รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2556

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

การจำแนกชนิดของโพรติสต์บางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยวิธีทางชีวโมเลกุล

Molecular Identification of Species of Some Protists at Samaesarn Island, Chonburi Province

อาจารย์ ดร.ชิดชัย จันทร์ตั้งสี
สุชา เฉยศิริ
รองศาสตราจารย์ ดร.มาลินี ฉัตรมงคลกุล
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2556

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

การจำแนกชนิดของโพรติสต์บางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยวิธีทางชีวโมเลกุล

Molecular Identification of Species of Some Protists at Samaesarn Island, Chonburi Province

อาจารย์ ดร.ชิดชัย จันทร์ตั้งสี
สุชา เฉยศิริ
สถาพร บุตรน้ำเพ็ชร
รองศาสตราจารย์ ดร.มาลินี ฉัตรมงคลกุล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ และขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

เลขหมู่
เลขทะเบียน 016468
วัน. เดือน. ปี 23 มี.ค. 58

บทคัดย่อ

จากการสำรวจความหลากหลายของซิลิเอตพื้นทะเลในทรายตัวอย่างที่เก็บจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนกันยายน พ.ศ. 2554 ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2556 พบซิลิเอตจำนวน 27 สกุล 60 ชนิด จากการระบุด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง ในจำนวนนี้ซิลิเอต karyorelictean เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดถึง 24 ชนิด และซิลิเอต 8 สกุล ได้แก่ *Epiclintes*, *Euplotidium*, *Prodiscocephalus*, *Protocruzia*, *Remanella*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Urostyla* พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศ แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของซิลิเอตพื้นทรายที่ยังไม่รับการสำรวจ การเพิ่มจำนวนและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนไรโบโซมอลดีเอ็นเอขนาดประมาณ 3,000–3,500 คู่เบส จากซิลิเอตที่คัดแยกออกมาทีละเซลล์ ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนไรโบโซมอลดีเอ็นเอจำนวนทั้งหมด 21 สาย จากซิลิเอต 14 ชนิด เพื่อใช้เป็นลายเซ็นโมเลกุลในการระบุชนิดของซิลิเอตที่สำรวจพบ การศึกษาครั้งนี้ไม่เพียงแต่นำร่องการประยุกต์ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการระบุชนิดซิลิเอตพื้นทะเลในทางอนุกรมวิธาน แต่ยังแสดงข้อมูลที่ครอบคลุมความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตที่อาศัยอยู่ตามหาดทรายชายฝั่งทะเลเป็นครั้งแรกของประเทศและชี้ให้เห็นถึงความต้องการถึงการสำรวจในเชิงลึกและวงกว้างถึงความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตพื้นทะเลจำพวกโพรติสต์ในประเทศไทย

คำสำคัญ: การระบุชนิด คารีโอรีลิคเทีย เทคนิคทางชีวโมเลกุล โพรติสต์ ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ อนุกรมวิธาน

Abstract

The diversity of marine benthic interstitial ciliates in sand sediments sampled from Look-Lom Beach, Samaesarn Island, Chonburi Province were investigated during September 2011 to March 2013. Sixty morphospecies belonging to 27 genera were documented using light microscopy. Karyorelictean ciliates were the most abundant group and 24 morphospecies of them were recorded. Of all genera, eight, namely *Epiclintes*, *Euplotidium*, *Prodiscocephalus*, *Protocruzia*, *Remanella*, *Trachelocerca*, *Trachelonaphis*, and *Urostyla*, were reported for the first time in Thailand, suggesting unexplored diversity of meiofaunal ciliates. Amplification and sequencing of ribosomal DNA of about 3,000–3,500 bp were conducted for individually isolated ciliate cells. A total of 21 sequences derived from 14 species were obtained and used as molecular signatures for species identification of the examined taxa. Our study not only pioneers the application of molecular tools in taxonomic identification of marine benthic interstitial ciliates but also provides the first comprehensive data on their biodiversity and underpins the need for more intensive and extensive investigations into biodiversity of marine benthic protists in Thailand.

Keywords: species identification, Karyorelictea, molecular technique, protist, ribosomal DNA, taxonomy

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิตติกรรมประกาศ .....ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ค
สารบัญเรื่อง .....ง
สารบัญตาราง.....จ
สารบัญภาพ .....ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 1
วัตถุประสงค์ของโครงการ.....3
ขอบเขตของการวิจัย 3
วิธีดำเนินการวิจัย 4
การปฏิบัติงานในภาคสนาม.....4
การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ.....4
สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล 10
ผลการศึกษา 11
ผลการระบุชนิดของซิลิเอตโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....11
ซิลิเอตกลุ่มเด่นที่พบบริเวณหาดลูกลม.....14
ซิลิเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย 16
การศึกษาตัวอย่างซิลิเอตในระดับอณูชีววิทยาด้วยรหัสดีเอ็นเอ 19
วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง 48
เอกสารอ้างอิง 50
ประวัติคณะผู้วิจัย.....53

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลของซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม..... 15
ตารางที่ 2 รายชื่อและจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ซิลิเอต..... 20

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 พื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณหาดลูกลม 4
ภาพที่ 2 อุปกรณ์ภาคสนามที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างทราย 5
ภาพที่ 3 พื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณหาดลูกลมโดยทั่วไป 12
ภาพที่ 4 พื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณหาดลูกลมบางบริเวณ 12
ภาพที่ 5 การเก็บตัวอย่างทรายบริเวณริมหาด 13
ภาพที่ 6 การเก็บตัวอย่างทรายบริเวณที่ห่างออกไปจากชายฝั่งเล็กน้อย 13
ภาพที่ 7 ทรายตัวอย่างที่เก็บ 14
ภาพที่ 8 ตัวอย่างซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม 17
ภาพที่ 9 ซิลิเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทย 18
ภาพที่ 10 *Aspidisca* sp. 20
ภาพที่ 11 *Coleps pulcher* 24
ภาพที่ 12 *Condylostoma enigmatica* 25
ภาพที่ 13 *Diophrys* sp. 1 26
ภาพที่ 14 *Diophrys* sp. 2 28
ภาพที่ 15 *Euplotes* sp. 1 31
ภาพที่ 16 *Euplotes* sp. 3 35
ภาพที่ 17 *Holosticha* sp. 3 36
ภาพที่ 18 *Mesodinium* sp. 37
ภาพที่ 19 *Trachelocerca* sp. 1 38
ภาพที่ 20 *Trachelocerca* sp. 4 40
ภาพที่ 21 *Trachelocerca* sp. 5 41
ภาพที่ 22 *Trachelocerca* sp. 7 42
ภาพที่ 23 *Uronychia* sp. 43

การจำแนกชนิดของโพรติสต์บางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยวิธีทางชีวโมเลกุล

Molecular Identification of Species of Some Protists at Samaesarn Island, Chonburi Province

ชิดชัย จันทร์ตั้งสี, สุชา เฉยศิริ, สถาพร บุตรน้ำเพ็ชร และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล
Chitchai Chantangsi, Sucha Choeisiri, Sataporn Butnampet, and Malinee Chutmongkonkul

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

คงปฏิเสธไม่ได้ว่าจุลชีพหรือสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เราไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า อาทิเช่น แบคทีเรีย โพรติสต์ เห็ดรา โปรโตซัว สาหร่ายขนาดเล็ก ล้วนเป็นส่วนหนึ่งที่มีความสำคัญยิ่งในระบบนิเวศที่เราอาศัยอยู่ ไม่ว่าจะเป็นบทบาทหน้าที่ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงาน การย่อยสลายสารอินทรีย์ การสังเคราะห์แสง ตลอดจนการส่งผ่านสารอาหารในห่วงโซ่และสายใยอาหารในระบบ สิ่งมีชีวิตเหล่านี้แต่ละชนิดแต่ละกลุ่มล้วนมีความสำคัญต่อโลกของเราไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าพืชหรือสัตว์ที่เราคุ้นเคยและพบเห็นได้ทั่วไป อย่างไรก็ตาม การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ ตลอดจนชีววิทยาแขนงต่างๆ ในจุลชีพยังพบมีจำนวนไม่มากนักเมื่อเทียบกับการศึกษางานวิจัยที่ทำในพืชและสัตว์ ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากข้อจำกัดของสิ่งมีชีวิตเองที่มีขนาดเล็กยากแก่การจำแนกและระบุชนิด ยิ่งไปกว่านั้นความเหมือนหรือคล้ายคลึงกันทางสัณฐานวิทยา รูปร่างที่แตกต่างกันของแต่ละช่วงวัยในวงชีวิต ตลอดจนความแปรผันทางสัณฐานวิทยาทั้งภายในและระหว่างชนิด สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นอุปสรรคต่อการจำแนกและระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่มีขนาดเล็กมากๆ (Chantangsi et al., 2007; Frézal and Leblois, 2008) นอกจากนี้ในการระบุชนิดที่ถูกต้องและแม่นยำบ่อยครั้งจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคอื่นเข้าช่วย เช่น การย้อมสี การตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน อีกทั้งในสิ่งมีชีวิตบางกลุ่มย่อยอาจต้องอาศัยความชำนาญของผู้เชี่ยวชาญในการจัดจำแนก อย่างไรก็ตาม ความถูกต้องในการจำแนกและระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตนับเป็นสิ่งที่มีความสำคัญยิ่งในการศึกษาเชิงพื้นฐานทางด้านชีววิทยา และการศึกษาเชิงประยุกต์ในศาสตร์แขนงอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งมีชีวิตที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจหรือที่มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับมนุษย์ มีงานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้ข้อมูลทางด้านชีววิทยาเชิงโมเลกุลช่วยในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งให้ผลที่ถูกต้องและมีความแม่นยำสูง (Chantangsi et al., 2007; Chantangsi and Leander, 2010; Hebert et al., 2003a, b) จากการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของโพรติสต์บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี พบความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตกลุ่มดังกล่าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตเป็นจำนวนมาก (ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ คณะ 2555; มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ คณะ, 2544, 2546) จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลช่วยในการศึกษาและระบุ

ชนิดโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตที่พบในบริเวณเกาะแห่งนี้ อันจะเป็นข้อมูลเชิงลึกที่จะนำไปสู่การนำสิ่งมีชีวิตที่ได้รับการจำแนกและระบุชนิดที่ถูกต้องจากพื้นที่แห่งนี้ไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาแขนงอื่นๆ เช่น เชลล์วิทยาและวิวัฒนาการต่อไป

ซิลิเอตเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในกลุ่มโพรติสต์ ส่วนใหญ่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่การดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้กลับมีความสำคัญเชื่อมโยงถึงมนุษย์และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในระบบนิเวศ ซิลิเอตมีบทบาทสำคัญในการเชื่อมโยงสายใยอาหารและสามารถพบได้ในหลายถิ่นอาศัย ไม่ว่าจะเป็นในมหาสมุทร ชายฝั่งทะเล แหล่งน้ำจืด ดิน และมอส (Lynn, 2008) ด้วยลักษณะการกระจายตัวที่หลากหลาย (Finlay et al., 1993) และการตอบสนองที่รวดเร็วต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไป (Decamp and Warren, 1998) ทำให้ซิลิเอตบางชนิดถูกนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ เพื่อบ่งบอกถึงสภาพแวดล้อมของแหล่งน้ำ คุณภาพน้ำ และการปนเปื้อนของมลพิษบางชนิด (Lynn, 2008) ซิลิเอตที่พบในแต่ละพื้นที่อาจมีความหลากหลายทางชีวภาพที่แตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมของแต่ละประเทศ ในประเทศไทยมักพบรายงานการศึกษาซิลิเอตร่วมกับการศึกษาโพรโทซัวในแหล่งน้ำจืดเป็นหลัก จากการทบทวนเอกสารพบจำนวน 20 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพ ตัวอย่างเช่น การศึกษาความหลากหลายของโพรโทซัวน้ำจืดในจังหวัดต่างๆ ของภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย พบโพรโทซัวทั้งหมด 166 สกุล 259 ชนิด ในจำนวนนี้พบเป็นซิลิเอตกว่า 95 สกุล 134 ชนิด (Charubhun and Charubhun, 2000) การศึกษาโพรโทซัวในเขื่อนขุนด่านปราการชล จังหวัดนครนายก พบซิลิเอตจำนวน 28 สกุล 44 ชนิด (Prasarnboon et al., 2007) และการศึกษาโพรโทซัวน้ำจืดจากพื้นที่ต่างๆ ในจังหวัดชลบุรี พบซิลิเอต 51 สกุล 75 ชนิด จากโพรโทซัวที่พบทั้งหมด 137 ชนิด (Matchacheep and Dumrongrojwattana, 2007)

ในทางกลับกันการศึกษาซิลิเอตที่พบในแหล่งน้ำเค็มของประเทศไทย พบรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพียง 4 รายงาน คือ (1) การสำรวจซิลิเอต บริเวณชายฝั่งทะเลของจังหวัดชลบุรี พบซิลิเอตจำนวน 17 สกุล (Tuntiwaranuruk, 2005) (2) การศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนทะเลบริเวณหาดนางรอง และหมู่เกาะจวง จังหวัดชลบุรี พบซิลิเอตที่เป็นแพลงก์ตอนทะเล 7 ชนิด (Teeramaethee, 2010) (3) การศึกษาแพลงก์ตอนบริเวณป่าชายเลนปลูกและชายฝั่งทะเลของเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี พบซิลิเอต *Tintinnopsis* เป็นกลุ่มเด่นในป่าชายเลน (Pumeyuth, 2011) และ (4) การศึกษาความหลากหลายของโพรติสต์บริเวณหาดทรายของเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี พบซิลิเอต 15 ชนิด โดยงานศึกษานี้เป็นรายงานครั้งแรกเกี่ยวกับซิลิเอตที่พบบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลของประเทศไทย (Choeisiri et al., 2011)

จากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมา แสดงให้เห็นว่าในประเทศไทยยังขาดการศึกษาซิลิเอตที่พบในแหล่งน้ำเค็ม โดยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในแหล่งน้ำจืด มีเพียงส่วนน้อยที่ศึกษาในแหล่งน้ำเค็ม ขณะเดียวกันข้อมูลที่พบเฉพาะในจังหวัดชลบุรียังมีรายงานในระดับสกุลหรือในระดับชนิดของซิลิเอตในแหล่งน้ำเค็มน้อยกว่าในแหล่งน้ำจืดหลายเท่า ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตที่พบในระบบนิเวศหาดทรายชายฝั่งทะเล บริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการศึกษาข้อมูลในระดับอณูชีววิทยา เพื่อหารหัสดีเอ็นเอใช้ในการระบุอัตลักษณ์ของซิลิเอตบางชนิดที่ตรวจพบ อันจะเป็นการเสริมข้อมูลซิลิเอตน้ำเค็มที่มีอยู่เดิม และเป็นส่วนหนึ่งในการเติมเต็มช่องว่างการศึกษาซิลิเอตในประเทศไทยที่ก่อนหน้านี้พบรายงานส่วนใหญ่เฉพาะในแหล่งน้ำจืด โดยงานวิจัยนี้เป็นงานสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตและการใช้ข้อมูลทางชีวโมเลกุลในการระบุชนิดของโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตบางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและสัณฐานวิทยาของโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตที่พบบริเวณพื้นที่เกาะแสมสารเป็นเวลา 1 ปี (ตั้งแต่ตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556) และหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้รหัสดีเอ็นเอของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA) ที่สามารถใช้เป็นรหัสดีเอ็นเอในการระบุชนิดของโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตบางชนิดที่พบในพื้นที่นี้ได้

วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการศึกษาวิจัยโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตที่พบบริเวณพื้นที่เกาะแสมสารเป็นเวลา 1 ปี (ตั้งแต่ตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556)

1. การปฏิบัติงานในภาคสนาม

พื้นที่เก็บตัวอย่างคือ บริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยตัวหาดเป็นหาดทรายที่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ ในพิกัดละติจูด 12°35'2.04"N และลองจิจูด 100°56'46.92"E (ภาพที่ 1) การเก็บตัวอย่างเริ่มต้นด้วยการสังเกตและบันทึกตำแหน่งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างทรายที่ยังมีความชื้นหรือน้ำทะเลท่วมถึงด้วยข้อนพรวนลงในกล่องพลาสติกที่มีความจุปริมาตร 750 มิลลิลิตร จำนวน 12 กล่อง ต่อการเก็บตัวอย่างในแต่ละครั้ง (ภาพที่ 2) เนื่องจากไม่มีการรักษาสภาพตัวอย่าง ดังนั้นจึงนำตัวอย่างกลับมาศึกษาในห้องปฏิบัติการหลังการเก็บทันที

ภาพที่ 1 แสดงสภาพพื้นที่เก็บตัวอย่างโดยรวมของบริเวณหาดลูกลม ที่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลักๆ คือ การศึกษาในระดับสัณฐานวิทยาและการศึกษาในระดับโมเลกุล

ก) การศึกษาสัณฐานวิทยา เพื่อตรวจจำแนกกลุ่มสกุลและชนิดของตัวอย่างโพรติสต์ โดยโพรติสต์ที่ดำรงชีวิตแทรกอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทรายจะทำการสกัดโดยวิธีของ Uhlig (1964) โดยใส่ทรายตัวอย่างลงในกระบอกพลาสติกปลายเปิดที่หุ้มปลายด้านล่างด้วยผ้าตาข่ายขนาดตา 60 ไมครอน วางจานเพาะเชื้อที่บรรจุน้ำทะเลกรองไว้ใต้กระบอกพลาสติกบริเวณที่ติดกับผ้าตาข่าย จากนั้นใส่น้ำแข็งที่ทำจากน้ำทะเลกรองลงบนทรายตัวอย่าง ทิ้งไว้จนน้ำแข็งละลาย โพรติสต์ชนิดต่างๆ ที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทรายจะเคลื่อนที่ลงมาสะสมในน้ำทะเลกรองภายในจานเพาะเชื้อ จากนั้นจึงนำตัวอย่างที่ได้ไปทำการศึกษาในขั้นต่อไป

ภาพที่ 2 แสดงอุปกรณ์ภาคสนามที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างทราย ได้แก่ กล่องพลาสติกและช้อนพรวน

I) ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของตัวอย่างโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง (light compound microscope) Olympus รุ่น BH-2 และแบบเลนส์ประกอบหัวกลับ (inverted compound microscope) ZIESS รุ่น Observer.A1 ที่ต่อกับกล้องถ่ายภาพ Canon รุ่น EOS 7D ที่กำลังขยายต่างๆ พร้อมบันทึกภาพนิ่ง ภาพเคลื่อนไหว และวัดขนาดของตัวอย่างที่พบ ในกรณีที่พบตัวอย่างโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตจำนวนมาก สามารถศึกษาตัวอย่างได้โดยใช้ปิเปตต์แก้วดูดและหยดน้ำตัวอย่างลงบนกระจกสไลด์โดยตรง 1-2 หยด จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่เคลือบยกขอบทั้ง 4 ด้านด้วยวาสลีนบางๆ เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำตัวอย่าง บันทึกภาพตัวอย่างด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิตอลที่ต่อเข้ากับกล้องจุลทรรศน์ ในกรณีที่พบตัวอย่างโพรติสต์จำนวนไม่มากนักต้องทำการแยกเซลล์ที่ต้องการศึกษาออกมาทีละเซลล์ โดยใช้ปิเปตต์แก้วลนไฟดึงปลายให้แหลม จากนั้นใช้ปิเปตต์ปลายแหลมนี้ทำการแยกเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบหัวกลับ วางลงบนสไลด์ที่มีหยดน้ำทะเลอยู่ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์และศึกษาตัวอย่างตามวิธีที่กล่าวไว้ข้างต้น ตัวอย่างสดบางส่วนที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงสามารถศึกษาได้โดยตรงด้วยกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบหัวกลับ พร้อมบันทึกภาพนิ่ง ภาพเคลื่อนไหว และวัดขนาดตัวอย่างเพื่อใช้ประกอบในการระบุสกุลและชนิดของตัวอย่างต่อไป โดยการระบุชนิดและจัดจำแนกกลุ่มของซิลิเอตด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา จะใช้คู่มือใช้ในการจำแนกชนิดของ Carey (1992) และ Lynn (2003, 2008) ส่วนในกรณีที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ถึงระดับชนิดจะทำการระบุเป็นระดับสกุล

ข) การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในระดับโมเลกุลของตัวอย่างโพรติสต์กลุ่มซิลิเอต

I) การสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างโพรติสต์ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ MasterPure™ Complete DNA & RNA Purifiction Kit ของ EPICENTRE (Madison, WI, USA, Cat. No. MC85200) ซึ่งมีขั้นตอนการสกัด ดังนี้

(1) ทำการแยกเซลล์โพรติสต์ที่พบและต้องการศึกษาเป็นเซลล์ๆ โดยใช้ปิเปตต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วลนไฟดึงปลายจนแหลมเล็ก

(2) ล้างเซลล์ที่แยกออกมาในน้ำทะเลที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง

(3) ดูดเซลล์ที่ล้างสะอาดแล้วใส่ลงใน 1X Tissue and Cell lysis buffer ปริมาตร 300 ไมโครลิตร

(4) ในกรณีของซิลิเอตที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ จะใช้ปิเปตต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วดูดเซลล์ที่เลี้ยงไว้ในหลอดเพาะเลี้ยงฝาเกลียวประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

(5) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วที่เหมาะสมเป็นเวลา 5 นาที แล้วเทส่วนน้ำใสทิ้ง

(6) เติม 2X Tissue and Cell lysis buffer ปริมาตร 150 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อไปให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 300 ไมโครลิตร

(7) ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างในข้อ (3) และ (6) ในขั้นตอนต่อไป ดังนี้

(8) เติมเอนไซม์ proteinase K 50 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในหลอดตัวอย่าง และผสมให้เข้ากันบนเครื่อง vortex mixer

(9) นำหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่มีตัวอย่างไปตั้งบนเครื่องให้ความร้อน (heat block) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทำการเขย่าทุกๆ 5 นาที

(10) นำหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่มีตัวอย่างไปแช่บนน้ำแข็ง เพื่อลดอุณหภูมิเป็นเวลา 3-5 นาที

(11) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดสารละลาย MPC protein precipitation ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่มีตัวอย่าง เขย่าอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาอย่างน้อย 10 วินาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

(12) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดส่วนน้ำใสไปใส่หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรหลอดใหม่ ทิ้งส่วนตะกอนก้นหลอดไป

(13) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูด isopropanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่มีตัวอย่างอยู่ กลับหลอดขึ้นลง 30-40 ครั้ง เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ

(14) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทส่วนน้ำใสทิ้ง เหลือส่วนของดีเอ็นเอที่ตกตะกอนไว้ก้นหลอด

(15) เติมเอทานอลความเข้มข้น 75% ลงในหลอดตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ แล้วใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำใสออก ทำซ้ำ 2 ครั้ง

(16) นำหลอดตัวอย่างไปตั้งโดยเปิดฝาไว้บนเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเอทานอลในหลอดระเหยออกไปจนหมด

(17) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ทีอี (Tris EDTA buffer: TE) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร เพื่อละลายตะกอนดีเอ็นเอ นำตัวอย่างดีเอ็นเอไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นต่อไป

II) การทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส (polymerase chain reaction: PCR) หรือพีซีอาร์

(1) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นแม่พิมพ์ (template) สำหรับนำไปเพิ่มปริมาณไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA) สำหรับใช้ในการระบุชนิดของโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตที่สกัดดีเอ็นเอไว้ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ One *Taq*® Hot Start DNA Polymerase (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA, Cat. No. M0481S) ไพรเมอร์ (primer) และสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม ดังต่อไปนี้

[1] One *Taq*® Standard Reaction Buffer (5x)	5	ไมโครลิตร
[2] dNTP mix (10 mM each)	0.5	ไมโครลิตร

[3] Forward primer: SSU-RPF1 (5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3')
ความเข้มข้น 10 µM 0.5 ไมโครลิตร
[4] Reverse primer: 28S-1316R (5'-ATTCGGCAGGTGAGTTGTTACAC-3')
ความเข้มข้น 10 µM 0.5 ไมโครลิตร
[5] ดีเอ็นเอจากข้อ (17) 2 ไมโครลิตร
[6] One *Taq*® Hot Start DNA Polymerase (5,000 U/ml) 0.125 ไมโครลิตร
[7] molecular grade water 16.375 ไมโครลิตร
ปริมาตรสุดท้าย 25 ไมโครลิตร

นำหลอดพีซีอาร์ที่เติมสารเรียบร้อยแล้วใส่ลงในเครื่อง thermal cycler ที่ตั้งโปรแกรมดังนี้

โปรแกรม NB-57:

	Heat	95 °C	เป็นเวลา	5	นาที
40 รอบ	Denaturation step	95 °C	เป็นเวลา	30	วินาที
	Annealing step	57 °C	เป็นเวลา	1	นาที
	Extension step	68 °C	เป็นเวลา	3:45	นาที
	Final extension step	68 °C	เป็นเวลา	10	นาที
	Hold step	20 °C	จนกว่าจะนำปฏิกิริยาออกจากเครื่อง		

โดยยีนและช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ถูกเพิ่มจำนวนขึ้นมา คือ บริเวณ ribosomal DNA (rDNA) ที่ประกอบด้วย ยีน 18S หรือ SSU rDNA (small subunit ribosomal DNA), ช่วงลำดับ ITS1 (internal transcribed spacer 1), ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 (internal transcribed spacer 2) และยีน 28S หรือ LSU rDNA (large subunit ribosomal DNA) ซึ่งมีขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จากไพรเมอร์คู่นี้ประมาณ 3,000–3,500 คู่เบส (base pair: bp) ขึ้นอยู่กับชนิดของซิลิเอต

(2) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จากข้อ (1) โดยการสกัดแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (agarose gel electrophoresis) ใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 0.8% และสารละลายบัฟเฟอร์ทีเออี (Tris Acetate EDTA buffer: TAE) พร้อม molecular marker ชนิด 1 kb plus (Invitrogen, Grand Island, NY, USA, Cat. No. 10787-018) โดยตั้งค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที

(3) หลังจากครบ 30 นาที นำแผ่นเจลไปย้อมในสารละลาย ethidium bromide เป็นเวลา 10 นาที

(4) ล้างสารละลาย ethidium bromide ส่วนเกินออกโดยนำแผ่นเจลไปแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นตรวจดูผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ภายใต้แสงยูวี พร้อมบันทึกภาพ

(5) ทำปฏิกิริยาซ้ำในข้อ (1)-(4) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีความเข้มข้นมากพอในการศึกษาขั้นต่อไป เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของตัวอย่างโพรติสต์ที่คัดแยกได้

(6) นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ทั้งหมดจากข้อ (5) ไปสกัดแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 0.8% และสารละลายบัฟเฟอร์ทีเออีตามข้อ (2) จากนั้นนำแผ่นเจลไปย้อมตามข้อ (3)-(4)

(7) นำแผ่นเจลไปตรวจดูภายใต้แสงยูวีและใช้ใบมีดที่สะอาดตัดเอาเฉพาะเจลในส่วนที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1.5 มิลลิลิตร

III) การทำความสะอาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วย UltraClean™ 15 DNA Purification Kit (MO BIO Laboratories, Inc., CA, USA, Cat. No. 12100-300)

(1) เติม ULTRA SALT ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่มีแถบเจลดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการบรรจุอยู่ ผสมให้เข้ากัน

(2) นำหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ไปตั้งบนเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 10-15 นาที ทิ้งไว้ให้เจลละลายจนหมด นำหลอดออกจากเครื่องให้ความร้อน ทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

(3) ใส่ ULTRA BIND ปริมาตร 7 ไมโครลิตร ลงในสารละลายเจลข้อ (2) ผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดไปมาเป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที

(4) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนน้ำใสทิ้งและเก็บส่วนตะกอน ULTRA BIND ที่ก้นหลอดไว้

(5) เติม ULTRA WASH ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ดูดสารขึ้นลงให้ ULTRA WASH ผสมกับ ULTRA BIND จนไม่เหลือส่วนของ ULTRA BIND เป็นตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด

(6) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนน้ำใสทิ้งและเก็บส่วนตะกอน ULTRA BIND ที่ก้นหลอดไว้

(7) ทำซ้ำในข้อ (5) และ (6)

(8) นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดส่วน ULTRA WASH ที่เหลืออยู่ในหลอดออกจนหมด

(9) นำหลอดตัวอย่างไปตั้งโดยเปิดฝาไว้บนเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง ULTRA WASH ในหลอดระเหยออกไปจนหมด

(10) ละลายดีเอ็นเอออกจาก ULTRA BIND โดยเติมน้ำ ultrapure water ปริมาตร 10-15 ไมโครลิตร ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันให้เข้ากับ ULTRA BIND จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 นาที

(11) นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดส่วนน้ำใสที่มีดีเอ็นเอละลายอยู่ไปใส่ในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์หลอดใหม่ ระวังอย่าให้ส่วนของ ULTRA BIND ดูดติดมากับส่วนน้ำใส

(12) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์หรือทำปฏิกิริยาในขั้นตอนต่อไป

IV) ทำการโคลนผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริสุทธิ์ที่ได้ในข้อ III (12) ด้วย StrataClone™ PCR Cloning Kit (Stratagene, La Jolla, CA, USA) ใส่ลงในแบคทีเรีย Strata Clone™ *Escherichia coli* competent cells ตามวิธีที่ระบุไว้ในชุดโคลนนิ่ง ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

(1) เติมสารต่อไปนี้ลงในหลอดขนาด 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ

- StrataClone™ Cloning Buffer 3 ไมโครลิตร
- ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ทำความสะอาดแล้วของยีน rDNA 2 ไมโครลิตร
- StrataClone™ Vector Mix 1 ไมโครลิตร

ผสมให้เข้ากันเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

(2) เมื่อครบ 5 นาทีแล้ว นำหลอดปฏิกิริยาไปตั้งบนน้ำแข็ง

(3) นำหลอด StrataClone SoloPack competent cells ออกจากตู้ให้ความเย็น -80 องศาเซลเซียส และวางบนน้ำแข็งจนละลาย

(4) ดูดปฏิกิริยาในข้อ (1) เติมลงใน StrataClone SoloPack competent cells ที่ละลายแล้ว ผสมให้เข้ากันเบาๆ ตั้งปฏิกิริยาไว้บนน้ำแข็งเป็นเวลา 20 นาที

(5) heat shock ปฏิกิริยาในข้อ (4) ใน water bath ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที

(6) หลังจาก 45 วินาที นำหลอดตัวอย่างไปวางบนน้ำแข็งทันที และทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาที

(7) เติมสารละลาย SOC ที่อุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ลงในหลอดตัวอย่าง 250 ไมโครลิตร

(8) นำหลอดตัวอย่างไปเขย่าในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

(9) หลังจาก 1 ชั่วโมง ดูดปฏิกิริยาในข้อ (8) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (LB agar) ซึ่งมียาปฏิชีวนะ ampicillin อยู่และเติม X-gal 2% ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ก่อนหน้านี้ เกลี่ย (spread) ปฏิกิริยาให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ

(10) ทำซ้ำในข้อ (9) กับปฏิกิริยาที่เหลืออยู่ในจานเพาะเชื้อใหม่

(11) บ่มจานเพาะเชื้อทั้งสองในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 18 ชั่วโมง

(12) ตรวจดูโคโลนีขาวและโคโลนีน้ำเงินหลังจากบ่มปฏิกิริยาไว้ข้ามคืน โดยโคโลนีของแบคทีเรียที่มีสีขาวจะมีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปอยู่

V) ทำการคัดเลือกและเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* ที่มีพลาสมิดซึ่งมีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ต้องการใน LB broth เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง จากนั้นสกัดพลาสมิดที่มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ต้องการด้วย FavorPrep™ Plasmid Extraction Kit (Favorgen Biotech Corporation, Taiwan) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

(1) เทสารแขวนลอยของแบคทีเรียที่เลี้ยงใน LB broth เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

(2) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1-2 นาที เทส่วนน้ำใสทิ้งและเก็บส่วนตะกอนเซลล์แบคทีเรียที่ก้นหลอดไว้

(3) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD1 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอด จากนั้นเขย่าให้ตะกอนเซลล์แบคทีเรียผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD1 ด้วยเครื่องเขย่า (vortex mixer)

(4) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD2 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอด จากนั้นกลับหลอดไปมาเบาๆ 5 ครั้ง เพื่อสลายเซลล์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 2 นาที

(5) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD3 ปริมาตร 350 ไมโครลิตร ลงในหลอด จากนั้นกลับหลอดไปมาเบาๆ 5 ครั้ง ทันที

(6) นำหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีปฏิกิริยาไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

(7) ประกอบ FAPD column เข้ากับ collection tube

(8) หลังจากปั่นหลอดปฏิกิริยาแล้ว ดูดส่วนน้ำใสใส่ลงใน FAPD column ที่วางอยู่ใน collection tube แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เทสารที่ไหลผ่าน FAPD column ที่อยู่ใน collection tube ทิ้ง

(9) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ W1 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงใน FAPD column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เทสารที่ไหลผ่าน FAPD column ที่อยู่ใน collection tube ทิ้ง

(10) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ Wash ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ลงใน FAPD column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เทสารที่ไหลผ่าน FAPD column ที่อยู่ใน collection tube ทิ้ง

(11) ปั่นเหวี่ยง FAPD column ที่ความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้ column แห้งสนิท

(12) ประกอบ FAPD column เข้ากับหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงใน FAPD column ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที

(13) ปั่นเหวี่ยง FAPD column ที่ความเร็ว 13,300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อชะดีเอ็นเอจาก column

(14) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

VI) การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) ของยีนที่ต้องการด้วยไพรเมอร์ที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิคการหาลำดับนิวคลีไทด์อัตโนมัติแบบธรรมดา (normal automatic sequencing) ด้วยเครื่อง 3730XL DNA sequencer โดยทำการส่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรสหรือผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ทำความสะอาดแล้วไปยังบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลี เพื่อทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

VII) การตรวจดูลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ด้วยโปรแกรม FinchTV (©PerkinElmer, Inc.) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้โดยนำไปเทียบเบื้องต้นกับฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้ โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (http://blast.ncbi.nlm. nih.gov/Blast.cgi) เพื่อช่วยในการจัดจำแนกและระบุชนิดของโพรติสต์ที่สำรวจพบ ร่วมกับการตรวจทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

VIII) การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อหาความหลากหลายด้วยโปรแกรม MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) เวอร์ชั่น 5 (Tamura et al., 2011) และ BioEdit (Hall, 1999)

สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

ภาคสนาม: บริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยตัวหาดเป็นหาดทรายที่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะแสมสาร

ห้องปฏิบัติการ: ห้องปฏิบัติการ Protistology Laboratory ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษา

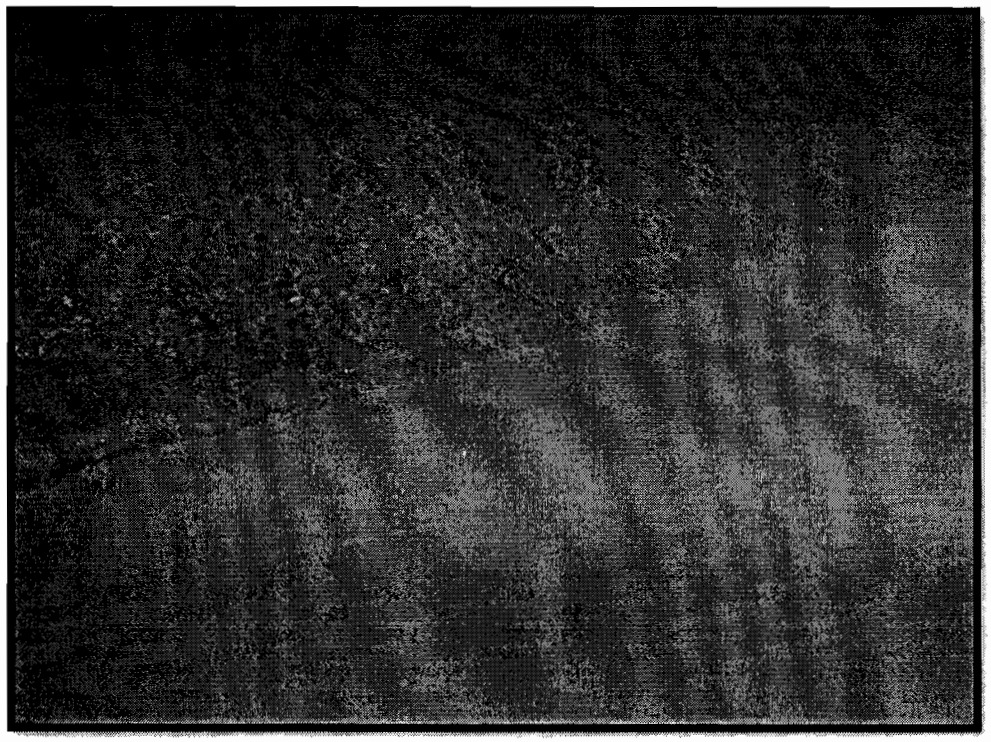
ผลงานวิจัยที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติมในเชิงลึกจากการเก็บตัวอย่างจำนวนทั้งหมด 7 ครั้ง ในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา ได้แก่

ครั้งที่ 1 วันที่ 24 มีนาคม พ.ศ. 2554 **ครั้งที่ 2** วันที่ 21 พฤษภาคม พ.ศ. 2554
ครั้งที่ 3 วันที่ 10 กันยายน พ.ศ. 2554 **ครั้งที่ 4** วันที่ 21 มกราคม พ.ศ. 2555
ครั้งที่ 5 วันที่ 28 มีนาคม พ.ศ. 2555 **ครั้งที่ 6** วันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2555
ครั้งที่ 7 วันที่ 21 กรกฎาคม พ.ศ. 2555

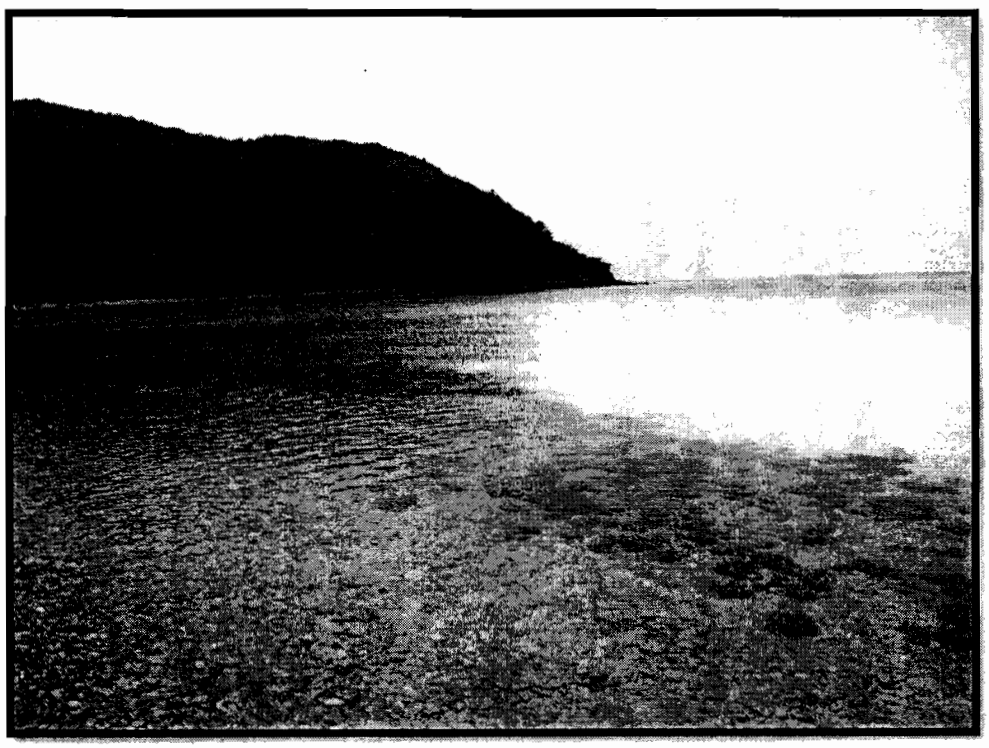
และทำการเก็บตัวอย่างทรายเพิ่มเติมอีก 2 ครั้ง ในวันที่ 20 มกราคม 2556 และ 16 มีนาคม 2556 เพื่อใช้เป็นข้อมูลช่วยในการระบุชนิดและหารหัสดีเอ็นเอของซิลิเอตที่พบในทรายชายฝั่งทะเล บริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า ซิลิเอตเป็นโพรติสต์กลุ่มที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงมากในพื้นที่บริเวณหาดลูกลม (ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และคณะ, 2555) ดังนั้น งานวิจัยชิ้นนี้จะมุ่งเน้นการศึกษาความหลากหลาย และการจำแนกชนิดของซิลิเอตโดยวิธีทางชีวโมเลกุลที่พบบริเวณหาดลูกลมเป็นหลัก โดยทำการจัดจำแนกกลุ่มและระบุชนิดของซิลิเอต โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาอ้างอิงจากหนังสือ Marine interstitial ciliates (Carey, 1992) ตลอดจนเอกสารและรูปวิธานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยใช้ลักษณะของรูปร่าง, ขนาด, จำนวนและตำแหน่งของนิวเคลียส, ร่องปาก และการจัดเรียงตัวของซิเลีย ฯลฯ ในการจัดจำแนก ในกรณีที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ถึงระดับชนิดจะทำการระบุเป็นระดับสกุล

1. ผลการระบุชนิดของซิลิเอตโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการศึกษาพื้นที่หาดทรายชายฝั่งทะเล บริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร (ภาพที่ 3-7) และทำการเก็บทรายตัวอย่างเพื่อนำมาสกัดโพรติสต์ออกจากทรายด้วยวิธีสกัดไล่โดยใช้น้ำแข็งของ Uhlig (1964) การส่องตรวจตัวอย่างโพรติสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบหัวกลับโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบซิลิเอตที่สามารถระบุชนิดและจัดจำแนกได้จำนวน 27 สกุล 60 ชนิด ได้แก่ *Aspidisca* sp., *Blepharisma* sp., *Coleps pulcher* Spiegel, 1926, *Coleps tesselatus* Kahl, 1930, *Coleps* sp., *Condylostoma arenarium* Spiegel, 1926, *Condylostoma enigmatica* Dragesco, 1954, *Diophrys* sp., *Epiclintes* sp., *Euplotes* sp. 1-3, *Euplotidium* sp., *Frontonia* sp., *Holosticha* sp. 1-2, *Kentrophoros* sp. 1-4, *Litonotus* sp., *Loxodes* sp., *Loxophyllum* sp. 1-3, *Mesodinium* sp., *Oxytricha* sp., *Pleuronema* sp., *Prodiscocephalus* sp., *Protocruzia* sp., *Remanella* sp. 1-3, *Spathidium* sp., *Stichotricha* sp., *Trachelocerca* sp. 1-6, *Tracheloraphis* sp. 1-3, *Uronema* sp., *Uronychia* sp., *Urostyla* sp., ซิลิเอต hypotrich 3 ชนิด, ซิลิเอต karyorelictean 7 ชนิด และซิลิเอตที่ยังไม่สามารถจัดจำแนกได้ 3 ชนิด (ภาพที่ 8 และ 9) โดย ซิลิเอตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทรายที่พบ สามารถจัดจำแนกได้เป็น 2 ไฟลัมย่อย (subphylum), 6 ชั้น (class), 6 ชั้นย่อย (subclass), 15 อันดับ (order), 22 วงศ์ (family) และ 27 สกุล (genus) (ตารางที่ 1)



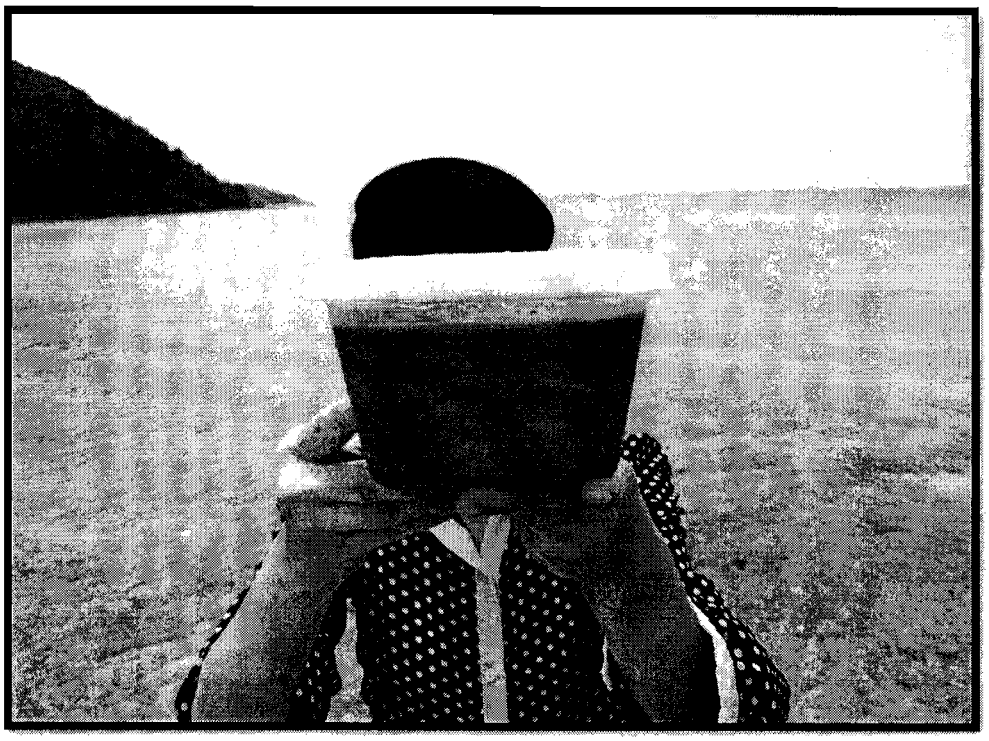
ภาพที่ 3 แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณหาดลูกลมโดยทั่วไป น้ำทะเลบริเวณหาดนี้มีสีเขียวอมฟ้าค่อนข้างใส ลักษณะทรายที่พบมีสีค่อนข้างขาวเนื้อละเอียด



ภาพที่ 4 แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณหาดลูกลมบางบริเวณที่มีหินก้อนกรวดขนาดใหญ่และมีสาหร่ายขึ้นคลุมตามชายหาด

ภาพที่ 5 แสดงการเก็บตัวอย่างทรายบริเวณริมหาด โดยใช้ช้อนพรวนตักทรายบริเวณผิวที่มีน้ำทะเลท่วมถึงใส่ลงในกล่องพลาสติก

ภาพที่ 6 แสดงการเก็บตัวอย่างทรายบริเวณที่ห่างออกไปจากชายฝั่งเล็กน้อย โดยการดำน้ำและใช้ช้อนพรวนตักทรายบริเวณพื้นท้องทะเลใส่ลงในกล่องพลาสติก จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าทรายในบริเวณนี้เมื่อเทียบกับบริเวณชายฝั่งจะพบซิลิเอตและโพรติสต์อื่นๆ อาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก



ภาพที่ 7 แสดงทรายตัวอย่างที่เก็บในบริเวณที่ห่างออกไปจากชายฝั่งเล็กน้อย ซึ่งทรายบริเวณดังกล่าวจะมีสีดำแตกต่างจากทรายที่อยู่บริเวณริมหาด

สำหรับซิลิเอตในสกุล *Euplotes*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Loxophyllum*, *Remanella*, *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* รวมทั้งซิลิเอต hypotrich และ karyorelictean ในเบื้องต้นพบความแตกต่างทางสัณฐาน แต่ยังไม่สามารถทำการระบุชนิดที่แน่ชัดได้ เนื่องจากยังขาดข้อมูลในบางส่วนที่จำเป็นต่อการระบุชนิด หรือพบลักษณะบางอย่างที่แตกต่างจากคำบรรยายในรูปวิธาน (Carey, 1992) อย่างไรก็ตาม การที่จะเสริมข้อมูลในระดับชนิดให้เพียงพอนั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เช่น การย้อมสี protargol (Dieckmann, 1995) การศึกษาสัณฐานในระดับ ultrastructure (Raikov and Kovaleva, 1995) และการใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา (Chantangsi et al., 2007) เป็นต้น เข้ามาช่วยยืนยันข้อมูลที่แน่ชัดในระดับชนิดของซิลิเอตทะเลเหล่านี้ต่อไป

2. ซิลิเอตกลุ่มเด่นที่พบบริเวณหาดลูกลม

จากการสำรวจซิลิเอตทะเลที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทรายพบว่า ซิลิเอต karyorelictean เป็นซิลิเอตกลุ่มเด่นที่พบบริเวณหาดลูกลม โดยพบจำนวน 24 ชนิด ได้แก่ *Kentrophoros* sp. 1-4, *Loxodes* sp., *Remanella* sp. 1-3, *Trachelocerca* sp. 1-6, *Tracheloraphis* sp. 1-3 และ karyorelicteans 1-7 ซึ่งซิลิเอตกลุ่มดังกล่าวมีรายงานพบถิ่นอาศัยตามทรายและดินตะกอน บริเวณชายฝั่งทะเล หรือบริเวณแหล่งน้ำกร่อยปากแม่น้ำ (Lynn, 2008) โดยลักษณะเด่นของซิลิเอตกลุ่มนี้คือ ตัวเซลล์มีความยาวและยืดหยุ่นสูง ซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่พบในซิลิเอตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย (Lynn, 2008) ขณะเดียวกันการที่เซลล์ของซิลิเอตกลุ่มนี้มีความยืดหยุ่นค่อนข้างสูง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้หลายลักษณะแม้ในชนิดเดียวกัน (ภาพที่ 9ฉ, ช)

ตารางที่ 1 การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลของซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร (อ้างอิงตาม Lynn, 2008)

Phylum Ciliophora	
Subphylum Intramacronucleata	
Class Litostomatea Subclass Haptoria Order Cyclotrichiida Family Mesodiniidae Genus ***Mesodinium*** Order Haptorida Family Spathidiidae Genus ***Spathidium*** Order Pleurostomatida Family Litonotidae Genus ***Litonotus*** Genus ***Loxophyllum***	**Class Spirotrichea** Subclass Hypotrichia Order Euplotida Family Aspidiscidae Genus ***Aspidisca*** Family Discocephalidae Genus ***Prodiscocephalus*** Family Euplotidae Genus ***Euplotes*** Family Gastrocirrhidae Genus ***Euplotidium*** Family Uronychiidae Genus ***Diophrys*** Genus ***Uronychia*** Order Stichotrichida Family Spirofilidae Genus ***Stichotricha*** Subclass Protocruziidia Order Protocruziida Family Protocruziidae Genus ***Protocruzia*** Subclass Stichotrichia Order Sporadotrichida Family Oxytrichidae Genus ***Oxytricha*** Order Urostylida Family Epiclintidae Genus ***Epiclintes*** Family Urostylidae Genus ***Holosticha*** Genus ***Urostyla***
Class Oligohymenophorea Subclass Peniculia Order Peniculida Family Frontoniidae Genus ***Frontonia*** Subclass Scuticociliatia Order Philasterida Family Uronematidae Genus ***Uronema*** Order Pleuronematida Family Pleuronematidae Genus ***Pleuronema***	
Class Prostomatea Order Prorodontida Family Colepidae Genus ***Coleps***	

I2679742

ตารางที่ 1 (ต่อ) การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลของซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร (อ้างอิงตาม Lynn, 2008)

Phylum Ciliophora	
Subphylum Postciliodesmatophora	
Class Heterotrichea	**Class Karyorelictea**
Order Heterotrichida	Order Protostomatida
Family Blepharismidae	Family Kentrophoridae
Genus ***Blepharisma***	Genus ***Kentrophoros***
Family Condylostomatidae	Family Trachelocercidae
Genus ***Condylostoma***	Genus ***Trachelocerca***
	Genus ***Tracheloraphis***
	Order Loxodida
	Family Loxodidae
	Genus ***Loxodes***
	Genus ***Remanella***

ดังนั้นการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกในการจัดจำแนกและระบุชนิดจึงค่อนข้างทำได้ยาก และยังต้องการการศึกษาในระดับลึกต่อไป อย่างไรก็ตามการค้นพบซิลิเอตในสกุล *Kentrophoros* (ภาพที่ 8ฒ, ณ) ที่มีความบอบบางค่อนข้างสูงในการศึกษาครั้งนี้ เป็นเครื่องชี้วัดที่ดีว่าซิลิเอตในทรายสามารถอยู่รอดในระหว่างขั้นตอนการเก็บและสกัดตัวอย่างได้ (Carey, 1992)

3. ซิลิเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย

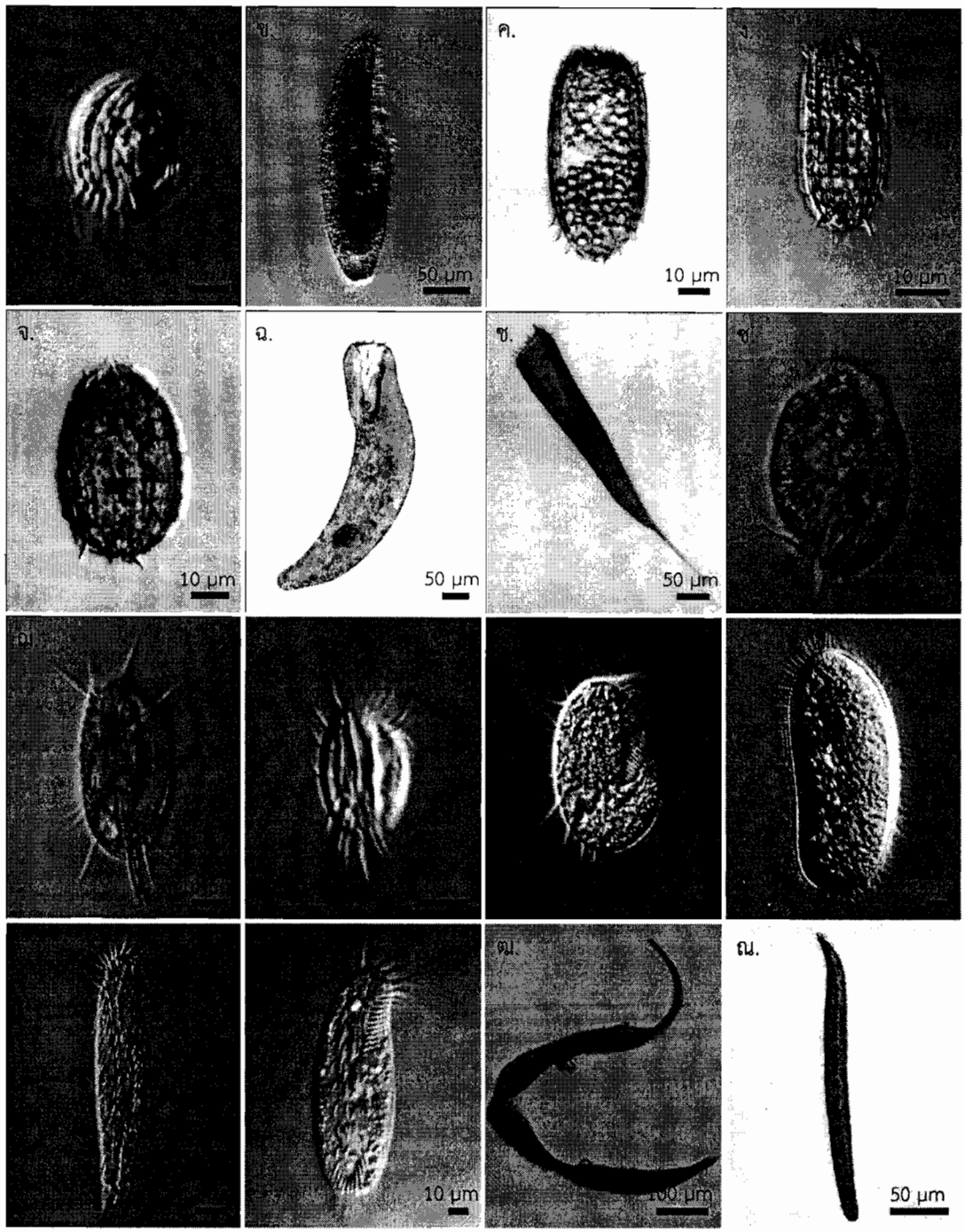
จากการทบทวนเอกสารและการศึกษาในครั้งนี้ พบซิลิเอต 8 สกุล ที่มีรายงานการค้นพบเป็นครั้งแรกของประเทศไทย คือ *Epiclintes*, *Euplotidium*, *Prodiscocephalus*, *Protocruzia*, *Remanella*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Urostyla* โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของแต่ละสกุล อ้างอิงตาม Carey (1992)

3.1 *Epiclintes* (Stein, 1862) Carey and Tatchell, 1983

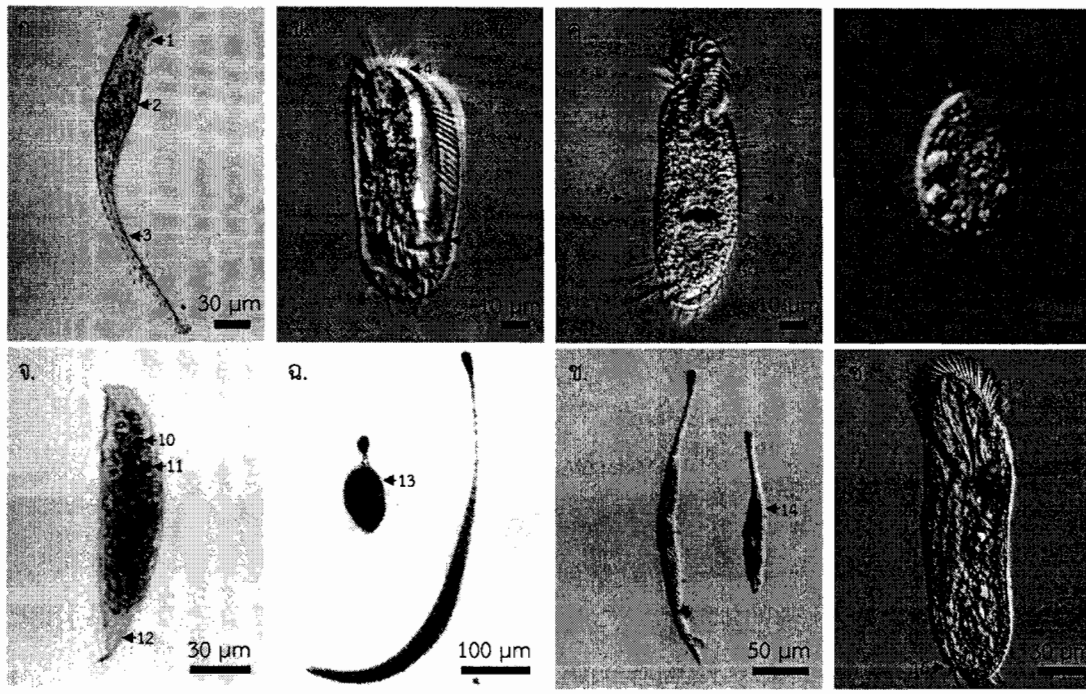
เป็นซิลิเอตสกุลที่พบได้ทั่วไปในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย เซลล์มีความยืดหยุ่นและหดตัวได้มาก และมีรูปร่างยืดยาว ตัวเซลล์มีลักษณะแบ่งเป็นสามส่วน คือ 1) ส่วนหัวที่มีลักษณะแบน 2) บริเวณกลางลำตัวที่ขยายออก และ 3) ส่วนหางที่ยาวแบน ปากเซลล์จะอยู่บริเวณส่วนหัว (ภาพที่ 9ก) โดย *Epiclintes* sp. ที่พบมีขนาดยาวประมาณ 300 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 35 ไมโครเมตร

3.2 *Euplotidium* Noland, 1937

เป็นซิลิเอตที่มีรูปร่างกลมรีหรือยืดยาว บริเวณปากเซลล์กว้างเป็นรูปสามเหลี่ยม (ภาพที่ 9ข) โดย *Euplotidium* sp. ที่พบมีขนาดยาวประมาณ 90 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 42 ไมโครเมตร



ภาพที่ 8 ตัวอย่างซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร ก. *Aspidisca* sp., ข. *Blepharisma* sp., ค. *Coleps pulcher* Spiegel, 1926, ง. *Coleps tesselatus* Kahl, 1930, จ. *Coleps* sp., ฉ. *Condylostoma arenarium* Spiegel, 1926, ช. *Condylostoma enigmatica* Dragesco, 1954, ซ. *Diophrys* sp., ฌ.-ฎ. *Euplotes* sp. 1-3, ฏ. *Frontonia* sp., ฐ.-ฑ. *Holosticha* sp. 1-2, ฒ. *Kentrophoros* sp. 1 และ ณ. *Kentrophoros* sp. 2



ภาพที่ 9 ลักษณะเด่นของซิลิเอตทั้ง 8 สกุล ที่พบเป็นครั้งแรกของประเทศไทย ก. *Epiclintes* ตัวเซลล์แบ่งออกเป็นสามส่วน คือ ส่วนหัวที่มีลักษณะแบน (ลูกศรที่ 1), บริเวณกลางลำตัวที่ขยายออก (ลูกศรที่ 2) และส่วนหางที่ยาวแบน (ลูกศรที่ 3), ข. *Euplotidium* เซลล์มีปากเซลล์กว้างรูปสามเหลี่ยม โดยบริเวณช่วงปากแสดงด้วยระยะระหว่างลูกศรที่ 4 ถึงลูกศรที่ 5, ค. *Prodiscocephalus* เซลล์มีบริเวณที่คล้ายส่วนหัว (ลูกศรที่ 6) มีกระจุกซิเลียทางด้านข้าง (marginal cirri) ทั้งด้านขวา (ลูกศรที่ 7) และด้านซ้าย (ลูกศรที่ 8) ของตัวเซลล์ โดยกระจุกซิเลียจะแผ่ออกไม่ลู่ไปทางด้านหลังของเซลล์, ง. *Protocruzia* เซลล์รูปร่างกลมรี มีปากอยู่ทางด้านบนสุดของตัวเซลล์ (ลูกศรที่ 9), จ. *Remanella* มีถุง Müller's bodies (ลูกศรที่ 10, 11) หลายถุง และบริเวณส่วนหางที่ยาวแหลม (ลูกศรที่ 12), ฉ. *Trachelocerca* เซลล์มีรูปร่างยาวคล้ายหนอน ในขณะหดตัวมีลักษณะคล้ายขวดก้นป่อง (ลูกศรที่ 13), ช. *Tracheloraphis* เซลล์มีรูปร่างยาวคล้ายหนอน ด้านขวาแสดงเซลล์ขณะที่กำลังหดตัว (ลูกศรที่ 14) และ ซ. *Urostyla* ตัวเซลล์รูปร่างรียาว เซลล์ด้านบน (ลูกศรที่ 15) และด้านท้าย (ลูกศรที่ 16) มน

3.3 *Prodiscocephalus* Jankowski, 1979

เซลล์รูปร่างยืดยาวและมีส่วนเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายหัวเห็นได้ชัดเจน มีแถวของแถบซิเลีย (membranelle) ขนาดใหญ่อยู่ทางส่วนปลายด้านบน และมีกระจุกซิเลียโดยรอบ (marginal cirri) ทั้งด้านขวาและด้านซ้าย ซึ่งกระจุกซิเลียดังกล่าวจะไม่ลู่ไปทางด้านหลัง (ภาพที่ 9ค) โดย *Prodiscocephalus* sp. ที่พบมีขนาดเซลล์ยาวประมาณ 102 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 30 ไมโครเมตร

3.4 *Protocruzia* de Faria, da Cunha and Pinto, 1922

ซิลิเอตรูปร่างกลมถึงรี ปากเซลล์อยู่ทางด้านบนสุดของตัวเซลล์ และยาวอย่างน้อยหนึ่งในสามของเซลล์ (ภาพที่ 9ง) โดย *Protocruzia* sp. ที่พบมีขนาดเซลล์ยาวประมาณ 39 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 25 ไมโครเมตร

3.5 *Remanella* Kahl, 1993

เป็นสกุลซิลิเอตที่บอบบาง ซึ่งจำเพาะกับถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย เซลล์มีถุง (vesicle) ที่เรียกว่า "Müller's bodies" จำนวนหนึ่งหรือหลายถุง ส่วนปลายเซลล์มีลักษณะรูปร่างคล้ายหางชัดเจน (ภาพที่ 9 จ) โดย *Remanella* sp. 1-3 ที่พบมีขนาดเซลล์ยาวประมาณ 142, 119 และ 367 ไมโครเมตร ตามลำดับ

3.6 *Trachelocerca* Ehrenberg, 1833

เซลล์มีรูปร่างยาวคล้ายหนอน เวลาหดตัวอาจมีลักษณะคล้ายขวดก้นป่อง เซลล์ขณะหดตัวไม่บิดเป็นเกลียว ซิเลียอาจหยุดเคลื่อนที่และมีลักษณะคล้ายหนาม และพองออกคล้ายลูกปัดขนาดเล็ก เนื่องจากการพับตัวของบริเวณผิวเซลล์ เซลล์มีปากขนาดเล็กอยู่ทางด้านปลายสุดของส่วนหัวที่เห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 9ฉ) โดย *Trachelocerca* sp. 1, 4 และ 6 มีความยาวเซลล์ขณะยืดตัวประมาณ 731, 633 และ 943 ไมโครเมตร ตามลำดับ ส่วน *Trachelocerca* sp. 2, 3 และ 5 มีความยาวเซลล์ขณะหดตัวประมาณ 235, 187 และ 509 ไมโครเมตร ตามลำดับ

3.7 *Tracheloraphis* Dragesco, 1960

เป็นสกุลที่พบเฉพาะในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย การปรับตัวที่เข้ากับการดำรงชีวิตในถิ่นอาศัยลักษณะนี้ โดยทั่วไปเซลล์มีรูปร่างคล้ายหนอน หลายชนิดมีรูปร่างยาวเรียวหรือคล้ายเส้นด้าย ส่วนใหญ่มีความไวต่อการสัมผัส และมีหลายชนิดที่สามารถหดตัวสั้นลง เมื่อเทียบกับความยาวเซลล์ตามปกติ เซลล์ไม่มีคอนแทรคไทล์แวคิวโอล (contractile vacuole) (ภาพที่ 9ช) โดย *Tracheloraphis* sp. 1-3 มีความยาวเซลล์ขณะกำลังหดตัวประมาณ 279, 368 และ 301 ไมโครเมตร ตามลำดับ

3.8 *Urostyla* Ehrenberg, 1830

เซลล์รูปร่างรีไปจนถึงรียาว ซิลิเอตในสกุลนี้มีความโดดเด่น โดยมีแถวกระจุกซิเลียทางด้านท้อง (ventral rows of cirri) ของตัวเซลล์จำนวนมาก (ภาพที่ 9ซ) โดย *Urostyla* sp. ที่พบมีความยาวเซลล์ประมาณ 188-203 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 40-55 ไมโครเมตร

4. การศึกษาตัวอย่างซิลิเอตในระดับอณูชีววิทยาด้วยรหัสดีเอ็นเอ

การศึกษาตัวอย่างในระดับอณูชีววิทยา โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างซิลิเอตที่พบและทดลองเพิ่มจำนวนยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจสำหรับใช้ในการระบุชนิดโดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส และหาสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม พบว่า ไพรเมอร์ 2 ตัว ได้แก่ SSU-RPF1 และ 28S-1316R ตลอดจนสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่ทดลองสามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณยีนบริเวณ rDNA (ribosomal DNA) ขนาดประมาณ 3,000–3,500 คู่เบสได้ ครอบคลุมตั้งแต่ยีน 18S, ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 ไปจนถึงช่วงต้นของยีน 28S ของ rDNA

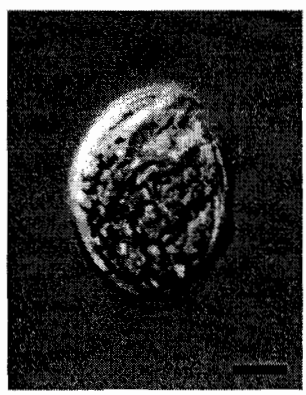
โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 21 สาย ซึ่งสามารถใช้ในการระบุอัตลักษณ์ของซิลิเอตจำนวน 14 ชนิด (ตารางที่ 2) ดังนี้

ตารางที่ 2 รายชื่อและจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร

ลำดับ	ซิลิเอต	จำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ (สาย)
1.	*Aspidisca* sp.	3
2.	*Coleps pulcher*	1
3.	*Condylostoma enigmatica*	1
4.	*Diophrys* sp. 1	1
5.	*Diophrys* sp. 2	2
6.	*Euplotes* sp. 1	3
7.	*Euplotes* sp. 3	1
8.	*Holosticha* sp. 3	1
9.	*Mesodinium* sp.	1
10.	*Trachelocerca* sp. 1	1
11.	*Trachelocerca* sp. 4	1
12.	*Trachelocerca* sp. 5	1
13.	*Trachelocerca* sp. 7	1
14.	*Uronychia* sp.	3

4.1 *Aspidisca* sp.

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Aspidisca* sp. (ภาพที่ 10) จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(5-5), 2(5-6) และ 3(5-7) แต่ละสายมีความยาว 3,349 คู่เบส โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกับสายบนแสดงสัญลักษณ์เป็นจุด (.) และตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกับสายบนแสดงเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างไปของสายนั้นๆ



ภาพที่ 10 *Aspidisca* sp. (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
1(5-5)  ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTACACGCT TGTCTAAAGG ACTAAGCCAT GCATGTCTGA  60
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  60
3(5-7)  .......... .........C .......... .......... .......... ..........  60
```

```
1(5-5)  GTTTAAATCT GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTACAT GATATTTGAG  120
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  120
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  120

1(5-5)  GTTTAAATGG ATATCCGTGG TAACCCAGAG CTAATACATG CGTTACGTCC GACTTTTTGG  180
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  180
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  180

1(5-5)  AAGGACAGTA TTTATTAGAT TAAATCAAAG CTTCGTGCTT TTGATGATTC ACAATAACTG  240
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  240
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  240

1(5-5)  ATCGAATCGT TGGCCGTGCC GACGATGAAT CATCCAAGTT TCTGCCCCTT CACGCTAGAT  300
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300

1(5-5)  GGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCATTTAC GGGTAACGGG GGATTAGGGT TCGACACCGG  360
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  360
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  360

1(5-5)  AGAGGGAGCC TGAGAAACGG CTACCACATC TACGGAAGGC AGCAGGCGCG TAAATTACCC  420
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  420
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  420

1(5-5)  AATCCTAATT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACAGACC GGGAATTCCC GGGTTTGCAA  480
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  480
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  480

1(5-5)  TGGGCCTAAT TTACACTAAT TTGCTAGGAT CCATTGGAGG GCAAGTCTGG TGCCAGCAGC  540
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  540
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  540

1(5-5)  CGCGGTAATT CCAGCTCCAA TAGCGTGTGT TAAAGTTGTT GCAGTTAAAA GCTCGTAGTT  600
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  600
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  600

1(5-5)  GGACTTCTGA AGGCAGCAGT CGGGCCCCGC CCACTTCTGA CTTCATCCTT CTGTTAACGG  660
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ........T.  660
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ........T.  660

1(5-5)  ATCTTGGCCT TCATTGGCTG GTTCAGGGCT CAGATTCTTT ACCATGAGGA AAATAGAGTG  720
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  720
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  720

1(5-5)  TTTCAGGCAG GCTCGCGCCG GAATACGTTA GCATGGAATA TAATATGACT TCTCGCTTTT  780
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  780
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  780

1(5-5)  GGTTGAGTGC GAAGTAATGG TTAATAGGGA TAGTTGGGGC ATTGGTATTC CATTGTCAGA  840
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  840
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  840

1(5-5)  GGTGAAATTC TTTGATTTAT GGAAGACTAA CTAAGGCGAA AGCATTTGCC AGGGATGTTT  900
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  900
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  900

1(5-5)  TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAGGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA  960
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960

1(5-5)  CCATAAACTA TGCCGACTAG GGATCGGAGG CGCGCGCTTT CCGCCTTCGG CACCTTATGA  1020
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1020
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1020

1(5-5)  GAAATCAAAG TTTCGGTTCT GGGGGAAGTA TGGTCGCAAG GCTGAAACTT AAAGGAATTG  1080
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1080
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1080
```

```
1(5-5)  ACGGAAGGGC ACCACCAGGA GTGGAGCCTG CGGCTTAATT TGACTCAACA CGGGAAAACT  1140
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1140
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1140

1(5-5)  CACCAGGTCC AGACATAGGA AGGATTGTCA GATTGATAGC TCTTACTTGA TTCTATGGGT  1200
2(5-6)  ......A... .......... .......... .......... .......... ..........  1200
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1200

1(5-5)  GGTGGTGCAT GGCCGTTCTT AGTTGGTGGA GCGATTTGTC TGGTTAATTC CGATAACGAA  1260
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1260
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1260

1(5-5)  CGAGACCTTA GCCTGCTAAC TAGTTGTCAC CTTCCGAGGC TATTCAACTT CTTAGAGGGA  1320
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1320
3(5-7)  .......... .......... ......C... .......... .......... ..........  1320

1(5-5)  CTTTGTGCTA AACACAAGGA AGTTTGAGGC AATAACAGGT CTGTGATGCC CTTAGATGTC  1380
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1380
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1380

1(5-5)  CTGGGCCGCA CGCGTGCTAC ACTGATACGT ACAGAAAGTC CTCCTGAGCC GATAGGCCCC  1440
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1440
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1440

1(5-5)  GGGTAATCTG CAATACGTAT CGTGATAGGG ATAGATCTTT GCAATTATGG ATCTTGAACG  1500
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1500
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1500

1(5-5)  AGGAATTCCT AGTAAGTGCA AGTCATCATC TTGCGCTGAT TAAGTCCCTG CCCTTTGTAC  1560
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1560
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1560

1(5-5)  ACACCGCCCG TCGCTTCTAC CGACAGAGTG GTCAGGTGAG CCTTTTGGAC CGTCGGGCAA  1620
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1620
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1620

1(5-5)  CCGTACGGAA AATCAAGCAA GCCCAATCAC TTGGAGGAAG AAGAAGTCGT AACAAGGTTT  1680
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1680
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1680

1(5-5)  CCGTAGGTGA ACCTGCGGAA GGATCATTCA CACATCCATC CAAACCTAAC TAAGCCTTTT  1740
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1740
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1740

1(5-5)  GGCCTGACTT GTCAGGCACC AAAACTTACA AATGGAGATT ACTAACTCTA AGACATTAAA  1800
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1800
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1800

1(5-5)  GTTTCAACAG TGGATGTCTT GGCTCCCATA TCGATGAAGA ACGCAGCAAA GTGCGATAAG  1860
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1860
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1860

1(5-5)  CAATGCGAAT TGCAGACTGT GAGTCATCAG ATTTTCGAAC GCATCTGGCG CCAGCTGGTC  1920
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1920
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1920

1(5-5)  CTCCAGCTGG CATGCTTGCT TCAGTGTTTC TTTAGTCACT GCCCTACATC TTAATGCGAG  1980
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1980
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1980

1(5-5)  TGAGTCAGCT CTCTCGTTAA ATTTGCAGCA CGCTGTCAGG AGGCTTCGAG CCTCGCTCAA  2040
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2040
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2040

1(5-5)  TGCAGCAGTC ACTCCGGTGA ACTCATTGGG AAGCGCGTGC TAGAGCTCTG TAAACCTTTT  2100
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2100
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2100
```

```
1(5-5)  AACCTGAAGT CAAGTGAGGT TACCCGCTGA ACTTAAGCAT ATCACTAAGC GGAGGAAAAG  2160
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2160
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2160

1(5-5)  AAATTAAAGA AGATTACCTC AGTAGCGGCG AGCGAACCGG TAACAGCCCA AACTGAAAAT  2220
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2220
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2220

1(5-5)  CTCTGGCCCT CAGGTCATGA GAATTGTAGT CTAGAGATCA TTGCCGCCGA CGGGTCCGAA  2280
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2280
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2280

1(5-5)  GTGAGTTGGA ACACTCCGCC AAGGAAGGTG AAAGCCCTGT TAGGATCCAC AGTGCGTATG  2340
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2340
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2340

1(5-5)  GCAAGATTCG AAGAGTCGAG TTGCTTGGGA CTGCAGCTCA AAACGGGAGA TAAACTTCTT  2400
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2400
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2400

1(5-5)  CTAAGGCTAA ATAGCTATGG GAGACCGATA GCGAACAAGT ACTGTGAAGG AAAGATGAAA  2460
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460

1(5-5)  AGAACTTTGA AAAGAGAGTT AACAGACCTG AAACTGTTGA GAAGGAAGCT GTAGACATCA  2520
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2520
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2520

1(5-5)  ATAATTCGCT GTTGACCTGC CAAAAGGGTA GTGTGGAGTC ACTGTAAAAG GGCGAAGCAC  2580
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2580
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2580

1(5-5)  CTCCCGCCGA TTCCCGGCGC TTGGTCGGCA GCGATAGGCA AGGTAGGCTC GGCGGCCTCA  2640
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640

1(5-5)  AACTCCCCGC GACACCCGCA AGGACTGTCA GTGGGATGAC GTGGCGGCCG AAGCGTACCC  2700
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2700
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2700

1(5-5)  TTGTCAAAAC GATTTTACAG TCCCGTCTTG AAACACGGAC CAAGGAGTCT AACACAAGTG  2760
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2760
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2760

1(5-5)  CAAAGTTTGC TGGTGTAAAA CCAACGAGCA GAATGAAAGT AAGCGGTGCG AAGCGCAAGC  2820
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2820
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2820

1(5-5)  TGCAGCATCG GCCGACCGAA GGTTCGAGTA TGAGCACTTT TGTTAGGACC CGAAAGATGG  2880
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2880
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2880

1(5-5)  TGAACTATGC TTGAGTAGGG TGAAGTCAGG GGAAACTCTG ATGGAGGCTC GTAGCGATAC  2940
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2940
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2940

1(5-5)  TGACGTGCAA ATCGTTCGTC AAACTTGAGT ATAGGGGCGA AAGACTAATC GAACTATCTA  3000
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3000
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3000

1(5-5)  GTAGCTGGTT CCCTCCGAAG TTTCTCTCAG GATAGCAAGG TCTTTACTGC AGTTTTACCA  3060
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3060
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3060

1(5-5)  GGTAAAGCGA ATGATTAGAA GTGTGGGGAT TATTTCTTCA GCTTATTCTC AAACTTTAAA  3120
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3120
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3120
```

```
1(5-5)  TTGGTAAGAA CTCTTCCGCT ACTTTATTGA GCGGAGAGGT AGAATGCACG ACCTTAGTGG  3180
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3180
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3180

1(5-5)  GCCATACTTG GTAAGCAGGA CTGGCGATGA GGGATGAACC TAACGTCGAG ATAAGGTGCC  3240
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3240
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3240

1(5-5)  TAAGATGCAC GCGCATCAGA TTAAAAGTTG TTGGTTCATT AAGACAGCAG GACGGTGGCC  3300
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3300
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3300

