

การคัดกรองและพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส
และแบคทีเรียที่ผลิตไซทานเนสจากดิน



นางสาวพัชรินทร์ บุญเยี่ยม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



SCREENING AND IDENTIFICATION OF CELLULASE-PRODUCING BACTERIA AND
XYLANASE-PRODUCING BACTERIA FROM SOIL

Miss Patcharin Boon-eiam

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University


Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

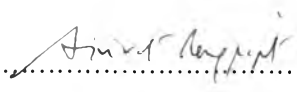
502173

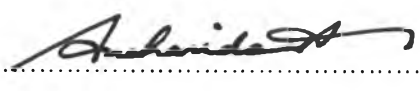
Thesis Title	SCREENING AND IDENTIFICATION OF CELLULASE-PRODUCING BACTERIA AND XYLANASE-PRODUCING BACTERIA FROM SOIL
By	Miss Patcharin Boon-eiam
Field of Study	Industrial Microbiology
Thesis principal Advisor	Associate Professor Ancharida Akaracharanya, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Associate Professor Somboon Tanasupawat, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

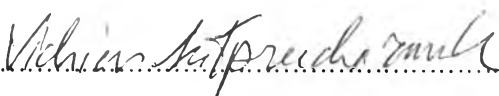

 Dean of the Faculty of Science
 (Professor Supot Hannongbua, Ph.D.)


THESIS COMMITTEE


 Chairperson
 (Associate Professor Sirirat Rengpipat, Ph.D.)


 Thesis principal Advisor
 (Associate Professor Ancharida Akaracharanya, Ph.D.)


 Thesis Co-advisor
 (Associate Professor Somboon Tanasupawat, Ph.D.)


 External Member
 (Associate Professor Vichien Kitpreechavanich, Ph.D.)


 Member
 (Associate Professor Kanchana Juntongjin, Ph.D.)

พัชรินทร์ บุญเยี่ยม : การคัดกรองและพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลสและแบคทีเรียที่ผลิตไซลานเนสจากดิน. (SCREENING AND IDENTIFICATION OF CELLULOSE-PRODUCING BACTERIA AND XYLANASE-PRODUCING BACTERIA FROM SOIL) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. อัญชริดา อัครจรัสญา, อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์, 132 หน้า.

