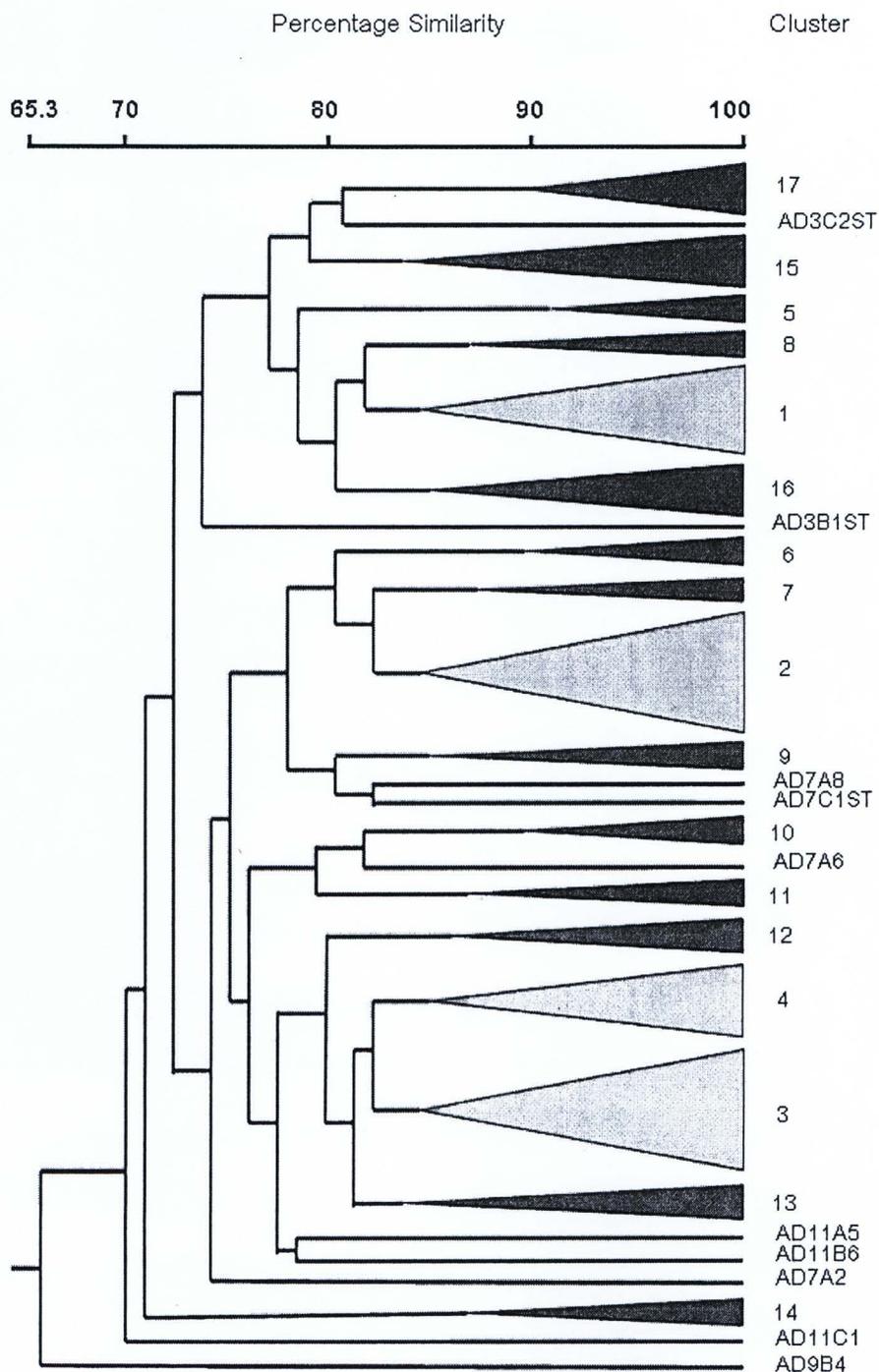


รูปที่ 15 การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลภายในเซลล์ ด้วยวิธี paper chromatography; No. 1 คือ TS26Ca2, No. 2 คือ TS13B2st, No. 3 คือ TS26Ca21, No. 4 คือ TS4Ba3, No. 5 คือ TS4C9st, No. 6 คือ สารละลายน้ำตาลมาตรฐาน 1, No. 7 คือ สารละลายน้ำตาลมาตรฐาน 2, No. 8 คือ TS4C3, No. 9 คือ TS1B5, No. 10 คือ TS5C7, No. 11 คือ TS26Bb12 และ No. 12 คือ TS4C1

การจัดจำแนกเชื้อ *Streptomyces* spp. โดยใช้ Numerical Taxonomy

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การผลิตเม็ดสี และการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อสเตรปโตมัยซีท จำนวน 60 ไอโซเลท ที่แยกได้จากเกาะอาดัง โดยการวัดความสัมพันธ์ (Similarity) อาศัยการทดสอบทางกายภาพ 87 การทดสอบวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ simple matching coefficient และทำการจัดกลุ่มโดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.1 นำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติตามหลักการของ numerical taxonomy แสดงผลเป็น dendrogram ดังแสดงในรูปที่ 14 พบว่าที่ความสัมพันธ์ 83.636% โดยให้ค่า cophenetic correlation เท่ากับ 0.653 มีเชื้อเดี่ยว (single member cluster) 10 ไอโซเลท กลุ่มเชื้อที่มีสมาชิก 2 - 3 ไอโซเลท (minor

cluster) จำนวน 13 กลุ่ม (29 ไอโซเลท) และเชื้อที่มีสมาชิก 4 – 6 ไอโซเลท (major cluster) จำนวน 4 กลุ่ม (21 ไอโซเลท) ดังแสดงในตารางที่ 5

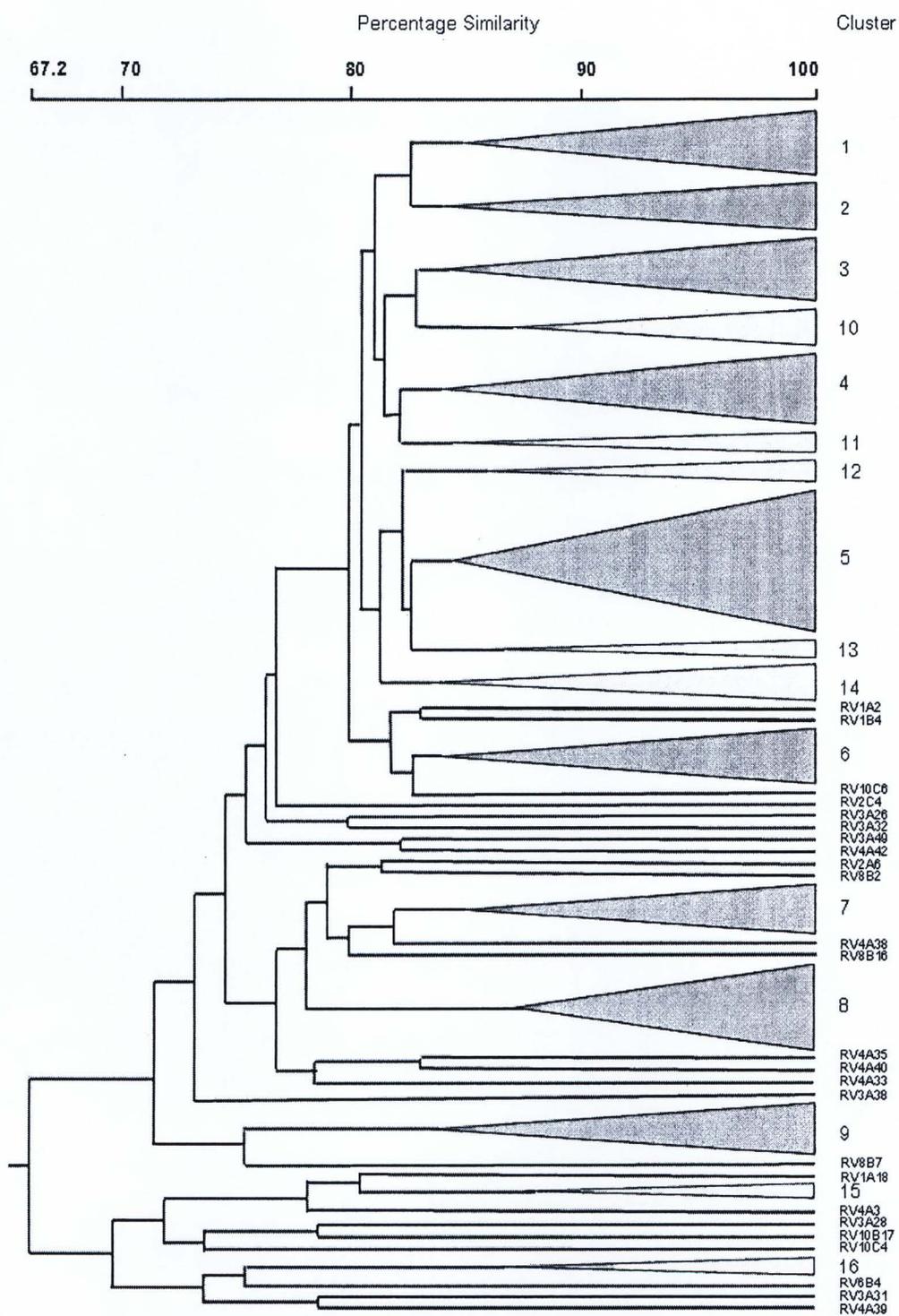


รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ (Similarity) ของเชื้อสเตรปโตมัยซีที่แยกได้จากเกาะอาดัง จำนวน 60 ไอโซเลท การจัดความสัมพันธ์อาศัยการทดสอบทางกายภาพ 87 การทดสอบ วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ simple matching coefficient และทำการจัดกลุ่มโดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm

ตารางที่ 5 การจัดกลุ่มเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากเกาะอาดังแบบ Major membered clusters minor membered clusters และ single membered clusters โดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.1

Cluster	Strain	จำนวน (ไอโซเลท)
Major membered clusters		21
1	AD3B3ST, AD4A4ST, AD4B3ST, AD4B8ST, AD6B4ST	5
2	AD1A1, AD1B3, AD1B4, AD1B16, AD1B12, AD1B8	6
3	AD1B10, AD11A1, AD11A7, AD11A3, AD11A4, AD6B4	6
4	AD9C1, AD11B2ST, AD11B4, AD11B5	4
Minor membered clusters		29
5	AD4B6ST, AD7C2ST	2
6	AD1B11, AD1B14	2
7	AD1B13, AD11A14	2
8	AD3B2ST, AD6B5ST	2
9	AD9B1, AD9B2	2
10	AD1B1, AD10B1	2
11	AD1B5, AD1B7	2
12	AD11A12, AD11A13	2
13	AD9B3, AD11A9	2
14	AD3B1, AD3C1	2
15	AD1C4ST, AD6B3ST, AD6B13ST	3
16	AD1C1ST, AD4B1ST, AD7B5ST	3
17	AD1B9, AD1C2ST, AD4B2ST	3
Single membered clusters		10
	AD3C2ST, AD3B1ST, AD7A8, AD7C1ST, AD7A6	
	AD11A5, AD11B6, AD7A2, AD11C1, AD9B4	

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การผลิตเมดสี และการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อสเตรปโตมัยซีท จำนวน 98 ไอโซเลท ที่แยกได้จากเกาะราวี โดยการจัดความสัมพันธ์ (Similarity) อาศัยการทดสอบทางกายภาพ 90 การทดสอบ วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ simple matching coefficient และทำการจัดกลุ่มโดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.1 0 นำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติตามหลักการของ numerical taxonomy แสดงผลเป็น dendrogram ดังแสดงในรูปที่ 15 พบว่าที่ ความสัมพันธ์ 83.715% โดยให้ค่า cophenetic correlation เท่ากับ 0.792 มีเชื้อเดี่ยว (single member cluster) 25 ไอโซเลท กลุ่มเชื้อที่มีสมาชิก 2 – 3 ไอโซเลท (minor cluster) จำนวน 7 กลุ่ม (16 ไอโซเลท) และเชื้อที่มีสมาชิก 4 – 12 ไอโซเลท (major cluster) จำนวน 9 กลุ่ม (57 ไอโซเลท) ดังแสดงในตารางที่ 6

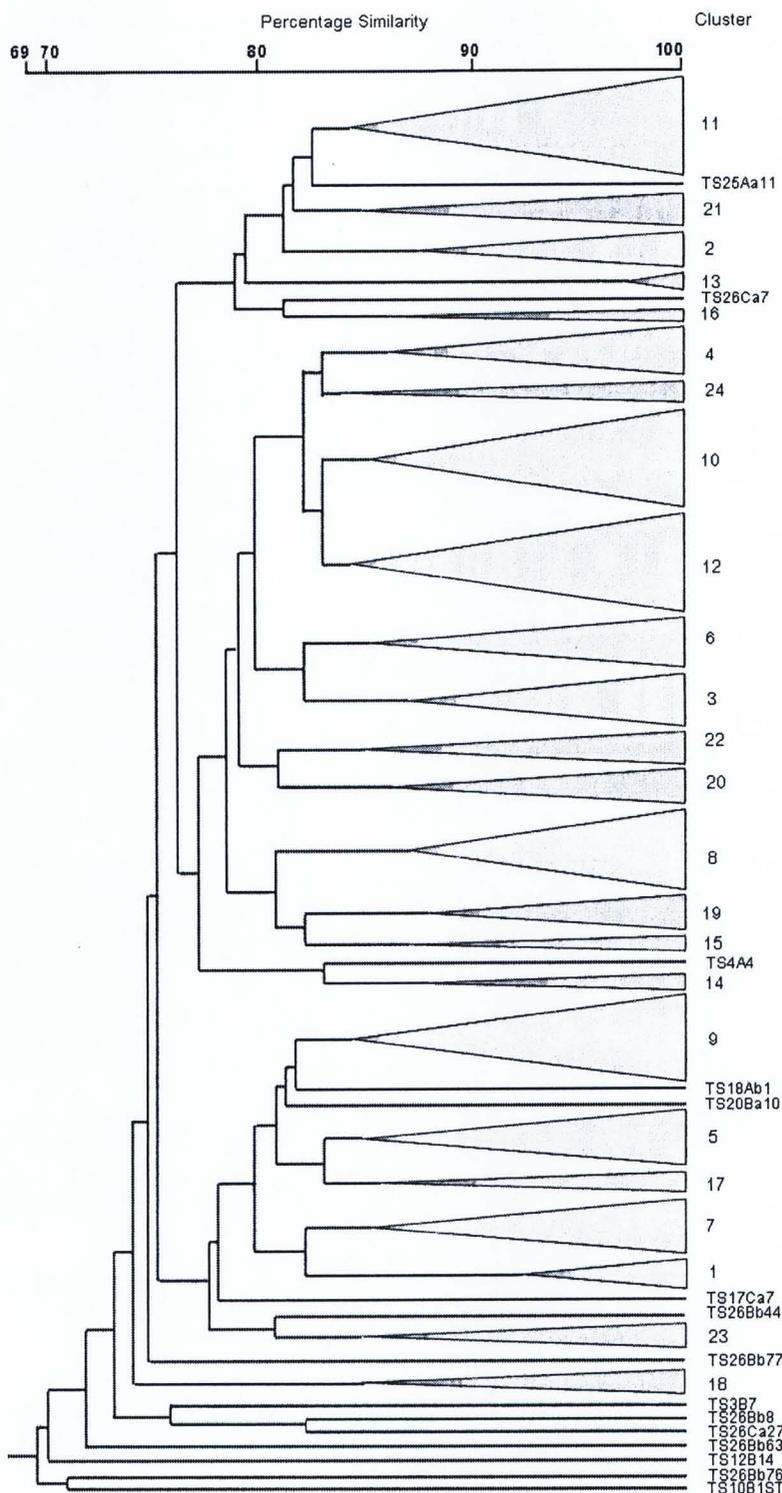


รูปที่ 15 ความสัมพันธ์ (Similarity) ของเชื้อสเตรปโตมัยซีทที่แยกได้จากเกาะราวีจำนวน 98 ไอโซเลท การจัดความสัมพันธ์อาศัยการทดสอบทางกายภาพ 87 การทดสอบวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ simple matching coefficient และทำการจัดกลุ่มโดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm

ตารางที่ 6 การจัดกลุ่มเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากเกาะราวีแบบ Major membered clusters minor membered clusters และ single membered clusters โดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.1

Cluster	Strain	จำนวน (ไอโซเลท)
Major membered clusters		57
1	RV1A1, RV1A14, RV3A44, RV4A37, RV4B1, RV10A39	6
2	RV4A8, RV4A12, RV4A23, RV4A27, RV4A29	5
3	RV1A22, RV4A4, RV4A14, RV4A20, RV4A45, RV10A30	6
4	RV2A4, RV2A7, RV2A8, RV3A11, RV8B3, RV9C1, RV10A35	7
5	RV3B11, RV3B14, RV4A18, RV4A21, RV4A22, RV4A28, RV4A5, RV4A6, RV5A20, RV5C3, RV8B4, RV8B10	12
6	RV10B19, RV1A3, RV1B3, RV7C3, RV7C6	5
7	RV4A34, RV5A13, RV5A14, RV5A17	4
8	RV5A1, RV5A8, RV5A9, RV5A21, RV5A22, RV5B4, RV5C1, RV5C2	8
9	RV2A2, RV5A15, RV8B8, RV8B9	4
Minor membered clusters		16
10	RV3A40, RV4A17, RV4A30	3
11	RV3A52, RV10B9	2
12	RV2A1, RV3B5	2
13	RV4A1, RV4A10	2
14	RV8B11, RV10B3, RV10B14	3
15	RV2A5, RV2A9	2
16	RV8B12, RV8B13	2
Single membered clusters	RV1A2, RV1A18, RV1B4, RV2A6, RV2C4, RV3A26, RV3A28, RV3A31, RV3A32, RV3A38, RV3A49, RV4A3, RV4A33, RV4A35, RV4A38, RV4A39, RV4A40, RV4A42, RV6B4, RV8B2, RV8B7, RV8B16, RV10B17, RV10C4, RV10C6	25