1(5-5)  ATGGAAGTCG GAATCCGCTA AGGAGTGTGT AACAACTCAC CTGCCGAAT 3349
2(5-6)  .......... .......... .......... .......... ......... 3349
3(5-7)  .......... .......... .......... .......... ......... 3349
```

4.2 *Coleps pulcher*

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Coleps pulcher* (ภาพที่ 11) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 3,566 คู่เบส

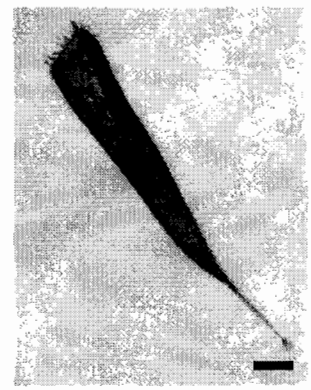
ภาพที่ 11 *Coleps pulcher* (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTTAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA  60
AGTATAAATA GTATACAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTACTTG 120
ATAATTGAAT TCTACATGGA TAACCGTGGT AATTCTAGGG CTAATACATG CTGTCAAACC 180
TGACTTTTTG GAAAGGTTGT ATTTATTAGA TAACAAACCA ATATTCCTTC GGGTCTATTG 240
TGATGATTCA TAGTAACTGA TCGGAGCGAG GCTTTGCCAC GCTAAATCAT TCAAGTTTCT 300
GCCCTATCAG CTTTCGATGG TAGTGTATTG GACTACCATG GCAGTCACGG GTAACGGGGA 360
ATTAGGGTTC GATTCCGGAG AGGGAGCCTG AGAAACGGCT ACCACATCTA AGGAAGGCAG 420
CAGGCGCGTA AATTACCCAA TCCTAATTCA GGGAGGTAGT GACAAGAAAT AACAACTCGG 480
AGTCTCACGA CTTGCGAGAT TGCAATGAGC ACAATTTAAA TCTCTTAGCA AGGAACAATT 540
GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAATAGCG TATATTAAAG 600
TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGAAC TTCTGGGCGT CGTCTTCATG GCTTCGGTCG 660
TGAAGAGGGC GTCCATCCGT CTGAGAACCG CATTCGGCCT TCACTGGTCG GTGTGGGGAT 720
CAGGCATTTT ACTTTGAAAA AATTAGAGTG TTCCAGGCAG GCTTTCGCCT TGAATACACA 780
AGCATGGAAT AATGGAATAG GACTATGGTT CATTTTGTTG GTTATTGGAT CATAGTAATG 840
ATTAACAGGG ACAGTTGGGG GCATTAGTAT TTAATTGTCA GAGGTGAAAT TCTTGGATTT 900
ATTAAAGACT AACTTATGCG AAAGCATTTG CCAAGGATGT TTTCATTAAT CAAGAACGAA 960
AGTTAGGGGA TCAAAGACGA TCAGATACCG TCCTAGTCTT AACCATAAAC TATTCCGACT 1020
AGGGATTGGT TGGGTTATTC AGCTCAATCA GCACCTTATG AGAAATCAAA GTCTTTGGGT 1080
TCCGGGGGGA GTATGGTCGC AAGGCTGAAA CTTAAAGGAA TTGACGGAAG GGCACCACCA 1140
GGAGTGGAGC CTGCGGCTTA ATTTGACTCA ACACGGGGAA ACTCACCAGC GCAAAACATG 1200
GGTGGGATTG ACAGATTGAG AGCTCTTTCT TGATTCTATG GGTGGTGGTG CATGGCCGTT 1260
CTTAGTTGGT GGAGTGATTT GTCTGGTTAA TTCCGTTAAC GAACGAGACC TTAACCTGCT 1320
AACTAGTCTC TTCATGTTAA ATGGGGAGGA CTTCTTAGAG GGACTATGTG ACTAAACACA 1380
TGGAAGTTTG AGGCAATAAC AGGTCTGTGA TGCCCTTAGA TGTGCTGGGC CGCACGCGCG 1440
CTACACTGAT ACGTTCAGCA AGTTCTATCC TGGTCCGGAA GGATTTCGGG TAATCTTGTT 1500
AATGCGTATC GTGCTGGGGA TCGATCTTTG CAATTATAGA TCTTGAACGA GGAATTCCTA 1560
```

```
GTAAGTGCAA GTCATCAGCT TGTACTGATT ACGTCCCTGC CCTTTGTACA CACCGCCCGT  1620
CGCTCCTACC GATTCGAGTG ATCCGGTGAA CCTTCTGGAC CGCTGCAGTC TTCAGGCTGC  1680
GGTGGAAAGT TAAGTAAACC TTATCACTTA GAGGAAGGAG AAGTCGTAAC AAGGTTTCCG  1740
TAGGTGAACC TGCGGAAGGA TCATTAGCAC ATTTTAATCC GAACCTTAAT TTTATGTTCT  1800
GAGGGGAGTT TTTTAATAAG ACTCCTCTTC TTTTCATAAA AACTATTCTT AAAACCTAAT  1860
TTGAAAAAAA ATAAAAAAAC CAAAATAGAA AATTTTCAAC GATGGATATC TTGGTTCCCA  1920
TAACGATGAA GAACGCAGCA AAATGCGATA CGCAATGCGA ATTGCAGAAT ACCGCGAGTC  1980
ATCAGATCTT CTAACGCAAA TGGCGCTGAG GGGCTATCCC CTTAGCATGT TTGCTTCAGT  2040
GTGTTAATTC ACTCACAAAA ATCTAAATGC GATTGAGATT TTAATTAATT TCTCTCGTGA  2100
AAGGAGAAAA AAGTGCCGAG ACTATCAGCC AACGAAGCGG TCACTCAAAA AAAAAATAGA  2160
GTGATTTCGT TGGAAACAAA CCGATATTGT TTCGAAATTA TCACTTTTTA AATAAAAACA  2220
AAATTCTAAA TTCAGCACCT GAAGTCAAGC AAGATCACCC GCTGAACTTA AGCATATCAG  2280
TAAGCGGAGG AAAAGAAACT AACAAGGATT GCCTCAGTAG CGGCGAGTGA ACCGGCAAAA  2340
GCTCAAAGTG AAAATCTGTA ATGGACAAAG TTACAGAATT GTAATCTAGA GGGTTTCGCG  2400
AAAGGGAGGT CCTCGCACAA AGGCCTGAAA CAGCCTATCA GAGAGGGTGA AAATCCCGTA  2460
GATGGCGAAG GACTGACCGG CCGTGAGATT TCGAAGAGTC GGGTTGTTTG GGATTGCAGC  2520
CCTAAATGGG AGATAAACTT CTTCTAAAGC TAAATATTTA TGGGAGACCG ATAGCGAACA  2580
AGTACTACGA AGGAAAGATG AAAAGAACTT TGAAAAGAGG GTTAAAAGAC TTGAAATCGT  2640
TGAGAAGGAA GTGGTAGAAG AGGATTATTT GGGTGGGACG TTAGTTGTGA AAGCATGGGT  2700
CCTTGTAGCG TGGAGTTCGT CAAAGGCTTG CGTTGCGAGA GATAACTAGG CTTTGCGGCT  2760
TTTTCCTGCT CAAAAGACAA AATGAGGCCT CGGCTGTCGG AGACACTGAA AGGAACGTCC  2820
CTTGGAAACA AGGAGTCCTA GCAGAACACG GCAGTGTAAG GCCTGAGGGA CCGAAAGGTG  2880
ATTTTGTCGA AATGGCTTCT ACTGACCCGT CTTGAAACAC GGACCAAGGA GTGTAACACA  2940
TATGCGAGTT TGCGGGTGGA AAAACCCATC AGGCGCAATG AAAGTAAGAA AAAGATGTGA  3000
AGCCGCAAGG CAGCAACATC GACCCACCTT GATCTTCTGG TGAAGGGTTG GAGTAAGAGC  3060
ATATTTGTTA CGACCCGAAA GATGGTGAAC TATGCTTGGG TAGGCTGAAG CCAGGGGAAA  3120
CTCTGGTGGA AGGTCGCAGC GATACTGACG TGCAAATCGT TCGTCTAACT TGAGTATAGG  3180
GGCGAAAGAC TAATCGAACC ATCTAGTAGC TGGTTCCCTC TGAAGTTTCT CTCAGGATAG  3240
CTGGAACAGA CAAAAAGCGC AGTTTTATCA GGTAAAGCGA ATGATTAGAG GAATCGGAGC  3300
TCAAAGAGCT TTGACCTATT CTCAAACTTT AAATTGGTAA GAACCTTCAG TTTACTTAAT  3360
TGAACTGGAG GGTAGAATGC GTTGTTCTAA GTGGGCCCTT TTTGGTAAGC AGAACGGGTA  3420
ATGAGGGATG AACCTAACGT TGAGCTAAGG CGCCGAAATC CCCGCTCATC AGATACCACA  3480
AAAGGTGTTG ATTCATACAG ACAGCAGGAC GGTGGCCATG GAAGTCGGAA TCCGCTAAGG  3540
AGTGTGTAAC AACTCACCTG CCGAAT 3566
```

4.3 *Condylostoma enigmatica*

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Condylostoma enigmatica* (ภาพที่ 12) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 3,119 คู่เบส



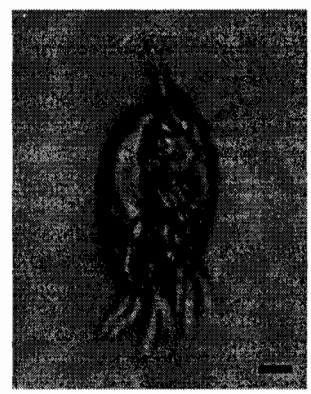
ภาพที่ 12 *Condylostoma enigmatica* (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 50 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTTAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA  60
AGTATAAGCT TTTATACAGT GAGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT  120
GCTGATCGTT TATATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCT GGTTGCGCAG  180
TGCGTAGTAT TTATTAGATA TAAGCCAACG TGCGAGGACT CATAATAACT TAGCGGACTT  240
CTTCGGAAGT GCAGCATTCA AGTTTCTGCC CTATCAGCTT GATGGTAGTG TATTGGACTA  300
CCATGGCAGT GACGGGTGAC GGAGAATTAG GGTTCGATTC CGGAGAGGGA GCCTGAGAAA  360
CGGCTACCAC ATCTAAGGAA GGCAGCAGGC GCGCAAATTA CCCAATCCTA ACTCAGGGAG  420
```

```
GTAGTGACAA GAAATAACAA CGCGGGGCTC AGTCTCGTGA TTGGAATGAG AACAATGTAA  480
AAGCCTTAAC GAGGATCAAC TGGAGGGCAA GTCTGGTGCC AGCAGCCGCG GTAATACCAG  540
CTCCAGTAGC GTATATTAAA GTTGTTGCAG TTAAAAAGCT CGTAGTTGAA ATTCTGCACG  600
GAACGAGTTA CACACGTAGC ACGAGCCGTG CATCCGCCTG AGCAGCGTTC GTCGTCTTTA  660
CGGGGTTCGT GATCAGGCAC TTTACCTTGA GCAAATTAGA GTGTTCCAGG CAGGCGTCAG  720
CCTGAATAGT CCAGCATGGA ATAATAGAAA AGGACTGAGA GCCACTGTTG GTGCGTGGCT  780
TTTAGTAATG ATTAATAGGG ATAGTTGGGG GCATTCGTAT ATAATTGTCA GAGGTGAAAT  840
TCTATGATTT ATTAAAGACG AACCTATGCG AAAGCATTTG CCAAGGATGT TTTCATTAAT  900
CAAGAACGAA AGTTAAGGGA TCAAAGACGA TCAGATACCG TCGTAGTCTT AACCATAAAC  960
TATGCCGACT AGAGATTGGA GGAGCAATAA AAAGACTCCT TCAGCATCTT CCGAGAAATC 1020
AAAGTCTTTG GGTTCTGGGG GGAGTATGGT CGCAAGACTG AAACTTAAAG GAATTGACGG 1080
AAGGGCACCA CCAGGTGTGG AGCCTGCGGC TTAATTTGAC TCAACACGGG GAAACTTACC 1140
AGGTCCAGAC ATAGCTAGGA TTGACAGACT GACAGCTCTT TCTTGATTCT ATGGGTGGTG 1200
GTGCATGGCC GTTCTTAGTT GGTGGAGTGA TTTGTCTGGT TAATTCCGAT AACGAACGAG 1260
ACCTCAGCCT GCTAACTAGT CAGATTCCGT CTGGATTCTG GACTTCTTAG AGGGACTGTG 1320
GGGGCTACTC CACGGAAGTT TGAGGCAATA ACAGGTCTGT GATGCCCTTA GATGTCCTGG 1380
GCCGCACGCG CGCTACACTG ATGCAGGCAG CAAGCTCCGT GGCAGACATG TCTCGGAAAA 1440
CTACAAACTG CATCGTGATG GGGATTGACT CTTGGAATTC TTGGTCATCA ACGAGGAATA 1500
CCTAGTAAAC GCAAGTCATC AGCTTGCATT GATTACGTCC CTGCCCTTTG TACACACCGC 1560
CCGTCGCTCC TACCGATTGA GTGGTGCGGT GAACCCTTCG GACCGGTTCG CCGGGAAGTT 1620
GTGTAAACCT TACCACTTAG AGGAAGGAGA AGTCGTAACA AGGTTTCTGT AGGTGAACCT 1680
GCAGAAGGAT CATTATCGCA CAATTTATTT ATTTATTACC TTTTTTGATA TTAAAACCTT 1740
AACGGTGGAT ATCTCGGCTC TCGTACCGAT GAAGAACGCA GCTAACTGCG AAAAGCACTG 1800
CGAATTGCAG ACTCTGTGAG TCAGTAGATT TTCGAACGCA CCTCGCACCG TTTTACGGTA 1860
TGCTTGGTTC AGGGCCTCGT TCGCTATAAA CTGCAAGTGT AGTACTCTTG CTAAATATTA 1920
ACGCTCTTAT CTGGCGGATC AGATTAGAGC CCAGCGAGTG CCTGAACTCA AGCAAGGCTA 1980
CCCGCTGGGC TTAAGCATAT CACTAAGCGG AGGAAAAGAA ACTAACTAGG ATTGCCCCAG 2040
TAACGGCGAG TGAAGCGGCA ATAGCCCACA CTGAAAATCG CTTCGGCGAA TTGTACAGTG 2100
AAGACGTCAA CCTCACAGCA TCATGCTCGC GTAACTTACC TGGAACGGTA GACCAGAGAG 2160
GGTGCTAGTC CCGTGCCGCG AGCGTGTTTC TGACAGGTAG CGTTCTAAGA GTCGGGTAGC 2220
TTGGGATTGC TGCCCTAATT GGGAGGTAGA CTCCTCCTAA GGCTAAATAT CGACGAGAGA 2280
CCGATAGTGC ACAAGTACTG TGAAGGAAAG ATGAAAAGAA CTTTGGAAAG AGAGTTAAAA 2340
GACTTGAAAC CGTTAAGGAG GAAGCAGTTC GCCTGGTACA GCCATTCACG AAACTTCTGT 2400
ACGCAGGAGC TAGAGTGAAT GGTGGAGTCA GTGGTCTGGG AGATACGCCG TAGCCTAAAC 2460
TGTGTGTTGG GTGGAACGCG TATTGAACAG GCACTGGCGC TAGGTGCACT GGCCCGTCTT 2520
GAAACACGGA CCAAGGAGTC TAGCCTATGT GCAAGTAGAG GGGCTAAACC CCAGATGCGC 2580
AACGAAAGTA ATCTCTGTTT CCACAGAGGC CGCAATAGCG AGCTCAGCAG ATAGGCTGGG 2640
ACCCGAAAGA TGGTGAACTA TGCTTGGGAA AGGCGAAGCC AGGGGAAACT CTGGTGGAGG 2700
CTTGTAGAGG TACTGACGTG CAAATCGTTC TTCTGACCTG AGTATAGGGG CGAAAGACTT 2760
ATCGAACCAT CTAGTAGCTG GTTCCCTCCG AAATTTCCCT CAGGATAGCT GGAGCAATTG 2820
CAGTTTTACC GGGTAAAGCG AATGATTAGA GGTTCGGGGG TTGAAACAAC CTTCACCTAT 2880
TCTCAAACTT TAAATTGGTA AGGTGATTGA GTTACTTCAG TGAACTCATT CTTGAATGCG 2940
AGCTCCTAGT GGGCCATTTT TGGTAAGCAG AACTGGCAAC GAGGGTTCAA CCTAAGGCGA 3000
TGTTGAGGCG ACAAATTGAC TGCTCACAGA TGGAAAGGTG TTGGTTCATT TAGACAGTAG 3060
GACGGTGGCC ATGGAAGTCG GAATCCGCTA AGGAGTGTGT AACAACTCAC CTGCCGAAT 3119
```

4.4 *Diophrys* sp. 1

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Diophrys* sp. 1 (ภาพที่ 13) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 3,493 คู่เบส



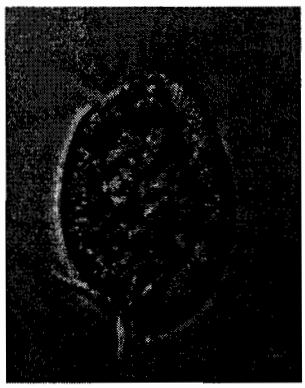
ภาพที่ 13 *Diophrys* sp. 1 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTGTA   60
AGTATAAGCG ATATACAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG  120
ATAATGGAAT TTTATATGGA TAACCGTAGT AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTCAAGCC  180
TGACTTATCG GAAGGGCTGT GTTTATTAGA TACAAATCAA TATTCCTTCG GGTCTATTGT  240
ATGATTAACA ATAACTGATC GAATCGCATG GGTTTTCCCG CGATAAATCA TTCAAGTTTC  300
TGCCCCATCA GCTTGATGGT AGTGTATTGG ACTACCATGG CTTTCACGGG TAACGGAGGA  360
TTAGGGTTCG ATTCCGGAGA GGGAGCCTGA GAAACGGCTA CCACATCTAA GGAAGGCAGC  420
AGGCGCGTAA ATTACCCAAT ACTGACTCAG TGAGGTAGTG ACAAGAGATA ACAGACCGGA  480
GCTTTTGCAC CGGGATTGCA ATGAGTACAA TTTACAACCC TTAACGAGGA TCAATTGGAG  540
GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA TTAAAGTTGT  600
TGCAGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GAATGGATAC CGATGCCCGC CTGCTGGCGT  660
GTGCAAAGGT GCCCGTTCAT CCTTCTGTTA AGGTTTCTTG GTATTCATTT ACTGGTTTCC  720
GGCTCAGATA TTTTACCTTG AATAAATTAG AGTGTTTCAG GCAAGCTTGG TCTTGAATAC  780
ATTAGCATGG AATAATAGAA TAGGACTCTA GATCCTTTGT TGGTTTCTGG ATTTGGAGTA  840
ATGATTAATA GGGATAGTTG GGGGCATTAG TATTTAATTG TCAGAGGTGA AATTCTTGGA  900
TTTATAAAGA CTAACTTATG CGAAAGCATT TGCCAAGGAT GTTTTCATTA ATCAAGAACG  960
AAAGTTAGGG GATCGAAGAC GATCAGATAC CGTCGTAGTC TTAACCATAA ACTATGCCGA 1020
CTAGGGATCG GAGGCGAATA GTTCGCTTTC GGCACCTTAT GAGAAATCAA AGTCTTTGGG 1080
TTCTGGGGGG AGTATGGTCG CAAGGCTGAA ACTTAAAGGA ATTGACGGAA GGGCACCACC 1140
AGGAGTGGAG CTTGCGGCTT AATTTGACTC AACGCGGGGA AACTTACCAG GTCCAGACAT 1200
AGTGAGGATT GACAGATTGA TAGCTCTTTC TTGATTCTAT GGGTGGTGGT GCATGGCCGT 1260
TCTTAGTTGG TGGAGTGATT TGTCTGGTTA ATTCCGTTAA CGAACGAGAC CTTAGCCTGC 1320
TAACTAGCTG CTGTCCTACC TAGGGCTGCT AGCTTCTTAG AGGGACTTTG TGCAAAACAC 1380
AAGGAAGTTT GAGGCAATAA CAGGTCTGTG ATGCCCTTAG ATGTCCTGGG CCGCACGCGT 1440
GCTACACTGA CGCATACAAC GAGCATTTCC TGTTCCGCGA GGCTACAGGT AATCTATAAT 1500
ATGCGTCGTG ATGGGGATAG ATCTTTGGAA TTGTAGATCT TGAACGAGGA ATTCCTAGTA 1560
AGCGCAAGTC ATCATCTTGC GCTGATTAAG TCCCTGCCCT TTGTACACAC CGCCCGTCGC 1620
TCCTACCGAT TTCGAGTGAT CCGGTGAACT CCTCGGACTG CTTTAGCAAT AGAGCGGAAA 1680
GTTGAGTGAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA ACAAGGTTTC CGTAGGTGAA 1740
CCTGCGGAAG GATCATTAAC ACATCCAAAA AACCTTAACC TGCCTTATTA GCTTGGGTTG 1800
CTTTGCACCT GAGCTCTTAA ACCTAAACTT AAGAAAGTAA CTAAGCTTTT ACCAAGATAA 1860
ATTCTCAACG GTGGATGTCT TGGCTCCCAT AACGATGAAA GACGCAGCTA AGTGCGATAA 1920
GCAATGCGAA TTGCAGAACC ATGAATCATT AGAATTTTGA ACGCATCCGG CACCGGTTGG 1980
CTCTCCGATC GGTATGTTTG TTTCAGTGTC TATTAAAACA ATGACCTAAA CCTTAATGCA 2040
AAGGATGCCC TTCCTTTGTT AAGTCAGAAA ACGCACTGAA TCTGCGAGCA TCTTCGGATG 2100
CACTCAATGC AGCAGTCACA CTTTGTGTGA ACTCATTGGG AGTGGGTTCA GAAGTCGAAA 2160
GACGTTGCGT TTAGCACGAA GAACTTTCTT GTATCTGAAA TCAAGCAAGA GTACCCCCTG 2220
AACTTAAGCA TATCACTAAG GGGAGGAGAA GAAAATAACT ATGATTCCCT CAGTAAAGGC 2280
GATTGAAGCG GGAATAGCCC AAAGTGGTAA TCTCCGTCCT CCGGACGGCG AATTGTAATC 2340
TAAATGCTCG ATCCAGACGG GTGAAGCGGA AGCGTAAATT CCATTGAATG GGATGCCAAA 2400
GAAGGTGAAA GCCCTGTATG GCTTCTGCTT TGCCTCGAGG ATGGGTAGAC GAGTCGGGTA 2460
GTTTGGAACT GCTGCCCTAA TTGGGAGATA AACTTCTTCT AAGGCTAAAT ACTTATGGGA 2520
GACCGATAGC GAACAAGTAC TGTGAAGGAA AGATGAAAAG AACTTTGAAA AGAGAGTTAA 2580
CAGACCTGAA ACCGTTGAGG AGGAAGCTGT AAAAATTTAT TATATGCTGA GATCTATAGG 2640
AAGCGGCCAA ATCATCAACC TTAAAGGCAC TGTCAAAAGG CTGGAGGGAA GTATGAGGAA 2700
GCTGCTCTGC GGATTTCAGC GTTAGGCAAA ATGAGGTTGC GCAGTTACAA ACGCTTGGCG 2760
TCCTGCAAGC TTGCTTCAGT TCGTCTTTGC CGTAACTGCA AAGCCTGAGG GGCTACGGCG 2820
ATTTTGCCAA AATGATTTTT ACCGACCCGT CTTGAAACAC GGACCAAGGA GTCTAACATA 2880
TATGCGAGTT TGGTGGTGGA GAAACCAACA AGCGCAATGA AAGTAAGTGA TGCCAACCGC 2940
AAGGTGCAGC ATCAACCGAC CATGATTCTA CGAAGAAAGG TTTGAGTATG AGCGTATCTG 3000
TTAGGACCCG AAAGATGGTG AACTTTGCCT GAGTAGGGTG AAGCCAGGGG AAACTCTGGT 3060
GGAAGCTCGT AGCGATACTG ACGTGCAAAT CGTTCGTCGA ACTTGGGTAA AGGGGCGAAA 3120
GACTAATCGA ACCATCTAGT AGCTGGTTCC CTCCGAAGTT TCCCTCAGGA TAGCTGGGAC 3180
AATCATGCAG TTTTATTAGG TAAAGCGAAT GATTAGAGGC ATCTGGGATG TAATGTCCTA 3240
GACCTATTCT CAAACTTTAA ATTGGTAAGA ACCTTGGGCT TCTTAAGTGA GCTCCAGGGG 3300
TGGAATGCAT GTCCCAAGTG GGCCATTTTT GGTAAGCAGA ACTGGCGATG AGGGATGAAC 3360
CTAACGCTAA GTTAAGGTGC CCAACTACAC GCTCATCAGA CACCACAAAA GGTGTTGATT 3420
CATTTAGACA GCAGGACGGT GACCATGGAA GTCGGGACCC GCTAAGGAGT GTGTAACAAC 3480
TCACCTGCCG AAT 3493
```

4.5 *Diophrys* sp. 2

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Diophrys* sp. 2 (ภาพที่ 14) จำนวน 2 สาย ได้แก่ 1(4-1) และ 2(4-2) ซึ่งมีความยาว 3,499 และ 3,500 คู่เบส ตามลำดับ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกับ

สายบนแสดงสัญลักษณ์เป็นจุด (.) ช่องว่าง (gap) แสดงสัญลักษณ์เป็น (-) และตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกับสายบนแสดงเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างไปของสายนั้นๆ



ภาพที่ 14 *Diophrys* sp. 2 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
1(4-1)  ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTGTA  60
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  60

1(4-1)  AGTATAAGCG ATATACAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 120

1(4-1)  ATAATGGAAT TTTATATGGA TAACCGTAGT AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTCAAGCC 180
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 180

1(4-1)  CGACTTATTG GAAGGGCTGT ATTTATTAGA TACAAACCAA TATTCCTTCG GGTCTATTGT 240
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... ..C....... .......... 240

1(4-1)  ATGAGTAATA ATAACTGATC GAATCGCTTG GGACTTCCCG CGATAAATCA TTCAAGTTTC 300
2(4-2)  ....T..... .......... .......... .......... .......... .......... 300

1(4-1)  TGCCCCATCA GCTTGATGGT AGTGTATTGG ACTACCATGG CGTTCACGGG TAACGGAGGA 360
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 360

1(4-1)  TTAGGGTTCG ATTCCGGAGA GGGAGCCTGA GAAACGGCTA CCACATCTAA GGAAGGCAGC 420
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 420

1(4-1)  AGGCGCGTAA ATTACCCAAT CCTGACTCAG GGAGGTAGTG ACAAGAAATA ACAGACCGGA 480
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 480

1(4-1)  GCTTTTTGCA CCGGGATTGC AATGAGAACA ATTTACACCC CTTAACGAGG ATCAATTGGA 540
2(4-2)  .......... .......... .......... ...C...... .......... .......... 540

1(4-1)  GGGCAAGTCT GGTGCCAGCA GCCGCGGTAA TTCCAGCTCC AATAGCGTAT ATTAAAGTTG 600
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 600

1(4-1)  TTGCAGTTAA AAAGCTCGTA GTTGGATTTC TGAATGGATG CCGATGTCCG CCTGCTGGCG 660
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 660

1(4-1)  AGTTCAGAGG TGCCCGTTCA TCCTTCTGTC AAGGTTTCTT AGTATTCATT TACTGGTTTC 720
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 720

1(4-1)  CGGCTCAGAT ATTTTACCTT GAGTAAATTA GAGTGTTTCA GGCAGGCTTG GTTCTGAATA 780
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 780

1(4-1)  CATTAGCATG GAATAATAGA ATAGGACTCT AGATCCTTTG TTGGTTTCCG GGTTTGGAGT 840
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 840

1(4-1)  AATGATTAAT AGGGATAGTT GGGGGCATTA GTATTTAATT GTCAGAGGTG AAATTCTTGG 900
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 900
```

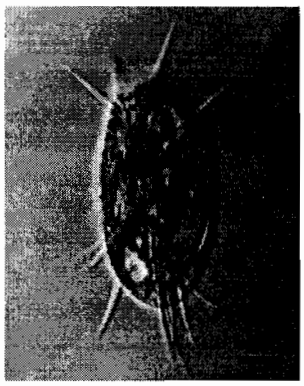
```
1(4-1)  ATTTATTAAA GACTAACTTA TGCGAAAGCA TTTGCCAAGG ATGTTTTCAT TAATCAAGAA  960
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960