การคัดกรองแบคทีเรียผลิตเซลลูเลสและแบคทีเรียผลิตไซลานเนสจากดินจำนวน 40 และ 45 ตัวอย่างตามลำดับ และจากปุ๋ยหมัก 10 ตัวอย่าง ได้แบคทีเรีย 51 สายพันธุ์ (ผลิตเซลลูเลส 27 สายพันธุ์ และผลิตไซลานเนส 24 สายพันธุ์) ผลการศึกษาลักษณะทางพีโนโทปีและอนุกรมวิธานเคมีรวมทั้งการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่าแบคทีเรียเหล่านี้ใกล้เคียงกับ *Cohnella* 7 สายพันธุ์, *Paenibacillus* 4 สายพันธุ์, *Bacillus* 13 สายพันธุ์, *Pseudomonas* 17 สายพันธุ์, *Acinetobacter* 9 สายพันธุ์ และ *Escherichia* 1 สายพันธุ์ ผลการศึกษาความคล้ายคลึงของลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของสายพันธุ์ที่เป็นตัวแทน พบว่า สายพันธุ์ที่ผลิตเซลลูเลส: PA4-1 (กลุ่มที่ 1) คล้ายคลึงกับ *C. thermotolerans* CCUG 47242^T (97.2%) PBS5 (กลุ่มที่ 2) T3-3 (กลุ่มที่ 3) และ T3-2 (กลุ่มที่ 4) คล้ายคลึงกับ *B. drentensis* LMG 21831^T (98.8%), *B. megaterium* IAM 13418^T (88.0%) และ *B. cereus* IAM 12605^T (88.7%) ตามลำดับ N14-2 (กลุ่มที่ 5) คล้ายคลึงกับ *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JCM 5968^T (93.0%) และ T6-4 (กลุ่มที่ 6) คล้ายคลึงกับ *Pseudomonas nitroreducens* DSM 14399^T (92.7%) สายพันธุ์ที่ผลิตไซลานเนส: PT4-2 (กลุ่มที่ 1) และ PN12-3 (กลุ่มที่ 3) คล้ายคลึงกับ *C. panacarvi* KCTC 13060^T (92.4 และ 91.2% ตามลำดับ) PN8-3 (กลุ่มที่ 2) และ PT4-2 (กลุ่มที่ 4) คล้ายคลึงกับ *C. thermotolerans* CCUG 47242^T (91.4 และ 96.4% ตามลำดับ) PN13-1 (กลุ่มที่ 5) และ T3-2X (กลุ่มที่ 6) คล้ายคลึงกับ *Paenibacillus agarexedens* DSM 1327^T (87.4 และ 95.3% ตามลำดับ) PT2-3 (กลุ่มที่ 7) คล้ายคลึงกับ *Paenibacillus popilliae* ATCC 14706^T (91.8%) PN8-2 (กลุ่มที่ 8) คล้ายคลึงกับ *B. subtilis* KCTC 3135^T (98.8%) PN1-2 (กลุ่มที่ 9) คล้ายคลึงกับ *Pseudomonas aeruginosa* MML 2212^T (97.0%) PN9-3 (กลุ่มที่ 10) คล้ายคลึงกับ *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606^T (98.4%) และ N9-2 (กลุ่มที่ 11) คล้ายคลึงกับ *Escherichia coli* KCTC 2441^T (97.6%) ผลการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเคมี พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ทดสอบของสกุล *Paenibacillus* และ *Bacillus* มีกรด meso-diaminopimelic เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ และ menaquinones เป็น MK-7 นอกจากนี้ปริมาณ G+C ของ DNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ตัวแทนของ *Cohnella* อยู่ในช่วง 52.3-64.9 โมล% การศึกษาคำนี้พบว่าสายพันธุ์ PA4-1, PT4-2, PN8-3, PN12-3 และ PT6-2 เป็นแบคทีเรียสปีชีส์ใหม่ในสกุล *Cohnella* สายพันธุ์ PN13-1, T3-2X และ PT2-3 ในสกุล *Paenibacillus* สายพันธุ์ PBS5 และ T3-2 ในสกุล *Bacillus* สายพันธุ์ N14-2, T6-4 และ PN1-2 ในสกุล *Pseudomonas* จึงจำเป็นต้องศึกษาความคล้ายคลึงของ DNA ต่อไป

จากแบคทีเรียที่สามารถสร้างเซลลูเลส และไซลานเนส 51 สายพันธุ์ พบว่า 27 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้สามารถผลิตเซลลูเลส 0-0.015 U/ml และ 24 สายพันธุ์ผลิตไซลานเนสได้ 0-0.48 U/ml และพบว่าสายพันธุ์ PB11 สร้างเอนโดกลูคาเนสสูงที่สุด มีสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แอกติวิตีที่ 60 °ซ, pH 7.5 แอกติวิตีสูงสุด (0.11 U/ml), PA4-3 สร้างบีตาไกลูโคซิเดสสูงที่สุด มีสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แอกติวิตีที่ 60 °ซ, pH 7.0 แอกติวิตีสูงสุด (0.0091 U/ml) และ PN12-2 สร้างไซลานเนสสูงที่สุด มีสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แอกติวิตีที่ 65 °ซ, pH 8.0 แอกติวิตีสูงสุด (0.51 U/ml)

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2550

ลายมือชื่อนิติกร.....พัชรินทร์ บุญเยี่ยม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

4972589123 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD : SCREENING/ CELLULASE/ XYLANASE/ BACTERIA/ SOIL

PATCHARIN BOON-EIAM: SCREENING AND IDENTIFICATION OF CELLULASE-PRODUCING BACTERIA AND XYLANASE-PRODUCING BACTERIA FROM SOIL. THESIS
PRINCIPAL ADVISOR: ASSOC. PROF. ANCHARIDA AKARACHARANYA, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMBOON TANASUPAWAT, Ph.D., 132 pp.

