

รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2557

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายเชิงโมเลกุลของซีลิเอตหน้าดินจากหาดลูกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี
Molecular Diversity of Benthic Ciliates from Look-Lom Beach,
Samaesarn Island, Chonburi Province

อาจารย์ ดร.ชิตชัย จันท์ตั้งสี่
สถาพร บุตรน้ำเพชร
สุชา เฉยศิริ
รองศาสตราจารย์ ดร.มาลินี ฉัตรมงคลกุล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ และขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซีลิเอตส่วนใหญ่อาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเป็นพื้นฐาน อย่างไรก็ตาม การศึกษาในระดับสัณฐานวิทยาของซีลิเอตบางครั้งอาจทำได้ไม่ถนัด เนื่องจากซีลิเอตเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก และบ่อยครั้งต้องอาศัยเทคนิคอื่นเข้าช่วยในการศึกษา นอกจากนี้ในบางกลุ่มอาจพบมีชนิดซ่อนเร้นที่ไม่แสดงความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาแต่แตกต่างในระดับพันธุกรรม เพื่อให้ได้ข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพที่ถูกต้องครอบคลุมมากที่สุด ปัจจุบันจึงมีการประยุกต์ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาที่มีความไวสูง ช่วยในการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพร่วมด้วย การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระดับโมเลกุลของซีลิเอตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย บริเวณหาดลูกลม เกาะเสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายโมเลกุล ทำการเก็บตัวอย่างทรายและคัดแยกโปรติสต์ออกจากตัวอย่างเพื่อสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นทำการเพิ่มจำนวนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอรัส โคลนยีนที่เพิ่มจำนวนได้ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์จากตัวอย่างที่ศึกษา จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ทั้งหมด 39 สาย พบว่าจำนวน 24 สายมีความใกล้เคียงกับซีลิเอต 8 สกุล ได้แก่ *Geleia*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Orthamphisiella*, *Paradisococephalus*, *Pleuronema*, *Protogastrostyla* และ *Trachelocerca* และลำดับที่ไม่สามารถระบุสกุลได้จำนวน 3 สาย นอกจากนี้อีก 12 สาย พบมีความใกล้เคียงกับโปรติสต์กลุ่มอื่น การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระดับโมเลกุลของซีลิเอตที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับซีลิเอตชนิดอื่นที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank พบลำดับนิวคลีโอไทด์หลายสายจับกลุ่มกันโดยแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับซีลิเอตทั้งที่สามารถระบุกลุ่มได้และไม่สามารถระบุได้ นอกจากนี้ยังพบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จับกลุ่มกันเอง โดยไม่แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับซีลิเอตกลุ่มใด ซึ่งน่าจะชี้ให้เห็นถึงการเป็นกลุ่มทางวิวัฒนาการใหม่ที่ถูกค้นพบในการศึกษาครั้งนี้

คำสำคัญ: ความหลากหลาย, ซีลิเอต, เทคนิคทางชีวโมเลกุล, โปรติสต์, หาดทราย

Abstract

A majority of biodiversity studies of ciliates have been based on information derived from morphological observation. However, due to their nature of having microscopic sizes, examination on the basis of morphological features is not an easy task and often requires some special cytological techniques for thorough study. Moreover, cryptic species whose morphology is indistinguishable but genetically distinct are known in some groups of ciliates. In order to gain accurate and comprehensive data on biodiversity, molecular approaches with high sensitivity are currently employed in combination with other traditional methods. The objectives of this study were to investigate biodiversity and to infer phylogenetic relationships of marine interstitial ciliates of Look-Lom Beach, Samaesarn Island, Chonburi Province using small subunit ribosomal DNA (SSU rDNA) as a molecular marker. Sand samples were collected and protists were then extracted from the samples for subsequent genomic DNA extraction. Polymerase chain reaction, gene cloning, and nucleotide sequencing were conducted to obtain SSU rDNA sequences of the collected samples. A total of 39 SSU rDNA sequences were obtained from this investigation. Of 39 sequences, 24 showed high similarities to ciliate members belonging to eight genera, including *Geleia*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Orthamphisiella*, *Paradisococephalus*, *Pleuronema*, *Protogastrostyla* and *Trachelocerca*. Three demonstrated close affinities to ciliates of unassigned taxa and the remaining 12 showed their taxonomic identities to various groups of protists. Phylogenetic analysis inferred from SSU rDNA sequences obtained from this study and others retrieved from the GenBank database demonstrated evolutionary relationships of ciliates found in this investigation to both known and unknown ciliate taxa. In addition, some lineages showed no close relationships to any known ciliates and appeared as separate branches, suggesting a presence of novel clades discovered in this study.

Keywords: diversity, ciliate, molecular technique, protist, sand beach

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำ.....	1
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	2
วัตถุประสงค์ของโครงการ	3
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	4
ขอบเขตของการวิจัย	4
สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล	4
วิธีดำเนินการวิจัย.....	5
การปฏิบัติงานในภาคสนาม.....	5
การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ.....	5
ผลการศึกษา	14
การเพิ่มปริมาณสมอลซ์ยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	14
การเพิ่มปริมาณสมอลซ์ยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	
จากโคลนของแบคทีเรีย	15
การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank.....	16
การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระดับโมเลกุลของซิลิเอดที่พบกับซิลิเอดสกุลอื่น	18
วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง.....	23
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก (ก)	28
ภาคผนวก (ข)	30
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	69

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 รายละเอียดไพรเมอร์ที่ใช้ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์	12
ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับฐานข้อมูล GenBank.....	16
ตารางที่ 3 จำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้	18

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ตำแหน่งที่ตั้งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง	4
ภาพที่ 2 สภาพบริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่างหาดลูกกลม เกาะเสมสาร	5
ภาพที่ 3 การเก็บตัวอย่างทรายโดยใช้ช้อนพรวน.....	6
ภาพที่ 4 การสกัดแยกโปรตีนออกจากทรายตัวอย่าง	6
ภาพที่ 5 การสกัดแยกโปรตีนออกจากทรายตัวอย่างด้วยน้ำแข็ง	7
ภาพที่ 6 ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ	13
ภาพที่ 7 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส	14
ภาพที่ 8 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสจากโคลนนิ่งของแบคทีเรีย ...	15
ภาพที่ 9 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซิลิเกตแบบ cladogram	20
ภาพที่ 10 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซิลิเกตแบบ phylogram	21

**ความหลากหลายเชิงโมเลกุลของซิลิเอตหน้าดินจากหาดลูกลม
เกาะเสม็ดสาร จังหวัดชลบุรี**
**Molecular Diversity of Benthic Ciliates from Look-Lom Beach,
Samaesarn Island, Chonburi Province**

ชิตชัย จันทังตังสี, สถาพร บุตรน้ำเพชร, สุชา เฉยศิริ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล
Chitchai Chantangsri, Sataporn Butnampet, Sucha Choeisiri,
and Malinee Chutmongkonkul

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

บทนำ

พื้นท้องน้ำ (benthic habitat) ไม่ว่าจะเป็นในระบบนิเวศน้ำจืดหรือน้ำทะเล จัดเป็นที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิดตั้งแต่จุลชีพ เช่น แบคทีเรีย โปรติสต์ สาหร่าย ตลอดจนสัตว์ไม่มีและก็มีกระดูกสันหลัง เช่น ฟองน้ำ หนอน หนอนจักร หอย กุ้ง ปู ปลา เป็นต้น ลักษณะที่อยู่อาศัยประเภทนี้ครอบคลุมตั้งแต่บริเวณริมชายฝั่งของหาดทรายไปจนถึงพื้นท้องทะเลที่มีความลึกนับร้อยนับพันเมตร ลักษณะที่อยู่อาศัยพื้นท้องน้ำตามชายฝั่งจัดเป็นระบบนิเวศที่มีความแปรผันทางกายภาพและทางเคมีสูง เนื่องจากได้รับอิทธิพลจากปัจจัยต่างๆ อาทิเช่น กระแสน้ำ กระแสน้ำขึ้นน้ำลง คลื่น แสง และอุณหภูมิ (Kalinowska, 2008) ถึงแม้ว่าพื้นท้องน้ำบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลจะมีความแปรปรวนสูง แต่กลับพบว่าความหลากหลายของชนิดและจำนวนสิ่งมีชีวิตที่ดำรงชีวิตอยู่ในที่อยู่อาศัยลักษณะนี้ไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าความหลากหลายที่พบในมวลน้ำเลย หนึ่งในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ตามหน้าดินบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลที่สำคัญกลุ่มหนึ่ง คือ ซิลิเอต ซึ่งเป็นจุลชีพกลุ่มโปรติสต์เซลล์เดียวที่มีความสำคัญในการควบคุมประชากรของแบคทีเรียและสาหร่ายขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศบริเวณนี้ อีกทั้งยังเป็นส่วนหนึ่งในการหมุนเวียนสารอาหารและสารอินทรีย์ไปสู่สิ่งมีชีวิตที่อยู่ในลำดับทางอาหาร (trophic level) ที่สูงขึ้นต่อไปในระบบนิเวศ (Kemp, 1988; Königs and Cleven, 2007)

การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพของชนิดและจำนวนของสิ่งมีชีวิตอาจทำได้หลายวิธีทั้งการสำรวจโดยตรงซึ่งนิยมทำในสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดใหญ่หรือการสำรวจทางอ้อม เช่น การวัดปริมาณสารบางอย่างที่สร้างขึ้นโดยสิ่งมีชีวิต ในสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมองไม่เห็นได้ด้วยตาเปล่า การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพโดยตรงอาจทำได้ไม่มากนัก เนื่องจากต้องใช้อุปกรณ์และขั้นตอนเพิ่มเติมช่วยในการศึกษา เช่น การย้อมสี การรักษาสภาพ การตรวจศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บางครั้งสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษามีอยู่ในระยะพัก (cyst) ทำให้ไม่สามารถจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ (Doherty et al., 2010) อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนเหล่านี้อาจไม่สามารถประเมินความหลากหลายทางชีวภาพได้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจุลชีพบางกลุ่มที่การรักษาสภาพสิ่งมีชีวิตอาจทำได้

ยุ่งยากหรือไม่สมบูรณ์ ทำให้ไม่สามารถจำแนกหรือระบุชนิดได้ถูกต้องในห้องปฏิบัติการ การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพโดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยาโดยอาศัยเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) จัดเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถให้ข้อมูลได้มากกว่าการประเมินด้วยวิธีอื่น อีกทั้งการประเมินด้วยวิธีนี้บ่อยครั้งยังเปิดเผยให้เห็นถึงสิ่งมีชีวิตที่ไม่ถูกค้นพบด้วยวิธีอื่น เนื่องจากความไวสูงที่ได้จากการประเมินด้วยวิธีนี้ (Bass and Cavalier-Smith, 2004; Hirst et al., 2011; Not et al., 2009)

พื้นที่หาดลูกกลมของเกาะเสม็ด จังหวัดชลบุรี เป็นหาดทรายที่มีความบริสุทธิ์สูง เนื่องจากได้รับการดูแลโดยกองทัพเรือและยังไม่ถูกรบกวนโดยนักท่องเที่ยวมากนัก งานวิจัยก่อนหน้านี้โดยอาศัยการศึกษาทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า พื้นที่บริเวณนี้อุดมไปด้วยซิลิเกตที่มีความหลากหลายทั้งชนิดและจำนวนสูง (สุชา เณยศิริ, ชิตชัย จันทรตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล, 2554; สุชา เณยศิริ, มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิตชัย จันทรตั้งสี, 2556) อย่างไรก็ตาม การประเมินโดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจยังไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางชีวภาพที่แท้จริงของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ได้ งานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเกตที่อาศัยอยู่ตามพื้นทรายหน้าดินบริเวณหาดลูกกลม เกาะเสม็ด จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยวิธีการทางชีวโมเลกุล ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้จะเป็นการเปิดเผยข้อมูลเชิงลึกทางทรัพยากรของประเทศของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ อันจะนำไปสู่การนำสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไป

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชีวิต สิ่งแวดล้อม และทรัพยากรธรรมชาติล้วนเป็นสมบัติอันล้ำค่าของแต่ละภูมิภาคแต่ละท้องถิ่น ความหลากหลายทางชีวภาพเป็นเครื่องชี้วัดอันหนึ่งที่แสดงให้เห็นถึงความสมบูรณ์ของระบบนิเวศ เป็นที่รู้กันทั่วโลกของเราเป็นบ้านของสิ่งมีชีวิตกว่า 2 ล้านชนิดครอบคลุมนับตั้งแต่พวกที่มีขนาดเล็กไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าจำพวกจุลชีพ ไปจนถึงที่มีขนาดใหญ่รวมถึงมนุษย์เรา อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาพบว่ายังมีสิ่งมีชีวิตอีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่ถูกค้นพบและซ่อนเร้นอยู่ในระบบนิเวศต่างๆ ในหลายภูมิภาคและหลายลักษณะที่อยู่อาศัย เนื่องจากความหลากหลายทางชีวภาพที่มีอยู่สูงในธรรมชาติบนพื้นพิภพแห่งนี้ (Wilson, 2000, 2003)

ในสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพสามารถกระทำได้โดยตรงจากการสำรวจไปในพื้นที่ต่างๆ ที่สิ่งมีชีวิตเหล่านั้นอาศัยอยู่ อย่างไรก็ตาม ในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กหรือพวกจุลชีพ การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพอาจทำได้ไม่มากนัก เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องของขนาด อีกทั้งจุลชีพบางกลุ่มจำเป็นต้องใช้เทคนิคเฉพาะอื่นๆ เข้าช่วย อาทิเช่น การย้อมสี การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การเพาะเลี้ยง เป็นต้น (Chantangsi et al., 2007; Corliss and Daggett, 1983) ถึงแม้จะอาศัยวิธีการเหล่านี้ร่วมในการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพแล้วก็ตาม อย่างไรก็ตาม ยังมีสิ่งมีชีวิตอีกเป็นจำนวนมากที่ยังสำรวจไม่พบหรือถูกมองข้ามไปในระหว่างขั้นตอนการศึกษา ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาการนำความรู้และเทคนิคทางด้านอนุชีววิทยามาประยุกต์ใช้ในการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มจุลชีพขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า งานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่ายังมีจุลชีพอีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่ถูกค้นพบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลชีพกลุ่มโพรติสต์ที่อาศัยอยู่ในทะเล ยิ่งไปกว่านั้น งานวิจัยเหล่านี้ยังแสดงให้เห็นว่า ความหลากหลายทางชีวภาพของโพรติสต์แท้จริงแล้วมีมากกว่าที่เราคิดและพบในปัจจุบันมากนัก (Bass et al., 2009; Bass and Cavalier-Smith, 2004; Brad et al., 2008; Chen et al., 2008;

Massana and Pedrós-Alió, 2008; Park et al., 2008; Piquet et al., 2008; Šlapeta et al., 2005; Tian et al., 2009)

การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพโดยอาศัยเทคนิคทางอนุชีววิทยานั้น ส่วนใหญ่มักประเมินโดยตรวจดูจากความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) และเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความเป็นอัตลักษณ์ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด โดยหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่มีผู้นิยมใช้ในการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิต คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ (small subunit rRNA gene หรือ SSU rDNA) ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการแปลรหัส (translation) ในกระบวนการสังเคราะห์สายโพลีเปปไทด์ (polypeptide) โดยยีนนี้เป็นยีนที่มีผู้ทำการศึกษาในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาทางด้านวิวัฒนาการ นอกจากนี้ยีนชนิดนี้ยังเป็นยีนที่มีข้อมูลครอบคลุมสิ่งมีชีวิตหลายกลุ่มและมีข้อมูลมากในฐานข้อมูลสากล โดยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา มีงานวิจัยหลายชิ้นที่นำยีนตัวนี้มาใช้ในการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพทั้งในสิ่งมีชีวิตกลุ่มโปรคาริโอต (prokaryote) และยูคาริโอต (eukaryote) จำพวกโพรติสต์ (Massana and Pedrós-Alió, 2008; Park et al., 2008; Šlapeta et al., 2005; Tian et al., 2009)

ซิลิเอตเป็นจุลชีพโพรติสต์กลุ่มที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงและดำรงชีวิตได้ในเกือบทุกลักษณะที่อยู่อาศัย สิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีประโยชน์ทั้งในแง่ของการเป็นผู้บริโภคหมุนเวียนส่งถ่ายสารอาหารไปสู่ผู้บริโภคในลำดับที่สูงขึ้น ควบคุมประชากรของแบคทีเรียและจุลชีพอื่นๆ (Dopheide et al., 2009) เป็นดัชนีชี้วัดสภาวะของสิ่งแวดล้อมที่มันดำรงอยู่ (Lee et al., 2004; Madoni, 2005) ตลอดจนเป็นสิ่งมีชีวิตจำลองในการศึกษาในหลายแขนงวิชา เช่น พืชวิทยา, เซลล์วิทยา, อนุชีววิทยา, นิเวศวิทยา, วิวัฒนาการ และพฤติกรรม เป็นต้น (Corliss, 2002; Corliss and Daggett, 1983) ระบบนิเวศหน้าดินเป็นอีกหนึ่งลักษณะที่อยู่อาศัยที่สามารถพบซิลิเอตดำรงชีวิตอยู่ และในบางระบบย่อยพบมีความหลากหลายทางชีวภาพทั้งชนิดและจำนวนสูง (Burkovsky and Mazei, 2010) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตที่ดำรงชีวิตอยู่ในลักษณะที่อยู่อาศัยประเภทนี้ยังมีอยู่น้อยมาก เมื่อเทียบกับซิลิเอตกลุ่มที่ดำรงชีวิตเป็นแพลงก์ตอนลอยอยู่ในมวลน้ำ และยังมีข้อมูลไม่มากนักหากเปรียบเทียบพวกที่ดำรงชีวิตในน้ำเค็มกับพวกที่ดำรงชีวิตอยู่ในแหล่งน้ำจืด การวิจัยในเรื่องความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตที่ดำรงชีวิตตามหน้าดินบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ ด้วยเหตุเพราะความรู้ความเข้าใจอันจะมีเกิดขึ้นจะนำไปสู่การเติมเต็มองค์ความรู้ในแง่มุมนี้ของสิ่งมีชีวิตกลุ่มดังกล่าวที่ดำรงชีวิตอยู่ในลักษณะที่อยู่อาศัยประเภทนี้ ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จึงมีความสมบูรณ์มากขึ้นด้วยการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเข้าช่วย งานวิจัยชิ้นนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางชีวภาพในเชิงลึกของซิลิเอตหน้าดินที่พบบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลของหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยวิธีการทางอนุชีววิทยาและเครื่องหมายโมเลกุล คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ

วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตที่อาศัยอยู่ตามพื้นทรายหน้าดินบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิต สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดล้วนมีข้อมูลพันธุกรรมที่มีความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะในตัวของตัวเอง และแตกต่างกันไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการประเมินและช่วยให้เราสามารถเข้าใจถึงความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตที่ดำรงอยู่บนโลกใบนี้ได้

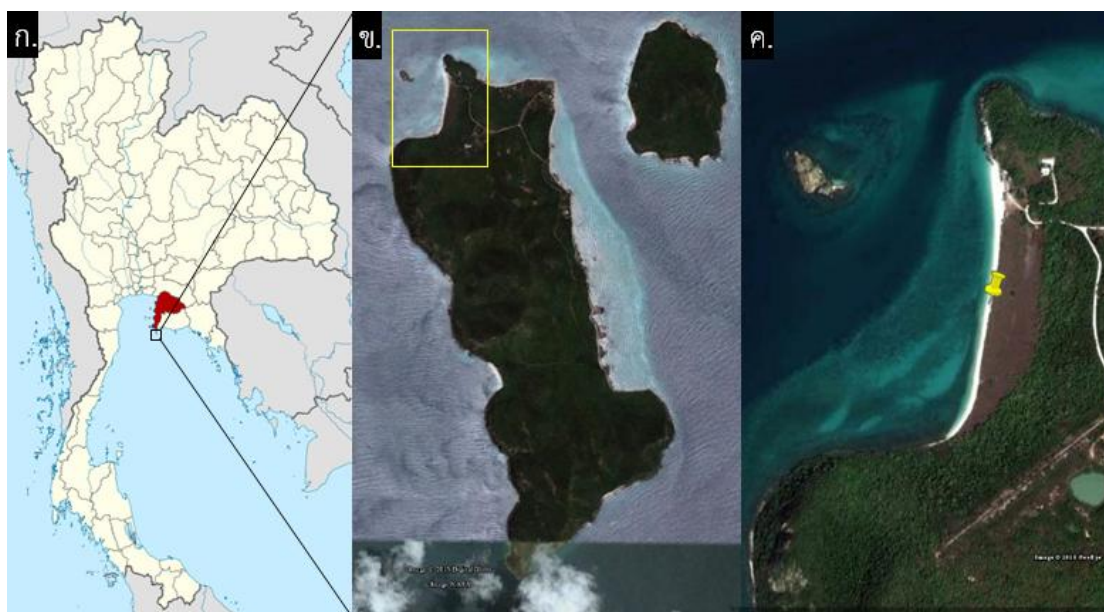
ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเกตที่อาศัยอยู่ตามพื้นทรายหน้าดินบริเวณหาดลูกลมในระดับอนุชีววิทยาจากตัวอย่างดีเอ็นเอที่เก็บไว้เมื่อ วันที่ 28 มีนาคม พ.ศ. 2555

สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

ภาคสนาม: พื้นที่เก็บตัวอย่าง คือ บริเวณหาดลูกลม เกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยหาดลูกลมเป็นหาดทรายที่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ (ภาพที่ 1)

ห้องปฏิบัติการ: ห้องปฏิบัติการ Protistology Laboratory ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 1 ตำแหน่งที่ตั้งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง ก. แผนที่ประเทศไทย บริเวณสีที่บแสดงที่ตั้งของจังหวัดชลบุรี และในกรอบสี่เหลี่ยมแสดงตำแหน่งของเกาะแสมสาร (Wikipedia, 2013: online); ข. ภาพถ่ายทางอากาศของเกาะแสมสาร โดยในกรอบแสดงภาพหาดลูกลมซึ่งตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ; และ ค. หมุดแสดงตำแหน่งของหาดลูกลม ในพิกัดละติจูดที่ $12^{\circ}35'2.04''\text{N}$ และลองจิจูดที่ $100^{\circ}56'46.92''\text{E}$ [ภาพ ข. และ ค. ที่มา Google Inc., 2013: online]

วิธีดำเนินการวิจัย

การปฏิบัติงานในภาคสนาม

พื้นที่เก็บตัวอย่าง คือ บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยตัวหาดเป็นหาดทรายที่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ (ภาพที่ 2) ทำการเก็บตัวอย่างทรายที่ยังมีความชื้นหรือน้ำทะเลท่วมถึงด้วยช้อนพรวนลงในกล่องพลาสติกที่มีความจุปริมาตร 750 มิลลิลิตร จำนวน 12 กล่อง (ภาพที่ 3) เนื่องจากไม่มีการรักษาสภาพตัวอย่าง ดังนั้นจึงนำตัวอย่างกลับมาศึกษาในห้องปฏิบัติการหลังการเก็บทันที



ภาพที่ 2 บริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่างหาดลูกกลม เกาะแสมสาร

การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

1. การสกัดแยกโพรติสต์ออกจากทรายตัวอย่าง

ทำการสกัดแยกโพรติสต์ออกจากทรายตัวอย่างตามวิธีของ Uhlig (1964) โดยใส่ทรายตัวอย่างลงในกระบอกพลาสติกปลายปิดที่หุ้มปลายด้านล่างด้วยผ้าตาข่ายพลาสติกขนาดตา 60 ไมครอน วางจานเพาะเชื้อที่บรรจุน้ำทะเลกรองที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อไว้ได้กระบอกพลาสติกบริเวณที่ติดกับผ้าตาข่าย (ภาพที่ 4) จากนั้นใส่น้ำแข็งที่ทำจากน้ำทะเลกรองที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อลงบนทรายตัวอย่าง ตั้งทิ้งไว้จนน้ำแข็งละลาย (ภาพที่ 5) โพรติสต์ที่อาศัยตามช่องว่างระหว่างเม็ดทรายจะเคลื่อนที่ลงมาสะสมในน้ำทะเลกรองภายในจานเพาะเชื้อ



ภาพที่ 3 การเก็บตัวอย่างทรายโดยใช้ช้อนพรวนตักทรายที่ยังมีความชื้นหรือน้ำทะเลท่วมถึง