1(4-1)  CGAAAGTTAG GGGATCGAAG ACGATCAGAT ACCGTCGTAG TCTTAACCAT AAACTATGCC 1020
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1020

1(4-1)  GACTAGGGAT CGGAGGCGAG TTTTCGCTTT CGGAACCTTA TGAGAAATCA AAGTCTTTGG 1080
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1080

1(4-1)  GTTCTGGGGG GAGTATGGTC GCAAGGCTGA AACTTAAAGG AATTGACGGA AGGGCACCAC 1140
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1140

1(4-1)  CAGGAGTGGA GCTTGCGGCT TAATTTGACT CAACGCGGGG AAACTTACCA GGTCCAGACA 1200
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... ....C..... .......... 1200

1(4-1)  TAGTGAGGAT TGACAGATTG ATAGCTCTTT CTTGATTCTA TGGGTGGTGG TGCATGGCCG 1260
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1260

1(4-1)  TTCTTAGTTG GTGGAGTGAT TTGTCAGGTT AATTCCGTTA ACGAACGAGA CCTTAGCCTG 1320
2(4-2)  ........C. .......... .......... .......... .......... .......... 1320

1(4-1)  CTAACTAGTT TCTAGTCCTA CCTAGGGCAA GAACTTCTTA GAGGGACTTT GTGCAAAACA 1380
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1380

1(4-1)  CAAGGAAGTT TGAGGCAATA ACAGGTCTGT GATGCCCTTA GATGTCCTGG GCCGCACGCG 1440
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1440

1(4-1)  TGCTACACTG ACGCATACAA CGAGTATTTC TGTTCCGAAA GGCTACAGGT AATCTATAAT 1500
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1500

1(4-1)  ATGCGTCGTG ATGGGGATAG ATCTTTGGAA TTGTAGATCT TGTACGAGGA ATTCCTAGTA 1560
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... ..A....... .......... 1560

1(4-1)  AGCGCAAGTC ATCATCTTGC GCTGATTAAG TCCCTGCCCT TTGTACACAC CGCCCGTCGC 1620
2(4-2)  .......... .......... ...A...... .......... .......... .......... 1620

1(4-1)  TCCTACCGAT TTCGAGTGAT CCGGTGAACC TCTTGGACCG CGCTAGCAAT AGCGCGGGAA 1680
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1680

1(4-1)  GTTAGGTAAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA ACAAGGTTTC CGTAGGTGAA 1740
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1740

1(4-1)  CCTGCGGAAG GATCATTACC GTATCCAAAA AACCTTAACC TGCCTTACTA GCTTGGGTTG 1800
2(4-2)  .......... ........T. A......... .......... .......... .......... 1800

1(4-1)  CATTTGCACC TGAGCTCTTA AACGTAAACG CTGGAATGTA ACTAAGTTTT TACCGAGACT 1860
2(4-2)  ...C...... .......... .......... .......... .......... .......... 1860

1(4-1)  AAATTCTCAA CGGTGGATGT CTTGGCTCCC ATAACGATGA AAGACGCAGC GAAGTGCGAT 1920
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1920

1(4-1)  AAGCAATGCG AATTGCAGAA CCATGAATCA TTAGAGTTTT GAACGCAATC GGCACCGGTT 1980
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......TC. ..T....... 1980

1(4-1)  GGCTATCCGA TCGGTATGCT TGTTTCAGTG TCTACTAAAA CAATGACCTA TACCTTAATG 2040
2(4-2)  ..A....... .......... .......... .......... .......... .......... 2040

1(4-1)  CGAGGGATAC CCTTCCCTTG ATAAGTCAGA AAACGCACTG AATCTGCGAG CGATACTTCG 2100
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 2100

1(4-1)  GTGTCGCACT CAATGCAGCA GTCACTCTCT GAGTGAACTC ATTGAGAGCT TATTCAGCAG 2160
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 2160

1(4-1)  TCGAAAGACT ATGCGTTTAG AAAGATTAAC TTTCCTGTAT CTGAAATCAA GCAAGACTAC 2220
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 2220

1(4-1)  CCCCTGAACT TAAGCATATC ACTAAGGGGA GGAAAAGAAA ATAACAATGA TTGCCTCAGT 2280
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 2280
```

```
1(4-1)  AACGGCGAGT GAAGCGGCAA GAGCCCAAGC TGGTAATCTC TGGCCTTCGG TCAGCGAATT  2340
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......A.. ..........  2340

1(4-1)  GTAATCTAGA GGCCTGGTCC ACACAGTTAA GGCGGAGGCA TAATTTCCCT GGAA GGGGA  2399
2(4-2)  .......... .......... .......A.. .......... .......... ....A.....  2400

1(4-1)  GCCACAGAAG GTGAAAGCCC TGTATAGCCT CTGCTGAAGC TCGAGGACGG GTTGAAGAGT  2459
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460

1(4-1)  CGGGTAGTTT GGAACTGCTG CCCTAAATGG GAGATAAACT TCTTCTAAGG CTAAATACTT  2519
2(4-2)  .....T.... ........A. ......T... .......... .......... ..........  2520

1(4-1)  ATGGGAGACC GATAGCGAAC AAGTACTGTG AAGGAAAGAT GAAAAGAACT TTGAAAAGAG  2579
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2580

1(4-1)  AGTTAACAGA CCTGAAACCG TTGAGGAGGA AGCTGTAAAA ATTTATTATT CGGCGAGGTT  2639
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640

1(4-1)  TAGAGGAAGT GGCCAAATCG TCTACTGCAA CGGCACTGTA AAAAGGCCGG AAGGAAAGTA  2699
2(4-2)  ..T....... .......... .......... .......... .......... ..........  2700

1(4-1)  CGAGGAAGCT GCTCTGCGAA CTTCGTGGAT AAGCAAAATG AGGTTGAGCA GTCACAAACG  2759
2(4-2)  .......... ........T. .......... .......... .......... ..........  2760

1(4-1)  CTTAGTGTTT CACGGCTTCG GTCTGATTCA TTGATGTCGT GACTGCAAGG CCTGAGGGGC  2819
2(4-2)  ...TT..... .......... .......... GG........ .......... ..........  2820

1(4-1)  TACGGCGATT TTGCTAAAAT GATTTTTACT GACCCGTCTT GAAACACGGA CCAAGGAGTC  2879
2(4-2)  .......... .......... .........C .......... .......... ..........  2880

1(4-1)  TAACATATAT GCGAGTTTGG TGGTGGAAAA ACCAACAAGC GCAATGAAAG TAAGAGATGC  2939
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .A........ ..........  2940

1(4-1)  CAACCGCAAG GTGCAGCATC GGCCGACCAT GATTCTCCGA AGAAAGGTTT GAGTAAGAGC  2999
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3000

1(4-1)  ATATCTGTTA GGACCCGAAA GATGGTGAAC TATGCCTGAG TAGGGTGAAG CCAGGGGAAA  3059
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3060

1(4-1)  CTCTGGTGGA GGCTCGTAGC GATACTGACG TGCAAATCGT TCGTCAAACT TGGGTATAGG  3119
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3120

1(4-1)  GGCGAAAGAC TAATCGAACC ATCTAGTAGC TGGTTCCCTC CGAAGTTTCC CTCAGGATAG  3179
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3180

1(4-1)  CTGGGACAAA CATGCAGTTT TATTAGGTAA AGCGAATGAT TAGAGGCATC TGGGATGCAA  3239
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... C.........  3240

1(4-1)  TGTTCTAGAC CTATTCTCAA ACTTTAAATT GGTAAGAACC TTGGGCTTCT TAAGTGAGCT  3299
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ....C.....  3300

1(4-1)  CCAGGGGAAG AATGCATGTC CCAAGTGGGC CATTTTTGGT AAGCAGAACT GGCGATGAGG  3359
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3360

1(4-1)  GATGAACCTA ACGCTAAGTT AAGGTGCCCA ACTGCACGCT CATCAGATAC CACAAAGGGT  3419
2(4-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3420

1(4-1)  GTTGATTCGT TTAGACAGCA GGACGGTGAC CATGGAAGTC GGGATCCGCT AAGGAGTGTG  3479
2(4-2)  ........A. .......... .......... .......... ....C..... ..........  3480

1(4-1)  TAACAACTCA CCTGCCGAAT  3499
2(4-2)  .......... ..........  3500
```

4.6 *Euplotes* sp. 1

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Euplotes* sp. 1 (ภาพที่ 15) จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(1-4), 2(1-5) และ 3(1-6) ซึ่งมีความยาว 3,636, 3,654 และ 3,654 คู่เบส ตามลำดับ โดยลำดับนิวคลีโอ

ไทด์ที่เหมือนกับสายบนแสดงสัญลักษณ์เป็นจุด (.) ช่องว่าง (gap) แสดงสัญลักษณ์เป็น (-) และตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกับสายบนแสดงเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างไปของสายนั้นๆ



ภาพที่ 15 *Euplotes* sp. 1 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 μm)

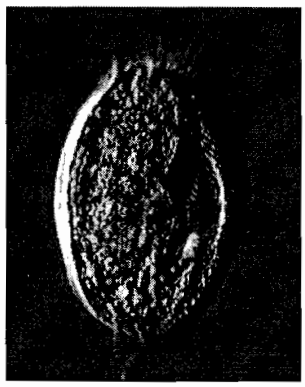
```
1(1-4)   ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATACGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA  60
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  60
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  60

1(1-4)   AGTACAAAGG TTACATACAA TGAAACTGCG AATGGCTCAT TCAAACAGTT ATAGTTTATT  120
2(1-5)   ....T..... .......... .......... .......... .......... ..........  120
3(1-6)   ....T..... .......... ...G...... .......... .......... ..........  120

1(1-4)   TGGATTAAAA ACATTTGTTA AATGGATAAC CGTAGTAATT CTAGGGCTAA TACATGCGTT  180
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  180
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  180

1(1-4)   ACGGGGGACT TTTCGGAACC CCAGTATTTA TTAGATTCAA ACCAATATTC CGCAAGGTCT  240
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  240
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  240

1(1-4)   ACTTGAGATG ATTCATGATA ACTGATCGAA TTGCTGGTCT ACCGGCAATA AGTCATTCAT  300
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300

1(1-4)   GTTTCTGCTT CCCATCAGCT TGATGGTAGT GTATTGGACA ACCATGGCAT TCACGGGCTA  360
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  360
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  360

1(1-4)   TCGGGGGATT AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACTTCTACGG  420
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  420
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  420

1(1-4)   AAGGCAGCAG GCGCGAAAAT TATCCAATCC TGATTCAGGG AGGTAGTGAA AGAAATAATG  480
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  480
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  480

1(1-4)   AACTAGGATT TATCCTGGGG TCACAATGGG CTTGATTTGC AAACTTTATT TAGCGAGGAA  540
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  540
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  540

1(1-4)   CAATTGGAGG GCAAGTCTGG TGCCAGCAGC CGCGGTAATT CTAGCTCCAA TAGTGTATAT  600
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .C........ ..........  600
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .C........ ..........  600

1(1-4)   TAATGTTCCT GCAGTTATTC GATGCTCGTA GTTGGATTTC TGGAGGCTGA GATCGGAGGG  660
2(1-5)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  660
3(1-6)   .......... .......... .......... .......... .......... ..........  660
```

```
1(1-4)  TAGCCAAGGT TACCGCTGAA CTCTTCCTTC ATCCACCTGT TAACGTTGTC CGGGATTCGT  720
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... T.........  720
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  720

1(1-4)  TTCTCGGCTT CGGGCTCAGG CATATACTTT ATTTTTTTTA CCCTTTCTAT ATTTATTTTT  780
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  780
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  780

1(1-4)  TTTGAGTAAA TTATAGTGTT TCAGGCAGGC GTGCGCCGGA ATACTTTAGC ATGGAATAAT  840
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  840
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  840

1(1-4)  CGAATTGGAC CGTGTATTCT TATTGAATTC TTCCTTATTG TTGGTTTCAA GGACACGGAA  900
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  900
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  900

1(1-4)  ATGGTTAATA GGGATAGTGT TTTTTTATTA TCAGGGGAGG CATTAGTATT TAATTTCCAG  960
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960

1(1-4)  AGGTGAAATT CTTTGAAATA TTAAAGACTA ACTTATGCGA AAGCATTTAT TTTTGCCAAT 1020
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1020
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1020

1(1-4)  AATGTTTTCA TTAATCATTG AACGAAAGTT AGGGGATCAA AGACGATCAG ATACCGTCCT 1080
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1080
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1080

1(1-4)  AGTCTTAACC ATAAACGTTG CCGACTAGGG ATCGGAGGGC GTGCACATTC CGCCTTCGGC 1140
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1140
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1140

1(1-4)  ACCTTACGAG AAATCAAAGT CTTTTGGGTT CTGGGGGTAG TATGGTCGCA AGGCTGAAAC 1200
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1200
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1200

1(1-4)  TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACCAG GAGTGGAGCT TGCGGCTCAA TTTGACTCAA 1260
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1260
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1260

1(1-4)  CACGGGAAAT CTTACCAGGT CCAGACATAG CGAGGATTGA CAGATTGATA GCTCTTTCTT 1320
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1320
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1320

1(1-4)  GATTCTATGG GTATTTATAA TTTTTGTTGG TGGTGCATGG CCGTTCTTAG TTGGTGGAGT 1380
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1380
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1380

1(1-4)  GATTTGTCTG GTTAATTCCG TTAAACGAAC GAGACCTCAG CCTGCTAAAT AGTTACCTGT 1440
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1440
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1440

1(1-4)  CTTTTTATAT ATTACGAGAC TTGATAACTT CTTAGAGGGA CGTTGTGTGC AACCACAAGG 1500
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1500
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1500

1(1-4)  AAGTTGAGGC AATAACAGGT CTGTGATGCC CTTAGATGTC CTGGGCCGCA CGCGTGCTAC 1560
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1560
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1560

1(1-4)  ACTGATACGT ACAACAAGGT ATATGCATTC ATGCATCGAT GCTGCTCCGA GATAGACACA 1620
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1620
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1620

1(1-4)  GCTAAATCTT CTAAAATACG TATCGTGCTG CGGATAGATC GTTGAAATTA TGGATCTTGA 1680
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1680
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1680
```

```
1(1-4)  AGGTGGAATT CCTAGTAAGC GCGGGTCATC AGCCCGCGTT GATTACGTCC CTGCCCTTTG  1740
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1740
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1740

1(1-4)  TACACACCGC CCGTCGCTCC TACCAATTTC GAGTGGCTCG GTGAACCTCT TTGGACTGTC  1800
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1800
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1800

1(1-4)  GAGCAATCGC GAAATTAGAG TGAACCTGGT CACTTAGAGG AAGGAGAAGT CGTAACAAGG  1860
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1860
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1860

1(1-4)  TTTCCGTAGG TGAACCTGCG GAAGGATCAA TCTTAGAATA CTATACAACC TAAACTCAGC  1920
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1920
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1920

1(1-4)  CAGTGCTCCA CGTGAGTAAA GCGAACAAAA ATAACTCTCT ACTTATTAAA CGCTCGCGTT  1980
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1980
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1980

1(1-4)  TGATTAGTAG ACTTGACATC ATAAGATAAA ATTTTCAACG GTGGATGTCT TGGCTCTCAT  2040
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2040
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2040

1(1-4)  ATCGATGAAG AACGCAGCAA AGTGCGATAA GCAATGCGAA TTGCAGGCCG TGAGTCATTA  2100
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2100
3(1-6)  .......... .......... .......... ..G....... .......... ..........  2100

1(1-4)  GAATTTCGAA AGCAACTTGC GCCTCCGCCT GGCGAGAGGC ATGTTTGCTT CAGTGTATTT  2160
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2160
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2160

1(1-4)  TCAACAATAC TGAAATAACT AACCACAAAC CTTGAAGTGA GTGAGCTGTC AAGCTCTCGT  2220
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2220
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2220

1(1-4)  TCACAACGTT TGGCAAGTAG TGTATTTACG TTACTCATTA AACCCGATCA CCCAGTGTGA  2280
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2280
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2280

1(1-4)  AGTTGTATAA TAGAGGGTAA ATAAATGCCA TAGGCGACTA CTTGAGAGTT ACTAAACTTG  2340
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2340
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2340

1(1-4)  TAACCATATC TGAAGTCAAG CAAGAGCACG CGCTGAACTT AAGCATATCA CTAAGCGCAG  2400
2(1-5)  .......... C......... .......... .......... .......... ..........  2400
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2400

1(1-4)  GTAAAAAGAA AAAAATAACT ATGATTGCCT CAGTAACGGC GAGTGAACCG GCAATAGCCC  2460
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460

1(1-4)  AAGATGAGAA CCGCAGCCCT TCGGGCTCGT GGGTTGTAAT CTAAAGAGCA GTCACTGACT  2520
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2520
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2520

1(1-4)  GGCTTTCCTG ACGCCCAAGT GTCTTGGAAT AGACCGCCAG GGAGGGTGAA AGCCCCGTAC  2580
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2580
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2580

1(1-4)  GGTGTCGGGA GAGCGCTAGG TGGCCGCTTG AAGAGTCGAG TTGTTCGGGA CTGCAGCTCT  2640
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640

1(1-4)  AAGTGGGAGG TAGACTTCTC CTAAGGCTAA ATAACTATGA GAGACCGATA GCGAACAAGT  2700
2(1-5)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2700
3(1-6)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2700
```

4.7 *Euplotes* sp. 3

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Euplotes* sp. 3 (ภาพที่ 16) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 3,627 คู่เบส



ภาพที่ 16 *Euplotes* sp. 3 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

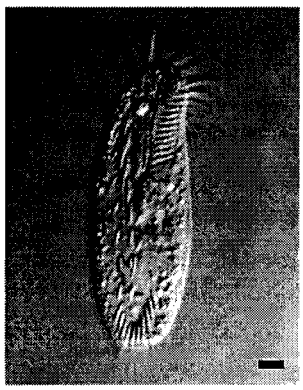
```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATACGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA   60
AGTATAAAGG TTACATACAA TGAAACTGCG AATGGCTCAT TCAAACAGTT ATAGTTTATT  120
TGGATTAAAA CATTTGTTTA AATGGATAAC CGTAGTAATT CTAGGGCTAA TACATGCGTT  180
ACGAGGGACT TTACGGAACC TCAGTATTTA TTAGATTTCA AACCAATATT CCGCAAGGTC  240
TACTGAGATG ATTCATGATA ACTTATCGGA TTGCTGGTCT TCCGGCAATG AACCATTCAT  300
GTTTCTGCTT CCCATCAGCT TGATGGTAGT GTATTGGACA ACCATGGCAT TCACGGGCTA  360
TCGGGGGATT AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCCGAGA AACGGCTACC ACTTCTACGG  420
AAGGCAGCAG GCGCGAAAAT TATCCAATCC TGATTCAGGG AGGTAGTGAA AGAAATAATG  480
AACTAGGATT TATCCTGGGG TCACAATGGG CTTGATTTGC AAACTTTCTA GCGAGGAACA  540
ATTGGAGGGC AAGTCTGGTG CCAGCAGCCG CGGTAATTCC AGCTCCAATA GTGTATATTA  600
ATGTTCCTGC AGTTATTCGA TGCTCGTAGT TGGATTTCTG GAGGCTGAGA CAGGAGGGCA  660
GCCAAGGTTG TCGCCAGTCT CTTCCTTCAT CCGCCTGTTA ACGTTGCCCG GGATTCACTT  720
CTCGGCTTCG GGCTCAGGTA CTTTTGTTTT TATTTTTACC CTTTCCTCTA TATTCATTTA  780
TATCTTCTTT TTGAGCAAAT TATAGTGTTT CAGGCAGGCG TGCGCCGGAA TACATTAGCG  840
TGGAATAATC GAATTGGACC GTGTATTCAC TATGTGAATT CTTCCTTATT TGTTGGTTCT  900
AAGGACACGG ATATGGTTAA TAGGGATAGT AATTTTCAGG GGAGGCATTA GTATTTAATT  960
TCCAGAGGTG AAATTCTTTG AAATATTAAA GACTAACTTA TGCGAAAGCA TTTATTTTGC 1020
CAATAATGTT TTCATTAATC ATTGAACGAA AGTTAGGGGA TCAAAGACGA TCAGATACCG 1080
TCCTAGTCTT AACCATAAAC ATTGCCGACT AGGGATCGGA GGGCGTGCAC ATTCCGCCTT 1140
CGGCACCTTA CGAGAAATCA AAGTCTTTTG GGTTCTGGGG GTAGTATGGT CGCAAGGCTG 1200
AAACTTAAAG GAATTGACGG AAGGGCACCA CCAGGAGTGG AGCTTGCGGC TCAATTTGAC 1260
TCAACACGGG AAATCTTACC AGGTCCAGAC ATAGCGAGGA TTGACAGATT GATAGCTCTT 1320
TCTTGATTCT ATGGGTATTT TTGGTGGTGC ATGGCCGTTC TTAGTTGGTG GAGTGATTTG 1380
TCTGGTTAAT TCCGTTAAAC GAACGAGACC TCAGCCTGCT AAATAGTTAC CTGTCTTTCT 1440
TTTCGAGACT TGATAACTTC TTAGAGGGAC GTTGTGTGCA GCCACAAGGA AGTTGAGGCA 1500
ATAACAGGTC TGTGATGCCC TTAGATGTCC TGGGCCGCAC GCGTGCTACA CTGATACGTA 1560
CAACGAGGTA TATGCATTCA TGCATCGTTG CTGCTCCGAA ATAGACACAG CTAAATCTTC 1620
TAAAATACGT ATCGTGCTGC GGATAGATCG TTGAAATTAT GGATCTTGAA GGTGGAATTC 1680
CTAGTAAGCG CGGGTCGTCA ACCCGCGTTG ATTACGTCCC TGCCCTTTGT ACACACCGCC 1740
CGTCGCTCCT ACCAATTTCG AGTGGCTCGG TGAACCTCTT TGGACTGTCG AGCAATCGCG 1800
AAATTAGAGT GAACCTGGTC ACTTAGAGGA AGGAGAAGTC GTAACAAGGT TTCCGTAGGT 1860
GAACCTGCGG AAGGATCAAT CTTAAATACT ATACTAACCT AAACTCAGCC AGTGCTCCAC 1920
GTGAGTAAAG CGAACAAAAC TTTATTACTT CTCAAACGCT TGCGTTTGTG CAGTAAAACT 1980
TAACATCCTA AAATTTTCAA CGGTGGACGT CTTGGCTCTC ATATCGATGA AGAACGCAGC 2040
AAAGTGCGAT AAGCAATGCG AATTGCAGGC CGTGAGTCAT TAGAATTTCG AAAGCAACTT 2100
GCGCCTCCGC CTGGCGAGAG GCATGTTTGC TTCAGTGTAT CTTTAACAAC AATTAAAGAC 2160
AACTAACCAA ATCATGAAGT GAGTGAGCTG TAAAGCTCTC GTTCACAACG TATGCAAGTA 2220
GCTGTATTTA CATTACTCAT TAACCCGATC ACCTTGTGTG AACTTGGTCT AATAGAGGGT 2280
AACTGCAGGA GTTCTACTCG ACTACTTGTG AGTTAGTAAA CTAAAATATC ATATCTGAAG 2340
TCAAGCAAGA GCACGCGCTG AACTTAAGCA TATCACTAAG CGCAGGTAAA AGAAAATAAC 2400
TATGATTGCC TCAGTAACGG CGAGTGAACC GGCAATAGCC CAAGATGAGA ACCGCTGCTC 2460
TGCGAGCACG CGGGTTGTAA TCTAAAGAGG GGTCGCTGAC AGGTTCTTCT GACGCCCAAG 2520
TGTCTTGGAA TAGACCGCCA GGGAGGGTGA AGCCCCGTA CGGTGTCGGA GGAGCGCTAG 2580
```

I26791742