Screening of cellulase- and xylanase-producing bacteria from 40 and 45 soil samples, respectively and 10 biofertilizer samples, 51 bacterial strains were isolated (27 cellulase-producing and 24 xylanase producing strains). On the basis of their phenotypic and chemotaxonomic characteristics including phylogenetic analysis using 16S rRNA gene sequences, 7 strains were closed to *Cohnella*, 4 to *Paenibacillus*, 13 to *Bacillus*, 17 to *Pseudomonas*, 9 to *Acinetobacter* and 1 to *Escherichia*. The similarity of 16S rRNA gene sequence revealed that the cellulase-producing bacteria: PA4-1 (Group 1) was closely related to *Cohnella thermotolerans* CCUG 47242^T (97.2%). PBS5 (Group 2), T3-3 (Group 3) and T3-2 (Group 4) were closely related to *Bacillus drentensis* LMG 21831^T (98.8%), *B. megaterium* IAM 13418^T (88.0%) and *B. cereus* IAM 12605^T (88.7%), respectively. N14-2 (Group 5) showed 93.0% similarity to *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JCM 5968^T. T6-4 (Group 6) showed 92.7% similarity to *Pseudomonas nitroreducens* DSM 14399^T. The xylanase-producing bacteria: PT4-2 (Group 1) and PN12-3 (Group 3) showed 92.4 and 91.2% similarities to *C. panacarvi* KCTC 13060^T, respectively. PN8-3 (Group 2) and PT6-2 (Group 4) showed 91.4 and 96.4% similarities to *C. thermotolerans* CCUG 47242^T. PN13-1 (Group 5) and T3-2X (Group 6) showed 87.4 and 95.3% similarities to *Paenibacillus agarexedens* DSM 1327^T. PT2-3 (Group 7) was closely related to *Paenibacillus popilliae* ATCC 14706^T (91.8%). PN8-2 (Group 8) was closely related to *B. subtilis* KCTC 3135^T (98.8%). PN1-2 (Group 9) was closely related to *Pseudomonas aeruginosa* MML 2212^T (97.0%). PN9-3 (Group 10) showed 98.4% similarity to *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606^T. N9-2 (Group 11) was closely related to *Escherichia coli* KCTC 2441^T (97.6%). Tested strains of *Paenibacillus* and *Bacillus* contained *meso*-diaminopimelic in cell wall peptidoglycan and had 7 isoprene units (MK-7) as predominant menaquinone. The DNA G+C contents of *Cohnella* strain were 52.3-64.9 mol%. In this study, *Cohnella* strain PA4-1, PT4-2, PN8-3, PN12-3 and PT6-2, *Paenibacillus* strain PN13-1, T3-2X and PT2-3, *Bacillus* strains PBS5 and T3-2, and *Pseudomonas* strain N14-2, T6-4 and PN1-2 were new species. However, DNA-DNA hybridization study were required to confirm their taxonomic position.

Among 51 bacteria isolated, 27 cellulase-producing bacteria isolated produced cellulase 0-0.015 U/ml while the 24 xylanase-producing bacteria produced xylanase 0-0.48 U/ml. Strain PB11 produced highest endoglucanase. Optimal temperature and pH for endoglucanase activity were 60 °C, pH 7.5. Maximum endoglucanase activity was 0.11 U/ml, PA4-3 produced highest β -glucosidase. Optimal temperature and pH for β -glucosidase activity were 60 °C, pH 7.0. Maximum β -glucosidase activity was 0.0091 U/ml. Optimal temperature and pH for xylanase activity were 65 °C, pH 8.0. Maximum xylanase activity was 0.51 U/ml.

Department : Microbiology
Field of Study : Industrial Microbiology
Academic Year : 2007

Student's Signature :

Patcharin Boon-eiam

Principal Advisor's Signature :

Ancharida

Co-Advisor's Signature :

Somboon Tanasupawat

ACKNOWLEDGMENTS

The success of this research would not be realized without the support and assistance of some persons and various institutions to whom I would like to express my sincere and profound gratitude:

Associate Professor Dr. Ancharida Akaracharanya, my thesis advisor, for her excellent advice, proper scientific guidance and supervision throughout research work.