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การผลิตเมดสี และการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อสเตรปโตมัยซีท จำนวน 148 ไอโซเลท ที่แยกได้จากเกาะตะรุเตา โดยการจัดความสัมพันธ์ (Similarity) อาศัยการทดสอบทางกายภาพ 90 การทดสอบ วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ simple matching coefficient และทำการจัดกลุ่มโดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm โดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.1 นำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติตามหลักการของ numerical taxonomy แสดงผลเป็น dendrogram ดังแสดงในรูปที่ 16 พบว่าที่ความสัมพันธ์ 83.466% โดยให้ค่า cophenetic correlation เท่ากับ 0.641 มีเชื้อเดี่ยว (single member cluster) 15 ไอโซเลท กลุ่มเชื้อที่มีสมาชิก 2 – 3 ไอโซเลท (minor cluster) จำนวน 12 กลุ่ม (30 ไอโซเลท) และเชื้อที่มีสมาชิก 4 – 16 ไอโซเลท (major cluster) จำนวน 12 กลุ่ม (103 ไอโซเลท) ดังแสดงในตารางที่ 7



รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ (Similarity) ของเชื้อสเตรปโตมัยซีที่แยกได้จากเกาะตะรุเตา จำนวน 148 ไอโซเลท การจัดความสัมพันธ์อาศัยการทดสอบทางกายภาพ 90 การทดสอบ วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ simple matching coefficient และทำการจัดกลุ่มโดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm

ตารางที่ 7 การจัดกลุ่มเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากเกาะตะรุเตาแบบ Major membered clusters minor membered clusters และ single membered clusters โดยใช้ unweighted pair group method with arithmetic averages algorithm โดยใช้ โปรแกรม NTSYS pc 2.1

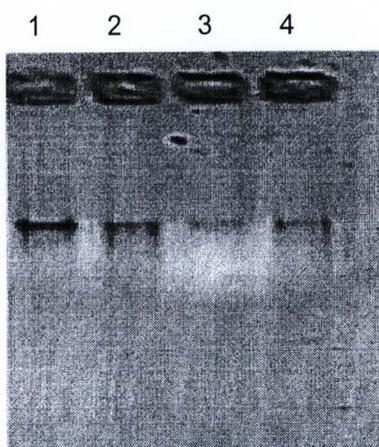
Cluster	Strain	จำนวน (ไอโซเลท)
Major membered clusters		103
1	TS17Bb1, TS17Bb3, TS17Bb5, TS17Ca8,	4
2	TS3B4, TS3C1, TS3C3, TS3C4	4
3	TS26Bb79, TS26Bb80, TS26Bb86, TS26Bb92, TS26Cb5	5
4	TS26Cb13, TS26Cb14, TS3B10, TS3B3, TS5C4	5
5	TS13B1ST, TS13B3ST, TS13Ba6, TS26Bb40, TS8C1ST	5
6	TS12C2, TS12C5, TS12B3, TS12C1, TS12C4, TS12C9	6
7	TS17Ca5, TS17Ca6, TS4Ba3, TS4C13ST, TS4C5ST, TS4C9ST, TS4C7ST	7
8	TS12B5, TS26Bb21, TS26Bb22, TS26Bb36, TS26Bb49, TS3B9, TS5C1, TS5C6, TS5C7	9
9	TS26Bb42, TS4Ba1, TS4Ba2, TS4C10ST, TS4C11ST, TS4C2ST, TS4C4ST, TS4Ca1, TS4Ca2, TS4Cb4, TS8Ba1, TS8Bb2	12
10	TS26Bb11, TS26Bb12, TS26Bb13, TS26Bb16, TS26Bb2, TS26Bb3, TS26Bb5, TS26Bb6, TS26Bb74, TS26Bb9, TS26Ca26, TS26Cb10, TS26Cb11, TS26Cb15	14
11	TS12B6, TS12B7, TS12B8, TS25Aa12, TS25Aa9, TS3B1, TS3B12, TS3B11, TS3B13, TS3B15, TS3B6, TS4A1, TS4A2, TS4A3, TS4A5, TS4A6	16
12	TS26Bb31, TS26Bb33, TS26Bb43, TS26Bb75, TS26Bb81, TS26Bb85, TS26Bb89, TS26Bb94, TS26Bb97, TS26Ca12, TS26Ca13, TS26Ca14, TS26Ca15, TS26Ca16, TS26Ca23, TS26Cb3	16
Minor membered clusters		30
13	TS7A1, TS7A2	2
14	TS4A7, TS4A8	2
15	TS26Ca2, TS3B2	2
16	TS10C1ST, TS20Bb2	2

17	TS17Ca12, TS20Cb6	2
18	TS13Aa9, TS13Ba1	2
19	TS1B5, TS26Ca21, TS4C1	3
20	TS17Ca1, TS3C6, TS4C3	3
21	TS12B1, TS12B2, TS15B1	3
22	TS12B9, TS26Cb7, TS4C2	3
Minor membered clusters		
23	TS13B2ST, TS17Bb1Y, TS4Ca3	3
24	TS12B10, TS26Bb72, TS3C2	3
Single membered clusters		15
TS3B7, TS4A4, TS10B1ST, TS12B14, TS17Ca7, TS18Ab1, TS20Ba10, TS25Aa11, TS26Bb44, TS26Bb63, TS26Bb8, TS26Bb76, TS26Bb77, TS26Ca7, TS26Ca27,		

3. คุณสมบัติทางด้านพันธุกรรม

3.1 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วน 16S rRNA gene ในเชื้อ *Streptomyces* spp.

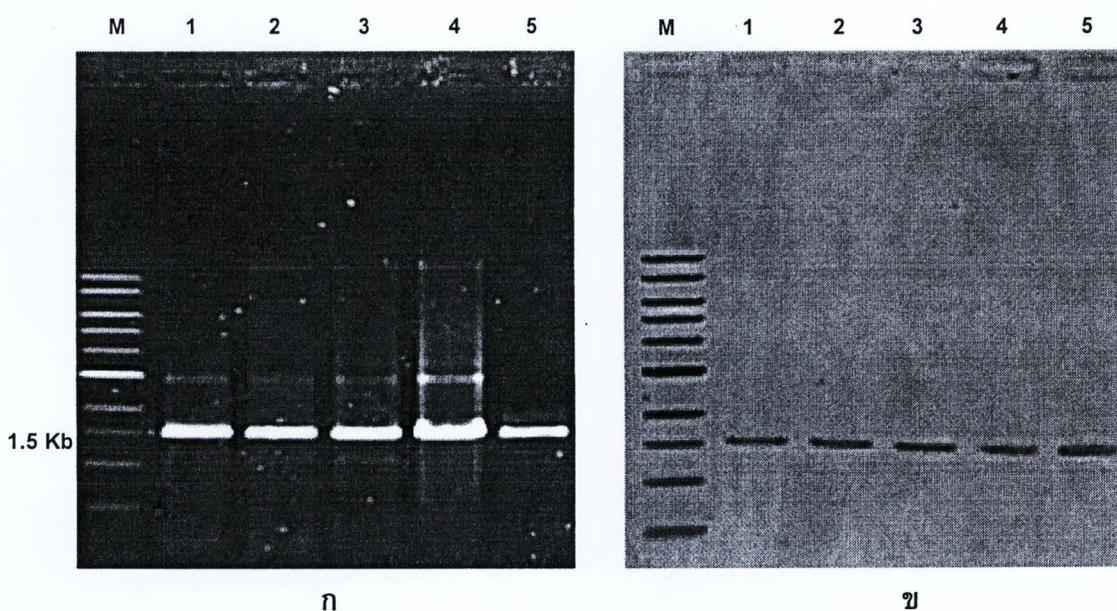
ผลการสกัด genomic DNA ของสเตรปโตมัยซีทโดยใช้ G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit ดังแสดงในรูปที่ 17



รูปที่ 17 ดีเอ็นเอของสเตรปโตมัยซีทสกัดโดยใช้ G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit หมายเลข 1 คือ เชื้อรหัส TS15B1, หมายเลข 2 คือ เชื้อรหัส TS26Ca26, หมายเลข 3 คือ เชื้อรหัส TS4A4, หมายเลข 4 คือ เชื้อรหัส TS3C2