```
GTGGCTTCTT GAAGAGTCGA GTTGTTCGGG ACTGCAGCTC TAAGTGGGAG GTAGACTTCT  2640
CCTAAGGCTA AATAACTATG AGAGACCGAT AGCGAACAAG TAATGTGAAT GAAAGATGAA  2700
AAATAAATTT CCTTCCGTAA GAACTTTGAA TGAACAAAAG AGAATTAAAG AGACCTGAAA  2760
CCGTTGAGGT GGAAGCGATA GGGAGTTTTC ATTTGGGATG GAGCTGGGAA GGCAGGTTCG  2820
CCTGCCCACT TGCTCCAGCC CGAAACGGTT GTTTATCTTT GAGCGCTTCA AAAGCCTGTC  2880
TGGGTCAGAG CTTCGGCATC ACTCAGGCAG AGAATGTTGC GGTCGAGGCT AAGGAACCCT  2940
TGATTTTTCC TACCGACCCG TCTTGAAACA CGGACCAAGG AGTCTAACAG ACATGCGATT  3000
ATGTTGGTGC TTTGGAAACC ATACATGAGC AATGAAAGTA AGCGGTGCCA ATCGTAAGAT  3060
GCAGCATCGG CCAGTTGTGA TCCTCTGGAG AAGCGTACTG GCTGCGAGCA TATCTGTTAG  3120
GACCCGAAAG ATGGTGAACT ACGCTTGAGT AGGGTGAAGC CAGGGGAAAC TCTTGTGGAA  3180
GCCCGAAGCG GTACTGACGT GCAAATCGTT CGTCAAACTT GAGTGTAGGG GCGAAAGACT  3240
AATCGAACCA TCTAGTAGCT GGTTCCCTCC GAAGTTTCTC TCAGGATAGC AAGGACAGTT  3300
AAAGCAGTTT TTATTTCAAT TAGGTAAAGA ATAAATGATT AGAAGCATCT GGGGGCGTTT  3360
TAGTGTTCTC GACTTAGTTC TCAAACTCTA AATATTTGTA ATAACTCGGT ATTCCTTAAC  3420
TGAAGATCGA GGCAGAATGC TTGTCCTTAG TGGGCCATTT TTGGTAAGCA GAACTGGCGA  3480
TGAGGGATGA ACCTAACTCT GGGTTAAGGT GCCCAACTGC ACGCGCATCA GATACCTCAA  3540
AGGGTGTGTT GATTCATTTA GACAGCAGGA CGGTGGCCAT GGAAGTCGGA ATCCGCTAAG  3600
GAGTGTGTAA CAACTCACCT GCCGAAT 3627
```

4.8 *Holosticha* sp. 3

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Holosticha* sp. 3 (ภาพที่ 17) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 3,558 คู่เบส



ภาพที่ 17 *Holosticha* sp. 3 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA   60
AGTATAAGCG ATTTATAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG  120
ATAATCGAAT TTTACATGGA TAACCGTGGT AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTTAAGCC  180
TGACTTTTTG GAAGGGCTGT ATTTATTAGA TACAAACCAA TATTCCTTCG GGTCTATTGT  240
GATGATTCAA TATAACTGAT CGAATCGCAT GGTCTTGCAC CGCGATAAAT CATTCAAGTT  300
TCTGCCCCAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCTTTCA CGGGTAACGG  360
AGGATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAAACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG  420
CAGCAGGCGC GTAAATTACC CAATCCTGAC TCAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACAGAC  480
CGGAGCCTCT GGTTCCGGGA TTGCAATGAG TACAATTTAG ACTCCTTAAC AAGTAACAAT  540
TGGAGGGCAA GTCTGGTGCC AGCAGCCGCG GTAATTCCAG CTCCAATAGC GTATATTAAA  600
GTTGTTGCAG TTAAAAAGCT CGTAGTTGGA TTTCTGTGAG AGTGCCGGTG TCGGCTGATG  660
CTTGTACGCA GGCGCTCTTA CATCCTTCTG TTAACTGTTC TTGGCATTTT ATTGCTGGTT  720
CAGGGCTCAG ATATTTTACC TTGAGAAAAT TAGAGTGTTT CAGGCAGGCT TATGCCGGAA  780
TACATTAGCA TGGAATAATG GAATAGGACC TGTGCGGCTC TCGGGTCGCC GGTCTCCGTT  840
GTTGGTTTCG GGGACTAATG TAATGATTAA TAGGGATAGT TGGGGGCATT AGTATTTAAT  900
AGTCAGAGGT GAAATTCTCG GATTTGTTAA AGACTAACTT ATGCGAAAGC ATTTGCCAAG  960
GATGTTTTCA TTAATCAAGA ACGAAAGTTA GGGGATCAAA GACGATCAGA TACCGTCCTA 1020
GTCTTAACCA TAAACTATGC CGACTAGGGA TCGGGGGCGA GTACTAACAG CCCTCGGCAC 1080
CTTATGAGAA ATCAAAGTCT TTGGGTTCTG GGGGGAGTAT GGTCGCAAGG CTGAAACTTA 1140
AAGGAATTGA CGGAAGGGCA CCACCAGGCG TGGAGCTTGC GGCTCAATTT GACTCAACAC 1200
GGGAAAACTT ACCAGGTCCA GACATAGGTA GGATTGACAG ATTGATAGCT CTTTCTTGAT 1260
TCTATGGGTG GTGGTGCATG GCCGTTCTTA GTTGGTGGAG TGATTTGTCT GGTTAATTCC 1320
GTTAACGAAC GAGACCTTAG CCTACTAACT AGTCGATTCA ACTTGGTTGA CTTTGACTTC 1380
```

```
TTAGAGGGAC TTTGTGTATC AAGCACAAGG AGGTTTGAGG CAATAACAGG TCTGTGATGC  1440
CCTTAGATGT CCTGGGCCGC ACGCGTGCTA CACTGATGCA TACAGCGAGC ACTTCCCGGC  1500
CCCGAAAGGC GGCTGGTAAT CAGCAATATG CATCGTGATG GGGATAGATC TTTGGAATTC  1560
TTGATCTTGA ACGAGGAATG CCAAGTAGGC GCAAGTCATT ACCTTGCGTC GATTAAGTCC  1620
CTGCCCTTTG TACACACTGC CCGTCGCTCC TACCGATTCG AGTGATCCGG TGAACCTTTT  1680
GGACCGGGGC CGCTTGCGGT TCTGGAAAAT CAAGTAAACC ACGTCACTTA GAGGAAGGAG  1740
AAGTCGTAAC AAGGTTTCCG TAGGTGAACC TGCGGAAGGA TCATTAACAC AAATTCACAC  1800
AATTCAACCA AGCCTACAGC AGTCGTGTAG CAGCTAGTCT GCGGCACACC GCAAACCTTA  1860
CCTAAAGGAA GCTAACTAAG CTACTTTACA ACCTAAATTT TCAACGGTGG ATGTCTAGGT  1920
TCCTACAACG ATGAAGAACG CAGCGAAGTG CGATAAGCAT TGCGAATTGC AGAACCGTGA  1980
GTCATCAGAT TTTTGAACGC AACTGGCGCC GGCTGGTTCT CCAGACGGCA TGCTTGTTTC  2040
AGTGTCTTAT TTCCCCATCA CCTACATCAT AATGCGAGGG ATGCCCTTCT CTCGTTAAGC  2100
ATGAAAGCGC TCTGTACTCT GCGAGCTACA GTCTTCGGAT GGTAGCGCTC AATGCAGCGG  2160
TCACATTGCT CATAATGTGA ACTCATTGAG AGCGGAGGCA GTCGGTAGGG CGAAAGCCTT  2220
GCTGGAGAGC TTAGGTACCC AAACTTCTAT TGTATCTGAA ATCAAGCAGG AGGACCCGCT  2280
GAACTTAAGC ATATCACTAA GCGGAGGAAA AGAAATCAAC TGAGATTGCC CTAGTACCGG  2340
CGAGGGAAGC GGCAAGAGCC CAGACTGGAA ATCTTCAGGG TTCCCCTGAC GAATTGTAAT  2400
CTAGGAGGCA TTACTCAACT GTCTACGGCG CAGAAGTGTC ATCGAACGGA CCGCCAGAGA  2460
GGGTGATAGC CCCGTATGTG GTGCCGTGGA CTAACGAGTG AGGTCTTAAA GAGTCGGGTT  2520
GCTTGGTATT GCAGCCCTAA GCGGGAGATA AACTTCTCCT AAGGCTAAAT ACATGTAGGA  2580
AACCGATAGC GAACAAGTAC TGTGAAGGAA AGATGAAAAG AACTTTGAAA AGAGAGTCAA  2640
AAGACCTGAA ACTGTTGAGA AGGAAACGGT AGAAGTGAAT ATGCGTTTGC CCCCGGTGAC  2700
GTCTGCCTAA CTACCCAGGG AAAGGGCACT GTAAAAAGGT CCTTAACTGG GGCTAGGGAA  2760
GCGGGCGGCT TGGGGACAGG CGAAAGGCAG GATGGGGTGG CGCATCCGCA AAGGCTTTCT  2820
GGACCTCGTG CTTCGGTGCA GTCCAGGGAT GCCGGTGGGC GCGTCGCCTG AGGTGCTTCG  2880
TGCGATCTTG CCAAAAAGGC TTTTACCGAC TCGTCTTGAA ACACGAACCA AGGAGTTTAC  2940
CAGACATGCA AGTGTGCTGG CGGAAAAACC AACACGCGAA ATGAAAGTGA CTGATGCCAA  3000
GCGCAAGCAG CAGCATCGAC CGACCATGAT TCTTCGATGA AAGGTTTGAG TAAGAGCATA  3060
TCTGTTAGGA CCCGAAAGAT GGTGAACTAT GCCTGAGTAG GGTGAAGTCA GGGGAAACTC  3120
TGATGGAAGC TCGTAGCGAT ACTGACGTGC AAATCGTTCG TCGAACTTGG GTATAGGGGC  3180
GAAAGACTAA TCGAACCATC TAGTAGCTGG TTCCCTCCGA AGTTTCCCTC AGGATAGCTA  3240
GGACAATAAT GCAGTTTTAT CAGGTAAAGC GAATGATTAG AGGCATCGGG GGCAAATTGC  3300
CCTTGACCTA TTCTCAAACT TTAAATTGGT AAGAACCTTG GCCTTTCTTA AGTGAGGCTC  3360
GAGGGCTCAA TGCGTGTCCT TAGTGGGCCA TTTTTGGTAA GCAGAACTGG CGATGAGGGA  3420
TGCTCCTAAC GTTGGGTTAA GGTGCCTAAC TGCACGCTCA TCAGACACCA CAAAGGGTGT  3480
TGGTTCATAT AGACAGCAGG ACGGTGGCCA TGGAAGTCGG AATCCGCTAA GGAGTGTGTA  3540
ACAACTCACC TGCCGAAT 3558
```

4.9 *Mesodinium* sp.

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Mesodinium* sp. (ภาพที่ 18) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 2,875 คู่เบส

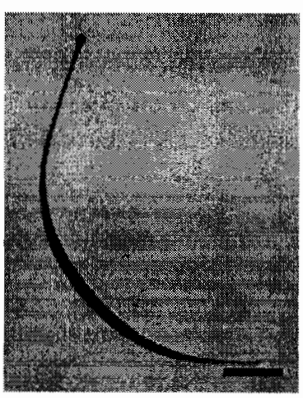
ภาพที่ 18 *Mesodinium* sp. (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA  60
AGTAATAGCT TTATAATGGT GAAACTGCAA ATGGCTCATC ACAACGGTTA TGATGTACCC  120
GGGATCTCCG ATGGATATTT CCAGTAACAC TAGAGCTAAT ACATGTTTCT GCGTTTATTA  180
GTTTCAAACA GAATCTGTCG CTGAGTCATG GTAAACGGTT GATCAGACTG ACATCCCGGA  240
```

```
ACAGTTTCCG CCCCATCAGC TTCGATGGTT GGGTATTGGC CTACCATTGC AACAACGGGT  300
GACGAGGAAT TAGGGTTTGA TTTCGGAGAG GGAGCCTGAG AAACGGCTAC CACATCTACG  360
GATGGCAGCA GGCGCGCAAA TTACCCAATG CAGACACTGT GAGGTAGTGA CGAGAAATAA  420
TAAAGCGAGG CTACTGTCTT GCTATTATAA TGAGGAATAA CTAAATGTCA TTCCTATTAG  480
CAACTGATGG GAAAGTCTGG TGCCAGCAGC CGCGGTAATA CCAGCTTCAG TAGCATATAT  540
TAAAATTGTT GCAGTTAAAA CGTCCGTAGT CTGTACGTCG TCAAAGACTT TACTACTGCT  600
TTATCTATTT TTAATTGAAT GGATGATAGT TAGTAGTTGC TCCCTTGATC AAAATAGAGT  660
GTTCAAGGTA GACCAAGTCT TCATAATTTC ACATGGAATT GGGTGAAGGA ACTTAAGAGT  720
TTAAGTTTCT CGTCTTAGGA TCATCTGGGG TCATTCGTAC TCGACCGCGA GAGGTGAAAT  780
TCTTGGACCG GCCGAAGACG ATCAGCAGCG AAAGCATCTG TCAGGGATGT TTTCTGCGAC  840
AAAGGACGAA GGTCAGGGTA TCGAAGACGA TTAGATACCG TCGTAGTCCT GACTGTAAAC  900
TATGCCGACT TGGATCTTGC AGAGTAAATA CTTTGTGAGA TCCAAACAGA AATGAAAGTG  960
TATGGGTTCT GGGGGTAGTA TGGACACAAG TCTGAAACTT GAAGGAATTG ACGGAAGAGC 1020
ACCATCAGAC GTGGAGCTTG CGGCTTAATT TGACTCAACG CGGGAAAACT TACCAGGTCA 1080
AGACATGGGC GTGATTGACA GGCTAATGAC CTTTCTCGAT TCCTTGGATG GTGGTGCATG 1140
GTCGCACTTA GTTGGTGCAG TGATTTGTCA GGTTTATTCC GGTAACGAAC GAGACCTCGG 1200
CCTTGTAACT AGCAATAGCT TCTTACAGGG ACAATGTCGG CTACGTCAAG GAAGTTCGAG 1260
GCAATTGCAG ATCTGGAATG CCCTTAGATG TCCTGGGTCG CACGCGTGCT ACAATGACGT 1320
CACGAGCAAG TTCATGTGAT GAAAATCATG TGAAATCATC AATCGTCGTC TTAAGGGACA 1380
GTCTCTTGTA ACTGTGGGAC TCTAACTAGG AATGTCTCGT AAGCACAAGT CAACATCTTG 1440
TGTTGATTAC GTCCCTGCTC TTTGTACACA CCGCCCGTCG CTCCTACCGA TCGAGTGATT 1500
AGATGAGTTT AGCGGACTCA CGGAAGTTAA ACAAATCTGA CCACTTAGAG GAAGGAGGAG 1560
TCGTAACAAG GTTTCCGTAG GTGAACCTGC GGAAGGATCA TTCCTGTATG TTTCGTGCCA 1620
TTCTTTTGAG TTCATCCGGT CGTCTGCCGC GTACGAGGTT TTTCTGCTTT GGAAATGTCG 1680
GGTGCTGAGC CGAGGAAGGA CGCAGTTAAG TGCGAAAATC AACCTGAATC GCAAAAACTG 1740
CTGATGGTCG GGTGTCTGAA TGCTCTAAGC CAGAGTTACT TATCACGTGC TAAATCTTTC 1800
ATTCTGGGTT TCATTTCCGT GTGATATGAA AATTCAAACG ATTATTTTCA CGTGATATGT 1860
AGCGGGCAAT GTAGTTAATT TAAGCTTATA AGTTAATACA CAAAGAAACT AAAAAGGATG 1920
GACCGAGTAG TGGCGAATGA AAAGTCCAGA GACCGATCCG AATTCAAGTT GTGGATCCCA 1980
AAATACTCAC GACTCCAAAC TACCTGAAAT GGTAGGCCAG AGAGAGTGAA AGCCTCTTCA 2040
GAGTCAAAGG TATTTTCAAA CAAACTGAGT AGTATTTGTT GGGAAGCAAA TACGAAGGGG 2100
TGATAAAAGT CATCCAAGTC TAAACAGGAC AGCACACCGA TAGCAAACAA GTATTGCGAA 2160
TAAAACATGA AAAGTACTCC TAGAGGAGGG TTAAACTCCA AAAAAGCAGA AAATAAAGTC 2220
GTTGGTGCCG TCGCGAAAGT GCACAACTTT TGCCCCTATC TGTCTTTTAG ACTTTTAGGC 2280
ACGGTATCAA CCTACCCGTC TTGAAACACG GACCGAGGAG TCTAACATTC CCGCGAGTTC 2340
AACATTTCAG ATGCTGAGCG TGCGAAGGCG AAAAGTATTT CCCTACTAGC AGAGCGCGTA 2400
TGTTAGGTCC CGAAAAATGG CGAACTATTT CTGCGCAGGC TGAAGTCATT GGAAACTTTG 2460
ATGGAAGGTC TCAACGGTTC TGACGTGCAA ATCGATCGTG CGACGCAGGT ATAGGGGCGA 2520
AAGACCAATC GAGCCATTTA GTTGCTGGTT CTCTCTGAAG TTTCCCTCAG GATAGCAATC 2580
CCTTCTGAGT AATGTGCGGT AAAGAGAATG ATTAGAGGTA TCTGGGAAAT AATTTCCTAG 2640
GCCGATTTTC AAACTCAGAA TGCGCATCAG TAATTCCTTC CTGAATTACT GAACTATCAA 2700
AGGGATTAGT GGGCCTTTTT TGGTAAGCAG ATCGGGCGAT GAGGATTCCT CCTAGAGTCG 2760
AGATAACGTG CTCAAAGCTA CATCAATTAA ATGATGTCAG TGCATATTGA CAGCAGGAGG 2820
GTGGCCATGG AAGTTGGAAT CCACTAAGGA GTGTGTAACA ACTCACCTGC CGAAT 2875
```

4.10 *Trachelocerca* sp. 1

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Trachelocerca* sp. 1 (ภาพที่ 19) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 2,930 คู่เบส

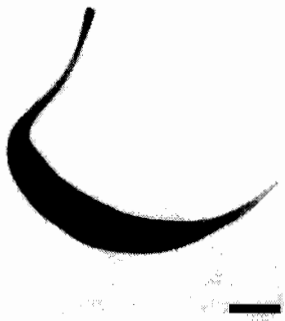


ภาพที่ 19 *Trachelocerca* sp. 1 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 100 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA   60
AGTGTAAGCT GATTAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT  120
GATGGGATTT AGATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCAA GTGTGTATTA  180
GATATCGCCC CTGTGGGAAT AACAGTACAC CCATACCGTG TCGGGAGATA CGGTGCATCA  240
TTCAAGTTTC TGCCCTATCA GCTTTCGATG GTAGTGTATT GGACTACCAT GGCAGTGACG  300
GGTAACGGAG AATTAGGGTT CGATTCCGGA GAGGGAGCCT GAGAGACGGC TACCACATCT  360
AAGGAAGGCA GCAGGCGCGC AAATTACCCA ATCCTAATTC AGGGAGGTAG TGACAAGAAA  420
TAACAACAAC GGGCTTTGTC TCGTTGATTG GAATGAGCAC AATGTAAAAG TCTTAGCAAG  480
GACCCACTGG AGGGCAAGTC TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC CAGTAGCGTA  540
TATTAAAGTT GTTGCAGTTA AAAAGCTCGT AGTTGGACTT GCACTCCTTT TGGAGCAGCC  600
TGGCAACTCC GCATGTCCTT AGGTGGATGG CGGAGACCTG CGGGCCCTTT ACCTTGAGAA  660
AATTAGAGTG TTTAAGGCAG GCCACGCCTG AATACTGCAG CTGGGAATAA TGCATCACGA  720
CTGTCTTGGC GAGGCAGCTC TACACTTTTA ATAGGAACGG TTGGGGGCAT TCGTACTCAG  780
CAGTCAGAGG TGAAATTCTT GGATTTGCTG AAGACGGACT AGTGCGAAAG CATTTGCCAA  840
GGATGTTTTC ATTAATCAAG AACGAAAGTT AAGGGATCAA AGACGATCAG ATACCGTCCT  900
AGTCTTAACC ATAAACGATG CCGACTAGGG ATTGGCAAGA GCGCACAAAT CTTGTCAGCA  960
CCTTACGAGA AATCAAAGTC TTTGGGTTCT GGGGGGAGTA TGGTCGCAAG ACTGAAACTT 1020
AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACAAGGA GTGGAGCTTG CGGCTTAATT TGACTCAACA 1080
CGGGGAAACT TACCAGGTCC AGACATAGTC AGGATTGACA GATTGAGAGC TCTTTCTTGA 1140
TCCTATGGGT GGTGGTGCAT GGCCGTTCTT AGTTGGTGGA GTGATCTGTC TGGTTAATTC 1200
CGATAACGAA CGAGACCTCA ACCTGCTAAA TAGTTCTACT CGGGTACAAC TTCTTAGAGG 1260
GACTTCCAAG GCTACTTGGA GGAAGTGTGA GGCAATAACA GGTCTGTGAT GCCCTTAGAT 1320
GTCCTGGGCC GCACGCGTGC TACACTGACG CAGGCATCCA GTTCCTCGAC TGAAAAGTCT 1380
AGGCAACCTT CAAACTGCGT CGTAGTTGGG ATTGACCCTT GCAATTCTTG GTCATGAACC 1440
AGGAATTCCT AGTAAGCGCA AGTCATCAGC TTGCACTGAT TAAGTCCCTG CCCTTTGTAC 1500
ACACCGCCCG TCGCTCCTAC CGATTCCGAG TGATGAGGTG AATTTCTCGG ACTCTGAAAG 1560
TTAAGTGAAC CTTATCACTT AGAGGAAGGA GAAGTCGTAA CAAGGTATCC GTAGGTGAAC 1620
CTGCGGATGG ATCATTCATA TCACTTTCTG TCGCATCAGA TCATCTCAAC TTGAAAGCTG 1680
CAACGATGGA TACCTAGGTT CTGGGGTCGA TGAAGGACGC AGCAAAGCGC GAAAGGCAAT 1740
GCGAATTGCA GGACTCCGAG AGTCATTGGA TTTCCCAACG CAACATGCAC TCTGGGGAAA 1800
CTCAGAGTAT GTTCCACTCA GGATCATCAG ACATACAAAT GCAAGTGCGG AGCTCTTGCG 1860
GAGTATCGAC TTGGATGTTT CCGTGATCTG AGTGGAGCAA GGTCACCCGC TGAACTTAAG 1920
CATATCAGTA GGCGGAGGAA AAGAAACTAA CAAGGATGGC CTCAGTAACG GCGAGTGAAG 1980
CGGCCAAAGC CCAAATGTCA ATCTTCGGAA TTGTAAGGGA CGACGTCTAA AGCGGAATGC 2040
TCACAAGTCA TCAGGAAAGA TGCATCAAGG AAGGTGAGAA TCCTGTGGTG AGCGTTCGGT 2100
GAGCGGCGAA GTCAGGGCAG AGTCGTGCAG CTTGGGATTG CTGTACAAAG CGGGAGGTAA 2160
ACTCCTCCTA AGGCTAAATA CACCCAGAGC CCGATAGCGC ACAAGTACCG TGAGGGAAAG 2220
GCGAAAAGCA CTTTGGAAAG AGAGTTAAAA GACTTGAACT CGTTGCAGAG GAAGCCGTGC 2280
GTCCATCCTG ATCCAATCCA AGGCTCCATT CCGTGGAGTT ATGGAGAGGG TTGCTTTGGG 2340
CGGACCGTCC CGTCTTGAAA CACGGGCCAA GGAGTCTATC TCAGTCGCGA GTCGGATCAT 2400
GCAAATGGTT AGGCGCAATG AAAGTGAACC CGCTAACACG GAGAAAGCGG CTGGGATGGG 2460
ACCCGAAAGA TGGTGAGCTA TGCTCGGGCA GGACGAAGCC AGGGGAAACT CTGGTGGAGG 2520
TTCGAGAAGG TGCTGACGTG CAAATCGCTC TGTGGACCTG AGTATAGGGG CGAAAGACTC 2580
ATCGAACCAT CTAGTAGCTG GTTCCCTCCG AAGTTTCCCT TAGGATAGCT GGGACTATCA 2640
GTGGCATCCG GTCAAGCTAA TGAGTAGAGG TTCGGGAGGA GTCACTCCTT CCTCCTATTA 2700
TCAAACTTTA AATGGGTGCG AATGGGCTCT TCCAGGCAGA GTCTATTGTT CATGAGTGTC 2760
CCTAGTGGGC CATTCCTGGT AAGCAGGACT GGCGATGAGG GCCCAACCTC AAGCTGTGTT 2820
AAGGCCACGA ACATCGTCGG CAGTAAAGGC GTTAGTCCAT TTAGACAGTA GGACGGTGGC 2880
CATGGAAGTC GGAACCCGCT AAGGAGTGTG TAACAACTCA CCTGCCGAAT  2930
```

4.11 *Trachelocerca* sp. 4

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Trachelocerca* sp. 4 (ภาพที่ 20) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 2,931 คู่เบส



ภาพที่ 20 *Trachelocerca* sp. 4 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 100 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAGA GATTAAGCCA TGCATGTGTA   60
AGTGTAAGCA AATTAATGGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT  120
GATGTATTTT TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGGA AGTGTGTATT  180
AGATATCGCC CCTGTGGGAA CAACAATACA CCCATACCGT ATCGGGAGAT ACGGTGCATC  240
ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC  300
GGGTAACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCACATC  360
TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTAATT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA  420
ATAACAACAA CGGGCTTTGT CTCGTTGATT GGAATGAGCA CAATGTAAAA GTCTTAGCAA  480
GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT  540
ATATTAAAGT TGTTGCGGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACT TGCACTCCTT TTGGAGCAGC  600
CTAGCAACTC CGCATGTCCT TAGTTGGATG GTGGAGACCT GCGGGCCCTT TACCTTGAGA  660
AAATTAGAGT GTTTAAGGCA GGCCACGCCT GAATACTACA GCTGGGAATA ATGCATCACG  720
ACTGTCTTGG CGAGGCAGCT CTACACTTTT AATAGGAACG GTTGGGGGCA TTCGTACTCA  780
GCAGTCAGAG GTGAAATTCT TGGATTTGCT GAAGACGGAC TAGTGCGAAA GCATTTGCCA  840
AGGATGTTTT CATTAATCAA GAACGAAAGT TAAGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC  900
TAGTCTTAAC CATAAACGAT GCCGCCTAGG GATTGGCCAG AACGAACAAA TCTGGTCAGC  960
ACCTTACGAG AAATCAAAGT CTTTGGGTTC TGGGGGGAGT ATGGTCGCAA GACTGAAACT 1020
TAAAGGAATT GACGGAAGGG CACCACAAGG AGTGGAGCTT GCGGCTTAAT TTGACTCAAC 1080
ACGGGGAAAC TTACCAGGTC CAGACATAGT CAGGATTGAC AGATTGAGAG CTCTTTCTTG 1140
ATCCTATGGG TGGTGGTGCA TGGCCGTTCT TAGTTGGTGG AGTGATCTGT CTGGTTAATT 1200
CCGATAACGA ACGAGACCTC AACCTGCTAA ATAGTTCTAC TCGGGTAAAA CTTCTTAGAG 1260
GGACTTCCAA GGCTACTTGG AGGAAGTGTG AGGCAATAAC AGGTCTGTGG TGCCCTTAGA 1320
TGTCCTGGGC CGCACGCGTG CTACACTGAC GCAGGCATCG AGTTCCTTGA CTGAGAAGTC 1380
TAGGCAACCT CCAAACTGCG TCGTAGTTGG GATTGACCCT TGCAATTCTT GGTCATGAAC 1440
CAGGAATTCC TAGTAAGCGC AAGTCATCAG CTTGCACTGA TTAAGTCCCT GCCCTTTGTA 1500
CACACCGCCC GTCGCTCCTA CCGATTCCGA GTGATGAGGT GAATTTCTCG GACCCTGAAA 1560
GTTAAGTGAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA ACAAGGTATC CGTAGGTGAA 1620
CCTGCGGATG GATCATTCAT ATCACTTTCT GTCGCATCAA ATCAGAAGAA AATTGCAACC 1680
TGCAACGATG GATACCTCGG TTCTGGGGTC GATGAAGGAC GCAGCAAAGC GCGAAAGGCA 1740
ATGCGAATTG CAGGACTCCG AGAGTCATTG GATTTCCCAA CGCAACATGC ACTCTGGGGA 1800
AACTCAGAGT ATGTTCCACT CAGGATCATG ACACATGTAA TTGCAAGTGC GTAGCTCTTG 1860
CCGAGTCTCT AATTGGCTTG TTCCAGTGAT CTGAGTGGAG CAAGGTTACC CGCTGAACTT 1920
AAGCATATCA GTAAGCGGTG GAAAAGAAAC TAACAAGGAT GGCCTCAGTA ACGGCGAGTG 1980
AAGCGGCCAA AGCCCAAATG TCAATCTTCG GAATTGTAAG GGACGACGCC AACGCTGCGC 2040
TGTCACAAGT CATCAGGAAA GATGCATCAC GGAAGGTGAG AATCCTGTGG TGGCAGTTCG 2100
GTGAACGGCC TAGTCAGGGC AGAGTCGTGC AGCTTGGGAT TGCTGTACAA AGTGGGAGGT 2160
AAACTCCTCC TAAGGCTAAA TACACCCAGA GCCCGATAGC GCACAAGTAC CGTGAGGGAA 2220
AGGCGAAAAG CACTTTGGAA AGAGAGTTAA AAGACTTGAA ATCGTTGCAG AGGAAGCCGT 2280
GCGTCCATGT GTTCCCAATC CAAGGCTTGA TTCCGTGAAG CTATGGAGAG GGTTTTTTGG 2340
GCGGACCGTC CCGTCTTGAA ACACGGGCCA AGGAGTCTAT CTCAGTCGCG AGTCGGATCA 2400
TGCAAATGGT TAGGCGTAAT GAAAGTGAAC CCGCTAACAC GGAGAAAGCG GTTGGGATGG 2460
GACCCGAAAG ATGGTGAGCT ATGCTCGGGC AGGACGAAGC CAGGGGAAAC TCTGGTGGAG 2520
GTTCGAGAAG GTGCTGACGT GCAAATCGCT CTGTGGACCT GAGTATAGGG GCGAAAGACT 2580
CATCGAACCA TCTAGTAGCT GGTTCCCTCC GAAGTTTCCC TTAGGATAGC TGGGACCTTC 2640
AGTGGCATCC GGTCAAGCTA ATGAGTAGAG GTTCGGGAGG AGTCACTCCT TCCTCCTATT 2700
ATCAAACTTT AAATGGGTGC GAATGGGCTC TTCCAGGCAG AGTCTATTGT TCATGATTGT 2760
CCCTAGTGGG CCATTCCTGG TAAGCAGGAC TGGCGATGAG GGCCCAACCT CAAGCTGCGT 2820
TAAGGCCACG AACATCGTCG GCAGTAAAGG CGTTAGTCCA TTTAGACAGT AGGACGGTGG 2880
CCATGGAAGT CGGAACCCGC TAAGGAGTGT GTAACAACTC ACCTGCCGAA T 2931
```

4.12 *Trachelocerca* sp. 5

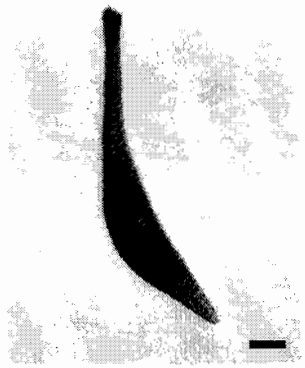
ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Trachelocerca* sp. 5 (ภาพที่ 21) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 2,807 คู่เบส

ภาพที่ 21 *Trachelocerca* sp. 5 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 50 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCACGTGTA   60
AGTGTAAACG AATGTGGGAC TGCGAATGGC TCATTAAAAC AGTGATAGTT TATTTGATGG  120
ATTCCAGATG GATAACCGTA GTAATTCTAG AGCTAATACA TGCTTGTGTT TATTAGATAT  180
CGTCCCTGTG GGAAGAACAG TAAGCGAGTA CCGCGTCGGG AGACGCGGTG CATCATTCAA  240
GTTTCTGCCC TATCAGCTTT GGATGGTAGT GTATTGGACT ACCATGGCAG TGACGGGTAC  300
GGGGAATTTG GGTTTTATTC CGGAGAGGGA GCCTGAGAGA CGGCTACCAC ATCTAAGGAA  360
GGCAGCAGGC GCGCAAATTA CCCAATCCTA ACCTAGGGAG GTAGTGACAA GAAATAGTAA  420
CAACGGGCTT CGTCTCGTTG ATTAAAATGA GCACAATGTA AAAGTCTTAG CTAGGACCGA  480
CTGGAGGGCA AGTCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTAG CGTATATTAA  540
AGTTGTTGCA GTTAAAAAGC TCGTAGTTGG ACCTGAGCCT AGCAACTCTG CATGTCCTTG  600
ACTGGATGGC GGAGACCTGC GGGCCCTTTA CCTTGAGAAA ACTAGAGTGT TTAAGGCAGG  660
CGACGCCTGA ATACTGCAGC TGGGAATAAT GCGAACGACT GTCTTGGCGA GGCAGCTCCA  720
CACCTTAAAT AGGAACAGTT GGGGGCATTC GTACTCAGCA GTCAGAGGTG AAATTCTTGG  780
ATTTGCTGAA GACGGACTAG TGCGAAAGCA TTTGCCAAGG ATGTTTTCAT TAATCAAGAA  840
CGAAAGTTAA GGGATCCAAG ACGATCAGAT ACCGTCCTAG TCTTAACCAT AAACGATGCC  900
GACTAGGGAT CGGGGAGAAC GCACAGATCT CCTCGGCACC TTACGAGAAA TCAAAGTCTT  960
TGGGTTCTGG GGGGAGTATG GTCGCAAGAC TGAAACTTAA AGGAATTGAC GGAAGGGCAC 1020
CACAAGGAGT GGAGCCTGCG GCTTAATTTG ACTCAACACG GGGAAACTTA CCAGGTCCAG 1080
ACATAGCGAG GATTGACAGA TTGAGAGCTC TTTCTTGATC CTATGGGTGG TGGTGCATGG 1140
CCGTTCCTAG TTGGTGGAGT GATCTGTCTG GTTAATTCCG ATAACGAACG AGACCTCAAC 1200
CTGCTAAATA GTCCAACTTC TTAGAGGGAC TTCCAAGGCT ACTTGGAGGA AGTGTGAGGC 1260
AATAACAGGT CTGTGATGCC CTTAGATGTC CTGGGCCGCA CGCGCGCTAC ACTGACGCAA 1320
GCAGCGAGTT CCTGGACTGA AAAGCCTAGG CAACCTCGAA ACTGCGTCGT AGTCGGGATT 1380
GACCCTTGCA ATTCTTGGTC ATGAACTAGG AATTCCTAGT AAGCGCAAGT CATCAGCTTG 1440
CACTGATTAA GTCCCTGCCC TTTGTACACA CCGCCCGTCG CTCCTACCGA TTCCGAGTGA 1500
CAAGGTGAAC CTTTCGGACC CTGGAAGTCA AGTAAACCTT ATCACTTAGA GGAAGGAGAA 1560
GTCGTAACAA GGTATCCGTG GGTGAACCTG CGGATGGATC ATTAGCACCC ACTCGCCGCA 1620
CGCTGTCCCG CAATTCTCCA ACGAGCAGCT CCAACCATGG ATACCTGGGC TCTGGAGTCG 1680
ACGAAGGACG CAGCGAACCG CGATAGGCAA TGCGAATCGC AGGGCTCCGA GAGTCATCAG 1740
ATCTCCCAAC GTGTTCCGCT CAGGACCATG AACATCCAAG TGCGAGCGCG CCGCCCTCGC 1800
CGAGTGAGCG AGCCGAGCAG CCGGTGGTCT GAGCGGAGCA AGGCAACCCG CCGAACTTAA 1860
GCATATCAGT AAGCGGAGGA AAAGAAACTA ACCAGGATGG CCCTAGTAAC GGCGAGTGAG 1920
GCGGCCGCAG CCCAACTGTA AATCTTCGGA ATTGTAAGGG ACGACGCCAA CTCCCGGCCC 1980
CTCACGAGTC ATCAGGAAGG ATGCATCGCG GAGGGTGACA ATCCCGTGCT GAGAGGCAGG 2040
GCAACGGCGA AGTCAGCGCG GAGTCGTGCA GCTTGGGATT GCTGTACAAA GCGGGAGGTA 2100
AACTCCTCCT AAGGCTAAAT GCTCCCAGAG CCCGATAGCG CACAAGTACA GTGATGGAAA 2160
GGCGAAAAGC ACTTTGGAAA GAGAGTTAAA AGACTTGAAA TGGTTGGAGA GGAAGCCGTG 2220
TGTCTATCCT AGGCATACCG TCCCGTCTTG AAACACGGGC CAAGGAGTCC ATCTCAGCTG 2280
CGAGTCCACG CGCAATGAAA GTGAGCCCGA TAACACGGAG AAAGCAGCTG GGCTGGGACC 2340
CGAAAGATGG TGAGCTATGC TCGGGCAGGA CGAAGCCAGG AGAAATTCTG GTGGAGGTTC 2400
GAGAAGGTGC TGACGTGCAA ATCGCTCTGT GGACCTGAGT ATAGGGGCGA AAGACTCATC 2460
GAACCATCTA GTAGCTGGTT CCCTCCGAAG TTTCCCTCAG GATAGCTGGA ACCTTTAGTG 2520
GCATCCGGTA AAGCTAATGA GTAGAGGCTA GGGAGGAGTC ACTCCTTTCT CCTATTATCA 2580
```

4.12 *Trachelocerca* sp. 5

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Trachelocerca* sp. 5 (ภาพที่ 21) จำนวน 1 สาย ที่ความยาว 2,807 คู่เบส



ภาพที่ 21 *Trachelocerca* sp. 5 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 50 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCACGTGTA   60
AGTGTAAACG AATGTGGGAC TGCGAATGGC TCATTAAAAC AGTGATAGTT TATTTGATGG  120
ATTCCAGATG GATAACCGTA GTAATTCTAG AGCTAATACA TGCTTGTGTT TATTAGATAT  180
CGTCCCTGTG GGAAGAACAG TAAGCGAGTA CCGCGTCGGG AGACGCGGTG CATCATTCAA  240
GTTTCTGCCC TATCAGCTTT GGATGGTAGT GTATTGGACT ACCATGGCAG TGACGGGTAC  300
GGGGAATTTG GGTTTTATTC CGGAGAGGGA GCCTGAGAGA CGGCTACCAC ATCTAAGGAA  360
GGCAGCAGGC GCGCAAATTA CCCAATCCTA ACCTAGGGAG GTAGTGACAA GAAATAGTAA  420
CAACGGGCTT CGTCTCGTTG ATTAAAATGA GCACAATGTA AAAGTCTTAG CTAGGACCGA  480
CTGGAGGGCA AGTCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTAG CGTATATTAA  540
AGTTGTTGCA GTTAAAAAGC TCGTAGTTGG ACCTGAGCCT AGCAACTCTG CATGTCCTTG  600
ACTGGATGGC GGAGACCTGC GGGCCCTTTA CCTTGAGAAA ACTAGAGTGT TTAAGGCAGG  660
CGACGCCTGA ATACTGCAGC TGGGAATAAT GCGAACGACT GTCTTGGCGA GGCAGCTCCA  720
CACCTTAAAT AGGAACAGTT GGGGGCATTC GTACTCAGCA GTCAGAGGTG AAATTCTTGG  780
ATTTGCTGAA GACGGACTAG TGCGAAAGCA TTTGCCAAGG ATGTTTTCAT TAATCAAGAA  840
CGAAAGTTAA GGGATCCAAG ACGATCAGAT ACCGTCCTAG TCTTAACCAT AAACGATGCC  900
GACTAGGGAT CGGGGAGAAC GCACAGATCT CCTCGGCACC TTACGAGAAA TCAAAGTCTT  960
TGGGTTCTGG GGGGAGTATG GTCGCAAGAC TGAAACTTAA AGGAATTGAC GGAAGGGCAC 1020
CACAAGGAGT GGAGCCTGCG GCTTAATTTG ACTCAACACG GGGAAACTTA CCAGGTCCAG 1080
ACATAGCGAG GATTGACAGA TTGAGAGCTC TTTCTTGATC CTATGGGTGG TGGTGCATGG 1140
CCGTTCCTAG TTGGTGGAGT GATCTGTCTG GTTAATTCCG ATAACGAACG AGACCTCAAC 1200
CTGCTAAATA GTCCAACTTC TTAGAGGGAC TTCCAAGGCT ACTTGGAGGA AGTGTGAGGC 1260
AATAACAGGT CTGTGATGCC CTTAGATGTC CTGGGCCGCA CGCGCGCTAC ACTGACGCAA 1320
GCAGCGAGTT CCTGGACTGA AAAGCCTAGG CAACCTCGAA ACTGCGTCGT AGTCGGGATT 1380
GACCCTTGCA ATTCTTGGTC ATGAACTAGG AATTCCTAGT AAGCGCAAGT CATCAGCTTG 1440
CACTGATTAA GTCCCTGCCC TTTGTACACA CCGCCCGTCG CTCCTACCGA TTCCGAGTGA 1500
CAAGGTGAAC CTTTCGGACC CTGGAAGTCA AGTAAACCTT ATCACTTAGA GGAAGGAGAA 1560
GTCGTAACAA GGTATCCGTG GGTGAACCTG CGGATGGATC ATTAGCACCC ACTCGCCGCA 1620
CGCTGTCCCG CAATTCTCCA ACGAGCAGCT CCAACCATGG ATACCTGGGC TCTGGAGTCG 1680
ACGAAGGACG CAGCGAACCG CGATAGGCAA TGCGAATCGC AGGGCTCCGA GAGTCATCAG 1740
ATCTCCCAAC GTGTTCCGCT CAGGACCATG AACATCCAAG TGCGAGCGCG CCGCCCTCGC 1800
CGAGTGAGCG AGCCGAGCAG CCGGTGGTCT GAGCGGAGCA AGGCAACCCG CCGAACTTAA 1860
GCATATCAGT AAGCGGAGGA AAAGAAACTA ACCAGGATGG CCCTAGTAAC GGCGAGTGAG 1920
GCGGCCGCAG CCCAACTGTA AATCTTCGGA ATTGTAAGGG ACGACGCCAA CTCCCGGCCC 1980
CTCACGAGTC ATCAGGAAGG ATGCATCGCG GAGGGTGACA ATCCCGTGCT GAGAGGCAGG 2040
GCAACGGCGA AGTCAGCGCG GAGTCGTGCA GCTTGGGATT GCTGTACAAA GCGGGAGGTA 2100
AACTCCTCCT AAGGCTAAAT GCTCCCAGAG CCCGATAGCG CACAAGTACA GTGATGGAAA 2160
GGCGAAAAGC ACTTTGGAAA GAGAGTTAAA AGACTTGAAA TGGTTGGAGA GGAAGCCGTG 2220
TGTCTATCCT AGGCATACCG TCCCGTCTTG AAACACGGGC CAAGGAGTCC ATCTCAGCTG 2280
CGAGTCCACG CGCAATGAAA GTGAGCCCGA TAACACGGAG AAAGCAGCTG GGCTGGGACC 2340
CGAAAGATGG TGAGCTATGC TCGGGCAGGA CGAAGCCAGG AGAAATTCTG GTGGAGGTTC 2400
GAGAAGGTGC TGACGTGCAA ATCGCTCTGT GGACCTGAGT ATAGGGGCGA AAGACTCATC 2460
GAACCATCTA GTAGCTGGTT CCCTCCGAAG TTTCCCTCAG GATAGCTGGA ACCTTTAGTG 2520
GCATCCGGTA AAGCTAATGA GTAGAGGCTA GGGAGGAGTC ACTCCTTTCT CCTATTATCA 2580
```

```
AACTTTAAAT GGGTGCGAGC GCCCTCGTCT AGGCAGAGGG CGCTGTTCAT TGGAGTTCCT  2640
AGTGGGCCAA CCCTGGTAAG CAGGACTGGC GATGAGGGTC CAACCTCAAG CAGCGTTAAG  2700
GCCACGAACA TCGCCGCCAG TAAAGGCGTT AGTCCATTTA GACAGTAGGA CGGTGGCCCT  2760
GGAAGTCGGA ACCCGCTAAG GAGTGTGTAA CAACTCACCT GCCGAAT 2807
```

4.13 *Trachelocerca* sp. 7

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Trachelocerca* sp. 7 (ภาพที่ 22) จำนวน 1 สาย ที่มีความยาว 2,931 คู่เบส

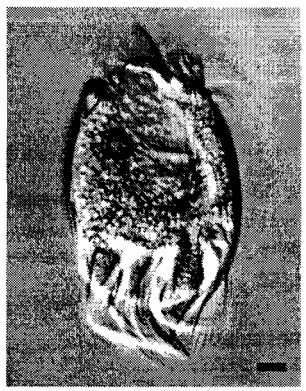
ภาพที่ 22 *Trachelocerca* sp. 7 (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 50 µm)

```
ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA   60
AGTGTAAGCT GATTAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT  120
GATGGATTTC TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCG CAGTGTGTAT  180
TAGATATCGC CCCTGTGGGA ACAACGATAC ACCCATACCG TGTCGGGAGA TACGGTGCAT  240
CATTCAAGTT TCTGCCCTAT CAGCTTTCGT AGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC  300
GGGTAACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCACATC  360
TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTAATC CAGGGAGGTA GTGACAAGAA  420
ATAACAACAA CGGGCTTTGT CTCGTTGATT GGAATGAGCA CAATGTAAAA GTCTTAGCTA  480
GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT  540
ATATTAAAGT TGTTGCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACT TGCACTCCTT TTGGAGCAGC  600
CTAGCAACTC CGCATGTCCT TAATTGGATG GCGGAGACCT GCGGGCCCTT TACCTTGAGA  660
AAACTAGAGT GTTTAAGGCA GGCCACGCCT GAATACTGCA GCTGGGAATA ATGCATCACG  720
ACTGTCTTGG CGAGGCAGCT CTACACTTTT AATGGGAACG GTTGGGGGCA TTCGTACTCA  780
GCAGTCAGAG GTGAAATTCT TGGATTTGCT GAAGACGGAC TAGTGCGAAA GCATTTGCCA  840
AGGATGTTTT CATTAATCAA GAACGAAAGT TAAGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC  900
TAGTCTTAAC CATAAACGAT GCCAACTAGG GATTGGCAAG AACGTACAAA TCTTGTCAGC  960
ACCTTACGAG AAATCAAAGT CTTTGGGTTC TGGGGGGAGT ATGGTCGCAA GACTGAAACT 1020
TAAAGGAATT GACGGAAGGG CACCACAAGG AGTGGAGCCT GCGGCTTAAA TTGACTCAAC 1080
ACGGGGAAAC TTACCAGGTC CAGACATAGT CAGGATTGAC AGATTGAGAG CTCTTTCTTG 1140
ATCCTATGGG TGGTGGTGCA TGGCCGTTCT TAGTTGGTGG AGTGATCTGT CTGGTTAATT 1200
CCGATAACGA ACGAGACCTC AACCTGCTAA ATAGTTCTAC TCGGGTACAA CTTCTTAGAG 1260
GGACTTCCAA GGTTACTTGG AGGAAGTGTG AGGCAATAAC AGGTCTGTGA TGCCCTTAGA 1320
TGTCCTGGGC CGCACGCGCG CTACACTGAC GCAGGCATCG AGTTCCTTGA CTGAGAAGTC 1380
TAGGCAACCT CCAAACTGCG TCGTAGTTGG GATTGACCCT TGCAATTCTT GGTCATGAAC 1440
CAGGAATTCC TAGTAAGCGC AAGTCATCAG CTTGCACTGA TTAAGTCCCT GCCCTTTGTA 1500
CACACCGCCC GTCGCTCCTA CCGATTCCGA GTGATGAGGG GAATTTCTCG GACCCTGAAA 1560
GTTAAGTGAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA ACAAGGTATC CGTAGGTGAA 1620
CCTGCGGATG GATCATTCAT ATGACTTTCT GTTTCATCAG ATCATTCTAA AATTGAAAGC 1680
TGCAACGATG GATACCTAGG TTCTGGGGTC GATGAAGGAC GCAGCAAAGC GCGAAAGGCA 1740
ATGCGAATTG CAGGACTCCG AGAGTCATTA GATTTCCCAA CGCAACATGC ACTCTGGGGA 1800
AACTCAGAGT ATGTTCCACT CAGGATCATG ATACATAGAA ATGCAGGCGC GTAGCACTTG 1860
CTGAGTCCAT GATTGGATGT TTCAGTGATC TGAGTGGAGC AAGGCCACCC GCTGAACTTA 1920
AGCATATCAG TAGGCGGAGG AAAAGAAACT AACAAGGATG GCCTCAGTAA CGGCGAGTGA 1980
AGCGGCCAAA GCCCAAATGT CAATCTTCGG AATTGTAAGG GACAACGCCA ACGCCTTGCT 2040
GTCACAAGTC ATCAGGAAAG ATGCATCAAG GAAGGTGAGA ATCCTGTGGT GACAGTGAGG 2100
TTAACGGCGA AGTCAAGGCA GAGTCGTGCA GCTTGGGATT GCTGTACAAA GTGGGAGGTA 2160
AACTCCTCCT AAGGCTAAAT ACACCCAGAG CCCGATAGCG CACAAGTACC GTGAGGGAAA 2220
```

```
GGCGAAAAGC ACTTTGGAAA GAGAGTTAAA AGACTTGAAA TCGTTGCAGA GGAAGCCGTG  2280
CGTCCATATT GTCTCAATCC AAGGCTTCAT TCCGTGAAGT TATGGAGAGA GTTTTCTTGG  2340
GCGGACCGTC CCGTCTTGAA ACACGGGCCA AGGAGTCTAT CTCAGTCGCG AGTCGGATCA  2400
TGCAAATGGT TAGGCGCAAT GAAAGTGAAC CCGCTAACGC GGAGAAAGCG GCTGGGATGG  2460
GACCCGAAAG ATGGTGAGCT ATGCTCGGGC AGGACGAAGC CAGGGGAAAC TCTGGTGGAG  2520
GTTCGAGAAG GTGCTGACGT GCAAATCGCT CTGTGGACCT GAGTATAGGG GCGAAAGACT  2580
CATCGAACCA TCTAGTAGCT GGTTCCCTCC GAAGTTTCCC TTAGGATAGC TGGGACCATC  2640
AGTGGCATCC GGTCAAGCTA ATGAGTAGAG GTTCGGGAGG AGTCACTCCT TCCTCCTATT  2700
ATCAAACTTT AAATGGGTGC GAATTGGCTC TTCCAGGCAG AGTCCATTGT TCATGTGCGT  2760
CCCTAGTGGG CCAATCCTGG TAAGCAGGAC TGGCGATGAG GGTTCAACCT CAAGCTGCGT  2820
TAAGGCCACA AACATCGTCG GCAGTAAAGG TGTTAGTCCA TTTAGACAGT AGGACGGTGG  2880
CCATGGAAGT CGGAAACCGC TAAGGAGTGT GTAACAACTC ACCTGCCGAA T 2931
```

4.14 *Uronychia* sp.

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ *Uronychia* sp. (ภาพที่ 23) จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(3-1), 2(3-2) และ 3(3-3) ซึ่งมีความยาว 3,480, 3,542 และ 3,542 คู่เบส ตามลำดับ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกับสายบนแสดงสัญลักษณ์เป็นจุด (.) ช่องว่าง (gap) แสดงสัญลักษณ์เป็น (-) และตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกับสายบนแสดงเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างไปของสายนั้นๆ



ภาพที่ 23 *Uronychia* sp. (แถบเทียบขนาดเท่ากับ 10 µm)

```
1(3-1)  ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA  60
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  60
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  60

1(3-1)  AGTATAAGCG ATATACAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG  120
2(3-2)  .......... ...C...... .......... .......... .......... ..........  120
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  120

1(3-1)  ATAATGGAAT TTTATATGGA TAACCGTAGT AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTTTAGCC  180
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  180
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  180

1(3-1)  CGACTTATCG GAAGGGCTGT ATTTATTAGA TAACAAACCA ATATTCCTTC GGGTCTATTG  240
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  240
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  240

1(3-1)  TGATGAATCA TAGTAACTGT TCGAATCGCA TGGGCTTTGC CCGCGATAAA TCATTCAAGT  300
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  300
3(3-3)  .......... ........A. .......... .......... .......... ..........  300

1(3-1)  TTCTGCCCCA TCAGCTTGAT GGTAGTGTAT  GGACTACCA TGGCACTCAC GGGTAACGGA  359
2(3-2)  .......... .......... .......... T......... .......... ..........  360
3(3-3)  .......... .......... .......... T......... .......... ..........  360
```

```
1(3-1)  GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAAACGG CTACCACATC TAAGGAAGGC  419
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  420
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  420

1(3-1)  AGCAGGCGCG TAAATTACCC AATCCTAATT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACAGGCC  479
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .....G.... ..........  480
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  480

1(3-1)  GGTGCTTTGC ATCGTGTTTG CAATGAGTTT AATCCAAATC CCTTTTCGAG TAACAATTGG  539
2(3-2)  .........T .......... .......... .......... .......... ..........  540
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  540

1(3-1)  AGGGCAAGTC TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC CAATAGCGTA TATTAAAGTT  599
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  600
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... ....G..... ..........  600

1(3-1)  GTTGCAGTTA AAAAGCTCGT AGTTGGATTT CTGAAGGCGC GACAATGTCC GCTGATTGCG  659
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  660
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  660

1(3-1)  TGTGCAGCGT TGCTCTTTCA TCCTTCTGTT AACGTTTCTT GGCATTTATT TGCTGGTTTC  719
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  720
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  720

1(3-1)  GGGCTCAGAT ATTTTACCTT GAGAAAATTA GAGTGTTTCA GGCAGGCTTG TGCTGGAATA  779
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  780
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  780

1(3-1)  CATTAGCATG GAATAATGGA AAAGGACTTT GGTCTCTTTT GTTGGTTTGA GGGACCTCAG  839
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  840
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  840

1(3-1)  TAATGATTAA TAGGGATAGT TGGGGGCATT AGTATTTAAT TGTCAGAGGT GAAATTCTTA  899
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... ....G..... ..........  900
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  900

1(3-1)  GATTTGTTAA AGACTAACTT ATGCGAAAGC ATTTGCCAAG GATGTTTTCA TTAATCAAGA  959
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  960

1(3-1)  ACGAAAGTTA GGGGATCAAA GACGATCAGA TACCGTCCTA GTCTTAACCA TAAACTATGC 1019
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1020
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1020

1(3-1)  CAACTAGGGA TCGGAGGAGT GTGTTTTTCC TCCTTCGGCA CCTTATGAGA AATCAAAGTC 1079
2(3-2)  .......... ......A... .......... .......... .......... G......... 1080
3(3-3)  .......... .......... .......... C......... .......... .......... 1080

1(3-1)  TTTGGGTTCT GGGGGGAGTA TGGTCGCAAG GCTGAAACTT AAAGGAATTG ACGGAAGGGC 1139
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1140
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1140

1(3-1)  ACCACCAGGA GTGGAGCTTG CGGCTCAATT TGACTCAACG CGGGGAAACT TACCAGGTCC 1199
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1200
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1200

1(3-1)  AGACATAGGA AGGATTGACA GATTGATAGC TCTTTCTTGA TTCTATGGGT GGTGGTGCAT 1259
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1260
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1260

1(3-1)  GGCCGTTCTT AGTTGGTGGA GTGATTTGTC TGGTTAATTC CGTTAACGAA CGAGACCTTA 1319
2(3-2)  .......... .......... ......C... .......... .......... .......... 1320
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1320

1(3-1)  GCCTGCTAAA TAGTCAATTT CCTATCAGGA ATTTCGACTT CTTAGAGGGA CTTTGTGATC 1379
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1380
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .......... 1380
```

```
1(3-1)  TAAACACAAG GAAGTTTGAG GCAATAACAG GTCTGTGATG CCCTTAGATG TCCTGGGCCG  1439
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1440
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1440

1(3-1)  CACGCGTGCT ACACTGACGC ATACAGCGAG CACCTTCCTG CACCGCGAGG TTGCAGGTAA  1499
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1500
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1500

1(3-1)  TCTGCAATAT GCGTCGTGAT GGGGATAGAT CTTTGGAATT ATAGATCTTG AACGAGGAAT  1559
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1560
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1560

1(3-1)  TCCTAGTAAG CGCAAGTCAT CATCTTGCGC TGATTAAGTC CCTGCCCTTT GTACACACCG  1619
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1620
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1620

1(3-1)  CCCGTCGCTC CTACCGATTT CGAGTGTCAC GGTGAGCCAT TTGGACTGCG CGTTCTCCTC  1679
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1680
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1680

1(3-1)  GTGGGAGCTG CGCGGAAAAT CTAGCAAACC ATATCACTTA GAGGAAGGAG AAGTCGTAAC  1739
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1740
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1740

1(3-1)  AAGGTTTCCG TAGGTGAACC TGCGGAAGGA TCATTCACAC AAATCCACAT ACCTTAACTT  1799
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1800
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1800