Associate Professor Dr. Somboon Tanasupawat, my thesis co-advisor, for his excellent advice and kindness throughout the research study.

Associate Professor Dr. Sirirat Rengpipat for serving as the thesis committee chairperson and Associate Professor Dr. Kanchana Juntongjin and Associate Professor Dr. Vichien Kitpreechavanich for serving as thesis committee members and their recommendations for the research.

Special thanks are given to student members in laboratory 405, all friends, and all staff members in the Department of Microbiology for their help and friendship during my study.

The last, but most important, is my sincere and deepest gratitude to my parents and everyone in my family for their great love, constant support, understanding and heartfelt encouragement extended throughout my study.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (Thai)	iv
ABSTRACT (English).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xii
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiv
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVIEW.....	4
2.1 Cellulose.....	4
2.2 Cellulase.....	5
2.3 Cellulase producing bacteria.....	6
2.4 Bacterial cellulase characteristics.....	8
2.5 Xylanase.....	10
2.6 Xylanase producing bacteria and their xylanase.....	14
2.7 Characteristics of <i>Bacillus</i> , <i>Paenibacillus</i> and <i>Cohnella</i>	17
III MATERIAL AND METHODS.....	22
3.1 Screening of cellulase and xylanase producing bacteria.....	22
3.1.1 Isolation of cellulase producing bacteria.....	22
3.1.2 Quantitative cellulase producing assay.....	23
3.1.3 Isolation of xylanase producing bacteria.....	23
3.1.4 Quantitative xylanase producing assay.....	23
3.2 Identification methods.....	24
3.2.1 Cell morphology and cultural characteristics.....	24
3.2.2 Physiological and biochemical characteristics.....	24
3.2.3 Chemotaxonomic characterization.....	26
3.2.3.1 Cell wall analysis.....	26
3.2.3.2 Quinone analysis.....	27

CHAPTER	Page
3.2.4 DNA base composition.....	27
3.2.5 16S rRNA gene sequence and phylogenetic analysis.....	28
3.3 Effect of pH and temperature on enzyme activity.....	29
3.4 Filter paper degradation.....	29
IV RESULTS AND DISCUSSION.....	30
4.1 Isolation and screening of desired bacteria.....	30
4.1.1 Screening of cellulase producing bacteria.....	30
4.1.2 Quantitative cellulase producing assay.....	34
4.1.3 Screening of xylanase producing bacteria.....	36
4.1.4 Quantitative xylanase producing assay.....	40
4.2 Identification.....	41
4.2.1 Identification of the cellulase producing bacteria.....	41
4.2.1.1 Cell morphological and cultural characteristics.....	41
4.2.1.2 Physiological and biochemical characteristic.....	41
4.2.1.3 Chemotaxonomic characteristics.....	45
4.2.1.4 16S rRNA gene sequence and phylogenetic tree analysis.....	46
4.2.2 Identification of the xylanase producing bacteria.....	56
4.2.2.1 Cell morphological and cultural characteristics.....	56
4.2.2.2 Physiological and biochemical characteristic.....	56
4.2.2.3 Chemotaxonomic characteristics.....	60
4.2.2.4 16S rRNA gene sequence and phylogenetic tree analysis.....	61
4.3 Effect of pH and temperature on enzyme activity.....	72
4.3.1 Effect of pH and temperature on cellulase activity.....	72
4.3.2 Effect of pH and temperature on xylanase activity.....	77
4.4 Synergistic filter paper degradation by mix-culture of selected strains	79
V CONCLUSIONS.....	81
REFERENCES.....	86

APPENDICES.....	95
Appendix A Instruments and chemical reagents.....	96
Appendix B Culture Media.....	98
Appendix C Reagents and Buffers.....	103
Appendix D Physiological and biochemical characteristics of isolates.....	111
Primers, 16S rDNA nucleotide sequences and DNA G+C contents.....	122
Appendix E Standard curve of glucose and xylose.....	131
BIOGRAPHY.....	132

LIST OF TABLES

Table	Page
2.1 Cellulase producing bacteria.....	7
2.2 Xylanase producing microorganisms and their xylanase characteristics.....	12
2.3 Characteristics of <i>Bacillus</i> species.....	18
2.4 Characteristics of <i>Paenibacillus</i> species.....	20
2.5 Characteristics of <i>Cohnella</i> species	21
3.1 HPLC conditions for DNA base composition analysis.....	28
4.1 Sample location, date of isolation and isolate number of cellulase-producing bacteria.....	30
4.2 Cell morphological and cultural characteristics of the isolates of cellulase-producing bacteria.....	31
4.3 Cellulolytic activity of the isolates on agar medium.....	33
4.4 Sample location, date of isolation and isolate number of xylanase-producing bacteria.....	36
4.5 Cell morphological and cultural characteristics of the isolates of xylanase-producing bacteria.....	37
4.6 Xylanase activity of the isolates on agar medium.....	39
4.7 Physiological and biochemical characteristics of the cellulase producing isolates.....	42
4.8 Acid from Carbohydrates of the cellulase producing isolates.....	44
4.9 Percentage similarities of PT4-2, PT6-2, PA4-1, PN8-3, PN12-3 and related <i>Cohnella</i> species.....	48
4.10 Percentage similarities of PBS5, PN8-2, T3-3, T3-2 and related <i>Bacillus</i> species.....	50
4.11 Percentage similarities of PN1-2, N14-2, T6-4, and related <i>Pseudomonas</i> species.....	52
4.12 Differential characteristics of PA4-1 and <i>Cohnella thermotolerans</i> CCUG 47242 ^T	53
4.13 Differential characteristics of PBS5, T3-3, T3-2 and <i>Bacillus drentensis</i> LMG 21831 ^T , <i>Bacillus megaterium</i> LMG 21831 ^T and <i>Bacillus cereus</i> IAM 12605 ^T	54
4.14 Distribution and identification of the representative strains of cellulase producing isolates..	55
4.15 Physiological and biochemical characteristics of the xylanase producing isolates.....	57
4.16 Acid from Carbohydrates of xylanase producing isolates.....	59
4.17 DNA G+C contents of the representative strains of xylanase producing isolates.....	60
4.18 Percentage similarities of PN13-1, PT2-3, T3-2X and related <i>Paenibacillus</i> species.....	63
4.19 Percentage similarities of PN9-3 and related <i>Acinetobacter</i> species	65

Table	Page
4.20 Percentage similarities of N9-2, <i>Escherichia</i> , <i>Acinetobacter</i> and <i>Pseudomonas</i> species.....	66
4.21 Differential characteristics of PT4-2, PN8-3, PN12-3, PT6-2, <i>Cohnella thermotolerans</i> CCUG 47242 ^T and <i>Cohnella panacarvi</i> KCTC 13060 ^T	68
4.22 Differential characteristics of PN13-1, T3-2X, PT2-3, <i>Paenibacillus agarexedens</i> DSM 1327 ^T and <i>Paenibacillus popilliae</i> ATCC 14706 ^T	69
4.23 Differential characteristics of PN8-2 and <i>B.subtilis</i> KCTC 3135 ^T	70
4.24 Distribution and identification of the representative strains of xylanase producing isolates..	71
4.25 Synergistic filter paper degradation by mixed-culture of selected strains.....	80