3.2 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอส่วน 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน 16S rDNA ขนาด 1,500 bp ดังแสดงในรูปที่ 18 ของเชื้อ *Streptomyces* spp. โดยใช้ universal primer forward (8f) และ reverse (1525r) โดยให้ PCR products จำนวน 61 ไอโซเลท



รูปที่ 18 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอส่วน 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR (ก) และการทำ PCR products ให้บริสุทธิ์ (ข) โดย M; marker, 1; AD1A1, 2; AD1B5, 3; AD1B13, 4; AD3B1ST, 5; AD11C1

3.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

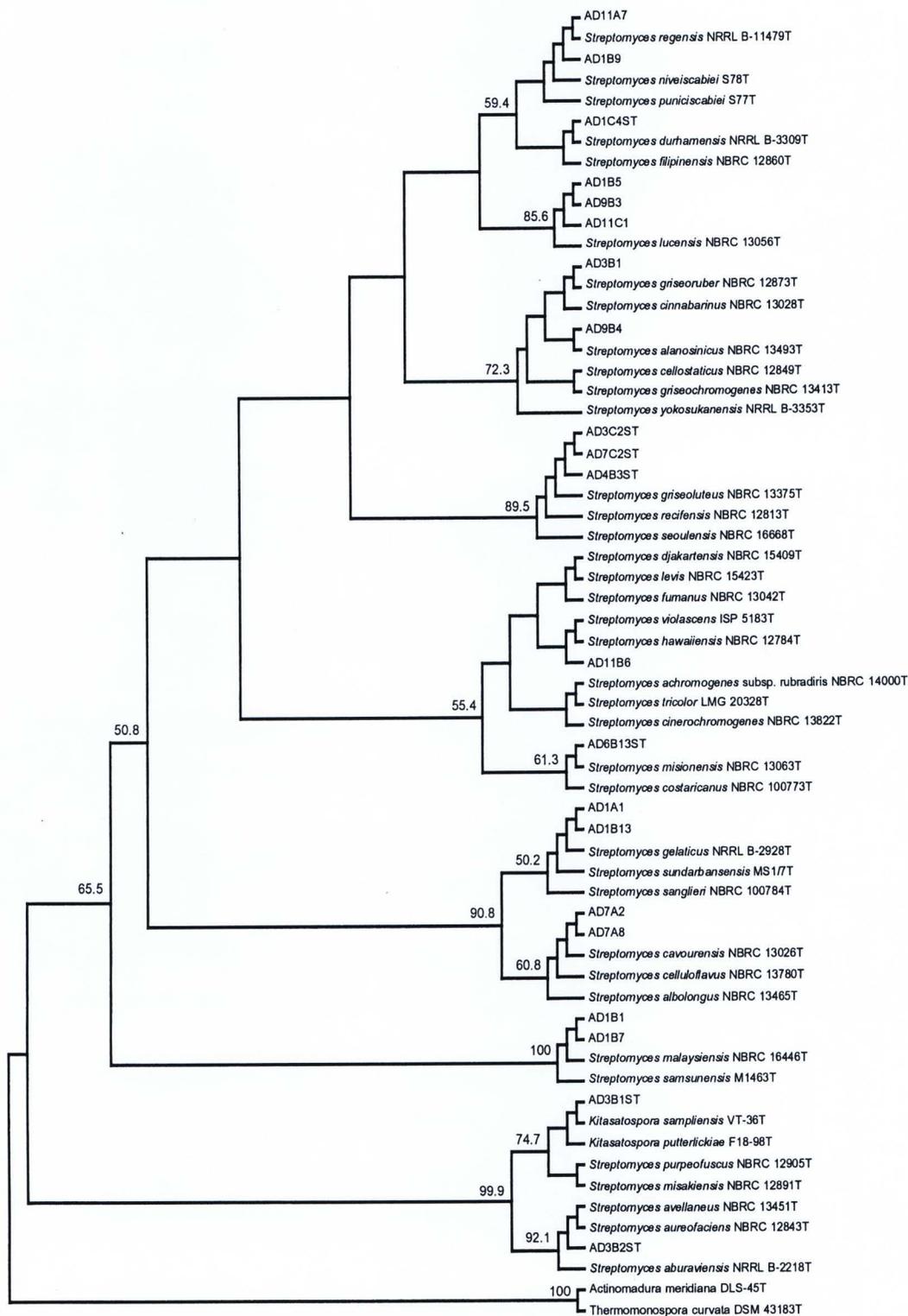
จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อมาตรฐานวงศ์ Streptomycetaceas ที่มีรายงานอยู่ในฐานข้อมูลในเว็บไซต์ของ EzTaxon server (<http://www.eztaxon.org/>; Chun *et al.*, 2007) นำนิวคลีโอไทด์ของเชื้อที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิด สร้าง phylogenetic tree ใช้วิธี neighbour-joining (Jukes & Cantor, 1969) พบว่าจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Phydit ของเชื้อจากเกาะอาดัง จำนวน 21 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มได้ 12 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 8 โดยรหัสเชื้อ AD11A7 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ AD1B9 โดยมีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces regensis* NRRL B-11479^T,

Streptomyces niveiscabiei S78^T และ *Streptomyces puniscabiei* S77^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD1C4ST มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces durhamensis* NRRL B-3309^T และ *Streptomyces filipinensis* NBRC 12860^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD1B5 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ AD9B3 และ รหัสเชื้อ AD11C1 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน *Streptomyces lucensis* NBRC 13056^T รหัสเชื้อ AD3B1 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ AD9B4 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 6 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces griseoruber* NBRC 12873^T, *Streptomyces cinnabarinus* NBRC 13028^T, *Streptomyces alanosinicus* NBRC 13493^T, *Streptomyces cellostaticus* NBRC 12849^T, *Streptomyces griseochromogenes* NBRC 13413^T และ *Streptomyces yokosukanensis* NRRL B-3353^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD3C2ST สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ AD7C2ST และ รหัสเชื้อ AD4B3ST มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces griseoluteus* NBRC 13375^T, *Streptomyces recifensis* NBRC 12813^T และ *Streptomyces seoulensis* NBRC 16668^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD11B6 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces levis* NBRC 15423^T, *Streptomyces hawaiiensis* NBRC 12784^T, *Streptomyces violascens* ISP 5183^T, *Streptomyces fumanus* NBRC 13042^T และ *Streptomyces djakartensis* NBRC 15409^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD6B13ST มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces misionensis* NBRC 13063^T และ *Streptomyces costaricanus* NBRC 100773^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD1A1 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ AD1B13 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces gelaticus* NRRL B-2928^T, *Streptomyces sundarbansensis* MS1/7^T และ *Streptomyces sanglieri* NBRC 100784^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD7A2 สร้าง monophyletic line กับ รหัสเชื้อ AD7A8 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces cavourensis* NBRC 13026^T, *Streptomyces celluloflavus* NBRC 13780^T และ *Streptomyces albolongus* NBRC 13465^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD1B1 สร้าง monophyletic line กับ AD1B7 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces malaysiensis* NBRC 16446^T และ *Streptomyces samsunensis* M1463^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD3B1ST มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 4 สายพันธุ์ คือ *Kitasatospora sampliensis* VT-36^T, *Kitasatospora putterlickiae* F18-98^T, *Streptomyces purpeofuscus* NBRC 12905^T และ *Streptomyces misakiensis* NBRC 12891^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ AD3B2ST มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์

คือ *Streptomyces avellaneus* NBRC 13451^T, *Streptomyces aureofaciens* NBRC 12843^T และ *Streptomyces aburaviensis* NRRL B-2218^T ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 19

ตารางที่ 8 การจัดกลุ่มเชื้อสเตรปโตไมซีทจากเกาะอาดังโดยอาศัยวิธี Neighbour-joining

กลุ่มที่	รหัสชื่อ	Closest strain	% identity
1	AD1B9 AD11A7	<i>Streptomyces niveiscabiei</i> S78 ^T	98.517
2	AD1C4ST	<i>Streptomyces durhamensis</i> NRRL B-3309 ^T	99.22
3	AD1B5 AD9B3 AD11C1	<i>Streptomyces lucensis</i> NBRC 13056 ^T	99.77-100
4	AD3B1	<i>Streptomyces griseoruber</i> NBRC 12873 ^T	99.649
5	AD9B4	<i>Streptomyces alanosinicus</i> NBRC 13493 ^T	98.798
6	AD3C2ST AD4B3ST AD7C2ST	<i>Streptomyces griseoluteus</i> NBRC 13375 ^T	98.357
7	AD11B6	<i>Streptomyces violascens</i> ISP 5183 ^T	97.383
8	AD6B13ST	<i>Streptomyces misionensis</i> NBRC 13063 ^T	100
9	AD1A1 AD1B13	<i>Streptomyces gelaticus</i> NRRL B-2928 ^T	99.195
10	AD7A2 AD7A8	<i>Streptomyces cavourensis</i> NBRC 13026 ^T	98.507
11	AD1B1 AD1B7	<i>Streptomyces malaysiensis</i> NBRC 16446 ^T	100
12	AD3B1ST	<i>Kitasatospora sampliensis</i> VT-36 ^T	100
13	AD3B2ST	<i>Streptomyces avellaneus</i> NBRC 13451 ^T	99.055