1(3-1)  AGCCATTACA AGCTGTGCGA GACTCTTAGG AGAATCGCCA GCTACACAAA CATTTCTCAA  1859
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1860
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1860

1(3-1)  ACGGGAAATA ACTAAGCTCT TCCACTATAT CTAAAATCTC AACGATGGAT ATCTTGGCTC  1919
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1920
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1920

1(3-1)  CCACTACGAT GAAGAACGCA GCGAAGTGCG ATAAGCAATG CGAATTGCAG AACCGTGAAT  1979
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1980
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  1980

1(3-1)  CATTAGAATT TTGAACGCAA ATGGCGCCAT TCGGTTCTCC GTTTGGCACA CTTGTTTCAG  2039
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2040
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2040

1(3-1)  TGTCTTTTTA AACTTGACCT AAATCATAAT GCAAGGGATG TAGTTCTCTT GTTAAATGCG  2099
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2100
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2100

1(3-1)  AAAGCATACT GATCTTTGCA TGTGACAGTT CGCTGTCACA CTCAATGCAG CAGTCACCTT  2159
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2160
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2160

1(3-1)  GTGTGAACTC ATTGAGAGTA AAGTCAGAGC GACGAAAGTT GCGTTATGCT TAGAGCTACT  2219
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2220
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2220

1(3-1)  AACTTTTTCT GTATCTGAAA TCAAGTGAGA TTACCCGCTG AACTTAAGCA TATCACTAAG  2279
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2280
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... C.........  2280

1(3-1)  CGGAGGAAAA GAAACTAACT AAGATTGCCT CAGTAGCGGC GAGCGAAGCG GCAAGAGTCC  2339
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2340
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2340

1(3-1)  AACCTGTAAA TCTCTGGTCT TCGGCCAGCG AATTGTAATC TACAGGGGCG CGCTGACAAG  2399
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2400
3(3-3)  .......... ....C..... .......... .......... .......... ..........  2400
```

```
1(3-1)  TGAGTTGGTG CATAAGTGCC TTGGCATAGG CCGCCAGAGA AGGTAACAGC CCTGTCTTTG  2459
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2460

1(3-1)  GTGCTAACTT GCTCTAAGTG TGCTTACGAC GAGTCGGGTT GTTTGGTACC TGCAGCCCTA  2519
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2520
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2520

1(3-1)  ATTGGGAGAT AAACTTCTTC TAAGACTAAA TACTCGTGGG AGACCGATAG CGAACAAGTA  2579
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2580
3(3-3)  .......... .......... .G........ .......... .......... ..........  2580

1(3-1)  CTGTGAAGGA AAGATGAAAA GAACTTTGAA AAGAGAGTTA ACAGACTTGA AATTGTTGAG  2639
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2640

1(3-1)  GTGGAAGCGG TAGAAATTCA TTATTCTACG ATGAGCTAGA GAGTTCCGCC TAACTGTCGG  2699
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2700
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2700

1(3-1)  AGTGCGTGTG CACTGCTAAA GGCACTGTAT TTCGTTCAGG GAAGCGTGCT TGTCGTTCTA  2759
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2760
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2760

1(3-1)  CGTGGATAGA CAAGATGAAG TTGTTCCCCT TCACAAGTTT CCTGAGTCTC TTGGCTTCGG  2819
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2820
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2820

1(3-1)  TCATGGCTCA GGTTTCCTGT TGGAGGACAG CTTGAGGGGC CATGTGCGAT CTTGTCAAAA  2879
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2880
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2880

1(3-1)  TGGTTTCTAC CGGCCCGTCT TGAAACACGG ACCAAGGAGT CTAACATATA TGCGAGTGTG  2939
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2940
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  2940

1(3-1)  CTGGTGCAAA AACTAACACG CGGAATGAAA GTGATCGATG CCACGGAGCA ATCCTACAGC  2999
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3000
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3000

1(3-1)  ATCGGCCGAC CATGATCCTC TGGTGAAAGG TTTGAGTATG AGCATATCTG TTAGGACCCG  3059
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3060
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3060

1(3-1)  AAAGATGGTG AACTATGCCT GAGTAGGGTG AAGCCAGAGG AAACTCTGGT GGAGGCTCGT  3119
2(3-2)  .......... .......... .......... .......G.. .......... ..........  3120
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3120

1(3-1)  AGCGATTCTG ACGTGCAAAT CGATCGTCGA ACTTGGGTAT AGGGGCGAAA GACTAATCGA  3179
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3180
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3180

1(3-1)  ACCATCTAGT AGCTGGTTCC CTCCGAAGTT TCCCTCAGGA TAGCTGAGAC ATTATGCAGT  3239
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3240
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3240

1(3-1)  TTTATTAGGT AAAGCGAATG ATTAGAGGCC TCGGGATTGT AATGATCTCG ACCTATTCTC  3299
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3300
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3300

1(3-1)  AAACTTTAAA TTGGTAAGAA CCCTGGGCTT CTTAACTGAG TGCCAGGGGC AGAATGCATG  3359
2(3-2)  ..G....... .......... .......... .......... .......... ..........  3360
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... ..........  3360

1(3-1)  TCTTAAGTGG GCCATTTTTG GTAAGCAGAA CTGGCGATGA GGGATGCTCC TGTCGCTGAG  3419
2(3-2)  .......... .......... .......... .......... .......... .AA.......  3420
3(3-3)  .......... .......... .......... .......... .......... .AA.......  3420
```

```
1(3-1)  TTGAGGTGCC CAACTGTACG CTCATCAGAT ACCCGCGAAG GTGTTCGTTC ATCTAGACAG  3479
2(3-2)  ..A..... ..........  ..........  ...A.AA... .....A....  ..........  3480
3(3-3)  ..A..... ..........  ..........  ...A.AA... .....A....  ..........  3480

1(3-1)  C                                                                   3480
2(3-2)  .AGGACGGTG GCCATGGAAG TCGGAACCCG CTAAGGAGTG TGTAACAACT CACCTGCCGA  3540
3(3-3)  .AGGACGGTG GCCATGGAAG TCGGAACCCG CTAAGGAGTG TGTAACAACT CACCTGCCGA  3540

1(3-1)     3480
2(3-2)  AT 3542
3(3-3)  AT 3542
```

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของโพรติสต์กลุ่มซิลิเอตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย บริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลของหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยทำการเก็บทรายตัวอย่างทั้งหมด 9 ครั้ง ตั้งแต่ปี 2554–2556 และทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของซิลิเอตที่สำรวจพบ พบจำนวนซิลิเอตกว่า 60 ชนิด โดยความหลากชนิดของซิลิเอตที่พบในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนเพิ่มเติมขึ้นจากการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้ของ สุชา เฉยศิริ และคณะ (2554) และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และคณะ (2555) ที่ทำการสำรวจความหลากหลายของโพรติสต์ในพื้นที่เดียวกัน ซึ่งรายงานจำนวนซิลิเอตที่พบไว้ 22 และ 46 ชนิด ตามลำดับ นอกจากนี้ จากข้อมูลความหลากหลายของซิลิเอตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย บริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลของหาดลูกลม ที่ได้ทำการวิจัยรวบรวมไว้ตั้งแต่ ปี 2552 มีซิลิเอตจำนวน 8 สกุล ได้แก่ *Epiclintes*, *Euplotidium*, *Prodiscocephalus*, *Protocruzia*, *Remanella*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Urostyla* ที่พบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้เป็นเสมือนจุดเริ่มต้นของการศึกษาซิลิเอตหาดทรายชายฝั่งทะเลในประเทศไทย ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในการเติมเต็มช่องว่างของการศึกษาก่อนหน้าที่มีรายงานส่วนใหญ่เฉพาะในแหล่งน้ำจืด โดยเมื่อทำการประเมินข้อมูลเบื้องต้นในระดับชนิดจากซิลิเอตทั้ง 8 สกุล ที่พบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศและจากซิลิเอตในสกุลอื่นๆ ที่ล้วนมีรายงานว่าพบถิ่นอาศัยในระบบนิเวศหาดทรายชายฝั่งทะเลเท่านั้น สามารถคาดการณ์ได้ว่า น่าจะมีซิลิเอตทะเลมากกว่า 20 ชนิด ที่จะพบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศ โดยการที่จะยืนยันข้อมูลดังกล่าวให้ถูกต้องถึงในระดับชนิด จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับลึก เช่น การศึกษาในระดับดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตาม จำนวนชนิดของซิลิเอตทะเลที่พบในประเทศไทยในปัจจุบันน่าจะมีการรายงานจำนวนที่ต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากมีการศึกษาอยู่เฉพาะในจังหวัดชลบุรีเท่านั้น

การศึกษาเชิงลึกในระดับอณูชีววิทยาโดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีนไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA) สามารถทำการเพิ่มจำนวนไรโบโซมอลดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนดังกล่าวได้ทั้งหมด 21 สาย จากซิลิเอต 14 ชนิด ได้แก่ *Aspidisca* sp., *Coleps pulcher*, *Condylostoma enigmatica*, *Diophrys* sp. 1 และ 2, *Euplotes* sp. 1 และ 3, *Holosticha* sp. 3, *Mesodinium* sp., *Trachelocerca* sp. 1, 4, 5 และ 7 และ *Uronychia* sp. โดยไรโบโซมอลดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้มีขนาดความยาวคู่เบสแตกต่างกันตั้งแต่ 2,807 ไปจนถึง 3,654 คู่เบส ทั้งนี้ขึ้นกับสกุลและชนิดของซิลิเอต โดยซิลิเอต 4 ชนิด ได้แก่ *Aspidisca* sp., *Diophrys* sp. 2, *Euplotes* sp. 1 และ *Uronychia* sp. ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์มากกว่า 1 สาย และเมื่อพิจารณาลำดับ นิวคลีโอไทด์ของซิลิเอตทั้ง 4 ชนิดนี้ พบว่า มีความแตกต่างกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างสายภายในชนิด ความแตกต่างนี้อาจเป็นเพียงความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในยีนดังที่พบในซิลิเอต *Aspidisca* sp. และ *Euplotes* sp. 1 หรืออาจแสดงให้เห็นถึงชนิดที่ถูกซ่อนเร้นภายในซิลิเอตที่ได้ทำการศึกษา ซึ่งควรมีการศึกษาวิเคราะห์เพิ่มเติมต่อไป

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ถือเป็นข้อมูลทางอณูชีววิทยาชิ้นแรกจากซิลิเอตที่พบในบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลของหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ซึ่งสามารถใช้ในการระบุอัตลักษณ์ของซิลิเอตที่พบในพื้นที่แห่งนี้ได้ อย่างไรก็ตาม ในเบื้องต้นยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์หาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆ จากความยาวของยีนทั้งสาย เพื่อใช้เป็นรหัสดีเอ็นเอในการระบุอัตลักษณ์ของซิลิเอตที่สำรวจพบได้ เนื่องจากยังมีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากจำนวนชนิดของซิลิเอตที่สามารถนำมา

วิเคราะห์เปรียบเทียบกันได้น้อยเกินไป จึงควรจะมีการรวบรวมเพิ่มเติมข้อมูลนี้ในงานวิจัยชิ้นต่อไป อันจะเป็นแนวทางนำไปสู่การประยุกต์ใช้เพียงลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆ เพื่อการระบุชนิดของซิลิเอตที่พบในพื้นที่แห่งนี้ได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชิดชัย จันทร์ตั้งสี, สุชา เฉยศิริ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2555. *การจำแนกชนิดของโพรติสต์บางชนิดที่พบในเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยวิธีทางชีวโมเลกุล*. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.), ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ คณะ. 2544. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ. *การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย อนุรักษ์และพัฒนาด้วยจิตสำนึกแห่งนักวิจัยไทย (21–23 มิถุนายน 2544) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*. หน้า 117–124.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, อารมณ์ รัศมิทัต, นภดล สว่างนาวิน, สุกัญญา ป่องทอง, พลาใด ทรัพย์สมบูรณ์ และ ทวีชัย สัจจาริยรักษ์. 2546. ความสัมพันธ์ระหว่างแพลงก์ตอนกับปัจจัยทางกายภาพและเคมี. *การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: ธรรมชาติแห่งชีวิต (10–12 พฤษภาคม 2546) สำนักพระราชวัง พระราชวังดุสิต*. หน้า 69–80.

สุชา เฉยศิริ, ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของโพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปี, ครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 36–47.

Carey, P. G. 1992. *Marine interstitial ciliates: an illustrated key*. London: Chapman and Hall.

Chantangsi, C. and Leander, B. S. 2010. An SSU rDNA barcoding approach to the diversity of marine interstitial cercozoans, including descriptions of four new genera and nine new species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. 60: 1962–1977.

Chantangsi, C., Lynn, D. H., Brandl, M. T., Cole, J. C., Hetrick, N., and Ikonomi, P. 2007. Barcoding ciliates: a comprehensive study of 75 isolates of genus *Tetrahymena*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. 57: 2412–2425.

Charubhun, B. and Charubhun, N. 2000. Biodiversity of freshwater protozoa in Thailand. *Kasetsart J.* 34: 486–494.

Choeisiri, S., Chantangsi, C., and Chutmongkonkul, M. 2011. Diversity and distribution of protists in a marine interstitial sand beach of Ko Samaesarn, Changwat Chon Buri. pp. 10–11. *In: Proceeding of the 5th RSPG Researcher Club Conference,* November 3–5, 2011, Nongrawiang Training Centre, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Decamp, O. and Warren, A. 1998. Bacterivory in ciliates isolated from constructed wetlands (Reed beds) used for wastewater treatment. *Water Res*. 32: 1989–1996.

Dieckmann, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. *Eur. J. Protistol*. 31: 372–382.

Finlay, B. J., Téllez, C., and Esteban, G. 1993. Diversity of free-living ciliates in the sandy

sediment of a Spanish stream in winter. *J. Gen. Microbiol.* 139: 2855–2863.

Frézal, L. and Leblois, R. 2008. Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infect. Genet. Evol.* 8: 727–736.

Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95–98.

Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., and deWaard, J. R. 2003a. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* (Suppl.) 270: 1–4.

Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., and deWaard, J. R. 2003b. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* 270: 313–322.

Lynn, D. H. 2003. Morphology or molecules: How do we identify the major lineages of ciliates (Phylum Ciliophora)? *Eur. J. Protistol.* 39: 356–364.

Lynn, D. H. 2008. *The ciliated protozoa: characterization, classification, and guide to the literature*. 3rd ed. New York, USA: Springer.

Matchacheep, S. and Dumrongrojwattana, P. 2007. Freshwater protozoa of Chonburi Province, Eastern Thailand (Protozoa: Mastigophora, Sarcodina and Ciliophora). pp. 565–571. *In: The Proceeding of 45th Kasetsart University Annual Conference*, Janurary 30–February 2, 2007, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

Prasarnboon, P., Matchacheep, S., and Dumrongrojwattana, P. 2007. Protozoa in Khundanprakarnchon Dam, Nakornnayok Province (Protozoa: Mastigophora, Ciliata, Sarcodina and Suctoria). pp. 535–541. *In: The Proceeding of 45th Kasetsart University Annual Conference*, Janurary 30–February 2, 2007, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

Pumeyuth, T. and Chutmongkonkul, M. 2011. Diversity of marine plankton in constructed mangrove forest, Samaesarn island, Chonburi province. pp. 48–49. *In: Proceeding of the 5th RSPG Researcher Club Conference*, November 3–5, 2011, Nongrawiang Training Centre, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Raikov, I. B. and Kovaleva, V. G. 1995. Comparative utrastructure of the cytoplasm in species of the genus *Trachelloraphis* (Ciliophora: Karyorelictida) I. Somatic Cortex. *Arch. Protistenkd.* 145: 80–93.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731–2739.

Teeramaethee, J. 2010. *Biodiversity of marine planktons in Had Nang-Rong and Jorake Island, Amphur Sattahip, Chon Buri Province*. Research Report, Burapha University, Thailand.

Tuntiwaranuruk, C. 2005. Survey of marine ciliate protozoa in Chonburi Province, Thailand. *SWU Sci. J.* Special Volume: 74–90.

Uhlig, G. 1964. Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 11: 178–185.

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. อาจารย์ ดร.ชิดชัย จันทร์ตั้งสี

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายชิดชัย จันทร์ตั้งสี
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Chitchai Chantangsi
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1002 00170 19 1
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

   ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

   โทรศัพท์ 02-218-5378

   โทรสาร 02-218-5386

   E-mail Chitchai.C@Chula.ac.th, chantangsi01@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา

   2544 วท.บ. (ชีววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

   2549 M.Sc. (Zoology) University of Guelph ประเทศแคนาดา

   2552 Ph.D. (Zoology) University of British Columbia ประเทศแคนาดา
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ โพรติสต์วิทยา (Protistology)
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

   7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

   7.1.1 การประเมินศักยภาพในการกำจัดโลหะหนักของโพรติสต์ที่สกัดจากบ่อบำบัดน้ำเสีย โรงควบคุมคุณภาพน้ำของกรุงเทพมหานคร

   7.1.2 ความหลากหลายทางชีวภาพและการระบุชนิดของโพรติสต์บริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลโดยอาศัยรหัสดีเอ็นเอ

   7.2 ผู้ร่วมวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

   7.2.1 ความหลากหลายของโพรโตซัวและแพลงก์ตอนในพื้นที่ อพ.สธ.

   7.2.2 ปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลานในพื้นที่ อพ.สธ.

   7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ผลงานวิจัย)

   7.3.1 Book

มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี. 2548. *แพลงก์ตอน*. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท เวิร์ค สแควร์ จำกัด กรุงเทพฯ. 352 หน้า.

   7.3.2 Journal articles

สุชา เฉยศิริ, ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของโพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปี, ครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา.* หน้า 36–47.

Chantangsi, C. and Leander, B. S. 2010. An SSU rDNA barcoding approach to the diversity of marine interstitial cercozoans, including descriptions of four new genera and nine new species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 1962–1977.

Chantangsi, C. and Leander, B. S. 2010. Ultrastructure, life cycle and molecular phylogenetic position of a novel marine sand-dwelling cercozoan: *Clautriavia biflagellata* sp. nov. *Protist.* 161: 133–147

Chantangsi, C., Hoppenrath, M., and Leander, B. S. 2010. Evolutionary relationships among marine cercozoans as inferred from combined SSU and LSU rDNA sequences and polyubiquitin insertions. *Mol. Phylogenet. Evol.* DOI:10.1016/j.ympev.2010.07.007.

Rueckert, S., Chantangsi, C., and Leander, B. S. 2010. Molecular systematics of marine gregarines (Apicomplexa) from North-eastern Pacific polychaetes and nemerteans, with descriptions of three novel species: *Lecudina phyllochaetopteri* sp. nov., *Difficilina tubulani* sp. nov. and *Difficilina paranemertis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 2681–2690.

Okamoto, N., Chantangsi, C., Horák, A., Leander, B. S., and Keeling, P. J. 2009. Molecular phylogeny and description of the novel katablepharid *Roombia truncata* gen. et sp. nov., and establishment of the Hacrobia taxon nov. *PLoS ONE.* 4: e7080. doi:10.1371/journal.pone.0007080.

Chantangsi, C. and Lynn, D. 2008. Phylogenetic relationships within the genus *Tetrahymena* inferred from the cytochrome *c* oxidase subunit 1 and the small subunit ribosomal RNA genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 49: 979–987.

Chantangsi, C., Esson, H. J., and Leander, B. S. 2008. Morphology and molecular phylogeny of a marine interstitial tetraflagellate with putative endosymbionts: *Auranticordis quadriverberis* n. gen. et sp. (Cercozoa). *BMC Microbiol.* 8: 123.

Chantangsi, C., Lynn, D. H., Brandl, M. T., Cole, J. C., Hetrick, N., and Ikonomi, P. 2007. Barcoding ciliates: a comprehensive study of 75 isolates of genus *Tetrahymena. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2412–2425.

2. รองศาสตราจารย์ ดร.มาลินี ฉัตรมงคลกุล

1.	ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)	นางสาวมาลินี ฉัตรมงคลกุล
	ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)	Miss Malinee Chutmongkonkul
2.	เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน	3 1013 00156 54 0

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ดร.
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
โทรศัพท์ 02-218-5265
โทรสาร 02-218-5256
E-mail malinee.c@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

2519 วท.บ. (ชีววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2525 วท.ม. (สัตววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2534 Dr. rer. nat. (Zoology) University of Bonn ประเทศเยอรมัน

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ ปรสิตวิทยา (Parasitology)
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ชื่อแผนงานวิจัย -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

7.2.1 การสำรวจชนิดของปลาและเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ในปลามีเกล็ดในอ่างเก็บน้ำของเขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรี, งบแผ่นดินปี 2552

7.2.2 ปรสิตในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากเกาะอาดัง จังหวัดสตูล, งบแผ่นดินปี 2552

7.2.3 ปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลานในพื้นที่ อพ.สธ., งบแผ่นดินปี 2553-2554

7.2.4 การสำรวจเบื้องต้นของเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ในปลาที่รับประทานเป็นอาหารในพื้นที่เขื่อนวชิราลงกรณ จังหวัดกาญจนบุรี, งบแผ่นดินปี 2554

7.2.5 สัณฐานวิทยาและพยาธิสภาพของปรสิตบางชนิด, งบแผ่นดินปี 2555

7.3 ผู้ร่วมวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

7.3.1 ความหลากหลายของโพรโทซัวและแพลงก์ตอน พื้นที่โครงการ อพ.สธ., งบแผ่นดินปี 2553

7.3.2 ความหลากหลายของโปรโตซัวและแพลงก์ตอนในพื้นที่โครงการ อพ.สธ., งบแผ่นดินปี 2554

7.3.3 ความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดบางชนิด, งบแผ่นดินปี 2555

7.4 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ผลงานวิจัย)

7.4.1 Book

มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี. 2548. *แพลงก์ตอน*. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัท เวิร์ค สแควร์ จำกัด กรุงเทพฯ. 352 หน้า.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ พงชัย หาญยุทธนากร. 2554. *สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กบางชนิดในแหล่งน้ำจืด*. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัทสิรบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ. 71 หน้า.

7.4.2 Journal articles

ผุสตี ปริยานนท์, มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ อนุสรณ์ ปานสุข. 2548. การเปลี่ยนแปลงของประชากรสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ในพื้นที่โครงการสร้างป่าตามแนวพระราชดำริ และป่าอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อุทยานแห่งชาติทับลาน อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 2 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. นครราชสีมา*. หน้า 50.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, ผุสตี ปริยานนท์ และ สัมฤทธิ์ สิงห์อาษา. 2548. ปรสิตของกิ้งก่าบิน (*Draco* spp.) พื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 2 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. นครราชสีมา*. หน้า 124–125.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร และผุสตี ปริยานนท์. 2552. ปรสิตในเลือดกิ้งก่าบินจากเกาะกูด จ.ตราด. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ สวนสัตว์เปิดเขาชียว จ. ชลบุรี*. หน้า 64.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์, พงชัย หาญยุทธนากร และ วิมล เหมะจันทร. 2554. การสำรวจชนิดของปลาและเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ในปลา ในอ่างเก็บน้ำของเขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 448–456.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, วิเชฏฐ์ คนซื่อ, พงชัย หาญยุทธนากร และผุสตี ปริยานนท์. 2550. ปรสิตในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากเกาะกูด จังหวัดตราด. *การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย อำเภอสัตหีบ จ. ชลบุรี*. หน้า 300.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร, วิเชฏฐ์ คนซื่อ และผุสตี ปริยานนท์. 2552. ปรสิตในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากเกาะอาดัง จ.สตูล. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ สวนสัตว์เปิดเขาชียว จ. ชลบุรี*. หน้า 108.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร, วิเชฏฐ์ คนซื่อ และ ผุสตี ปริยานนท์. 2554. ปรสิตในเลือดของสัตว์เลื้อยคลานจากพื้นที่หมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 442–447.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร, วิเชฏฐ์ คนซื่อ และ ผุสตี ปริยานนท์. 2554. ปรสิตในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากหมู่เกาะอ่างทอง จังหวัดสุราษฎร์ธานี. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 457–464.

ทัศนธร ภูมิยุทธิ์ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนในป่าชายเลนปลูกบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงาน*

วิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา. หน้า 277–284.

ศรัณย์ อัศวานุชิต, มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร และ นิพาดา เรือนแก้ว ดิษยทัต. 2554. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนในสภาพที่มีสาหร่ายไกในแม่น้ำน่าน จังหวัดน่าน. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา.* หน้า 758–768.

สุชา เฉยศิริ, ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของโพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา.* หน้า 36–47.

Chutmongkonkul, M and Pariyanonth, P. 2005. Endoparasites of five species of anurans in Thailand. *5th World Congress of Herpetology*, 19–24 June 2005, Stellenbosch, South Africa: 125.

Chutmongkonkul, M. and Pariyanonth, P. 2005. Helminths and Blood Parasites of Butterfly Lizards, *Leiolepis* spp., in Thailand. *31st Congress on Science and Technology of Thailand*, 18–20 October 2005, at Technopolis, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima: 92.

Chutmongkonkul, M. and Pariyanonth, P. 2006. Blood parasites of six species of wild amphibians from Khum Mae Kuang forest area, Thailand. *Proceedings of AZWMP 2006*, Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, 26–29 Oct 2006: 48.

Chutmongkonkul, M. and Pariyanonth, P. 2007. Hematozoa of amphibians in Thailand. *Proceedings Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians 14th Annual Conference*, New Orleans, Louisiana, April 14–18 2007: 118.

Chutmongkonkul, M., Pariyanonth, P., Tangtrongpiros, J., and Sailasuta, A. 2005. *Lankesterella* in *Hoplobatrachus rugulosus* in Thailand. *31st Congress on Science and Technology of Thailand*, 18–20 October 2005, at Technopolis, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima: 89–90.

Plengpanich, W., Chutmongkonkul, M., Sailasuta, A., and Kaewviyudth, S. 2006. Helminths infection in snake skin gourami *Trichogastor pectoralis* (Regan, 1910). In Comparative Endocrinology and Biodiversity in Asia and Oceania, *Proceedings of the 5th Intercongress Symposium of the Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology*, 7–10 February 2006, Bangkok, Thailand: 251–255.

Prasankok, P., Chutmongkonkul, M., and Kanchanakhan, S. 2005. Characterisation of iridovirus isolated from diseased marbled sleepy goby, *Oxyeleotris marmoratus*. In P. Walker, R. Lester, and M. G. Bondad-Reantaso, (eds). *Diseases in Asian Aquaculture V.* Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila: 197–206.

Sailasuta, A., Satetasit, J., and Chutmongkonkul, M. 2011. Pathological Study of Blood Parasites in Rice Field Frogs, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834). *Vet. Med. Int*. doi:10.4061/2011/850568.

Satetasit, J., Chutmongkonkul, M., and Sailasuta, A. 2009. Blood parasites of the rice field frog, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1835) from Wang Nam Yen district, Sra-kaew province, Thailalnd. *Proceedings of the 8th Chulalongkorn University Veterinary Annual Conference*, April 3, 2009: 84.