ภาพที่ 4 การสกัดแยกโปรตีนออกจากทรายตัวอย่าง โดยตักทรายตัวอย่างใส่ลงในอุปกรณ์สกัด

2. การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีของ Ivanova และคณะ (2006) (ภาคผนวก ก.) และใช้ spin column ของ Genomic DNA Extraction Kit Maxiprep Blood/Cultured Cell (Geneaid Biotech Ltd., Taipei County, Taiwan) โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.1 เติมสารละลาย insect lysis buffer ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่า ลงในตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้ในข้อ 1 โดย lysate ปริมาตรสุดท้ายที่ได้มีค่าเท่ากับ 35 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด



ภาพที่ 5 การสกัดแยกโปรตีนออกจากทรายตัวอย่างด้วยน้ำแข็งตามวิธีของ Uhlig (1964)

2.2 ชั่ง proteinase K 70 มิลลิกรัม ใส่ลงใน lysate ปริมาตร 35 มิลลิลิตรแต่ละหลอด แล้วผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมสารด้วยแรงหมุน (vortex) จากนั้นนำไปปั่นในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลาข้ามคืน

2.3 เมื่อปั่นจนครบเวลา เติมสารละลาย binding mix ลงใน lysate ทั้ง 2 หลอดๆ ละ 70 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.4 นำ spin column สวมเข้ากับหลอดทดลองพลาสติกกันกรวยขนาด 50 มิลลิลิตร ชนิดที่มีฝาปิด

2.5 ใช้ปิเปตต์ดูด lysate ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ใส่ลงใน spin column ที่เตรียมไว้ และปิดฝาให้สนิทก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เทส่วนน้ำใสที่ไหลผ่าน spin column ที่บริเวณก้นหลอดทิ้งไป

2.6 ทำซ้ำในขั้นที่ 2.5 โดยกรอง lysate ผ่าน column โดยใช้ spin column ชุดเดิมจน lysate หมด

2.7 เติมสารละลาย protein wash buffer ลงใน spin column หลอดละ 4 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เทส่วนน้ำใสที่ก้นหลอดทิ้งไป

2.8 เติมสารละลาย wash buffer หลอดละ 6 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นจึงเทส่วนน้ำใสที่ก้นหลอดทิ้งไป

2.9 นำไปปั่นเหวี่ยงซ้ำด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้เมมเบรนของ spin column แห้งสนิท

2.10 ย้าย spin column มาสวมกับหลอดทดลองพลาสติกกันกรวยขนาด 50 มิลลิลิตรหลอดใหม่ เพื่อทำการชะดีเอ็นเอ (DNA elution) จากเมมเบรนของ spin column

2.11 ทำการชะดีเอ็นเอ 2 ครั้ง ครั้งแรกด้วยสารละลาย elution buffer ปริมาตร 300 ไมโครลิตร โดยใช้ปิเปตต์ดูด elution buffer ใส่บริเวณกึ่งกลางเมมเบรนของ spin column ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที

จึงนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำ spin column ออก และใช้ pipette ตูดสารละลายดีเอ็นเอที่กั้นหลอดเก็บไว้ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.12 ทำการชะดีเอ็นเอครั้งที่สองด้วยสารละลาย elution buffer ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร โดยใช้ spin column และวิธีการเดียวกับการชะครั้งแรกในข้อ 2.11

2.13 นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไป

3. การทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction: PCR) หรือพีซีอาร์

3.1 นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เตรียมไว้ข้างต้นใช้เป็นแม่พิมพ์ (template) สำหรับนำไปเพิ่มปริมาณสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (small subunit ribosomal DNA) ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ OneTaq[®] DNA Polymerase (New England BioLabs, Inc., Ipswich, MA, USA, Cat. No. M0480) องค์ประกอบ และสภาวะในการทำปฏิกิริยา ดังนี้

(1) DNA template	ปริมาตร	2, 4 และ 6	ไมโครลิตร
(2) 5X One Taq Standard Reaction Buffer	ปริมาตร	5	ไมโครลิตร
(3) One Taq Hot Start DNA Polymerase	ปริมาตร	0.125	ไมโครลิตร
(4) dNTP mix (10 mM each)	ปริมาตร	0.5	ไมโครลิตร
(5) Forward primer: RPF1 (5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3')			
ความเข้มข้น 10 µM	ปริมาตร	0.5	ไมโครลิตร
(6) Reverse primer: Api1738R (5'-GACCTGTTRTWGCCTHAMRCTTCC-3')			
ความเข้มข้น 10 µM	ปริมาตร	0.5	ไมโครลิตร
(7) PCR grade water	ให้ได้ปริมาตรสุทธิเป็น	25	ไมโครลิตร

นำหลอดพีซีอาร์ที่เติมสารเรียบร้อยแล้วใส่ลงในเครื่อง thermal cycler ที่ตั้งโปรแกรมดังนี้

โปรแกรม NBCIL5:

40 รอบ	Heat	94 °C	เป็นเวลา	5	นาที
	Denaturation step	94 °C	เป็นเวลา	30	วินาที
	Annealing step	59.5 °C	เป็นเวลา	1	นาที
	Extension step	68 °C	เป็นเวลา	3:45	นาที
	Final extension step	68 °C	เป็นเวลา	10	นาที
	Hold step	25 °C	จนกว่าจะนำปฏิกิริยาออกจากเครื่อง		

3.2 ใช้ดีเอ็นเอที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นแม่พิมพ์ เพื่อทำการเพิ่มปริมาณสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (small subunit ribosomal DNA) ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อสิ่งมีชีวิตกลุ่มซีลิเอต โดยมีองค์ประกอบและสภาวะในการทำปฏิกิริยา ดังนี้

(1) DNA template	ปริมาตร	2, 4 และ 6	ไมโครลิตร
(2) 5X One Taq Standard Reaction Buffer	ปริมาตร	5	ไมโครลิตร
(3) One Taq Hot Start DNA Polymerase	ปริมาตร	0.125	ไมโครลิตร
(4) dNTP mix (10 mM each)	ปริมาตร	0.5	ไมโครลิตร

(5) Forward primer: RPF1 (5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3')

ความเข้มข้น 10 μ M

ปริมาตร 0.5

๖ ไมโครลิตร

(6) Reverse primer: 18S-R1513 Karyo (5'-TGATCCATCCGCAGGTTC-3')

ความเข้มข้น 10 μ M

ปริมาตร 0.5

ไมโครลิตร

(7) Reverse primer: 18S-R1513 Hypo (5'-TGATCCTTCYGCAGGTTC-3')

ความเข้มข้น 10 μ M

ปริมาตร 0.5

ไมโครลิตร

(8) PCR grade water

ให้ได้ปริมาตรสุทธิเป็น 25

25

ไมโครลิตร

นำหลอดฟลูออโรที่เติมสารเรียบร้อยแล้วใส่ลงในเครื่อง thermal cycler ที่ตั้งโปรแกรมดังนี้

โปรแกรม NBCIL6:

40 รอบ	Heat	94 °C	เป็นเวลา	5	นาที	
	{	Denaturation step	94 °C	เป็นเวลา	30	วินาที
		Annealing step	52 °C	เป็นเวลา	1	นาที
		Extension step	68 °C	เป็นเวลา	3:45	นาที
	Final extension step	68 °C	เป็นเวลา	10	นาที	
	Hold step	25 °C	จนกว่าจะนำปฏิกิริยาออกจากเครื่อง			

โดยยีนและช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ถูกเพิ่มจำนวนขึ้นมาจากไพรเมอร์ที่ใช้ คือ ยีน 18S หรือ SSU rDNA (small subunit ribosomal DNA) ซึ่งมีขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จากไพรเมอร์ RPF1 และ Api1738R ประมาณ 1,450 คู่เบส (base pair: bp) และจากไพรเมอร์ RPF1, 18S-R1513 Karyo (Andreoli et al., 2009) และ 18S-R1513 Hypo (Petroni et al., 2002) ประมาณ 1,700 คู่เบส

3.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จากข้อ 3.1 และ 3.2 โดยการสกัดแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (agarose gel electrophoresis) ใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 0.8% และสารละลายบัฟเฟอร์ทีเออี (Tris Acetate EDTA buffer: TAE) พร้อม molecular marker ชนิด 1 kb plus โดยตั้งค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที

3.4 หลังจากครบ 30 นาที นำแผ่นเจลไปย้อมในสารละลาย ethidium bromide เป็นเวลา 10 นาที

3.5 ล้างสารละลาย ethidium bromide ส่วนเกินออกโดยนำแผ่นเจลไปแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นตรวจจุดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ภายใต้แสงยูวี พร้อมบันทึกภาพ

3.6 นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ทั้งหมดที่ให้แถบดีเอ็นเอในขนาดที่ต้องการ คือประมาณ 1,450 คู่เบส และ 1,700 คู่เบสไปสกัดแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 0.8% และสารละลายบัฟเฟอร์ทีเออี ตามข้อ 3.3 จากนั้นนำแผ่นเจลไปย้อมตามข้อ 3.4 และ 3.5

3.7 นำแผ่นเจลไปตรวจภายใต้แสงยูวีและใช้ใบมีดที่สะอาดตัดเอาเฉพาะเจลในส่วนที่มีแถบตีเอ็นเอ ขนาดที่ต้องการใส่ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1.5 มิลลิลิตร

4. การทำความสะอาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วย Geneaid Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan Cat. No. DF100/300)

4.1 เติมสารละลาย DF Buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ที่มีเจลที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการ แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นบ่มใน heat block ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 15 นาที หรือจนกว่าเจลจะละลายหมด โดยกลับหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ขึ้นลงทุกๆ 3 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4.2 สวม DF column เข้ากับหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ แล้วจึงเติมสารละลายที่ได้จากข้อ 4.1 ลงใน DF column จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนน้ำใสที่ผ่าน DF column ทิ้ง (ทำซ้ำจนกว่าสารละลายจากข้อ 4.1 จะหมด)

4.3 เติมสารละลาย W1 buffer ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงใน DF column จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที แล้วจึงเทส่วนน้ำใสทิ้งไป

4.4 เติมสารละลาย wash buffer ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงใน DF column ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที แล้วเทส่วนน้ำใสทิ้งไป

4.5 นำ DF column ไปปั่นเหวี่ยงซ้ำด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที

4.6 ย้าย DF column มาสวมกับหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เพื่อทำการชะดีเอ็นเอจากเมมเบรนของ DF column

4.7 เติมสารละลาย elution buffer ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ที่บริเวณกึ่งกลางเมมเบรนของ DF column ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที

4.8 นำ DF column ออก และใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายดีเอ็นเอที่ก้นหลอดเก็บไว้ในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์หลอดใหม่

4.9 นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไป

5. การโคลนยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ โดยใช้ชุดโคลนนิ่งสำเร็จรูป StrataClone™ PCR Cloning Kit (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA, Cat. No. 240205) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

5.1 เติมสารต่อไปนี้ตามลำดับลงในหลอดขนาด 0.2 มิลลิลิตร

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

ผสมให้เข้ากันเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำหลอดปฏิกิริยาไปตั้งบนน้ำแข็ง

5.2 นำหลอด StrataClone SoloPack competent cells ออกจากตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส และทิ้งไว้ให้ละลายบนน้ำแข็ง

5.3 ดูดปฏิกิริยาในข้อ 5.1 ปริมาตร 6 ไมโครลิตร เติมลงใน StrataClone SoloPack competent cells ที่ละลายแล้ว ผสมให้เข้ากันเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้บนน้ำแข็งเป็นเวลา 20 นาที

5.4 จุ่มหลอดปฏิกิริยาในข้อ 5.3 ใน water bath ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที

5.5 นำหลอดตัวอย่างไปวางบนน้ำแข็งทันที และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาที

5.6 เติมสารละลาย LB broth ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ลงในหลอดตัวอย่าง 250 ไมโครลิตร

5.7 นำหลอดตัวอย่างไปเขย่าที่ความเร็วประมาณ 175 รอบต่อนาที ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

5.8 หลังจาก 1 ชั่วโมง ดูปฏิกิริยาในข้อ 5.7 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (LB agar) ซึ่งมียาปฏิชีวนะ ampicillin อยู่และเติมสารละลาย 5-bromo-4-chloro-indolyl- β -D-galactopyranoside (X-gal) ความเข้มข้น 2% ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ซึ่งเกลี่ยทิ้งไว้ก่อนหน้านี้

5.9 เกลี่ย (spread) ปฏิกริยาให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ

5.10 ทำซ้ำกับปฏิกริยาที่เหลืออยู่ในจานเพาะเชื้อใหม่

5.11 บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 18 ชั่วโมง

5.12 ตรวจสอบโคโลนีสีขาวและโคโลนีสีน้ำเงินหลังจากบ่มปฏิกริยาไว้ข้ามคืน โดยโคโลนีของแบคทีเรียที่มีสีขาวจะมีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มจำนวนอยู่

6 การทำปฏิกริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรสจากโคโลนีของแบคทีเรีย (colony PCR)

6.1 ใช้ไม้จิ้มฟันที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว จิ้มโคโลนีของแบคทีเรียที่มีสีขาวเพื่อใช้เป็นแม่พิมพ์สำหรับนำไปเพิ่มปริมาณสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปในแบคทีเรียด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ GeNeiTM Red Dye PCR Master Mix (2X) (Merck Ltd., Klongtoey, Bangkok, Thailand, Cat. No. 61060210003) ไพรเมอร์ของพาหะ (vector primer) และสภาวะในการทำปฏิกริยา ดังต่อไปนี้

(1) DNA template (โคโลนีของแบคทีเรียที่มีสีขาว)

(2) GeNeiTM Red Dye PCR Master Mix (2X) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

(3) Forward primer: T3 (5'-ATTAACCTCACTAAAG-3')

ความเข้มข้น 10 μ M ปริมาตร 0.2 ไมโครลิตร

(4) Reverse primer: T7 (5'-AATACGACTCACTATAG-3')

ความเข้มข้น 10 μ M ปริมาตร 0.2 ไมโครลิตร

(5) PCR grade water ปริมาตร 49.6 ไมโครลิตร

ปริมาตรสุดท้าย 100 ไมโครลิตร

นำหลอดพีซีอาร์ที่เติมสารเรียบร้อยแล้วใส่ลงในเครื่อง thermal cycler ที่ตั้งโปรแกรมดังนี้

โปรแกรม BAC50V3:

40 รอบ	Heat	95 °C	เป็นเวลา	10	นาที
	Denaturation step	95 °C	เป็นเวลา	1	นาที
	Annealing step	50 °C	เป็นเวลา	1	นาที
	Extension step	72 °C	เป็นเวลา	1:45	นาที
	Final extension step	72 °C	เป็นเวลา	10	นาที
	Hold step	25 °C	จนกว่าจะนำปฏิกริยาออกจากเครื่อง		

6.2 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยการสกัดแยกด้วยกระแสไฟฟ้าเช่นเดียวกับข้อ 3.3-3.5

6.3 ส่งปฏิกริยาที่มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดที่ถูกต้องไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

7. การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ต้องการด้วยไพรเมอร์ที่เหมาะสม (ตารางที่ 1) โดยใช้เทคนิคการหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติแบบธรรมดา (normal automate sequencing) ด้วยเครื่อง 3730XL DNA sequencer โดยทำการส่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสหรือผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ในข้อ 6 ไปยังบริษัท MacroGen ประเทศเกาหลีใต้ เพื่อทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

ตารางที่ 1 รายละเอียดไพรเมอร์ที่ใช้ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

ไพรเมอร์	ทิศทาง	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์	ตำแหน่งที่จับ
T3	Forward	5'-ATTAACCCTCACTAAAG-3'	บริเวณ vector primer
T7	Reverse	5'-AATACGACTCACTATAG-3'	บริเวณ vector primer
SSU-525F	Forward	5'-AAGTCTGGTGCCAGCAGCC-3'	567-585 คู่เบส
SSU-607R	Reverse	5'-CAACTACGAGCTTTTAACTGCA-3'	607-585 คู่เบส

8. การตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยไพรเมอร์ในตารางที่ 1 ด้วยโปรแกรม FinchTV (© PerkinElmer, Inc.) และ Chromas Lite 2.01 (Technelysium Pty Ltd.) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ โดยนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้โปรแกรม BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เพื่อช่วยในการจัดจำแนกและระบุกลุ่มเบื้องต้นของซีลีเอตที่เก็บตัวอย่างมาจากหาดทราย

9. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTn และเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษา 5 ลำดับแรก (ภาพที่ 6) เพื่อนำไปใช้ในการทำเป็นไฟล์ alignment จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดในทางวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม MEGA (Molecular Evolutionary Genetic Analysis) เวอร์ชัน 5 (Tamura et al., 2011), MrBayes เวอร์ชัน 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001; Ronquist et al., 2003) และ PhyML เวอร์ชัน 3.0 (Guindon et al., 2010)

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 5

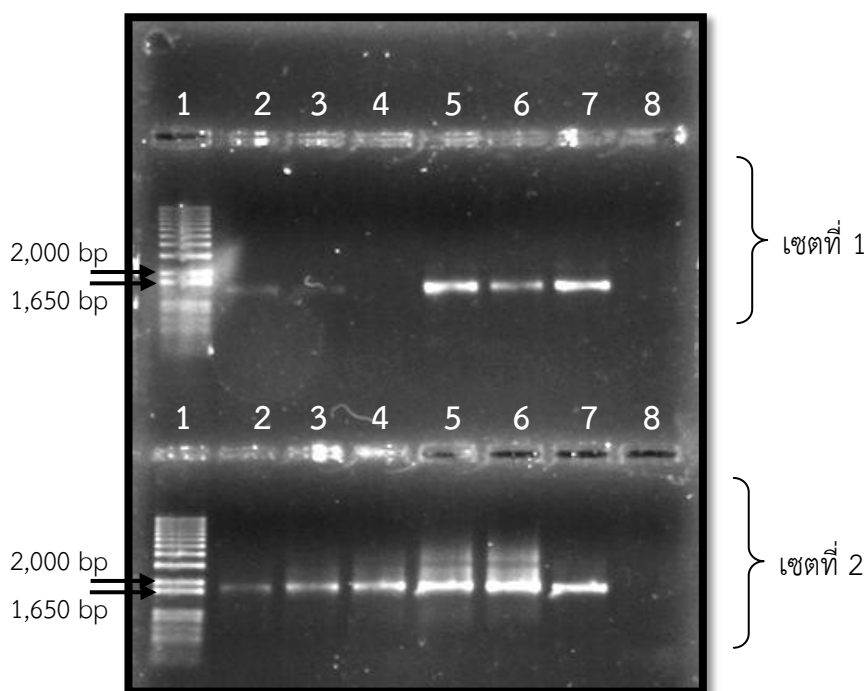
Alignments  Download GenBank Graphics Distance tree of results 							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
☒	Pleuronema sinica small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	2327	2327	94%	0.0	98%	EF486864.1
☒	Uncultured alveolate clone PAB12AU2004 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	2263	2263	99%	0.0	96%	DQ244025.1
☒	Pleuronema coronatum 16S-like small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence >qbjHL	2244	2244	100%	0.0	95%	AY103188.1
☒	Uncultured marine eukaryote clone FV23_2C5E6F3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	2235	2235	100%	0.0	95%	DQ310334.1
☒	Uncultured marine eukaryote clone SA2_1B12 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	2231	2231	99%	0.0	95%	EF527113.1

ภาพที่ 6 ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอดที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ กับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเอด 5 สายแรก

ผลการศึกษา

การเพิ่มปริมาณสมอลซบยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส

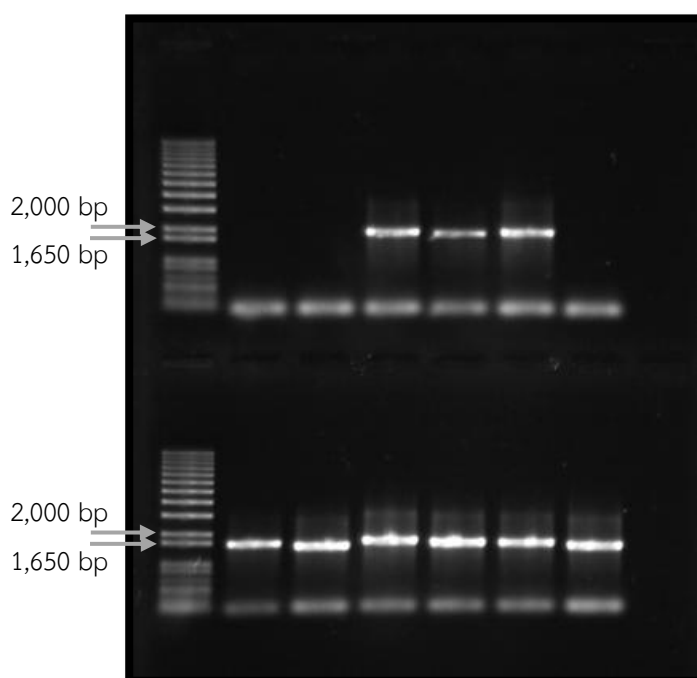
จากการเก็บตัวอย่างทรายบริเวณหาดลูกกลม เกาะเสม็ดสาร จังหวัดชลบุรี เมื่อทำการสกัดแยกโปรตีนออกจากทรายตัวอย่างเพื่อเพิ่มปริมาณยีน 18S rRNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสโดยใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสม พบว่า เมื่อใช้ไพรเมอร์ RPF1 ร่วมกับ Api1738R สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ผลิตภัณฑ์ขนาดประมาณ 1,450 คู่เบส และเมื่อใช้ไพรเมอร์ RPF1 ร่วมกับ 18S-R1513 Karyo และ 18S-R1513 Hypo สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ผลิตภัณฑ์ขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แลบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส เซตที่ 1 ได้จากการใช้ไพรเมอร์ RPF1 ร่วมกับ Api-1738R พบแลบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 1,450 คู่เบส โดยเทียบขนาดจาก DNA marker 1 kb plus ในเลนที่ 1 โดยเมื่อนำไปแยกขนาดผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis และบันทึกภาพ พบแลบดีเอ็นเอในเลนที่ 2, 3, 5 และ 6 โดยมีเลนที่ 7 เป็นดีเอ็นเอของ *Colpoda* sp. ที่เก็บตัวอย่างมาเมื่อวันที่ 9 ตุลาคม 2554 เป็น positive control และเลนที่ 8 เป็น negative control ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างดีเอ็นเอ ส่วนแลบดีเอ็นเอในเซตที่ 2 ได้จากการใช้ไพรเมอร์ RPF1 ร่วมกับ 18S-R1513 Karyo และ 18S-R1513 Hypo พบแลบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 1,700 คู่เบส โดยเมื่อนำไปแยกขนาดผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis และบันทึกภาพ พบแลบดีเอ็นเอในเลนที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยมีเลนที่ 7 และเลนที่ 8 เป็น positive control และ negative control ตามลำดับเช่นเดียวกัน

การเพิ่มปริมาณสมอลซ์ยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสจากโคลนนิ่งของแบคทีเรีย

จากการเพิ่มปริมาณยีน 18S rRNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสโดยใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสม และนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ เพื่อนำไปทำโคลนนิ่ง โดยอาศัยคุณสมบัติของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการรับดีเอ็นเอจากสิ่งแวดล้อม (bacterial competent cell) หลังจากนั้นทำการเพิ่มจำนวนสมอลซ์ยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสจากโคลนนิ่งของแบคทีเรีย โดยใช้ไพรเมอร์พาหะ T3 และ T7 พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขนาดที่แตกต่างกันในแต่ละโคลนนิ่งของแบคทีเรียที่ใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ กล่าวคือ ตั้งแต่ประมาณ 1,450 คู่เบส จนถึง 1,700 คู่เบส (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แลบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสจากโคลนนิ่งของแบคทีเรีย โดยใช้ไพรเมอร์พาหะ T3 และ T7

จากการเพิ่มปริมาณยีน 18S rRNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสจากโคลนนิ่งของแบคทีเรียทั้งหมด 112 โคลน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ พบว่า สามารถส่งผลิตภัณฑ์ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ทั้งหมด 62 ปฏิกิริยา ด้วยไพรเมอร์พาหะ T3 โดยเป็นผลิตภัณฑ์พีซีอาร์จากคู่ไพรเมอร์ RPF1 และ Api-1738R จำนวน 39 ปฏิกิริยา และจากคู่ไพรเมอร์ RPF1, 18S-R1513 Hypo และ 18S-R1513 Karyo จำนวน 23 ปฏิกิริยา เมื่อได้ลำดับนิวคลีโอไทด์จากการหาลำดับด้วยไพรเมอร์พาหะ T3 แล้วทำการตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อคัดแยกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความใกล้เคียงกับสิ่งมีชีวิตกลุ่มซิลิเอต ในการศึกษาครั้งนี้ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความใกล้เคียงกับซิลิเอตทั้งหมด 39 สาย จากนั้นจึงหาลำดับนิวคลีโอไทด์ให้ครบสมบูรณ์ทั้งสายด้วยไพรเมอร์พาหะ T7 และไพรเมอร์ด้านใน (internal primer) 525F และ 607R เพื่อให้ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์สมบูรณ์ครบทั้งสาย

การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 39 สาย (ภาคผนวก ข.) กับฐานข้อมูล GenBank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้โปรแกรม BLASTn (ตารางที่ 2) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเอตมากถึง 27 สาย โดยที่ 24 สายมีความใกล้เคียงกับซิลิเอตใน 8 สกุล ได้แก่ *Geleia*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Orthamphisiella*, *Paradiscocephalus*, *Pleuronema*, *Protogastrostyla* และ *Trachelocerca* และอีก 3 สายมีความใกล้เคียงกับซิลิเอตแต่ไม่สามารถระบุสกุลได้ นอกจากนี้ยังมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหลืออีก 12 สายแสดงความใกล้เคียงกับสิ่งมีชีวิตจำพวกโพรติสต์กลุ่มอื่น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับฐานข้อมูล GenBank

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง*	ขนาด (bp)**	กลุ่ม, สกุล หรือ ชนิด ที่ได้จากการเปรียบเทียบ	ความเหมือน สูงสุด (%)
1	SS3L1C1AP02	1,406	<i>Pleuronema sinica</i>	98
2	SS3L1C1AP04	1,434	uncultured marine eukaryote	97
3	SS3L1C1AP08	1,305	<i>Trachelocerca ditis</i>	98
4	SS3L1C1AP09	1,438	<i>Holosticha diademata</i>	96
5	SS3L1C1AP10	1,438	uncultured labyrinthulid	99
6	SS3L1C1AP11	1,414	<i>Orthamphisiella breviseries</i>	96
7	SS3L1C1AP12	1,434	<i>Amphidinium semilunatum</i>	98
8	SS3L1C1AP13	1,338	<i>Kentrophoros gracilis</i>	99
9	SS3L1C1AP14	1,206	<i>Geleia sinica</i>	84
10	SS3L1C1AP15	1,210	<i>Geleia sinica</i>	85
11	SS3L1C1AP16	1,306	<i>Trachelocerca ditis</i>	99
12	SS3L1C1AP17	1,338	<i>Kentrophoros gracilis</i>	99
13	SS3L1C1AP20	1,319	<i>Trachelocerca ditis</i>	98
14	SS3L1C1AP21	1,434	<i>Amphidinium semilunatum</i>	99
15	SS3L1C1AP22	1,303	<i>Trachelocerca ditis</i>	98
16	SS3L1C1AP23	1,422	uncultured alveolate	97
17	SS3L1C1AP24	1,206	<i>Geleia sinica</i>	84
18	SS3L1C1AP25	1,409	<i>Paradiscocephalus elongatus</i>	99
19	SS3L1C1AP26	1,206	<i>Geleia sinica</i>	84
20	SS3L1C1AP27	1,413	<i>Protogastrostyla pulchra</i>	99
21	SS3L1C1AP28	1,424	<i>Amphidinium semilunatum</i>	98
22	SS3L1C1AP29	1,415	<i>Orthamphisiella breviseries</i>	96
23	SS3L1C1AP30	1,307	<i>Trachelocerca ditis</i>	98

ตารางที่ 2 (ต่อ) การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้กับฐานข้อมูล GenBank

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง*	ขนาด (bp)**	กลุ่ม, สกุล หรือ ชนิด ที่ได้จากการเปรียบเทียบ	ความเหมือน สูงสุด (%)
24	SS3L1C1AP31	1,436	<i>Amphidinium semilunatum</i>	99
25	SS3L1C1AP32	1,338	<i>Kentrophoros gracilis</i>	99
26	SS3L1C1AP33	1,434	<i>Amphidinium semilunatum</i>	99
27	SS3L1C1AP34	1,306	<i>Trachelocerca ditis</i>	99
28	SS3L1C1AP35	1,411	<i>Orthamphisiella breviseries</i>	97
29	SS3L1C1AP36	1,338	<i>Kentrophoros gracilis</i>	99
30	SS3L1C1AP37	1,206	<i>Geleia sinica</i>	84
31	SS3L1C1AP38	1,435	<i>Takayama cf. pulchellum</i>	98
32	SS3L1C1AP40	1,434	<i>Takayama cf. pulchellum</i>	97
33	SS3L1C1HK01	1,422	uncultured alveolate	97
34	SS3L1C1HK02	1,304	<i>Trachelocerca ditis</i>	97
35	SS3L1C1HK03	1,495	<i>Gymnophrys</i> sp.	87
36	SS3L1C1HK04	1,435	<i>Amphidinium semilunatum</i>	98
37	SS3L1C1HK05	1,422	uncultured alveolate	97
38	SS3L1C1HK06	1,338	<i>Kentrophoros gracilis</i>	95
39	SS3L1C1HK19	1,504	uncultured marine alveolate	95

* ชื่อตัวอย่าง SS3L1C1APxx มีความหมาย ดังนี้

SS3L1 หมายถึง สถานที่เก็บตัวอย่างคือ หาดลูกกลม (Looklom beach) เกาะเสมสาร (Samaesarn island) โดยเป็นการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3 และทำการศึกษาครั้งที่ 1

C1 หมายถึง ทำการโคลนนิ่งครั้งที่ 1

AP หมายถึง คู่ไพรเมอร์ RPF1 และ Api1738R ที่ใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

HK หมายถึง คู่ไพรเมอร์ RPF1, 18S-R1513 Hypo และ 18S-R1513 Karyo ที่ใช้ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

XX หมายถึง ลำดับที่ของตัวอย่าง

** ความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนสมอลซับยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอรวมกับไพรเมอร์

ตารางที่ 3 จำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งแสดงความใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเอตและสิ่งมีชีวิตจำพวกโพรติสต์กลุ่มอื่นในฐานข้อมูลของ NCBI

ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 39 สาย	
ลำดับที่ใกล้เคียงกับซิลิเอต 27 สาย	ลำดับที่ใกล้เคียงกับโพรติสต์กลุ่มอื่น 12 สาย
24 สายใกล้เคียงกับซิลิเอตใน 8 สกุล <i>Geleia</i> , <i>Holosticha</i> , <i>Kentrophoros</i> , <i>Orthamphisiella</i> , <i>Paradisococephalus</i> , <i>Pleuronema</i> , <i>Protogastrostyla</i> และ <i>Trachelocerca</i>	<i>Amphidinium</i> , <i>Gymnophrys</i> , <i>Takayama</i> , uncultured labyrinthulid, uncultured marine alveolate และ uncultured marine eukaryote
3 สายใกล้เคียงกับซิลิเอตแต่ไม่สามารถระบุ สกุลได้ uncultured alveolate	

การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระดับโมเลกุล

จากลำดับนิวคลีโอไทด์ความยาว 1,450-1,700 คู่เบสของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตจำนวนทั้งหมด 27 สาย นำมาหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการกับซิลิเอตชนิดและสายพันธุ์อื่นๆ จำนวน 44 สาย ที่มีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเดียวกันในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI โดยทำการสร้างไฟล์ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 71 สาย พร้อมกับสิ่งมีชีวิตที่ใช้เป็น outgroup คือ *Symbiodinium pilosum* [GenBank accession number X62650] และ *Prorocentrum micans* [GenBank accession number M14649] อีกอย่างละ 1 สาย รวมลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 73 สาย ก่อนการวิเคราะห์ผลได้ทำการตัดส่วนของนิวคลีโอไทด์ที่ไม่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ จึงได้ความยาวสุทธิของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ในไฟล์ alignment เท่ากับ 981 คู่เบส

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซิลิเอตที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ด้วยโปรแกรม PhyML เวอร์ชัน 3.0 และ MrBayes เวอร์ชัน 3.1.2 โดยใช้แบบจำลองของการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide substitution model) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม jModelTest ร่วมกับ gamma distribution ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ช่วง (category) แล้วนำผลการวิเคราะห์มาสร้างแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการสุดท้าย (ภาพที่ 9 และ 10) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้เคียงกับซิลิเอตใน 3 ชั้น (class) คือ Karyorelictea, Oligohymenophorea และ Spirotrichea ดังนี้

ชั้น Karyorelictea 17 สาย

ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 5 สายจับกลุ่มอยู่ด้วยกัน ประกอบด้วย SS3L1C1AP14, SS3L1C1AP15, SS3L1C1AP24, SS3L1C1AP26 และ SS3L1C1AP37 ซึ่งไม่แสดงความใกล้เคียงกับซิลิเอตกลุ่มใดด้วยค่าสนับสนุน (support value) สูงสุด คือ ค่า bootstrap 100% จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม PhyML และค่า posterior probability สูงสุด คือ 1.00 จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MrBayes

ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 5 สายซึ่งประกอบด้วย SS3L1C1AP13, SS3L1C1AP17, SS3L1C1AP32, SS3L1C1AP36 และ SS3L1C1HK06 จับกลุ่มอยู่ด้วยกันกับ *Kentrophoros gracilis* [FJ467506], uncultured eukaryote [AB505482] และ uncultured eukaryote [AB505533] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 40.2% และค่า posterior probability คือ 0.58 ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 5 สายนี้แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับ *Kentrophoros gracilis* [FJ467506] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 73.3% และค่า posterior probability คือ 0.82

ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 7 สายซึ่งประกอบด้วย SS3L1C1AP08, SS3L1C1AP16, SS3L1C1AP20, SS3L1C1AP22, SS3L1C1AP30, SS3L1C1AP34 และ SS3L1C1HK02 แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับซิลิเอตในวงศ์ Trachelocercidae ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 99.2% และ ค่า posterior probability คือ 1.00

ชั้น Oligohymenophorea 1 สาย

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ SS3L1C1AP02 แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับ *Pleuronema sinica* [EF486864] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 99.3% และ ค่า posterior probability คือ 1.00

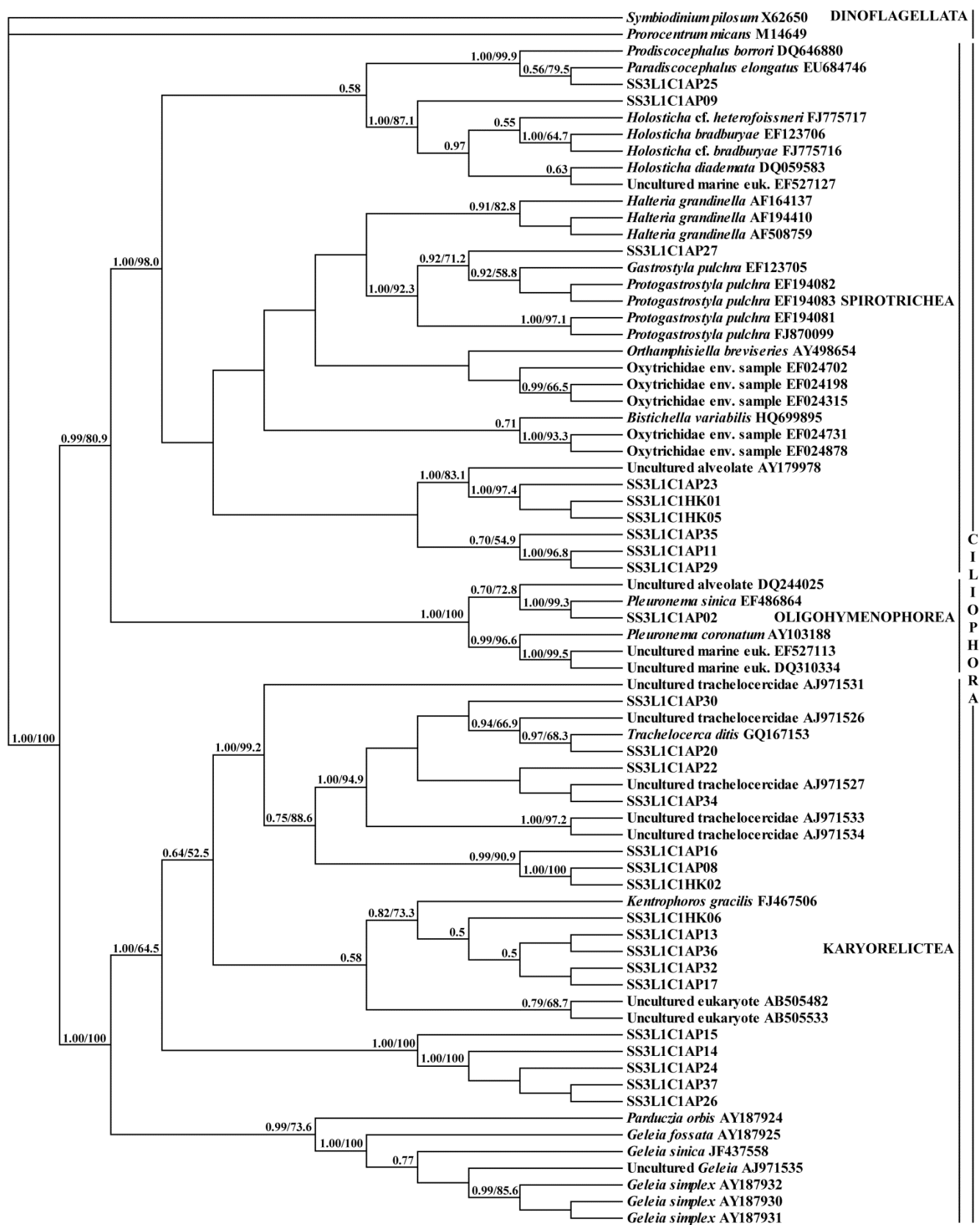
ชั้น Spirotrichea 9 สาย

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ SS3L1C1AP25 แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับ *Paradiscopephalus elongatus* [EU684746] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 79.5% และ ค่า posterior probability คือ 0.56

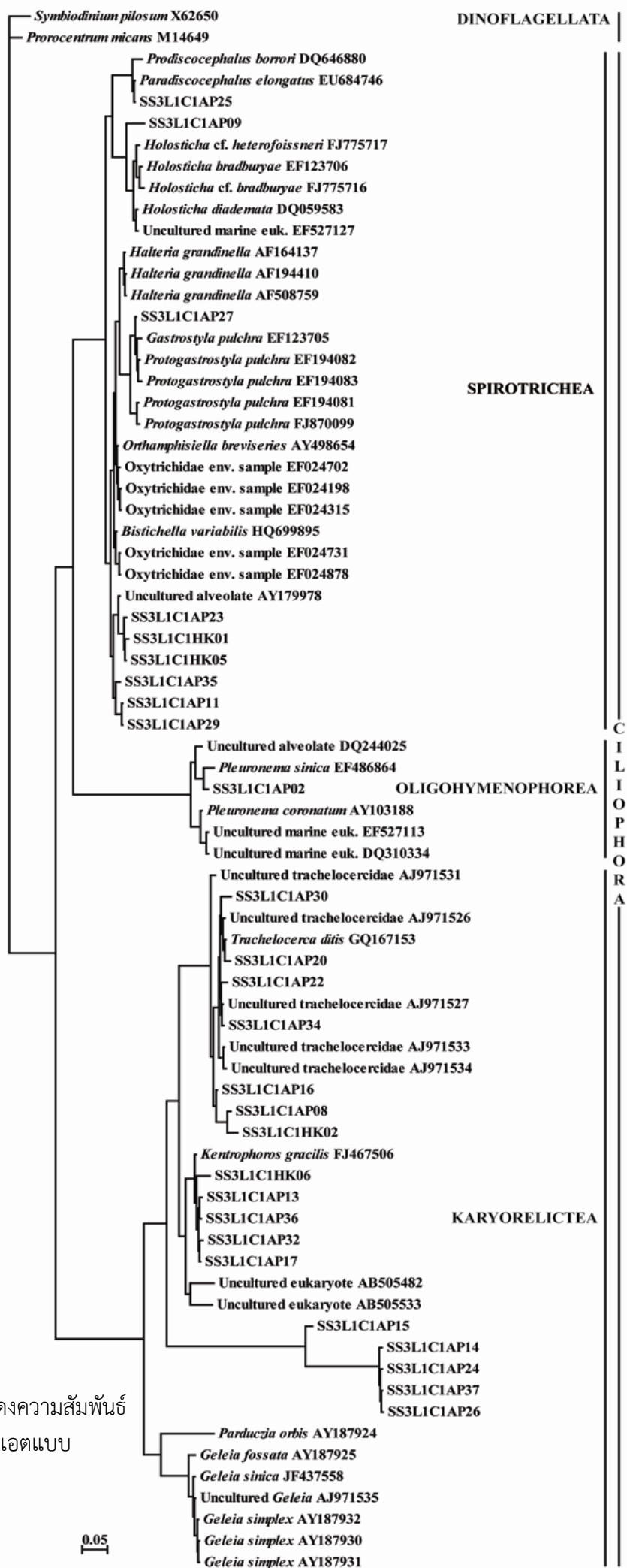
ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ SS3L1C1AP09 แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับซิลิเอตสกุล *Holosticha* และ uncultured marine eukaryote [EF527127] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 87.1% และ ค่า posterior probability คือ 1.00

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ SS3L1C1AP27 แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับ *Gastrostyla pulchra* [EF123705], *Protogastrostyla pulchra* [EF194082] และ *Protogastrostyla pulchra* [EF194083] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 71.2% และ ค่า posterior probability คือ 0.92

ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 3 สายซึ่งประกอบด้วย SS3L1C1AP23, SS3L1C1HK01 และ SS3L1C1HK05 แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับ uncultured alveolate [AY179978] ด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 83.1% และ ค่า posterior probability คือ 1.00 และลำดับนิวคลีโอไทด์อีกจำนวน 3 สายซึ่งประกอบด้วย SS3L1C1AP11, SS3L1C1AP29 และ SS3L1C1AP35 ไม่แสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับซิลิเอตกลุ่มใด แต่กลับจับกลุ่มอยู่ด้วยกันเองด้วยค่าสนับสนุน คือ ค่า bootstrap 54.9% และค่า posterior probability คือ 0.70



ภาพที่ 9 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซีเลียตแบบ cladogram



ภาพที่ 10 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์
ทางวิวัฒนาการของซิลิเอตแบบ
phylogram

ภาพที่ 9 และ 10 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซีเลียตที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้แบบ cladogram (ภาพที่ 9) และ phylogram (ภาพที่ 10) ตามลำดับ ซึ่งถูกสร้างด้วยโปรแกรม MrBayes โดยใช้แบบจำลองของการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ $nst=6$ ร่วมกับ gamma distribution ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ช่วง และทำการวิเคราะห์แบบคู่ขนาน (2 parallels runs) โดยในแต่ละครั้ง (run) ทำการวิเคราะห์จำนวน 5,000,000 ครั้ง รวมทั้งหมด 10,000,000 ครั้ง โดยทำการสุ่มการวิเคราะห์ที่ได้ทุกๆ 50 ครั้ง แต่ตัดการวิเคราะห์ที่สุ่มขึ้นมาใน 25,000 ครั้งแรกของแต่ละชุดการวิเคราะห์ (run) ทิ้งก่อนที่จะนำการวิเคราะห์ที่เหลือจำนวน 150,002 [75,000x2] การวิเคราะห์มาสร้างเป็นแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการสุดท้าย ค่าสนับสนุน posterior probability บนกิ่งคิดเป็นจำนวนเต็ม 1 ส่วนค่าสนับสนุน bootstrap ที่อยู่ถัดจากค่า posterior probability คิดเป็นเปอร์เซ็นต์จากการวิเคราะห์ 1,000 ซ้ำ ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม PhyML โดยใช้แบบจำลองของการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ คือ TN93 (Tamura and Nei, 1993) ร่วมกับ gamma distribution ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ช่วง เช่นเดียวกันกับข้างต้น (ความยาวของซีดที่กำกับด้วยตัวเลข 0.05 ในภาพที่ 10 แสดงความยาวที่ใช้เปรียบเทียบกับความยาวกิ่งของแผนภูมิเพื่อประมาณการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อ 1 ตำแหน่งในสายวิวัฒนาการ)

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตในหาดทรายชายฝั่งทะเล จากหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุล พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสิ้น 27 สาย โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ 24 สายมีความใกล้เคียงกับซิลิเอตที่สามารถระบุสกุลได้ในสกุลต่างๆ ทั้งสิ้นจำนวน 8 สกุล ได้แก่ *Geleia*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Orthamphisiella*, *Paradisocoephalus*, *Pleuronema*, *Protogastrostyla* และ *Trachelocerca* นอกจากนี้ ยังมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความใกล้เคียงกับซิลิเอตอีก 3 สาย แต่ไม่สามารถระบุสกุลได้ โดยจากการศึกษาในพื้นที่หาดเดียวกันของ สุชา เญยศิริ, มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิตชัย จันทรตั้งสี (2556) ถึงความหลากหลายของซิลิเอตโดยอาศัยข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยาเป็นระยะเวลากว่า 1 ปี พบความหลากหลายของซิลิเอตถึง 27 สกุล 60 ชนิด ในจำนวนนี้มีสกุลที่เหมือนกับการศึกษาในครั้งนี้ 4 สกุล และอีก 4 สกุล ได้แก่ *Geleia*, *Orthamphisiella*, *Paradisocoephalus* และ *Protogastrostyla* ไม่พบในการศึกษาของ สุชา เญยศิริ, มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิตชัย จันทรตั้งสี (2556) แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตที่ศึกษาด้วยวิธีการศึกษาแตกต่างกันแม้ในพื้นที่เดียวกัน จะพบความหลากหลายที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ไม่พบสกุลหรือชนิดของซิลิเอตที่เหมือนกันในแต่ละวิธีศึกษา ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ การศึกษาทั้งสองวิธีนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างต่างช่วงต่างเวลากัน หากเทียบกับวงจรชีวิตของซิลิเอตซึ่งมีวงชีวิตสั้น เมื่อเวลาผ่านไปอาจทำให้ซิลิเอตกลุ่มเดิมหายไปจากพื้นที่หรือมีซิลิเอตกลุ่มใหม่มาแทนที่ นอกจากนี้ การศึกษาโดยอาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุลในครั้งนี้ทำการคัดเลือกโคลนของแบคทีเรียมาทำปฏิกิริยาโคลนนิ่งพีซีอาร์จำนวนหนึ่ง ซึ่งอาจไม่ครอบคลุมซิลิเอตที่มีอยู่ในพื้นที่ดังกล่าวได้ทั้งหมด จึงทำให้พบความหลากหลายที่ค่อนข้างต่ำ โดยหากทำการคัดเลือกโคลนของแบคทีเรียออกมาเป็นจำนวนมากพอ อาจทำให้พบความหลากหลายของซิลิเอตเพิ่มมากขึ้นจากที่รายงานการค้นพบในครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาความหลากหลายโดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ก็พบความหลากหลายทางชีวภาพที่ต่างจากการศึกษาโดยอาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุลเช่นเดียวกัน อาจเป็นเพราะตัวอย่างซิลิเอตบางชนิดที่เก็บมาศึกษาได้สูญหายไประหว่างนำกลับมาศึกษา ณ ห้องปฏิบัติการ ประกอบกับการจัดจำแนกและระบุชนิดซิลิเอตต้องอาศัยความชำนาญและเทคนิคพิเศษที่ย่างยากหลายขั้นตอน ทำให้ผู้ศึกษาไม่สามารถทำการศึกษาได้ครบถ้วนในระยะเวลาอันสั้นจึงไม่ทราบชนิดของซิลิเอตที่เหลือดังกล่าว

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระดับโมเลกุลของซิลิเอตที่ได้จากพื้นที่ดังกล่าว พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิลิเอตใน 3 ชั้น (class) คือ Karyorelictea 17 สาย, Oligohymenophorea 1 สาย และ Spirotrichea 9 สาย ซึ่งในชั้น Karyorelictea มีลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 5 สาย จับกลุ่มอยู่ด้วยกัน และไม่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิลิเอตชนิดหรือสายพันธุ์ใด ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระดับโมเลกุล (ภาพที่ 10) ซึ่งแสดงความยาวของกิ่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 5 สายที่จับรวมอยู่ด้วยกัน พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์กลุ่มดังกล่าวได้แยกตัวออกมาจากสายวิวัฒนาการของซิลิเอตที่มีการระบุชนิดหรือสายพันธุ์ไว้แล้ว ดังนั้น กลุ่มซิลิเอตที่แยกออกมานี้น่าจะเป็นกลุ่มที่แสดงกลุ่มสายวิวัฒนาการใหม่ (novel clade)

เมื่อพิจารณาในแต่ละชั้น พบลำดับนิวคลีโอไทด์แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิลิเอตทั้งที่ระบุชนิดหรือสายพันธุ์ได้และไม่สามารถระบุได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในลักษณะเดียวกันของ

Takishita และคณะ (2010) ที่ศึกษาความหลากหลายของซิติเอตบริเวณพื้นตะกอนใต้ทะเล โดยอาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุล บริเวณอ่าวซากามิ (Sagami Bay) ซึ่งอยู่ระหว่างประเทศญี่ปุ่น และประเทศฟิลิปปินส์ พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิติเอตทั้งหมด 8 ชั้น ซึ่งในจำนวนนี้มี Karyorelictea, Oligohymenophorea และ Spirotrichea รวมอยู่ด้วย และอีก 5 ชั้น ได้แก่ Heterotrichea, Litostomatea, Nassophorea, Phyllopharyngea และ Plagiopylea โดยในชั้น Spirotrichea พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิติเอต *Aspidisca leptaspis*, *Aspidisca steini*, *Gastrocirrhus monilifer*, *Oxytricha lanceolata*, *Phacodinium metchnikoffi* และ *Trachelostyla pediculiformis* ซึ่งยังไม่พบความสัมพันธ์ตรงกันกับที่ทำการศึกษาบริเวณหาดลูกกลม ถัดมาคือชั้น Oligohymenophorea พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิติเอต *Anophyroides haemophila*, *Anoplophrya marylandensis*, *Cardiostomatella vermiforme*, *Cyclidium glaucoma*, และ *Miamiensis avidus* ในขณะที่การศึกษาบริเวณหาดลูกกลมครั้งนี้ พบความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับ *Pleuronema sinica* เพียงชนิดเดียว ส่วนในชั้น Karyorelictea พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิติเอต *Loxodes magnus* และ *Tracheloraphis* sp. ซึ่งการศึกษาบริเวณหาดลูกกลมพบซิติเอตที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับซิติเอตในชั้นนี้มากกว่า ประกอบไปด้วยซิติเอตที่มีความใกล้เคียงกับ uncultured trachelocercidae, *Trachelocerca ditis*, *Kentrophoros gracilis*, uncultured eukaryote, *Parduczia orbis*, *Geleia* spp. และ uncultured *Geleia* โดยในการศึกษาของ Takishita และคณะ ไม่พบกลุ่มของซิติเอตที่แยกออกมาเป็นกลุ่มสายวิวัฒนาการใหม่เหมือนกับที่พบในหาดลูกกลม นอกจากนี้การศึกษาของ Takishita และคณะ ยังไม่พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แสดงความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับชนิดหรือสายพันธุ์ของซิติเอตที่ตรงกันกับที่ทำการศึกษาบริเวณหาดลูกกลม อาจเป็นเพราะว่าการศึกษาดังกล่าว ได้ทำการศึกษาในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทั้งลักษณะทางด้านภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ช่วงเวลาการศึกษา อีกทั้งการศึกษาบริเวณหาดลูกกลมครั้งนี้ทำการคัดเลือกตัวอย่างเพียงส่วนหนึ่ง จึงทำให้พบความหลากหลายของซิติเอตไม่มากนัก ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น

อนึ่ง การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิติเอตควรใช้วิธีการศึกษาโดยอาศัยทั้งข้อมูลทางสัณฐานวิทยา และข้อมูลทางชีวโมเลกุล โดยจากการศึกษาในครั้งนี้ที่อาศัยข้อมูลทางชีวโมเลกุลแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของซิติเอตที่พบเพิ่มขึ้นมากกว่าเดิมที่อาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยยืนยันผลซึ่งกันและกันของทั้งสองวิธีดังกล่าว อีกทั้งยังช่วยให้ได้ผลการศึกษาที่ครอบคลุมและใกล้เคียงกับความหลากหลายทางชีวภาพของซิติเอตที่มีอยู่จริงในธรรมชาติมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- สุชา เถยศิริ, ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของ โพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 5 ขมรมคณะปฏิบัติการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 36–47.
- สุชา เถยศิริ, มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ ชิดชัย จันทร์ตั้งสี. 2556. การเปิดเผยความหลากหลายของซิลิเอตที่ถูกซ่อนเร้น: กรณีศึกษาซิลิเอตที่อาศัยตามทรายชายฝั่งทะเล พื้นที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย. *การประชุมวิชาการขมรมคณะปฏิบัติการ อพ.สธ. ครั้งที่ 6 “ทรัพยากรไทย: นำสิ่งดีงามสู่ทั่วโลก” 21–23 ธันวาคม พ.ศ. 2556 ณ เขื่อนศรีนครินทร์ อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี*. หน้า 279–287.
- Andreoli, I., Mangini, L., Ferrantini, F., Santangelo, G., Verni, F., and Petroni, G. 2009. Molecular phylogeny of unculturable Karyorelictea (Alveolata, Ciliophora). *Zool. Scripta*. 38: 651–662.
- Bass, D. and Cavalier-Smith, T. 2004. Phylum-specific environmental DNA analysis reveals remarkably high global biodiversity of Cercozoa (Protozoa). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 2393–2404.
- Bass, D., Chao, E. E., Nikolaev, S., Yabuki, A., Ishida, K., Berney, C., Pakzad, U., Wylezich, C., and Cavalier-Smith, T. 2009. Phylogeny of novel naked Filose and Reticulose Cercozoa: Granofilosea cl. n. and Proteomyxidea revised. *Protist*. 160: 75–109.
- Brad, T., Braster, M., van Breukelen, B. M., van Straalen, N. M., and Röling, W. F. 2008. Eukaryotic diversity in an anaerobic aquifer polluted with landfill leachate. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 3959–3968.
- Burkovsky, I. V. and Mazei, Y. A. 2010. Long-term dynamics of marine interstitial ciliate community. *Protistology*. 6: 147–172.
- Chantangsi, C., Lynn, D. H., Brandl, M. T., Cole, J. C., Hetrick, N., and Ikononi, P. 2007. Barcoding ciliates: a comprehensive study of 75 isolates of genus *Tetrahymena*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2412–2425.
- Chen, M., Chen, F., Yu, Y., Ji, J., and Kong, F. 2008. Genetic diversity of eukaryotic microorganisms in Lake Taihu, a large shallow subtropical lake in China. *Microb. Ecol.* 56: 572–583.
- Corliss, J. O. 2002. Biodiversity and biocomplexity of the protists and an overview of their significant roles in maintenance of our biosphere. *Acta Protozool.* 41: 199–219.
- Corliss, J. O. and Daggett, P.-M. 1983. “*Paramecium aurelia*” and “*Tetrahymena pyriformis*”: current status of the taxonomy and nomenclature of these popularly known and widely used ciliates. *Protistologica*. 19: 307–322.
- Doherty, M., Tamura, M., Vriezen, J. A. C., McManus, G. B., and Katz, L. A. 2010. Diversity of

- Oligotrichia and Choreotrichia ciliates in coastal marine sediments and in overlying plankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 3924–3935.
- Dopheide, A., Lear, G., Stott, R., and Lewis, G. 2009. Relative diversity and community structure of ciliates in stream biofilms according to molecular and microscopy methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 5261–5272.
- Google Inc. 2013. *Google Earth 7.1*. [Online]. Available from: <http://www.google.com/earth/download/ge/agree.html> [2013, October 31]
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., and Gascuel, O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59: 307–321.
- Hirst, M. B., Kita, K. N., and Dawson, S. C. 2011. Uncultivated microbial eukaryotic diversity: a method to link ssu rRNA gene sequences with morphology. *PLoS ONE*. 6: e28158. doi:10.1371/journal.pone.0028158.
- Huelsenbeck, J. P. and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. 17: 754–755.
- Ivanova, N. V., deWaad, J. R., and Hebert, P. D. N. 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high quality DNA. *Mol. Ecol. Notes*. 6: 998–1002.
- Kalinowska, K. 2008. Psammon ciliates: diversity and abundance in hygroarenal of eutrophic lake. *Pol. J. Ecol.* 56: 259–271.
- Kemp, P. F. 1988. Bacterivory by benthic ciliates: significance as a carbon source and impact on sediment bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 49: 163–169.
- Königs, S. and Cleven, E.-J. 2007. The bacterivory of interstitial ciliates in association with bacterial biomass and production in the hyporheic zone of a lowland stream. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61: 54–64.
- Lee, S., Basu, S., Tyler, C. W., and Wei, I. W. 2004. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Island Treatment Plant. *Adv. Environ. Res.* 8: 371–378.
- Madoni, P. 2005. Ciliate communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). *Hydrobiologia*. 541: 55–69.
- Massana, R. and Pedrós-Alió, C. 2008. Unveiling new microbial eukaryotes in the surface ocean. *Curr. Opin. Microbiol.* 11: 213–218.
- Not, F., del Campo, J., Balagué, V., de Vargas, C., and Massana, R. 2009. New insights into the diversity of marine picoeukaryotes. *PLoS ONE*. 4: e7143. doi:10.1371/journal.pone.0007143.
- Park, S. J., Park, B. J., Pham, V. H., Yoon, D. N., Kim, S. K., and Rhee, S. K. 2008. Microeukaryotic diversity in marine environments, an analysis of surface layer sediments from the East Sea. *J. Microbiol.* 46: 244–249.
- Petroni, G., Dini, F., Verni, F., and Rosati, G. 2002. A molecular approach to the tangled

- intrageneric relationships underlying phylogeny in *Euplotes* (Ciliophora, Spirotrichea). *Mol. Phylogenet. Evol.* 22: 118–130.
- Piquet, A. M. –T., Bolhuis, H., Davidson, A. T., Thomson, P. G., and Buma, A. G. 2008. Diversity and dynamics of Antarctic marine microbial eukaryotes under manipulated environmental UV radiation. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66: 352–366.
- Ronquist, F. and Huelsenbeck, J. P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics.* 19: 1572–1574.
- Šlapeta, J., Moreira, D., and López-García, P. 2005. The extent of protist diversity: insights from molecular ecology of freshwater eukaryotes. *Proc. Biol. Sci.* 272: 2073–2081.
- Takishita, K., Kakizoe, N., Yoshida, T., and Maruyama, T. 2010. Molecular evidence that Phylogenetically diverged ciliates are active in microbial mats of deep-sea cold-seep sediment. *J. Eukaryot. Microbiol.* 57: 76–86.
- 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.
- Tian, F., Yu, Y., Chen, B., Li, H., Yao, Y.-F., and Guo, X.-K. 2009. Bacterial, archaeal and eukaryotic diversity in Arctic sediment as revealed by 16S rRNA and 18S rRNA gene clone libraries analysis. *Polar Biol.* 32: 93–103.
- Uhlig, G. 1964. Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 11: 178–185.
- Wikipedia. 2013. *Chonburi Province*. [Online]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Chonburi_Province [2013, October 31]
- Wilson, E. O. 2000. A global biodiversity map. *Science.* 289: 2279.
- Wilson, E. O. 2003. The encyclopedia of life. *Trends Ecol. Evol.* 18: 77–80.

ภาคผนวก (ก)

การเตรียมสารสำหรับสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีของ Canadian Centre for DNA Barcoding (Ivanova et al., 2006)

- การเตรียม lysis buffer: เตรียมปริมาตร 200 มิลลิลิตร

700 mM Guanidine Thiocyanate (GuSCN)	16.5	กรัม
30 mM EDTA, pH 8.0	12	มิลลิลิตร
30 mM Tris-HCL, pH 8.0	6	มิลลิลิตร
0.5% Triton X-100	1	มิลลิลิตร
5% Tween-20	10	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วย ddH ₂ O ให้ได้	200	มิลลิลิตร

หมายเหตุ ผสมให้เข้ากันโดยอาจใช้ magnetic bar ช่วยในการผสม

- การเตรียม binding buffer (BB): เตรียมปริมาตร 150 มิลลิลิตร

6M GuSCN	106.8	กรัม
20 mM EDTA, pH 8.0	6	มิลลิลิตร
10 mM Tris-HCL, pH 6.4	15	มิลลิลิตร
4% Triton X-100	6	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วย ddH ₂ O ให้ได้	150	มิลลิลิตร

หมายเหตุ ผสมให้เข้ากัน หากมีการตกผลึกเกิดขึ้นก่อนนำไปใช้ ให้อุ่นที่อุณหภูมิ 56 องศา

เซลเซียส

- การเตรียม wash buffer (WB): เตรียมปริมาตร 35 มิลลิลิตร

60% EtOH	22.1	มิลลิลิตร
50 mM NaCl	1.75	มิลลิลิตร
10 mM Tris-HCL, pH 7.4	0.35	มิลลิลิตร
0.5 mM EDTA, pH 8.0	0.035	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วย ddH ₂ O ให้ได้	35	มิลลิลิตร

หมายเหตุ เมื่อผสมเสร็จแล้วให้เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

- การเตรียม binding mix (BM): เตรียมปริมาตร 140 มิลลิลิตร

Binding buffer	70	มิลลิลิตร
EtOH 96%	70	มิลลิลิตร

หมายเหตุ เมื่อผสมเสร็จแล้วสามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 สัปดาห์

- การเตรียม protein wash buffer (PWB): เตรียมปริมาตร 10 มิลลิลิตร

Binding buffer	2.6	มิลลิลิตร
EtOH 96%	7	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วย ddH ₂ O ให้ได้	10	มิลลิลิตร

หมายเหตุ เมื่อผสมเสร็จแล้วสามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 สัปดาห์

การเตรียม ultrapure agarose ความเข้มข้น 0.8%

1X TAE buffer	150	มิลลิลิตร
ultrapure agarose	1.2	กรัม

ชั่ง ultrapure agarose และตวง 1X TAE buffer ตามปริมาตรข้างต้น ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหลอมให้ละลายด้วยตู้อบไมโครเวฟ

การเตรียม Luria-Bertani (LB) agar

Agar	3	กรัม
Tryptone	2	กรัม
Yeast extract	1	กรัม
NaCl	1	กรัม
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

เตรียมโดยผสมส่วนประกอบทั้งหมดลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปอบฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารอุ่นแล้วจึงเทใส่จานเพาะเชื้อ

ภาคผนวก (ข)

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP02

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAATA GTATACAGTG AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATAATTGAAA ATTACATGGA TAACCGTGGT AATTCTAGAG CTAATACATG CATAAAGGCC 180
CGACTTCATG GAAGGGTTGT ATTTATTAGA CTGAAGCCAA TATTCTCCTT GGTCTATTGC 240
GGTGATTGAT AATAACTGAT CGAATCTCCT TGGAGATAAA TCATTCAAAT TTCTGCCCTA 300
TCAGCTTTTCG ATGGTAGTGT ATTGGACTAC CATGGCAGTA ACGGGTAAAG AAGAAATTAGG 360
GTTTCGATTTT GGAGAGGGAG CATGAGAAAC GGCTACCACA TCTAAGGAAG GCAGCAGGCG 420
CGTAAATTAC CCAATCCTGA CTCAGGGAGG TAGTGACAAG AAATAGCAAA CCGGGGACCT 480
CGCGGTTTCA CGGTATTGCA ATGAGAACAA TTTAAACAC TTAGCGAGTA TCAAGTGGAG 540
GACAAGTCTG GTGCCAGCAC CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA CTAGCGTATA TTAAAGTTGT 600
TGCAGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGACCTCT GTCTGGGGCT AGTTTTGGCT TAGGTGAGGC 660
TAGTTTTAGG CATCCGCTTA CAAGACTTAG AGGGCATTTA GTTGTTCACT AAGAGGAGTA 720
GGCATTTTTAC TTTGAAAAAA TTAGAGTGTT TAAGGCAGGC AATCGCCCGC ATATATTAGC 780
ATGGAATAAT AGAATAGGAC ACTTTTCCAT TTCATTGGTT ATTGGAATCG TGTAAATGATT 840
AATAGGGACA GTTGTGGGCA TTTGTATTTA ATTGTGAGAG GTGAAATTC TGGATTTATT 900
AAAGACAAAC TAACGCGAAA GCATTTGCCA AGGATGTTTT CATTAATCAA GAACGAAAGT 960
TAGGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC TAGTCTTAAC TATAAACTAT TCCGACTCAA 1020
TGTTTGACTG GCTTATATAA CCAGTTGAGC GTTGTATGAG AAATCAAAGT CTTTAGGTTT 1080
TGGGGGGAGT ATGGTTGCAA AGCTGAAACT TAAAGGAATT GACGGAAGAG CACAACCAGG 1140
AGTGGATTCT GCGGCTTAAT TTGACTCAAC GCGGGGAAAC TTACCAGGTT AAAACAATAG 1200
TGGGATTGAC AGTTTGAGAG CGCTTTCTTG ATTTGTTGGG TGGTGGTGCA TGGCCGTTCT 1260
TAGTTGGTGG AGTGATTTGT CTGCTTAATT GCGTTAACGA ACGAGACCTT AACCTGCTTA 1320
CTAGACTAGT GATTTACAAT CGCTAGCTCT TCTTAGAGGG ACTTTGGTTG TTTTAACTCC 1380
AAGGAAGTTT GAGGCAATAA CAGGTC 1406

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no.	EF486864
Definition	<i>Pleuronema sinica</i>
Taxonomy	Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata; Oligohymenophorea; Scuticociliatia; Pleuronematida; Pleuronematidae; <i>Pleuronema</i>
Max score	2327
Total score	2327
Query cover	94%
E value	0.0
Max ident	98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP04

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTC 60
AGTATAAGCT TCAATACGGC GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA CAGTTTCTTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACCGTGG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCCCAAAC 180
CCGACTTCTT GGAAGGGTTG TGTATTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCC CTGCCCTGGTC 240
CAGTGGTGAT TCATAATAAC CGAGCGAATC GCATGGCATC TGCCGGCGAT GAATCATTCA 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC AACCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTACGAGTA 540
TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA 600
TTAAAGTTGT TGGGGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACG ACCGGTCCGC 660
CTTCTGGGTG AGTATCTGGC TCGGCCTGGG CATCTTCTTG GAGAACGTAA CTGGACTTGA 720
TTGTTTGGTG CGGTATCCAG GACTTTACTT TGAGGAAATT AGAGTGTTC AAGCAGGCAC 780
GCGCCTTGAA TACATTAGCA TGGAAATAATA AGATGGGACC TCGGTTCTAT TTTGTTGGTT 840
TCTAGAAGCG AGGTAATGGT TAATAGGGAT AGTTGGGGGC ATTCTATTTT AACTGTCAGA 900
GGTGAATTC CTGGATTTGT TAAAGACGGA CTACTGCGAA AGCATTTGCC AAGGATGTTT 960
TCATTGATCA AGAGCGAAAG TTAGGGGATC GAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA 1020
CCATAAACC A TGCCAACTAG AGATTGGAGG TCGTTATCTA TACGACTCCT TCAGCACCTT 1080
ATGAGAAATC AAAGTCTTTG GGTTCCGGGG GGAGTATGGT CGCAAGGCTG AAACCTTAAAG 1140
GAATTGACGG AAGGGCACCA CCAGGAGTGG AGCCTGCGGC TTAATTTGAC TCAACACGGG 1200
GAAACTTACC AGGTCCAGAC ATAGTAAGGA TTGACAGATT GATAGCTCTT TCTTGATTCT 1260
ATGGGTGGTG GTGCATGGCC GTTCTTAGTT GGTGGAGTGA TTTGTCTGGT TAATTCCGTT 1320
AACGAACGAG ACCTTAACCT GCTAAATAGT TACACGTAAC CACCGGTTAC GTGGGCAACT 1380
TCTTAGAGGG ACTTTGTGTG TCTAACGCAA GGAAGCGTAG RGCTACAACA GGTC 1434

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no.	HM581706
Definition	Uncultured marine eukaryote
Taxonomy	Eukaryota; environmental samples
Max score	2436
Total score	2436
Query cover	99%
E value	0.0
Max identity	97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP08

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCT GATTAATGGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 120
GATGGATTTC TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGAG CAGTGTGTAT 180
TAGATATCGC CCCTGTGGGA ACAACGATAC ACCCATACCG TGTCGGGAGA TACGGTGAT 240
CATTCAAGTT TCTGCCCTAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCAGTGA 300
CGGGTAACGG AGAATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT 360
CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC GCAAATTACC CAATCCTAAT CCAGGGAGGT AGTGACAAGA 420
AATAACAACA ACGGGCTTTG TCTCGTTGAT TGGAATGAGC ACAATGTAAA AGTCTTAGCT 480
AGGACCCACT GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG 540
TATATTAAAG TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAC TTGCACTCCT TTTGGAGCAG 600
CCTAGCAACT CCGCATGTCC TTAATTGGAT GGCGGAGACC TGCGGGCCCT TTACCTTGAG 660
AAAAC TAGAG TGTTTAAGGC AGGCCACACC TGAATACTGC AGCTGGGAAT AATGCATCAC 720
GACTGTCTTG GCGAGGCAGC TCTACACTTT TAATAGGAAC GGTTGGGGGC ATTCGTACTC 780
AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTCG TGAAGACGGA CTAGTGCAGG AGCATTTGCC 840
AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAAGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC 900
CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCAAC TAGGATTGGCAA GAACGTACAA ATCTTGTCAG 960
CACCTTACGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG TATGGTCGCA GGACTGAAAC 1020
TTAAAGGAAT CTTGATAGAA GTACATAAGG AGTGGAGCCT GCGGCTTAAT TTGACTCAAC 1080
ACGGGGAAAC TTACCAGGTC CAGACATAGT CAGGATTGAC AGATTGAGAG CTCTTCTTG 1140
ATCCTATGGG TGGTGGTGCA TGGCCGTTCT TAGTTGGTGG AGTGATCTGT CTGGTTAATT 1200
CCGATAACGA ACGAGACCTC AACCTGCTAA ATAGTTCTAC TCGGGTACAA CTTCTTAGAG 1260
GGACTTCCAA GGTTACTTGG AGGAAGTATA AGGCAACAAC AGGTC 1305

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2261

Total score 2261

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP09

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAGCG ATATATAGTG AAAC TGC GAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATAATCGAAT TTTACATGGA TAACCGTGGT AATTCTAGAG CTAATACATG CTGCTAGCC 180
TGACTTTTTG GAAGGGCTGT ATTTATTAGA TAACAAACCA ATATTCCTTC GGGTCTATTG 240
TGATGATTCA ATATAACTGA TCGAATCGCA TGGCCTTTGG CAGCGATAAA TCATCAAGT 300
TTCTGCCCCA TCAGCTTTCG ATGGTAGTGT ATTGGACTAC CATGGCTTTC ACGGGTAACG 360
GAGGATTAGG GTTCGATTCC GGAGAGGGAG CCTGAGAAAC GGCTACCACA TCTACGGAAG 420
GCAGCAGGCG CGTAAATTAC CCAATCCTGA CTCAGGGAGG TAGTGACAAG AAATAACGAC 480
CCGAGCCTTT GTGCTCCGGG ATTGCAATGA GCCGAATTTA GACCCCTTAG CGAGTAACAA 540
TTGGAGGGCA AGCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAATAG CGTATATTAA 600
AGTTGTTCGA GTTAAAAAGC TCGTAGTTGG ATTTCTGTGA GAGTGTCTGC CTCGGCTTTG 660
ATGCTTGTGG GCAGCGCTCT TACATCCTTC TGTTAACTGT TCTTGGCTTT CATTTGCTGG 720
TTCAGGGCTC AGATATTTTA CCTTGAGAAA ATTAGAGTGT TTCAGGCAGG CTTATGCACG 780
GAATACATTA GCATGGAATA ATGGAATAGG ACCTGTGCGT CTCTCGGGGC GCCGGTCTCT 840
GTTGTTGGTT TCGGGGACTA AAGTAATGAT TAATAGGGAT AGTTGGGGGC ATTAGTATTT 900
AATAGTCAGA GGTGAAATTC TCGGATTTGT TAAAGACTAA CTTATGCGAA AGCATTTGCC 960
AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAGGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC 1020
CTAGTCTTAA CCATAAACTA TGCCGACTAG GGATCGGAGG CGAGGATTTT ACAGCCTTCG 1080
GCACCTTATG AGAAATCAAA GTCTTTGGGT TCTGGGGGGA GTATGGTCGC AAGGCTGAAA 1140
CTTAAAGGAA TTGACGGAAG GGCACCACCA GGCGTGGAGC TTGCGGCTCA ATTTGACTCA 1200
ACACGGGAAA ACTTACCAGG TCCAGACATA GGTAGGATTG ACAGATTGAT AGCTCTTTCT 1260
TGATTCTATG GGTGGTGGTG CATGGCCGTT CTTAGTTGGT GGAGTGATTT GTCTGGTTAA 1320
TTCCGTTAAC GAACGAGACC TTAGCCTACT AACTAGTCGA TTCAAGCCTT CTTGATTTTG 1380
ACTTCTTAGA GGGACTTTGT GTCGTTAAGC ACAAGGAAGC TTGAGGCAAT AACAGGTC 1438

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. DQ059583

Definition *Holosticha diademata*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata;
Spirotrichea; Stichotrichia; Urostylida; Holostichidae;
Holosticha

Max score 2368

Total score 2368

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 96%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP10

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATACGC TCGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTGCAAGCA CTTGTACTGT GAAACTGCGA ATGGCTCATT ATATCAGTTA TAGTTTATTT 120
GATAGATGCC TACTACTTGG ATAACCGTAG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCAACAAAGC 180
CCAACTTTTT GGACGGGCTG TATTTATTAG ATAGAAACCA ATGCAGGGTT TTCCCTGGTG 240
TTGTGGTGAG TCATAATAAC TAAGCGAATC GCAGTGGCTT CGGCCGGCGA TGAATCATT 300
AAGTTTCTGC CCTATCAGCT GTCGATGGTA GGGTATTGGC CTACCATGGC GTTAACGGGT 360
GACGGAGAAT TAGGGTTCGA TTCCGGAGAG GGAGCCTGAG AGACGGCTAC CACATCCAAG 420
GAAGGCAGCA GGCGCGTAAA TTACCCAATC CTGATACGGG GAGGTAGTGA CAATAAAATA 480
CAATACGGGG CCCATTGGGT CTTGTAATTG GAATGAGTAC AATCTAAATC CCTTAACGAG 540
GATCAATTGG AGGGCAAGTC TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC CAATAGCGTA 600
TATTAAGTTT GTTGCAGTTA AAAAGCTCGT AGTTGGATTT CTGGTAGGAG TGACCGTGCC 660
AGACTTGATT GTCTGTGTAT TGTGTTGTCT CCAGCCATCC TTGTGGAGAA CTTTTCTTGC 720
ATTAATTTGT AGGGATTGGG ACCCGCATCG TTTACTGTGA AAAAATTAGA GTGTTTAAAG 780
CAGGCAATCG CTTGAATACA TTAGCATGGA ATAATAAGAT AGGACTTTGG TACTATTTTG 840
TTGGTTTGCA TACCAAAATA ATGATCAACA GGAACAGTTT GAGGATATTC GTATGAACAT 900
GTCAGAGGTG AAATTCCTTG ATTTTGATCA GACGAACTAC TGCAGAAAGCA TTTATCAAGG 960
ATGTTTTTCAT TAATCAAGAA CGAAAGTTAG GGGATCGAAG ATGATTAGAT ACCATCGTAG 1020
TCTTAACCAT AAATATGACC GACTAGGGAT TGGCGGACGT TGTCTATATG ACTTCGCCAG 1080
CACCTCATGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CCGGGGGGAG TATGGTCGCA AGGCTGAAAC 1140
CTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACCAG GAGTGGAGCC TCGGCCTTAA TTTGACTCAA 1200
CACGGGAAAA GTTACCCAGG CCAGACATAG TAAGGATTGA CAGATTGAGA GCTCTTCTTT 1260
GATTCTATTG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTC TTAGTTGGTG GAGTGATTG TCTGGTTAAT 1320
TCCGTTAACG AACGAGACCT CAGCCTGCTA AATAGTGTGC ATATTCGAAA GAATGTGTTT 1380
GACTTCTTAG AGGGACATTT CGGTTTTACC GGAAGGAAGC ATAAGGCAAC AACAGGTC 1438

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. FJ800649

Definition Uncultured labyrinthulid

Taxonomy Eukaryota; Stramenopiles; Labyrinthulomycetes;
environmental samples

Max score 2545

Total score 2545

Query cover 96%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP11

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTGTAATG TTATACAGTG AAAC TGC GAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTCTTTG 120
ATAATCTGAT TTACATGGAT AACCGTGGTA ATTCTAGAGC TAATACATGC AGGTTTGCCC 180
GTCCTTCTGG GAAGGGCAGT ATTTATTAGA TAACAAACCA ATGTTCCCTG CGTCCATTGT 240
GATGATTCAT AGTAACTGAG CGAATCGCAT GGGCTCTGCC CGCGATAAAAT CATTCAGATT 300
TCTGCCCCAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCTTTC ACGGGTAACGG 360
AGGATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAAACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG 420
CAGCAGGCGC GTAAATTACC CAATCCGACT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACGGACC 480
GAAGCCTTCG GTTTCGGGAT TGCAATGAGT ACAATTTAAA CCCCTTAACG AGGACCAATT 540
GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAATAGCG TATATTAAAG 600
TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAT TTCTGGGAGG TCCGCCAATG TCCGCTGTTG 660
CGTGTGCAGC GCGGCCCTTC CATCCTTCTG TTAACGTTTC TTGGTATTCA GTTACTGGTT 720
TCGGGCTCAG ATATTTTACC TTGAGAAAAT TAGAGTGTTT CAGGCAGGCT TCGCTCTGAA 780
TACATTAGCA TGGAATAATA GAATAGGACT TTAGTCTCTT TTGTTGGTTC AGGGACTGAA 840
GTAATGATTA ATAGGGATAG TTGGGGGCAT TAGTATTTAA TTGTCAGAGG TGAAATTCTC 900
GGATTTGTTA AAGACTAACT TATGCGAAAAG CATTTGCCAA GGATGTTTTT ATTAATCAAG 960
AACGAAAGTT AGGGGATCAA AGACGATCAG ATACCGTCCT AGTCTTAACC ATAACTATG 1020
CCGACTAGGG ATCGGAGGCG CGGCGAAATC CGCCTTCGGC ACCTTATGAG AAATCAAAGT 1080
CTTTGGGTTT TGGGGGGAGT ATGGTCGCAA GGCTGAAACT TAAAGGAATT GACGGAAGGG 1140
CACCACCAGG AGTGGAGCTT GCGGCTCAAT TTGACTCAAC ACGGGAAAAC TTACCAGGTC 1200
CAGACATAGT GAGGATTGAC AGATTGATAG CTCTTCTTTG ATTCTATGGG TGGTGGTGCA 1260
TGGCCGTTCT TAGTTGGTGG AGTGATTTGT CTGGTTAATT CCGTTAACGA ACGAGACCTT 1320
AGCCTACTAA CTAGTCATGC CAATTTTCGAT TGGTTCTGAC TTCTTAGAGG GACTTTGTGG 1380
CTAAACACAA GGAAGCGTGA GGCGACAACA GGTC 1414

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY498654

Definition *Orthamphisiella breviseries*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata;
Spirotrichea; Stichotrichia; Sporadotrichida; Oxytrichidae;
Orthamphisiella

Max score 2309

Total score 2309

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 96%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP12

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTC 60
AGTATAAGTT TCTACACGAC GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACGTGTG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCAAAGAC 180
CCGACTTCGT GGAAGGGTTG TGTTTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCT CTGCCCTGGTC 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCATC AGCCGGCGAT GAATCATTCa 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAA TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC ATCCATGTCT TGTAAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TGTACGAGTA 540
TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTTTA 600
TTAAAGTTGT TGGGGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACG GTCGGGCCGC 660
CCCTTGGGTG AGTATCTGGT TTGGCCTGGG CATCCTCTCG GAGAACGTAG CTGCACCTGA 720
CTGTGTGGTG CGGTATCCAG GACTTTTACT TTGAGGAAAT TAGAGTGTTC CAAGCAGGCA 780
TACGCCTTGA ATACATTAGC ATGGAATAAT AAGATAGGAC CTCGGTTCTA TTTTGTGGT 840
TTCTAGAGCG GAGGTAATGA TTAATAGGGA TAGTTGGGGG CGTTCGTATT TAACTGTCAG 900
AGGTGAAATT CTTGGATTTG TTAAGACGG ACTACTGCGA AAGCATTTGC CAAGGATGTT 960
TTCATTGATC AAGAACGAAA GTTAGGGGAT CGAAGACGAT CAGATACCGT CCTAGTCTTA 1020
ACCATAAACC ATGCCGACTA GAGATTGGAG GTCGTATCTT ATACGACTCC TTCAGCACCT 1080
TATGAGAAAT CAAAGTCTTT GGGTTCGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA 1140
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCACACGG 1200
GGAACCTTAC CAGGTCCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGAT TGATAGCTCT TTCCTTGATT 1260
TATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCCTTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCGT 1320
TAACGAACGA GACCTTAACC TGCTAAATAG TTACACGTAA CCACGGTTAC GTGGGCAACT 1380
TCTTAGAGGG ACTTTCGTG TCTAACGCGA GGAAGCGTGA GGCGACAACA GGTC 1434

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AF274256

Definition *Amphidinium semilunatum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Gymnodiniaceae; *Amphidinium*

Max score 2488

Total score 2488

Query cover 98%

E value 0.0

Max identity 98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP13

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAGCG ATTAATAGCG GGA CTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATGGTGTGCT AGATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCAA ACTGTTTATT 180
AGATATCGTC GATGTGGGAA TTACAGTACA TGACGACCTC GTCGGGAGAC GAGGCGCCTC 240
ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTA GTGTAT TGGACTACCA TGGCTGTGAC 300
GGGTGACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCA CATC 360
TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTGACT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA 420
ATAACAACAC CGGGCTTCGT CTCGGTGATT GGAATGAGCA CAATGCAAAA GCGTTAGCGA 480
GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT 540
ATATTAAAGT TGTTCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACG TCTCTCCAAA GCCAAGCGCC 600
AGTTTGGCCT GGAGATCTGC CTAGCAGCGT CATTCCGCGT TCACTCGTCG GTGGCTTCAT 660
GCGGGCACTT TACCTTGAGG AAAC TAGAGT GTTTAAGGCA GGCTCTGCC TGGATACTGC 720
AGCTGGGAAT AATGCGGTCG GAATGTCTTG GCGAGACGTT TCGAATTCAT TAATAGGGAC 780
AGTTGGGGGC ATTCG TACTC AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTGC TGAAGACGGA 840
CTAGT GCGAA AGCATT TGCC AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAAG TTAAGGGATC 900
CAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCGACTAG GGA TTGGGAG 960
GAACGCACAC ATCCTCTCAG CACCTTCCGA GAAATCAAAAG TCTTTGGGTT CAGGGGGGAG 1020
TATGGTCGCA AGACTGAAAC TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCA CAAG GAGTGGAGCC 1080
TGCGGCTTAA TTTGACTCAA CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG CGAGGATTGA 1140
CAGATTGAGA GCTCTTTCTT GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT C TAGTTGGTG 1200
GAGTGATCTG TCTGGTTAAT TCCGATAACG AACGAGACCC CAACCTGCTA ACTAGACCAC 1260
AATAACTCGT TTATCAGTGG CCTTCTTAGA GGGACTTCAA TAAC TAATTG TTGAGGAAGC 1320
TTGAGGCAAC AACAGGTC 1338

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. FJ467506

Definition *Kentrophoros gracilis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Kentrophoridae; *Kentrophoros*

Max score 2386

Total score 2386

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP14

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTTAAA GATTAAGCCA TGCATGTGCA 60
GTGTAAGCGG TTTCCAGCGG GACAGCGAAT GGCTCATTAG AACAGTGATA GTCTCCTCGC 120
AGATTTGGTG GATAACTGTG TTAATTGTAG AGCTAATACA TGGGTTGGCG TTTAGGTTCC 180
TGAAGGCCGG AAGCCGGGAC CTCCACGGGA GTGGAGGCAG TCGAAAAGGG TCTCGGCCCT 240
ATCAGCCGGT TGGCAGTGTC TTGGACTGCC AAGGCGTTCA CGGGTGACGG AGAATTGGGG 300
TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC 360
GCAAATTACC CACTCCTCTA TGAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACAACG CGGGGCTTCG 420
GTCCGGCGAT TGGAATGAGG CAGGCCATAA AACCTGCCC AGGAGCCACT GGAGGGCAAG 480
TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG TATACTAAAG TTGTTGCAGT 540
TAAAAAGCTC GTAGTCGGCA CTGGCTTCTC GGTCTGGAGC GCCCAGCCCA TTCGCTTGGG 600
GTGGGAGAGC TCGGACGGCT TACCTTGAGG AAAGTAGGGT GTTCAAGGCA GGGCCACCTG 660
GATACCGCAG CTGGGAATAA GGACAGGCAC AGGGACAGTT GGGGGCATTG TACTCGACA 720
GCCAGAGGTG AAATTCTCGG ACTTGTCGAA GACGGACCAG TCGAAAAGCA TTTGCCAAGG 780
ATGTTTTTCA TGAACAAGAA CGAAAGTTAA GGGATCAAAG ACGATCAGAT ACCGTCCCTAG 840
TCTTAACCAT AAATATGCCC ACCTGGGACT AGCAGCGGAC AGACATACCG TTGCCGGTCC 900
CGCGCGAAAG CCAAGCCTTT GGGTTCTGGG GGGAGTATGG TCGCAAGACT GAAACTTAAA 960
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG 1020
GGAAGCTCAC CAGGTCCAGA CATGGCGGGG ATTGACAGAT TGAGAGCTCT TTCTTGATCC 1080
CATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCCTAGT CGGTGGAGTG ATCTGTCTGG TTAATTCCGA 1140
TAACGGACGA GACCTCCCAT TTGACTGCGG GCGTTAGCCC GAGGAAGCAT GAGGCAATAA 1200
CAGGTC 1206

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. JF437558

Definition *Geleia sinica*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protoheterotrichida; Geleiidae; *Geleia*

Max score 1068

Total score 1068

Query cover 95%

E value 0.0

Max identity 84%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP15

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTGAAA GACTAAGCCA TGCATGTGTG 60
AGTGTAAAGCG GATGCTAGTG GGA CTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTGAT AGTCTATTTG 120
GAGGTGTGTT GGATAACTGT AGTAATTCCA GAGCTAATAC ATGGGGTGGC GTTTAGGTTT 180
GCGAAGGCCG GATGCCGGGA CTCCCTCGGG AGAGGGGGCG GTCCATTTCGG GTCTCTGCCC 240
TATCAGCCAG TTGGTAGTGT CTTGGACTAC CAAGGCAGTG ACGGGTGACG GAGAAATTGGG 300
GTTTCGATTCC GGAGAGGGAG CCTGAGAGAC GGGTACCACA TCTAAGGAAG GCAGCAGGCG 360
CGCAAATTAC CCAATCCTCA ACGAGGGAGG TAGTGACAAAG AAATAACAAC GCGGGGCTTC 420
GGTCCGGCGA TTGGAATGAG GCAGGTTCAA ACCCTCTGCC CAGGATCCAC TGGAGGGCAA 480
GTCTGGTGCC AGCAGCCGCG GTAATTCCAG CTCCAGTAGC GTATACTAAA GTTGTTGCAG 540
TTAAAAAGCT CGTAGTCGGC ACTCTCTAAT CGGTCTGGAG CACCCCGCCT CATTCAAGTTG 600
TGGCGGGACT GCTCGGACGG CTTACCTTGA GGAAC TAGG GTGTTCAAGG CAGGGCCACC 660
TGGATACCGC AGCTGGGAAT AAGGACTACG CATAGGGACA GTTGGGGGCA TTCGTACTCG 720
GCAGCCAGAG GTGAAATTCT CGGACTTGCC GAAGACGGAC AAGTGCAGAA GCATTTGCCA 780
AGGATGTTTT CATTGATCAA GAACGAAAGT TAAGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC 840
TAGTCTTAAC CATAAACTAT GCCAGCTGGA GCTTTCCAG GACAGACACA CCTGGGCAGG 900
CTCCGCGCGA AAGCCAAGCC TTTGGGTTCT GGGGGGAGTA TGGTCGCAAG ACTGAAACTT 960
AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACAAGGA GTGGAGCCTG CGGCTTAATT TGACTCAACA 1020
CGGGGAAACT TACCAGGTCC AGACATGGCG GGGATTGACA GATTGAGAGC TCTTCTTGA 1080
TCCTATGGGT GGTGGTGCAT GGCCGTCTT AGTTGGTGGA GTGATCTGTC TGGTTAATTC 1140
CGATAACGAA CGAGACCTCG GCTACGGACT GCGGGCGTCA GCGCGAGGAA GCTTAAGGCG 1200
ACAACAGGTC 1210

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no.	JF437558
Definition	<i>Geleia sinica</i>
Taxonomy	Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora; Karyorelictea; Protoheterotrichida; Geleiidae; <i>Geleia</i>
Max score	1182
Total score	1182
Query cover	95%
E value	0.0
Max identity	85%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP16

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAGCT GATTAAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 120
GATGGATTTC TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCG CAGTGTGTAT 180
TAGATATCGC CCCTGTGGGA ACAACGATAC ACCCATACCG TGTCGGGAGA TACGGTGCAT 240
CATTCAAGTT TCTGCCCTAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCAGTGA 300
CGGGTAACGG AGAATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT 360
CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC GCAAATTACC CAATCCTAAT CCAGGGAGGT AGTGACAAGA 420
AATAACAACA ACGGGCTTTG TCTCGTTGAT TGGAATGAGC ACAATGTAAA AGTCTTAGCT 480
AGGACCCACT GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG 540
TATATTAAAG TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAC TTGCACTCCT TTTGGAGCAG 600
CCTAGCAACT CCGCATGTCC TTAATTGGAT GGCGGAGACC TGCGGGCCCT TTACCTTGAG 660
AAAAC TAGAG TGTTTAAGGC AGGCCACGCC TGAATACTGC AGCTGGGAAT AATGCATCAC 720
GACTGTCTTG GCGAGGCAGC TCTACACTTT TAATAGGAAC GGTTGGGGGC ATTCGTACTC 780
AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTCG TGAAGACGGA CTAGTGCAGG AGCATTTGCC 840
AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAAGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC 900
CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCAAC TAGGATTGGCAA GAACGTACAA ATCTTGTCAG 960
CACCTTACGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG TATGGTTCGA AGACTGAAAC 1020
TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACAAG GAGTGGAGCC TGCGGCTTAA TTTGACTCAA 1080
CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG TCAGGATTGA CAGATTGAGA GCTCTTCTT 1140
GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT TTAGTTGGTG GAGTGATCTG TCTGGTTAAT 1200
TCCGATAACG AACGAGACCT CAACCTGCTA AATAGTTCTA CTCGGGTACA ACTTCTTAGA 1260
GGGACTTCCA AGGTTACTTG GAGGAAGCGT TAGGCAACAA CAGGTC 1306

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2335

Total score 2335

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP17

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCG ATTAATAGCG GGACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATGGTGTGCT AGATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCAA ACTGTTTATT 180
AGATATCGTC GATGTGGGAA TTACAGTACA TGACGACCTC GTCGGGAGAC GAGGCGCCTC 240
ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCTGTGAC 300
GGGTGACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCACATC 360
TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTGACT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA 420
ATAACAACAC CGGGCTTCGT CTCGGTGATT GGAATGAGCA CAATGCAAAA GCGTTAGCGA 480
GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT 540
ATATTAAAGT TGTTCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACG TCTCTCCAAA GCCAAGCGCC 600
AGTTTGGCCT GGAGATCTGC CTAGCAGCGT CATTCCGCGT TCACTCGTCG GTGGCTTCAT 660
GCGGGCACTT TACCTTGAGG AAAC TAGAGT GTTTAAGGCA GGCTCTGCC TGGATACTGC 720
AGCTGGGAAT AATGCGGTCG GAATGTCTTG GCGAGACGTT TCGAATTCAT TAATAGGGAC 780
AGTTGGGGGC ATTCGTA CTC AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTGC TGAAGACGGA 840
CTAGTGC GAA AGCATTTCGCC AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAAG TTAAGGGATC 900
CAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCGACTAG GGAATGGGAG 960
GAACGCACAC ATCCTCTCAG CACCTTCCGA GAAATCAAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG 1020
TATGGTCGCA AGACTGAAAC TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACAAG GAGTGGAGCC 1080
TGCGGCTTAA TTTGACTCAA CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG CGAGGATTGA 1140
CAGATTGAGA GCTCTTTCTT GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT CTAGTTGGTG 1200
GAGTGATCTG TCTGGTTAAT TCCGATAACG AACGAGACCT CAACCTGCTA ACTAGACCAC 1260
AATAACTCGT TTATCAGTGG CCTTCTTAGA GGGACTTCAA TAAC TAATTG TTGAGGAAGC 1320
ATTAGGCGAT AACAGGTC 1338

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. FJ467506

Definition *Kentrophoros gracilis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Kentrophoridae; *Kentrophoros*

Max score 2392

Total score 2392

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP20

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCT GATTAATAGC GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 120
GATGGATTTT TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCT TGTGTGTATT 180
AGATATCGCC CCTGTGGGAA CAACAATACA CCCGTACCGT ATCGGGAGAT ACGGTGCATC 240
ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC 300
GGGTAACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG AGCCTGAGAG 360
ACGGCTACCA CATCTAAGGA AGGCAGCAGG CGCGCAAATT ACCCAATCCT AATTCAGGGA 420
GGTGGTGACA AGAAATAACA ACAACGGGCT TTGTCTCGTT GATTGGAATG AGCACAATGT 480
AAAAGTCTTA GCAAGGACCC ACTGGAGGAC AAGTCTGGTG CCAGCAGCCG CGGTAATTCC 540
AGCTCCAGTA GCGTATATTA AAGTTGTTGC AGTTAAAAAG CTCGTAGTTG GACTTGCACT 600
CCTTTTGGAG CAGCCTAGCA ACTCCGCATG TCCTTAATTG GATGGCGGAG ACCTGCGGGC 660
CCTTTACCTT GAGAAAATTA GAGTGTTTAA GGCAGGCCAC GCCTGAATAC TACAGCTGGG 720
AATAATGCAT CACGACTGTC TTGGCGAGGC AGCTCTACAC TTTTAATAGG AACGGTTGGG 780
GGCATTCGTA CTTAGCAGTC AAAGGTGAAA TTCTTGGAAT TGCTGAAGAC GGACTAGTGC 840
GAAAGCATTT GCCAAGGATG TTTTCATTAA TCAAGAACGA AAGTTAAGGG ATCAAAGACG 900
ATCAGATACC GTCCTAGTCT TAACCATAAA CGATGCCGAC TAGGGATTGG CCAGACCGTA 960
CAAATCTGGT CAGCACCTTA CGAGAAATCA AAGTCTTTGG GTTCTGGGGG GAGTATGGTC 1020
GCAAGACTGA AACTTAAAGG AATTGACGGA AGGGCACCAC AAGGAGTGGA ACTTGCGGCT 1080
TAATTTGACT CAACACGGGG AAACCTTACCA GGTCCAGACA TAGTCAGGAT TGACAGATTG 1140
AGAGCTCTTT CTTGATCCTA TGGGTGGTGG TGCATGGCCG TTCTTAGTTG GTGGAGTGAT 1200
CTGTCTGGTT AATTCCGATA ACGAACGAGA CCTCAACCTG CTAAATAGTT CTACTCGGGT 1260
ACAACTTCTT AGAGGGACTT CCAAGGTTAC TTGGAGGAAG CGTGAGGCTA CAACAGGTC 1319

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2274

Total score 2274

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP21

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTC 60
AGTATAAGTT TCTACACGAC GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACGTGTG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCAAAGAC 180
CCGACTTCGT GGAAGGGTTG TGTTTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCT CTGCCCTGGTC 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCATC AGCCGGCGAT GAATCATTCa 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC ATCCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTACGAGTA 540
TCGATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA 600
TTAAAGTTGT TCGGGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACG GTCGGTCCGC 660
CCCTTGGGTG AGTATCTGGT TTGGCCTGGG CATCCTCTTG GAGAACGTAG CTGCACTTGA 720
CTGTGTGGTG CGGTATCCAG GACTTTTACT TTGAGGAAAT TAGAGTGTTC CAAGCAGGCA 780
TACGCCTTGA ATACATTAGC ATGGAATAAT AAGATAGGAC CTCGGTTCTA TTTTGTGGT 840
TTCTAGAGCG GAGGTAATGA TTAATAGGGA TAGTTGGGGG CATTCGTATT TAACTGTCAG 900
AGGTGAAATT CTTGGATTTG TTAAGACGG ACTACTGCGA AAGCATTTGC CAAGGATGTT 960
TTCATTGATC AAGAACAAAA GTTAGGGGAT CGAAGACGAT CAGATACCGT CCTAGTCTTA 1020
ACCATAAACC ATGCCGACTA GAGATTGGAG GTCGTATCT ATACGACTCC TTCAGCACCT 1080
TATGAGAAAT CAAAGTCTTT GGGTTCCGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA 1140
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCACACGG 1200
GGAACCTTAC CAGGTCCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGAT TGATAGCTCT TTCTTGATT 1260
TATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCTTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCGT 1320
TAACGAACGA GACCTTAACC TGCTAAATAG TTACACGTAA CCACGGTTAC GTGGGCAACT 1380
TCTTAGAGGG ACTTTGCGTG TCTAACGCGA GGAAGCGTGA GGCAACAACA GGTC 1434

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AF274256

Definition *Amphidinium semilunatum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Gymnodiniaceae; *Amphidinium*

Max score 2510

Total score 2510

Query cover 98%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP22

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCG ATTAATAGTG GGACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTGAT AGTTTAAAAA 120
ATGGATTCTA GATGGATAAC CGTAGTAATT CTAGAGCTAA TACATGCCCC TGTGTATTAG 180
ATATCGCCCC TGTGGGAACA ACAGTACACC CATACCGAGT CGGGAGACCC GGTGCATCAT 240
TCAAGTTTCT GCCCTATCAG CTTTCGATGG TAGTGTATTG GACTACCATG GCAGTGACGG 300
GTAACGGAGA ATTAGGGTTC GATTCCGGAG AGGGAGCCTG AGAGACGGCT ACCACATCTA 360
AGGAAGGCAG CAGGCGCGCA AATTACCCAA TCCTAATTCA GGGAGGTAGT GACAAGAAAT 420
AACACAACG GGCTTTGTCT CGTTGATTGG AATGAGCACA ATGTAAAAGT CTTAGCAAGG 480
ACCCACTGGA GGGCAAGTCT GGTGCCAGCA GCCCGGGTAA TTCCAGCTCC AGTAGCGTAT 540
ATTAAAGTTG TTGCAGTTAA AAAGCTCGTA GTTGGACTTG CACTCCTGAC GGAGCAGCCT 600
GGCAACTCCG CATGTCCTTA ACTGGATGGC GGAGACCTGC GGGCCCTTTA CCTTGAGAAA 660
ATTAGAGTGT TTAAGGCAGG CCACGCCTGA ATACTGCAGC TGGGAATAAT GCATCACGAC 720
TGTCTTGGCG AGGCAGCTCT ACACTTTTAA TAGGAACGGT TGGGGGCATT CGTACTCAGC 780
AGTCAGAGGT GAAATTCTTG GATTTGCTGA AGACGGACTA GTGCGAAAGC ATTTGCCAAG 840
GATGTTTTCA TTAATCAAGA ACGAAAGTTA AGGGATCAAA GACGATCAGA TACCGTCCTA 900
GTCTTAACCA TAAACGATGC CGACTAGGGA TTGGCCAGAA CGTACAAATC TGGTCAGCAC 960
CTTACGAGAA ATCAAAGTCT TTGGGTTCTG GGGGGAGTAT GGTGCGAAGA CTGAAACTTA 1020
AAGGAATTGA CGGAAGGGCA CCACAAGGAG TGGAGCTTGC GGCTTAATTT GACTCAACAC 1080
GGGGAACCTT ACCAGGTCCA GACATAGTCA GGATTGACAG ATTGAGAGCT CTTTCTTGAT 1140
CCTATGGGTG GTGGTGCATG GCCGTTCTTA GTTGGTGGAG TGATCTGTCT GGTTAATTCC 1200
GATAACGAAC GAGACCTCAA CCTGCTAAAT AGTTCTACTC GGGTAAACTT TCTTAGAGGG 1260
ACTTCCAAGC CAACTTGGAG GAAGCGTAAG GCGATAACAG GTC 1303

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2254

Total score 2254

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP23

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAATG ATATACAGTA AAACCTGCGAA TGGCTCATTa AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATAATCGAAT CTACATGGAT AACCGTGGTA ATTCTAGAGC TAATACATGC TGTTTAGCCT 180
GACTTTTTCGG AAGGGCTGTA TTTATTAGAT AACAAAGCCAA TATTCCTCTC GGGGTCTATT 240
GTGACGACTC ATAGTAACTG ATCGAATCGC ATGGACTTTG TCCGCGATAA ATCATTCaAG 300
TTTCTGCCCC ATCAGCTTTC GATGGTAGTG TATTGGACTA CCATGGCTTT AACGGGTAAc 360
GGAGGATTAG GGTTTCGATTc CGGAGAGGGA GCCTGAGAAA CGGCTACCAC ATCTAAGGAA 420
GGCAGCAGGC GCGTAAATTA CCCAATCCTG ACTCAGGGAG GTAGTGACAA GAAATAAcGG 480
ACCGAGGCCT CGTGCCGCGG GATTGCAATG AGTACAATTT AAACCCCTTA ACGAGTACCA 540
ATTGGAGGGC AAGTCTGGTG CCAGCAGCCG CGGTAATTCC AGCTCCAATA GCGTATATTA 600
AAGTTGTTGC AGTTAAAAAG CTCGTAGTTG GATTTCTGGG AGGGTGCCAA TGTCCGCCGG 660
CAGGCGTGTG CAGCGGCGCC CTTCCATCCT TCTGTTAACG TTTCTTGGTA TTCAGTTACT 720
GGTTGCGGGC TCAGATATTT TACCTTGAGA AAATTAGAGT GTTTCAGGCA GGCTTGCGCC 780
GGAATACATT AGCATGGAAT AATGGAAGAG GACTTTGGTC GCTGTTGTTG GTTTGCAGGA 840
CCTGGAGTAA TGATTAATAG GGATAGTTGG GGGCATTAGT ATTTAATTGT CAGAGGTGAA 900
ATTCTCGGAT TTGTTAAAGA CTAACCTTACG CGAAAGCATT TGCCAAGGAT GTTTTCATTA 960
ATCAAGAACG AAAGTTAGGG GATCAAAGAC GATCAGATAC CGTCCTAGTC TTAACCATAA 1020
ACTATGCCGA CTAGGGATCG GAGGCGCGAC ATATCCGCCT TCGGCACCTT ATGAGAAATC 1080
AAAGTCTTTG GGTTCTGGGG GGAGTATGGT CGCAAGGCTG AAACCTAAAG GAAATTGACGG 1140
AAGGGCACCA CCAGGAGTGG AGCTTGCGGC TCAATTTGAC TCAACACGGG AAAACCTACC 1200
AGGTCCAGAC ATAGTGAGGA TTGACAGATT GATAGCTCTT TCTTGATTCT ATGGGTGGTG 1260
GTGCTAGGCC GTTCTTAGTT GTTGAGTGA TTCGTCTGGT TAATTCCGTT AACGAACGAG 1320
ACCTTAGCCT ACTAACTAGT CGGGGCTCGA ATCTCGATTG ACTTCGACT TCTTAGAGGG 1380
ACTTTGTACC AAATACAAGG AAGCGTGAGG CAACAACAGG TC 1422

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY179978

Definition Uncultured alveolate

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; environmental samples

Max score 2433

Total score 2433

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP24

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTTAAA GATTAAGCCA TGCATGTGCA 60
GTGTAAGCGG TTTCCAGCGG GACAGCGAAT GGCTCATTAG AACAGTGATA GTCTCCTCGC 120
AGATTTGGTG GATAACTGTG TTAATTGTAG AGCTAATACA TGGGTTGGCG TTTAGGTTCC 180
TGAAGGCCGG AAGCCGGGAC CTCCACGGGA GTGGAGGCAG TCGAAAAGGG TCTCTGCCCT 240
ATCAGCCGGT TGGCAGTGTC TTGGACTGCC AAGGCGTTCA CGGGTGACGG AGAATTGGGG 300
TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC 360
GCAAATTACC CACTCCTCTA TGAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACAACG CGGGGCTTCG 420
GTCCGGCGAT TGGAATGAGG CAGGCCATAA AACCTGCCC AGGAGCCACT GGAGGGCAAG 480
TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG TATACTAAAG TTGTTGCAGT 540
TAAAAAGCTC GTAGTCGGCA CTGGCTTCTC GGTCTGGAGC GCCCAGCCCA TTCGCTTGGG 600
GTGGGAGAGC TCGGACGGCT TACCTTGAGG AAAGTAGGGT GTTCAAGGCA GGGCCACCTG 660
GATACCGCAG CTGGGAATAA GGACAGGCGC AGGGACAGTT GGGGGCATTG TACTCGACA 720
GCCAGAGGTG AAATTCTCGG ACTTGTCGAA GACGGACCAG TCGAAAAGCA TTTGCCAAGG 780
ATGTTTTTCA TGAACAAGAA CGAAAGTTAA GGGATCAAAG ACGATCAGAT ACCGTCCCTAG 840
TCTTAACCAT AAATATGCC ACCTGGGACT AGCAGCGGAC AGACATACCG TTGCCGGTCC 900
CGCGCGAAAG CCAAGCCTTT GGGTTCTGGG GGGAGTATGG TCGCAAGACT GAAACTTAAA 960
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG 1020
GGAAGCTCAC CAGGTCCAGA CATGGCGGGG ATTGACAGAT TGAGAGCTCT TTCTTGATCC 1080
CATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCTTAGT CGGTGGAGTG ATCTGTCTGG TTAATTCCGA 1140
TAACGGACGA GACCTCCCAT TTGACTGCGG GCGTTAGCCC GAGGAAGCGT AAGGCAACAA 1200
CAGGTC 1206

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. JF437558

Definition *Geleia sinica*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protoheterotrichida; Geleiidae; *Geleia*

Max score 1062

Total score 1062

Query cover 95%

E value 0.0

Max identity 84%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP25

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAGCG ATTATACAGT GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATATTCGAA TTTTATATGG ATAACCGTGG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCATTCAGGC 180
CTGATTCGGT AAGGCTGTAT TTATTAGATA ACAAATCAAT ATTCCTTCGG GTCTATTTTG 240
ATGATTCATA ATAACGTATC GAATCGCGAT CTTTCGCGAT AAATCATTCA AGTTTCTGCC 300
CCATCAGCTT TCGATGGTAG TGTATTGGAC TACCATGGCT CTTACGGGTA ACGGAGGATT 360
AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG AAGGCAGCAG 420
GCGCGTAAAT TACCCAATCC TGATTCAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC GGACCGGAGC 480
TTTGCGCACC GGGATTGCAA TGAATACAAT TTAAACCCCT TAATGAGGAA CAATTGGAGG 540
GCAAGTCTGG TGCCAGCAGC CGCGGTAATT CCAGCTCCAA TAGCGTATAT TAAAGTTGTT 600
GCAGTTAAAA AGCTCGTAGT TGGATTTCTG GGTTCGCTC AAAGTCGGTC AGATGACCTG 660
TGCTGCGACG CTGACTCATC CTTCTGTTAA CGATTCTTGG TATTCATTTA TTGGTTTCGG 720
GCTCAGATAT TTTACCTTGA GAAAATTAGA GTGTTCCAGG CAGGCTTGCG CCGGAATACA 780
TTAGCATGGA ATAATAGAAT AGGACTTTTG TCTCTTTTGT TGGTTTGAGG GACTGAAGTA 840
ATGATTAATA GGGATAGTTG GGGGCATTAG TATTTAATTG TCAGAGGTGA AATTCCTTGA 900
TTTGTTAAAG ACTAACTTAT GCGAAAGCAT TTGCCAAGGA TGTTTTCAAT AATCAAGAAC 960
GAAAGTTAGG GGATCAAAGA CGATCAGATA CCGTCCTAGT CTTAACCATA AACTATGCCG 1020
ACTCGGGATC GGAGGCGATT TTCATATGTC TTCGGCACCG TATGAGAAAT CAAAGTCTTT 1080
GGGTTCTGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA GGAATTGACG GAAGGGCACC 1140
ACCAGGCGTG GAGCTTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG GAAAACCTAC CAGGTCCAGA 1200
CATAGTGAGG ATTGACAGAT TGATAGCTCT TTCTTGATTG TATGGGTGGT GGTGCAATGGC 1260
CGTTCTTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCGT TAACGAACGA GACCTTAGCC 1320
TACTAAATAG TTACTCCGAT CTCGATTGGT GTAATCTTCT TAGAGGGACT TTGTGCAAAA 1380
CACAAGGAAG CATTAGGCAA CAACAGGTC 1409

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. EU684746

Definition *Paradiscocephalus elongatus*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata;
Spirotrichea; Hypotrichia; Euplotida; Discocephalidae;
Paradiscocephalus

Max score 2558

Total score 2558

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP26

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTTAAA GATTAAGCCA TGCATGTGCA 60
GTGTAAGCGG TTTCTAGCGG GACAGCGAAT GGCTCATTAG AACAGTGATA GTCTCCTCGC 120
AGATTTGGTG GATAACTGTG TTAATTGTAG AGCTAATACA TGGGTTGGCG TTTAGGTTCC 180
TGAAGGCCGG AAGCCGGGAC CTCCACGGGA GTGGAGGCAG TCGAAAAGGG TCTCTGCCCT 240
ATCAGCCGGT TGGCAGTGTC TTGGACTGCC AAGGCGTTCA CGGGTGACGG AGAATTGGGG 300
TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC 360
GCAAATTACC CACTCCTCTA TGAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACAACG CGGGGCTTCG 420
GTCCGGCGAT TGGAATGAGG CAGGCCATAA AACCTGCCC AGGAGCCACT GGAGGGCAAG 480
TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG TATACTAAAG TTGTTGCAGT 540
TAAAAAGCTC GTAGTCGGCA CTGGCTTCTC GGTCTGGAGC GCCCAGCCCA TTCGCTTGGG 600
GTGGGAGAGC TCGGACGGCT TACCTTGAGG AAAGTAGGGT GTTCAAGGCA GGGCCACCTG 660
GATACCGCAG CTGGGAATAA GGACAGGCAC GGGGACAGTT GGGGGCATTG TACTCGACA 720
GCCAGAGGTG AAATTCTCGG ACTTGTCGAA GACGGACCAG TCGAAAAGCA TTTGCCAAGG 780
ATGTTTTTCA TGAACAAGAA CGAAAGTTAA GGGATCAAAG ACGATCAGAT ACCGTCCCTAG 840
TCTTAACCAT AAATATGCC ACCTGGGACT AGCAGCGGAC AGACATACCG TTGCCGGTCC 900
CGCGCGAAAG CCAAGCCTTT GGGTTCTGGG GGGAGTATGG TCGCAAGACT GAAACTTAAA 960
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG 1020
GGAAGCTCAC CAGGTCCAGA CATGGCGGGG ATTGACAGAT TGAGAGCTCT TTCTTGATCC 1080
CATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCTTAGT CGGTGGAGTG ATCTGTCTGG TTAATTCCGA 1140
TAACGGACGA GACCTCCCAT TTGACTGCGG GCGTTAGCCC GAGGAAGCAT AAGGCAATAA 1200
CAGGTC 1206

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no.	JF437558
Definition	<i>Geleia sinica</i>
Taxonomy	Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora; Karyorelictea; Protoheterotrichida; Geleiidae; <i>Geleia</i>
Max score	1062
Total score	1062
Query cover	95%
E value	0.0
Max identity	84%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP27

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAGTGA TATACAGCGA AACTGCGAAT GGCTCATTAA AACAGTTATA GTTTACATGA 120
TAATCGAATT TACATGGATA ACCGTGGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCT GGTTAGCCTG 180
ACTTTTAGGA AGGGCTGTAT TTATTAGATC ACAAACCAAT ATTCTTCGTG TCTATTGTGA 240
CGACTCATAA TAAGTGATCG AATCGCATGG GCCTCGCCCG CGATAAATCA TTCAAGTTTC 300
TGCCCCATCA GCTTTCGATG GTAGTGTAAT GGACTACCAT GGCTTTTACG GGTAACGGAG 360
GATTAGGGTT CGATTCCGGA GAGGGAGCCT GAGAAACGGC TACCACATCT AAGGAAGGCA 420
GCAGGCGCGT AAATTACCCA ATCCTGATTG AGGGAGGTAG TGACAAGAAA TAACGGACCG 480
GAGCCTATGT TCCGGGATTG CAATGAGTTG AATTTAAACC CCTTTACGAG GATCAATTGG 540
AGGGCAAGTC TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC CAATAGCGTA TATTAAAGTT 600
GTTGCAGTTA AAAAGCTCGT AGTTGGATTT CTGGGAGGGT GCCAATGTCC GCCGCGCGCG 660
TGTGCAGCGG CGTCCTTCCA TCCTTCTGTT AACGTTTCGC GGTATTCACT TACCAGTTGC 720
GGGCTCAGAT ATTTTACCTT GAGAAAATTA GAGTGTTCAT GGCAGGCTTG CGCCGGAATA 780
CATTAGCATG GAATAATAGA ATAGGACTTT TGTCTCCTTT GTTGGTTTGA GGGACTGAAG 840
TAATGATTAA TAGGGATAGT TGGGGGCATT AGTATTTAAT TGTCAAGAGG GAAATTCTCG 900
GATTTGTTAA AGACTAACTT ATGCGAAAGC ATTTGCCAAG GATGTTTTCA TTAATCAAGA 960
ACGAAAGTTA GGGGATCAAA GACGATCAGA TACCGTCCTA GTCTTAACCA TAAACTATGC 1020
CGACTAGGGA TCGGAGGCGC GACTTATCCG CCTTCGGCAC CTTATGAGAA ATCAAAGTCT 1080
TTGGGTTCTG GGGGGAGTAT GGTGCGAAGG CTGAAACTTA AAGGAATTGA CGGAAGGGCA 1140
CCACCAGGAG TGGAGCTTGC GGCTCAATTT GACTCAACAC GGGAAAACCT ACCAGGTCCA 1200
GACATAGTAA GGATTGACAG ATTGATAGCT CTTTCTTGAT TCTATGGGTG GTGGTGCATG 1260
GCCGTTCTTA GTTGGTGGAG TGATTTGTCT GGTTAATTCC GTTAACGAAC GAGACCTTAG 1320
CCTACTAACT AGTCGTGCTA ATTCTGATTG GCGTCGACTT CTTAGAGGGA CTTTGTGGTT 1380
CAAACACAAG GAAGCTTAAG GCAACAACAG GTC 1413

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. EF194082

Definition *Protogastrostyla pulchra*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata;
Spirotrichea; Stichotrichia; Sporadotrichida; Oxytrichidae;
Protogastrostyla

Max score 2556

Total score 2556

Query cover 99%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP28

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCGTATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTC 60
AGTATAAGTT TCTACACGAC AAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACGTGTG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCAAAGAC 180
CCGACTTCGT GGAAGGGTTG TGTATTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCT CTGCCCTGGTC 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCACC AGCCGGCGAT GAATCATTCA 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTATTGGCC TACCGTGGCA ACGGAGAAAT 360
AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG AAGGCAGCAG 420
GCGCGCAAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC AATACAGGGC 480
ATCCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTACGAGTA TCAATTGGAG 540
GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA TTAAAGTTGT 600
TGCGGTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACG GCCGGTCCGC CCCCTGGGTG 660
AGTATCTGGT TCGGCCTGGG CATCCTCTTG GAGAACGTAG CTGCACTTGA CTGTGTGGTG 720
CGGTATCCAG GACTTTTACT TTGAGGAAAT TAGAGTGTTT CAAGCAGGCA CACGCCTTGA 780
ATACATTAGC ATGGAATAAT AAGATAGGAC CTCGGTTCTA TTTTGTGGT TTCTAGAGCG 840
GAGGTAATGA TTAATAGGGA TAGTTGGGGG CATTCTGATT TAACTGTCAG AGGTGAAAT 900
CTTGGAATTTG TTAAAGACGG ACTACTGCGA AAGCATTTGC CAGGGATGTT TTCATTGATC 960
AAGAACGAAA GTTAGGGGAT CGAAGACGAT CAGATACCGT CCTAGTCTTA ACCATAAACC 1020
ATGCCGACTA GAGATTGGAG GTCGTTATCC ATACGACTCC TTCAGCACCT TATGAGAAAT 1080
CAAAGTCTTT GGGTTCGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA GGAAATTGACG 1140
GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG GGAAACTTAC 1200
CAGGTCCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGGT TGATAGCTCT TTCCTGATT CATTGGGTGGT 1260
GGTGCATGGC CGTTCTTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCGA TAACGAACGA 1320
GACCTTAACC TGCTAAATAG TTACACGTAA CCACGGTTAC GTGGGCAACT TCTTAGAGGG 1380
ACTTTGCGTA TCTAACGCGA GGAAGCATTA GGCTATAACA GGTC 1424

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AF274256

Definition *Amphidinium semilunatum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Gymnodiniaceae; *Amphidinium*

Max score 2401

Total score 2401

Query cover 98%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP29

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCCTA 60
AGTGTAATG TTATACAGTG AAACATGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTCTTTG 120
ATAATCTGAT TTACATGGAT AACCGTGGTA ATTCTAGAGC TAATACATGC AGGTTTGCCC 180
GTCCTTCTGG GAAGGGCAGT ATTTATTAGA TAACAAACCA ATGTTCCCTG CGTCCATTGT 240
GATGATTCAT AGTAACTGAG CGAATCGCAT GGGCTCTGCC CGCGATAAAT CATCAAGTT 300
TCTGCCCCAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCTTTCG CGGGTAAACGG 360
AGGATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAAACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG 420
CAGCAGGCGC GTAAATTACC CAATCCTGAC TCAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACGGAC 480
CGAAGCCTTC GGTTTCGGGA TTGCAATGAG TACAATTTAA ACCCTTAAC GAGGACCAAT 540
TGGAGGGCAA GTCTGGTGCC AGCAGCCGCG GTAATTCCAG CTCCAATAGC GTATATTAAA 600
GTTGTTGCAG TAAAAAGCT CGTAGTTGGA TTTCTGGGAG GTCCGCCAAT GTCCGCTGTT 660
GCGTGTGCAG CGGCGCCCTT CCATCCTTTT GTTAACGTTT CTTGGTATTC AGTTACTGGT 720
TTCGGGCTCA GATATTTTAC CTTGAGAAAA TTAGAGTGTT TCAGGCAGGC TTGCGTCTGA 780
ATACATTAGC ATGGAATAAT AGAATAGGAC TTTAGTCTCT TTTGTTGGTT CAGGGACTGA 840
AGTAATGATT AATAGGGATA GTTGGGGGCA TTAGTATTTA ATTGTCAGAG GTGAAATTCT 900
CGGATTTGTT AAAGACTAAC TTATCGGAAA GCATTTGCCA AGGATGTTTT CATTAATCAA 960
GAACGAAAGT TAGGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC TAGTCTTAAC CATAACTAT 1020
GCCGACTAGG GATCGGAGGC GCGGCGAAAT CCGCCTTCGG CACCTTATGA GAAATCAAAG 1080
TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG TATGGTCGCA AGGCTGAAAC TTAAAGGAAT TGACGGAAAG 1140
GCACCACCAG GAGTGGAGCT TCGGGCTCAA TTTGACTCAA CACGGGAAAA CTTACCAAGT 1200
CCAGACATAG TGAGGATTGA CAGATTGATA GCTCTTTCTT GATTCTATGG GTGGTGGTGC 1260
ATGGCCGTTT TTAGTTGGTG GAGTGATTTG TCTGGTTAAT TCCGTTAACG AACGAGACCT 1320
TAGCCTACTA ACTAGTCATG CCAATTTCTGA TTGGTTCTGA CTTCTTAGAG GGACTTTGTG 1380
GCTAAACACA AGGAAGCATG AGGCAACAAC AGGTC 1415

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY498654

Definition *Orthamphisiella breviseries*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata;
Spirotrichea; Stichotrichia; Sporadotrichida; Oxytrichidae;
Orthamphisiella

Max score 2314

Total score 2314

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 96%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP30

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA CGCATGTGTA 60
AGTGTAAGCT GATTAAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 120
GATGGATTTC TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGATCT AATACAATCG CAGTGTGTAT 180
TAGATATCGC CCCTGTGGGA ACAACAATAC ACCCATACCG TATCGGGAGA TACGGTGCAT 240
CATTCAAGTT TCTGCCCCAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCAGTGA 300
CGGGTAACGG AGAATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT 360
CTAAGGAAGG CAGCGGGCGC GCAAATTACC CAATCCTAAT TCAGGGAGGT AGTGACAAGA 420
AATAACAACA ACGGGCTTTG TCTCGTTGAT TGGAATGAGC ACAATGTAAA AGTCTTATCA 480
AGGACCCACT GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGTG 540
TATATTAAAG TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAC TTGCACTCCT TTTGGAGCAG 600
CCTGGAAACT CCGCATGTAT TTAATTGGAT GGCGGAGACC TGCGGGCCCT TTACCTTGAG 660
AAAAATTAGAG TGTTTAAGGC AGGCCACGCC TGAATACTGC AGCTGGGAAT AATGCATCAC 720
GACTGTCTTG GCGAGGCAGC TCTACACTTT TAATAGGAAC GGTTGGGGGC ATTCGTACTC 780
AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTCG TGAAGACGGA CTAGTGCAGG AGCATTTGCC 840
AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAAGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC 900
CTAGTCTTAA CCATAAACGA CGCCGACTAG GGATTGGCCA GAACGTACAA ATCTGGTCAG 960
CACCTTACGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG TATGGTCGCA AGACTGAAAC 1020
TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCGCCACAAG GAGTGGAGCT TGCGGCTTAA TTTGACTCAA 1080
CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG TCAGGATTGA CAGATTGAGA GCTCTTCTT 1140
GATCCCTATG GGTGGTGGTG CATGGCCGTT CATAGTTGGT GGAGTGATCT GTCTGGTTAA 1200
TTCCGATAAC GAACGAGACC TCAACCTGCT AAATAGTTCT ACTCGGGTAC AACTCTTAG 1260
AGGGACTTCC AAGGCTACTT GGAGGAAGTT TGAGGCAACA ACAGGTC 1307

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2296

Total score 2296

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP31

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCCTC 60
AGTATAAGTT TCTACACGAC GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACCTGTG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCAAAGAC 180
CCGACTTCGT GGAAGGGTTG TGTTTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCT CTGCCTGGTC 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCATC AGCCGGCGAT GAATCATTCA 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC ATCCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTACGAGTA 540
TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA 600
TTAAAGTTGT TCGGGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACG GTCGGTCCGC 660
CCCTTGGGTG AGTATCTGGT TTGGCCTGGG CATCCTCTTG GAGAACGTAG CTGCACTTGA 720
CTGTGTGGTG CGGTATCCAG GACTTTTACT TTGAGGAAAT TAGAGTGTTC CAAGCAGGCA 780
TACGCCTTGA ATACATTAGC ATGGAATAAT AAGATAGGAC CTCGGTTCTA TTTTGTGGT 840
TTCTAGAGCG GAGGTAATGA TTAATAGGGA TAGTTGGGGG CATTCGTATT TAACTGTCAG 900
AGGTGAAATT CTTGGATTTG TTAAGACGG ACTACTGCGA AAGCATTTGC CAAGGATGTT 960
TTCATTGATC AAGAACGAAA GTTAGGGGAT CGAAGACGAT CAGATACCGT CCTAGTCTTA 1020
ACCATAAACC ATGCCGACTA GAGATTGGAG GTCGTATCT ATACGACTCC TTCAGCACCT 1080
TATGAGAAAT CAAAGTCTTT GGGTTCGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA 1140
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCACACGG 1200
GGAACCTTAC CAGGTCCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGAT TGATAGCTCT TTCTTGATT 1260
TATGGGGTGG TGGTGCATGG CCGTTCTTAG TTGGTGGAGT GATTGTCTG GGTAAATTC 1320
GTTAACGAAC GAGACCTTAA CCTGCTAAAT AGTTACACGT AACCACGGTT ACGTGGGCAA 1380
CTTCTTAGAG GGACTTTGCG TGTCTAACGC GAGGAAGCGT TAGGCGACAA CAGGTC 1436

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AF274256

Definition *Amphidinium semilunatum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Gymnodiniaceae; *Amphidinium*

Max score 2501

Total score 2501

Query cover 98%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP32

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCG ATTAATAGCG GGACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATGGTGTGCT AGATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCAA ACTGTTTATT 180
AGATATCGTC GATGTGGGAA TTACAGTACA TGACGACCTC GTCGGGAGAC GAGGCGCCTC 240
ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCTGTGAC 300
GGGTGACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCACATC 360
TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTGACT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA 420
ATAACAACAC CGGGCTTCGT CTCGGTGATT GGAATGAGCA CAATGCAAAA GCGTTAGCGA 480
GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT 540
ATATTAAAGT TGTTCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACG TCTCTCCAAA GCCAAGCGCC 600
AGTTTGGCCT GGAGATCTGC CTAGCAGCGT CATTCCGCGT TCACTCGTCG GTGGCTTCAT 660
GCGGGCACTT TACCTTGAGG AAAC TAGAGT GTTTAAGGCA GGCTCTGCC TGGATACTGC 720
AGCTGGGAAT AATGCGGTCG GAATGTCTTG GCGAGACGTT TCGAATTTCAT TAAATAGGGGC 780
AGTTGGGGGC ATTCGTA CTC AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTGC TGAAGACGGA 840
CTAGTGC GAA AGCATTTCGCC AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAAG TTAAGGGATC 900
CAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCGACTAG GGAATGGGAG 960
GAACGCGCAC ATCCTCTCAG CACCTTCCGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG 1020
TATGGGCGCA AGACTGAAAC TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACAAG GAGTGGAGCC 1080
TGCGGCTTAA TTTGACTCAA CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG CGAGGATTGA 1140
CAGATTGAGA GCTCTTTCTT GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT CTAGTTGGTG 1200
GAGTGATCTG TCTGGTTAAT TCCGATAACG AACGAGACCT CAACCTGCTA ACTAGACCAC 1260
AATAACTCGT TTATCAGTGG CCTTCTTAGA GGGACTTCAA TAAC TAATTG TTGAGGAAGC 1320
TTAAGGCAAC AACAGGTC 1338

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. FJ467506

Definition *Kentrophoros gracilis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Kentrophoridae; *Kentrophoros*

Max score 2375

Total score 2375

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP33

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCC TGCATGTCTC 60
AGTATAAGTT TCTACACGAC AAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACGTGTG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCAAAGAC 180
CCGACTTCGT GGAAGGGTTG TGTTTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCT CTGCCCTGGTC 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCACC AGCCGGCGAT GAATCATTCa 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC ATCCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTACGAGTA 540
TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA 600
TTAAAGTTGT TCGGGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACG GTCGGTCCGC 660
CCCTTGGGTG AGTATCTGGT TTGGCCTGGG CATCCTCTTG GAGAACGTAG CTGCACTTGA 720
CTGTGTGGTG CGGTATCCAG GACTTTTACT TTGAGGAAAT TAGAGTGTTC CAAGCAGGCA 780
TACGCCTTGA ATACATTAGC ATGGAATAAT AAGATAGGAC CTCGGTTCTA TTTTGTGGT 840
TTCTAGAGCG GAGGTAATGA TTAATAGGGA TAGTTGGGGG CATTCGTATT TAACTGTCAG 900
AGGTGAAATT CTTGGATTTG TTAAGACGG ACTACTGCGA AAGCATTTGC CAAGGATGTT 960
TTCATTGATC AAGAACGAAA GTTAGGGGAT CGAAGACGAT CAGATACCGT CCTAGTCTTA 1020
ACCATAAACC ATGCCGACTA GAGATTGGAG GTCGTATCT ATACGACTCC TTCAGCACCT 1080
TATGAGAAAT CAAAGTCTTT GGGTTCCGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA 1140
GGGATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCACACGG 1200
GGAACCTTAC CAGGTCCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGAT TGATAGCTCT TTCCTTGATT 1260
TATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCTTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCGT 1320
TAACGAACGA GACCTTAACC TGCTAAATAG TTACACGTAA CCACGGTTAC GTGGGCAACT 1380
TCTTAGAGGG ACTTTGCGTG TCTAACGCGA GGAAGCTTTA GGCAACAACA GGTC 1434

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AF274256

Definition *Amphidinium semilunatum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Gymnodiniaceae; *Amphidinium*

Max score 2499

Total score 2499

Query cove 98%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP34

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCT GATTAAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 120
GATGGATTTC TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCA CAGTGTGTAT 180
TAGATATCGC CCCTGTGGGA ACAACAATAC ACCCATACCG TATCGGGAGA TACGGTGCAT 240
CATTCAAGTT TCTGCCCTAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCAGTGA 300
CGGGTAACGG AGAATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT 360
CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC GCAAATTACC CAATCCTAAT TCAGGGAGGT AGTGACAAGA 420
AATAACAACA ACGGGCTTTG TCTCGTTGAT TGGAATGAGC ACAATGTAAA AGTCTTAGCA 480
AGGACCCACT GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG 540
TATATTAAAG TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAC TTGCACTCCT TTTGGAGCAG 600
CCTAGCAACT CCGCATGTCC TTAATTGGAT GGCGGAGACC TGCGGGCCCT TTACCTTGAG 660
AAAAATTAGAG TGTTTAAGGC AGGCCACGCC TGAATACTGC AGCTGGGAAT AATGCATCAC 720
GACTGTCTTG GCGAGGCAGC TCTACACTTT TAATAGGAAC GGTTGGGGGC ATTCGTACTC 780
AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTCG TGAAGACGGA CTAGTGCAGG AGCATTTGCC 840
AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAAGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC 900
CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCGACTAG GGATTGGCCA GAACGTACAA ATCTGGTCAG 960
CACCTTACGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG TATGGTCGCA AGACTGAAAC 1020
TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACAAG GAGTGGAGCT TGCGGCTTAA TTTGACTCAA 1080
CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG CCAGGATTGA CAGATTGAGA GCTCTTCTT 1140
GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT TTAGTTGGTG GAGTGATCTG TCTGGTTAAT 1200
TCCGATAACG AACGAGACCT CAACCTGCTA AATAGTTCTA CTCGGGTACA ACTTCTTAGA 1260
GGGACTTCCA AGGCTACTTG GAGGAAGCTT AAGGCGACAA CAGGTC 1306

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2357

Total score 2357

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP35

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAGCG TTATACGGTG AAAC TGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATAATCGAAT TTACATGGAT AACCGTGGTA ATTCTAGAGC TAATACATGC TGGTTAGCCC 180
GACTTCTGGA AGGGCTGTAT TTATTAGATA ACAAACCAAT ATTCCCTCGT TCTATTGTGA 240
TGA CT CATAG TAACTGATCG AATCGCTTGG ACTCTGTCCG CGATAAATCA TTC AAGTTTC 300
TGCCCCATCA GCTTTCGATG GTAGTG TATT G GACTACCAT GGCTTTCACG GGTAA C GGAG 360
GATTAGGGTT CGATTCCGGA GAGGGAGCCT GAGAAACGGC TACCACATCT AAGGAAGGCA 420
GCAGGCGCGT AAATTACCCA ATCCTGACTC AGGGAGGTAG TGACAAGAAA TAA C GGACCG 480
AAGCCTCTGG TTTCGGGTTT GCAATGAGTA CAATTTACAC CCCTTAACAA GGATCAATTG 540
GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAATAGCGT ATATTAAAGT 600
TGTTGCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGATT TCTGGGAGGG TGCCAATGTC GGCTGAGGCT 660
TGCGCAGCGG CGCCCTTCCA TCCTTCTGTT AACGTTTCAT GGTATTCAGT TACTGGTTTC 720
GGGCTCAGAT ATTTTACCTT GAGAAAATTA GAGTGTTCAT GGCAGGCTTG CGCCGGAATA 780
CATTAGCATG GAATAATAGA ATATGACTTT AGTCTCTTTT GTTGGTTTGA GGGGCTGAAG 840
TAATGATTAA TAGGGATAGT TGGGGGCATT AGTATTTAAT TGT CAGGGGT GAAATTCTCG 900
GATTTGTTAA AGACTAACTT ATGCGAAAGC ATTTGCCAAG GATGTTTTCA TTAATCAAGA 960
ACGAAAGTTA GGGGATCAAA GACGATCAGA TACCGTCCTA GTCTTAACCA TAAACTATGC 1020
CGACTAGGGA TCGGAGGCGC GGCATATCCG CCTTCGGCAC CTTATGAGAA ATCAAAGTCT 1080
TTGGGTTCTG GGGGGAGTAT GGT C GCAAGG CTGAAACTTA AAGGAATTGA CGGAAGGGCA 1140
CCACCAGGAG TGGAGCTTGC GGCTCAATTT GACTCAACAC GGGAAAAC TT ACCAGGTCCA 1200
GACATAGTGA GGATTGACAG ATTGATAGCT CTTTCTTGAT TCTATGGGTG GTGGTGCATG 1260
GCCGTTCTTA GTTGGTGGAG TGATTTGTCT GGTTAATTCC GTTAACGAAC GAGACCTTAG 1320
CCTACTAACT AGTCGATTCA ATCTGCATTG TTTCTGACTTC TTAGAGGGAC TTTGTGGCCA 1380
AACACAAGGA AGCGTAAGGC TACAACAGGT C 1411

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY498654

Definition *Orthamphisiella breviseries*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Intramacronucleata;
Spirotrichea; Stichotrichia; Sporadotrichida; Oxytrichidae;
Orthamphisiella

Max score 2372

Total score 2372

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP36

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCG ATTAATAGCG GGACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATGGTGTGCT AGATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCAA ACTGTTTATT 180
AGATATCGTC GATGTGGGAA TTACAGTACA TGACGACCTC GTCGGGAGAC GAGGCGCCTC 240
ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCTGTGAC 300
GGGTGACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCACATC 360
TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTGACT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA 420
ATAACAACAC CGGACTTCGT CTCGGTGATT GGAATGAGCA CAATGCAAAA GCGTTAGCGA 480
GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT 540
ATATTAAAGT TGTTCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACG TCTCTCCAAA GCCAAGCGCC 600
AGTTTGGCCT GGAGATCTGC CTAGCAGCGT CATTCCGCGT TCACTCGTCG GTGGCTTCAT 660
GCGGGCACTT TACCTTGAGG AAAC TAGAGT GTTTAAGGCA GGCTCTGCC TGGATACTGC 720
AGCTGGGAAT AATGCGGTCG GAATGTCTTG GCGAGACGTT TCGAATTTCAT TAAATAGGGAC 780
AGTTGGGGGC ATTCGTA CTC AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTGC TGAAGACGGA 840
CTAGTGC GAA AGTATTTGCC AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAAG TTAAGGGATC 900
CAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA CCATAAACGA TGCCGACTAG GGAATTTGGGAG 960
GAACGCACAC ATCCTCTCAG CACCTTCCGA GAAATCAAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGGAG 1020
TATGGTCGCA AGACTGAAAC TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACAAG GAGTGGAGCC 1080
TGCGGCTTAA TTTGACTCAA CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG CGAGGATTGA 1140
CAGATTGAGA GCTCTTTCTT GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT CTAGTTGGTG 1200
GAGTGATCTG TCTGGTTAAT TCCGATAACG AACGAGACCT CAACCTGCTA ACTAGACCAC 1260
AATAACTCGT TTATCAGTGG CCTTCTTAGA GGGACTTCAA TAAC TAATTG TTGAGGAAGC 1320
ATGAGGCTAC AACAGGTC 1338

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. FJ467506

Definition *Kentrophoros gracilis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Kentrophoridae; *Kentrophoros*

Max score 2381

Total score 2381

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 99%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP37

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTTAAA GATTAAGCCA TGCATGTGCA 60
GTGTAAGCGG TTTCCAGCGG GACAGCGAAT GGCTCATTAG AACAGTGATA GTCTCCTCGC 120
AGATTTGGTG GATAACTGTG TTAATTGTAG AGCTAATACA TGGGTTGGCG TTTAGGTTCC 180
TGAAGGCCGG AAGCCGGGAC CTCCACGGGA GTGGAGGCAG TCGAAAAGGG TCTCTGCCCT 240
ATCAGCCGGT TGGCAGTGTC TTGGACTGCC AAGGCGTTCA CGGGTGACGG AGAATTGGGG 300
TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC 360
GCAAATTACC CACTCCTCTA TGAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACAACG CGGGGCTTCG 420
GTCCGGCGAT TGGAATGAGG CAGGCCATAA AACCTGCCC AGGAGCCACT GGAGGGCAAG 480
TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG TATACTAAAG TTGTTGCAGT 540
TAAAAAGCTC GTAGTCGGCA CTGGCTTCTC GGTCTGGAGC GCCCAGCCCA TTCGCTTGGG 600
GTGGGAGAGC TCGGACGGCT TACCTTGAGG AAAGTAGGGT GTTCAAGGCA GGGCCACCTG 660
GATACCGCAG CTGGGAATAA GGACAGGCAC AGGGACAGTT GGGGGCATTG TACTCGACA 720
GCCAGAGGTG AAATTCTCGG ACTTGTCGAA GACGGACCAG TCGAAAAGCA TTTGCCAAGG 780
ATGTTTTTCA TGAACAAGAA CGAAAGTTAA GGGATCAAAG ACGATCAGAT ACCGTCCCTAG 840
TCTTAACCAT AAATATGCC ACCTGGGACT AGCAGCGGAC AGACATACCG TTGCCGGTCC 900
CGCGCGAAAG CCAAGCCTTT GGGTTCTGGG GGGAGTATGG TCGCAAGACT GAAACTTAAA 960
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG 1020
GGAAGCTCAC CAGGTCCAGA CATGGCGGGG ATTGACAGAT TGAGAGCTCT TTCTTGATCC 1080
CATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCTTAGT CGGTGGAGTG ATCTGTCTGG TTAATTCCGA 1140
TAACGGACGA GACCTCCCAT TTGACTGCGG GCGTTAGCCC GAGGAAGCAT GAGGCGACAA 1200
CAGGTC 1206

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. JF437558

Definition *Geleia sinica*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protoheterotrichida; Geleiidae; *Geleia*

Max score 1068

Total score 1068

Query cover 95%

E value 0.0

Max identity 84%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP38

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCCTC 60
AGTATAAGTT CTTGTACGGC GAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA CAGTTTATTT 120
GATGGTCAAG GTTTACATGG ATAACCTGTG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCATCAACAC 180
CCGACTTCTT GGAAGGGTTG TGGTTATTAG TTACAGAACC AACACAGGCA CTGTCGTCTT 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCTTC GGCTGGCGAT AAATCATTTCA 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTAATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC ATCCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTTATGAGT 540
ATCAATTGGA GGGCAAGTCT GGTGCCAGCA GCCGCGGTAA TTCCAGCTCC AATAGCGTAT 600
ATTAAAGTTG TTGCGGTAA AAAGCTCGTA GTTGGATTTT TGCCGAGGAC AACCGGTCCG 660
CCCTCTGGGT GAGCATCTGG CTTGGCCTGG GCATCTTCTT GGAGAACGTA GCTGCACTTG 720
ACTGTGTGGT GCGGTATCCA GGACTTTTAC TTTGAGGAAA TTAGAGTGTT TCAAGCAGGC 780
ACACGCCTTG AATACATTAG CATGGAATAA TAAGATAGGG CCTCGGTTCT ATTTTGTGG 840
TTTCTAGAGT TGAGGTAATG ATTAATAGGG ATAGTTGGGG GCATTCGTAT TTAACGTCA 900
GAGGTGAAAT TCTTGGATTT GTTAAAGACG GACTACTGCG AAAGCATTTG CCAAGGATGT 960
TTTCATTGAT CAAGAACGAA AGTTAGGGGA TCGAAGACGA TCAGATACCG TCCTAGTCTT 1020
AACCATAAAC CATGCCGACT AGAGATTGGG GGTCTGTTATC TATATGACTC CTTCAGCACC 1080
TTATGAGAAA TCAAAGTCTT TGGGTTCCGG GGGGAGTATG GTCGCAAGGC TGAACCTAA 1140
AGGAATTGAC GGAAGGGCAC CACCAGGAGT GGAGCCTGCG GCTTAATTTG ACTCAACACG 1200
GGAAGAACTT CCAGGTCCAG ACATAGTAAG GATTGACAGA TTGATAGCTC TTTCTTGATT 1260
CTATGGGTGG TGGTGCATGG CCGTTCTTAG TTGGTGGAGT GATTGTCTG GTTAATTCCG 1320
TTAACGAACG AGACCTTAAC CTGCTAAATA GTTACACGTA ACCTCGGTTA CGTGGGCAAC 1380
TTCTTAGAGG GACTTTGTGT GTCTAACGCA AGGAAGCATG AGGCTACAAC AGGTC 1435

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY800130

Definition *Takayama* cf. *pulchellum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Kareniaceae; *Takayama*

Max score 2416

Total score 2416

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1AP40

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTC 60
AGTAAAGTTC TTGTACGGCG AAAC TGC GAA TGGCTCATT A AACAGTTAC AGTTTATTTG 120
ATGGTCAAGG TTTACATGGA TAACTGTGGT AATTCTAGAG CTAATACATG CATCAACACC 180
CGACTTCTTG GAAGGGTTGT GGT TATTAGT TACAGAACCA ACACAGGCAC CGTCTGTTTT 240
TGTGGTGATT CATAATAACC GAACGAATCG CATGGCTTCG GCTGGCGATA AATCATTCAA 300
GTTTCTGACC TATCAGCTTC CGACGGTAGG GTATTGGCCT ACCGTGGCAA TGACGGGTAA 360
CGGAGAATTA GGGTTCGATT CCGGAGAGGG AGCCTGAGAA ACGGCTACCA CATCTAAGGA 420
AGGCAGCAGG CGCGCAAATT ACCCAATCCT GACACAGGGA GG TAGTGACA AGAAATAACA 480
ATACAGGGCA TCCATGTCTT GTAATTGGAA TGAGTAGAAT TTAAATCCCT TTTATGAGTA 540
TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA 600
TTAAAGTTGT TGGGGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GCCGAGGACA ACCGGTCCGC 660
CCTCTGGGTG AGCATCTGGC TTGGCCTGGG CATCTTCTTG GAGAACGTAG CTGCACCTGA 720
CTGTGTGGTG CGGTATCCAG GACTTTTACT TTGAGGAAAT TAGAGTGTTC CAAGCAGGCA 780
CACGCCTTGA ATACATTAGC ATGGAATAAT AAGATAGGGC CTCGGTTCTA TTTTGTGGT 840
TTCTAGAGTT GAGGTAATGA TTAATAGGGA TAGTTGGGGG CATTCGTATT TAACTGTCAG 900
AGGTGAAATT CTTGGATGTG TTAAAGACGG ACTACTGCGA AAGCATTTGC CAAGGATGTT 960
CTCATTGATC AAGAACGAAA GTTAGGGGAT CGAAGACGAT CAGATACCGT CCTAGTCTTA 1020
ACCATAAACC ATGCCGACTA GAGATTGGGG GTCGTTATCT ATATGACTCC TTCAGCACCT 1080
TATGAGAAAT CAAAGTCTTT GGGTTCCGGG GGGAGTATGG TCGCAAGGCT GAAACTTAAA 1140
GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGAGTG GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTC AACACGG 1200
GAAAACTTAC CAGGTCCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGAT TGATAGCTCT TTCTTGATT 1260
TATGGGTGGT GGTGCATGGC CGTTCTTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCTG 1320
TAACGAACGA GACCTTAACC TGCTAAATAG TTACGCGTAA CCTCGGTTAC GTGGGCAACT 1380
TCTTAGAGGG ACTTTGTGTG CCTAACGCAA GGAAGCATAA GGCAACAACA GGTC 1434

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY800130

Definition *Takayama* cf. *pulchellum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Kareniaceae; *Takayama*

Max score 2383

Total score 2383

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK01

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAATG ATATACAGTA AGACTGCGAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATAATCGAAT CTACATGGAT AACCGTGGTA ATTCTAGAGC TAATACATGC TGTTTAGCCT 180
GACTCTTCGG AAGGGCTGTA TTTATTAGAT AACAAAGCCAA TATTCCTCCC GGGGTCTATT 240
GTGACGACTC ATAGTAACTG ATCGAATCGC ATGGACTTTG TCCGCGATAA ATCATTCAGG 300
TTTCTGCCCC ATCAGCTTTC GATGGTAGTG TATTGGACTA CCATGGCTTT AACGGGTAAC 360
GGAGGATTAG GGTTCGATTTC CGGAGAGGGA GCCTGAGAAA CGGCTACCAC ATCTAAGGAA 420
GGCAGCAGGC GCGTAAATTA CCCAATCCTG ACTCAGGGAG GTAGTGACAA GAAATAACGG 480
ACCGAGGCCT CGTGCCGCGG GATTGCAATG AGTACAATTT AAACCCCTTA ACGAGTACCA 540
ATTGGAGGGC AAGTCTGGTG CCAGCAGCCG CGGTAATTCC AGCTCCAATA GCGTATATTA 600
AAGTTGTTGC AGTTAAAAAG CTCGTAGTTG GATTTCTGGG AGGGTGCCAA TGTCCGCCGG 660
CAGGCGTGTG CAGCGGCGCC CTTCCATCCT TCTGTTAACG TTTCTTGGTA TTCAGTTACT 720
GGTTGCGGGC TCAGATATTT TACCTTGAGA AAATTAGAGT GTTTCAGGCA GGCCTTGCGC 780
GGAATACATT AGCATGGAAT AATGGAAGAG GACTTTGGTC GCTGTTGTTG GTTTGCAGCA 840
CCTGGAGTAA TGATTAATAG GGATAGTTGG GGGCATTAGT ATTTAATTGT CAGAGGTGAA 900
ATTCTCGGAT TTGTTAAAGA CTAACCTTAT CGAAAGCATT TGCCAAGGAT GTTTTCATTA 960
ATCAAGAACG AAAGTTAGGG GATCAAAGAC GATCAGATAC CGTCCTAGTC TTAACCATAA 1020
ACTATGCCGA CTAGGGATCG GAGGCGCGAC ATATCCGCCT TCGGCGCCTT ATGAGAAATC 1080
AAAGTCTTTG GGTTCTGGGG GGAGCATGGT CGCAAGGCTG AAACCTAAAG GAAATTGACGG 1140
AAGGGCACCA CCAGGAGTGG AGCTTGCGGC TCAATTTGAC TCAACACGGG AAAACTTACC 1200
AGGTCCAGAC ATAGTGAGGA TTGACAGATT GATAGCTCTT TCTTGATTCT ATGGGTGGTG 1260
GTGCTAGGCC GTTCTTAGTT GGTGGAGTGA TTTGTCTGGT TAATTCCGTT AACGAACGAG 1320
ACCTTAGCCT ACTAACTAGT CGGGGCTCGA ATCTCGATTG ACTTCCAAC TCTTAGAGGG 1380
ACTTTGTACC AAATACAAGG AAGCATGAGG CGACAACAGG TC 1422

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY179978

Definition Uncultured alveolate

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; environmental samples

Max score 2405

Total score 2405

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK02

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCT GATTAAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 120
GATGGATTTC TAGATGGATA ACCGTAGTAA TTCTAGAGCT AATACATGCG CAGTGTGTAT 180
TAGATATCGC CCCTGTGGGA ACAACGATAC ACCCATACCG TGTCGGGAGA TACGGTGCAT 240
CATTCAAGTT TCTGCCCTAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCAGTGA 300
CGGGTAACGG AGAATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAGACG GCTACCACAT 360
CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC GCAAATTACC CAATCCTAAT CCAGGGAGGT AGTGACAAGA 420
AATAACAACA ACGGGCTTTG TCTCGTTGAT TGGAATGAGC ACAATGTAAA AGTCTTAGCT 480
AGGACCCACT GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAGTAGCG 540
TATATTAAAG TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAC TTGCACTCCT TTTGGAGCAG 600
CCAAGCAACT CCGCATGTCC TTAATTGGAT GGCGGAGACC TCGGGGCCCT TTACCTTGAG 660
AAAAC TAGAG TGTTTAAGGC AGGCCACGCC TGAATACTGC AGCTGGGAAT AATGCATCAC 720
GACTGTCTTG GCGAGGCAGC TCTACACTTT TAATAGGAAC GGTTGGGGGC ATTCGTACTC 780
AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTCG TGAAGACGGA CTAGTGCAGG AGCATTTGCC 840
AAGGATGTTT TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAAGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC 900
CTAGTCTTAA CCGTAAACGA TGCCAAC TAG GATTGGCAA GAACGTACAA ATCTTGTCAG 960
CACCTTACGA GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGAGT ATGGTCGCAA GACTGAAACT 1020
TAAAGGAATC TTGATAGAAG TACATAAGGA GTGGAGCCTG CGGCTAAATT TGATTCAACA 1080
CAGGGAATCT TACCGGGTCC AGACATAGTC AGGATTGGCA GATTGAGAGC TCTTTCTTGA 1140
TCATATGGGT GGTGGTGCAA GGCCGTTCTT AGTTGGTAGA GTGATCTGTC TGGTTAATTC 1200
CGATAACGAA CGAGACCTCA ACCTGCTAAA TAGTTC TACT CGGGTCCAAC TTCTTAGAGG 1260
GACTTCTAAG GTTACTTGGA GGAAGCATGA GGCTATAACA GGTC 1304

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. GQ167153

Definition *Trachelocerca ditis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Trachelocercidae;
Trachelocerca

Max score 2206

Total score 2206

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK03

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAACA ACTTTATACG GTGAAACTGC AGATGGCTCA TTAAATCAGT CGTAATCTAC 120
ATGGTGGTTA CTTACTACAT GGATAACCGT AGTAATTCTA GAGCTAATAC ATGCGCAAAG 180
CCCCGACTCT CGCGGGAAGG GGTGTATTTA TTGGATAAAA GACCAGCGGG CGTTCCTGCGC 240
TCTCTCGAGG TGATTCACAA TAACTAATCG AATCGCACGC CCTTTGCGGC GCGCATGGAC 300
CATTCGAATT TCTGCCCTAT CAGCTTTCGA CGGTAGTGTA GTGGACTACC GTGGCGTTAA 360
CGGGTGACGG AGAATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGGGC CTGAGAAATG GCCACCACAT 420
CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC GCAAATTACC CAATCCTGAC ACAGGGAGGT AGTGACAAATA 480
TATAACGATA ACGGGCTATT TGGTCTGTTA ATCGGAATGA GTACAATTTA AATCCCTTAA 540
CGAGGATCCA CTGGAGGGCA AGTCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAAATTCCA GCTCCAGTAG 600
CGTATATTAA AGTTGCTGCA GTTAAAAAGC TCGTAGTTGG ATTTCTGGTG TGGTGGGCC 660
GGTCCGCCGC CGCTAGGCGC GTGAGTACTG GTTGCCCGCC TGCCGTCCCT TTGGAGAGTG 720
GGCGCGGTCA TTCATTTGAT TGTGTCTTTC CGTCTTCTC GCGAAAGGCG GTTCAACGAT 780
CCAAATCGTT TACTTTGAAA AAATTAGAGT GTTTAAAGCA GGCTTACGCT TCTGAAATATA 840
TTAGCATGGA ATAACATGAT AGGACTCCGG GTCTATTTTG TTGGTTCTTC AGACCTGAAG 900
TAATGATTGA TAGGGACAGT TGGGGGTGCT GGTATTAAAT GGCCAGAGGT GAAATTCTTG 960
GATTCGTTTA AGACCAACTA ATGCGAAAGC ATTCACCAAG GATGTCTTCT TTAATCAAGA 1020
ACGAAAGTTG GGGGATCGAA GAGGATCAGA TACCCTCGTA GTCTCAACCA TAAACGATAC 1080
CGACTAGGGG TCAGCGGACG CTGTACAATT TATTTTAAAT TTGGCTCCGT TGGCACCTTG 1140
TGAGAAATCA AAGTCTTTTG GTTCCGGGGG GAGTATGGTC GCAAGGCTGA AACTTAAAGG 1200
AATTGACGGA AGGGCACCAC CAGGAGTGGA GCCTGCGGCT TAATTCGACT CAACACGGGA 1260
AAACTTACCA GGTCCAGACA TAGTGAGGAT TGACAGATTG AAGATCTTTC TTGATTCTAT 1320
GGGTGGTGGT GCATGGCCGT TCTTAGTTGG TGGAGTGATT TGTCTGGTTT ATTCCGTTAA 1380
CGAACGAGAC CTCGACCTGC TAAATAGTAC TGGGTAGGCC TTGTTGCCTA CGCCAGAGAC 1440
TTCTTAGAGG GACTATCGGT GGTAGCCGG TGGAAGCATA AGGCAACAAC AGGTC 1495

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no.	GU320582
Definition	<i>Gymnophrys</i> sp.
Taxonomy	Eukaryota; Rhizaria; Cercozoa; <i>Gymnophrys</i>
Max score	1676
Total score	1676
Query cover	100%
E value	0.0
Max identity	87%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK04

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTCCTC 60
AGTATAAGTT TCTACACGAC AAAACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTTATTT 120
GATGGTCATT CATTACATGG ATAACCTGTGG TAATTCTAGA GCTAATACAT GCGCAAAGAC 180
CCGACTTCGT GGAAGGGTTG TGTATTATTAG ATACAGAACC AACCCAGGCT CTGCCCTGGTC 240
TTGTGGTGAT TCATAATAAC CGAACGAATC GCATGGCACC AGCCGGCGAT GAATCATTCa 300
AGTTTCTGAC CTATCAGCTT CCGACGGTAG GGTAATTGGCC TACCGTGGCA ATGACGGGTA 360
ACGGAGAATT AGGGTTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA AACGGCTACC ACATCTAAGG 420
AAGGCAGCAG GCGCGCAAT TACCCAATCC TGACACAGGG AGGTAGTGAC AAGAAATAAC 480
AATACAGGGC ATCCATGTCT TGTAATTGGA ATGAGTAGAA TTTAAATCCC TTTACGAGTA 540
TCAATTGGAG GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCC AATAGCGTAT 600
ATTAAAGTTG TTGCGGTTAA AAAGCTCGTA GTTGGATTTT TGCCGAGGAC GGCCGGTCCG 660
CCCCTTGGGT GAGTATCTGG TTCGGCCTGG GCATCCTCTT GGAGAACGTA GCTGCACTTG 720
ACTGTGTGGT GCGGTATCCA GGACTTTTAC TTTGAGGAAA TTAGAGTGTT TCAAGCAGGC 780
ACACGCCTTG AATACATTAG CATGGAATAA TAAGATAGGA CCTCGGTTCT ATTTTGTTGG 840
TTTCTAGAGC GGAGGTAATG ATTAATAGGG ATAGTTGGGG GCATTCGTAT TTAACGTCA 900
GAGGTGAAAT TCTTGGATTT GTTAAAGACG GACTACTGCG AAAGCATTTG CCAAGGATGT 960
TTTCATTGAT CAAGAACGAA AGTTAGGGGA TCGAAGACGA TCAGATACCG TCCTAGTCTT 1020
AACCATAAAC CATGCCGACT AGAGATTGGA GGTCGTTATC TATACGACTC CTTCAGCACC 1080
TTATGAGAAA TCAAAGTCTT TGGGTTCCGG GGGGAGTATG GTCGCAAGGC TGAAACTTAA 1140
AGGAATTGAC GGAAGGGCAC CACCAGGAGT GGAGCCTGCG GCTTAATTTG ACTCAACACG 1200
GGGAAACTTA CCAGGTCCAG ACATAGTAAG GATTGACAGA TTGATAGCTC TTTCTTGATT 1260
CTATGGGTGG TTGGTGCATGG CCGTTCTTAG TTGGTGGAGT GATTTGTCTG GTTAATTCCG 1320
ATAACGAACG AGACCTTAAC CTGCTAAATA GTTACACGTA ACCACGGTTA CGTGGGCAAC 1380
TTCTTAGAGG GACTTTGCGT ATCTAACGCG AGGAAGCATA AGGCAACAAC AGGTC 1435

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AF274256

Definition *Amphidinium semilunatum*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Dinophyceae; Gymnodiniales;
Gymnodiniaceae; *Amphidinium*

Max score 2484

Total score 2484

Query cover 98%

E value 0.0

Max identity 98%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK05

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA TGCATGTCTA 60
AGTATAAATG ATATACAGTA AAAC TGC GAA TGGCTCATTA AAACAGTTAT AGTTTATTTG 120
ATAATCGAAT CTACATGGAT AACCGTGGTA ATTCTAGAGC TAATACATGC TGTTTAGCCT 180
GACTCTTCGG AAGGGCTGTA TTTATTAGAT AACAAAGCCAA TATTC CCCCC GGGGTCTATT 240
GTGACGACTC ATAGTAACTG ATCGAATCGC ATGGACTTTG TCCGCGATAA ATCATTC AAG 300
TTTCTGCCCC ATCAGCTTTC GATGGTAGTG TATTGGACTA CCATGGCTTT AACGGGT AAC 360
GGAGGATTAG GGTTTCGATT CCGAGAGGGA GCCTGAGAAA CGGCTACCAC ATCTAAGGAA 420
GGCAGCAGGC GCGTAAATTA CCCAATCCTG ACTCAGGGAG GTAGTGACAA GAAAT AACCG 480
ACCGAGGCCT CGTGCCGCGG GATTGCAATG AGTACAATTT AAACCCCTTA ACGAGTACCA 540
ATTGGAGGGC AAGTCTGGTG CCAGCAGCCG CGGTAATTCC AGCTCCAATA GCGTATATTA 600
AAGTTGTTGC AGTTAAAAAG CTCGTAGTTG GATTTCTGGG AGGGTGCCAA TGTCCGCCGG 660
CAGGCGTGTG CAGCGGCGCC CTTCCATCCT TCTGTTAACG TTTCTTGGTA TTCAGTTACT 720
GGTTGCGGGC TCAGATATTT TACCTTGAGA AAATTAGAGT GTTTCAGGCA GGCTTGCGCC 780
GGAATACATT AGCATGGAAT AATGGAAGAG GACTTTGGTC GCTGTTGTTG GTTTGCAGCA 840
CCTGGAGTAA TGATTAATAG GGATAGTTGG GGGCATTAGT ATTTAATTGT CAGAGGTGAA 900
ATTCTCGGAT TTGTTAAAGA CTAAC TTATG CGAAAGCATT TGCCAAGGAT GTTTTCATTA 960
ATCAAGAACG AAAGTTAGGG GATCAAAGAC GATCAGATAC CGTCCTAGTC TTAACCATAA 1020
ACTATGCCGA CTAGGGATCG GAGGCGCGAC ATATCCGCC TCGGCACCTT ATGAGAAATC 1080
AAAGTCTTTG GGTTCTGGGG GGAGTATGGT CGCAAGGCTG AAAC TTAAAG GAA TTGACGG 1140
AAGGGCACCA CCAGGAGTGG AGCTTGCGGC TCAATTTGAC TCAACACGGG AAAA CTTACC 1200
AGGTCCAGAC ATAGTGAGGA TTGACAGATT GATAGCTCTT TCTTGATTCT ATGGGTGGTG 1260
GTGCTAGGCC GTTCTTAGTT GGTGGAGTGA TTTGTCTGGT TAATTCCGTT AACGAACGAG 1320
ACCTTAGCCT ACTAAGTAGT CGGGGCTCGA ATCTCGATTG ACTTCCGACT TCTTAGAGGG 1380
ACTTTGTACC AAATACAAGG AAGCGTGAGG CAACAACAGG TC 1422

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. AY179978

Definition Uncultured alveolate

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; environmental samples

Max score 2433

Total score 2433

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 97%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK06

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA TGCATGTGTA 60
AGTGTAAAGCT TCATAATAGC GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTTA TAGTTAATTT 120
GAGAGTTAGA CTAGATGGAT AACCCTAGTA ATTCTAGAGC TAATACACGC TTTATGTTTA 180
TTAGATATCG TCTTTGTGGG AATTACAGTA CATGATGACC TTGTCGGGAG ACAAGGCGCC 240
TCATTCAAGT TTCTGCCCTA TCAGCTTTTCG ATGGTAGTGT ATTGGACTAC CATGGCTGTG 300
ACGGGTGACG GAGAATTAGG GTTCGATTCC GGAGAGGGAG CCTGAGAGAC GGCTACCACA 360
TCTAAGGAAG GCAGCAGGCG CGCAAATTAC CCAATCCTGA CTTAGGGAGG TAGTGACAAG 420
AAATAACAAC ACCGGGCTTC GTCTCGGTGA TTGGAATGAG CACAATGCAA AAGCGTTAGC 480
GAGGACCCAC TGGAGGGCAA GTCTGGTGCC AGCAGCCGCG GTAATTCCAG CTCCAGTAGC 540
GTATATTAAA GTTGTTCAG TTAATAAGCT CGTAGTTGCA CGTCTCTTCA AACCTCGACC 600
GCAAGGTCTT GCTTTGAAGA TCTGCCTAGC AGGTCCATTG GGCGTTAACT CGTCGATGGG 660
TTTATGCGGG CCGTTTACCT TGAGGAAACT AGAGTGTTTA AGGCAGGCTT TTGCGTGGAT 720
ACTGCAGCTG GGAATAATGC GCTCGAAATG TCTTGCGGAG ATATTTTCGAA TTCATTAAATA 780
GGGACAGTTG GGGGCATTCT TACTCAGCAG TCAGAGGTGA AATTCCTTGA TTTGCTGAAG 840
ACGGACTAGT GCGAAAGCAT TTGCCAAGGA TGTTTTTCATT AATCAAGAAC GAAAGTTAAG 900
GGATCCAAGA CGATCAGATA CCGTCCTAGT CTTAACCATA AACGATGCCG ACTAGGGATT 960
GGGAGGAACG AACACATCCT CTCAGGACCT TCCGAGAAAT CAAAGTCTTT GGGTTCTGGG 1020
GGGAGTATGG TCGCAAGACT GAAACTTAAA GGAATTGACG GAAGGGCACC ACAAGGAGTG 1080
GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG GGAACCTTAC CAGGTCCAGA CATAGCGAGG 1140
ATTGACAGAT TGAGAGCTCT TTCTTGATCC TATGGGTGGT GGTGCTGGC CGTTCCTAGT 1200
TGGTGGAGTG ATCTGTCTGG TTAATTCCGA TAACGAACGA GACCTCAACC TGCTAACTAG 1260
ACCACAATAA CTTTATCAGT GGCCTTCTTA GAGGGACTTC AATTCACAAC TTGAGGAAGC 1320
ATGAGGCGAT AACAGGTC 1338

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. FJ467506

Definition *Kentrophoros gracilis*

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; Ciliophora; Postciliodesmatophora;
Karyorelictea; Protostomatida; Kentrophoridae; *Kentrophoros*

Max score 2121

Total score 2121

Query cover 100%

E value 0.0

Max identity 95%

ชื่อตัวอย่าง: SS3L1C1HK19

ลำดับนิวคลีโอไทด์:

```

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCTAG GATTAAGCCA TGCGTGCTA 60
AGTTTAAGTC CTTGAATGGC AAAACTGCGA ATGGCTCATT ATAACAGTTA TGGTTTACTT 120
GGTGTGTTGCT TAATTGCTTT GGATAACAGT AGTAATTCTA GTGCTAATAC ATGCATAAAG 180
CGCGACTACG GCTTTCGGGC CAAGGAAGTG CTGTATTTAT TAGACTGAAA ACCATCCCTA 240
GTTGCCCTTG GTATTCTAGG TGTATTGGTG AGACATAATA ACTTCTCGGA TCAC TTC AAG 300
TGATGCACCA TTCAAGTTTC TGACCTATCA GCTCTCGACG GTAGGGTATT GGCTTACC GT 360
GGCATTGACG GGTAACGGAG GATTAGGGTT CGATTCCGGA GAGGGAGCCT GAGAAACGGC 420
TACCACATCT AAGGAAGGCA GCAGGCGCGC AAATTACCCA ATCCTGATAC AGGGAGGTAG 480
TGACAAGAAA TACCGATATA GGGCAATTCT GTCTTGATGAT TGGAAATGAGA GAAATCTAAA 540
TCTTTTTTTCG AGTATCAATT GGAGGGCAAG TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAAATCCAGC 600
TCCAATAGCG TATATTAAAG TTGTTGCGGT TAAAAAGCTC GTAGTTGGAT TTCCGTAAAGT 660
CGGTGCAGAT CTTCTCTTCC TTAGGCTTTT TAAAGGTCGT GTTGGATGTT GAAGCTCACC 720
TTCTTACTTT CTTTCTATTA AGTCTTTTCA CTTCACTGTG AGATTGCTTT TAGGAAAAGTT 780
TTACTTTGAG GAAATTAGGG TGTTCAGGC AGATTGTTGT CTCGAATACA TTAGCATGGA 840
ATAATATTAT ATGACTTCAG TTTTATTTTG TTGGTTTTAG AACTGCAGTA ATGATTAAATA 900
GGGACAGTCG GGGGCATTTC TACTTAACTG TCAGAGGTGA AATTCCTTGA TTTGTTAAAAG 960
ACGATCTACT GCGAAGGCAT TTGTCCAGGA TGTTCTCATT GATCAAGAAC GAAAGTTAGG 1020
GGATCGAAGA CGATCAGATA CCGTCGTAGT CTTAACCATA AACTATGCCG TCTAGAGATT 1080
GGAGGTTGTT TTCTTTTACA TGACGCCTTC AGCATCTCAT GAGAAATCAA AGTCTTTGGG 1140
TTCCGGGGGG AGTATGGTCG CAAGGCTGAA ACTTAAAGGA ATTGACGGCA GAGCACCACC 1200
AGGAGTGGAG CTTGCGGCTT AATTTGACTC AACACGGGAA AACTCACCAG GTC AAGACAT 1260
AGTTAGGATT GACAGATTGA TAGCTCTTTC TTGATTCTAT GGGTGGTGGT GCATGGCCGT 1320
TCTTAGTTGG TGGAGTGATT TGT CAGGTTA ATTCCGATAA CGAACGAGAC CTTAACCTGC 1380
CAAATAGGTG GAGGATTTGA ATTTCTCTAG CAAAGTTGTC TTCGGACTTC TTTGTAGAAAT 1440
CCTTTC AACC TTCTTGGAGG GACTATCTAC GCAAGTAGAA GTAAGTTTGA GGCAATAACA 1504
GGTC 1504

```

ผลที่ได้จากการค้นหาด้วยโปรแกรม BLASTn เมื่อวันที่ 10 มีนาคม 2556

GenBank accession no. JF826386

Definition Uncultured marine alveolate

Taxonomy Eukaryota; Alveolata; environmental samples

Max score 872

Total score 1418

Query cover 63%

E value 0.0

Max identity 95%

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. อาจารย์ ดร.ชิตชัย จันทร์ดั่งสี

- | | |
|--|--|
| 1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) | นายชิตชัย จันทร์ดั่งสี |
| ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) | Mr. Chitchai Chantangsi |
| 2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน | 3 1002 00170 19 1 |
| 3. ตำแหน่งปัจจุบัน | อาจารย์ |
| 4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก | |
| 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 ปริมาณสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลานในพื้นที่ อพ.สธ.

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ผลงานวิจัย)

7.3.1 Book

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

7.3.2 Journal articles

- สุชา เณยศิริ, ชิตชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของ โพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะเสม็ด 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 quadrivirberis* n. gen. et sp. (Cercozoa). *BMC Microbiol.* 8: 123.
- Chantangsi, C., Lynn, D. H., Brandl, M. T., Cole, J. C., Hetrick, N., and Ikononi, 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. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก
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 การสำรวจชนิดของปลาและเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ในปลาที่มีเกล็ดในอ่างเก็บน้ำของเขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรี, งบประมาณปี 2552
 - 7.2.2 ปรสิตในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากเกาะอาดัง จังหวัดสตูล, งบประมาณปี 2552
 - 7.2.3 ปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลานในพื้นที่ อพ.สธ., งบประมาณปี 2553-2554
 - 7.2.4 การสำรวจเบื้องต้นของเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ในปลาที่รับประทานเป็นอาหารในพื้นที่เขื่อนวชิราลงกรณ จังหวัดกาญจนบุรี, งบประมาณปี 2554
 - 7.2.5 สันฐานวิทยาและพยาธิสภาพของปรสิตบางชนิด, งบประมาณปี 2555
 - 7.3 ผู้ร่วมวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย
 - 7.3.1 ความหลากหลายของโปรโตซัวและแพลงก์ตอน พื้นที่โครงการ อพ.สธ., งบประมาณปี 2553
 - 7.3.2 ความหลากหลายของโปรโตซัวและแพลงก์ตอนในพื้นที่โครงการ อพ.สธ., งบประมาณปี 2554
 - 7.3.3 ความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดบางชนิด, งบประมาณปี 2555
 - 7.4 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ผลงานวิจัย)
 - 7.4.1 Book

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

มาลินี ฉัตรมงคลกุล และ พงชัย หาญยุทธนากร. 2554. *สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กบางชนิดในแหล่งน้ำจืด*.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. บริษัทสิริบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ. 71 หน้า.

7.4.2 Journal articles

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

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

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร และผุสดี ปริยานนท์. 2552. ประสิทธิภาพของกิ่งก่าบินจากเกาะกูด จ.ตราด. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี*. หน้า 64.

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

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, วิเชษฐ์ คนเชื้อ, พงชัย หาญยุทธนากร และผุสดี ปริยานนท์. 2550. ประสิทธิภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากเกาะกูด จังหวัดตราด. *การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย อำเภอสัตหีบ จ. ชลบุรี*. หน้า 300.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร, วิเชษฐ์ คนเชื้อ และผุสดี ปริยานนท์. 2552. ประสิทธิภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากเกาะอาดัง จ.สตูล. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ. ชลบุรี*. หน้า 108.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร, วิเชษฐ์ คนเชื้อ และ ผุสดี ปริยานนท์. 2554. ประสิทธิภาพของสัตว์เลื้อยคลานจากพื้นที่หมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 442–447.

มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงชัย หาญยุทธนากร, วิเชษฐ์ คนเชื้อ และ ผุสดี ปริยานนท์. 2554. ประสิทธิภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากหมู่เกาะอ่างทอง จังหวัดสุราษฎร์ธานี. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 457–464.

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

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

ศรัณย์ อัครวานิชิต, มาลินี ฉัตรมงคลกุล, พงษ์ หาดยุดธนากร และ นิพาดา เรือนแก้ว ดิษยทัต. 2554.

ความหลากหลายของแพลงก์ตอนในสภาพที่มีสาหร่ายไก่อในแม่น้ำน่าน จังหวัดน่าน. *การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 ขมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ. เมือง จ. นครราชสีมา*. หน้า 758–768.

สุชา เถยศิริ, ชิดชัย จันทรตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของ
โพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิชาการประจำปี
ครั้งที่ 5 ขมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ 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 *Trichogaster 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, Thailand. *Proceedings of the 8th Chulalongkorn University Veterinary Annual Conference*, April 3, 2009: 84.