รูปที่ 19 Neighbour-joining tree แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อสเตรปโตมัยซีทจำนวน 21 ไอโซเลทจากเกาะอาดังกับเชื้อสเตรปโตมัยซีทสายพันธุ์มาตรฐานโดยอาศัย 16S rDNA sequences โดย bootstrap value (%) จำนวน 1,000 รอบ

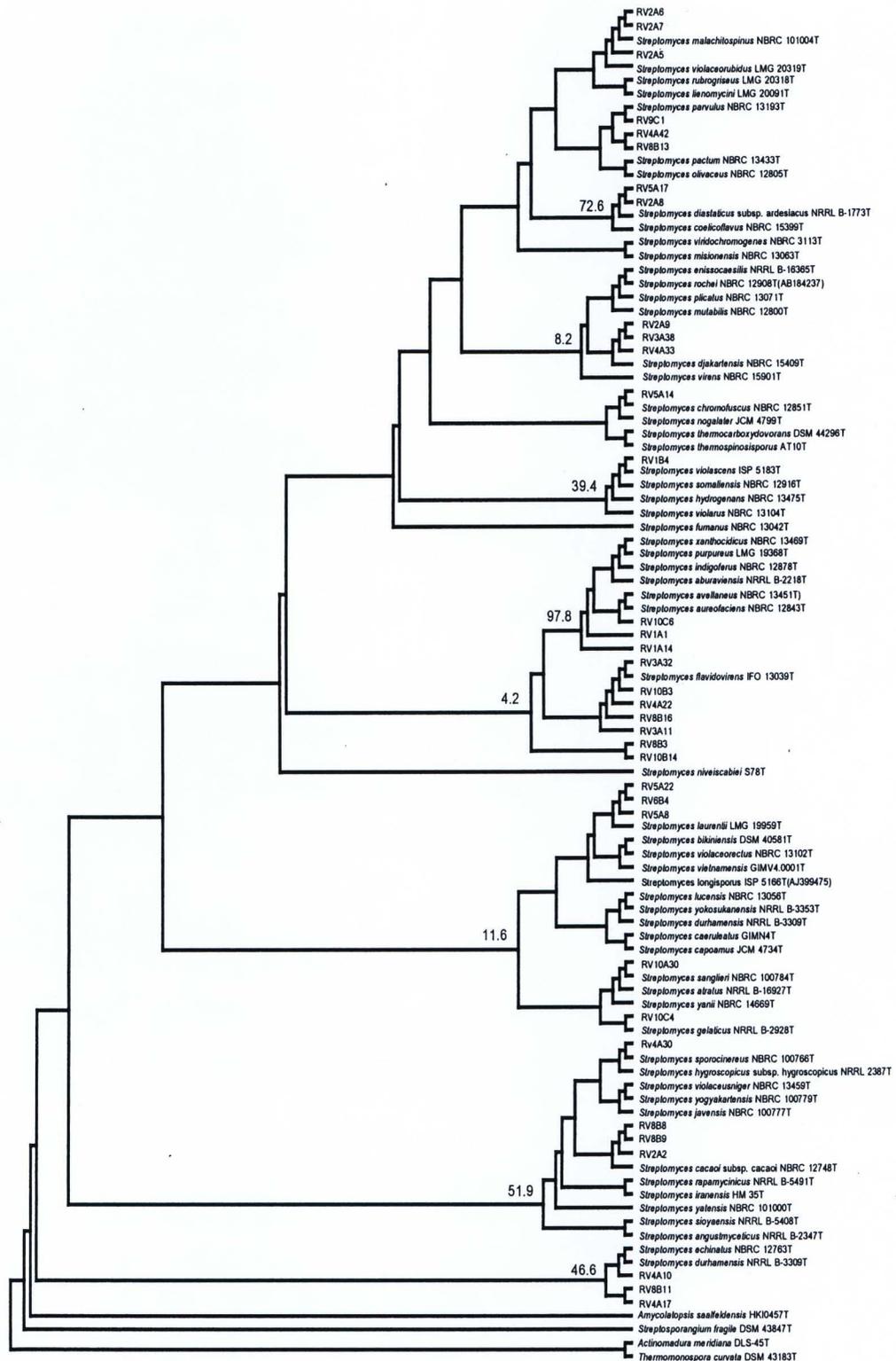
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Phydit ของเชื้อจากเกาะราวี จำนวน 35 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มได้ 14 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 9 โดยรหัสเชื้อ RV2A6 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV2A7 และ RV2A5 โดยมีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 4 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004^T, *Streptomyces violaceorubidus* LMG 20319^T, *Streptomyces rubrogriseus* LMG 20318^T และ *Streptomyces lienomycini* LMG 20091^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV9C1 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV4A42 และ RV8B13 โดยมีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces parvulus* NBRC 13193^T, *Streptomyces pactum* NBRC 13433^T และ *Streptomyces olivaceus* NBRC 12805^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV5A17 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV2A8 โดยมีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces diastaticus* subsp. *ardesiacus* NRRL B-1773^T และ *Streptomyces coelicoflavus* NBRC 15399^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV2A9 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV3A38 และ RV4A33 โดยมีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน *Streptomyces djakartensis* NBRC 15409^T รหัสเชื้อ RV5A14 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces chromofuscus* NBRC 12851^T และ *Streptomyces nogalater* JCM 4799^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV1B4 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 4 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces violascens* ISP 5183^T, *Streptomyces somaliensis* NBRC 12916^T, *Streptomyces hydrogenans* NBRC 13475^T และ *Streptomyces violarus* NBRC 13104^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV10C6 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV1A1 และ RV1A14 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 6 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces avellaneus* NBRC 13451^T, *Streptomyces aureofaciens* NBRC 12843^T, *Streptomyces aburaviensis* NRRL B-2218^T, *Streptomyces xanthocidicus* NBRC 13469^T, *Streptomyces purpureus* LMG 19368^T และ *Streptomyces indigoferus* NBRC 12878^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV3A32 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV10B3, RV4A22, RV8B16 และ RV3A11 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน *Streptomyces flavidovirens* IFO 13039^T รหัสเชื้อ RV8B3 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV10B14 รหัสเชื้อ RV5A22 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV6B4 และ RV5A8 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces laurentii* LMG 19959^T, *Streptomyces bikiniensis* DSM 40581^T, *Streptomyces violaceorectus* NBRC 13102^T, *Streptomyces vietnamensis* GIMV4.0001^T และ *Streptomyces longisporus* ISP 5166^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV10A30 สร้าง



monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV10C4 มีความใกล้เคียงกับเชื้อมาตรฐาน 4 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces sanglieri* NBRC 100784^T, *Streptomyces atratus* NRRL B-16927^T, *Streptomyces yanii* NBRC 14669^T และ *Streptomyces gelaticus* NRRL B-2928^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV4A30 มีความใกล้เคียงกับเชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces sporocinereus* NBRC 100766^T, *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *hygrosopicus* NRRL 2387^T, *Streptomyces violaceusniger* NBRC 13459^T, *Streptomyces yogyakartensis* NBRC 100779^T และ *Streptomyces javensis* NBRC 100777^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ RV8B8 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV8B9 และ RV2A2 มีความใกล้เคียงกับเชื้อมาตรฐาน *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748^T รหัสเชื้อ RV4A10 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ RV8B11 และ RV4A17 มีความใกล้เคียงกับเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces echinatus* NBRC 12763^T และ *Streptomyces durhamensis* NRRL B-3309^T ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 20

ตารางที่ 9 การจัดกลุ่มเชื้อสเตรปโตมัยซีที่จากเกาะราวีโดยอาศัยวิธี Neighbour-joining

