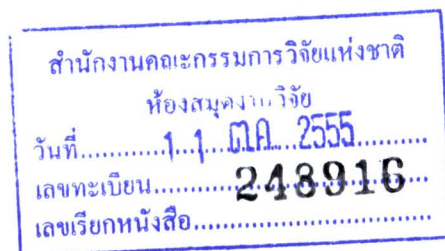


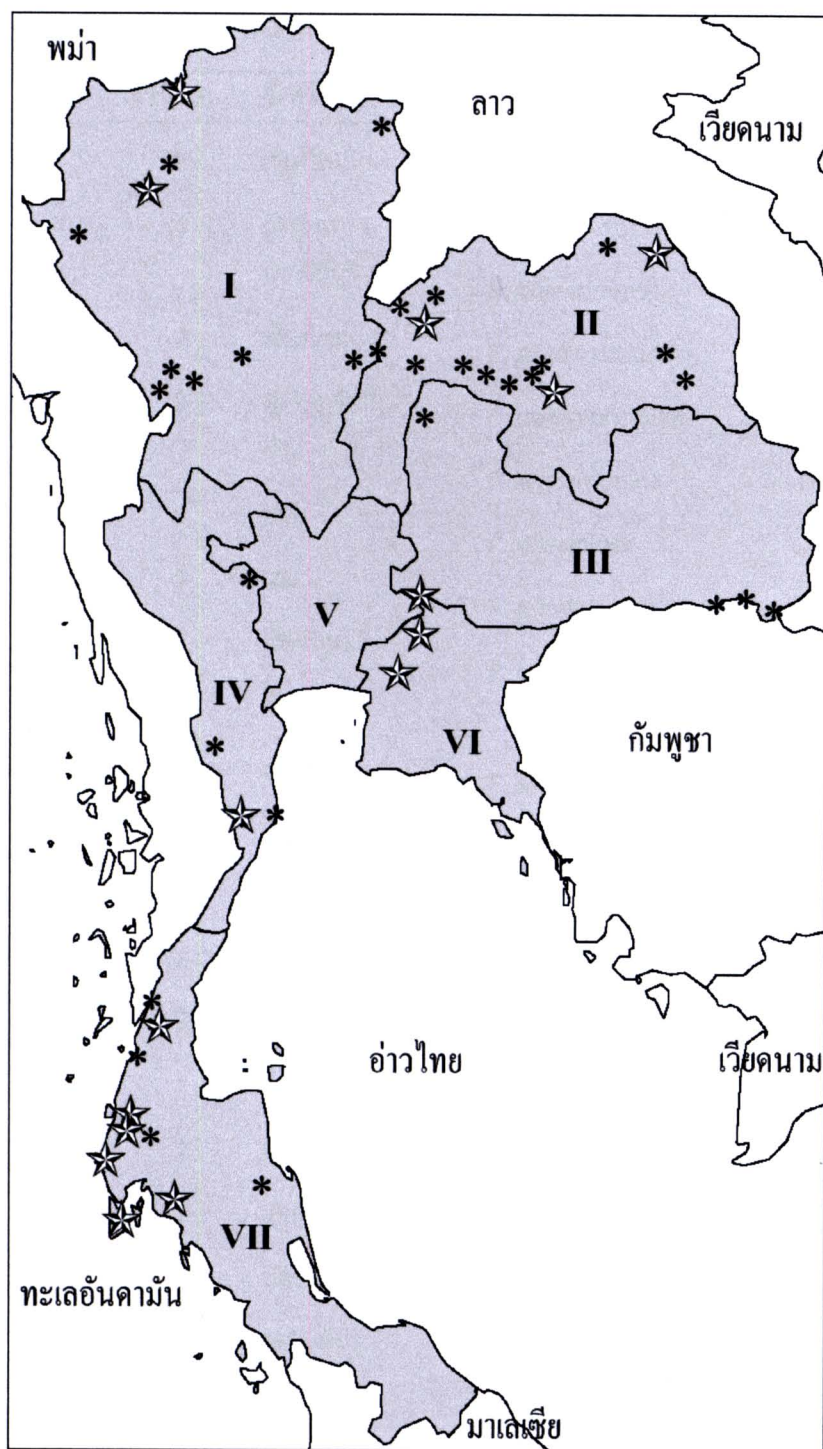
ผลการวิจัย

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชสกุลพริกไทยในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 ครอบคลุมพื้นที่ที่รายงานไว้โดย Chaveerach et al. (2008) และอรุณรัตน์ จวีราชและคณะ (2552) ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้

ความหลากหลายของพืชสกุลพริกไทย

การดำเนินงานในเวลา 1 ปีของโครงการนี้ เก็บตัวอย่างพืชสกุลพริกไทยจากทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย (รูปที่ 1) ระบุชนิดตามเอกสารอ้างอิงใน Chaveerach et al. (2008) ได้ทั้งสิ้น 36 ชนิด และอีก 1 ชนิด ที่คาดว่าจะป็นชนิดใหม่ (*Piper* sp. 2) รวม 73 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 5 และรูปที่ 2 ตัวอย่างทั้งหมดถูกนำไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อจะศึกษาในขั้นตอนต่อไปคือการสร้างเครื่องหมายพันธุกรรมที่จำเพาะชนิด หากได้รับทุนวิจัยต่อเนื่อง





รูปที่ 1 แผนที่แบ่งเขตภูมิศาสตร์พืชพรรณ (Floristic Regions) แสดงแหล่งกระจายพันธุ์ที่ได้เก็บตัวอย่าง (★) และแหล่งกระจายพันธุ์แหล่งอื่นๆ (*) ที่ไม่ได้เก็บตัวอย่างเพราะพืชหลายชนิดพบได้หลายที่ ดังนั้นจะเก็บจากสถานที่ที่สะดวกเท่านั้น

ตารางที่ 5 ชนิดพืช จำนวนตัวอย่างที่เก็บได้ และสถานที่เก็บตัวอย่าง

ชนิดพืช	จำนวน	จังหวัด	ชนิดพืช	จำนวน	จังหวัด
<i>P. argyritis</i>	2	เชียงใหม่	<i>P. pedicellatum</i>	2	เชียงใหม่
<i>P. betle</i>	4	ฉะเชิงเทรา, ปราจีนบุรี	<i>P. pendulispicum</i>	2	เชียงใหม่
<i>P. betloides</i>	2	เชียงใหม่	<i>P. phuwaense</i>	2	หนองคาย
<i>P. boehmeriifolium</i>	2	สุราษฎร์ธานี, น่าน	<i>P. pilobracteatum</i>	2	พังงา
<i>P. brevicaule</i>	1	เลย	<i>P. polysiphonum</i>	2	ประจวบคีรีขันธ์
<i>P. colubrinum</i>	1	เลย	<i>P. retrofractum</i>	1	เลย
<i>P. crocatum</i>	1	เชียงใหม่	<i>P. ribesioides</i>	2	ระนอง, พังงา
<i>P. dominantinervium</i>	2	พังงา	<i>P. rubroglandulosum</i>	4	ภูเก็ต
<i>P. hongkongense</i>	2	พังงา	<i>P. sarmentosum</i>	2	นครนายก, ขอนแก่น
<i>P. khasianum</i>	2	นครนายก	<i>P. semiimmersum</i>	2	พังงา
<i>P. kraense</i>	2	ระนอง	<i>P. submultinerve</i>	1	เชียงใหม่
<i>P. longum</i>	2	นครนายก	<i>P. sylvaticum</i>	2	ขอนแก่น, เลย
<i>P. maculaphyllum</i>	2	ภูเก็ต, พังงา	<i>P. sylvestre</i>	2	สุราษฎร์ธานี
<i>P. magnibaccum</i>	2	สุราษฎร์ธานี	<i>P. thomsonii</i>	1	เชียงใหม่
<i>P. mullesua</i>	2	พิษณุโลก	<i>P. tricolor</i>	1	เลย
<i>P. muricatum</i>	1	เลย	<i>P. umbellatum</i>	2	กระบี่
<i>P. mutabile</i>	3	นครราชสีมา	<i>P. wallichii</i>	4	พังงา, นครราชสีมา
<i>P. nigrum</i>	2	ขอนแก่น, เลย	<i>P. yinkiangense</i>	2	สุราษฎร์ธานี
			<i>Piper</i> sp. 2	2	พังงา



ก



ข



ค



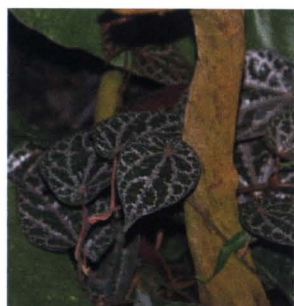
ง



จ



ฉ



ช



ซ



ฅ



ญ



ฎ



ฏ

รูปที่ 2 พืชตัวอย่าง *Piper argyritis* (ก) *P. betle* (ข) *P. betloides* (ค) *P. boehmeriifolium* (ง) *P. brevicaule* (จ) *P. colubrinum* (ฉ) *P. crocatum* (ช) *P. dominantinervium* (ซ) *P. hongkongense* (ฅ) *P. khasianum* (ญ) *P. kraense* (ฎ) *P. longum* (ฏ)



ฐ



จา



ฉม



ฉน



ด



ต



ถ



ท



ธ



น



บ



ป

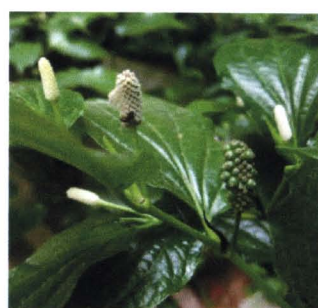
รูปที่ 2 (ต่อ) พืชตัวอย่าง *Piper maculaphyllum* (ฐ) *P. magnibaccum* (จา) *P. mullesua* (ฉม) *P. muricatum* (ฉน) *P. mutabile* (ด) *P. nigrum* (ต) *P. pedicellatum* (ถ) *P. pendulispicum* (ท) *P. phuwaense* (ธ) *P. pilobracteatum* (น) *P. polysyphonum* (บ) *P. retrofractum* (ป)



ผ



ผ



พ



พ



ภ



ม



ย



ร



ล



ว



ศ



ช

รูปที่ 2 (ต่อ) พืชตัวอย่าง *Piper ribesioides* (ผ) *P. rubroglandulosum* (ผ) *P. sarmentosum* (พ) *P. semiimmersum* (พ) *P. submultinerve* (ภ) *P. sylvaticum* (ม) *P. sylvestre* (ย) *P. thomsonii* (ร) *P. tricolor* (ล) *P. umbellatum* (ว) *P. wallichii* (ศ) *P. yinkiangense* (ช)

การค้นพบรายละเอียดเพิ่มเติมของ *Piper rubroglandulosum*

ได้สำรวจพบต้นเทศเมียของพืชชนิดใหม่ของโลก คือ *P. rubroglandulosum* Chaveer. & Morkkamul ซึ่งรายงานเป็นพืชชนิดใหม่ไว้โดย Chaveerach et al. (2008) แต่ในรายงานนั้นยังไม่พบต้นเทศเมีย มีเพียงต้นเทศผู้เท่านั้น ในงานวิจัยนี้ได้สำรวจพบต้นเทศเมื่อกำลังออกดอกและติดผลที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 100 เมตร ที่ศูนย์พัฒนาและส่งเสริมการอนุรักษ์พันธุ์สัตว์ป่าเขาพระแทว จังหวัดภูเก็ต อุทยานแห่งชาติเขาพนมเบญจา จังหวัดกระบี่

รายละเอียดของต้นเทศเมียที่สำรวจพบ

ต้นเทศเมียมีลักษณะคล้ายกับต้นเทศผู้ที่รายงานไว้โดย Chaveerach et al. (2008) ทั้งลักษณะการเป็นไม้เถาเลื้อยและลักษณะของใบ ส่วนลักษณะเฉพาะมีดังต่อไปนี้ ช่อดอกเทศเมียห้อยลง ยาว 1.5-2.5 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-1.2 ซม. แกนช่อดอกมีขน ใบประดับรูปกลม ขอบไม่ติดกับแกน มีก้านสั้น มีขนสั้นอ่อนนุ่ม ยอดเกสรเทศเมียส่วนมาก 4 อัน อาจมีถึง 5 อัน ช่อผลห้อยลง ความยาว 3-7 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7-1.3 ซม. ก้านช่อผลยาว 1-1.2 ซม. ผลฝังอยู่ในแกนกลาง มีขนสั้นอ่อนนุ่ม ออกดอกและติดผลช่วงเดือนมีนาคม (รูปที่ 3-4)

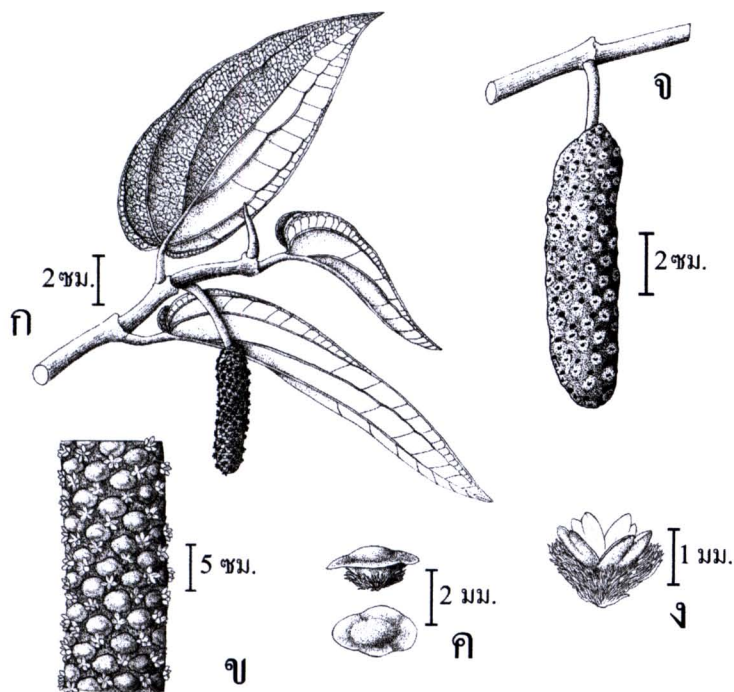
ข้อมูลการค้นพบใหม่นี้ได้นำไปเผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติในประเทศญี่ปุ่น คือ *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* โดย Chaveerach et al. (2010; ภาควิชาพฤกษศาสตร์)



ก

ข

รูปที่ 3 ต้นเทศเมียของ *Piper rubroglandulosum* Chaveer. & Morkkamul แสดงช่อดอกเทศเมีย (ก) และช่อผล (ข)



รูปที่ 4 ภาพลายเส้นของ *Piper rubroglandulosum* Chaveer. & Mokkamul แสดงใบและช่อดอกเพศเมีย (ก) ส่วนขยายของช่อดอกเพศเมีย (ข) รูปร่างของใบประดับ (ค) ยอดเกสรเพศเมีย 4 อัน และขนซึ่งอยู่บนแกนช่อดอก (ง) และช่อผล (จ)



การค้นพบพืชชนิดใหม่ *Piper protrusum*

ในรายงานของ Chaveerach et al. (2008) พบพืชที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ คือ *Piper* sp. 2 เนื่องจากยังไม่พบดอกและผล การศึกษาในครั้งนี้ได้สำรวจพบช่อดอกเพศผู้ของพืชดังกล่าว เมื่อนำมาศึกษาข้อมูลทางสัณฐานวิทยาอย่างละเอียดแล้วคาดว่าเป็นพืชชนิดใหม่ มีชื่อพื้นเมืองว่า สะค่านลูกใหญ่ หรือ สะค่านถื่นใต้ ชาวบ้านกล่าวว่า เป็นพืชสมุนไพร โดยนำผลมาต้มผสมผักแว่นใช้ชงน้ำดื่ม แก้ลมวิงเวียนมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังรายละเอียดต่อไปนี้

ไม้เถาเลื้อย กิ่งมีลักษณะโป่งพองตรงข้อ รูปทรงของแผ่นใบหลากหลาย ส่วนที่เลื้อยตามพื้นดิน ลำต้นกลม เรียว มีจุดสีชมพู มีขนหนาแน่น ก้านใบยาว 3.5-4 ซม. มีต่อมขนาดเล็กสีเหลืองแกมน้ำตาลและมีขนปกคลุมมาก เนื้อใบหนาฉ่ำน้ำ เกือบหรือมีขนเล็กน้อย แผ่นใบรูปไข่กว้าง ขนาด 6-7 × 7-8.5 ซม. ฐานใบเว้าลึกรูปหัวใจ พูสองข้างแยกจากกัน ปลายใบเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น คู่บนสุดอยู่เหนือฐานใบ 0.5-0.7 ซม. เรียงแบบตรงข้ามกันออกจากเส้นกลางใบ ปลายเส้นใบจรดปลายใบ คู่อื่นๆ ออกจากฐานใบ เส้นใบย่อยเห็นไม่ชัด ส่วนที่เลื้อยขึ้นต้นไม้ ลำต้นกลม เรียว เหนียว ไม่มีขน ใบบนกิ่งก้านใบยาว 1-1.5 ซม. เนื้อใบหนา เหนียว ไม่มีขน แผ่นใบรูปรี ขนาด 4-6 × 8.5-11 ซม. ฐานใบเกือบมนถึงรูปลิ้น ปลายใบเรียวแหลมถึงเป็นติ่งเรียวแหลม เส้นใบมีจำนวน 7 เส้น คู่บนสุดอยู่เหนือฐานใบ 2.5-5 ซม. เรียงแบบสลับออกจากเส้นกลางใบ อีก 2 คู่ออกจากฐานใบ ปลายเส้นใบจรดปลายใบ ช่อดอกเพศผู้ห้อยลง ขนาด 0.1-0.2 × 8.5 ซม. ก้านช่อดอกยาว 1-1.7 ซม. ช่อดอกมีใบประดับรูปครึ่งวงกลมติดอยู่กับฐานรองดอกซึ่งนูนขึ้นมา ขอบมีขน เกสรเพศผู้ 9 อัน ก้านเกสรแบนจากการสำรวจยังไม่พบช่อดอกเพศเมีย

แหล่งที่สำรวจพบ: อุทยานแห่งชาติน้ำตกหงาว จังหวัดระนอง อุทยานแห่งชาติศรีพังงา อุทยานแห่งชาติเขาลึก-ลำรู่ และป่าชุมชนทุ่งชาครี อำเภอกะบุรี จังหวัดพังงา อุทยานแห่งชาติเขาสก จังหวัดสุราษฎร์ธานี ความสูงจากระดับน้ำทะเล 100 เมตร

Piper sp. 2 นี้ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่ใกล้เคียงกับพืชสกุลพริกไทยบางชนิด ได้แก่ *P. dominantinervium* Chaveer. & Mookamul, *P. khasianum* C. DC., *P. nigrum* L., *P. polysiphonum* C. DC., และ *P. rubroglandulosum* Chaveer. & Mookamul แต่มีลักษณะที่ต่างจาก *P. umbellatum* L. มากกว่าชนิดอื่นๆ ดังรายละเอียดในตารางที่ 6 ดังนั้นจึงนำพืชที่ลักษณะใกล้เคียงกันนี้มาศึกษาด้วยเทคนิคระดับโมเลกุลเพื่อการยืนยันการเป็นพืชชนิดใหม่ และนำพืชที่ลักษณะแตกต่างมากที่สุดมาเป็นกลุ่มนอก (outgroup) ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการ

ตารางที่ 6 (ต่อ) เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Piper* sp. 2 กับพืชอีก 5 ชนิด ซึ่งมีลักษณะคล้ายกัน รวมทั้งอีกหนึ่งชนิดที่ไม่คล้ายกันเลย

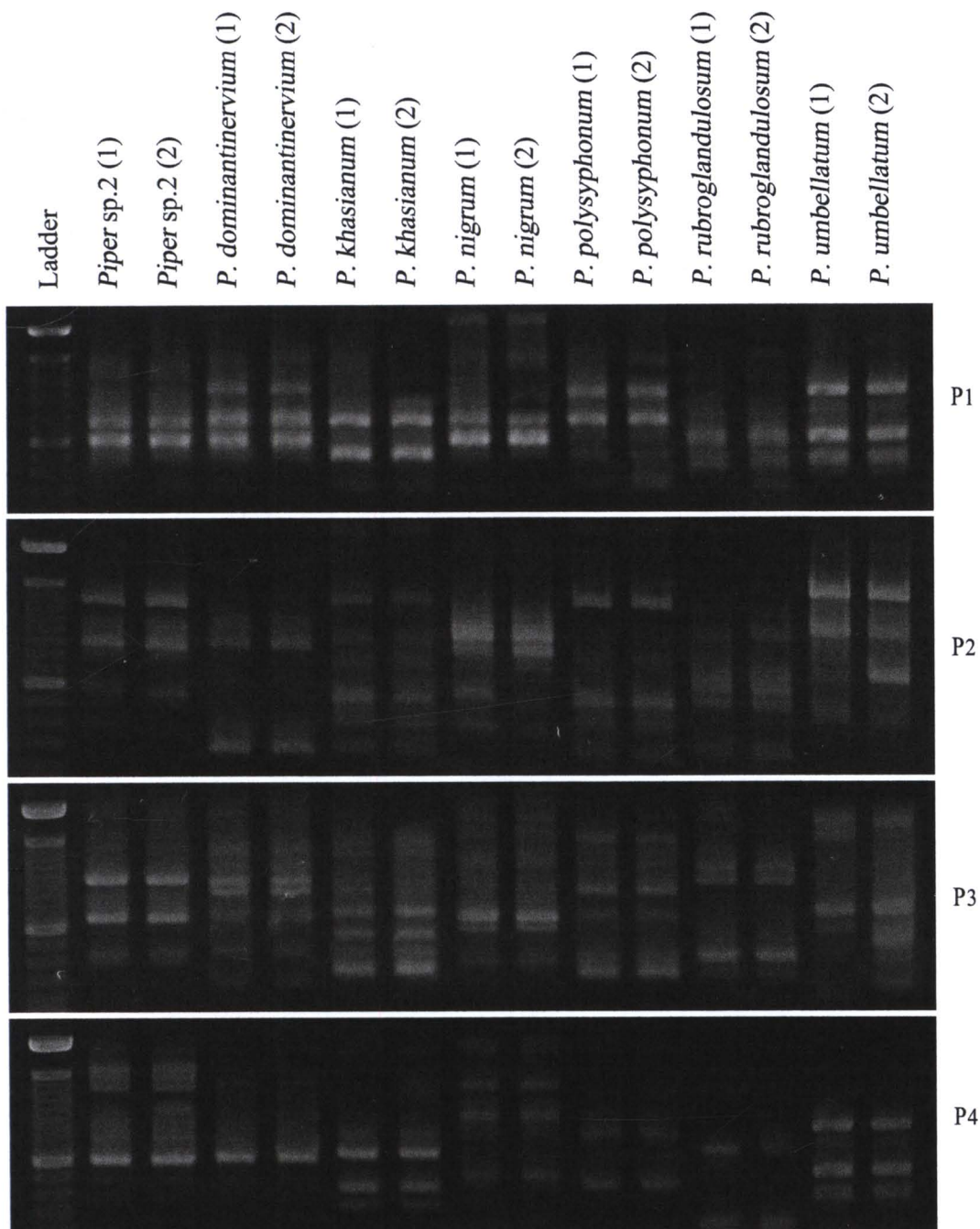
ชนิด	การกระจาย	ลักษณะวิสัย	ลักษณะ				ลักษณะ			
			ใบบนกิ่ง			เส้นใบ	วิสัย	ข้อดอกเพศผู้		
			รูปร่าง	ฐาน	ปลาย			กลีบดอกเพศผู้	ใบประดับ	
<i>P. polysiphonum</i>	ภาคใต้	ไม้เลื้อย	รูปไข่ถึงรูปรี	มน รูปลิ่ม หรือเบี้ยว	จำนวน 7-9 ด้านท้องใบมีสีแดงเมื่อแห้ง ฐานสุด อยู่เหนือฐานใบ 1.6-2 ซม. ออกเยื้องกัน ยาวจรดปลายใบ คู่อื่นๆ	ออกจากรูปร่างใบหรือใกล้ฐานใบ	จำนวน 7 ฐานด้านหลังใบ (ad)	ห้อยลง ดอกติด	จำนวน 3	ไม่มีก้าน รูปไข่
<i>P. rubroglandulosum</i>	ภาคใต้	ไม้เลื้อย	รูปไข่ถึงรูปรี	รูปหัวใจ เว้าตื้น มักเบี้ยว	แหลมหรือ ตั้งเรียว	จำนวน 7 ฐานด้านหลังใบ (ad)	จำนวน 7 ฐานด้านหลังใบ (ad)	จำนวน 7 ฐานด้านหลังใบ (ad)	จำนวน 2	มีก้านสั้น ก้านมีขน รูปเกือบกลม ขอบไม่ติดกับแกนข้อ
<i>P. umbellatum</i>	ภาคเหนือ ภาคใต้	ไม้พุ่ม เล็ก	รูปไข่หรือรูปไข่ถึงรูปกลม	เบี้ยวเว้า ตื้น หรือเว้ารูปหัวใจ	แหลม	จำนวน 11-13 ฐานสุดอยู่เหนือฐานใบ 1-2 ซม. ออกตรงข้ามหรือเยื้องกัน	จำนวน 11-13 ฐานสุดอยู่เหนือฐานใบ 1-2 ซม. ออกตรงข้ามหรือเยื้องกัน	ตั้งขึ้น เป็นช่อ ดอกแบบซี่ร่ม	จำนวน 2-3	มีก้าน รูปสามเหลี่ยม ขอบมีขน
								หนาแน่นฝังอยู่		
								ในแกนข้อดอก		

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอให้ข้อมูลเพื่อประกอบการระบุชนิด

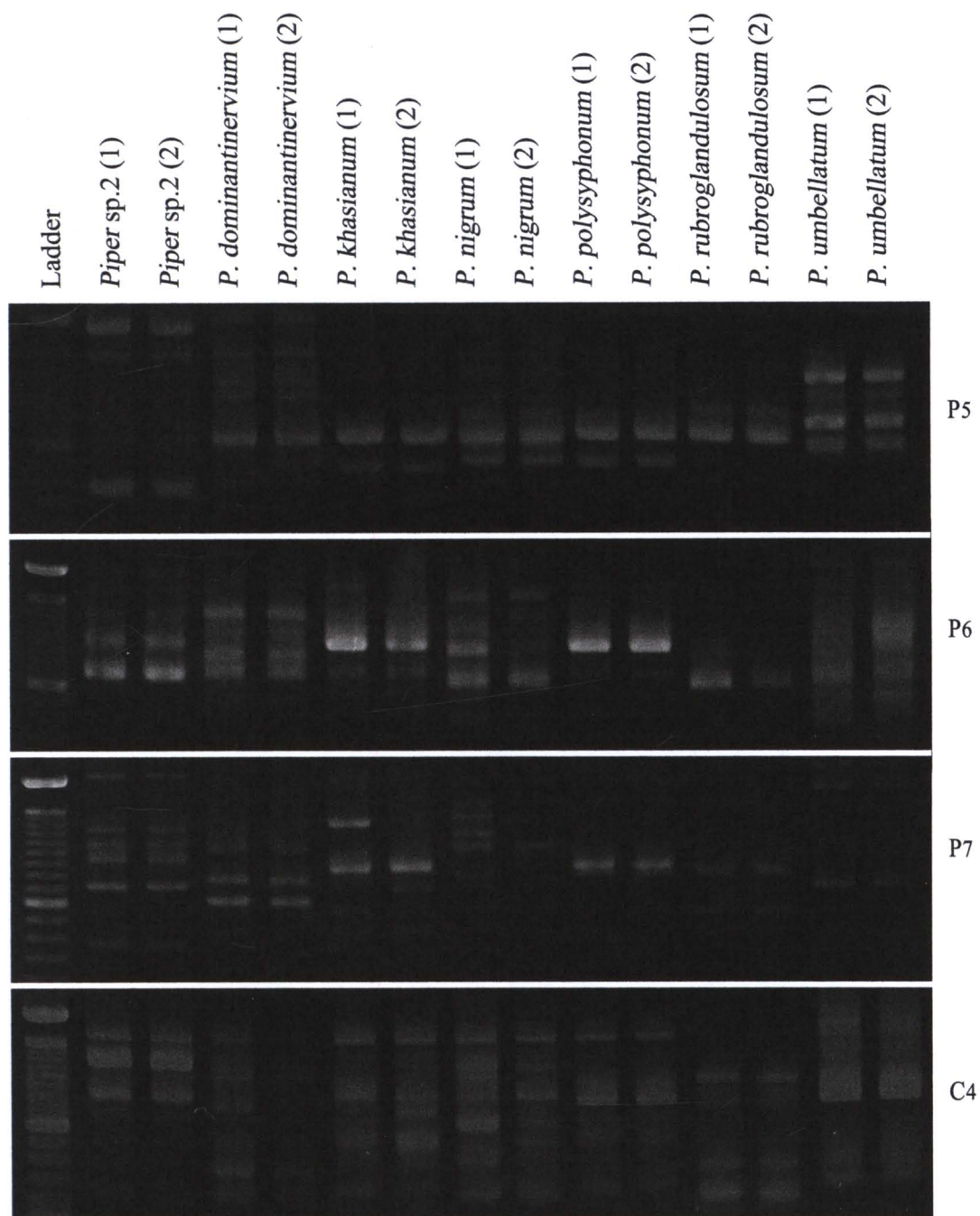
เมื่อนำตัวอย่างพืชทั้ง 7 ชนิดดังกล่าว มาทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสด้วยเทคนิค RAPD โดยทดลองใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 36 แบบ ได้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ชัดเจนในทุกตัวอย่างจากไพรเมอร์ 16 แบบ ดังแสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ในตารางที่ 7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้แสดงในรูปที่ 5-8

ตารางที่ 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอชัดเจนในทุกตัวอย่างที่ศึกษา ซึ่งประกอบด้วย 16 ไพรเมอร์ จาก 3 ชุด คือ ชุด P ชุด C และ ชุด R

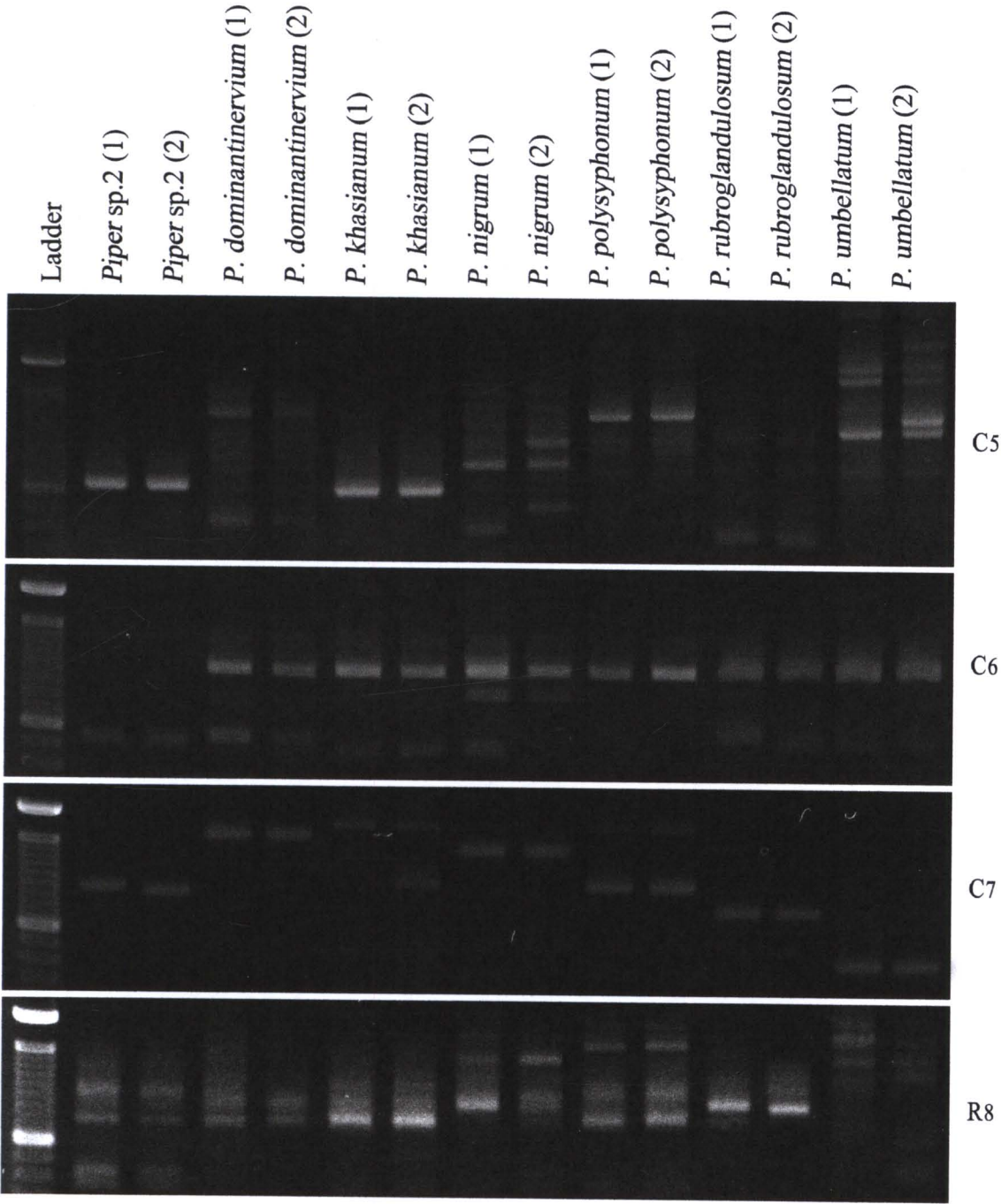
Primer	Sequence (5' to 3')	Primer	Sequence (5' to 3')
P1	CAGGCCCTTC	C5	GTCCCGACGA
P2	TGCCGAGCTG	C6	AAGCCTCGTC
P3	AATCGGGCTG	C7	TTATCGCCCC
P4	GGGTAACGCC	R8	CTACTGCCGT
P5	CAATCGCCGT	R9	GGTGGTCAAG
P6	GTTGCGATCC	R10	GACCTACCAC
P7	CAAACGTCGG	R11	TCAGTCCGGG
C4	GGACCCCTTAC	R12	CACCATCCGT



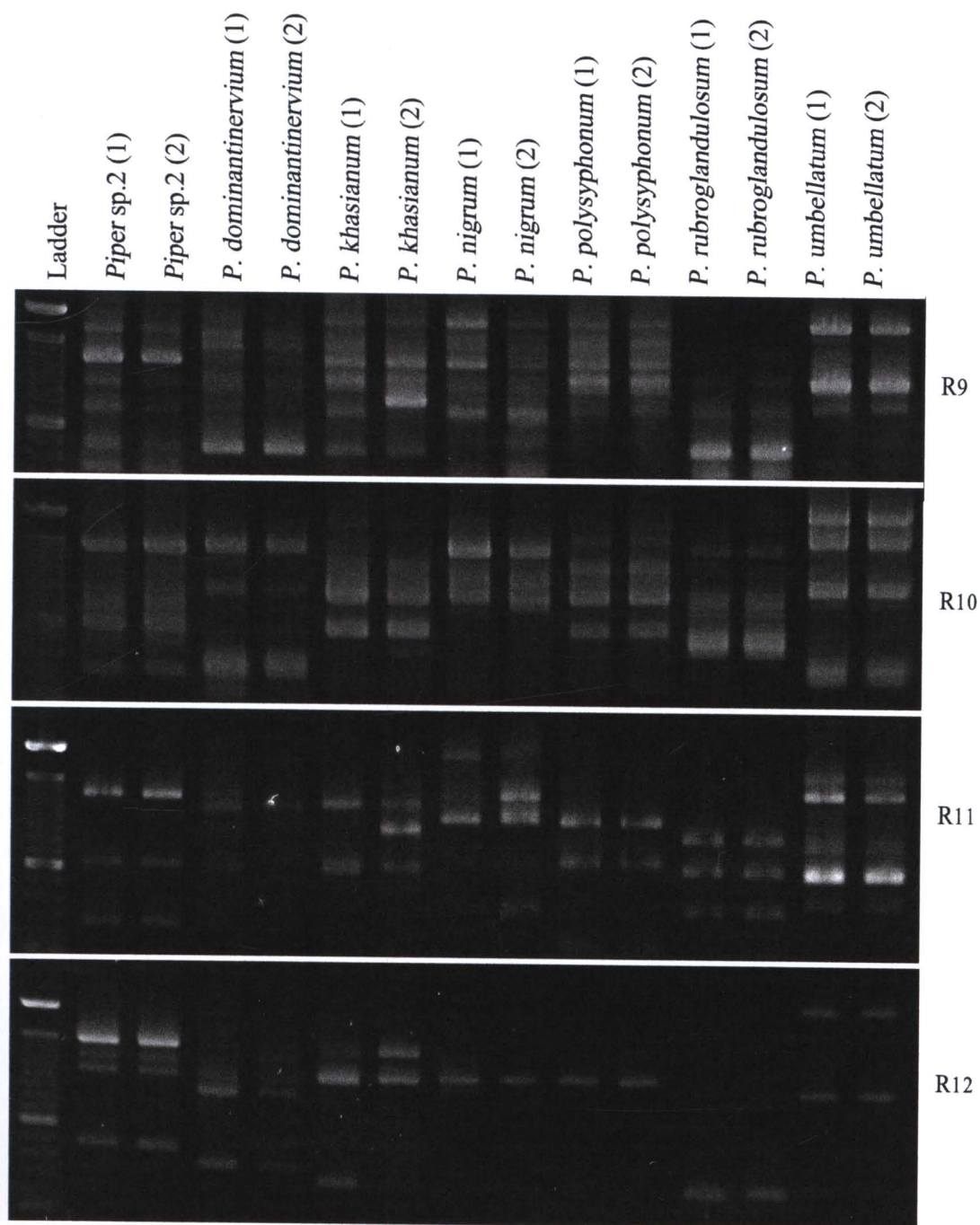
รูปที่ 5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ P1, P2, P3 และ P4 ของพืชชนิดใหม่ (*Piper sp. 2*) และชนิดที่นำมาเปรียบเทียบ โดยแต่ละชนิดมี 2 ตัวอย่าง



รูปที่ 6 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ P5, P6, P7 และ C4 ของพืชชนิดใหม่ (*Piper* sp. 2) และชนิดที่นำมาเปรียบเทียบ โดยแต่ละชนิดมี 2 ตัวอย่าง



รูปที่ 7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ C5, C6, C7 และ R8 ของพืชชนิดใหม่ (*Piper* sp. 2) และชนิดที่นำมาเปรียบเทียบ โดยแต่ละชนิดมี 2 ตัวอย่าง

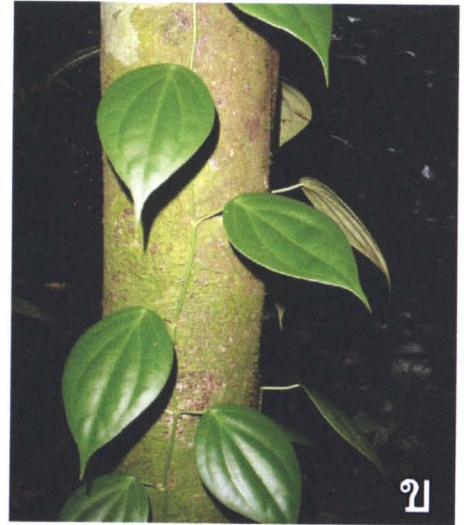


รูปที่ 8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ R9, R10, R11 และ R12 ของพืชชนิดใหม่ (*Piper* sp. 2) และชนิดที่นำมาเปรียบเทียบ โดยแต่ละชนิดมี 2 ตัวอย่าง

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Fingerprinting II (Bio-Rad) และสร้างเดนโดรแกรม (รูปที่ 9) *P. umbellatum* ได้แยกออกจากชนิดอื่นๆ ในขณะที่แต่ละตัวอย่างของชนิดเดียวกันอยู่บนกิ่งเดียวกันทั้งหมด โดยความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ในชนิดเดียวกันมีค่า 0.01 ถึง 0.03 และในต่างชนิดมีค่า 0.16 ถึง 0.39 และพบว่า *Piper* sp. 2 ไม่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับชนิดใดๆ ที่นำมาเปรียบเทียบเลย โดยมีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมเป็น 0.25 เมื่อเทียบกับ *P. khasianum* ถึง 0.34 เมื่อเทียบกับ *P. rubroglandulosum* (ตารางที่ 8) เมื่อผลการวิเคราะห์ข้อมูลระดับโมเลกุลสอดคล้องกับข้อมูลด้านสัณฐานวิทยาจึงสรุปว่าพืชนี้เป็นพืชชนิดใหม่ และได้ตั้งชื่อว่า “*Piper protrusum* Chaveer. & Tanee” (รูปที่ 10-11)

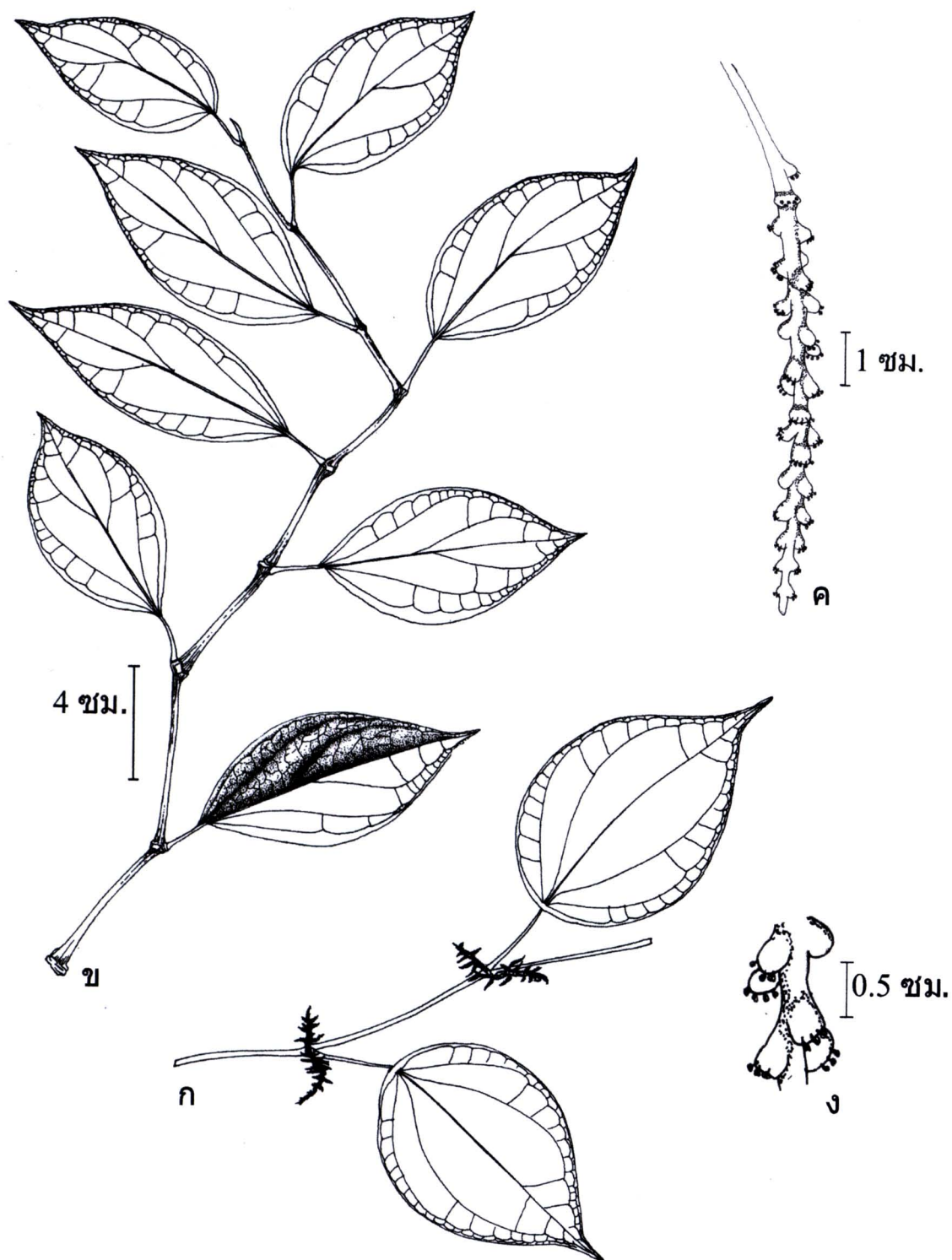
ตารางที่ 8 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมจากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจาก 16 ไพรเมอร์ ด้วยโปรแกรม Fingerprinting II (Bio-Rad)

	<i>P. khasianum</i> 1	<i>P. khasianum</i> 2	<i>P. dominantinervium</i> 1	<i>P. dominantinervium</i> 2	<i>P. rubroglandulosum</i> 1	<i>P. rubroglandulosum</i> 2	<i>P. polysyphonum</i> 1	<i>P. polysyphonum</i> 2	<i>P. nigrum</i> 1	<i>P. nigrum</i> 2	<i>P. protrusum</i> 1	<i>P. protrusum</i> 2	<i>P. umbellatum</i> 1	<i>P. umbellatum</i> 2
<i>Piper khasianum</i> 1	0.00													
<i>P. khasianum</i> 2	0.03	0.00												
<i>P. dominantinervium</i> 1	0.17	0.16	0.00											
<i>P. dominantinervium</i> 2	0.16	0.17	0.01	0.00										
<i>P. rubroglandulosum</i> 1	0.21	0.24	0.22	0.21	0.00									
<i>P. rubroglandulosum</i> 2	0.20	0.23	0.21	0.20	0.01	0.00								
<i>P. polysyphonum</i> 1	0.21	0.22	0.22	0.23	0.24	0.25	0.00							
<i>P. polysyphonum</i> 2	0.20	0.23	0.23	0.22	0.23	0.24	0.01	0.00						
<i>P. nigrum</i> 1	0.24	0.23	0.27	0.28	0.35	0.36	0.27	0.28	0.00					
<i>P. nigrum</i> 2	0.24	0.25	0.25	0.26	0.35	0.36	0.27	0.28	0.02	0.00				
<i>P. protrusum</i> 1	0.25	0.26	0.26	0.27	0.34	0.35	0.28	0.29	0.31	0.29	0.00			
<i>P. protrusum</i> 2	0.24	0.25	0.25	0.26	0.33	0.34	0.29	0.30	0.32	0.30	0.01	0.00		
<i>P. umbellatum</i> 1	0.35	0.36	0.38	0.39	0.34	0.33	0.28	0.27	0.39	0.37	0.36	0.37	0.00	
<i>P. umbellatum</i> 2	0.36	0.37	0.39	0.40	0.33	0.34	0.27	0.26	0.38	0.36	0.35	0.36	0.01	0.00



รูปที่ 10 ต้นเพศผู้ของ *Piper protrusum* Chaveer. & Tanee แสดงใบบนลำต้นเลื้อยตามผิวดิน (ก) ใบบนลำต้นเลื้อยขึ้นต้นไม้ (ข) ใบบนกิ่ง (ค) กิ่งและช่อดอก (ง) และส่วนขยายของช่อดอก (จ)



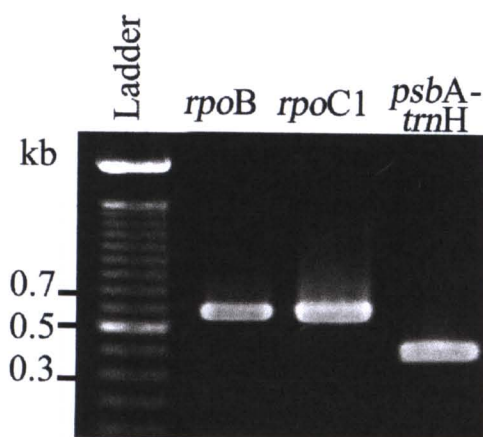


รูปที่ 11 ภาพลายเส้นของ *Piper protrusum* Chaveer. & Tanee แสดงใบบนลำต้นเลื้อยขึ้นต้นไม้ (ก) ใบบนกิ่ง (ข) ช่อดอก (ค) และส่วนขยายของช่อดอก (ง)

เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ด

เมื่อระบุชนิดใหม่เรียบร้อยแล้วจึงได้สร้างเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดประจำพืชชนิดใหม่ไว้ โดยได้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของจีน RNA polymerase beta subunit (*rpoB*) จีน RNA polymerase C (*rpoC1*) และบริเวณ *psbA-trnH* intergenic spacer ดังรูปที่ 12 จากนั้นนำผลผลิตไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์และวิเคราะห์ผล แล้วจึง submit ข้อมูลไปยัง GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) และได้ GenBank accession numbers ดังรูปที่ 13-15

ข้อมูลการค้นพบใหม่นี้ได้รับการยอมรับให้ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ คือ Journal of Systematics and Evolution ซึ่งมี Impact Factor (2010) เป็น 1.295 (Sudmoon et al., 2011; ภาคผนวก)



รูปที่ 12 แถบดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดจากบริเวณ *rpoB*, *rpoC1* และ *psbA-trnH* ของพืชชนิดใหม่ *Piper prostrum*

```
Go to:
LOCUS      GU980898                451 bp    DNA        linear    PLN 25-JUL-2010
DEFINITION Piper protrusum RNA polymerase beta subunit-like (rpoB) gene,
partial sequence; chloroplast.
ACCESSION  GU980898
VERSION    GU980898.1  GI:300872237
KEYWORDS   .
SOURCE     chloroplast Piper sp. AC100
  ORGANISM Piper protrusum
            Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
            Spermatophyta; Magnoliophyta; magnoliids; Piperales; Piperaceae;
            Piper.
REFERENCE  1 (bases 1 to 451)
  AUTHORS  Chaveerach,A., Tanee,T. and Sudmoon,R.
  TITLE    Piper protrusum (Piperaceae), a new species from southern Thailand
            based on morphological and molecular evidence
  JOURNAL   Journal of Systematics and Evolution
REFERENCE  2 (bases 1 to 451)
  AUTHORS  Chaveerach,A., Tanee,T. and Sudmoon,R.
  TITLE    Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-MAR-2010) Department of Biology, Faculty of Science,
            Khon Kaen University, 123 Mittraphap Highway, Muang, Khon Kaen
            40002, Thailand
FEATURES   Location/Qualifiers
  source    1..451
            /organism="Piper sp. AC100"
            /organelle="plastid:chloroplast"
            /mol_type="genomic DNA"
            /specimen_voucher="AC100"
            /db_xref="taxon:757033"
  gene      <1..>451
            /gene="rpoB"
  misc_feature <1..>451
            /gene="rpoB"
            /note="similar to RNA polymerase beta subunit"
ORIGIN
  1 acgggttgga acgacaggcg gctctagatt cagggtttcc gctatatccg aacgcgaagg
  61 aaaggtcatt tataccaata cagataagat cgttttatca ggtaatggag aactataaac
  121 cattccattg gttatgtatc aacgttccaa caaaaatact tgtatgcac aaaaaactca
  181 ggtttcgcgg ggtaagtgcg ttaaaaaggg acaaatttta gcggatgggt cagctactgt
  241 tgggggtgaa ctgcgtttgg gaaaaaatgt attagtagcg tatatgccat gggagggcta
  301 caattttgaa gatgcagtac tcattagtga acgtctggta tatgagattt tatacttctt
  361 ttcataatcg gaaatttgca ttccgactcc tgtccaggcc caggtcctga aaggaattac
  421 taggaaatta cgttttaact ccttttactc c
//
```

รูปที่ 13 ข้อมูลใน GenBank database ของบริเวณจีน *rpoB* จาก *Piper protrusum* (GenBank accession number GU980898)

<u>Go to:</u>	
LOCUS	GU980899 499 bp DNA linear PLN 25-JUL-2010
DEFINITION	Piper protrusum RNA polymerase C-like (rpoC1) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION	GU980899
VERSION	GU980899.1 GI:300872238
KEYWORDS	.
SOURCE	chloroplast Piper sp. AC100
ORGANISM	Piper protrusum Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; magnoliids; Piperales; Piperaceae; Piper.
REFERENCE	1 (bases 1 to 499)
AUTHORS	Chaveerach,A., Tanee,T. and Sudmoon,R.
TITLE	Piper protrusum (Piperaceae), a new species from southern Thailand based on morphological and molecular evidence
JOURNAL	Journal of Systematics and Evolution
REFERENCE	2 (bases 1 to 499)
AUTHORS	Chaveerach,A., Tanee,T. and Sudmoon,R.
TITLE	Direct Submission
JOURNAL	Submitted (05-MAR-2010) Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, 123 Mittraphap Highway, Muang, Khon Kaen 40002, Thailand
FEATURES	Location/Qualifiers
source	1..499 /organism="Piper sp. AC100" /organelle="plastid:chloroplast" /mol_type="genomic DNA" /specimen_voucher="AC100" /db_xref="taxon:757033"
gene	<1..>499 /gene="rpoC1"
misc feature	<1..>499 /gene="rpoC1" /note="similar to RNA polymerase C"
ORIGIN	
	1 accatgagga tggttataat aaagttttaca agtcgttttc agatgtactt gaagggaaaag
	61 aaggaagatt tcgcgagact ctgcttggtg agcgagttga ttattcgggg ccgttcgctc
	121 attgtcgtgg gccctcgcgt ttcattacat cgatgtggat tgcctcgaga aatagcaata
	181 gagcttttcc agacattttt aattcgaggt ctaataaggc agcgcgttgc ttccaacata
	241 gggattgcga aaagtaaaat tagagaaaaa gagcccattg tatgggaaaa tacttcaaga
	301 agttatgcag gggatcatccc gtattgctat atcgagcaac ccaccctcca taagattaag
	361 tatacaggcg ttccacccat tttatacagg gacgtgctat ttgtttacat ccattatattt
	421 gtaaggggatt caatagcgga ctttgatggg gatcaaatgg ctgttcattg accttatatc
	481 tttggaagac gtcgcggag
//	

รูปที่ 14 ข้อมูลใน GenBank database ของบริเวณจีน rpoC1 จาก *Piper protrusum* (GenBank accession number GU980899)

<u>Go to:</u>	
LOCUS	GU980900 265 bp DNA linear PLN 25-JUL-2010
DEFINITION	Piper protrusum PsbA-like (psbA) gene, partial sequence; psbA-trnH intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-His (trnH) gene, partial sequence; chloroplast.
ACCESSION	GU980900
VERSION	GU980900.1 GI:300872239
KEYWORDS	.
SOURCE	chloroplast Piper sp. AC100
ORGANISM	Piper protrusum Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; magnoliids; Piperales; Piperaceae; Piper.
REFERENCE	1 (bases 1 to 265)
AUTHORS	Chaveerach,A., Tanee,T. and Sudmoon,R.
TITLE	Piper protrusum (Piperaceae), a new species from southern Thailand based on morphological and molecular evidence
JOURNAL	Journal of Systematics and Evolution
REFERENCE	2 (bases 1 to 265)
AUTHORS	Chaveerach,A., Tanee,T. and Sudmoon,R.
TITLE	Direct Submission
JOURNAL	Submitted (05-MAR-2010) Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, 123 Mittraphap Highway, Muang, Khon Kaen 40002, Thailand
FEATURES	Location/Qualifiers
source	1..265 /organism="Piper sp. AC100" /organelle="plastid:chloroplast" /mol_type="genomic DNA" /specimen_voucher="AC100" /db_xref="taxon:757033"
gene	<1..34 /gene="psbA"
misc feature	<1..34 /gene="psbA" /note="similar to PsbA"
misc feature	32..>265 /note="contains psbA-trnH intergenic spacer and tRNA-His (trnH)"
ORIGIN	
	1 ggctgctgtt gaagctccat ctacaaatgg ataatgcttc ctccttatgt taatgtatag 61 gagttgttga aggagcaata ccaaatttct tgtttttcaa ggttttggtg ttgctccccc 121 gaatttccta gtgttttatt tacattttaat cgacgcgggc atagtttttt ttaatcgttt 181 aggtatagta tatttttatt actagaatac aggaacaccta atttaagggg cggatgtggc 241 caagtggatc aagggcagtg ggatt
//	

รูปที่ 15 ข้อมูลใน GenBank database ของบริเวณ *psbA-trnH* intergenic spacer จาก *Piper protrusum* (GenBank accession number GU980900)