LIST OF FIGURES

xii

Figure	Page
2.1 Cellulose structure.....	5
2.2 Cellulases and their sites of action on cellulose chain.....	6
2.3 Structure of corn fiber xylan.....	10
2.4 Xylan degrading enzymes and their sites of action on xylan structure.....	11
4.1 Comparison of hydrolysis capacity (HC) value of cellulase producing bacteria isolated.....	34
4.2 Endoglucanase (A) and β -glucosidase (B) production of cellulase producing bacteria isolated.....	35
4.3 Comparison of hydrolysis capacity (HC) value of xylanase producing bacteria isolated.....	40
4.4 Xylanase production of the xylanase producing bacteria isolated.....	40
4.5 Thin layer chromatograph showing cell wall composition of representative cellulase producing strains of each 6 different groups.....	45
4.6 Neighbor-joining tree showing phylogenetic position of strains PT6-2, PN8-3, PA4-1, PT4-2, PN12-3 and related taxa.....	47
4.7 Neighbor-joining tree showing phylogenetic position of strains PBS5, PN8-2, T3-3, T3-2 and related taxa.....	49
4.8 Neighbour-joining tree showing phylogenetic position of strains PN1-2, N14-2, T6-4 and related taxa.....	51
4.9 Thin layer chromatograph showing cell wall composition of representative strains of each 11 different groups of xylanase producing isolates.....	60
4.10 Neighbor-joining tree showing phylogenetic position of strains PN13-1, T3-2X, PT2-3 and related taxa.....	62
4.11 Neighbor-joining tree showing phylogenetic position of strains PN9-3 and related taxa.....	64
4.12 Neighbor-joining tree showing phylogenetic position of strains N9-2 and related taxa.....	66
4.13 Effect of pH on endoglucanase activity at 40° C of selected strains tested. Strain PB11 (A), PA4-3 (B), PA3-3 (C), PA4-1 (D) and PD1-2(E).....	73
4.14 Effect of temperature on endoglucanase activity (at optimal pH) of selected strains tested. Strain PB11 (A), PA4-3 (B), PA3-3 (C), PA4-1 (D) and PD1-2 (E).....	74
4.15 Effect of pH on β -glucosidase activity (at 40° C) of selected strains tested. Strain PB11 (A), PA4-3 (B), PA3-3 (C), PA4-1 (D) and PD1-2 (E).....	75

Figure	Page
4.16 Effect of temperature on β -glucosidase activity (at optimal pH) of selected strains tested. Strain PB11 (A), PA4-3 (B), PA3-3 (C), PA4-1 (D) and PD1-2 (E).....	76
4.17 Effect of pH on xylanase activity (at 40° C) of selected strains tested. Strain PN12-2 (A), PT4-2 (B), PT6-2 (C), PN12-3 (D) and PN8-3 (E) and PN13-1 (F).....	78
4.18 Effect of temperature on xylanase activity (at optimal pH) of selected strains tested. Strain PN12-2 (A), PT4-2 (B), PT6-2 (C), PN12-3 (D) and PN8-3 (E) and PN13-1 (F).....	79
4.19 Filter paper degradation after 1 month. Control (A), Mixed culture of PB11, PA4-3, PA4-1, PA3-3 and PD1-2 (B).....	80

LIST OF ABBREVIATIONS

ATCC	=	American Type Culture Collection, Maryland, USA.
°C	=	Degree Celsius
CFU	=	Colony Forming Unit
CH ₂ Cl ₂	=	Dichloromethane
cm	=	centrimeter
DAP	=	Diamiopimelic acid
DDBJ	=	DNA Data Bank of Japan
DSM	=	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
EDTA	=	Disodiummethylenediamine tetraacetate
EMBL	=	European Molecular Biology Laboratory
EtoAc	=	Ethyl acetate
g	=	gram
GenBank	=	National Institute of Health genetic sequence database
µg	=	microgram
µl	=	microliter
HCl	=	hydrochloric acid
hr.	=	hour
HPLC	=	High performance liquid chromatography
ISP	=	International <i>Streptomyces</i> project
JCM	=	Japan Collection of Microorganism
M	=	Molar
MEGA	=	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
mg	=	miligram
ml	=	mililiter
<i>meso</i> -DAP	=	<i>meso</i> -Diaminopimelic acid
MeOH	=	Methanol
mm	=	milimeter
nm	=	nanometer
PBS	=	Phosphate buffer saline
PCR	=	Polymerase chain reaction

rDNA	=	Ribosomal deoxynucleic acid
rpm	=	Round per minutes
sec	=	Second
SEM	=	Scanning Electron Microscope
Si Gel	=	Silica gel
Sp.	=	Species
SSC	=	Standard sodium citrate
TLC	=	Thin layer chromatography
UV	=	Ultraviolet