กลุ่มที่	รหัสเชื้อ	Closest strain	% identity
1	RV2A6	<i>Streptomyces malachitospinus</i> NBRC 101004 ^T	99.864
	RV2A7		
	RV2A5		
2	RV9C1	<i>Streptomyces parvulus</i> NBRC 13193 ^T	99.712
	RV4A42		
	RV8B13		
3	RV5A17	<i>Streptomyces diastaticus</i> subsp. <i>ardesiacus</i> NRRL B-1773 ^T	100
	RV2A8		
4	RV2A9	<i>Streptomyces djakartensis</i> NBRC 15409 ^T	99.451
	RV3A38		
	RV4A33		
5	RV5A14	<i>Streptomyces chromofuscus</i> NBRC 12851 ^T	98.608
6	RV1B4	<i>Streptomyces violascens</i> ISP 5183 ^T	99.16
7	RV10C6	<i>Streptomyces avellaneus</i> NBRC 13451 ^T	99.699
	RV1A1		
	RV1A14		
8	RV3A32	<i>Streptomyces flavidovirens</i> IFO 13039 ^T	91.341
	RV10B3		
	RV4A22		
	RV8B16		
	RV3A11		
9	RV8B3	<i>Streptomyces violaceorubidus</i> LMG 20319 ^T	99.679
	RV10B14		
10	RV5A22	<i>Streptomyces laurentii</i> LMG 19959 ^T	99.86
	RV6B4		
	RV5A8		
11	RV10A30	<i>Streptomyces sanglieri</i> NBRC 100784 ^T	99.522
12	RV10C4	<i>Streptomyces gelaticus</i> NRRL B-2928 ^T	97.353
13	RV4A30	<i>Streptomyces sporocinereus</i> NBRC 100766 ^T	99.541
14	RV8B8	<i>Streptomyces cacaoi</i> subsp. <i>cacaoi</i> NBRC 12748 ^T	100
	RV8B9		
	RV2A2		
15	RV4A10	<i>Streptomyces echinatus</i> NBRC 12763 ^T	99.866
16	RV8B11	<i>Streptomyces yatensis</i> NBRC 101000 ^T	98.565
	RV4A17		



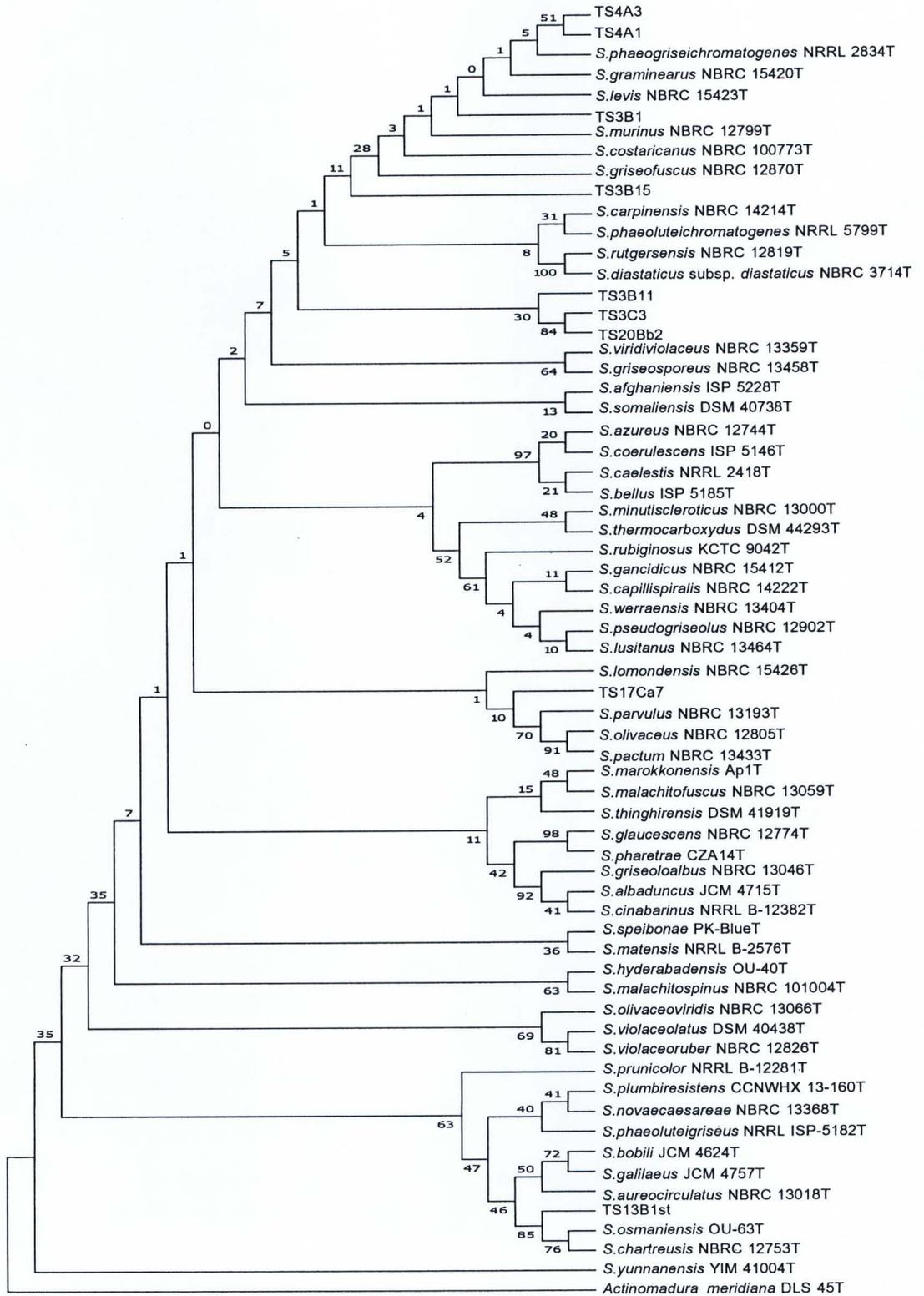
รูปที่ 20 Neighbour-joining tree แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อสเตรปโตมัยซีที่จำนวน 35 ไอโซเลทจากเกาะราวีกับเชื้อสเตรปโตมัยซีที่สายพันธุ์มาตรฐานโดยอาศัย 16S rDNA sequences โดย bootstrap value (%) คำนวณ 1,000 รอบ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Phydit ของเชื้อจากเกาะตะรุเตา จำนวน 5 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 10 โดยรหัสเชื้อ TS4A3 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ TS4A1 และรหัสเชื้อ TS3B11 สร้าง monophyletic line กับรหัสเชื้อ TS3C3 และ TS20Bb2 ตามลำดับ รหัสเชื้อ TS3B1 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 3 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces murinus* NBRC 12799^T, *Streptomyces griseofuscus* NBRC 12870^T และ *Streptomyces graminearus* NBRC 15420^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ TS3B15 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน สายพันธุ์ คือ *Streptomyces levis* NBRC 15423^T, *Streptomyces misionensis* NBRC 13063^T, *Streptomyces carpinensis* NBRC 14214^T และ *Streptomyces purpurascens* NBRC 13077^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ TS13B1ST มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces chartreusis* NBRC 12753^T และ *Streptomyces osmaniensis* OU-63^T ตามลำดับ รหัสเชื้อ TS17Ca7 มีความใกล้ชิดกับเชื้อมาตรฐาน 5 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces hyderabadensis* OU-40^T, *Streptomyces parvulus* NBRC 13193^T, *Streptomyces marokkonensis* Ap1^T, *Streptomyces malachitofuscus* NBRC 13059^T และ *Streptomyces djakartensis* NBRC 15409^T ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 21

ตารางที่ 10 การจัดกลุ่มเชื้อสเตรปโตมัยซีทจากเกาะตะรุเตาโดยอาศัยวิธี Neighbour-joining

กลุ่มที่	รหัสเชื้อ	Closest strain	Accession number	% identity
	TS17Ca7	<i>Streptomyces hyderabadensis</i> OU-40 ^T	FM998652	93.907
		<i>Streptomyces parvulus</i> NBRC 13193 ^T	AB184326	93.728
		<i>Streptomyces marokkonensis</i> Ap1 ^T	AJ965470	93.728
		<i>Streptomyces malachitofuscus</i> NBRC 13059 ^T	AB184282	93.728
		<i>Streptomyces djakartensis</i> NBRC 15409 ^T	AB184657	93.728
	TS4A3	<i>Streptomyces costaricanus</i> NBRC 100773 ^T	AB249939	89.355
		<i>Streptomyces graminearus</i> NBRC 15420 ^T	AB184667	89.355
	TS3B1	<i>Streptomyces murinus</i> NBRC 12799 ^T	AB184155	98.169
		<i>Streptomyces griseofuscus</i> NBRC 12870 ^T	AB184206	98.169
		<i>Streptomyces graminearus</i> NBRC 15420 ^T	AB184667	98.169
	TS4A1	<i>Streptomyces murinus</i> NBRC 12799 ^T	AB184155	97.5
		<i>Streptomyces griseofuscus</i> NBRC 12870 ^T	AB184206	97.5
		<i>Streptomyces graminearus</i> NBRC 15420 ^T	AB184667	97.5
		<i>Streptomyces costaricanus</i> NBRC 100773 ^T	AB249939	97.5

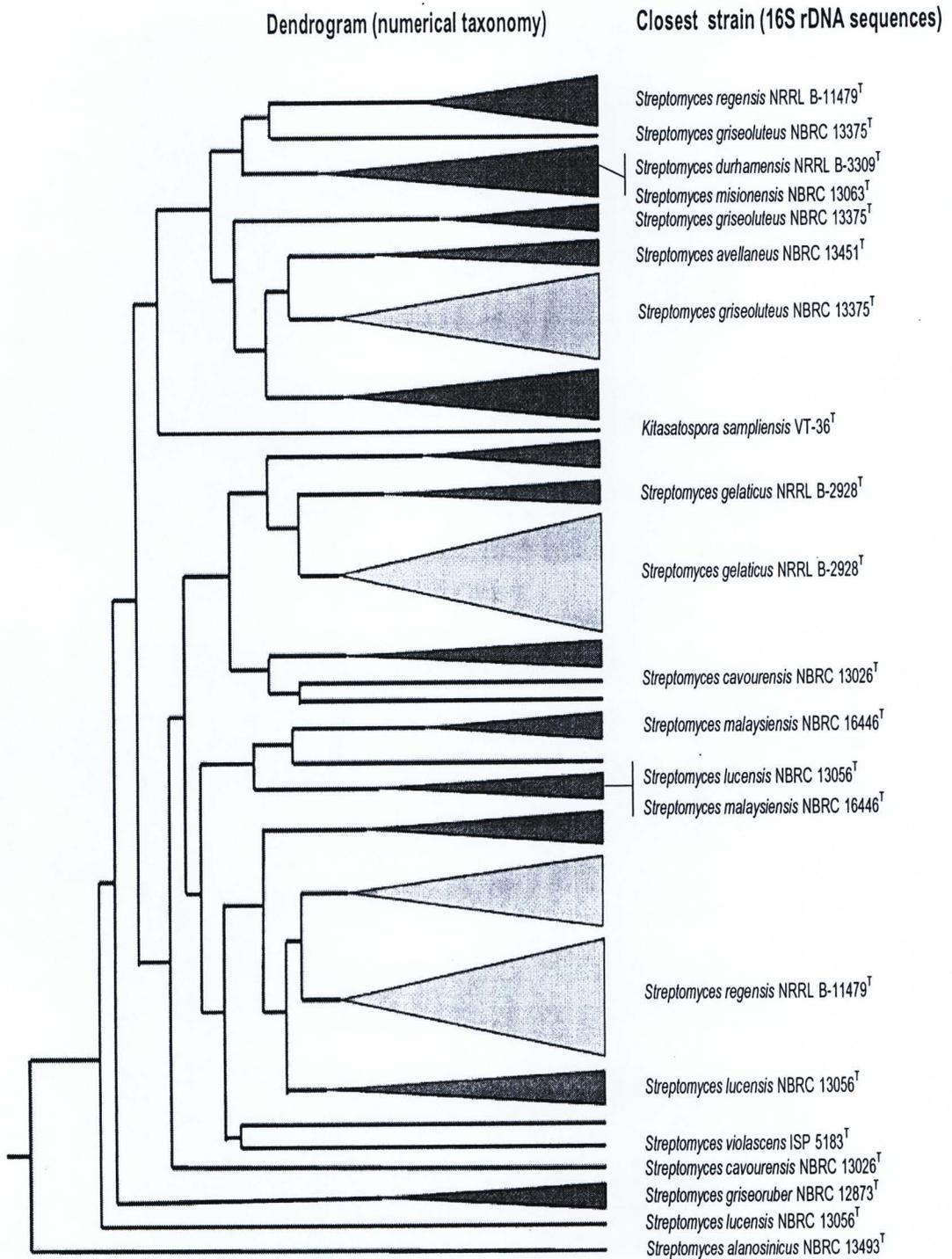
	<i>Streptomyces phaeogriseichromatogenes</i>		
	NRRL 2834 ^T	<u>AJ391813</u>	97.333
	<i>Streptomyces misionensis</i> NBRC 13063 ^T	<u>AB184285</u>	96.333
	<i>Streptomyces lanatus</i> NBRC 12787 ^T	<u>AB184845</u>	96.333
TS13B1ST	<i>Streptomyces chartreusis</i> NBRC 12753 ^T	<u>AB184839</u>	99.858
	<i>Streptomyces osmaniensis</i> OU-63 ^T	<u>FJ613126</u>	99.573
TS3B11	<i>Streptomyces levis</i> NBRC 15423 ^T	<u>AB184670</u>	96.035
	<i>Streptomyces misionensis</i> NBRC 13063 ^T	<u>AB184285</u>	95.815
	<i>Streptomyces murinus</i> NBRC 12799 ^T	<u>AB184155</u>	95.595
	<i>Streptomyces griseofuscus</i> NBRC 12870 ^T	<u>AB184206</u>	95.595
	<i>Streptomyces graminearus</i> NBRC 15420 ^T	<u>AB184667</u>	95.595
	<i>Streptomyces costaricanus</i> NBRC 100773 ^T	<u>AB249939</u>	95.595
TS3B15	<i>Streptomyces levis</i> NBRC 15423 ^T	<u>AB184670</u>	99.825
	<i>Streptomyces misionensis</i> NBRC 13063 ^T	<u>AB184285</u>	99.650
	<i>Streptomyces carpinensis</i> NBRC 14214 ^T	<u>AB184574</u>	99.299
	<i>Streptomyces purpurascens</i> NBRC 13077 ^T	<u>AB184859</u>	99.299
TS3C3	<i>Streptomyces carpinensis</i> NBRC 14214 ^T	<u>AB184574</u>	77.831
	<i>Streptomyces phaeoluteichromatogenes</i> NRRL 5799 ^T	<u>AJ391814</u>	77.590
TS20Bb2	<i>Streptomyces lucensis</i> NBRC 13056 ^T	<u>AB184280</u>	62.691
	<i>Streptomyces tricolor</i> LMG 20328 ^T	<u>AJ781380</u>	61.774
	<i>Streptomyces rameus</i> LMG 20326 ^T	<u>AJ781379</u>	61.774



รูปที่ 21 Neighbour-joining tree แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อสเตรปโตมัยซีที่จำนวน 9 ไอโซเลท จากเกาะตะรุเตากับเชื้อสเตรปโตมัยซีที่สายพันธุ์มาตรฐานโดยอาศัย 16S rDNA sequences โดย bootstrap value (%) จำนวน 1,000 รอบ

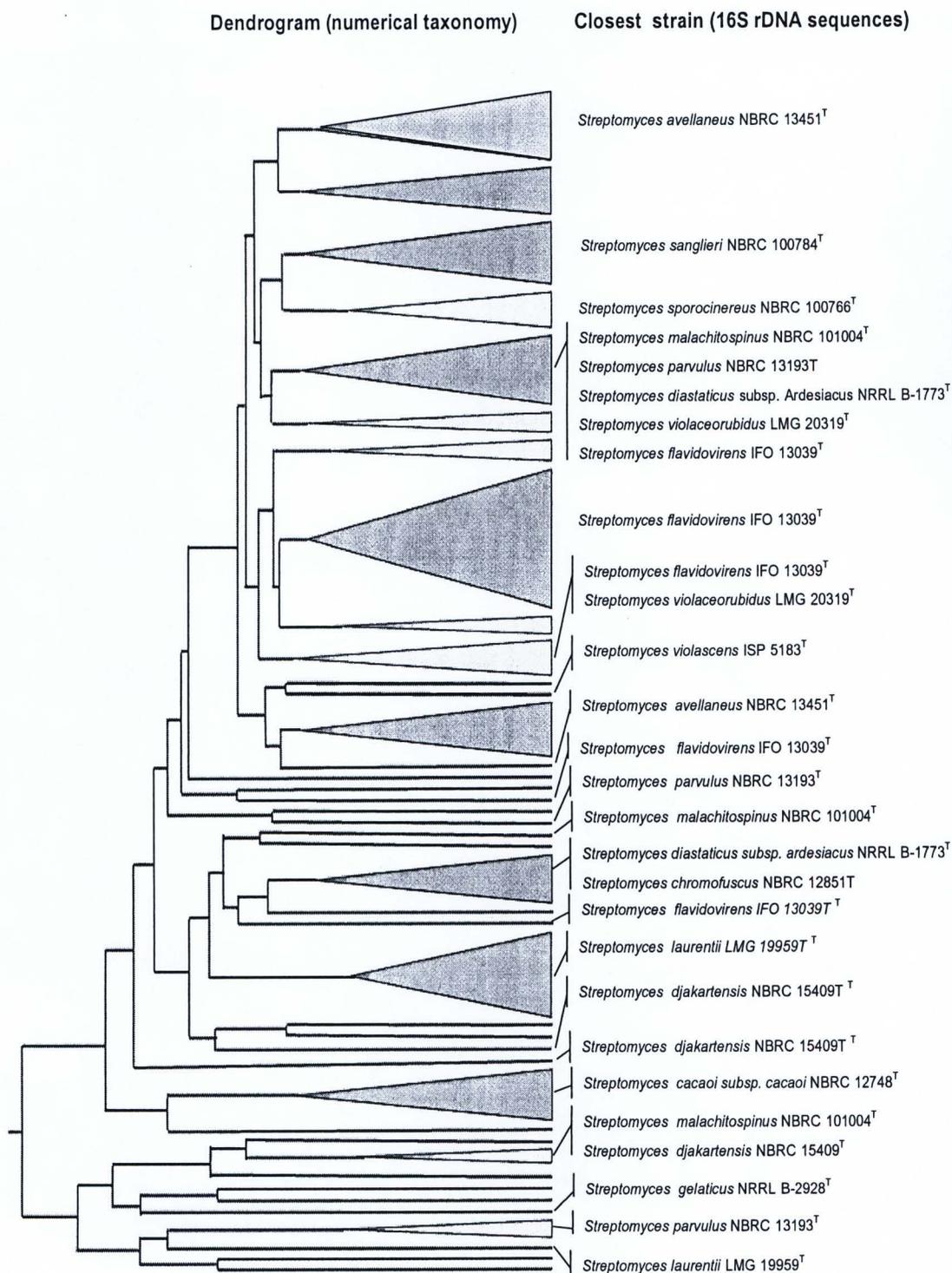
การเปรียบเทียบ numerical taxonomy และลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rDNA

นำผลจาก numerical taxonomy และ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rDNA ของเชื้อจากเกาะอาดังมาเทียบเคียงกัน พบว่า เชื้อที่มีความใกล้เคียงกับเชื้อจากเกาะอาดังมีทั้งหมด 13 สายพันธุ์ ได้แก่ *Kitasatospora sampliensis* VT-36^T, *Streptomyces alanosinicus* NBRC 13493^T, *Streptomyces avellaneus* NBRC 13451^T, *Streptomyces cavourensis* NBRC 13026^T, *Streptomyces durhamensis* NRRL B-3309^T, *Streptomyces gelaticus* NRRL B-2928^T, *Streptomyces griseoluteus* NBRC 13375^T, *Streptomyces griseoruber* NBRC 12873^T, *Streptomyces lucensis* NBRC 13056^T, *Streptomyces malaysiensis* NBRC 16446^T, *Streptomyces misionensis* NBRC 13063^T, *Streptomyces niveiscabiei* S78^T และ *Streptomyces violascens* ISP 5183^T ดังรูปที่ 22



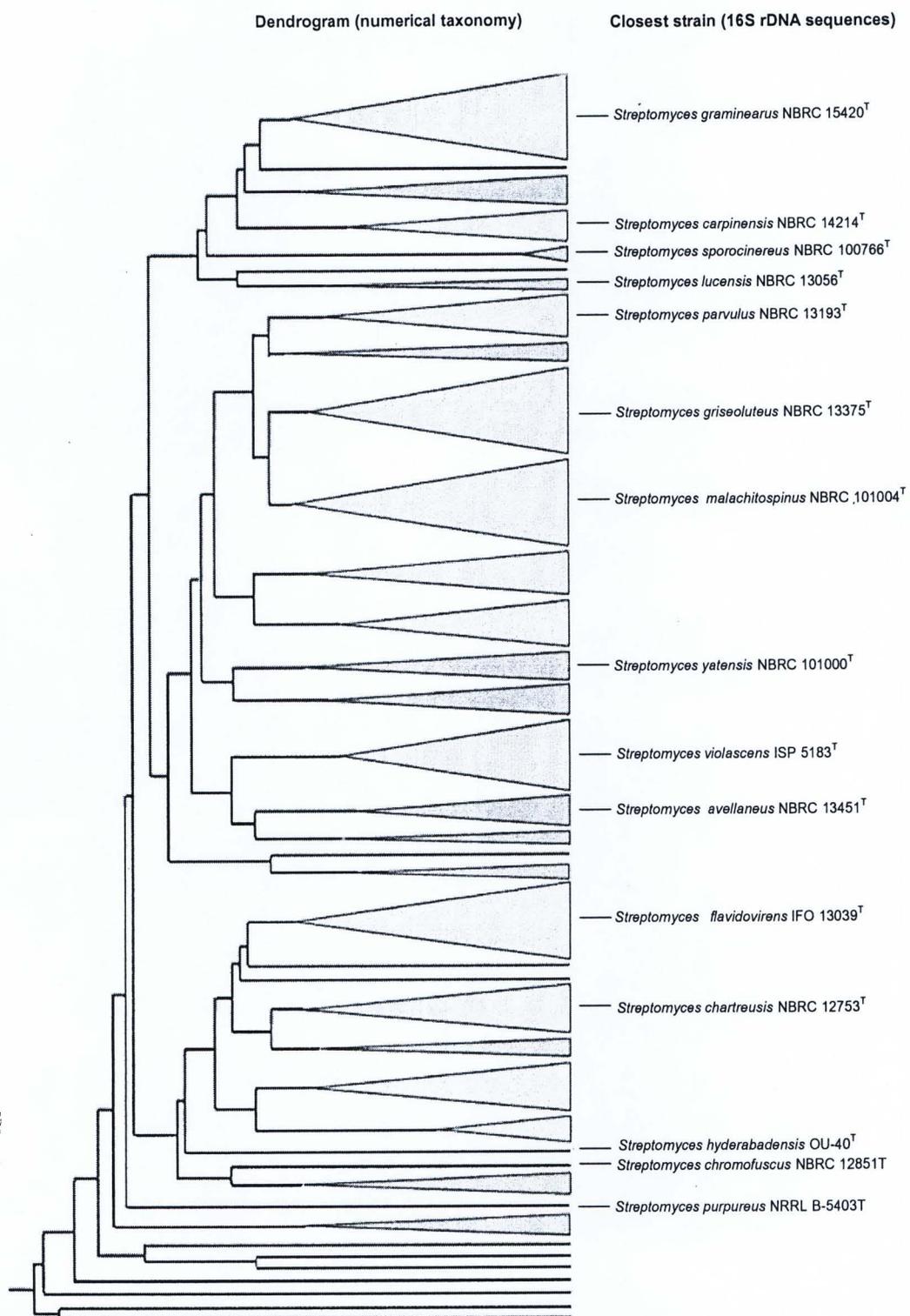
รูปที่ 22 ความสัมพันธ์ระหว่าง dendrogram (numerical taxonomy) กับ closest strain ที่ได้จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rDNA ของเชื้อจากเกาะอาดังกับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน

นำผลจาก numerical taxonomy และ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ ส่วน 16S rDNA ของเชื้อจากเกาะราวีมาเทียบเคียงกัน พบว่า เชื้อที่มีความใกล้เคียงกับ เชื้อจากเกาะราวีมีทั้งหมด 16 สายพันธุ์ ได้แก่ *Streptomyces avellaneus* NBRC 13451^T, *Streptomyces cacaoi* subsp. *cacaoi* NBRC 12748^T, *Streptomyces chromofuscus* NBRC 12851^T, *Streptomyces djakartensis* NBRC 15409^T, *Streptomyces diastaticus* subsp. *ardesiacus* NRRL B-1773^T, *Streptomyces echinatus* NBRC 12763^T, *Streptomyces flavidovirens* IFO 13039^T, *Streptomyces gelaticus* NRRL B-2928^T, *Streptomyces laurentii* LMG 19959^T, *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004^T, *Streptomyces parvulus* NBRC 13193^T, *Streptomyces sanglieri* NBRC 100784^T, *Streptomyces sporocinereus* NBRC 100766^T, *Streptomyces violaceorubidus* LMG 20319^T, *Streptomyces violascens* ISP 5183^T และ *Streptomyces yatensis* NBRC 101000^T ดังรูปที่ 23



รูปที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่าง dendrogram (numerical taxonomy) กับ closest strain ที่ได้จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rDNA ของเชื้อจากเกาะราวีกับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน

นำผลจาก numerical taxonomy และ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ ส่วน 16S rDNA ของเชื้อจากเกาะตะรุเตามาเทียบเคียงกัน พบว่า เชื้อที่มีความใกล้ชิดกับเชื้อจากเกาะตะรุเตามีทั้งหมด 15 สายพันธุ์ ได้แก่ *Streptomyces avellaneus* NBRC 13451^T, *Streptomyces chartreusis* NBRC 12753^T, *Streptomyces chromofuscus* NBRC 12851^T, *Streptomyces flavidovirens* IFO 13039^T, *Streptomyces griseoluteus* NBRC 13375^T, *Streptomyces griseoflavus* LMG 19344^T, *Streptomyces graminearus* NBRC 15420^T, *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004^T, *Streptomyces purpureus* NRRL B-5403^T, *Streptomyces parvulus* NBRC 13193^T, *Streptomyces carpinensis* NBRC 14214^T, *Streptomyces sporocinereus* NBRC 100766^T, *Streptomyces violascens* ISP 5183^T, *Streptomyces hyderabadensis* OU-40^T และ *Streptomyces yatensis* NBRC 101000^T ดังรูปที่ 24



รูปที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่าง dendrogram (numerical taxonomy) กับ closest strain ที่ได้จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rDNA ของเชื้อจากเกาะตะรุเตากับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน