

การระบุชนิดและการหารหัสดีเอ็นเอของซีลีเอตที่พบในทรายชายฝั่งทะเล
ที่หาดลูกกลม เกาะเสมสาร จังหวัดชลบุรี



นางสาวสุชา เฉยศิริ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

IDENTIFICATION AND DNA BARCODING OF MARINE INTERSTITIAL CILIATES
AT LOOK-LOM BEACH, SAMAESARN ISLAND, CHONBURI PROVINCE

Miss Sucha Choeisiri

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

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

Department of Biology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การระบุชนิดและการหารหัสดีเอ็นเอของซิลิเอตที่พบใน
ทรายชายฝั่งทะเล ที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัด
ชลบุรี

โดย

นางสาวสุชา เฉยศิริ

สาขาวิชา

สัตววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

อาจารย์ ดร. ชิตชัย จันทร์ตั้งสี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ทารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. นพดล กิตนะ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร. ชิตชัย จันทร์ตั้งสี)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. มาลินี ฉัตรมงคลกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. พรศิลป์ ผลพันธ์)

สุชา เฉยศิริ : การระบุชนิดและการหารหัสดีเอ็นเอของซิลิเอตที่พบในทรายชายฝั่งทะเล ที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. (IDENTIFICATION AND DNA BARCODING OF MARINE INTERSTITIAL CILIATES AT LOOK-LOM BEACH, SAMAESARN ISLAND, CHONBURI PROVINCE) อ.ที่ปริกษานิพนธ์หลัก: อ. ดร. ชิตชัย จันท์ตั้งสี่, 217 หน้า.

ซิลิเอตน้ำเค็มที่อาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเม็ดทรายเป็นกลุ่มของยูคาริโอตขนาดเล็ก ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสังคมสิ่งมีชีวิตตามพื้นท้องน้ำ โดยแสดงบทบาทในการหมุนเวียนสารอาหาร และในการควบคุมประชากรของแบคทีเรียและเชื้อรา แม้จะมีความสำคัญถึงเพียงนี้ ความหลากหลายของซิลิเอตเหล่านี้กลับมีการศึกษาไม่มากนักเมื่อเทียบกับการศึกษาซิลิเอตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืด และที่ดำรงชีวิตเป็นแพลงก์ตอน ยิ่งไปกว่านี้ความถูกต้องในการระบุชนิดของโพรทิสต์กลุ่มนี้บางครั้งทำได้ยาก และบ่อยครั้งต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ จากการใช้ข้อมูลร่วมกันทั้งในทางสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาเพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตน้ำเค็มระหว่างเม็ดทราย โดยเก็บตัวอย่างทรายในช่วงเดือนกันยายน 2554 ถึง เดือนกรกฎาคม 2555 จากหาดลูกกลม เกาะแสมสาร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) หาช่วงลำดับดีเอ็นเอสายสั้น ๆ หรือดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อใช้ในการระบุชนิดของซิลิเอตทะเลบริเวณหาดลูกกลม และ 2) ประเมินความเป็นไปได้ในการใช้ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดของซิลิเอตพื้นทรายชายฝั่งทะเลที่พบได้โดยทั่วไป จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบซิลิเอตจำนวน 61 ชนิด 29 สกุล ในจำนวนนี้พบซิลิเอตกลุ่ม trachelocercid มากที่สุดถึง 13 ชนิด และมีซิลิเอตจำนวน 12 สกุล 13 ชนิด ที่พบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทย แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตหน้าดินขนาดเล็กที่ยังไม่ได้รับการสำรวจ การเพิ่มจำนวนและการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอที่ครอบคลุม ยีน 18S, ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S rDNA ได้ผลิตดีเอ็นเอขนาดประมาณ 2,900-3,600 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 33 สาย จากเซลล์ตัวอย่าง 20 ชนิด ใน 12 สกุล โดยเมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ทั้งสายไปวิเคราะห์เพื่อหาช่วงที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับการระบุชนิดสิ่งมีชีวิตที่ศึกษา พบว่าจากซิลิเอตจำนวนทั้งหมด 12 สกุล มี 9 สกุล ที่สามารถระบุชนิดได้ถูกต้องด้วยการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 500-600 คู่เบส ในบริเวณยีน 18S ขณะที่อีก 3 สกุล สามารถระบุชนิดได้ถูกต้องด้วยการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 500-600 คู่เบส ในบริเวณ ITS1, 5.8S, ITS2 และบางส่วนของ 28S จากการศึกษาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่เสนอ พบค่าความห่างระหว่างชนิดเฉลี่ยสูงอยู่ในช่วง 1.31-15.98% และภายในชนิดต่ำอยู่ช่วง 0.00-3.91% แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดในช่วง 500-600 คู่เบส มีประโยชน์สามารถใช้ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาได้ การศึกษาครั้งนี้ไม่เพียงแต่เป็นการริเริ่มนำข้อมูลทางอนุชีววิทยามาประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดทางอนุกรมวิธานของซิลิเอตตามพื้นทรายใต้ท้องทะเล แต่ยังชี้ให้เห็นถึงความต้องการของการสำรวจในเชิงลึกและวงกว้างของความหลากหลายทางชีวภาพของโพรทิสต์ตามพื้นน้ำใต้ท้องทะเลในประเทศไทยอีกด้วย

ภาควิชา ชีววิทยา

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา สัตววิทยา

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษานิพนธ์หลัก

ปีการศึกษา 2556

5372362723 : MAJOR ZOOLOGY

KEYWORDS: IDENTIFICATION / DISTRIBUTION / CILIATES / SAMAESARN ISLAND

SUCHA CHOEISIRI: IDENTIFICATION AND DNA BARCODING OF MARINE INTERSTITIAL CILIATES AT LOOK-LOM BEACH, SAMAESARN ISLAND, CHONBURI PROVINCE. ADVISOR: CHITCHAI CHANTANGSI, Ph.D., 217 pp.

Marine interstitial ciliates are a group of microeukaryotes constituting one of major components of benthic communities and playing crucial roles in nutrient cycling and regulation of bacterial and fungal populations. Given their importance, diversity of these ciliates has been less well explored comparing to freshwater and planktonic ones. In addition, accurate species-level identification of this particular group of protists is sometimes difficult and often requires help of experts. Using combined morphological and molecular data, biodiversity of marine interstitial ciliates in sand sediments collected during September 2011 to July 2012 from Look-Lom Beach, Samaesarn Island was investigated in order to 1) find a short DNA sequence or DNA barcode for determining species of ciliates dwelling in this beach and 2) evaluate the feasibility of using the DNA barcoding approach in identifying marine benthic ciliates in general. Sixty one morphospecies belonging to 29 genera were documented using light microscopy. Trachelocercid ciliates were the most abundant group and 13 morphospecies of them were recorded. Of all identified, 12 genera and 13 species, were reported for the first time in Thailand, suggesting unexplored diversity of the meiofaunal ciliates. Amplification and sequencing of ribosomal DNA, covering 18S, ITS1, 5.8S, ITS2, and partial part of 28S rDNA, giving the amplicons of about 2,900-3,600 bp were conducted for individually isolated cells of the examined 20 morphospecies from 12 genera. A total of 33 sequences were obtained and their full-length nucleotide compositions were analyzed to determine the most suitable portion as a DNA barcode for identifying species of marine interstitial ciliates studied. Of all 12 examined, nine could be identified correctly using a 500-600 bp fragment of the 18S rDNA sequences while the remaining three could be diagnosed accurately with the 500-600 bp portion comprising the ITS1, 5.8S, ITS2, and partial part of the 28S rDNA. Nucleotide sequence analysis of the proposed regions demonstrated high mean interspecific sequence divergences of 1.31-15.98% and low mean intraspecific ones of 0.00-3.91%, indicating the 500-600 bp barcoding regions of rDNA sequences as useful molecular signatures for distinguishing species of the studied taxa. This study not only pioneers the application of molecular tools in taxonomic identification of marine benthic interstitial ciliates but also provides the first comprehensive data on their biodiversity and underpins the need for more intensive and extensive investigations into biodiversity of marine benthic protists in Thailand.

Department: Biology

Student's Signature

Field of Study: Zoology

Advisor's Signature

Academic Year: 2013

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. ชิตชัย จันทร์ตั้งสี ที่สละเวลาอันมีค่า มอบความรู้ ความเข้าใจ ให้คำปรึกษา ตลอดจนช่วยเหลือข้าพเจ้าในด้านต่าง ๆ ทั้งในขณะวางแผนการศึกษา การออกปฏิบัติงานในภาคสนาม การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ การวิเคราะห์และสรุปผล ตลอดจนการตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. นพดล กิตนะ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำทางด้านวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยของข้าพเจ้า

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. มาลินี ฉัตรมงคลกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่คอยให้คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางที่เป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พรศิลป์ ผลพันธิน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่าและเดินทางไกลเพื่อมาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ของข้าพเจ้า ตลอดจนช่วยให้คำแนะนำสำหรับการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.), รุ่น 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องการเก็บตัวอย่าง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณครู อาจารย์ และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ข้าพเจ้ามาตั้งแต่ครั้งเยาว์วัยจวบจนถึงปัจจุบัน

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิและผู้ทรงความรู้ทุกท่านที่ได้ริเริ่มและวางรากฐานในการศึกษาซิลิเกต ตลอดจนนำเสนอข้อมูลและบทความวิชาการอันเป็นประโยชน์มาเผยแพร่ต่อสาธารณะ และขอขอบคุณ ซิลิเกต สิ่งมีชีวิตตัวน้อยที่ทำให้เกิดการศึกษาในครั้งนี้

และท้ายที่สุดนี้ขอขอบพระคุณทุกคนในครอบครัวทั้ง คุณพ่อ คุณแม่ คุณอาและคุณปู่ ที่คอยอุปการะเลี้ยงดู ตลอดจนให้โอกาสทางการศึกษาแก่ข้าพเจ้า รวมทั้งขอขอบคุณญาติ ๆ เพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	1
ขอบเขตการศึกษา.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
ความรู้เกี่ยวกับซิลิเกต.....	3
ก. ซิลิเซีย.....	4
ข. <u>การมีนิวเคลียสสองลักษณะ</u>	6
ค. <u>การจับคู่กัน หรือ การคอนจูเกชัน</u>	6
แหล่งที่อยู่อาศัยของซิลิเกต.....	8
ก. <u>แหล่งน้ำจืด</u>	8
ข. <u>แหล่งน้ำเค็มตามธรรมชาติ</u>	8
ค. <u>หน้าดินที่มีความชื้น</u>	8
ง. <u>อาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น</u>	9
การระบุชนิดของซิลิเกตโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	9
การระบุชนิดของซิลิเกตโดยอาศัยลักษณะทางอนุชีววิทยา.....	11
การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเกตในประเทศไทย.....	13
ก. <u>การศึกษาในแหล่งน้ำจืด</u>	13
ข. <u>การศึกษาในแหล่งน้ำเค็ม</u>	16

ค. <u>สรุปภาพรวมและการต่อยอดองค์ความรู้</u>	17
บทที่ 3 <u>วิธีดำเนินการวิจัย</u>	19
สถานที่ศึกษา	19
<u>วิธีดำเนินการศึกษา</u>	20
ก. <u>การปฏิบัติงานในภาคสนาม</u>	20
ข. <u>การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ</u>	22
บทที่ 4 <u>ผลการศึกษา</u>	37
<u>การระบุชนิดของซิติเอต โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา</u>	37
ก. <u>การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานของซิติเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลม</u>	37
ข. <u>ซิติเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย</u>	92
ค. <u>ชนิดและการกระจาย</u>	93
<u>การระบุชนิดของซิติเอต โดยอาศัยลักษณะทางอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอ</u>	98
ก. <u>การทดลองเพาะเลี้ยงซิติเอต</u>	98
ข. <u>การหาสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม</u>	98
ค. <u>การระบุอัตลักษณ์ของซิติเอตโดยอาศัยข้อมูลทางอนุชีววิทยา</u>	99
<u>การหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดซิติเอต</u>	105
ก. <u>ซิติเอตสกุล <i>Apocoleps</i></u>	105
ข. <u>ซิติเอตสกุล <i>Aspidisca</i></u>	106
ค. <u>ซิติเอตสกุล <i>Condylostoma</i></u>	106
ง. <u>ซิติเอตสกุล <i>Diophrys</i></u>	106
จ. <u>ซิติเอตสกุล <i>Holosticha</i></u>	107
ฉ. <u>ซิติเอตสกุล <i>Kentrophoros</i></u>	107
ช. <u>ซิติเอตสกุล <i>Trachelocerca</i> และ <i>Tracheloraphis</i></u>	107
ซ. <u>ซิติเอตสกุล <i>Uronema</i></u>	108
ณ. <u>ซิติเอตสกุล <i>Euplotes</i></u>	115
ญ. <u>ซิติเอตสกุล <i>Mesodinium</i></u>	115
ฎ. <u>ซิติเอตสกุล <i>Uronychia</i></u>	115

บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ	121
การระบุชนิดของซิลิเกต โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา	121
ก. <u>กลุ่มทางอนุกรมวิธานของซิลิเกตที่พบบริเวณหาดลูกลม</u>	121
ข. <u>ซิลิเกตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย</u>	121
ค. <u>ชนิดและการกระจายของซิลิเกตที่พบบริเวณหาดลูกลม</u>	122
การระบุชนิดของซิลิเกต โดยอาศัยลักษณะทางอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอ	126
ก. <u>การทดลองเพาะเลี้ยงซิลิเกต</u>	126
ข. <u>การหาสภาวะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม</u>	127
ค. <u>การระบุอัตลักษณ์ของซิลิเกตจำนวน 20 ชนิด</u>	127
การหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดซิลิเกต	128
สรุปผลการศึกษา	132
ข้อเสนอแนะ	132
รายการอ้างอิง	134
ภาคผนวก.....	142
ภาคผนวก ก.....	143
ภาคผนวก ข.....	144
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	217

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในการศึกษาครั้งนี้.....	33
ตารางที่ 2	การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลหรือจนถึงกลุ่มของซิลิเอต ที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร (อ้างอิงตาม Lynn, 2008)	37
ตารางที่ 3	ชื่อสกุลและชื่อชนิดของซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จากการสำรวจทั้ง 7 ครั้ง.....	94
ตารางที่ 4	แสดงผลการระบุอัตลักษณ์ของซิลิเอตจำนวน 20 ชนิด ที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (NCBI, 2013a: Online)	104
ตารางที่ 5	ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล <i>Apocoleps</i> ความยาว 504 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 4 สาย.....	108
ตารางที่ 6	ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล <i>Aspidisca</i> ความยาว 551 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 8 สาย	109
ตารางที่ 7	ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล <i>Condyllostoma</i> ความยาว 537 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 10 สาย.....	110
ตารางที่ 8	ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ระหว่างกลุ่ม คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล <i>Diophrys</i> ความยาว 569 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 22 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 9 กลุ่ม.....	111
ตารางที่ 9	ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล <i>Holosticha</i> ความยาว 567 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 7 สาย.....	112
ตารางที่ 10	ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น	

คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอของ
 ซิลิเอตในสกุล *Kentrophoros* ความยาว 568 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 3 สาย 113

ตารางที่ 11 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่า
 เปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น
 คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอของ
 ซิลิเอตในสกุล *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* ความยาว 514 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 8 สาย
 113

ตารางที่ 12 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่า
 เปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น
 คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอของ
 ซิลิเอตในสกุล *Uronema* ความยาว 563 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 7 สาย 114

ตารางที่ 13 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่า
 เปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น
 คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และช่วง
 ลำดับ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Euplotes* ความยาว 492 คู่เบส จำนวน 37
 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 7 กลุ่มตามชนิด 116

ตารางที่ 14 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่า
 เปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น
 คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ
 ITS2 และ ส่วนต้นของยีน 28S ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Mesodinium* ความยาว
 639 คู่เบส จำนวน 8 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 6 กลุ่มตามชนิด..... 117

ตารางที่ 15 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่า
 เปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น
 คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และ ช่วง
 ลำดับ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Uronychia* ความยาว 529 คู่เบส จำนวน 9
 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 6 กลุ่มตามชนิด 118

ตารางที่ 16 การหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอ เพื่อใช้ในการระบุชนิด ซิลิเอตจำนวน
 12 สกุล ที่ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้และที่พบข้อมูลในฐานข้อมูลของ GenBank..... 120

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงซิเลียตในสกุลพารามีเซียม (<i>Paramecium</i>) ที่ย้อมด้วยสี neutral red จำนวน 2 เซลล์ ซึ่งมีรูปร่างยาวรีคล้ายรองเท้าแตะ (พารามีเซียมสายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการโพรทิสต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย).....	3
ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงให้เห็นซิเลียจำนวนมากหลายเส้นที่พบในซิเลียต (สุชา เฉยศิริ, ชิดชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล, 2554).....	4
ภาพที่ 3 โครงสร้างภายในของแฟลเจลลัมซึ่งมีโครงสร้างรูปแบบเดียวกับซิเลีย ก. บริเวณโคนโทโซมหรือเบสเซิลบอดี ซึ่งเป็นส่วนฐานของซิเลียและแฟลเจลลัม ประกอบด้วยไมโครทิวบูลจัดเรียงตัวแบบ 9+0 คือ เรียงตัวรอบนอก 9 กลุ่ม ๆ ละ 3 แท่ง, ข. บริเวณ ซิเลียหรือแฟลเจลลัมที่ถัดจากเยื่อหุ้มเซลล์ขึ้นมา จะมีไมโครทิวบูลเรียงตัวแบบ 9+2 คือ เรียงตัวรอบนอก 9 และตรงกลาง 1 กลุ่ม กลุ่มละ 2 แท่ง โดยไมโครทิวบูลรอบนอกเชื่อมต่อกันด้วย ไดเนอิน อาร์ม (dynein arms) และเชื่อมต่อกับแกนกลางผ่าน เรเดียล สไปก (radial spoke) (Raven et al., 2014).....	5
ภาพที่ 4 การย้อมสีแสดงการเกิดคอนจุงชันในพารามีเซียม โดยเซลล์ทั้งสองจะประกบติดกันในส่วนของร่องปาก [Ma แสดงแมโครนิวเคลียสรูปร่างยาวรีที่ย้อมติดสีเข้ม; Mi แสดงไมโครนิวเคลียสที่ติดสีเข้มและมีลักษณะกลมเล็ก (Brum, 1994)]	7
ภาพที่ 5 บน: ซิเลียตที่มีปากทางด้านบน (prostomatous ciliate) และ ล่าง: ซิเลียตที่มีปากอยู่ทางด้านท้อง (ventrostomatous ciliate) พร้อมการแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานในระดับชนิด (Lynn, 2008).....	10
ภาพที่ 6 ภาพวาดทางด้านท้องของ <i>Stylonychia</i> แสดงให้เห็นการกระจายตัวของเซอร์โร หรือซิเลียแบบประกอบ (compound cilia) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ (Kudo, 1966).....	11
ภาพที่ 7 ตำแหน่งที่ตั้งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง ก. แผนที่ประเทศไทย บริเวณสีเข้ม แสดงที่ตั้งของจังหวัดชลบุรี และในกรอบสี่เหลี่ยมแสดงตำแหน่งของเกาะแสมสาร (Wikipedia, 2013: online) ข. ภาพถ่ายทางอากาศของเกาะแสมสาร โดยในกรอบสี่เหลี่ยมแสดงภาพหาดลูกกลมซึ่งตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ และ ค. หมุด แสดงตำแหน่งของหาดลูกกลม ในพิกัด 47P 711450 และ UTM 1391904; ภาพ ข. และ ค. ที่มา (Google Inc., 2013: online)	19
ภาพที่ 8 ลักษณะโดยทั่วไปของหาดลูกกลม ซึ่งเป็นหาดทรายสีขาว วางตัวในทิศเหนือใต้ โดยสัญลักษณ์ N มุมบนขวามือแทนทิศเหนือ (Google Inc., 2013) จากการศึกษาพบว่าทรายส่วนใหญ่ในบริเวณหาดมีสีขาวเนื้อละเอียด (ก) ส่วนทรายที่พบบริเวณทิศใต้ของหาดเป็นทรายเนื้อหยาบบนหินและก้อนกรวดขนาดต่าง ๆ (ข).....	20
ภาพที่ 9 แสดงการเก็บตัวอย่างทรายด้วยช้อนพรวน โดยบรรจุทรายลงในกล่องพลาสติก จำนวน 12 กล่องต่อการเก็บตัวอย่างหนึ่งครั้ง และภาพหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี.....	21

ภาพที่ 10 การเตรียมตัวอย่าง โดยการสกัดแยกซิลิเอตออกจากทรายชายฝั่งทะเลด้วยน้ำแข็งตามวิธี
ของ Uhlig (1964) 23

ภาพที่ 11 ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA) ในยูคาริโอต ซึ่งประกอบด้วยยีน 18S ช่วงลำดับ
ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และ ยีน 28S ตามลำดับ ลูกศรในภาพแสดงตำแหน่งที่ ไพเรเมอร์
SSU-RPF1 และ 28S-1316R เกาะ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการใช้ไพเรเมอร์ทั้งสอง มีขนาดตั้งแต่
2,900-3,600 คู่เบส ขึ้นอยู่กับชนิดของซิลิเอต 28

ภาพที่ 12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros flavum*,
สเกล 100 µm โดยบริเวณสีเข้มในภาพขวามือแสดงไมโครนิวเคลียส (Ma) จำนวนสองอันที่ถูก
คั่นกลางด้วยไมโครนิวเคลียส (Mi) 40

ภาพที่ 13 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros gracilis*,
สเกล 50 µm ภาพด้านขวาแสดงตัวเซลล์ที่กำลังบิดตัวไปทางด้านข้าง 41

ภาพที่ 14 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros* sp. 1, สเกล
100 µm ภาพด้านขวา ลูกศรแสดงการพับม้วนของตัวเซลล์ 41

ภาพที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros* sp. 2, สเกล
100 µm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังเคลื่อนที่ 42

ภาพที่ 16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* cf. *ditis*,
สเกล 50 µm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะหดตัว มีลักษณะคล้ายขวดก้นป่อง 44

ภาพที่ 17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca laevis*,
สเกล 40 µm ภาพด้านขวาแสดงขนเซลล์บางส่วนที่ปกคลุมเซลล์ 44

ภาพที่ 18 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca schultzei*,
สเกล 110 µm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังยึดตัวทำให้มีรูปร่างเหมือนเส้นด้าย 45

ภาพที่ 19 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 1,
สเกล 60 µm ภาพด้านขวาแสดงบริเวณปากเซลล์ที่อยู่ทางด้านหน้าสุดและมีสีเข้ม 45

ภาพที่ 20 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 2,
สเกล 100 µm ภาพด้านขวา ลูกศรแสดงรอยหยักบริเวณส่วนท้องไปจนถึงปลายหางของเซลล์ 46

ภาพที่ 21 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 3,
สเกล 100 µm ภาพด้านขวา ลูกศรแสดงส่วนกลางถึงส่วนท้ายของตัวเซลล์ที่มีลักษณะกว้าง 46

ภาพที่ 22 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 4,
สเกล 50 µm ภาพด้านขวา ลูกศรแสดงสารสะสมสีเข้มจากบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่ไหลลงมา 47

ภาพที่ 23 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Tracheloraphis* sp. 1,
สเกล 50 µm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังหดตัวทำให้ผิวเซลล์มีลักษณะเป็นเกลียวเล็กน้อย 48

ภาพที่ 24 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Tracheloraphis</i> sp. 2, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่พองออกคล้ายรูปกระบองและมีสีเข้ม	49
ภาพที่ 25 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Tracheloraphis</i> sp. 2, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีลักษณะตัดตรง ซึ่งอาจเป็นความแปรผันที่พบภายในชนิด (เทียบกับภาพที่ 24)	49
ภาพที่ 26 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Tracheloraphis</i> sp. 4, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีลักษณะตัดตรง	50
ภาพที่ 27 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelocercid 1, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีลักษณะตรงทู่ ส่วนบริเวณสีอ่อนที่มีลักษณะเป็นวงอาจเป็นตำแหน่งของนิวเคลียส (หัวลูกคร)	51
ภาพที่ 28 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelocercid 2, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังเคลื่อนที่	51
ภาพที่ 29 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelocercid 3, สเกล 100 μ m ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังหดตัว, สเกล 50 μ m	52
ภาพที่ 30 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง <i>Loxodes</i> cf. <i>striatus</i> , สเกล 30 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงลายตามยาวที่พบบนตัวเซลล์	53
ภาพที่ 31 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Remanella</i> sp. 1, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดง Müller's bodies ซึ่งมีจำนวน 5 คู่, สเกล 30	54
ภาพที่ 32 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง <i>Remanella</i> sp. 2, สเกล 30 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดง Müller's bodies ภายในเซลล์	55
ภาพที่ 33 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Remanella</i> sp. 3, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดง Müller's bodies และหัวลูกครแสดงบริเวณปากเซลล์	55
ภาพที่ 34 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Avelia</i> cf. <i>martinicense</i> , สเกล 100 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงช่องปากของเซลล์	56
ภาพที่ 35 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Anigsteinia</i> cf. <i>salinarum</i> , สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงแผงซีเลียประกอบ AZM ส่วนกรอบสีขาแสดงระบบช่องคอนแทร็กไทล์แควิวโอล	57
ภาพที่ 36 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Condyllostoma arenarium</i> , สเกล 60 μ m ภาพด้านขวาแสดงแถวของซีเลียร่างกายที่ปรากฏเป็นลายบนตัวเซลล์	58
ภาพที่ 37 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Condyllostoma</i> cf. <i>enigmatica</i> , สเกล 100 μ m เซลล์ที่พบมีส่วนท้ายเซลล์ซึ่งมีลักษณะเป็นหางยาวแหลมคล้ายเข็ม ส่วนภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณช่องปากเซลล์	59

ภาพที่ 38	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Protocruzia</i> sp., สเกล 10 µm ภาพด้านขวาถูกครีแสดงลักษณะของปากเซลล์.....	60
ภาพที่ 39	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Prodiscocephalus</i> sp., สเกล 10 µm ภาพขวาถูกครีสีดำแสดงกระดูกซี่เลียตามขวาง (transverse cirri)	61
ภาพที่ 40	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Aspidisca</i> sp., สเกล 10 µm ภาพด้านซ้ายถูกครีแสดงช่องปากซึ่งอยู่ทางด้านท้องส่วนท้ายของตัวเซลล์ ส่วนภาพด้านขวาถูกครี แสดงลักษณะของสันโค้งนูนที่พบทางด้านหลังของตัวเซลล์	62
ภาพที่ 41	ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Euplotes quinquecarinatus</i> , สเกล 10 µm ขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิคใช้แสงธรรมดา แสดงนิวเคลียสรูปตัว C สีแดงหลังการย้อมด้วยสี neutral red และถูกครีแสดงแฟงซี่เลียประกอบ AZM.....	64
ภาพที่ 42	ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Euplotes rariseta</i> , สเกล 20 µm ขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิคใช้แสงธรรมดา แสดงนิวเคลียสรูปตัว S สีแดงหลังการย้อมด้วยสี neutral red.....	64
ภาพที่ 43	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Euplotes vannus</i> , สเกล 20 µm ภาพด้านขวาแสดงกระดูกซี่เลีย (cirri) ที่บริเวณต่าง ๆ ทางด้านท้องของเซลล์	65
ภาพที่ 44	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Euplotes</i> cf. <i>vannus</i> , สเกล 20 µm ภาพด้านขวาแสดงลักษณะนิวเคลียสรูปตัวซีสีแดง หลังการย้อมด้วยสี neutral red.....	65
ภาพที่ 45	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Euplotidium</i> sp., สเกล 10 µm ภาพด้านขวาถูกครีแสดงบริเวณปากเซลล์ที่กว้างเป็นรูปสามเหลี่ยม และมีแฟงซี่เลียประกอบ AZM เห็นได้ชัดเจน	66
ภาพที่ 46	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Diophrys</i> sp. 1, สเกล 10 µm ภาพด้านขวาถูกครีแสดงกระดูกซี่เลียตามขวาง (transverse cirri) ทางด้านท้องของตัวเซลล์	67
ภาพที่ 47	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Diophrys</i> sp. 2, สเกล 10 µm ภาพด้านขวาแสดงลักษณะของตัวเซลล์ที่มีรูปร่างสี่เหลี่ยม.....	68
ภาพที่ 48	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Uronychia transfuga</i> , สเกล 10 µm ภาพด้านขวาถูกครีแสดงกระดูกซี่เลียตามขวางขนาดใหญ่ จำนวน 5 กระดูก	69
ภาพที่ 49	ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาแสดง hypotrich 1, สเกล 10 µm และขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิค DIC ถูกครีแสดงแฟงซี่เลียประกอบ AZM.....	70
ภาพที่ 50	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง hypotrich 2, สเกล 50 µm ภาพด้านขวาทำการปรับแสง แสดงกระดูกซี่เลียทางด้านท้ายของตัวเซลล์ (ถูกครี).....	71
ภาพที่ 51	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง hypotrich 3, สเกล 30 µm ภาพด้านขวาทำการปรับแสง แสดงส่วนที่คล้ายหางเซลล์ (ถูกครี)	71

ภาพที่ 52	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง hypotrich 4, สเกล 10 µm ภาพด้านขวาแสดงสี่เข็มที่ปรากฏในตัวเซลล์.....	72
ภาพที่ 53	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Oxytricha aeruginosa</i> , สเกล 10 µm ภาพด้านขวาแสดง <i>Oxytricha</i> จำนวนสามเซลล์ที่มีขนาดต่าง ๆ กัน..	73
ภาพที่ 54	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelostylid, สเกล 10 µm ภาพด้านขวาลูกศรแสดงซิเลียร่างกายทางด้านท้องที่กระจายอยู่ทางด้านหน้าใกล้บริเวณปากเซลล์.....	74
ภาพที่ 55	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง <i>Epiclintes</i> sp., สเกล 30 µm ภาพขวาลูกศรแสดงส่วนคอในขณะที่เซลล์กำลังยึดตัว.....	75
ภาพที่ 56	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Holosticha</i> cf. <i>kessleri</i> , สเกล 10 µm ภาพด้านขวาลูกศรแสดงกระจุกซิเลียจำนวนสองแถวที่ยาวตลอดแนวด้านท้องของตัวเซลล์ โดยเป็นลักษณะเฉพาะที่พบประจำสกุล.....	76
ภาพที่ 57	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Holosticha diademata</i> , สเกล 10 µm ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงกระจุกซิเลียทางด้านหน้า (frontal cirri) ที่มีขนาดยาว ส่วนภาพด้านขวาแสดงกระจุกซิเลียที่พบบริเวณต่าง ๆ ทางด้านท้องของเซลล์.....	77
ภาพที่ 58	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Urostyla</i> sp., ภาพด้านซ้ายสเกล 10 µm ภาพด้านขวาสเกล 30 µm.....	78
ภาพที่ 59	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง <i>Spathidium</i> sp., สเกล 10 µm ภาพด้านขวาทำการปรับแสงให้เห็นบริเวณด้านหน้าสุดของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นสันเห็นได้ชัดเจน (ลูกศร).....	79
ภาพที่ 60	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง <i>Litonotus anguilla</i> , สเกล 10 µm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังเคลื่อนที่.....	80
ภาพที่ 61	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง <i>Loxophyllum</i> sp. 1, สเกล 10 µm ภาพด้านขวาลูกศรแสดงตัวเซลล์ทางด้านขวาที่มีลักษณะแบน ในขณะที่ตัวเซลล์ทางด้านซ้ายมีลักษณะโค้งเป็นโดมเล็กน้อย.....	81
ภาพที่ 62	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Loxophyllum</i> sp. 2, สเกล 50 µm ภาพด้านขวาแสดงลายริ้วเล็ก ๆ ตลอดแนวยาวของตัวเซลล์.....	82
ภาพที่ 63	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Loxophyllum</i> sp. 3, สเกล 10 µm ภาพด้านขวาทำการปรับแสงให้เห็นลักษณะซิเลียทางด้านหน้าของตัวเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายใบพัด (ลูกศร).....	82
ภาพที่ 64	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Mesodinium</i> sp., สเกล 10 µm, ภาพด้านขวาแสดงมุมมองภาพจากทางด้านบนของตัวเซลล์ แสดงให้เห็นว่าตัวเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม และลูกศรแสดงแถบซิเลีย (band of cilia).....	83

ภาพที่ 65	ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Chlamydodon</i> sp., สเกล 10 μ m และขบวนการถ่ายด้วยเทคนิคใช้แสงธรรมดาแสดงสีตามธรรมชาติของเซลล์.....	84
ภาพที่ 66	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Coleps tessellatus</i> , สเกล 10 μ m ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงขีลีย์จำนวนหนึ่งเส้นที่พบทางด้านท้ายของตัวเซลล์	85
ภาพที่ 67	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Coleps</i> sp., สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาแสดงแผ่นปกคลุมเซลล์และหนามที่ด้านท้ายของตัวเซลล์.....	86
ภาพที่ 68	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Apocoleps</i> sp., สเกล 10 μ m ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงหนามที่ด้านหน้าและด้านท้ายของตัวเซลล์ ส่วนภาพวาดด้านขวาแสดงลักษณะของซีพิน ช่องหน้าต่าง และแผ่นเพลทจำนวน 8 แถว ที่พบปกคลุมเซลล์ของ <i>Apocoleps magnus</i> , สเกลบาร์ 50 μ m (Chen et al., 2009).....	87
ภาพที่ 69	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง plagiopylid, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาทำการปรับแสงให้เห็นลักษณะร่องที่พบบนสันโค้งตัวเซลล์ (ลูกศร).....	88
ภาพที่ 70	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Frontonia maris-albi</i> , สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาลูกศรแสดงช่องของปากเซลล์.....	89
ภาพที่ 71	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Uronema marinum</i> , สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาลูกศรชี้ขีลีย์ทางด้านท้าย (caudal cilium) ของตัวเซลล์จำนวนหนึ่งเส้น..	90
ภาพที่ 72	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Pleuronema</i> sp. 1, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาลูกศรแสดงเยื่ออันดูเลติง (undulating membrane).....	91
ภาพที่ 73	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง <i>Pleuronema</i> sp. 2, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาลูกศรแสดงเยื่ออันดูเลติง.....	92
ภาพที่ 74	ลักษณะทรายที่พบบริเวณหาดลูกกลม ก. ทรายสีขาวเนื้อละเอียด, ข. ทรายสีน้ำตาลเนื้อหยาบมีกรวดปน และ ค. ทรายสีน้ำตาลปนเทาเนื้อละเอียด	97
ภาพที่ 75	แผ่นวุ้นอะกาโรสภายหลังการสกัดแยกด้วยไฟฟ้า แสดงผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอขนาดประมาณ 3,500 คู่เบส จาก 1. <i>Euplotes vannus</i> และ 2. <i>Euplotes rariseta</i> ; M คือ เครื่องหมายโมเลกุลใช้ในการเทียบขนาด ชนิด 1 kb plus.....	99
ภาพที่ 76	ค่าเฉลี่ยจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิดและภายในชนิด จากช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดของซิลิเอตทั้ง 12 สกุล [ND (no data) = ไม่มีข้อมูล].....	119
ภาพที่ 77	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบระหว่างชนิดและภายในชนิด จากช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดของซิลิเอตทั้ง 12 สกุล [ND (no data) = ไม่มีข้อมูล].....	119

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ซิลิเกตเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในกลุ่มโพรโทซัวที่ใช้ซิลิเซียในการเคลื่อนที่ แม้ซิลิเกตส่วนใหญ่ไม่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่การดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ กลับมีความสำคัญเชื่อมโยงถึงมนุษย์ และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในระบบนิเวศ ซิลิเกตมีบทบาทสำคัญในการเชื่อมโยงสายใยอาหาร และสามารถพบได้ในหลายถิ่นอาศัย ไม่ว่าจะเป็นในมหาสมุทร ชายฝั่งทะเล แหล่งน้ำจืด ดินและมอส (Lynn, 2008) ด้วยลักษณะการกระจายตัวที่หลากหลาย (Finlay, Tellez, and Esteban, 1993) และการตอบสนองที่รวดเร็วต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง (Decamp and Warren, 1998) ทำให้ซิลิเกตบางชนิด ถูกนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ เพื่อบ่งบอกถึงสภาพแวดล้อมของแหล่งน้ำ คุณภาพน้ำ และการปนเปื้อนของมลพิษบางชนิด (Lynn, 2008) อย่างไรก็ตาม ซิลิเกตที่พบในแต่ละพื้นที่ อาจมีความหลากหลายทางชีวภาพที่แตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมของแต่ละประเทศ การศึกษาและรายงานวิจัยที่ผ่านมาในประเทศไทยเน้นการศึกษาเฉพาะโพรโทซัวที่พบในแหล่งน้ำจืดเป็นหลัก ขณะเดียวกัน กลับขาดข้อมูลการศึกษาที่พบในระบบนิเวศหาดทรายชายฝั่งทะเล ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นถึงความสำคัญในการศึกษาและการระบุชนิดของซิลิเกตที่พบบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลในประเทศไทย หากแต่การศึกษาที่นิยมทำกันทั่วไปโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา อาจไม่เพียงพอต่อการจัดจำแนกและการระบุชนิดของซิลิเกตในบางกลุ่ม เนื่องด้วยข้อจำกัดของขนาดตัวที่มีขนาดเล็ก ความใกล้เคียงกันทางสัณฐานวิทยาระหว่างซิลิเกตบางชนิด ความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พบแม้ในชนิดเดียวกัน หรือแม้กระทั่งความแตกต่างในระดับพันธุกรรมที่อาจไม่แสดงให้เห็นความแตกต่างในระดับสัณฐานวิทยาภายนอก (Katz et al., 2011; Nanney et al., 1998) ฯลฯ ด้วยข้อจำกัดต่าง ๆ ดังที่กล่าวมา ทำให้ผู้วิจัยเห็นถึงความสำคัญของการใช้เทคนิคและข้อมูลทางอณูชีววิทยาในระดับดีเอ็นเอ ด้วยการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมร่วมกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อช่วยในการระบุชนิดของซิลิเกต อันจะเป็นการลดข้อจำกัดในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ และเติมเต็มความถูกต้องในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ที่พบตามหาดทรายชายฝั่งทะเล บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อระบุชนิดของซิลิเกตที่พบในหาดทรายชายฝั่งทะเล ที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา
2. เพื่อระบุชนิดของซิลิเกตที่พบในหาดทรายชายฝั่งทะเล ที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยข้อมูลทางอณูชีววิทยา
3. เพื่อหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดซิลิเกตที่พบในหาดทรายชายฝั่งที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

ขอบเขตการศึกษา

เก็บตัวอย่างทรายจากบริเวณชายฝั่งทะเลของหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ทุก ๆ 2 เดือน จนครบระยะเวลาหนึ่งปี เริ่มเก็บตัวอย่างครั้งแรกในเดือนมีนาคม 2554

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถลดข้อจำกัดและเติมเต็มความถูกต้องในการระบุชนิดของซิลิเอตที่พบในทรายชายฝั่งทะเล บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรีได้

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

ก. คำศัพท์หลักที่ปรากฏทั้งในเล่มวิทยานิพนธ์และในหนังสือของราชบัณฑิตยสถาน

อ้างอิงตามหนังสือศัพท์วิทยาศาสตร์ อังกฤษ-ไทย ไทย-อังกฤษ ฉบับราชบัณฑิตยสถาน (2546)

1. โพรโทซัว (protozoa) หรือสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว โดยในบางตำรา เอกสารงานวิจัย และวิทยานิพนธ์ของไทยที่พบก่อนหน้าปี 2546 ใช้คำว่า “โปรโทซัว” และ “โปรโตซัว”

2. อาณาจักรโพรทิสตา (Protista) ใช้อ้างอิงในการเขียนคำว่า “โพรทิสต์” (protist)

3. ซิลเลีย (cilia)

ข. คำศัพท์เฉพาะที่ปรากฏในเล่มวิทยานิพนธ์

โดยเป็นคำศัพท์ที่ไม่ปรากฏข้อมูล ในหนังสือศัพท์วิทยาศาสตร์ อังกฤษ-ไทย ไทย-อังกฤษ ฉบับราชบัณฑิตยสถาน (2546) และมีการให้ความหมายเบื้องต้นโดยผู้วิจัย

1. ซิลิเอต (ciliate) คือ สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีซิลเลีย โดยในบางตำรา เอกสารงานวิจัย และวิทยานิพนธ์ของไทยที่พบก่อนหน้าปี 2557 ใช้คำว่า “ซิลิเอท”

2. ซิลิเอตน้ำเค็มที่อาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเม็ดทราย (marine interstitial ciliate)

3. ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcode) คือ ช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ หรือช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดสิ่งมีชีวิต

4. ดีเอ็นเอบาร์โค้ดดิ้ง (DNA barcoding) คือ การหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ หรือช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดสิ่งมีชีวิต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความรู้เกี่ยวกับซีเลียต

ซีเลียต (ciliate) เป็นโพรโทซัว (protozoa) หรือสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ที่มีขนาดเล็กไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การศึกษาสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ต้องศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscope) โดยพารามีเซียม (*Paramecium*) เป็นตัวอย่างสกุลของซีเลียตที่รู้จักกันโดยทั่วไป (ภาพที่ 1) ซึ่งสามารถพบได้ตามห้วย หนอง คลอง บึง และคูน้ำต่าง ๆ (บพิธ จารุพันธ์ และ นันทพร จารุพันธ์, 2549) แม้ซีเลียตจะเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเซลล์เดียวเช่นเดียวกับแบคทีเรีย แต่ซีเลียตก็มีลักษณะที่แตกต่างออกไปจากแบคทีเรียหลายประการ เช่น เซลล์ของซีเลียตจะพบเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) ในขณะที่เซลล์ของแบคทีเรียจะไม่พบเยื่อหุ้มนิวเคลียส และเมื่อทำการเทียบวัดขนาดจะพบว่าเซลล์ของซีเลียตจะมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ของแบคทีเรียประมาณ 10-100 เท่า (Mader, 2011) ฯลฯ โดยซีเลียตมีบทบาทสำคัญในการควบคุมประชากรของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ เนื่องจากพบซีเลียตหลายชนิดที่บริโภคแบคทีเรียเป็นอาหาร (Lynn, 2008)



ภาพที่ 1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงซีเลียตในสกุลพารามีเซียม (*Paramecium*) ที่ย้อมด้วยสี neutral red จำนวน 2 เซลล์ ซึ่งมีรูปร่างยาวรีคล้ายรองเท้าแตะ (พารามีเซียมสายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการโพธิสัตว์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

ซีเลียตทุกชนิด จะมีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์ร่วมกัน 3 ประการ คือ 1) การปรากฏของซีเลีย (cilia) ที่ใช้ในการเคลื่อนที่ การกินอาหาร การยึดเกาะ และการสัมผัสผืน อย่างน้อยในระยะเวลาหนึ่งของช่วงชีวิต 2) การมีนิวเคลียสสองลักษณะ (nuclear dimorphism) คือแมโครนิวเคลียส (macronucleus) และไมโครนิวเคลียส และ 3) การจับคู่กัน (conjugation) ของซีเลียตในระหว่างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Lynn, 2008) โดยมีรายละเอียดของลักษณะทั้งสามประการดังนี้

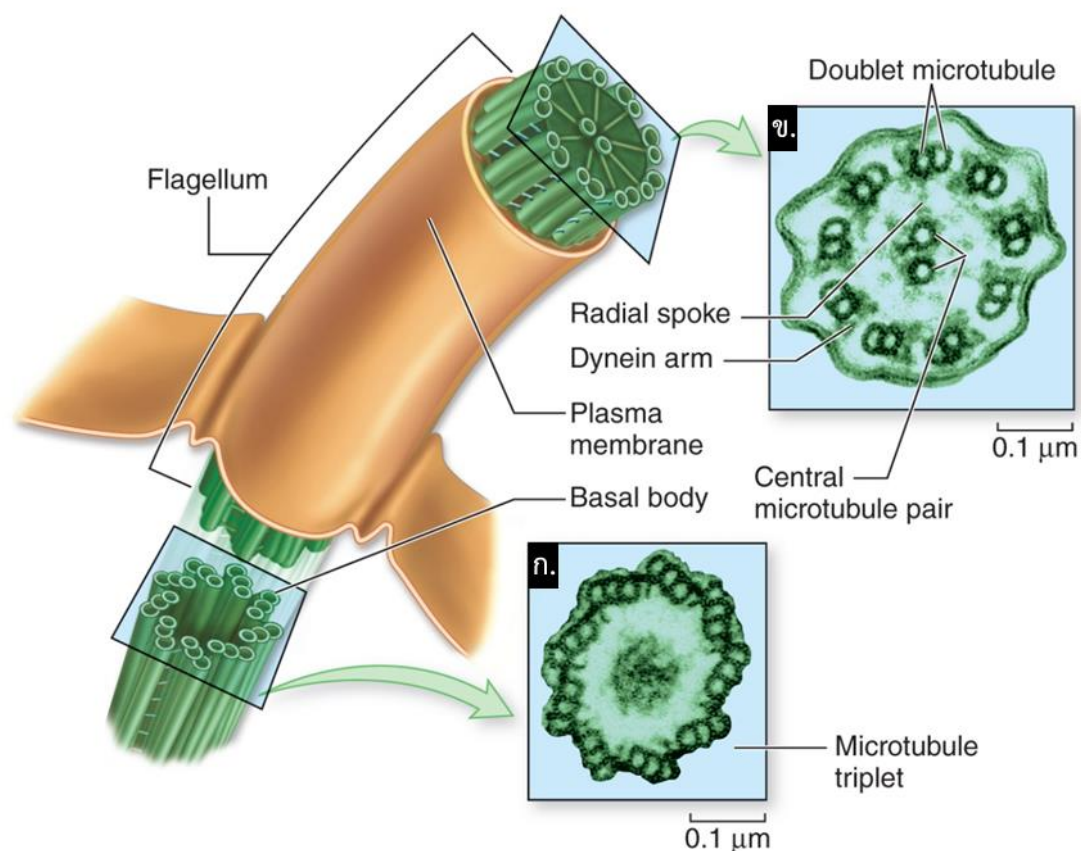
ก. ซีเลีย

ซีเลีย เป็นออร์แกเนลล์ (organelle) ทรงกระบอก ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.26 ไมโครเมตร โดยความยาวของซีเลียมักแปรผันอยู่ในช่วง 5-10 ไมโครเมตร คำว่า “ซีเลีย” เป็นคำศัพท์ในรูปพหูพจน์ หมายถึงซีเลียจำนวนมากหลายเส้น (ภาพที่ 2) แต่ถ้ากล่าวถึงซีเลียเพียงเส้นเดียว จะเรียกว่า “ซีเลียม” (cilium) (Lynn, 2008) โดยซีเลียมมีต้นกำเนิดมาจากบริเวณเบซัลบอดี (basal body) หรือ ไคนีโทโซม (kinetosome) ซึ่งเป็นส่วนฐานของซีเลีย ส่วนฐานดังกล่าวจะตั้งอยู่บริเวณไซโทพลาสซึมภายใต้เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของซีเลียต ไคนีโทโซมที่พบในพารามีเซียมจะเรียงเป็นแถว เรียกว่า “ไคนีตี” (kinety) ซึ่งแต่ละแถวจะเชื่อมถึงกันด้วยแถบของเส้นใยฝอย (fibril) โดยแถบเส้นใยฝอยตามยาว (longitudinal fibril) ที่เชื่อมโยงกับไคนีโทโซมต่าง ๆ เรียกว่า “ไคนีโทเดสมา” (kinetodesma) (Farmer, 1980)



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงให้เห็นซีเลียจำนวนมากหลายเส้นที่พบในซีเลียต (สุชา เฉยศิริ, ชิตชัย จันทร์ตั้งสี และมาลินี ฉัตรมงคลกุล, 2554)

โครงสร้างภายในซีเลียประกอบด้วยอะโซนิม (axoneme) ที่เป็นกลุ่ม ๆ ละ 2 แท่ง ทั้งหมด 10 กลุ่ม โดยแบ่งเป็นตรงกลาง 1 กลุ่ม และโดยรอบอีก 9 กลุ่ม (ภาพที่ 3) ซีเลียโดยทั่วไปจะจัดเรียงตามแนวยาวตลอดตัวเซลล์ อย่างไรก็ตามยังพบซีเลียแบบประกอบ ที่ปรากฏทั้งบริเวณตัวเซลล์ เช่น เซอร์ไร (cirri) และที่ปรากฏในบริเวณปากเซลล์ เช่น ออรัล ซิลิเอเจอร์ (oral ciliature) ซีเลียของซิลิเอตจะทำหน้าที่ในการเคลื่อนไหวเป็นหลัก ซึ่งมีรูปแบบในการโบกพัดหลากหลาย นอกจากนี้ซีเลียยังทำหน้าที่ในการกินอาหาร การยึดเกาะ และการรับรู้อีกด้วย (Lynn, 2008)



ภาพที่ 3 โครงสร้างภายในของแฟลเจลลัมซึ่งมีโครงสร้างรูปแบบเดียวกับซีเลีย ก. บริเวณโคนีโทโซมหรือเบซัลบอดี ซึ่งเป็นส่วนฐานของซีเลียและแฟลเจลลัม ประกอบด้วยไมโครทิวบูลจัดเรียงตัวแบบ 9+0 คือ เรียงตัวรอบนอก 9 กลุ่ม ๆ ละ 3 แท่ง, ข. บริเวณ ซีเลียหรือแฟลเจลลัมที่ถัดจากเยื่อหุ้มเซลล์ขึ้นมา จะมีไมโครทิวบูลเรียงตัวแบบ 9+2 คือ เรียงตัวรอบนอก 9 และตรงกลาง 1 กลุ่ม กลุ่มละ 2 แท่ง โดยไมโครทิวบูลรอบนอกเชื่อมต่อกันด้วย ไดเนอิน อาร์ม (dynein arms) และเชื่อมต่อกับแกนกลางผ่าน เรเดียล สไปก (radial spoke) (Raven et al., 2014)

ข. การมีนิวเคลียสสองลักษณะ

การมีนิวเคลียสสองลักษณะทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก เป็นรูปแบบเฉพาะที่พบในไฟลัมซิลิโอฟอรา (Ciliophora) ซึ่งเป็นไฟลัมของซิลิเอต (ภาพที่ 4)

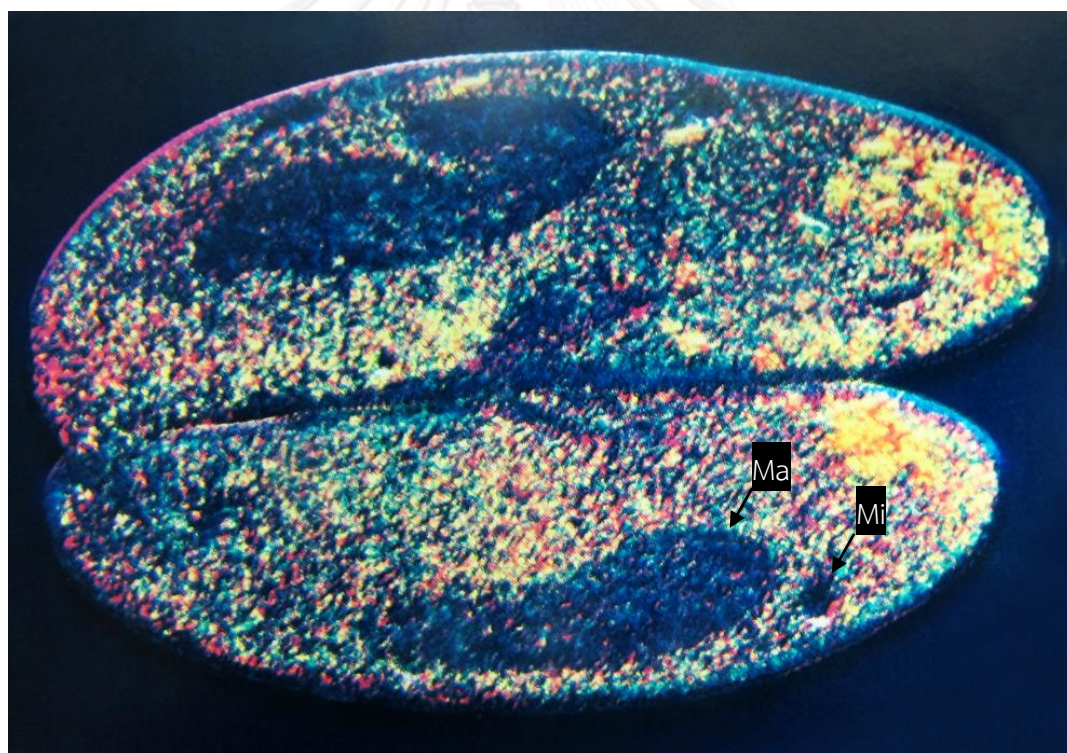
1. แมโครนิวเคลียส (macronucleus) อาจเรียกว่า “เวเจเททีฟ” (vegetative), โทรฟิก (trophic) หรือ ทรานสคริปชันแนลลี แอคทีฟ นิวเคลียส (transcriptionally active nucleus) ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะของสิ่งมีชีวิต (phenotype) อาจมีจำนวนหลายอัน มักมีขนาดใหญ่กว่าไมโครนิวเคลียสและมีรูปร่างทรงกลมหรือรี แต่บางครั้งอาจมีรูปร่างอื่น เช่น รูปไต (reniform) สร้อยลูกปัด (moniliform) เส้นใย (filiform) แตกแขนง (dendritic) เชือก (halteriform) รูปตัวซี หรือ ตัวอี (C- or E-shaped) ภายในจะพบนิวคลีโอล (nucleoli) ขนาดเล็กจำนวนมาก จีโนมเป็นแบบพอลิพลอยด์ (polyploid) หรือ แอมพลิพลอยด์ (ampliploid) คือ มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุดขึ้นไป มีการแบ่งเพิ่มจำนวนนิวเคลียสแบบไมโทซิส ตามปกติแมโครนิวเคลียสจะพัฒนามาจากไมโครนิวเคลียส โดยมีหน้าที่ในการควบคุมการทำงานทางกายภาพและชีวภาพของเซลล์ อย่างไรก็ตามในซิลิเอตบางกลุ่ม เช่น คาริโอริลลิกเทียส จะไม่มีความสามารถในการแบ่งแมโครนิวเคลียส (Lynn, 2008)

2. ไมโครนิวเคลียส (micronucleus) อาจเรียกอีกชื่อว่า “เจเนอเรทีฟ นิวเคลียส” (generative nucleus) โดยปกติจะมีขนาดเล็กกว่าแมโครนิวเคลียส และอาจพบได้หลายอัน ไมโครนิวเคลียสโดยทั่วไปมีรูปร่างกลมหรือรี จีโนมเป็นแบบดิพลอยด์ (diploid) คือ มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด แต่อาจเป็นโพลีพลอยด์ในบางชนิด (taxa) ไม่พบนิวคลีโอล และไม่พบกระบวนการทรานสคริปชัน บริเวณเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear envelope) จะพบรูในซิลิเอตบางชนิด หรือไม่พบเลยในบางกลุ่ม มีการแบ่งเพิ่มจำนวนนิวเคลียสทั้งแบบไมโทซิสและแบบไมโอซิส มีหน้าที่สำคัญในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เช่น กระบวนการออโตแกมี (autogamy) และการคอนจูเกชัน (conjugation) (Lynn, 2008)

ค. การจับคู่กัน หรือ การคอนจูเกชัน

การคอนจูเกชัน เป็นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่พบในซิลิเอต แบคทีเรีย และสาหร่าย จากตัวอย่างที่มีการศึกษาใน *Paramecium caudatum* ซึ่งมีหนึ่งแมโครนิวเคลียส และหนึ่งไมโครนิวเคลียส พบว่าซิลิเอตสองเซลล์จะมาเข้าคู่กัน โดยจะเริ่มติดกันบริเวณปลายด้านหน้า (anterior end) หลังจากนั้นเซลล์จะประกบตัวเข้าหากันทางด้านร่องปาก (oral groove) ซิลิเลียและทริโคซิสต์ (trichocyst) ในบริเวณที่ยึดติดกันจะสลายไป และเกิดการเชื่อมกันระหว่างไซโทพลาสซึม (cytoplasmic bridge) ของทั้งสองเซลล์ (ภาพที่ 4) จากนั้นเซลล์จะมีการแบ่งไมโครนิวเคลียสแบบไมโอซิส (meiosis) โดยแต่ละเซลล์จะแบ่งดิพลอยด์ไมโครนิวเคลียส ($2n$) ออกเป็น 4 แอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียส (n) หรือโพรนิวคลีโอล (pronuclei) โดย 3 แอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียสจะสลายไป เหลือ 1 แอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียสและเกิดการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส (mitosis) อีกหนึ่งครั้ง ได้ 2 แอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียส โดยหนึ่งแอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียสจะอยู่กับที่ (stationary nucleus) ส่วนแอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียสส่วนที่สองจะเคลื่อนย้าย (migratory nucleus) การแลกเปลี่ยนแอปพลอยด์ไมโครนิวเคลียสระหว่างกันจะเกิดขึ้นที่จุดเชื่อมระหว่าง

ไซโทพลาสซึม จากนั้นไมโครนิวเคลียสที่เคลื่อนที่จะหลอมรวมเข้ากับไมโครนิวเคลียสที่อยู่กับที่ของอีกเซลล์หนึ่งเกิดเป็นซินคาริออน (syngaryon) ทำให้จำนวนชุดโครโมโซมกลับมาเป็นสองชุดเท่าเดิม หลังจากนั้นเซลล์ทั้งสองจะแยกออกจากกัน พร้อมทั้งสร้างซิเลียและทริโคซิสต์ขึ้นมาใหม่ที่บริเวณส่วนของปากเซลล์ (cytostome) และแมโครนิวเคลียสจะถูกสร้างขึ้นมาจากไมโครนิวเคลียสใหม่นี้ โดยในกระบวนการคอนจูเกชันจะทำให้สิ่งมีชีวิตมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน (genotypes) ไปจากเซลล์ตั้งต้น (Farmer, 1980) หลังจากการคอนจูเกชันแล้ว ซิลิเอตจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์เหมือนปกติ และมีการสลายแมโครนิวเคลียสอันเดิมแล้วสร้างขึ้นใหม่ภายหลัง กระบวนการคอนจูเกชันนี้ นอกจากจะทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมแล้ว ยังช่วยในการกำจัดของเสียต่าง ๆ ที่สะสมไว้ในแมโครนิวเคลียสและทำให้ได้เซลล์ใหม่ที่มีความแข็งแรง (บพิธ จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์, 2549) โดยปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดคอนจูเกชัน ได้แก่ ความสมบูรณ์ของเซลล์ (maturity) ความสมบูรณ์ของอาหาร แสง อุณหภูมิ และความเป็นพิษของสิ่งแวดล้อม (Farmer, 1980) นอกจากการคอนจูเกชันแล้ว ตามปกติซิลิเอตใช้เวลาส่วนใหญ่ในวงจรชีวิตสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยการแบ่งตัวเป็นสองส่วนเท่า ๆ กัน (binary fission) (Lynn, 2008)



ภาพที่ 4 การย้อมสีแสดงการเกิดคอนจูเกชันในพารามีเซียม โดยเซลล์ทั้งสองจะประกบติดกันในส่วนของร่องปาก [Ma แสดงแมโครนิวเคลียสรูปร่างยาวรีที่ย้อมติดสีเข้ม; Mi แสดงไมโครนิวเคลียสที่ติดสีเข้มและมีลักษณะกลมเล็ก (Brum, 1994)]

แหล่งที่อยู่อาศัยของซีเลียต

ซีเลียตสามารถดำรงชีวิตและพบได้ในทุกลักษณะที่อยู่อาศัยที่มีน้ำ ตั้งแต่ในแหล่งน้ำพุร้อนไปจนถึงธารน้ำแข็งซีเลียตมีทั้งที่ดำรงชีวิตเป็นอิสระ โดยปริโภคแบคทีเรียและโพรทิสต์ รวมทั้งซีเลียตชนิดอื่นเป็นอาหาร และที่ดำรงชีวิตเป็นปรสิตในสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น ในสัตว์และคน (Lynn, 2009) โดยแหล่งที่พบซีเลียต ได้แก่

ก. แหล่งน้ำจืด

ในแหล่งน้ำจืด ทั้งในแหล่งน้ำนิ่ง เช่น บ่อ คู สระ ทะเลสาบ ฯลฯ และแหล่งน้ำไหล เช่น แม่น้ำ ลำธารต่าง ๆ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วในแหล่งน้ำนิ่งจะมีโพรทิสต์อาศัยอยู่มากกว่าในแหล่งน้ำไหล เนื่องจากในบริเวณน้ำนิ่งจะมีการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุมาก มีแบคทีเรียซึ่งเป็นอาหารของโพรทิสต์ในปริมาณพอเหมาะ จึงพบโพรทิสต์ได้มากทั้งชนิดและปริมาณ นอกจากนี้กระแสน้ำในแหล่งน้ำไหลยังเป็นอุปสรรคในการดำรงชีพของโพรทิสต์หลายชนิด จึงพบโพรทิสต์ได้น้อยกว่า (บพิท จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์, 2549)

ข. แหล่งน้ำเค็มตามธรรมชาติ

พบในแหล่งน้ำเค็มไปจนถึงแหล่งน้ำที่เค็มจัด เช่น ในทะเลสาบเกรทซอลต์ (Great Salt Lake) ซึ่งมีรายงานว่าพบซีเลียตบางชนิด (บพิท จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์, 2529) โดยในแหล่งน้ำเค็มอาจแบ่งซีเลียตตามรูปแบบการดำรงชีวิตออกเป็น

1. ซีเลียตที่เป็นแพลงก์ตอน (planktonic ciliate) เช่น ทินทินนิต ซีเลียต (tintinnid ciliates) ซีเลียตในสกุล *Laboea*, *Tontonia* และ *Mesodinium* ฯลฯ โดยทินทินนิต จะพบเป็นจำนวนมากในแหล่งน้ำเค็ม และพบบางชนิดในแหล่งน้ำจืด ซีเลียตกลุ่มนี้มีการปรับตัวที่เข้ากับ การดำรงชีวิตในแหล่งน้ำเปิด ที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทั้งทางกายภาพและชีวภาพรวดเร็ว (Laybourn-Parry, 1992)

2. ซีเลียตที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเลตามช่องระหว่างเม็ดทราย (marine interstitial ciliate) จะมีการปรับตัวทางกายภาพทั้งขนาดและรูปร่างให้เข้ากับถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย โดยซีเลียตที่มีขนาดเล็กจะว่ายน้ำอย่างอิสระ ส่วนที่มีขนาดใหญ่มักมีลักษณะยึดยาว รูปร่างคล้ายหนอน บางชนิดอาจมีความยาวถึง 3 มิลลิเมตร และบางชนิดมีลักษณะแบนคล้ายริบบิ้น โดยสกุลที่พบเฉพาะในระบบนิเวศหาดทรายชายฝั่งทะเล ตัวอย่างเช่น *Remanella*, *Trachelonema*, *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* เป็นต้น (Carey, 1992)

ค. หน้าที่ดินที่มีความชื้น

จากรายงานทั่วโลกพบซีเลียตในดินที่มีความลึกประมาณ 5-10 เซนติเมตร มากกว่า 1,000 ชนิด คิดเป็นไฮโปทริค ซีเลียต (hypotrich) 39% จิมนอสโตมาติด (gymnostomatid) 26% และคอลโปติด (colpodid) 13% ในจำนวนนี้มีเพียงประมาณหนึ่งในสี่เท่านั้นที่เป็นชนิดที่พบเหมือนกันในแหล่งน้ำจืด (Foissner, 1998)

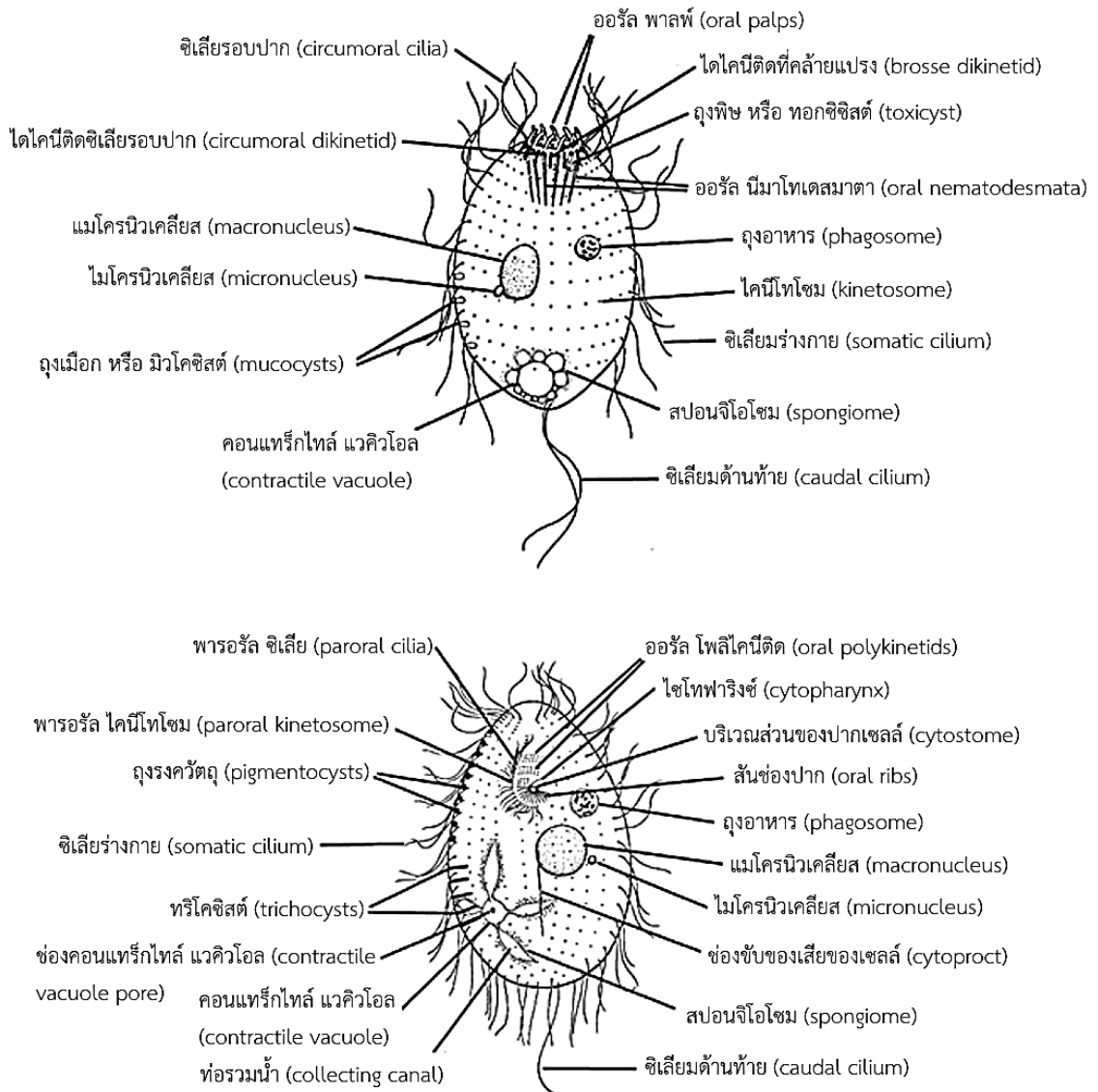
ง. อาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น

ซิติเอตที่ดำรงชีวิตอาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นพบหลายรูปแบบ มีทั้งพวกที่เป็นปรสิต (parasitism) พวกที่ดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัย (mutualism) หรือพวกอยู่อาศัยแบบเกื้อกูล (commensalism) โดยพบซิติเอตอาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็น สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ ปลา สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (บพิธ จารุพันธ์ และ นันทพร จารุพันธ์, 2529)

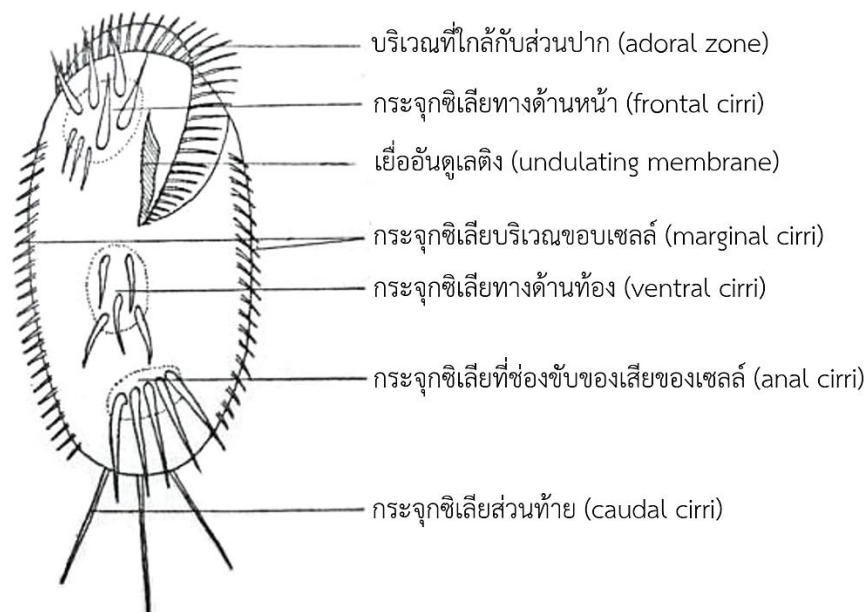
การระบุชนิดของซิติเอตโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาพบซิติเอตที่ดำรงชีวิตอิสระประมาณ 4,500 ชนิด โดยพบชื่อพ้อง (synonymy) ประมาณ 20% ขณะเดียวกันมีการคาดประมาณความหลากหลายของซิติเอตที่ยังรอการค้นพบไว้ถึง 83-89% (Foissner, Chao and Katz, 2008) ซิติเอตมีรูปร่างที่แตกต่างกันหลากหลายลักษณะ บางลักษณะในหลายสกุลหลายชนิดมีความซับซ้อนและจำเป็นต้องใช้วิธีการศึกษาที่จำเพาะ เช่น เทคนิคการย้อมด้วยโลหะเงิน (silver impregnation) หรือการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (scanning electron microscope) ดังนั้นการศึกษาแบบดั้งเดิมนิยมศึกษาตัวอย่างในขณะที่ยังมีชีวิต จึงอาจเกิดการสรุปชนิดที่ผิดพลาดได้ (Foissner, 2006) อย่างไรก็ตามในการสำรวจเซลล์ควรเริ่มต้นจากเซลล์ที่ยังมีชีวิต หากไม่สามารถทำได้ควรทำการรักษาสภาพตัวอย่างด้วยวิธีการที่เหมาะสม การศึกษาเซลล์ในขณะที่ยังมีชีวิตจะทำให้สามารถเฝ้าดูพฤติกรรมเคลื่อนที่ตามธรรมชาติและความเร็วของการว่ายน้ำได้ ส่วนลักษณะอื่น ๆ ที่สามารถสังเกตได้ เช่น ลักษณะของปาก รูปร่าง ขนาด ชนิดและขอบเขตการจัดเรียงของซิเลีย, ตำแหน่งทั่วไปของช่องปาก อาจอยู่ทางด้านหน้า หรือทางด้านท้องของเซลล์ และรายละเอียดของการจัดเรียงซิเลียในช่องปาก (ภาพที่ 5) ขณะเดียวกันลักษณะอื่น ๆ ที่อาจสามารถสำรวจได้ในเซลล์ที่มีชีวิต เช่น ชนิดของเยื่อในถุงอาหาร (food vacuole), ประเภทของอาหารสะสม, การมีเม็ดสี หรือรงควัตถุ (pigmentation), ชนิดของสิ่งมีชีวิตที่มาอาศัยรวมภายใน (endosymbiont), ชนิดและจำนวนของคอนแทร็กไทล์แวคิวโอล (contractile vacuole) ชนิด จำนวน และการกระจายตัวของเอกซทรูโซมต่าง ๆ (extrusome) เช่น มิวโคซิสต์ (mucocyst) หรือ ทอกซิซิสต์ (toxycyst) เป็นต้น โดยในปัจจุบันเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล อินเตอร์เฟอเรนซ์คอนทราสต์ของกล้องจุลทรรศน์ (differential interference contrast microscopy) มีความจำเป็นสำหรับการบรรยายลักษณะเช่นเดียวกับเทคนิคการย้อมสี (Lynn, 2008) สำหรับลักษณะของซิติเอตในกลุ่มที่ว่ายน้ำแบบอิสระมักมีรูปร่างกลมไปจนถึงรูปรี ขณะที่พวกคิบคลานจะมีลักษณะแบน โดยซิเลียมีขนาดเล็กมาก สั้น และมีการจัดเรียงเป็นแถว บางครั้งอาจลดรูป หรือรวมกลุ่มเป็นเซอร์ไร (cirri) หรือกระจุกซิเลียในบริเวณต่าง ๆ ได้แก่ กระจุกซิเลียทางด้านหน้า (frontal cirri), กระจุกซิเลียบริเวณขอบเซลล์ (marginal cirri), กระจุกซิเลียทางด้านท้อง (ventral cirri), กระจุกซิเลียที่ช่องขับของเสียของเซลล์ (anal cirri) และ กระจุกซิเลียส่วนท้าย (caudal cirri) (ภาพที่ 6) เซลล์ของซิติเอตมีขนาดตั้งแต่เล็กกว่า 10 ไมโครเมตร ไปจนถึง 2 มิลลิเมตร บริเวณไซโทพลาสซึมมีความแตกต่างและแบ่งได้เป็นสองบริเวณ คือ บริเวณเอกโตพลาสซึม (ectoplasm) และ เอนโดพลาสซึม (endoplasm) โดยบริเวณเอกโตพลาสซึมจะพบซิเลียและทริโคซิสต์ และจะถูกหุ้มด้วยเยื่อเพลลิเคิล (pellicle) ส่วนบริเวณเอนโดพลาสซึมจะพบ

นิวเคลียส ภูเขาอาหาร คอนแทร็กไทล์แวคิวโอล เม็ดสีต่าง ๆ และแร่ธาตุสะสม เช่น คริสตัล (crystal) ซิลิเอตส่วนใหญ่มีลักษณะทางด้านหน้า, ด้านท้าย, ลักษณะการกำเนิดปากเซลล์, ช่องปาก และส่วนนอกเหนือบริเวณปาก (aboral surface) ที่แตกต่างกันชัดเจน โดยในกลุ่มที่สืบคลานจะมีลักษณะทางด้านหลัง และด้านท้องของเซลล์ที่แตกต่างกัน (Kudo, 1966)



ภาพที่ 5 บน: ซิลิเอตที่มีปากทางด้านบน (prostomatous ciliate) และ ล่าง: ซิลิเอตที่มีปากอยู่ทางด้านท้อง (ventrostomatous ciliate) พร้อมการแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานในระดับชนิด (Lynn, 2008)



ภาพที่ 6 ภาพวาดทางด้านท้องของ *Stylonychia* แสดงให้เห็นการกระจายตัวของเซอร์โร หรือซิเลียแบบประกอบ (compound cilia) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ (Kudo, 1966)

โดยการศึกษาโปรโตซัวรวมทั้งซิลิเอตทั้งหมดที่ผ่านมาในประเทศไทยจะศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกและระบุชนิดเป็นหลัก อย่างไรก็ตามวิธีการศึกษาโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ เนื่องจากโปรโตซัวบางชนิดอาจมีชนิดซ่อนเร้น (cryptic species) ที่ไม่แสดงให้เห็นความแตกต่างในระดับสัณฐานวิทยาภายนอก (Katz et al., 2011; Nanney et al., 1998)

การระบุชนิดของซิลิเอตโดยอาศัยลักษณะทางอณูชีววิทยา

เมื่อเร็ว ๆ นี้มีงานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการใช้รหัสดีเอ็นเอ หรือลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตกลุ่มต่าง ๆ แนวความคิดนี้อาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยามาใช้เป็นวิธีมาตรฐาน โดยเริ่มจากการหาช่วงลำดับเบสที่มีความจำเพาะเพื่อนำมาใช้เป็นรหัสดีเอ็นเอในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต ความคิดนี้ริเริ่มและทำสำเร็จในปี ค.ศ. 2003 โดย Hebert, Cywinska และ Ball (2003) ซึ่งเลือกใช้ยีนไซโทโครม ซี ออกซิเดส ซับยูนิตวัน (cytochrome c oxidase subunit I: *cox1*) จากไมโทคอนเดรีย ซึ่งเป็นยีนสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ มาใช้เป็นรหัสดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดต่าง ๆ โดยแรกเริ่มมีวัตถุประสงค์เพียงเพื่อพัฒนาเป็นวิธีการมาตรฐานในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิตสำหรับนักวิจัยที่ไม่ได้อยู่ในสายอนุกรมวิธานโดยตรง ต่อมาในปี ค.ศ. 2004 การใช้ช่วงรหัสดีเอ็นเอที่จำเพาะเริ่มเป็นที่นิยมในวงการอนุกรมวิธานของสิ่งมีชีวิตกลุ่มต่าง ๆ เนื่องจากการจัดจำแนกและระบุชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถให้ความถูกต้องและแม่นยำในสิ่งมีชีวิตบางกลุ่มที่มีความคล้ายคลึงกันได้ เช่น หอยฝาเดียว นกในแถบอเมริกาเหนือ พืชดอก สหรัยสีแดง แพลงก์ตอนสัตว์ และครัสเตเชียน เป็นต้น หรือการใช้ประโยชน์จากรหัสดีเอ็นเอจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันที่มีลักษณะทางสัณฐาน-

วิทยาแตกต่างกันในแต่ละช่วงวัย ตัวอย่างเช่น ลูกปลา ตัวง และสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Frézal and Leblois, 2008)

สำหรับการจัดจำแนกชนิดซิวเลียต์ด้วยรหัสดีเอ็นเอนั้นได้รับความสนใจเช่นเดียวกัน เนื่องจากซิวเลียต์บางกลุ่มมีขนาดตัวที่เล็กมากและเป็นอุปสรรคต่อการจัดจำแนก ยิ่งไปกว่านั้นซิวเลียต์บางชนิดยังมีความคล้ายคลึงกันทางสัณฐานวิทยาจนยากที่จะแยกและระบุชนิดได้ด้วยสายตา ดังนั้นจึงต้องอาศัยเทคนิคและวิธีการอื่น ๆ ช่วยในการศึกษา เช่น การย้อมสี, การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และการทดสอบทางการสืบพันธุ์ โดยมีงานวิจัยหลายชิ้นที่ใช้รหัสดีเอ็นเอของยีนแตกต่างกันในการระบุชนิดของซิวเลียต์ เช่น การใช้รหัสดีเอ็นเอของยีน *cox1* ในการจัดจำแนกและระบุชนิดของซิวเลียต์สกุล *Paramecium* และ *Tetrahymena* (Barth et al., 2006; Chantangsi et al., 2007; Kher et al., 2011; Lynn and Strüder-Kypke, 2006) การใช้รหัสดีเอ็นเอจากสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (small subunit ribosomal DNA: SSU rDNA) หรือยีน 18S อาร์อาร์เอ็นเอ ในการจัดจำแนกซิวเลียต์กลุ่ม Karyorelictea (Andreoli et al., 2009) ส่วนในโพรทิสต์กลุ่มอื่น ๆ พบการใช้รหัสดีเอ็นเอในการระบุชนิดเช่นเดียวกัน เช่น การแสดงถึงประสิทธิภาพของยีน *cox1*, ยีน 5.8S และ ITS (internal transcribed spacer) ในการระบุชนิดไดอะตอม (Evans, Wortley, and Mann, 2007; Moniz and Kaczmarek, 2010) การแสดงถึงประสิทธิภาพของยีน *cox1* ในการระบุชนิดของอะมีบา (Nassonova et al., 2010) การใช้รหัสดีเอ็นเอจากลำดับของ ITS, SSU rDNA และ LSU rDNA (large subunit ribosomal DNA) หรือยีน 28S อาร์อาร์เอ็นเอในการระบุชนิดของไดโนแฟลเจลเลต (Litaker et al., 2007), แฟลเจลเลตที่พบบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเล (Chantangsi and Leander, 2010) และนาโนแฟลเจลเลต (Wylezich et al., 2010)

โดยตำแหน่งของช่วงรหัสดีเอ็นเอที่นิยมใช้ในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเซลล์เดียว ทั้งในแบคทีเรียและโพรทิสต์คือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์จากสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (Hajibabaei et al., 2007; Sogin et al., 2006) เนื่องจากยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ มีวิวัฒนาการช้าจึงสามารถแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในสิ่งมีชีวิตของยุคดั้งเดิมเช่นแบคทีเรียและโพรทิสต์ที่เริ่มกำเนิดมาในมหายุคพรีแคมเบรียน (Precambrian) (Hillis and Dixon, 1991) ขณะที่ในสัตว์นิยมใช้ยีน *cox1* ที่มีวิวัฒนาการเร็วกว่าให้สามารถแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่แยกสายวิวัฒนาการออกจากกันเมื่อไม่นานมานี้ได้ (Hebert et al., 2003) ยิ่งไปกว่านั้นบริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอของโพรคาริโอต ซึ่งประกอบไปด้วย ยีน 5S, 16S และ 23S และไรโบโซมอลดีเอ็นเอของยูคาริโอตซึ่งประกอบด้วยช่วงลำดับ ETS (external transcribed spacer), ยีน 18S, ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และ ยีน 28S ต่างมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนในสิ่งมีชีวิต ทำให้พบช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์บางช่วงที่คงความอนุรักษ์หรือมีลำดับเหมือนกันสูง ซึ่งเป็นประโยชน์ในการเปรียบเทียบความเหมือนและความต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตทุกกลุ่ม อีกทั้งมีประโยชน์ในการออกแบบไพรเมอร์สากล (universal primer) สำหรับการเพิ่มจำนวนยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจ (Chantangsi and Leander, 2010; Hillis and Dixon, 1991) นอกจากนี้ยังพบรายงานว่าความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ในสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอบางช่วงเพียงพอที่จะใช้ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดของโพรโทซัว *Blastocystis hominis* (Scicluna, Tawari, and Clark, 2006) และโพรโทซัวในกลุ่ม cercozoan (Chantangsi and Leander, 2010) ได้ ยิ่งไป

กว่านั้นการที่พบบริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอในนิวเคลียสของยูคาริโอตซึ่งมีจำนวนซ้ำตั้งแต่สองถึงสามชุด ไปจนถึงหลายร้อยและหลายพันชุดขึ้นกับชนิดของสิ่งมีชีวิต (Hillis and Dixon, 1991) ยังเป็นประโยชน์สำหรับการเพิ่มจำนวนยีนนี้อีกด้วย

อย่างไรก็ตามพบว่างานวิจัยในปัจจุบันนิยมใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการจัดจำแนกด้วยรหัสดีเอ็นเอ โดย DeSalle และคณะ ในปี 2005 เสนอว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับลักษณะทางอณูชีววิทยาจะมีประโยชน์ในการเชื่อมรอยต่อระหว่างงานอนุกรมวิธานแบบดั้งเดิมกับงานอนุกรมวิธานในระดับอณูชีววิทยาและรหัสดีเอ็นเอจะช่วยลดระยะเวลาที่นักอนุกรมวิธานแต่ละท่านต้องใช้และทุ่มเทในการศึกษาสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ช่วยเพิ่มความถูกต้องในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิตให้กับนักวิจัยนอกสายอนุกรมวิธาน ฯลฯ อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ในการต่อยอดองค์ความรู้และเพื่อเสริมศักยภาพร่วมกันในการสร้างฐานข้อมูลสากลของสิ่งมีชีวิตทั่วโลก

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิติโอตในประเทศไทย

ก. การศึกษาในแหล่งน้ำจืด

การศึกษาซิติโอตในประเทศไทยมักพบรายงานร่วมกับการศึกษาโพรโทซัวในแหล่งน้ำจืดเป็นหลัก จากการสอบสวนเอกสารผ่านฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์อิเล็กทรอนิกส์ TDC หรือ Thai Digital Collection (สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ, 2556) พบงานวิจัยกว่า 20 เรื่องที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพของโพรโทซัวและซิติโอต เริ่มต้นในปี 2523 โอภาส ศรีนวลละออง ทำการสำรวจโพรโทซัวในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้วมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในช่วงระยะเวลา 5 เดือน พบโพรโทซัวรวม 62 ชนิด เป็นซิติโอต 21 สกุล 28 ชนิด ได้แก่ *Blepharisma undulans*, *Chilodonella uncinata*, *Cinetochilum margaritaceum*, *Coleps elongatus*, *Coleps hirtus*, *Colpidium campylum*, *Cyrtolophosis mucicola*, *Dileptus anser*, *Disematostoma bütschlii*, *Euplotes eurystomus*, *Euplotes woodruffi*, *Frontonia leucas*, *Halteria grandinella*, *Litonotus fasciola*, *Loxocephalus plagius*, *Loxodes magnus*, *Oxytricha fallax*, *Paramecium aurelia*, *Paramecium bursaria*, *Paramecium caudatum*, *Spirostomum ambiguum*, *Spirostomum intermedium*, *Spirostomum minus*, *Stentor coeruleus*, *Tetrahymena pyriformis*, *Urocentrum turbo*, *Vorticella campanula* และ *Vorticella convallaria* และจากการทบทวนเอกสารพบรายงานการศึกษามากที่สุดในเขตภาคเหนือ พบจำนวนทั้งหมด 7 งานวิจัย โดยมี 5 งานวิจัยที่ทำการศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่ บริเวณอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว (โอภาส ศรีนวลละออง, 2523) อ่างเก็บน้ำอ่างแก้วและอ่างเก็บน้ำห้วยตึงเฒ่า (สุขสรรรค์ ชูบุญ, 2548) คูเมือง (เชิดพันธ์ มุรธาพันธ์, 2526) คลองแม่ข่า (อินทิรา ประจักษ์เกียรติ, 2542) ไปจนถึงในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืด (ฐิติพงศ์ รื่นระวีวัฒน์, 2527) ในจังหวัดเชียงใหม่ และมี 1 รายงานวิจัย ที่ศึกษาบริเวณนาข้าวและคูน้ำสองข้างทาง ริมถนนสายหลักของจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง แพร่ พะเยา และเชียงราย (Rojanapaibul et al., 1999) และอีก 1 งานวิจัยที่ศึกษาบริเวณแหล่งน้ำนิ่ง และแหล่งน้ำไหล ในอำเภอยางป่า และอำเภอน้ำขุ่น จังหวัดน่าน (พงษ์ หาญยุทธนากร และคณะ, 2555) ขณะเดียวกันพบการรายงาน รองลงมาในเขตภาคกลาง จำนวน 6 งานวิจัย บริเวณเขตบางเขน (จงดี ศรีนพรัตน์วัฒน์, 2530) เขตปทุมวัน (Chantangsi, 2001) และเขตรังสิต

(Sooksmarn, 1995) กรุงเทพมหานครฯ บริเวณสวนส้ม 6 แห่ง ของจังหวัดปทุมธานีและสระบุรี (ชัยวัฒน์ มั่นอก, 2547) บริเวณเขื่อนขุนด่านปราการชล จังหวัดนครนายก (Prasarnboon, Matchacheep, and Dumrongrojwattana, 2007) และบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดนนทบุรี (Polameesanaporn, 2008) และพบจำนวน 3 งานวิจัยในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บริเวณเขื่อนอุบลรัตน์ จังหวัดขอนแก่น (Wangsomnuk, Kornpan, and Proongkiat, 2003) บริเวณแม่น้ำพอง เริ่มตั้งแต่ใต้เขื่อนอุบลรัตน์ไปจนถึงฝายหนองหวายของจังหวัดขอนแก่น (พิณิจ หวังสมนึก ภูวภูณ กรพันธ์ และ สมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร, 2547) และบริเวณคลองสมถวิล จังหวัดมหาสารคาม (มนตรี ประเสริฐฤทธิ์, 2551) ส่วนงานวิจัยในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ของไทย พบภาคละ 1 รายงาน คือ 1) Matchacheep and Dumrongrojwattana (2007) ศึกษาโพรโทซัวน้ำจืดในจังหวัดชลบุรี ในช่วงปี พ.ศ. 2543-2548 พบซีลิเอต 51 สกุล 75 ชนิด จากโพรโทซัวที่พบทั้งหมด 137 ชนิด ในจำนวนนี้พบซีลิเอต 20 ชนิด ที่มีรายงานการค้นพบเป็นครั้งแรกของประเทศไทย, 2) วรณดา พิพัฒน์เจริญชัย (2544) ทำการศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์ในแหล่งน้ำจืด 7 ประเภท คือ แม่น้ำ ลำธาร อ่างเก็บน้ำ ฝายทดน้ำ หนองน้ำ บึง และนาข้าวของจังหวัดกาญจนบุรี เป็นระยะเวลาหนึ่งปี พบโพรโทซัวทั้งสิ้น 13 สกุล 21 ชนิด เป็นซีลิเอต 6 ชนิด ได้แก่ *Coleps* sp., *Didinium nasutum*, *Euplotes* sp., *Epistylis* sp., *Pyxicola affinis* และ *Vorticella* sp. และ 3) รอฮานา ดาคาเฮง, วัศสา คงนคร และ พงศ์ศักดิ์ เหล่าดี (2555) ใช้โพรโทซัวในการติดตามคุณภาพน้ำในบริเวณชุมชน พื้นที่การเกษตร บริเวณป่าต้นน้ำ ของตำบลลำพะยา จังหวัดยะลา เป็นระยะเวลา 13 เดือน เก็บตัวอย่างโดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร ผลการศึกษาพบโพรโทซัวทั้งสิ้น 53 ชนิด เป็นซีลิเอต 20 ชนิด นอกจากนี้พบ 1 งานวิจัยของ Charubhun and Charubhum (2000) ที่รายงานผลการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของโพรโทซัวน้ำจืดบริเวณจังหวัดต่าง ๆ ทั้งในเขตภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศ พบโพรโทซัวทั้งสิ้น 166 สกุล 259 ชนิด ในจำนวนนี้พบเป็นซีลิเอตกว่า 95 สกุล 134 ชนิด โดยมี 2 ชนิดที่พบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย คือ *Neobursaridium gigas* และ *Loxodes rex* ซึ่งซีลิเอตดังกล่าวมีรายงานพบเฉพาะในเขตร้อนชื้นของทวีปแอฟริกา

โดยจากการทบทวนเอกสารต่าง ๆ ข้างต้นทำให้พบซีลิเอตน้ำจืดที่มีรายงานการค้นพบในประเทศไทย ไม่น้อยกว่า 125 สกุล 203 ชนิด ดังนี้ *Acineria incurvata*, *Acineria limnetis*, *Acineria tuberosa*, *Actinobolina radians*, *Amphileptus claparedei*, *Anarma brevis*, *Aspidisca costata*, *Aspidisca lynceus*, *Balanonema biceps*, *Balantidium coli*, *Blepharisma americanum*, *Blepharisma japonicum*, *Blepharisma undulans*, *Brachonella darwini*, *Bryophyllum vorax*, *Bursaria truncatella*, *Caenomorpha medusula*, *Caenomorpha sapropelica*, *Campanella umbellaria*, *Carchesium polypinum*, *Chilodonella cucullulus*, *Chilodonella uncinata*, *Chilodontopsis vorax*, *Chilophrya utahensis*, *Cinetochilum margaritaceum*, *Climacostomum viren*, *Cohnilembus fusiformis*, *Coleps bicuspis*, *Coleps elongatus*, *Coleps hirtus*, *Coleps octaspinus*, *Colpidium campylum*, *Colpidium colpoda*, *Colpoda cucullus*, *Condyllostoma arenarium*, *Conchophthirus anoclontae*, *Cothurnia annulata*,

Cothurnia variabilis, *Cranotheridium taeniatum*, *Cristigera phoenix*, *Cryptopharynx setigerus*, *Cyclidium glaucoma*, *Cyclidium litomesum*, *Cyclogramma trichocystis*, *Cyrtolophosis mucicola*, *Didinium baldianii*, *Didinium nasutum*, *Dileptus anser*, *Disematostoma bütschlii*, *Drepanomonas dentata*, *Enchelydium* sp., *Endosphaera engelmannii*, *Epalxella mirabilis*, *Epistylis cambari*, *Epistylis chrysemedis*, *Epistylis niagarae*, *Epistylis plicatilis*, *Erastophrya chattoni*, *Euplotes aberrana*, *Euplotes aediculatus*, *Euplotes eury stomus*, *Euplotes patella*, *Euplotes woodruffi*, *Frontonia leucas*, *Frontoniella complanata*, *Gastrostyla muscorum*, *Gastrotricha* sp., *Glaucoma scintillans*, *Gonostomum strenuum*, *Glossatella* sp., *Hallezia brachypoda*, *Halteria grandinella*, *Hastatella aesculacantha*, *Hastatella radians*, *Holophrya simplex*, *Holostricha hymenophora*, *Holosticha vernalis*, *Homalozoon vermiculare*, *Hypophrya* sp., *Hypotrichidium conicum*, *Ichthyophthirius* sp., *Kahlia acrobates*, *Kentrophoros fasciolatum*, *Kerona polyporum*, *Lacrymaria coronata*, *Lacrymaria magnus*, *Lacrymaria olor*, *Lagenophrys nassa*, *Leptopharynx* sp., *Leucophrys patula*, *Litonotus fasciola*, *Litonotus lamella*, *Loxocephalus plagius*, *Loxodes magnus*, *Loxodes rex*, *Loxodes rostrum*, *Loxodes striata*, *Loxodes vorex*, *Loxophyllum helus*, *Mesodinium acarus*, *Mesodinium rubrum*, *Metacineta mystacina*, *Metopus es*, *Metopus fuscus*, *Metopus striatus*, *Multifasciculatum elegans*, *Nassula aurea*, *Nassula ornata*, *Neobursaridium gigas*, *Nyctotherus cordiformis*, *Onychodromopsis flexilis*, *Onychodromus grandis*, *Opercularia* sp., *Oxytricha bifaria*, *Oxytricha fallax*, *Oxytricha setigera*, *Paradileptus caducus*, *Paradileptus elephantinus*, *Paraholotricha herbicola*, *Paramecium aurelia*, *Paramecium bursaria*, *Paramecium caudatum*, *Paramecium multimicronucleatum*, *Paramecium trichium*, *Periacineta buckei*, *Plagiocampa* sp., *Plagiopyla minuta*, *Plagiopyla nasuta*, *Platycola longicollis*, *Pleuronema coronatum*, *Pleuronema lanceolata*, *Podophrya collini*, *Podophrya fixa*, *Prorodon discolor*, *Prorodon griseus*, *Pseudoblepharisma tenuis*, *Psilotricha acuminata*, *Pyxicola affinis*, *Pyxidium urceolatum*, *Radiophryoides komareki*, *Saprophilus muscorum*, *Scaphidiodon navicula*, *Scyphidia amphibiarum*, *Spathidioides sulcata*, *Spathidium spathula*, *Sphaerophrya magna*, *Sphaerophrya soliformis*, *Spirostomum ambiguum*, *Spirostomum intermedium*, *Spirostomum minus*, *Spirostomum teres*, *Stentor coeruleus*, *Stentor igneus*, *Stentor mülleri*, *Stentor mytilus*, *Stentor polymorphus*, *Stentor roeseli*, *Stichotricha intermedia*, *Stichotricha aculeata*, *Stichotricha secunda*, *Strobilidium caudatum*, *Strombidium turbo*, *Stylonychia complanatus*, *Stylonychia mytilus*, *Stylonychia pustulata*, *Tetrahymena geleii*, *Tetrahymena pyriformis*, *Thecacinetia calix*, *Thuricola folliculata*, *Thuricola kellicottiana*, *Tillina magna*, *Tintinnopsis campanula*, *Tintinnus fraknoi*, *Tokophrya beetoni*, *Tokophrya cyclosum*,

Tokophrya infusionum, *Tokophrya lemnarum*, *Tokophrya quadripartita*, *Trachelius ovum*, *Trachelophyllum clavatum*, *Trichodina pediculus*, *Trichodinella* sp., *Trichophrya columbiae*, *Trichophrya epistylidis*, *Urceolaria mitra*, *Urocentrum turbo*, *Uroleptus halseyi*, *Uroleptus piscis*, *Uroleptus limnetes*, *Uroleptus longicaudatus*, *Uronema griseolum*, *Uronema marinum*, *Urosoma acuminata*, *Urosoma caudata*, *Vaginicola amphora*, *Vaginicola annulata*, *Vaginicola leptosoma*, *Vorticella campanula*, *Vorticella convallaria*, *Vorticella microstoma*, *Vorticella monilata*, *Vorticella picta* และ *Zoothamnium arbuscula* โดยในจำนวนนี้มีซิเลียต 6 ชนิด คือ *Chilodonella cucullus*, *Paramecium caudatum*, *Podophrya fixa*, *Stentor coeruleus*, *Stentor polymorphus*, *Vorticella campanula* ที่พบการรายงานทั้งในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ข. การศึกษาในแหล่งน้ำเค็ม

การศึกษาซิเลียตที่พบในแหล่งน้ำเค็มของประเทศไทย พบรายวิจัย 4 ฉบับ โดยงานวิจัยทั้งหมดทำการศึกษาในจังหวัดชลบุรี เริ่มต้นในปี 2548 ชนวิวัฒน์ ตันติวรานูรักษ์ ทำการสำรวจซิเลียตบริเวณชายฝั่งทะเลของจังหวัดชลบุรี จำนวน 6 จุดสำรวจ ใน 4 อำเภอ คือ อำเภอเมือง, ศรีราชา, บางละมุง และสัตหีบ เป็นระยะเวลา 1 ปี พบซิเลียตทั้งสิ้น 16 สกุล ได้แก่ *Amphileptus*, *Chilodontopsis*, *Chilodonella*, *Condyllostoma*, *Cristigera*, *Euplotes*, *Keronopsis*, *Loxophyllum*, *Oxytricha*, *Paramecium*, *Pleuronema*, *Spathidiopsis*, *Stentor*, *Uroleptus*, *Vorticella* และ *Zoothamnium* โดยทำการระบุชนิดได้ 2 ชนิด คือ *Chilodontopsis hisioensis* และ *Oxytricha marina* ส่วนสกุลที่พบมากชนิดที่สุด คือ *Loxophyllum* ซึ่งคาดว่าน่าจะมีถึง 4 ชนิด และพบว่าบริเวณแหล่งชุมชน ที่สภาพพื้นที่ตื้นน้ำเป็นโคลนปนทราย มีการทำประมง และมีการทิ้งขยะและสิ่งปฏิกูลลงในแหล่งน้ำ พบความหลากหลายของซิเลียตจำนวนมาก ซึ่งต่างจากบริเวณสภาพธรรมชาติที่เป็นหาดทราย คุณภาพของน้ำค่อนข้างดี น้ำใสสะอาด ที่พบความหลากหลายของโพรโทซัวน้อยกว่า ขณะเดียวกันตัวอย่างน้ำจากบริเวณใกล้ท่อน้ำทิ้งของชุมชน ที่มีน้ำไหลตลอดเวลา ก็พบความหลากหลายของซิเลียตค่อนข้างสูงเช่นเดียวกัน จากการทบทวนเอกสารพบว่า การสำรวจนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกเกี่ยวกับซิเลียตทะเลที่พบในประเทศไทย ต่อมาในปี 2552 จิตรรา ตีระเมธี ทำการศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนทะเลบริเวณหาดนางรอง และหมู่เกาะจวง จังหวัดชลบุรี เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 125 ไมโครเมตร เป็นระยะเวลา 1 ปี จากแพลงก์ตอนสัตว์ทั้งสิ้น 32 สกุล ไม่น้อยกว่า 48 ชนิด พบซิเลียตที่เป็นแพลงก์ตอนทะเล 5 สกุล 7 ชนิด ได้แก่ *Amphorella borealis*, *Codoneliopsis ostenfeldii*, *Favella* sp., *Tintinnopsis gracilis*, *Tintinnopsis radix*, *Tintinnopsis* sp. และ *Vorticella oceanica* ในจำนวนนี้มีเพียงสกุล *Vorticella* เท่านั้น ที่เคยพบรายงานก่อนหน้านี้ในการศึกษาของชนวิวัฒน์ ตันติวรานูรักษ์ (2548) ถัดมาในปี 2554 สุชา และคณะ รายงานผลการศึกษาความหลากหลายและการกระจายตัวของโพรทิสต์น้ำเค็มที่อาศัยอยู่ในช่องระหว่างเม็ดทราย บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ด้วยวิธีสกัดไล่ด้วยน้ำแข็ง พบโพรทิสต์ทั้งสิ้น 23 สกุล 71 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นซิเลียต 6 สกุล ซึ่งทำ

การระบุชนิดได้ 1 ชนิด คือ *Mesodinium pulex* โดยเมื่อเปรียบเทียบกับ 2 งานวิจัยก่อนหน้านี้ในแหล่งน้ำเค็ม พบซิเลียเอตที่มีรายงานเพิ่มขึ้นจำนวน 5 สกุล ได้แก่ *Aspidisca*, *Coleps*, *Mesodinium*, *Peritromus* และ *Uronychia* ส่วนที่เหลือเป็นซิเลียเอตในสกุล *Euplotes* โพรโทซัวในกลุ่มอะมีบา และแฟลเจลเลต รวมทั้งสาหร่ายขนาดเล็กในกลุ่มไดอะตอม โดยจากการทบทวนเอกสารพบว่า งานศึกษานี้เป็นรายงานครั้งแรกเกี่ยวกับซิเลียเอตที่พบบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเลของประเทศไทย และในปีเดียวกัน ทศนธร ภูมิยุทธ์ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล (2554) รายงานผลการศึกษาแพลงก์ตอนบริเวณป่าชายเลนปลูกและชายฝั่งทะเลของเกาะเสม็ด จังหวัดชลบุรี โดยใช้วิธีดักกรอง และใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร พบความแตกต่างของแพลงก์ตอนสัตว์ในสองพื้นที่ โดยพบความหนาแน่นเฉลี่ยของแพลงก์ตอนสัตว์ในป่าชายเลนปลูกมากกว่าในชายฝั่งทะเล คือ 3,707.80 และ 281.20 หน่วย/ลิตร ตามลำดับ และพบซิเลียเอต 2 สกุลที่มีรายงานเพิ่มขึ้นจากการศึกษาก่อนหน้านี้ คือ *Pyxicola* และ *Steenstrupiella* ส่วนซิเลียเอตในสกุล *Tintinnopsis* เป็นกลุ่มเด่นที่พบในป่าชายเลน และจากการศึกษาทั้ง 4 รายงานที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้พบซิเลียเอตในแหล่งน้ำเค็มของจังหวัดชลบุรี ทั้งสิ้น 28 สกุล

นอกจากนี้ยังพบรายงานวิจัยในแหล่งน้ำกร่อย จำนวน 1 ฉบับ โดย ศิริมาศ สุขประเสริฐ (2549) ทำการศึกษาองค์ประกอบและความชุกชุมของแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มโพรโทซัว บริเวณแหล่งน้ำกร่อย ของปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ในระยะเวลา 9 เดือน พบซิเลียเอตจำนวน 32 สกุล จากโพรโทซัวทั้งสิ้น 62 สกุล และในจำนวนนี้มีซิเลียเอต 6 สกุลที่พบรายงานเหมือนกันทั้งในแหล่งน้ำเค็มและแหล่งน้ำกร่อย คือ *Favella*, *Mesodinium*, *Paramecium*, *Pleuronema*, *Tintinnopsis* และ *Vorticella* โดยสัดส่วนความชุกชุมของซิเลียเอตในกลุ่มนาโนแพลงก์ตอน และไมโครแพลงก์ตอน คิดเป็นร้อยละ 45 และ สูงกว่าร้อยละ 78 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มไมโครแพลงก์ตอนพบซิเลียเอต Tintinnids เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งบริเวณปากแม่น้ำมีความชุกชุมของซิเลียเอตและอะมีบาสูงกว่าในทะเล ซึ่งตรงข้ามกับความชุกชุมของไดโนแฟลเจลเลตที่พบความชุกชุมในทะเลสูงกว่าบริเวณปากแม่น้ำ

ค. สรุปภาพรวมและการต่อยอดองค์ความรู้

จากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมา แสดงให้เห็นว่าในประเทศไทยยังขาดแคลนการศึกษาซิเลียเอตที่พบในแหล่งน้ำเค็ม โดยงานวิจัยส่วนใหญ่ได้ศึกษาในแหล่งน้ำจืด ซึ่งพบว่ามีรายงานในทุกภาคของประเทศไทย และมีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่ทำการศึกษาในแหล่งน้ำเค็ม ขณะเดียวกันข้อมูลซิเลียเอตน้ำเค็มที่พบ ก็มีรายงานอยู่เฉพาะในจังหวัดชลบุรีเท่านั้น จากข้อมูลการศึกษาในจังหวัดชลบุรี เมื่อทำการเปรียบเทียบจำนวนซิเลียเอตในระดับสกุลหรือในระดับชนิด พบว่ายังมีจำนวนสกุลและชนิดน้อยกว่าในแหล่งน้ำจืดหลายเท่า โดยการศึกษาซิเลียเอตในแหล่งน้ำจืดของจังหวัดชลบุรี พบซิเลียเอตจำนวน 51 สกุล 75 ชนิด (Matchacheep and Dumrongrojwattana, 2007) ขณะที่ในแหล่งน้ำเค็มพบจำนวน 16 สกุล (ชนวัฒน์ ตันติวรานุกฤษ, 2548) และ 15 ชนิด (สุชา เฉยศิริ และคณะ, 2554)

จากข้อมูลการศึกษาวิจัยดังที่กล่าวมา ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะจัดจำแนกกลุ่มและระบุชนิดของซิเลียเอตโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลทางอนุชีววิทยา พร้อมทั้งหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดซิเลียเอต โดยเลือกศึกษาในบริเวณหาดทรายชายฝั่งทะเล

ของหาดลูกกลมของเกาะเสมสาร จังหวัดชลบุรี เพื่อเสริมข้อมูลซีลีเอตน้ำเค็มที่มีอยู่เดิม และเพื่อเป็นส่วนหนึ่งในการเติมเต็มช่องว่างการศึกษาซีลีเอตในประเทศไทยที่ก่อนหน้านี้พบรายงานส่วนใหญ่เฉพาะในแหล่งน้ำจืด

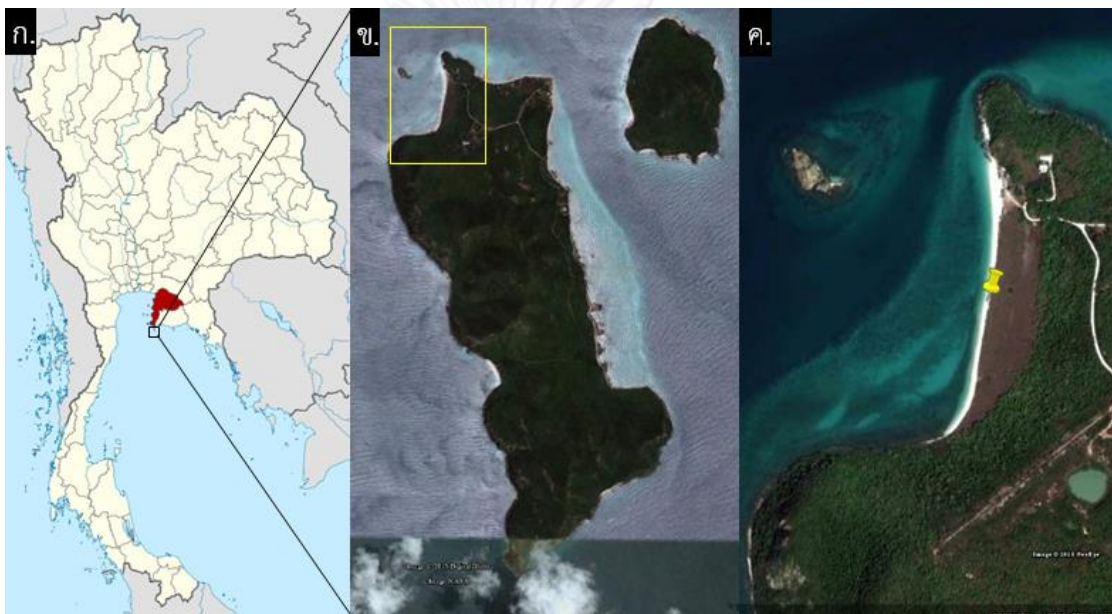


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่ศึกษา

พื้นที่เก็บตัวอย่างคือ บริเวณหาดลูกกลม เกาะเสมสาร ตำบลเสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยหาดลูกกลมเป็นหาดทรายที่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ตำแหน่งที่ตั้งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง ก. แผนที่ประเทศไทย บริเวณสีเข้ม แสดงที่ตั้งของจังหวัดชลบุรี และในกรอบสี่เหลี่ยมแสดงตำแหน่งของเกาะเสมสาร (Wikipedia, 2013: online) ข. ภาพถ่ายทางอากาศของเกาะเสมสาร โดยในกรอบสี่เหลี่ยมแสดงภาพหาดลูกกลมซึ่งตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะ และ ค. หมุดแสดงตำแหน่งของหาดลูกกลม ในพิกัด 47P 711450 และ UTM 1391904; ภาพ ข. และ ค. ที่มา (Google Inc., 2013: online)

วิธีดำเนินการศึกษา

ก. การปฏิบัติงานในภาคสนาม

เก็บตัวอย่างทรายชายฝั่งทะเลทุก ๆ 2 เดือน จนครบระยะเวลาหนึ่งปี การเก็บตัวอย่างเริ่มต้นด้วยการสังเกตและบันทึก ลักษณะ สี และตำแหน่งของทราย (ภาพที่ 8) เก็บตัวอย่างทรายที่ยังมีความชื้นหรือน้ำทะเลท่วมถึงที่ระดับความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร จากบริเวณจุดที่น้ำลงต่ำสุดในช่วงเวลากลางวัน เก็บทรายแบบสุ่มตามแนวยาวของหาดด้วยช้อนพรวน และบรรจุทรายลงในกล่องพลาสติกปริมาตร 750 มิลลิลิตร จำนวน 12 กล่อง ต่อการเก็บตัวอย่างในแต่ละครั้ง (ภาพที่ 9) และเก็บตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณพื้นที่ศึกษาครั้งละ 5-10 ลิตร เพื่อใช้ในการสกัดและเพาะเลี้ยงซิลิเกต



ภาพที่ 8 ลักษณะโดยทั่วไปของหาดลูกกลม ซึ่งเป็นหาดทรายสีขาว วางตัวในทิศเหนือใต้ โดยสัญลักษณ์ N มุมบนขวามือแทนทิศเหนือ (Google Inc., 2013) จากการศึกษาพบว่าทรายส่วนใหญ่ในบริเวณหาดมีสีขาวเนื้อละเอียด (ก) ส่วนทรายที่พบบริเวณทิศใต้ของหาดเป็นทรายเนื้อหยาบปนหินและก้อนกรวดขนาดต่าง ๆ (ข)



ภาพที่ 9 แสดงการเก็บตัวอย่างทรายด้วยช้อนพรวน โดยบรรจุทรายลงในกล่องพลาสติก จำนวน 12 กล่องต่อการเก็บตัวอย่างหนึ่งครั้ง และภาพหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

โดยการเก็บตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 2 ช่วงเวลา คือ

1. ช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเพื่อวางแผนงานวิจัยและประเมินความหลากหลายเบื้องต้นของโปรทิสต์กลุ่มต่าง ๆ รวมทั้งซิลิเอต บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี

ครั้งที่ 1 วันที่ 24 มีนาคม พ.ศ. 2554

ครั้งที่ 2 วันที่ 21 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

2. ช่วงเก็บตัวอย่างจริง

การเก็บตัวอย่างเพื่อทำการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและระบุชนิดของซิลิเอต โดยอาศัยข้อมูลทางสัณฐานวิทยา และอนุชีววิทยาด้วยรหัสดีเอ็นเอ พร้อมทั้งหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการระบุชนิดซิลิเอตชายฝั่งทะเล บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่างทรายจำนวน 5 ครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1 วันที่ 10 กันยายน พ.ศ. 2554

ครั้งที่ 2 วันที่ 21 มกราคม พ.ศ. 2555

ครั้งที่ 3 วันที่ 28 มีนาคม พ.ศ. 2555

ครั้งที่ 4 วันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2555

ครั้งที่ 5 วันที่ 21 กรกฎาคม พ.ศ. 2555

ข. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

การเตรียมตัวอย่าง โดยสกัดแยกตัวอย่างซิลิเกตออกจากทรายชายฝั่งทะเลด้วยน้ำแข็งตามวิธีของ Uhlig (1964) เริ่มต้นด้วยการใส่ทรายตัวอย่างลงชุดอุปกรณ์สกัดที่ประกอบด้วยกระบอกลพลาสติกปลายเปิดหรือกระบอกลน้ำพลาสติกซึ่งหุ้มปลายด้านล่างด้วยผ้าตาข่ายขนาดตา 60 ไมครอน และวางจานเพาะเชื้อที่บรรจุน้ำทะเลกรองไว้ใต้กระบอกลพลาสติกบริเวณที่ติดกับผ้าตาข่าย โดยวางชุดอุปกรณ์สกัดไว้บนถาดรองรับน้ำ จากนั้นใส่น้ำแข็งที่ทำจากน้ำทะเลกรองปริมาตรหนึ่งในสองของทรายตัวอย่าง วางน้ำแข็งให้ครอบคลุมผิวหน้าด้านบนของทรายตัวอย่างภายในกระบอกล ทิ้งไว้จนน้ำแข็งละลาย โพรทิสต์ชนิดต่าง ๆ รวมทั้งซิลิเกตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทรายจะเคลื่อนที่ลงมาสะสมในน้ำทะเลกรองภายในจานเพาะเชื้อ จากนั้นจึงทำการศึกษาตัวอย่างที่สกัดได้ในขั้นต่อไป (ภาพที่ 10) สำหรับการคัดแยกจะเริ่มต้นในวันแรกที่ทำกรเก็บตัวอย่าง โดยสกัดตัวอย่างทรายพร้อมกันทั้ง 12 กล่อง ด้วยชุดอุปกรณ์สกัด 12 ชุด ซึ่งทรายหนึ่งกล่องสามารถแบ่งการสกัดได้เป็น 4-5 ครั้ง และควรทำการสกัดตัวอย่างทั้งหมดภายในสัปดาห์แรกหลังจากการเก็บตัวอย่าง สำหรับกรณีที่พบตัวอย่างซิลิเกตจำนวนน้อยจะนำทรายที่สกัดแล้วมาคัดแยกซ้ำอีกครั้งตามวิธีเดิม

โดยน้ำทะเลตัวอย่างบริเวณหาดลูกกลม ซึ่งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะแสมสารมีค่าความเค็ม (salinity) ตามธรรมชาติอยู่ในช่วง 29.0-32.0 ppt และมีค่ามาตรฐานอยู่ในช่วง 29-35 ppt ตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลประเภทที่ 2 (คุณภาพน้ำทะเลเพื่อการอนุรักษ์แหล่งปะการัง) ตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 27 (กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2549)



ภาพที่ 10 การเตรียมตัวอย่าง โดยการสกัดแยกซิลิเอตออกจากทรายชายฝั่งทะเลด้วยน้ำแข็งตามวิธีของ Uhlig (1964)

1. การระบุชนิดของซิลิเอต โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ก. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบแบบใช้แสง Olympus รุ่น BH-2 และแบบเลนส์ประกอบหัวกลับ ZEISS รุ่น Observer.A1 ที่ต่อกับกล้องถ่ายภาพ Canon รุ่น EOS 7D ด้วยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลอินเตอร์เฟอเรนซ์คอนทราสต์ (differential interference contrast light microscopy: DIC) โดยทำการแยกเซลล์ซิลิเอตที่สกัดได้ด้วยปิเปตต์แก้วปลายแหลม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบหัวกลับ (inverted compound microscope) หยดน้ำตัวอย่างพร้อมเซลล์ที่แยกได้ลงบนสไลด์และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พร้อมบันทึกภาพนิ่ง ภาพเคลื่อนไหว และวัดขนาดของตัวอย่างที่พบ สำหรับการวัดขนาดตัวอย่างมี 2 วิธี คือ 1) การเปรียบเทียบรูปภาพ โดยตรง ระหว่างภาพถ่ายของซิลิเอตกับภาพถ่ายของอุปกรณ์วัดขนาด stage micrometer ที่กำลังขยายเดียวกัน และ 2) การใช้โปรแกรมวัดขนาด AxioVision LE (©ZEISS) และในบางกรณีที่ต้องมีการย้อมสีเพื่อสังเกตลักษณะของนิวเคลียส จะใช้สีย้อม neutral red ที่ความเข้มข้น 1% โดยใช้สีย้อมในอัตราส่วน 0.2-1 ไมโครลิตร ต่อหนึ่งหยดน้ำตัวอย่างจากปิเปตต์แก้ว

ข. ระบุชนิดและจัดจำแนกกลุ่มของซิลิเอต ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามหนังสือ Marine Interstitial Ciliates (Carey, 1992) และ The Ciliated Protozoa (Lynn, 2008) รวมทั้งเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ในกรณีที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ถึงระดับชนิดจะทำการระบุเป็นระดับสกุลหรือกลุ่ม

2. การระบุชนิดของซิลิเกต โดยอาศัยลักษณะทางอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอ

ก. ทดลองเพาะเลี้ยงซิลิเกตน้ำเค็มบางชนิดที่พบ ด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ f/2-silica (Guillard and Ryther, 1962) ซึ่งมีน้ำตาลและวิตามินเป็นองค์ประกอบ ตามวิธีดังนี้

(1) เติมน้ำอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ f/2-silica ลงจานเพาะเลี้ยงแบบ 24 หลุม หลุมละ 1 มิลลิลิตร

(2) ใส่ทรายตัวอย่างที่เก็บมาจากภาคสนามประมาณเม็ดถั่วเขียว ลงในจานเพาะเลี้ยงแต่ละหลุม ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่

(3) เติมนิยัติน้ำที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อปริมาณเล็กน้อย ลงไปในแต่ละหลุม ปิดฝาและพันรอบฝาด้วยพาราฟิล์ม เพื่อป้องกันการระเหยของอาหารเพาะเลี้ยง ตั้งจานเพาะเลี้ยงไว้ในอุณหภูมิห้อง

(4) ติดตามการเพิ่มจำนวนของซิลิเกตเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ หากพบซิลิเกตชนิดใดเพิ่มจำนวนมากขึ้น จะทำการแยกเซลล์ซิลิเกตชนิดนั้นโดยใช้ปิเปตต์แก้วที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อดูดตัวอย่างใส่ลงในสไลด์หลุมที่ผ่านการเช็ดฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% แล้ว

(5) แยกเซลล์ซิลิเกตที่สนใจให้บริสุทธิ์ (single cell isolation) โดยใช้ปิเปตต์แก้วที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อและผ่านการลนไฟเพื่อดึ่งปลายให้เล็กลง ดูดเซลล์ที่ต้องการจากสไลด์หลุม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบหัวกลับ

(6) ใช้ปิเปตต์แก้วที่ปราศจากเชื้อ หยดน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและการอบฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 2-3 หยด ลงบนสไลด์หลุมที่ผ่านการเช็ดฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% โดยน้ำทะเลที่ใช้มีค่าความเค็มตามธรรมชาติอยู่ในช่วง 29.0-32.0 ppt

(7) ย้ายเซลล์ซิลิเกตที่ต้องการ ลงในหยดน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว จาก (6) เพื่อล้างทำความสะอาดเซลล์

(8) ล้างเซลล์ซ้ำอีกครั้งในน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อหยดถัดไปบนสไลด์หลุม หรือล้างคัดแยกเซลล์จนกว่าจะแน่ใจว่าไม่มีเซลล์ชนิดอื่นปะปนอยู่

(9) ย้ายเซลล์เดี่ยว ๆ ที่สะอาดแล้ว ลงในจานเพาะเลี้ยงแบบ 96 หลุม จากนั้นตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบหัวกลับให้แน่ใจว่ามีเซลล์ที่ต้องการเพียงเซลล์เดียว

(10) เติมน้ำอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ f/2-silica ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตามลงไปหลุมที่มีเซลล์ที่ต้องการ และเติมนิยัติน้ำที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วลงไปเล็กน้อย

(11) ปิดฝา และพันพาราฟิล์มปิดจานเพาะเลี้ยง เพื่อป้องกันการระเหยของอาหารเลี้ยงเซลล์ เก็บจานเพาะเลี้ยงไว้ในอุณหภูมิห้อง บันทึกข้อมูลที่สำคัญ เช่น ชนิดของเซลล์ วันและเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง วันและเวลาที่ทำการแยก เป็นต้น

(12) ติดตามการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่แยกไว้ทุก ๆ วัน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบหัวกลับ เมื่อพบว่าเซลล์เพิ่มจำนวนหนาแน่นขึ้นจนเห็นได้ชัด ให้ทำการย้ายเซลล์

ลงในจานเพาะเลี้ยงแบบ 24 หลุม โดยใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดเซลล์ตั้งต้นจากจานเพาะเลี้ยงแบบ 96 หลุม มา 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในจานแบบ 24 หลุม ซึ่งมีน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร อยู่

(13) เติมนิวเคลียสที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อตามลงไปเล็กน้อย จากนั้นปิดฝาและพันปิดด้วยพาราฟิล์ม พร้อมบันทึกชื่อตัวอย่าง วันและเวลาที่ทำการแยกเซลล์

(14) ติดตามการเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยเมื่อพบว่าเซลล์เพิ่มจำนวนขึ้นจนหนาแน่น ให้ทำการย้ายเซลล์ลงในหลอดทดลองแบบฝาเกลียว โดยใช้ปิเปตต์แก้วดูดเซลล์ตั้งต้นจากจานเพาะเลี้ยงแบบ 24 หลุม มาประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วชนิดฝาเกลียว ที่บรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 2 ใน 3 ของตัวหลอด โดยทุกครั้งที่มีการเปิดหรือปิดหลอด จะต้องมีการฆ่าเชื้อบริเวณปากหลอดด้วยการผ่านเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์

(15) เติมนิวเคลียสที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อลงไปเล็กน้อย พร้อมบันทึกชื่อตัวอย่าง วันและเวลาที่ทำการแยกเซลล์

(16) ติดตามการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างสม่ำเสมอ เมื่อพบว่าเซลล์เริ่มมีปริมาณหนาแน่นเกินไป หรือมีปริมาณลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัด ให้ทำการเปลี่ยนถ่ายเซลล์จากหลอดตั้งต้นลงในหลอดใหม่ โดยใช้ปิเปตต์แก้วดูดเซลล์จากหลอดตั้งต้น มาประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดใหม่ซึ่งบรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว ทำซ้ำในข้อ (14), (15) และ (16) เพื่อเก็บรักษาเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงได้ โดยเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ จะถูกนำไปใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอต่อไป

ข. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างซิลิเกต ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ MasterPure™ Complete DNA & RNA Purification Kit (EPICENTRE Mandison, WI, USA, Cat. No. MC85200) เริ่มต้นด้วยการคัดแยกเซลล์ซิลิเกต ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบหัวกลับ โดยใช้ปิเปตต์แก้วที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อและลนไฟเพื่อดึ่งปลายให้เล็กลงแล้ว โดยในกรณีที่ยังไม่สามารถระบุชนิดซิลิเกตได้แน่นอน ให้ทำการแยกเซลล์ซิลิเกตที่พบเป็นเซลล์ ๆ เพื่อทำการสกัดดีเอ็นเอ (single cell extraction) ส่วนในกรณีที่สามารถระบุชนิดได้แน่นอนแล้ว ให้ทำการคัดแยกและรวบรวมตัวอย่างซิลิเกตชนิดเดียวกันไว้ด้วยกัน โดยเริ่มต้นสกัดดีเอ็นเอตามขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

(1) ล้างเซลล์ที่ต้องการสกัดดีเอ็นเอ ด้วยน้ำทะเลที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 2 ครั้ง

(2) ดูดเซลล์ที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้ว ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวท์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อและบรรจุสารละลาย 2X Tissue and Cell Lysis ปริมาตร 150 ไมโครลิตร

(3) ปรับปริมาตรสารละลาย 2X Tissue and Cell Lysis ให้เป็น 1 เท่า ด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 300 ไมโครลิตร

(4) เติมนิวเคลียส proteinase K ความเข้มข้น 50 µg/µl ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในหลอด จากนั้นผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่า (vortex mixer)

(5) วางหลอดไมโครเซ็นทรีฟิว์ลงในเครื่องให้ความร้อน (heat block) ที่ตั้ง อุณหภูมิไว้ที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยทำการเขย่าทุก ๆ 10 นาที

(6) หลังจากครบ 30 นาที ย้ายหลอดไมโครเซ็นทรีฟิว์แล้วลงบนน้ำแข็ง เป็นเวลา 5 นาที

(7) เติมสารละลาย MPC Protein Precipitation ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสม ให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่า โดยเขย่าต่อเนื่องกันเป็นเวลาอย่างน้อย 10 วินาที

(8) นำหลอดไมโครเซ็นทรีฟิว์ที่มีตัวอย่าง ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,600 g ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

(9) ดูดส่วนน้ำใสด้านบน ถ้ายกลงในหลอดไมโครเซ็นทรีฟิว์หลอดใหม่ โดยใช้ ปิเปตต์อัตโนมัติ ที่หลอดเก่าที่มีตะกอนก้นหลอด

(10) เติมสารละลาย isopropanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอด จากนั้น ปิดฝาและทำการกลับหลอดไมโครเซ็นทรีฟิว์ขึ้นลง 30-40 ครั้ง

(11) นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,600 g ที่อุณหภูมิ 4 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนน้ำใสทิ้ง เก็บส่วนตะกอนดีเอ็นเอที่ก้นหลอดไว้

(12) ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 75% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นดูดเอทานอลทิ้งโดยใช้ปิเปตต์อัตโนมัติ เก็บส่วนตะกอนสีขาวไว้ ล้างตะกอน ดีเอ็นเอซ้ำอีกครั้งตามวิธีข้างต้น จากนั้นทำการระเหยแอลกอฮอล์ออกจากตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย เครื่องให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

(13) เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ปริมาตร 15 ไมโครลิตร จากนั้นใช้ปิเปตต์ อัตโนมัติดูดสารละลายขึ้นลงเพื่อละลายตะกอนดีเอ็นเอ

(14) เก็บรักษาสารละลายดีเอ็นเอในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่า จะใช้ในการทำปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไป

ในกรณีที่สามารถทำการเพาะทำเลี้ยงเซลล์ได้ จะทำการสกัดดีเอ็นเอ ดังนี้

(1) ดูดเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในหลอดทดลองฝาเกลียวมาประมาณ 1 มิลลิลิตร ด้วย ปิเปตต์แก้วที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นย้ายลงในหลอดไมโครเซ็นทรีฟิว์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

(2) ทำการตกตะกอนเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็วที่เหมาะสม เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดหรือเทส่วนอาหารเพาะเลี้ยงด้านบนทิ้ง เติมสารละลาย 2X Tissue and Cell Lysis ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในตะกอนเซลล์ และทำการสกัดดีเอ็นเอตามขั้นตอนในข้อ ข. (3) - (15)

ค. เพิ่มจำนวนยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการระบุชนิดซิลิเกตที่ศึกษา โดยยีนและช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจศึกษา คือบริเวณไรโบโซมอล ดีเอ็นเอ (ribosomal DNA: rDNA) ที่ประกอบด้วย ยีน 18S หรือสมอลซับยูนิต (small subunit ribosomal DNA: SSU), ช่วงลำดับ ITS1 (internal transcribed spacer 1), ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 (internal transcribed spacer 2) และส่วนต้นของยีน 28S หรือลาร์จซับยูนิต (large subunit

ribosomal DNA: LSU) ตามลำดับ (ภาพที่ 11) โดยช่วงผลิตภัณฑ์ดังกล่าว มีขนาดตั้งแต่ 2,900-3,600 คู่เบส ขึ้นอยู่กับชนิดของซิลิเกต

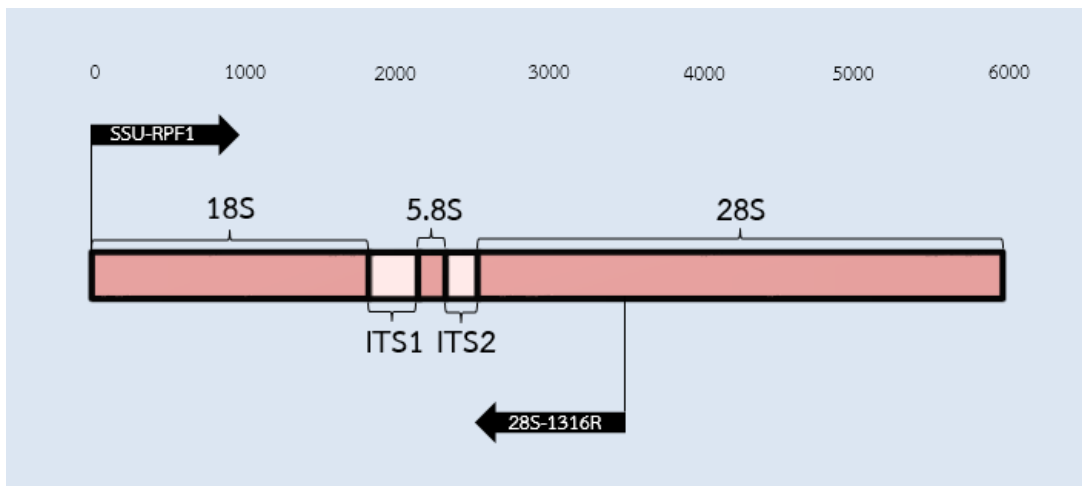
นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เตรียมไว้จากข้อ ข. มาเป็นแม่พิมพ์ (template) สำหรับการเพิ่มจำนวนยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ข้างต้น ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction: PCR) โดยใช้ *OneTaq*TM Hot Start DNA Polymerase (New England BioLabs, Inc., Ipswich, MA, USA, Cat. No. M0481G) ไพร์เมอร์ (primer) (ภาพที่ 11) และสภาวะในการทำปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

(1) <i>OneTaq</i> [®] Standard Reaction Buffer (5X)	5	ไมโครลิตร
(2) dNTP mix (10 มิลลิโมลาร์ต่อแบบ)	0.5	ไมโครลิตร
(3) Forward primer: SSU-RPF1 (5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3')		
ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์	0.5	ไมโครลิตร
(4) Reverse primer: 28S-1316R (5'-ATTCGGCAGGTGAGTTGTTACAC-3')		
ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์	0.5	ไมโครลิตร
(5) <i>OneTaq</i> [®] Hot Start DNA Polymerase		
(5,000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	0.125	ไมโครลิตร
(6) สารละลายดีเอ็นเอ (ที่เตรียมไว้ในข้อ ข. (15))	15	ไมโครลิตร
(7) น้ำกลั่นชนิด molecular grade	3.375	ไมโครลิตร
ปริมาตรสุทธิ	25	ไมโครลิตร

นำหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ ขนาด 0.2 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อและเติมสารต่างๆ ข้างต้นเรียบร้อยแล้ว ใส่ลงในเครื่อง T100TM Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc.) ที่ตั้งโปรแกรมดังนี้

โปรแกรม NB-57:

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



ภาพที่ 11 ไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA) ในยูคาริโอต ซึ่งประกอบด้วยยีน 18S ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และ ยีน 28S ตามลำดับ ลูกศรในภาพแสดงตำแหน่งที่ ไพโรเมอร์ SSU-RPF1 และ 28S-1316R เกาะ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการใช้ไพโรเมอร์ทั้งสอง มีขนาดตั้งแต่ 2,900-3,600 คู่เบส ขึ้นอยู่กับชนิดของซิลิเกต

ง. ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จากข้อ ค. ด้วยการสกัดแยกโดยใช้ไฟฟ้าบนแผ่นวุ้นอะกาโรส (agarose gel electrophoresis) ตามขั้นตอนต่อไปนี้

(1) เตรียมแผ่นวุ้นอะกาโรส ที่ความเข้มข้น 0.8% โดยใช้ผงอะกาโรส 1.2 กรัม ต่อบัฟเฟอร์ทีเออี (Tris acetate EDTA buffer: TAE buffer) 150 มิลลิลิตร ใส่ผงวุ้นและบัฟเฟอร์ลงในขวดแก้วทนความร้อน จากนั้นอุ่นสารให้เดือดด้วยเครื่องไมโครเวฟ ตั้งสารให้เย็นตัวลงไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเทสารละลายวุ้นลงบนแม่พิมพ์ของเครื่อง Horizon[®] 58 (LIFE TECHNOLOGIES[™], Gaithersburg, MD, USA, Cat. Series 41060) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนแผ่นวุ้นแข็ง หลังจากนั้นแกะแม่พิมพ์ออกจากแผ่นวุ้น

(2) ผสมผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ต้องการตรวจสอบกับสีย้อม Electrophoresis Loading Dye, 6X (Research Organics, Cleveland, Ohio, USA, Cat No. 3017E) ให้ความเข้มข้นสุดท้ายของสีย้อมในแต่ละตัวอย่างมีค่าเป็น 1X หรือ 1 เท่า จากนั้นเติมตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบลงในช่องบนแผ่นวุ้น 1 ช่องต่อหนึ่งตัวอย่าง โดยใช้ molecular marker ชนิด 1 kb plus (Invitrogen, Grand Island, NY, USA, Cat No. 10787-018) เป็นตัวเปรียบเทียบขนาดผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ในข้อ ค.

(3) ต่อวงจรไฟฟ้าเข้ากับเครื่อง Horizon[®] 58 โดยตั้งค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเปิดวงจรไฟฟ้า

(4) หลังจากครบ 30 นาที นำแผ่นวุ้นตัวอย่างไปย้อมในสารละลาย ethidium bromide (EtBr) เป็นเวลา 10 นาที โดยสารละลาย EtBr ที่ใช้เตรียมจาก EtBr ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

(5) ย้ายแผ่นวุ้นลงไปล้างในน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาที เพื่อล้าง EtBr ส่วนเกินออก

(6) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ภายใต้แสงยูวี ด้วยเครื่อง BioDoc-It™ Imaging System (UVP, Inc., Upland, CA, USA) พร้อมบันทึกภาพแผ่นวุ้นตัวอย่าง

จ. ในกรณีที่ต้องการทำความสะอาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ ใช้ UltraClean™ 15 DNA Purification Kit (Mo Bio Laboratories, Inc., Cat. No. 12100-300) โดยทำความสะอาดผลิตภัณฑ์ ตามขั้นตอน ดังนี้

- (1) ทำตามข้อ ง. (1) ถึง (5)
- (2) นำแผ่นวุ้นไปตรวจหาตำแหน่งของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ภายใต้แสงยูวี จากนั้นใช้ใบมีดที่สะอาดตัดแถบดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการ และเก็บวุ้นในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- (3) เติม ULTRA SALT ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ ที่บรรจุแถบดีเอ็นเอผสมให้เข้ากัน
- (4) นำหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ในข้อ (3) ไปตั้งบนเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที หรือจนกว่าวุ้นจะละลายจนหมด โดยในระหว่างนี้อาจทำการกลับหลอดเป็นครั้งคราว เมื่อวุ้นละลายจนหมด นำหลอดออกจากเครื่องและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- (5) เติม ULTRA BIND ปริมาตร 7 ไมโครลิตร ลงหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
- (6) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที โดยในระหว่างนี้ทำการผสมให้เข้ากัน โดยการกลับหลอดขึ้นลง
- (7) นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,600 g เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนน้ำในทิ้ง และเก็บส่วนตะกอนดีเอ็นเอซึ่งจับกับ ULTRA BIND ไว้
- (8) ล้างตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย ULTRA WASH ปริมาตร 500 ไมโครลิตร โดยใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดตะกอนขึ้นลงให้สารผสมกัน
- (9) นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,600 g เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนน้ำในทิ้ง และเก็บส่วนตะกอนดีเอ็นเอซึ่งจับกับ ULTRA BIND ไว้ ทำซ้ำข้อ (8) และ (9) อีกครั้ง
- (10) นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,600 g อีกครั้ง เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูด ULTRA WASH ที่เหลือออกให้หมด
- (11) ละลายตะกอนด้วยน้ำปราศจากเชื้อ (ultrapure water) ปริมาตร 15 ไมโครลิตร (ใช้น้ำปริมาตรประมาณสองเท่าของ ULTRA BIND ที่ใช้) จากนั้นใช้ปิเปตต์อัตโนมัติผสมสารให้เข้ากัน
- (12) ตั้งหลอดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,600 g เป็นเวลา 2 นาที

(13) ใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดส่วนน้ำใสที่มีดีเอ็นเอละลายอยู่ จากนั้นย้ายลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ ขนาด 0.5 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว โดยระวังไม่ให้มีส่วนตะกอน ULTRA BIND ติดมากับส่วนน้ำใส เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอดังกล่าวไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

ฉ. การโคลนยีนและช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการ ด้วยชุดโคลนนิ่ง Strata Clone™ PCR Cloning Kit (Stratagene, La Jolla, CA, Cat. No. 240205) โดยใช้แบคทีเรีย Strata Clone™ competent cells ตามขั้นตอน ดังนี้

(1) เตรียมสารผสมเพื่อทำการเชื่อมดีเอ็นเอที่ต้องการกับพลาสมิด โดยเติมองค์ประกอบต่าง ๆ ตามลำดับ ดังนี้

(ก) StrataClone™ Cloning Buffer ปริมาตร 3 ไมโครลิตร

(ข) ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร

(ค) StrataClone™ Vector Mix ปริมาตร 1 ไมโครลิตร

ผสมให้เข้ากันเบา ๆ โดยใช้ปิเปตต์อัตโนมัติ

(2) ตั้งหลอดปฏิกิริยาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นหยุดหลอดปฏิกิริยาโดยวางหลอดลงบนน้ำแข็ง โดยก่อนที่จะครบ 5 นาที นำหลอด Strataclone SoloPack competent cells ออกจากตู้ทำความเย็นที่ -80 องศาเซลเซียส และวางให้ละลายบนน้ำแข็ง

(3) เติมสารผสมจากหลอดปฏิกิริยาในข้อ (2) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ลงในหลอด Strataclone SoloPack competent cells ผสมเบา ๆ (โดยห้ามใช้ปิเปตต์อัตโนมัติดูดขึ้นลง)

(4) จากนั้นวางหลอด transformation mixture ในข้อ (3) ไว้บนน้ำแข็ง เป็นเวลา 20 นาที

(5) นำหลอด transformation mixture มา heat shock ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที

(6) วางหลอด transformation mixture ไว้บนน้ำแข็งทันที เป็นเวลา 2 นาที

(7) เติม SOC medium (ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร บ่มและเขย่าหลอด transformation mixture ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

(8) คูดสารผสม transformation ปริมาตร 100 และ 200 ไมโครลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ และเกลี่ย (spread) หน้าแต่ละจานให้ทั่ว โดยจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ จะบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (LB agar) ผสมกับยาปฏิชีวนะ ampicillin และเกลี่ยหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วย 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside (X-gal) ความเข้มข้น 2% ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ไว้เรียบร้อยแล้ว

(9) บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 18 ชั่วโมง

(10) ทำการเลือกโคลนแบคทีเรียสีขาว สำหรับนำไปวิเคราะห์หาพลาสมิดที่มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการต่อไป

ข. ทำการคัดเลือกและเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่มีพลาสมิด ที่บรรจุยีนหรือลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว LB (LB broth) อย่างน้อย 12 ชั่วโมง และสกัดพลาสมิดที่มีชิ้นส่วนยีนที่ต้องการด้วย FavorPrep™ Plasmid Extraction Mini Kit (Favorgen Biotech Corporation, Taiwan, Cat. No. FAPDE100) ตามขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

(1) เทอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีแบคทีเรียเจริญอยู่ ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว

(2) นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 16,300 g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นดูดส่วนน้ำใสทิ้ง และเก็บส่วนตะกอนแบคทีเรียที่ก้นหลอดไว้

(3) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD1 (ที่เติมเอนไซม์ RNase A แล้ว) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอด และใช้ปิเปตต์อัดโน้มตีดูดสารขึ้นลงเพื่อละลายตะกอนแบคทีเรีย

(4) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD2 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดและผสมเบา ๆ ด้วยการกลับหลอดขึ้นลงจำนวน 10 ครั้ง เพื่อทำให้เซลล์แบคทีเรียแตก จากนั้นตั้งหลอดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที

(5) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPD3 ปริมาตร 300 ไมโครลิตร และกลับหลอดขึ้นลงอย่างเบาๆ 10 ครั้ง ทันที

(6) นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 16,300 g เป็นเวลา 5 นาที ในระหว่างนี้ทำการวาง FAPD Column ลงใน Collection tube

(7) ย้ายส่วนน้ำใสลงใน FAPD Column โดยระวังไม่ดูดตะกอนสีขาวมากับส่วนน้ำใส จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 วินาที เทสารที่ไหลผ่าน FAPD Column ทิ้ง จากนั้นวาง FAPD Column กลับลงใน Collection tube อีกครั้ง

(8) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ W1 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงใน FAPD Column จากนั้นนำหลอดไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 วินาที เทสารที่ไหลผ่าน FAPD Column ทิ้ง และวาง FAPD Column กลับลงใน Collection tube อีกครั้ง

(9) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ Wash ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงใน FAPD Column จากนั้นนำหลอดไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 วินาที เทสารที่ไหลผ่าน FAPD Column ทิ้ง และวาง FAPD Column กลับลงใน Collection tube อีกครั้ง

(10) นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งเป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้ Column แห้ง

(11) วาง FAPD Column ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว

(12) เติมน้ำ Molecular grade ปริมาตร 50-60 ไมโครลิตร ลงบริเวณเยื่อกรองใน FAPD Column ตั้งหลอดทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาที

(13) นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 1 นาที เพื่อชะดีเอ็นเอพลาสมิดออกจาก Column

(14) เก็บส่วนน้ำใสที่มีดีเอ็นเอพลาสมิดไว้ในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

(15) ตรวจสอบขนาดผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอพลาสมิดที่ได้ ด้วยการสกัดแยกโดยใช้ กระจกแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้นอะกาโรสความเข้มข้น 0.8% ตามข้อ ง. และส่งดีเอ็นเอพลาสมิดที่มีผลิตภัณฑ์ ดีเอ็นเอที่ต้องการอยู่ ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในขั้นตอนนี้ต่อไป

ข. หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจ โดยใช้เทคนิคการ หาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติแบบธรรมดา (normal automatic sequencing) ด้วยเครื่อง 3730XL DNA sequencer โดยทำการส่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาถูกโซโฟลิเมอร์เรส จากข้อ ค. หรือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการโคลนนิ่ง จากข้อ ง. ไปยังบริษัท MacroGen ประเทศเกาหลี เพื่อทำการหา ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป โดยการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละครั้งจะใช้ไพรเมอร์ครั้งละ 1 ชนิด ที่ ตำแหน่งต่าง ๆ กัน (ตารางที่ 1) และทำการอ่านลำดับทั้งไปและกลับจนได้ลำดับเบสคู่สมครบทั้งสอง สายดีเอ็นเอ โดยในการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละปฏิกิริยาจะอ่านได้ปฏิกิริยาละประมาณ 300-1,000 เบส ขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการมีขนาดประมาณ 2,900-3,600 คู่เบส ดังนั้นจึงต้องทำการอ่าน ลำดับประมาณ 8-11 ปฏิกิริยาต่อหนึ่งตัวอย่าง

ฅ. ตรวจสอบความถูกต้องของสัญญาณลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ในแต่ละปฏิกิริยา จากข้อ ข. ของแต่ละตัวอย่าง ด้วยโปรแกรม Finch TV (©PerkinElmer, Inc.)

ฉ. รวมลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากซิติเอตแต่ละชนิดในข้อ ฅ. ไว้ให้เป็นข้อมูลชุด เดียวกัน โดยทำการต่อข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีลำดับส่วนปลายเหมือนกันของซิติเอตแต่ละชนิด จนได้ความยาวของลำดับสมบูรณ์ ซึ่งมีขนาดประมาณ 2,900-3,600 คู่เบส ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของซิติเอต

ค. ตรวจสอบและแก้ไข (edit) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดความผิดพลาดในการอ่านอีก ครั้ง ด้วยโปรแกรม BioEdit (Hall, 1999)

ก. วิเคราะห์หาความเหมือนและความต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อการระบุ อัตลักษณ์ โดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (NCBI, 2013a: Online) เพื่อช่วยในการจัดจำแนกและระบุชนิดหรือสกุลของซิติเอตที่สำรวจพบในการศึกษาครั้งนี้

ตารางที่ 1 โพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในการศึกษาครั้งนี้

โพรเมอร์ (แหล่งอ้างอิง)	ทิศทาง	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	ตำแหน่งที่เกาะ โดยประมาณ
ยีน 18S			
SSU-RPF1 (ก)	ไปข้างหน้า	5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3' (20)	7-26
18S-F9 (ข)	ไปข้างหน้า	5'-CTGGTTGATCCTGCCAG-3' (17)	8-24
SSU-525F (ค)	ไปข้างหน้า	5'-AAGTCTGGTGCCAGCAGCC-3' (19)	567-585
SSU-525R (ค)	ถอยกลับ	5'-GGCTGCTGGCACCAGACTT-3' (19)	585-567
SSU-607R (ง)	ถอยกลับ	5'-CAACTACGAGCTTTTTAACTGCA-3' (23)	607-585
SSU-MCil-rII (จ)	ถอยกลับ	5'-TCTRATYGTCKTBGATCCCYTA-3' (22)	~964
SSU-Mnomet R2D (ง)	ถอยกลับ	5'-YCTTYAAGTTTCAGHCTTG-3' (19)	~1161-1143
SSU-1385F (ง)	ไปข้างหน้า	5'-GGTCTGTGATGCCCTTAGATG-3' (21)	1385-1405
18S-R1513 Hypo (ฉ)	ถอยกลับ	5'-TGATCCTTCYGCAGGTTTC-3' (18)	~1500
18S-R1513 Karyo (ช)	ถอยกลับ	5'-TGATCCATCCGAGGTTTC-3' (18)	~1500
SSU-1580F (ง)	ไปข้างหน้า	5'-CCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGT-3' (25)	1580-1604
SSU-1595F (ง)	ไปข้างหน้า	5'-CGTCCCTGCCMTTGTACACACC-3' (23)	~1595
SSU-SR12cFD (ซ)	ไปข้างหน้า	5'-TAGAGGAAGKARAAGTCGTAA-3' (21)	~1682
SSU-1732F (ง)	ไปข้างหน้า	5'-GTCGTAACAAGTTTCCGTAGGTG-3' (24)	1708-1732
SSU-1732R (ง)	ถอยกลับ	5'-CACCTACGGAAACCTTGTTACGAC-3' (24)	1732-1708
SSU-Api1738R (ง)	ถอยกลับ	5'-GACCTGTRTWGCCTHAMRCTTCC-3' (24)	1738-1715
SSU-R4 (ก)	ถอยกลับ	5'-GATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3' (23)	1823-1801
ช่วงลำดับ ITS			
ITS1 (ฉ)	ไปข้างหน้า	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' (19)	1857-1875
ยีน 28S			
28S-1FM (ญ)	ไปข้างหน้า	5'-ACCYGCTGAAYTTAAGCATAT-3' (21)	~1
28S-1FMR (ญ)	ถอยกลับ	5'-ATATGCTTAARTTCAGCRGGT-3' (21)	~1
28S-25F1R (ซ)	ถอยกลับ	5'-ATATGCTTAAATTCAGCGG-3' (19)	45-27
28S-341R (ง)	ถอยกลับ	5'-TCCCTCAYGGTACTTGTKYGCTATC-3' (25)	341-317
28S-663F (ง)	ไปข้างหน้า	5'-GTCTTGAAACACGGACCAAGGAG-3' (23)	663-685
28S-LR3R (ฎ)	ไปข้างหน้า	5'-GTCTTGAAACACGGACC-3' (17)	663-679
LR2 (ฎ)	ถอยกลับ	5'-TTTTCAAAGTTCTTTTC-3' (17)	385-370

ตารางที่ 1 (ต่อ) ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในการศึกษาครั้งนี้

ไพรเมอร์ (แหล่งอ้างอิง)	ทิศทาง	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	ตำแหน่งที่เกาะ โดยประมาณ
28S-LR3 (ฎ)	ถอยกลับ	5'-CCGTGTTTCAAGACGGG-3' (17)	651-635
28S-1316R (ง)	ถอยกลับ	5'-ATTCGGCAGGTGAGTTGTTACAC-3' (23)	1316-1294
เวกเตอร์แบคทีเรีย			
T3 (จ)	ไปข้างหน้า	5'-ATTAACCCTCACTAAAG-3' (17)	
T7 (ฉ)	ไปข้างหน้า	5'-AATACGACTCACTATAG-3' (17)	

ก. Leander, Clopton, and Keeling (2003); ข. Medlin et al. (1988); ค. Hoppenrath et al. (2007); ง. ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์ ออกแบบโดย อาจารย์ ดร. ชิดชัย จันทร์ตั้งสี; จ. Lara et al. (2007); ฉ. Petroni et al. (2002); ช. Andreoli et al. (2009); ซ. Takano and Horiguchi (2006); ฅ. White et al. (1990); ญ. Moreira et al. (2007); ฎ. Vilgalys (2005); ฏ. ไพรเมอร์สากล (universal primer)

3. การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการระบุชนิดซิลิเอต

ก. รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตแต่ละชนิดใน 12 สกุล ที่มีข้อมูลร่วมกับข้อมูลซิลิเอตที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือ 1) *Apocoleps*, 2) *Aspidisca*, 3) *Condylostoma*, 4) *Diophrys*, 5) *Euplotes*, 6) *Holosticha*, 7) *Kentrophoros*, 8) *Mesodinium*, 9) *Trachelocerca*, 10) *Tracheloraphis*, 11) *Uronema* และ 12) *Uronychia* จากฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI (NCBI, 2013b: Online) โดยจากการสืบค้นพบว่า ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตแต่ละสกุลและแต่ละชนิด มีข้อมูลปรากฏเฉพาะบริเวณยีน 18S เป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นในการหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดจึงทำการพิจารณาจากบริเวณนี้เป็นอันดับแรก

ข. สร้างไฟล์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตแต่ละชนิดในแต่ละสกุลข้างต้น ที่ปรากฏในฐานข้อมูล GenBank และบันทึกไฟล์ด้วยนามสกุล FASTA โดยทำการบันทึกข้อมูลหนึ่งไฟล์ต่อซิลิเอตหนึ่งสกุล

ค. เพิ่มข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเอตแต่ละชนิดในแต่ละสกุลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ รวมไว้เป็นชุดข้อมูลเดียวกันกับไฟล์ที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank ในข้อ ข. และบันทึกไฟล์ด้วยนามสกุล FASTA ทำการบันทึกข้อมูลหนึ่งไฟล์ต่อซิลิเอตหนึ่งสกุล โดยใช้โปรแกรม MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) เวอร์ชัน 6 (Tamura et al., 2013)

ง. ทำการจัดเรียง (alignment) ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเอตแต่ละชนิดในแต่ละสกุล โดยเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ และจัดเรียงให้ช่วงลำดับอนุรักษ์ (conserved sequence) อยู่ในตำแหน่งที่ตรงกัน โดยใช้ฟังก์ชัน ClustalW จากโปรแกรม MEGA จากนั้นบันทึกไฟล์ด้วยนามสกุล FASTA

จ. ทำการหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ ประมาณ 500-600 คู่เบส ที่พบความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิด แต่มีความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ต่ำในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน เพื่อใช้ช่วงรหัสดีเอ็นเอนั้นในการจัดจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดในซิลิเกตแต่ละสกุลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ โดยขอบเขตของดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจอ้างอิงจากงานวิจัยของ Scicluna และคณะ (2006) และ Chantangsi และ Leander (2010) ซึ่งมีตำแหน่งเริ่มต้นตั้งแต่ช่วงหลังของไพรเมอร์ SSU-RPF1 (5'-ACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3') ในตำแหน่งที่ 1 เป็นต้นไป และสิ้นสุดที่ตำแหน่งสุดท้ายของลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ 5'-GCCGCGGTAATTCAGCTCC-3' ในบริเวณสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ สำหรับกรณีที่ไม่พบช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าวจะทำการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดในตำแหน่งอื่นต่อไป

ฉ. ทำการตัดช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่นอกเหนือจากบริเวณดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจภายในชุดข้อมูลของซิลิเกตแต่ละสกุลในข้อ จ. และบันทึกไฟล์ใหม่เป็นนามสกุล MEGA

ช. ประเมินประสิทธิภาพในการเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ในข้อ จ. ด้วยการวิเคราะห์หาความเหมือนและความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเกตแต่ละชนิดในแต่ละสกุลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ด้วยการเปรียบเทียบเป็นคู่ (pairwise comparison) โดยใช้ชุดข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจจาก ข้อ ฉ. และ โปรแกรม MEGA คำนวณหาค่า ต่อไปนี้

(1) ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (number of nucleotide differences) ในแต่ละคู่ของซิลิเกตแต่ละชนิดในแต่ละสกุลที่พบ

(2) ค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ (the percentage of pairwise sequence divergences) ของซิลิเกตแต่ละชนิดในแต่ละสกุลที่พบ ด้วยแบบจำลอง Kimura's two-parameter (K2P model)

ซ. ประมวลผลการวิเคราะห์ในข้อ ช. และเสนอช่วงรหัสดีเอ็นเอสายสั้น ๆ หรือช่วงรหัสดีเอ็นเอในความยาวที่มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดของซิลิเกตแต่ละสกุลที่พบ โดยชุดข้อมูลทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์หาคดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจมีจำนวน 17 ชุดข้อมูล (dataset) โดยแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

(1) ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจ บริเวณยีน 18S ซึ่งมีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และมีจุดสิ้นสุดในตำแหน่งสุดท้ายของลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ 5'-GCCGCGGTAATTCAGCTCC-3' (Chantangsi and Leander, 2010; Scicluna et al., 2006) มีจำนวน 8 ชุดข้อมูล จากซิลิเกต 8 สกุล ได้แก่ 1) *Aspidisca* ความยาว 551 คู่เบส, 2) *Diophrys* ความยาว 569 คู่เบส, 3) *Euplotes* ความยาว 621 คู่เบส, 4) *Holosticha* ความยาว 567 คู่เบส, 5)–6) *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* ความยาว 513 คู่เบส, 7) *Uronema* ความยาว 563 คู่เบส และ 8) *Uronychia* ความยาว 567 คู่เบส

(2) ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจ บริเวณยีน 18S ซึ่งมีจุดเริ่มต้นเหมือนชุดข้อมูลกลุ่มที่ (1) แต่มีตำแหน่งสิ้นสุดที่ต่างกัน เนื่องจากไม่พบลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ 5'-GCCGCGG

TAATTCAGCTCC-3' มีจำนวน 1 ชุดข้อมูล สำหรับซิลิเกตสกุล 1) *Condylostoma* โดยมีความยาวของรหัสเท่ากับ 537 คู่เบส

(3) ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจ บริเวณยีน 18S ซึ่งมีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ต่างจากชุดข้อมูลกลุ่มที่ (1) และ (2) โดยมีจุดเริ่มต้นต่างกันนับจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 เข้ามาเป็นจุดอ้างอิง และมีจุดสิ้นสุดในตำแหน่งสุดท้ายของลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ 5'-GCCGCGGTAA-TTCCAGCTCC-3' (Chantangsi and Leander, 2010; Scicluna et al., 2006) มีจำนวน 2 ชุดข้อมูล ได้แก่ 1) ซิลิเกตสกุล *Apocoleps* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 59 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 504 คู่เบส และ 2) ซิลิเกตสกุล *Kentrophoros* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 64 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 513 คู่เบส

(4) ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจ บริเวณยีน 18S ซึ่งมีจุดเริ่มต้นเหมือนชุดข้อมูลกลุ่มที่ (3) แต่มีตำแหน่งสิ้นสุดที่ต่างกัน เนื่องจากไม่พบหรือมีตำแหน่งอยู่เลยจากช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'-GCCGCGGTAA-TTCCAGCTCC-3' ไป มีจำนวน 3 ชุดข้อมูล ได้แก่ 1) ซิลิเกตสกุล *Mesodinium* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 89 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 574 คู่เบส; 2) ซิลิเกตสกุล *Euplotes* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,572 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 425 คู่เบส; และ 3) ซิลิเกตสกุล *Euplotes* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,576 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 420 คู่เบส

(5) ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจ บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และ ช่วงลำดับ ITS2 ซึ่งมีจุดเริ่มต้นต่างกันนับจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 เข้ามาเป็นจุดอ้างอิง และมีจุดสิ้นสุดที่ความยาวที่สามารถทำการเปรียบเทียบข้อมูลได้ มีจำนวน 2 ชุดข้อมูล ได้แก่ 1) ซิลิเกตสกุล *Euplotes* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,870 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 492 คู่เบส และ 2) ซิลิเกตสกุล *Uronychia* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,792 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 529 คู่เบส

(6) ช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่สนใจ บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S ซึ่งมีจุดเริ่มต้นต่างกันนับจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 เข้ามาเป็นจุดอ้างอิง และมีจุดสิ้นสุดที่ความยาวที่สามารถทำการเปรียบเทียบข้อมูลได้ มีจำนวน 1 ชุดข้อมูล สำหรับซิลิเกตสกุล *Mesodinium* มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,563 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 และยาวไป 639 คู่เบส

หมายเหตุ สำหรับชุดข้อมูลกลุ่มที่ (5) และ (6) ได้ทำการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดในบริเวณอื่นของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ เนื่องจากไม่พบดีเอ็นเอบาร์โค้ดในบริเวณยีน 18S

บทที่ 4 ผลการศึกษา

การระบุชนิดของซีลิเอต โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ก. การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานของซีลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลม

การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานของซีลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี อ้างอิงตาม Lynn (2008) โดยซีลิเอตที่พบจัดอยู่ในไฟลัม (phylum) ซีลิโอพอร่า (Ciliophora) และสามารถจัดจำแนกออกได้เป็น 2 ไฟลัมย่อย (subphylum), 8 ชั้น (class), 7 ชั้นย่อย (subclass), 17 อันดับ (order), 25 วงศ์ (family), 29 สกุล (genus) และ 3 กลุ่ม (group) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลหรือจนถึงกลุ่มของซีลิเอต ที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร (อ้างอิงตาม Lynn, 2008)

Phylum Ciliophora	
Subphylum Postciliodesmatophora	
Class Karyorelictea Order Protostomatida Family Kentrophoridae Genus <i>Kentrophoros</i> Family Trachelocercidae Genus <i>Trachelocerca</i> Genus <i>Tracheloraphis</i> group: trachelocercid Order Loxodida Family Loxodidae Genus <i>Loxodes</i> Genus <i>Remanella</i> Order Protoheterotrichida Family Geleiidae Genus <i>Avelia</i>	Class Heterotrichea Order Heterotrichida Family Blepharismidae Genus <i>Anigsteinia</i> Family Condyllostomatidae Genus <i>Condyllostoma</i>

ตารางที่ 2 (ต่อ) การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลหรือจนถึงกลุ่มของซีเลียต ที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะเสมสาร (อ้างอิงตาม Lynn, 2008)

Phylum Ciliophora (ต่อ)	
Subphylum Intramacronucleata	
<p>Class Spirotrichea</p> <p>Subclass Protocruziidia</p> <p>Order Protocruziida</p> <p>Family Protocruziidae</p> <p>Genus <i>Protocruzia</i></p> <p>Subclass Hypotrichia</p> <p>Order Euplotida</p> <p>Suborder Discocephalina</p> <p>Family Discocephalidae</p> <p>Genus <i>Prodiscocephalus</i></p> <p>Suborder Euplotina</p> <p>Family Aspidiscidae</p> <p>Genus <i>Aspidisca</i></p> <p>Family Euplotidae</p> <p>Genus <i>Euplotes</i></p> <p>Family Gastrocirrhidae</p> <p>Genus <i>Euplotidium</i></p> <p>Family Uronychiidae</p> <p>Genus <i>Diophrys</i></p> <p>Genus <i>Uronychia</i></p> <p>group: hypotrich (Hypotrichia)</p> <p>Subclass Stichotrichia</p> <p>Order Sporadotrichida</p> <p>Family Oxytrichidae</p> <p>Genus <i>Oxytricha</i></p> <p>Family Trachelostylidae</p> <p>group: trachelostylid</p>	<p>Class Spirotrichea (ต่อ)</p> <p>Order Urostylida</p> <p>Family Epiclintidae</p> <p>Genus <i>Epiclintes</i></p> <p>Family Urostylidae</p> <p>Genus <i>Holosticha</i></p> <p>Genus <i>Urostyla</i></p> <p>Class Litostomatea</p> <p>Subclass Haptoria</p> <p>Order Haptorida</p> <p>Family Spathidiidae</p> <p>Genus <i>Spathidium</i></p> <p>Order Pleurostomatida</p> <p>Family Litonotidae</p> <p>Genus <i>Litonotus</i></p> <p>Genus <i>Loxophyllum</i></p> <p>Order Cyclotrichiida</p> <p>Family Mesodiniidae</p> <p>Genus <i>Mesodinium</i></p> <p>Class Phyllopharyngea</p> <p>Subclass Cyrtophoria</p> <p>Order Chlamydodontida</p> <p>Family Chlamydodontidae</p> <p>Genus <i>Chlamydodon</i></p>

ตารางที่ 2 (ต่อ) การจัดกลุ่มทางอนุกรมวิธานในระดับไฟลัมจนถึงสกุลหรือจนถึงกลุ่มของซิลิเอต ที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะเสม็ดสาร (อ้างอิงตาม Lynn, 2008)

Phylum Ciliophora (ต่อ)	
Subphylum Intramacronucleata (ต่อ)	
Class Prostomatea Order Prorodontida Family Colepidae Genus <i>Coleps</i> Genus <i>Apocoleps</i>	Class Oligohymenophorea Subclass Peniculia Order Peniculida Family Frontoniidae Genus <i>Frontonia</i> Subclass Scuticociliatia Order Philasterida Family Uronematidae Genus <i>Uronema</i> Order Pleuronematida Family Pleuronematidae Genus <i>Pleuronema</i>
Class Plagiopylea Order Plagiopylida Family Plagiopylidae group: plagiopylid	

ลักษณะสัณฐานวิทยาของซิลิเอตแต่ละสกุลแต่ละชนิด อ้างอิงตาม Carey (1992) และเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยมีรายละเอียด ดังนี้

Phylum **Ciliophora** Doflein, 1901

Subphylum **Postciliodesmatophora** Gerassimova and Seravin, 1976

Class **Karyorelictea** Corliss, 1974

Order **Protostomatida** Small and Lynn, 1985

Family **Kentrophoridae** Jankowski, 1980

Genus **Kentrophoros** Sauerbrey, 1928 (ภาพที่ 12-15)

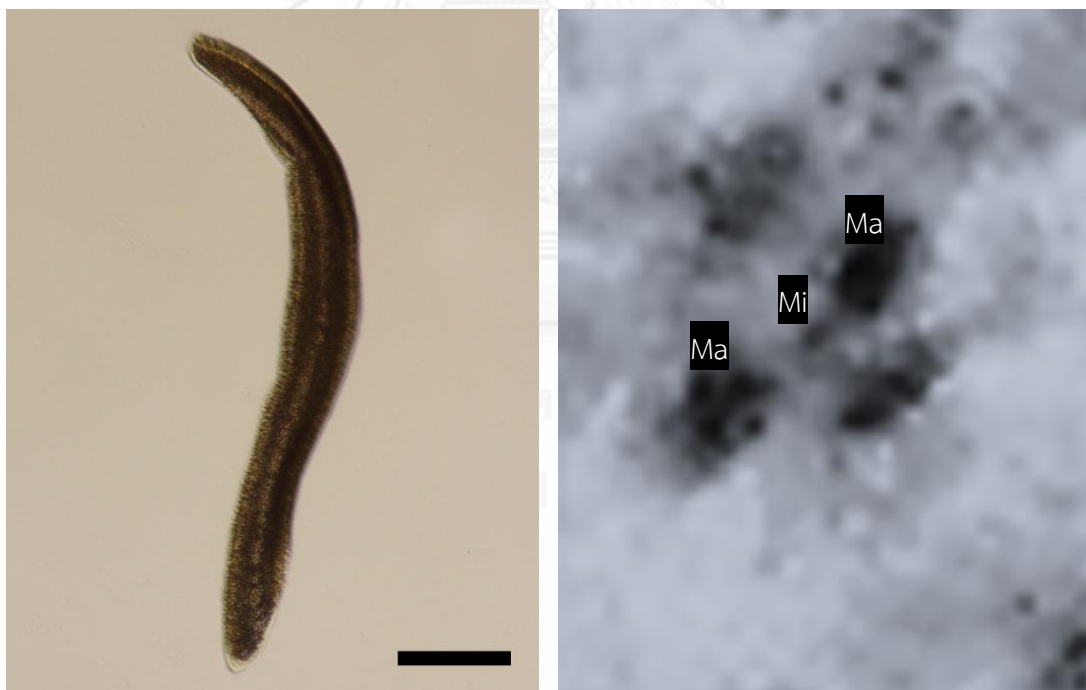
สมาชิกส่วนใหญ่มีเซลล์รูปร่างคล้ายหนอน ตัวเซลล์แบนและมีลักษณะคล้ายริบบิ้น ด้านท้องปกคลุมด้วยซิเลีย ส่วนด้านหลังปกคลุมด้วยดาร์กซัลเฟอร์แบคทีเรีย (dark sulfur bacteria) ที่มีรูปร่างเป็นแท่ง โดยมีขนาดและสีแตกต่างกันขึ้นกับชนิด *Kentrophoros* เซลล์มีปากขนาดเล็กมากหรือบางชนิดอาจไม่พบเลย เซลล์ของซิลิเอตในสกุลนี้ไวต่อการสัมผัส มีความเปราะบาง และเป็นสกุลที่จำเพาะต่อเขตชีวชาติระหว่างเม็ดทราย (interstitial biotope)

Kentrophoros flavum Raikov and Kovaleva, 1968 (ภาพที่ 12) เซลล์รูปร่างคล้ายหนอน แบนแบบริบบิ้น ด้านหัวและด้านท้ายเซลล์มน มีกลุ่มของนิวเคลียสเรียงตัวเป็นแถว แนวเดียวตลอดความยาวของบริเวณกึ่งกลางไซโทพลาสซึม โดยแมโครนิวเคลียสจะเรียงเป็นคู่และคั่นด้วยไมโครนิวเคลียส เซลล์ที่พบกว้างประมาณ 67 ไมโครเมตร ยาว 628 ไมโครเมตร

Kentrophoros gracilis Raikov, 1963 (ภาพที่ 13) เซลล์รูปร่างคล้ายหนอนแบนคล้ายริบบิ้น มีความยืดหยุ่น แต่ไม่หดตัว ด้านหน้าเซลล์โค้งเล็กน้อยและมีลักษณะแหลม ขนาดเซลล์กว้าง x ยาว แปรผันอยู่ในช่วง 25-70 ไมโครเมตร x 150-600 ไมโครเมตร (Xu et al., 2011) เซลล์มีแมโครนิวเคลียสมากกว่าสิบอันเรียงเป็นแถวตามแนวกึ่งกลางของไซโทพลาสซึม เซลล์ตัวอย่างกว้างประมาณ 18-30 ไมโครเมตร ยาว 236-258 ไมโครเมตร

Kentrophoros sp. 1 (ภาพที่ 14) ตัวเซลล์มีสีส้ม ยาวแบนและแผ่กว้างแบบริบบิ้น เซลล์มีความบอบบางค่อนข้างสูง โดยในขณะกำลังเคลื่อนที่อาจพบการพับ และการบิดของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 907-1,078 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 60-62 ไมโครเมตร

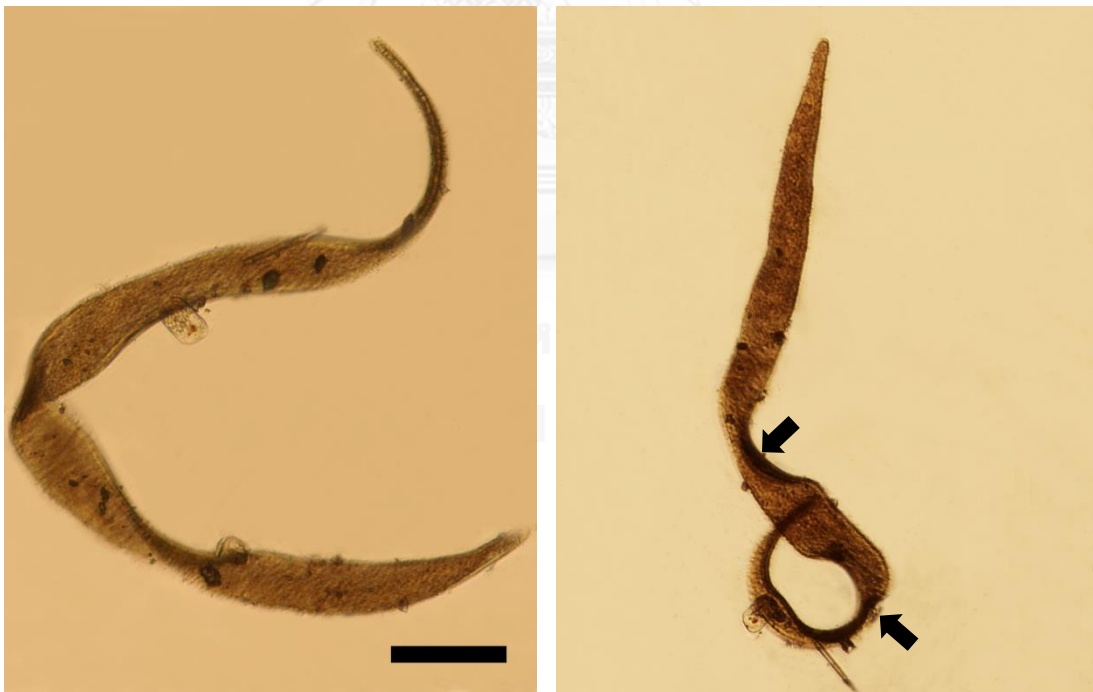
Kentrophoros sp. 2 (ภาพที่ 15) ตัวเซลล์มีสีเข้มแบนแบบริบบิ้นและแผ่กว้างขณะเคลื่อนที่พบลักษณะการบิดของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 233-460 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 44-60 ไมโครเมตร



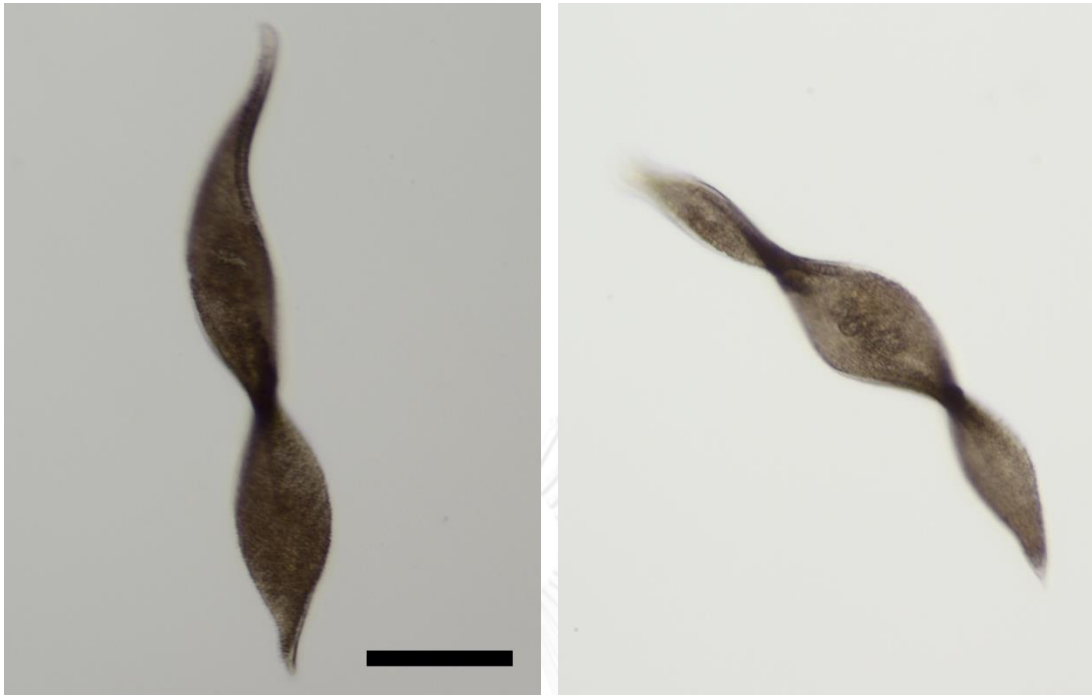
ภาพที่ 12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros flavum*, สเกล 100 μm โดยบริเวณสีเข้มในภาพขวามือแสดงแมโครนิวเคลียส (Ma) จำนวนสองอันที่ถูกคั่นกลางด้วยไมโครนิวเคลียส (Mi)



ภาพที่ 13 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros gracilis*, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาแสดงตัวเซลล์ที่กำลังบิดตัวไปทางด้านข้าง



ภาพที่ 14 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros* sp. 1, สเกล 100 μm ภาพด้านขวาลูกศรแสดงการพับม้วนของตัวเซลล์



ภาพที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Kentrophoros* sp. 2, สเกล 100 μ m ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังเคลื่อนที่

Family Trachelocercidae Kent, 1881

Genus *Trachelocerca* Ehrenberg, 1840 (ภาพที่ 16-22)

สมาชิกมีรูปร่างยาวคล้ายหนอน ตัวเซลล์รูปร่างกลม หรือในภาคตัดขวางบางครั้งเป็นรูปสามเหลี่ยมขนมเปียกปูน เซลล์มีซิเลียปกคลุมโดยตลอด เวลาหดตัวอาจมีลักษณะคล้ายขูดกันป่อง โดยในขณะหดตัวเซลล์ไม่บิดเป็นเกลียว ชิเลียอาจหยุดพัดโบกและมีลักษณะคล้ายหนาม ในขณะที่เซลล์กำลังหดตัวอาจมองเห็นการพองออกคล้ายลูกบิดขนาดเล็กซึ่งเกิดจากการพับตัวของผิวเซลล์ ปรากฏขึ้นที่บริเวณผิวเซลล์ ปากเซลล์มีขนาดเล็กอยู่ทางด้านปลายสุดของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นส่วนหัวเห็นได้ชัดเจน ในการศึกษาซิเลียเอตสกูลนี้ต้องระวังเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากเซลล์สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้มากเมื่อมีการหดตัว ชิเลียเอตสกูลนี้ทั้งหมดพบอาศัยตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย โดยอาจแยกออกจาก *Tracheloraphis* และ *Trachelonema* ด้วยรูปร่างตัวเซลล์ที่กลม การจัดเรียงของซิเลียที่ครอบคลุมผิวเซลล์ทั้งหมด และไม่พบแถบเกลี้ยง หรือแถบที่ไม่มีซิเลีย (glabrous stripe) ตามแนวยาวของเซลล์

Trachelocerca cf. *ditis* (ภาพที่ 16) เซลล์รูปร่างคล้ายหนอน ส่วนหัวพองออกคล้ายกระบอกมีสีเข้ม ปลายหางมนทู่ ตัวเซลล์ในขณะหดตัวมีลักษณะคล้ายขูดกันป่อง ในขณะยืดตัวมีความยาวประมาณ 317-491 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 16-30 ไมโครเมตร ส่วนในขณะหดตัวเล็กสุดมีความยาวและความกว้างของเซลล์ประมาณ 101 และ 29 ไมโครเมตร ตามลำดับ การระบุชนิดใกล้เคียงอ้างอิงตามสัณฐานวิทยาของ *Trachelocerca ditis* จากการศึกษาของ Foissner และ

Dragesco (1996) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกันหลายประการ แต่ยังคงขาดข้อมูลลักษณะและจำนวนของนิวเคลียสรวมถึงและระบบการจัดเรียงตัวของซีเลียประกอบการระบุชนิดที่แน่นอน

Trachelocerca laevis (Quennerstedt, 1867) Kahl, 1930 (ภาพที่ 17) เซลล์รูปร่างคล้ายหนอน เมื่อยึดตัวสุดจะยาวถึง 350 ไมโครเมตร แต่มักปรากฏลักษณะแบบขดก้นป่อง เนื่องจากมีส่วนท้ายเซลล์มน ส่วนหัวไม่ยืดขยายออกมากนัก ปากเซลล์รูปรีไซ่ โดยมีซีเลียรอบบริเวณปากชี้ไปทางด้านหน้า ในขณะที่ยึดตัวเซลล์ที่พบมีความยาวและความกว้างประมาณ 158-194 ไมโครเมตร และ 39-57 ไมโครเมตร ตามลำดับ

Trachelocerca schultzei Dragesco, 1960 (ภาพที่ 18) เซลล์มีรูปร่างเรียวยาว ส่วนหัวมีลักษณะเหมือนกรวยเล็ก ๆ ส่วนหางยาวปลายแหลม เซลล์ที่พบยาวประมาณ 731-738 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 21-23 ไมโครเมตร

Trachelocerca sp. 1 (ภาพที่ 19) เซลล์รูปร่างคล้ายหนอน ตัวเซลล์ยาวตรง ด้านหัวและด้านท้ายของเซลล์ทู่ ส่วนหัวของเซลล์มีสีเข้ม ในขณะที่ยึดตัวเซลล์มีความยาวประมาณ 873 ไมโครเมตร กว้าง 49 ไมโครเมตร ส่วนในขณะยึดตัวมีความยาวประมาณ 260 ไมโครเมตร กว้าง 28 ไมโครเมตร

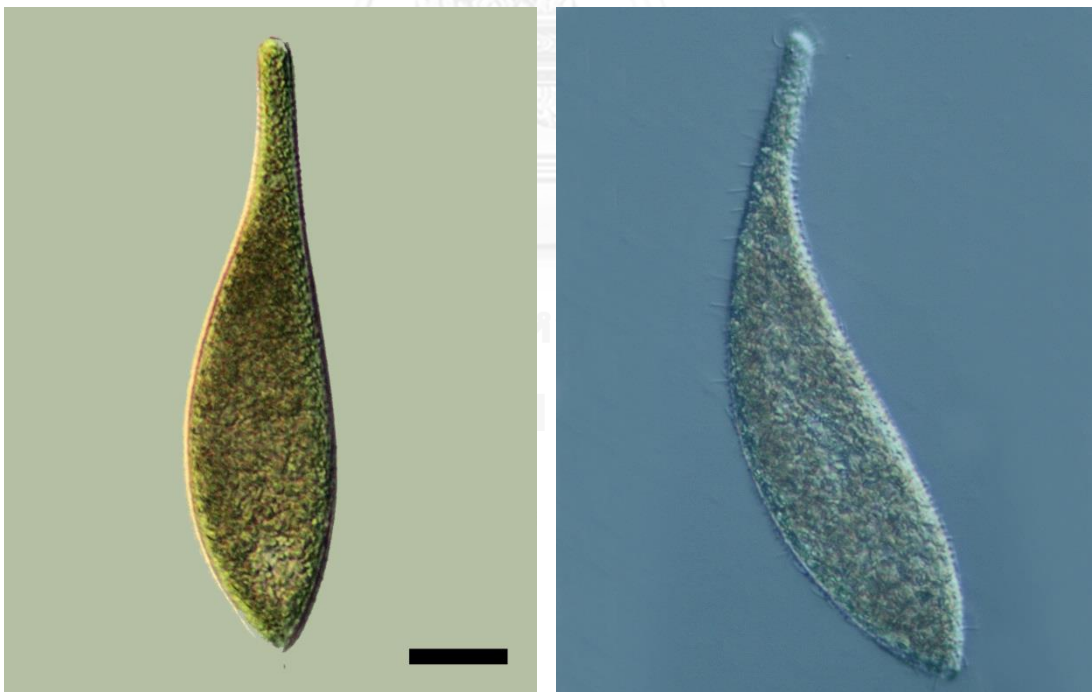
Trachelocerca sp. 2 (ภาพที่ 20) เซลล์มีรูปร่างยาวเรียว ส่วนหัวพองออกคล้ายกระบองสีเข้ม ส่วนท้องจนถึงปลายหางของเซลล์มีลักษณะหยักเล็กน้อย ส่วนหางมีลักษณะแหลมปลายตัดเฉียง เซลล์ที่พบมีความยาวและความกว้างอยู่ในช่วง 1,208-1,266 ไมโครเมตร และ 44-45 ไมโครเมตร ตามลำดับ

Trachelocerca sp. 3 (ภาพที่ 21) เซลล์มีขนาดใหญ่ บริเวณส่วนหัวและลำตัวของเซลล์มีสีเข้ม ในขณะที่ส่วนคอและหางของเซลล์มีสีอ่อน ส่วนหัวขยายออกเล็กน้อยเมื่อเทียบกับบริเวณคอของเซลล์ ส่วนกลางถึงส่วนท้ายของตัวเซลล์มีลักษณะกว้าง ขณะที่ส่วนหางมีลักษณะแหลมปลายตัดเฉียง เซลล์ที่พบมีความยาวในขณะที่เริ่มยึดตัวประมาณ 943-1,034 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 87-98 ไมโครเมตร

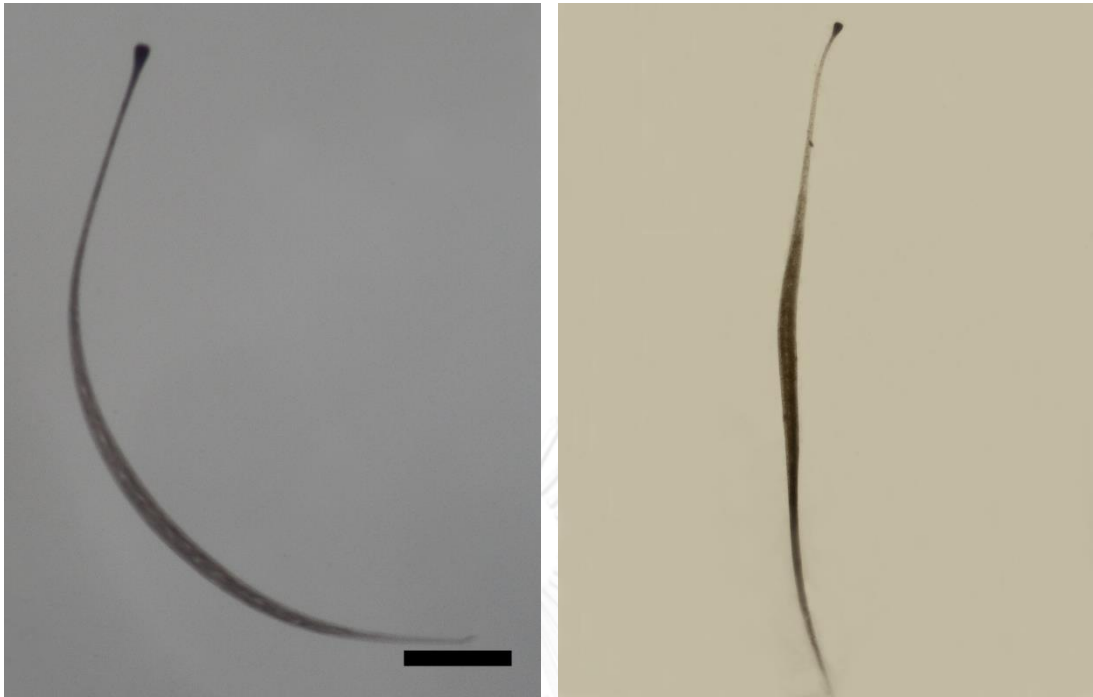
Trachelocerca sp. 4 (ภาพที่ 22) เซลล์มีรูปร่างยาวคล้ายหนอน ขณะยึดตัวเซลล์จะกลมป่องก่อนมาทางด้านท้าย ส่วนหัวมีสีเข้มซึ่งเป็นสีของสารที่สะสมภายในเซลล์ (inclusion) โดยพบว่าสารสะสมดังกล่าวสามารถไหลวนไปยังบริเวณอื่นของไซโทพลาสซึมได้ เซลล์มีปากอยู่ด้านปลายสุด โดยช่องปากมีลักษณะเหมือนท่อ ตัวเซลล์มีลายริ้วยาวตั้งแต่หัวจรดปลายเซลล์ ส่วนหางมีลักษณะมนทู่ เซลล์ในขณะยึดตัว กว้าง x ยาว แปรผันอยู่ในช่วง 62-73 ไมโครเมตร x 586-898 ไมโครเมตร ตามลำดับ และในขณะยึดตัว กว้าง x ยาว แปรผันอยู่ในช่วง 85-88 ไมโครเมตร x 378-387 ไมโครเมตร ตามลำดับ ส่วนในภาพที่ 22 แสดงตัวอย่างเซลล์ในขณะกำลังเริ่มยึดตัวโดยมีความยาวและความกว้างประมาณ 509 และ 74 ไมโครเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* cf. *ditis*, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะหดตัว มีลักษณะคล้ายขวดกั้นป่อง



ภาพที่ 17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca laevis*, สเกล 40 μm ภาพด้านขวาแสดงขนเซลล์บางส่วนที่ปกคลุมเซลล์



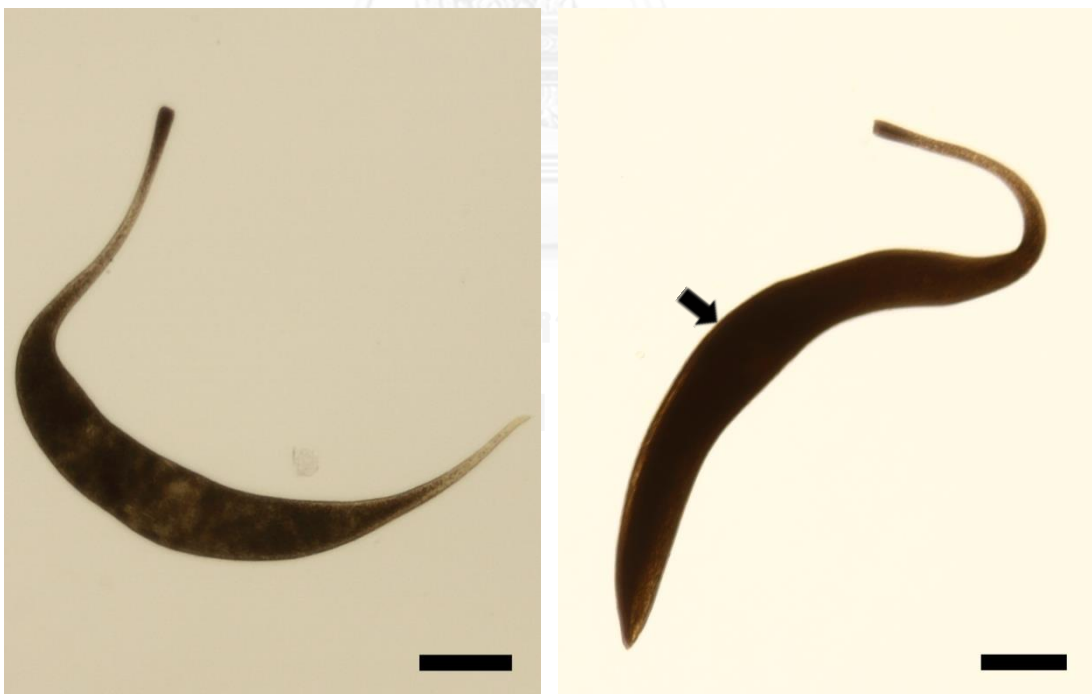
ภาพที่ 18 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca schultzei*, สเกล 110 μm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังยึดตัวทำให้มีรูปร่างเหมือนเส้นด้าย



ภาพที่ 19 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 1, สเกล 60 μm ภาพด้านขวาแสดงบริเวณปากเซลล์ที่อยู่ทางด้านหน้าสุดและมีสีเข้ม



ภาพที่ 20 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 2, สเกล 100 μ m ภาพด้านขวาถูกตรึงแสดงรอยหยักบริเวณส่วนท้องไปจนถึงปลายหางของเซลล์



ภาพที่ 21 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 3, สเกล 100 μ m ภาพด้านขวาถูกตรึงแสดงส่วนกลางถึงส่วนท้ายของตัวเซลล์ที่มีลักษณะกว้าง

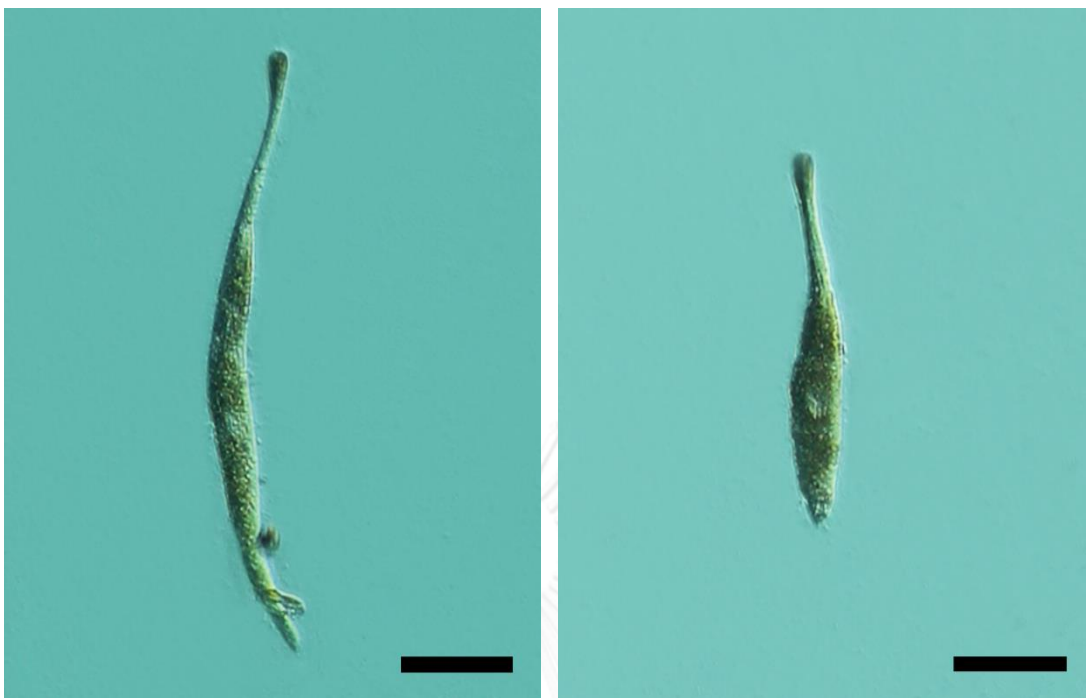


ภาพที่ 22 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Trachelocerca* sp. 4, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาถูกปรับแสงและขยายจากบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่ไหลลงมา

Genus *Tracheloraphis* Dragesco, 1960 (ภาพที่ 23-26)

เซลล์ในสกุลนี้โดยทั่วไปมีรูปร่างคล้ายหนอน หลายชนิดมีรูปร่างยาวเรียวหรือคล้ายเส้นด้าย *Tracheloraphis* มีซิเลียปกคลุมผิวเซลล์เพียงบางส่วน มีลักษณะเฉพาะคือ พบแถบเกลี้ยงที่ไม่มีซิเลียปกคลุมตามแนวยาวด้านหนึ่งของตัวเซลล์ ชนิดส่วนใหญ่มีความไวต่อการสัมผัส และหลายชนิดเซลล์สามารถหดตัวสั้นลง เมื่อเทียบกับความยาวเซลล์ตามปกติ ไม่พบคอนแทร็กไทล์แควิวโอล ซิเลียตสกุลนี้พบเฉพาะในถิ่นอาศัยระหว่างเมื่อดทราย ซึ่งมีการปรับตัวให้เข้ากับการดำรงชีวิตในถิ่นอาศัยลักษณะนี้ เป็นผู้บริโภคน้ำในระดับสูง กินแพลงก์ตอน ไดอะตอม และซิเลียตชนิดอื่น ๆ เป็นอาหาร มีการศึกษาพบว่า *Tracheloraphis* อย่างน้อยหนึ่งชนิดสามารถกินอาหารผ่านบริเวณแถบเกลี้ยง โดยไม่ผ่านบริเวณปากเซลล์ (cytostome)

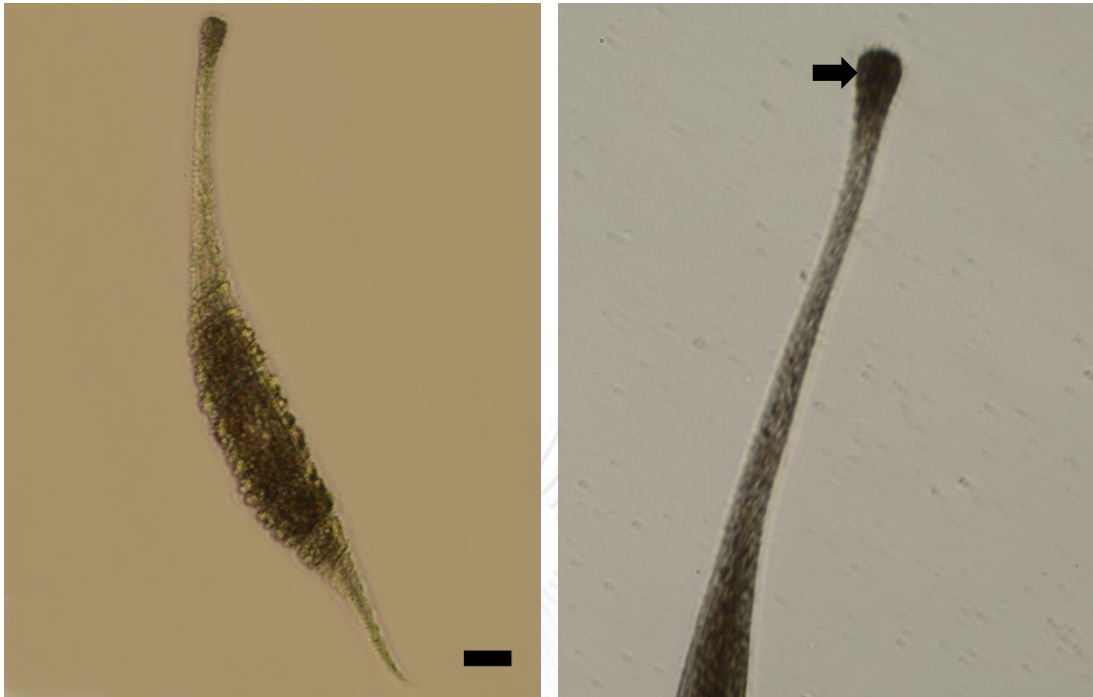
Tracheloraphis sp. 1 (ภาพที่ 23) เซลล์มีส่วนหัวพองออกคล้ายรูปกระบอกสี่เหลี่ยม ปลายหางแหลมทู่ ขณะกำลังหดตัวมีลักษณะเป็นเกลียวเล็กน้อย เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 279 ไมโครเมตร กว้าง 19 ไมโครเมตร



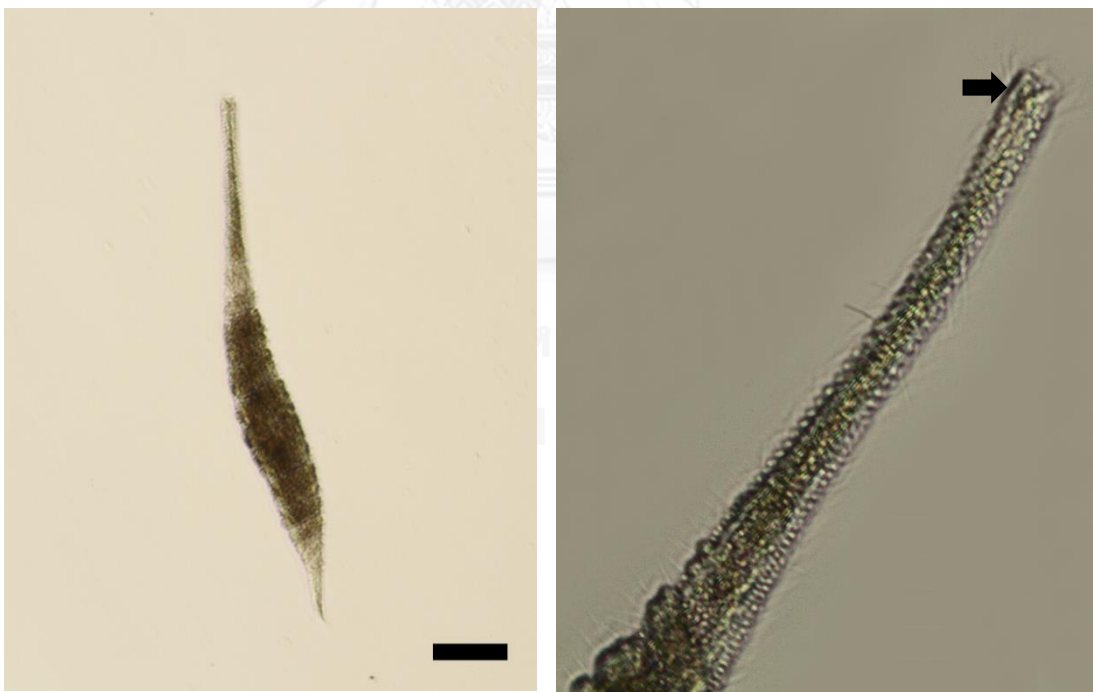
ภาพที่ 23 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Tracheloraphis* sp. 1, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังหดตัวทำให้ผิวเซลล์มีลักษณะเป็นเกลียวเล็กน้อย

Tracheloraphis sp. 2 (ภาพที่ 24) เซลล์มีส่วนหัวพองลักษณะคล้ายกระบองสีเข้ม ปลายหางแหลม ในขณะกำลังหดตัวเซลล์มีลักษณะเป็นเกลียวเห็นได้ชัดเจน มีความยาวและความกว้างของเซลล์ในขณะกำลังหดตัวประมาณ 301-368 ไมโครเมตร และ 35-40 ไมโครเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามอาจพบความแปรผันในบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่พบมีลักษณะตรงทู่ (ภาพที่ 25) โดยลักษณะดังกล่าวอาจเกิดจากการหลุดหรือขาดของเซลล์

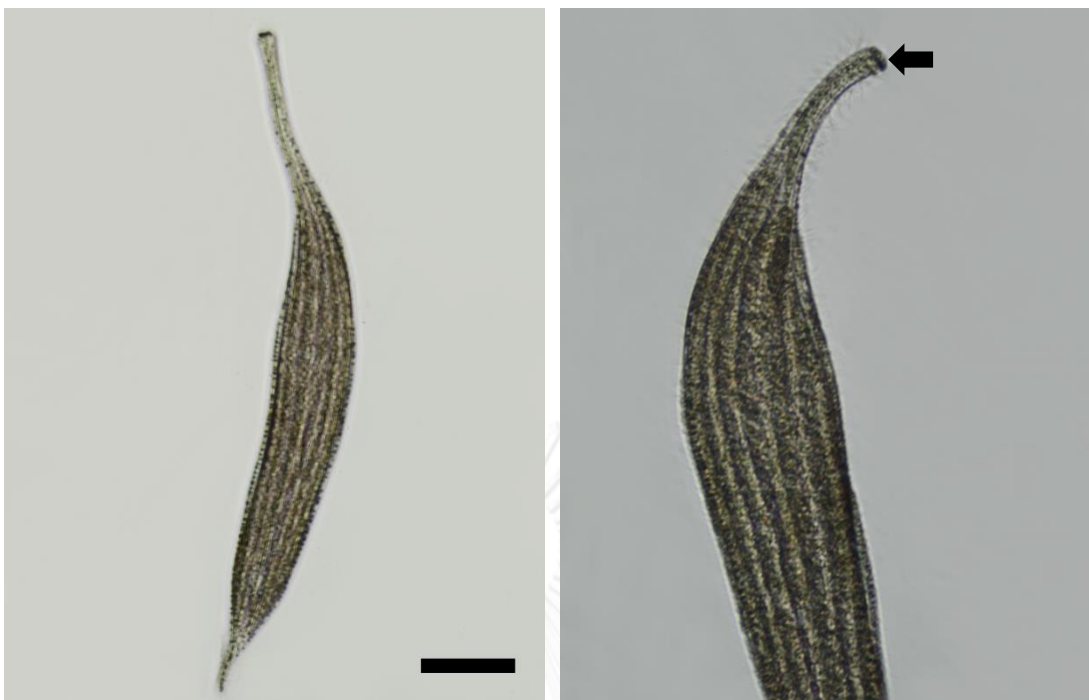
Tracheloraphis sp. 3 (ภาพที่ 26) เซลล์มีส่วนหัวลักษณะตัดตรงหรือมีสีเข้ม ขยายออกเล็กน้อย ส่วนกลางถึงท้ายลำตัวเซลล์กว้างและขยายออกมองเห็นลายริ้วชัดเจน ส่วนหางแหลม เซลล์ในขณะยึดตัวมีความยาวอยู่ในช่วง 699-839 ไมโครเมตร กว้าง 43-57 ไมโครเมตร และในขณะหดตัวเซลล์แสดงลักษณะผิวเซลล์เป็นคลื่นและพบบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีสีเข้มขึ้น มีความยาวในขณะหดตัวประมาณ 499 ไมโครเมตร ส่วนกว้างที่สุดกว้าง 86 ไมโครเมตร



ภาพที่ 24 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Tracheloraphis* sp. 2, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่พองออกคล้ายรูปกระบอกและมีสีเข้ม



ภาพที่ 25 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Tracheloraphis* sp. 2, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีลักษณะตัดตรง ซึ่งอาจเป็นความแปรผันที่พบภายในชนิด (เทียบกับภาพที่ 24)



ภาพที่ 26 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Tracheloraphis* sp. 4, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีลักษณะตัดตรง

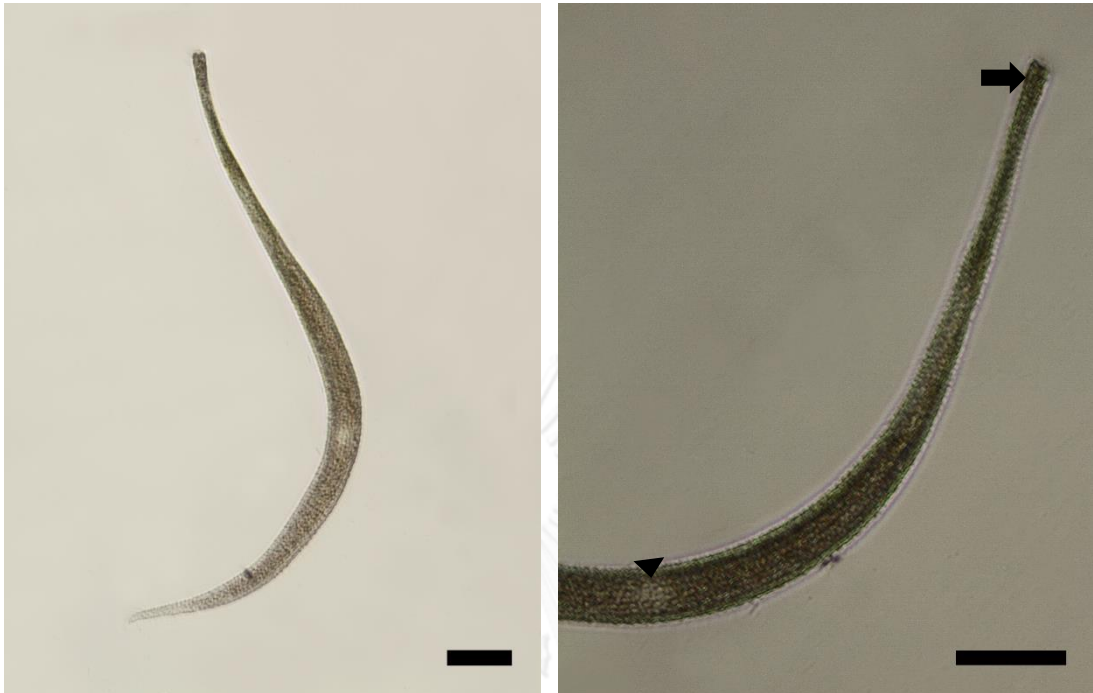
ซีเลียเดกกลุ่ม *trachelocercid* (ภาพที่ 27-29)

เซลล์ในกลุ่มนี้โดยทั่วไปมีรูปร่างคล้ายหนอน มีความไวต่อการสัมผัส และหลายชนิดเซลล์สามารถหดตัวสั้นลง เมื่อเทียบกับความยาวเซลล์ตามปกติ โดยเซลล์ที่พบยังขาดข้อมูลในขณะที่เซลล์กำลังหดตัวเล็กที่สุด และข้อมูลการจัดเรียงของซีเลียบริเวณผิวเซลล์ ซึ่งเป็นลักษณะเบื้องต้นในการจำแนกความแตกต่างระหว่างสกุล *Trachelocerca*, *Trachelonema* และ *Tracheloraphis*

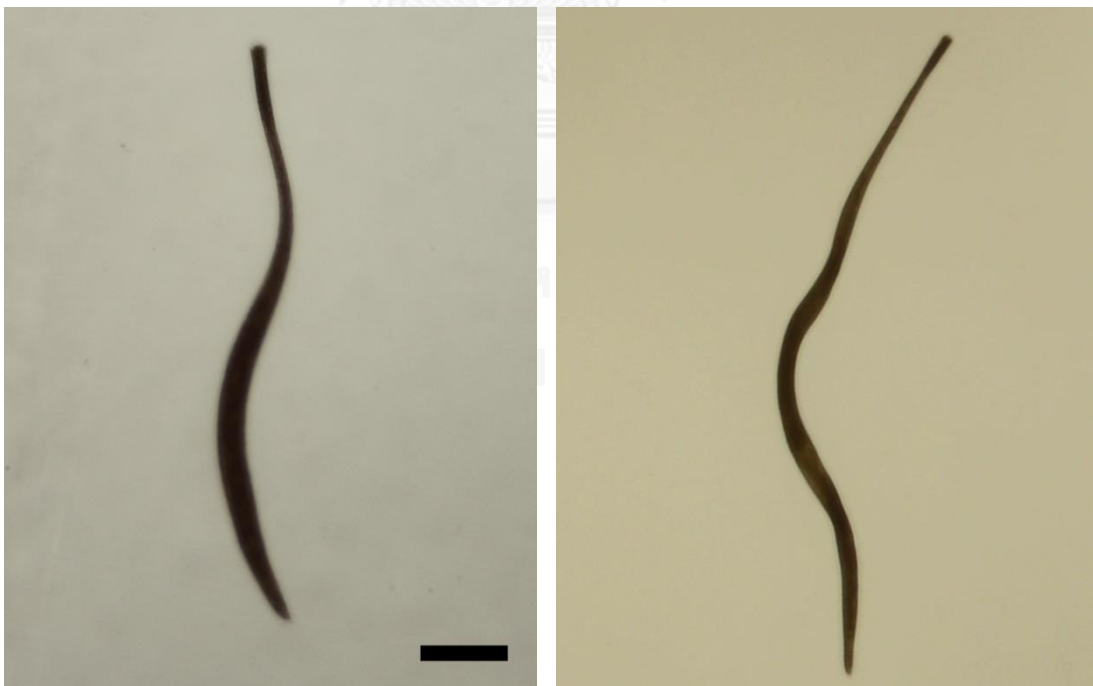
***trachelocercid* 1** (ภาพที่ 27) เซลล์ยาวคล้ายหนอน ส่วนหัวของเซลล์ตัดตรงและขยายออกเล็กน้อย บริเวณตรงกลางของปากเซลล์มีลักษณะเว้าเข้ามาทางด้านใน ส่วนท้ายของเซลล์ยาวแหลมคล้ายหาง เซลล์มีซีเข็มเล็กน้อยและเข็มสม่ำเสมอเกือบทั่วทั้งเซลล์ ยกเว้นบริเวณกลางตัว เซลล์ที่พบบริเวณสีอ่อนที่มีลักษณะเป็นวง เซลล์มียาวรีไปตามแนวยาวของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 567 ไมโครเมตร กว้าง 26 ไมโครเมตร

***trachelocercid* 2** (ภาพที่ 28) เซลล์ยาวคล้ายหนอน ส่วนหัวของเซลล์ตัดตรงและขยายออกเล็กน้อย ส่วนท้ายของเซลล์ทู่ พบสารสะสมสีเข็มตลอดทั้งตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 685 ไมโครเมตร กว้าง 30 ไมโครเมตร

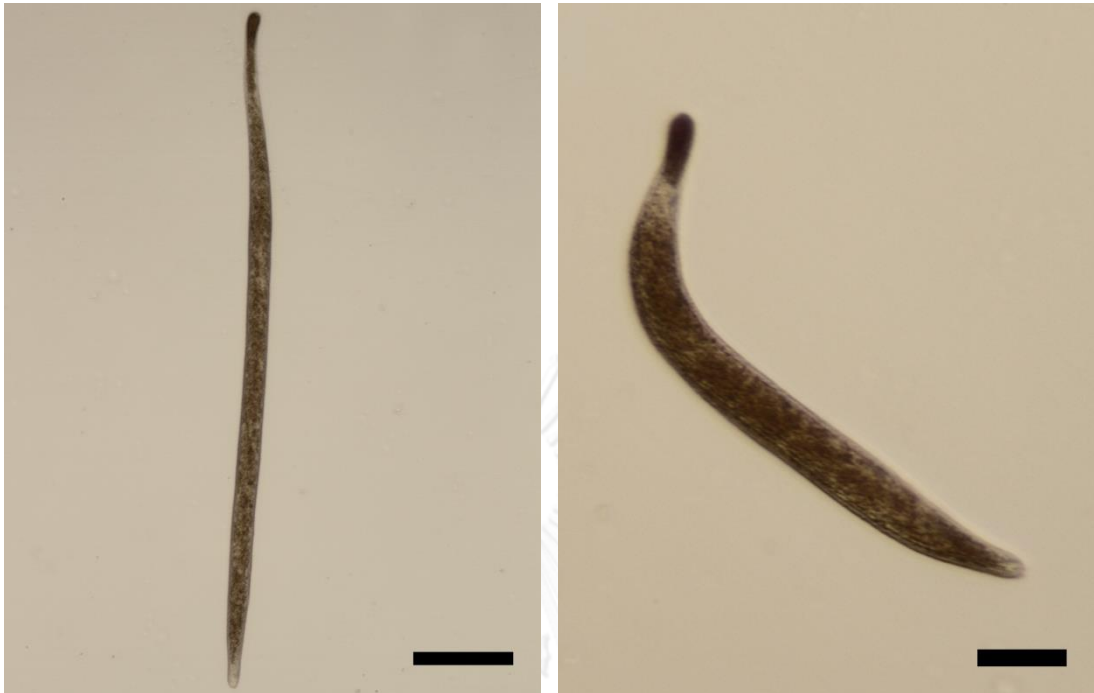
***trachelocercid* 3** (ภาพที่ 29) ตัวเซลล์ยาวกลมคล้ายหนอน ส่วนหัวของเซลล์พองออกคล้ายกระบองและมีสีเข็ม โดยส่วนหัวจะมีสีเข็มมากกว่าบริเวณตัวเซลล์ ในขณะที่หดตัวเซลล์มีความยาวประมาณ 693 ไมโครเมตร กว้าง 24 ไมโครเมตร และในขณะที่หดตัวเซลล์มีความยาวประมาณ 357 กว้าง 33 ไมโครเมตร



ภาพที่ 27 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelocercid 1, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาถูกตัดแสดงบริเวณส่วนหัวของเซลล์ที่มีลักษณะตรงทู่ ส่วนบริเวณสีอ่อนที่มีลักษณะเป็นวงอาจเป็นตำแหน่งของนิวเคลียส (หัวลูกศร)



ภาพที่ 28 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelocercid 2, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังเคลื่อนที่



ภาพที่ 29 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelocercid 3, สเกล 100 μm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังหดตัว, สเกล 50 μm

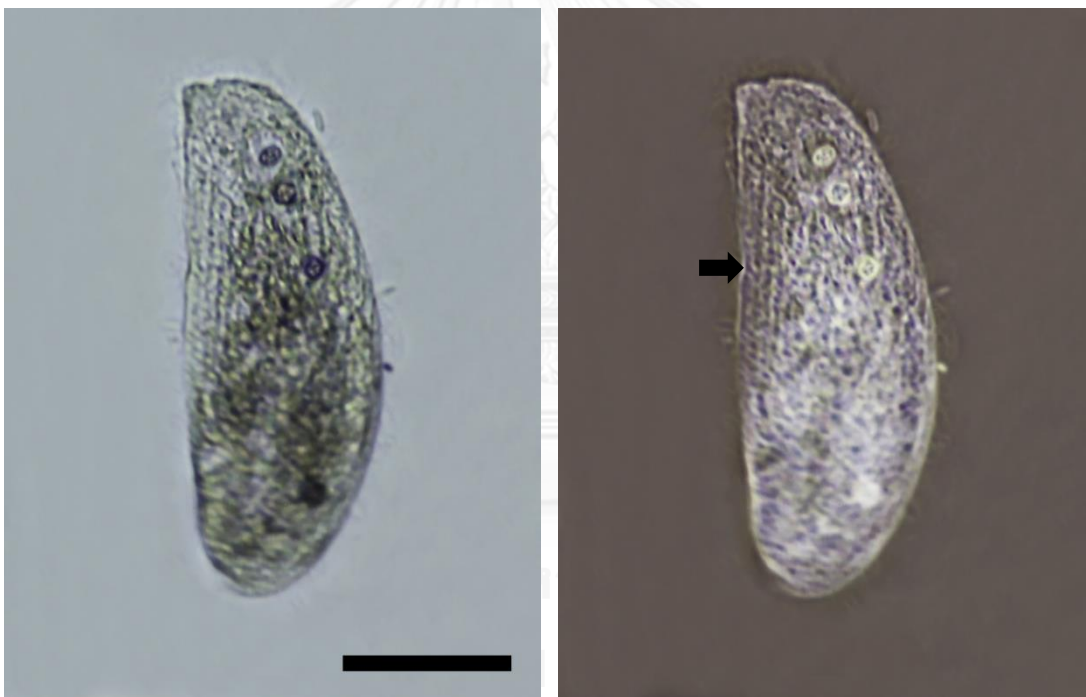
Order **Loxodida** Jankowski, 1980

Family **Loxodidae** Bütschli, 1889

Genus **Loxodes** Ehrenberg, 1830 (ภาพที่ 30)

ซิติเอตสกุลนี้รูปร่างกลมรีหรือยาว เซลล์มีถุง (vesicle) ที่เรียกว่า “Müller’s bodies” เห็นได้ชัดเจน ซิติเอตสกุลนี้เซลล์มีลักษณะคล้ายกับสกุล *Remanella* ต่างกันที่ส่วนท้ายของเซลล์สกุล *Loxodes* ไม่มีลักษณะยาวแหลมเป็นหางเหมือนใน *Remanella*

Loxodes cf. striatus (ภาพที่ 30) เซลล์มีลายตามแนวยาวของตัวเซลล์ พบถุง Müller’s bodies ที่มีรูปร่างเป็นเม็ดกลมชัดเจนจำนวน 4 ถุง ด้านหน้าตัวเซลล์เหนือปากมีลักษณะแหลมคล้ายจะงอยเล็ก ๆ ด้านท้ายของเซลล์มน เซลล์ที่พบยาวและกว้างเท่ากับ 109 และ 44 ไมโครเมตร ตามลำดับโดยซิติเอตที่พบมีลักษณะใกล้เคียงกับ *Loxodes cf. striatus* แต่มีขนาดเล็กกว่าที่พบรายงานไว้



ภาพที่ 30 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง *Loxodes cf. striatus*, สเกล 30 μm ภาพด้านขวาถูกแสดงลายตามยาวที่พบบนตัวเซลล์

Genus *Remanella* Kahl, 1933 (ภาพที่ 31-33)

เป็นซิลิเอตสกุลที่บอบบาง ซึ่งจำเพาะกับถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย เซลล์มีถุง (vesicle) ที่เรียกว่า “Müller’s bodies” จำนวนหนึ่งหรือหลายถุง ปลายเซลล์มีลักษณะแหลมรูปร่างคล้ายหางชัดเจน

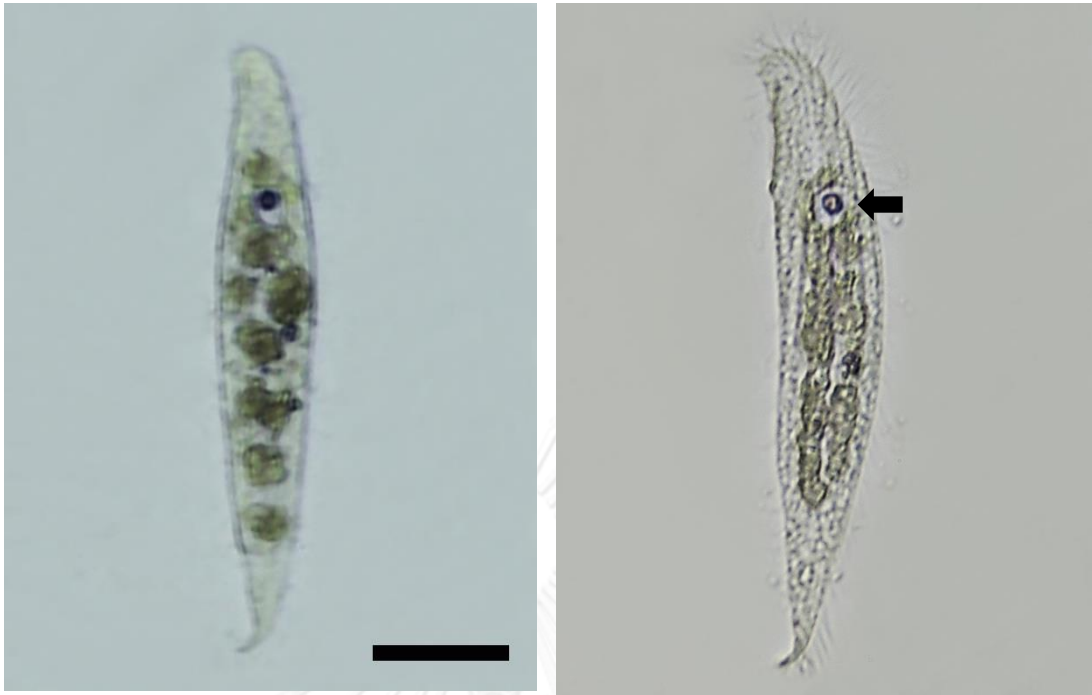
Remanella sp. 1 (ภาพที่ 31) ด้านหน้าของตัวเซลล์เหนือบริเวณปากมีลักษณะคล้ายจะงอยเล็ก ๆ สังเกตเห็นถุง Müller’s bodies ที่มีเป็นลักษณะเม็ดกลมอย่างน้อยจำนวน 5 ถุง ด้านท้ายของเซลล์มีลักษณะยาวคล้ายหางแหลม เซลล์มีขนาดยาวประมาณ 142-200 ไมโครเมตร กว้าง 32-40 ไมโครเมตร

Remanella sp. 2 (ภาพที่ 32) ตัวเซลล์รียาว ด้านท้ายเซลล์แหลมคล้ายส่วนหาง สังเกตเห็นถุง Müller’s bodies จำนวน 1 ถุง พบสารสะสมสีน้ำตาลภายในไซโทพลาสซึม เซลล์มีขนาดยาวประมาณ 131-132 ไมโครเมตร กว้าง 22-23 ไมโครเมตร

Remanella sp. 3 (ภาพที่ 33) ตัวเซลล์มีขนาดใหญ่ยาวประมาณ 367 ไมโครเมตร กว้าง 56 ไมโครเมตร พบร่องและลายริ้วได้ตลอดตัวเซลล์ พบ Müller’s bodies เพียงหนึ่งถุง ปากเซลล์มีขนาดใหญ่ ส่วนด้านท้ายเซลล์เรียวแหลมคล้ายส่วนหาง



ภาพที่ 31 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Remanella* sp. 1, สเกล 50 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดง Müller’s bodies ซึ่งมีจำนวน 5 ถุง, สเกล 30



ภาพที่ 32 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง *Remanella* sp. 2, สเกล 30 μm ภาพด้านขวาถูกครแสดง Müller's bodies ภายในเซลล์



ภาพที่ 33 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Remanella* sp. 3, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาถูกครแสดง Müller's bodies และหัวถูกครแสดงบริเวณปากเซลล์

Order Protoheterotrichida Nouzarède, 1977

Family Geleiidae Kahl, 1933

Genus *Avelia* (Nouzarède, 1975) Nouzarède, 1976 (ภาพที่ 34)

ซีลีเอตรูปร่างคล้ายหนอน เป็นสกุลที่มีขนาดใหญ่ โดยมีความยาว 1-3 มิลลิเมตร สมาชิกในสกุลทุกชนิดมีความสามารถในการหดตัวได้สูง ตัวเซลล์แบ่งได้เป็นสามส่วนชัดเจน ส่วนแรกคือ บริเวณคอเซลล์ที่ยาวไปจนถึงส่วนปลายที่แผ่คลุมลักษณะคล้ายจะงอยปากเล็ก ๆ ส่วนที่สองคือ บริเวณกลางลำตัวของเซลล์ซึ่งจะมีกลุ่มนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง และส่วนสุดท้ายคือส่วนหางที่มีลักษณะกว้างหรือยาวและแบน ช่องเปิดของปากเซลล์มีลักษณะเป็นร่องยาว (slit-like) ตั้งอยู่บริเวณหนึ่งในสี่ของความยาวลำตัว สมาชิกทั้งหมดในสกุลนี้แสดงการบิดเป็นเกลียว และมีการเคลื่อนที่แบบบิดตัวในขณะว่ายน้ำ

Avelia cf. martinicense (ภาพที่ 34) เซลล์มีขนาดใหญ่ใสน้ำตาล ลำตัวแบ่งเป็นสามส่วนชัดเจน บริเวณรอบช่องเปิดของปากเซลล์ค่อนข้างแบน เซลล์ที่พบมีความยาวในขณะยืดตัวประมาณ 1,561-1,646 ไมโครเมตร ในขณะที่ *Avelia martinicense* Nouzarède, 1975 มีความยาวในขณะยืดตัวถึง 3 มิลลิเมตร (3,000 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 34 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Avelia cf. martinicense*, สเกล 100 μm ภาพด้านขวาถูกครีแสดงช่องปากของเซลล์

Class **Heterotrichea** Stein, 1859

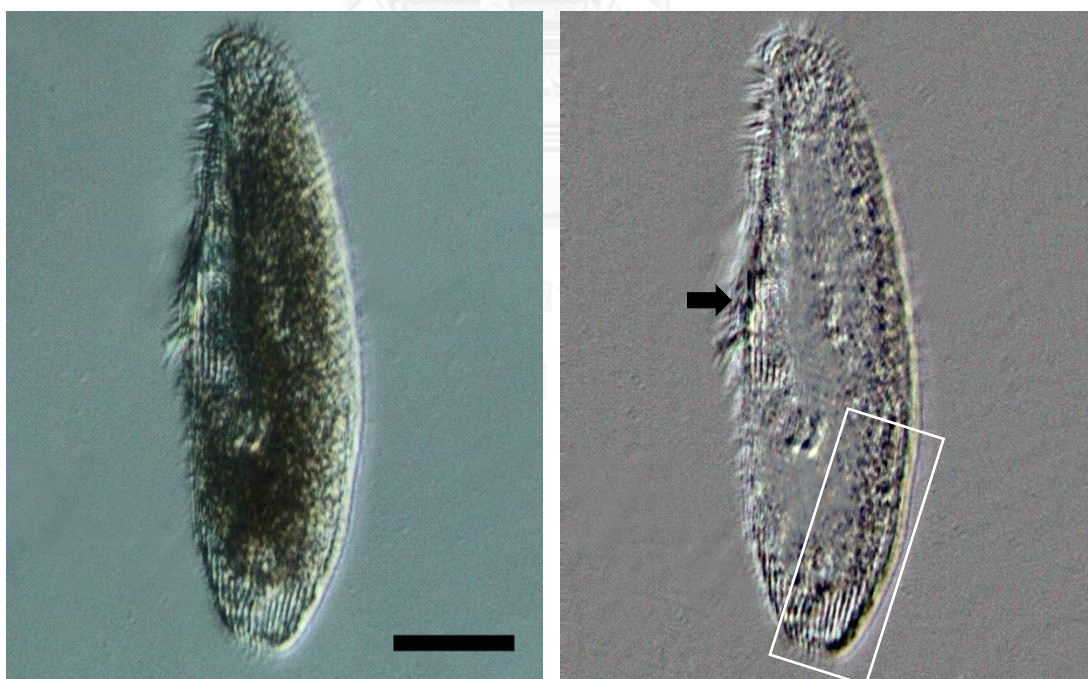
Order **Heterotrichida** Stein, 1859

Family **Blepharismidae** Jankowski in Small and Lynn, 1985

Genus **Anigsteinia** Isquith, 1968 (ภาพที่ 35)

ตัวเซลล์ยาวมีระบบช่องของคอนแทร็กไทล์แควิวโอล (a lacunar contractile vacuole system) บริเวณด้านซ้ายของปากเซลล์มีแฟงซีเลียประกอบ (adoral zone of membranelles: AZM) ที่พัฒนาชัดเจน ส่วนด้านขวามีเยื่ออันดูเลติง (undulating membrane: UM) ที่เห็นได้ไม่ชัดเจน เซลล์หดตัวได้เล็กน้อยแต่ตัวเซลล์จะไม่บิด ซีเลียบริเวณตัวเซลล์ทางด้านขวาจะมีตั้งแต่บริเวณด้านหน้า (anterior) ไปจนถึงด้านหลัง (posterior) ของเซลล์ ขณะที่ซีเลียบริเวณด้านซ้ายจะยาวไปจนถึงส่วนของ AZM เท่านั้น

Anigsteinia cf. salinarum (ภาพที่ 35) เซลล์ยาว เซลล์ด้านหลังกว้างกว่าทางด้านหน้า ปลายเซลล์ด้านหน้าโค้งเหนือบริเวณปาก ปากเซลล์ยาวประมาณครึ่งหนึ่งของตัวเซลล์ เซลล์มีคอนแทร็กไทล์แควิวโอลขนาดใหญ่และมีร่องทางด้านหลัง (dorsal canal) ที่ทำงานร่วมกันยาวไปทางด้านหน้าประมาณครึ่งหนึ่งของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 275 ไมโครเมตร และมีส่วนที่กว้างที่สุดขนาด 77 ไมโครเมตร โดยซีเลียเอตที่พบมีลักษณะใกล้เคียงกับ *Anigsteinia salinarum* (Florentin, 1899) Isquith and Repak, 1974 แต่มีขนาดเล็กกว่าที่เคยรายงานไว้และยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะของนิวเคลียส ซึ่ง *Anigsteinia salinarum* จะมีความยาวเซลล์ 350 ไมโครเมตร และมีแมโครนิวเคลียสที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยกลมรี 10 หน่วย



ภาพที่ 35 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Anigsteinia cf. salinarum*, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาลูกศรแสดงแฟงซีเลียประกอบ AZM ส่วนกรอบสีขาวแสดงระบบช่องคอนแทร็กไทล์แควิวโอล

Family *Condyllostomatidae* Kahl in Doflein and Reichenow, 1927-9

Genus *Condylostoma* Bory de St. Vincent, 1824 (ภาพที่ 36-37)

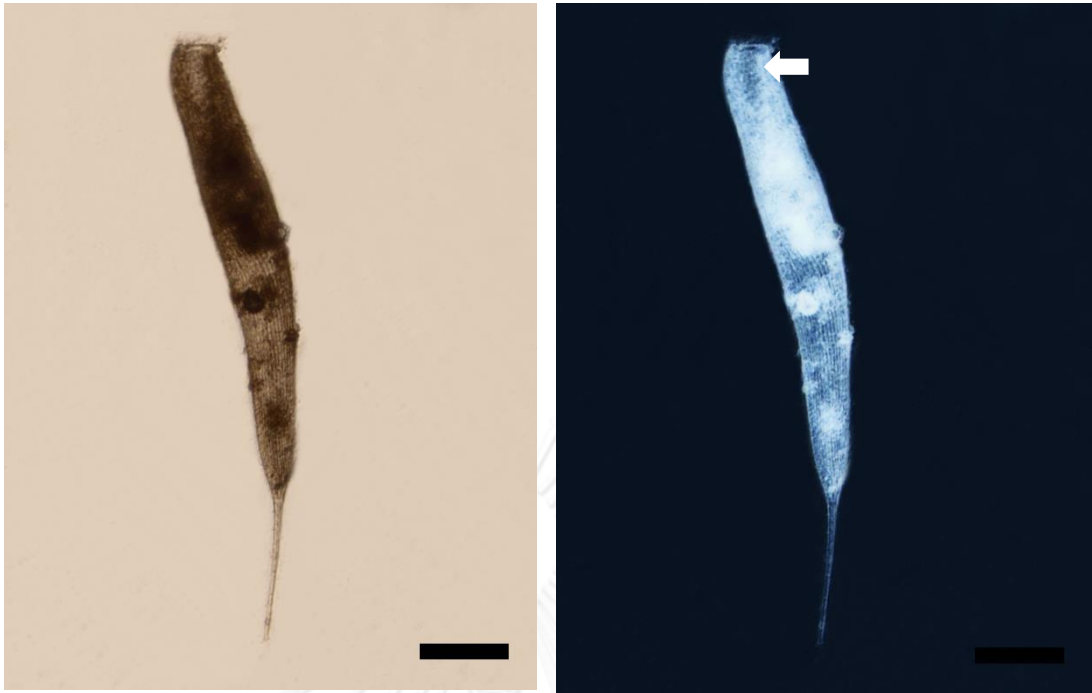
เซลล์รูปร่างกลมรีหรือยาว มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ปากเซลล์กว้างประกอบด้วย AZM ขนาดใหญ่ ด้านตรงข้าม AZM ของช่องปากมีเยื่อ UM ขนาดใหญ่ และอาจมีกระจุกซิเลียขนาดเล็ก (small cirri) อยู่ในบริเวณนี้หากย้อมสีด้วยโลหะเงิน (silver staining) แมโครนิวเคลียสปกติรูปร่างเป็นรูปลูกปัด (moniliform) ไม่พบคอนแทร็กไทล์แควคิวโอล *Condylostoma* บางชนิดเซลล์สามารถหดตัวได้ ซิเลียตในสกุลนี้พบได้บ่อย

Condylostoma arenarium Spiegel, 1926 (ภาพที่ 36) เซลล์ยาวทรงกระบอก ส่วนปลายหางมน ปากเซลล์สั้นและกว้าง เซลล์ที่พบมีความยาว 586 ไมโครเมตร กว้าง 122 ไมโครเมตร ส่วนในขณะหดตัวมีความยาวและความกว้างอยู่ในช่วง 371-395 ไมโครเมตร และ 118-122 ไมโครเมตร ตามลำดับ

Condylostoma cf. enigmatica (ภาพที่ 37) เซลล์มีขนาดใหญ่ ยาวรูปร่างทรงกระบอก มีความยาวประมาณ 525-700 ไมโครเมตร กว้าง 53-77 ไมโครเมตร ช่องปากกว้างอยู่ทางด้านหน้าสุดและยาวหนึ่งในแปดของตัวเซลล์ ส่วนด้านท้ายของเซลล์มีรูปร่างเหมือนหางยาวแหลมคล้ายเข็ม เหมือนกับที่พบใน *Condylostoma enigmatica* Dragesco, 1954 แต่ขณะเดียวกันเซลล์ที่พบมีขนาดของช่องปากและขนาดของตัวเซลล์ที่เล็กกว่าที่รายงานไว้



ภาพที่ 36 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Condylostoma arenarium*, สเกล 60 μm ภาพด้านขวาแสดงแฉวยของซิเลียร่างกายที่ปรากฏเป็นลายบนตัวเซลล์



ภาพที่ 37 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Condyllostoma cf. enigmatica*, สเกล 100 μm เซลล์ที่พบมีส่วนท้ายเซลล์ซึ่งมีลักษณะเป็นหางยาวแหลมคล้ายเข็ม ส่วนภาพด้านขวาถูกตรึงแสดงบริเวณช่องปากเซลล์

Phylum **Ciliophora** Doflein, 1901 (ต่อ)

Subphylum **Intramacronucleata** Lynn, 1996

Class **Spirotrichea** Bütschli, 1889

Subclass **Protocruziidia** de Puytorac, Grain and Mignot, 1987

Order **Protocruziida** Jankowski, 1980

Family **Protocruziidae** Jankowski, 1980

Genus **Protocruzia** de Faria, da Cunha, and Pinto, 1922 (ภาพที่ 38)

ซิลิเอตรูปร่างกลมรีถึงรียาว ตัวเซลล์แบนเล็กน้อยในแนวหลัง-ท้อง และมีบริเวณปากที่มีลักษณะเฉพาะของสกุล ผิวเซลล์ด้านหลังมีซิเลียร่างกายที่ลดรูปในขณะที่ผิวเซลล์ด้านท้องมีแถวซิเลียที่เจริญดี ซึ่งอาจมีลักษณะเป็นเกลียวหรือมีลักษณะขวางตามแนวยาวของตัวเซลล์ ปากอยู่บริเวณด้านบนสุดของตัวเซลล์ และอาจยาวอย่างน้อยหนึ่งในสามของความยาวลำตัวในชนิดที่เซลล์มีรูปร่างกลมรี ระบบซิเลียในช่องปากเจริญดีมาก และสามารถเห็นได้แม้ที่กำลังขยายตัว แมโครนิวเคลียสมีขนาดใหญ่

Protocruzia sp. (ภาพที่ 38) เซลล์รูปร่างกลมรี ตัวเซลล์มีปากอยู่ทางด้านปลายสุดของเซลล์ มีความยืดหยุ่นเล็กน้อย เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 39 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 25 ไมโครเมตร



ภาพที่ 38 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Protocruzia* sp., สเกล 10 μm ภาพด้านขวาถูกตรึงแสดงลักษณะของปากเซลล์

Subclass *Hypotrichia* Stein, 1859

Order *Euplotida* Small and Lynn, 1985

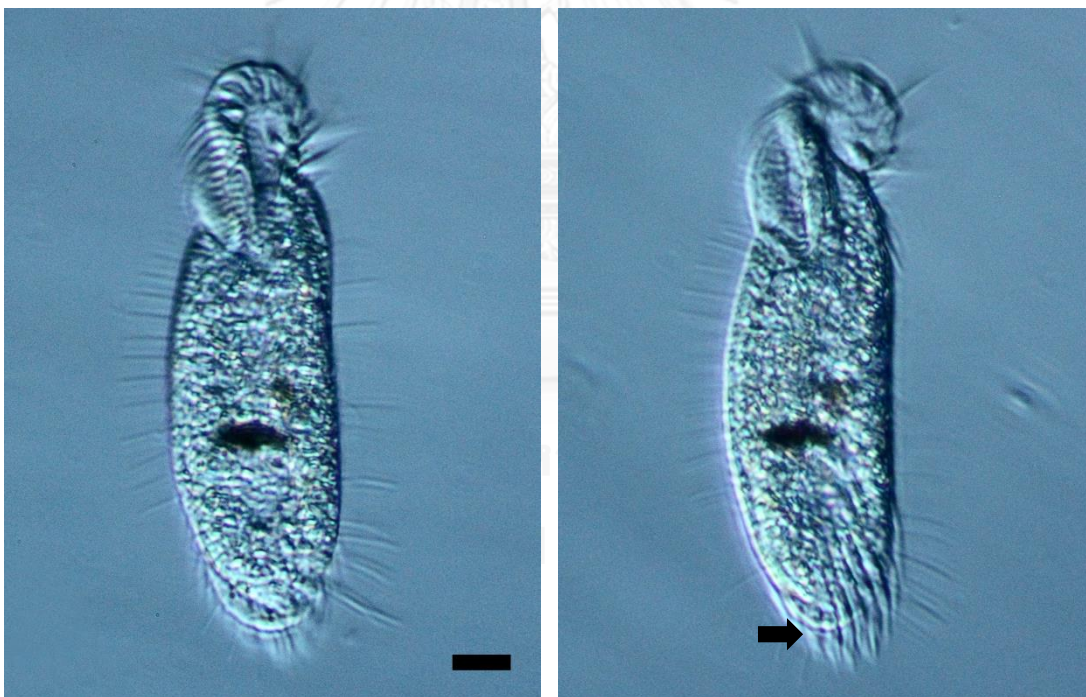
Suborder *Discocephalina* Wicklow, 1982

Family *Discocephalidae* Jankowski, 1979

Genus *Prodiscocephalus* Jankowski, 1979 (ภาพที่ 39)

เซลล์รูปร่างยาวรีและมีส่วนเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายหัวเห็นได้ชัดเจน มีแถวของแถบซีเลีย (membranelle) ขนาดใหญ่อยู่ที่ส่วนปลายด้านบน และมีกระจุกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ (marginal cirri) ทั้งด้านขวาและด้านซ้าย ซึ่งกระจุกซีเลียดังกล่าวจะไม่ลุ่ไปทางด้านหลัง กระจุกซีเลียตามขวางเจริญดี พบกระจุกซีเลียทางด้านท้าย

Prodiscocephalus sp. (ภาพที่ 39) เซลล์รูปร่างยาว มีลักษณะของบริเวณที่คล้ายส่วนหัวเห็นได้ชัดเจน พบกระจุกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ทั้งด้านขวาและด้านซ้ายของตัว-เซลล์ โดยมีกระจุกซีเลียตามขวาง 6 กระจุก เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 102-138 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 30-37 ไมโครเมตร



ภาพที่ 39 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Prodiscocephalus* sp., สเกล 10 μ m ภาพขวาถูกครีสีดำแสดงกระจุกซีเลียตามขวาง (transverse cirri)

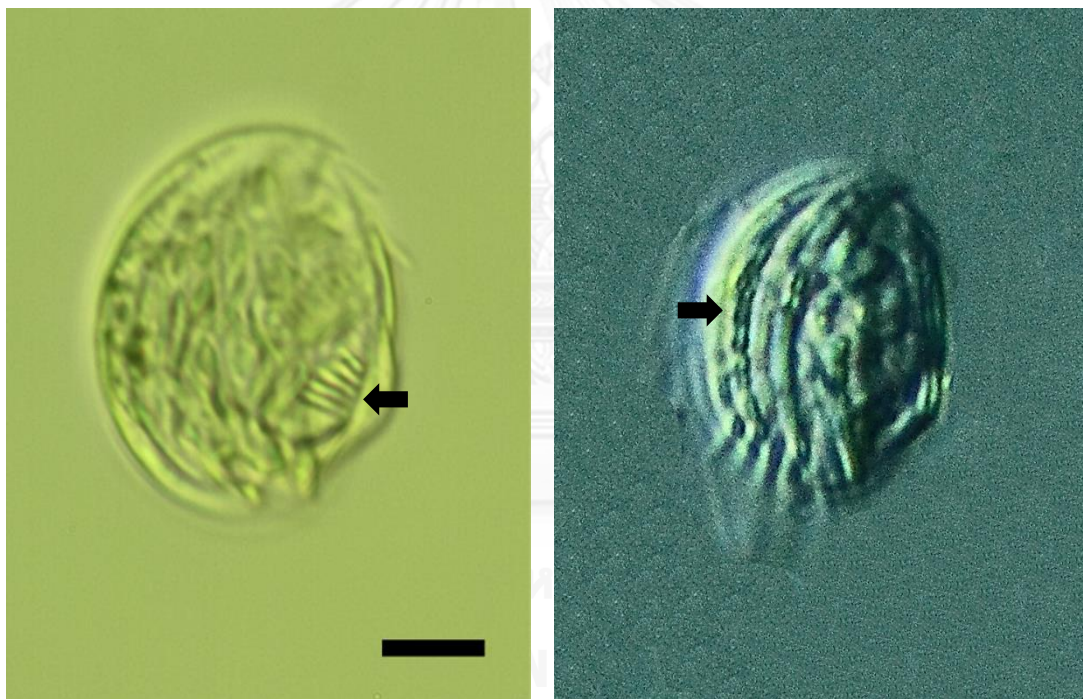
Suborder **Euplotina** Jankowski, 1979

Family **Aspidiscidae** Ehrenberg, 1830

Genus **Aspidisca** Ehrenberg, 1830 (ภาพที่ 40)

เซลล์กลมรีขนาดเล็ก ด้านหลังของตัวเซลล์โค้งและค่อนข้างคงตัว ด้านท้องเซลล์แบนและมีกระจุกซิเลีย ด้านขวาของเซลล์โค้ง ส่วนด้านซ้ายของเซลล์อาจพบรอยหยักในบางครั้ง พื้นผิวด้านหลังของเซลล์อาจเรียบหรืออาจพบมีลวดลาย ระบบแฟงซิเลียแบ่งออกเป็นสองส่วน แฟงซิเลียส่วนหลังทำหน้าที่เป็นปากเซลล์ ในขณะที่ส่วนหน้าเรียกว่า anterior ciliary organelle

Aspidisca sp. (ภาพที่ 40) เซลล์รูปร่างกลมรีแบนและมีขนาดเล็ก ตัวเซลล์ทางด้านขวามีลักษณะโค้ง ในขณะที่ตัวเซลล์ทางด้านซ้ายพบลักษณะแบนพื้นเล็กน้อย ทางด้านท้องของตัวเซลล์ประกอบด้วยกระจุกซิเลียและมีช่องปากอยู่ด้านล่างสุดทางซ้าย โดยเซลล์ที่พบมีความยาว 39-40 ไมโครเมตร กว้าง 29-30 ไมโครเมตร



ภาพที่ 40 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Aspidisca* sp., สเกล 10 μm ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงช่องปากซึ่งอยู่ทางด้านท้องส่วนท้ายของตัวเซลล์ ส่วนภาพด้านขวาลูกศรแสดงลักษณะของสันโค้งงอที่พบทางด้านหลังของตัวเซลล์

Family Euplotidae Ehrenberg, 1838

Genus *Euplotes* Ehrenberg, 1830 (ภาพที่ 41-44)

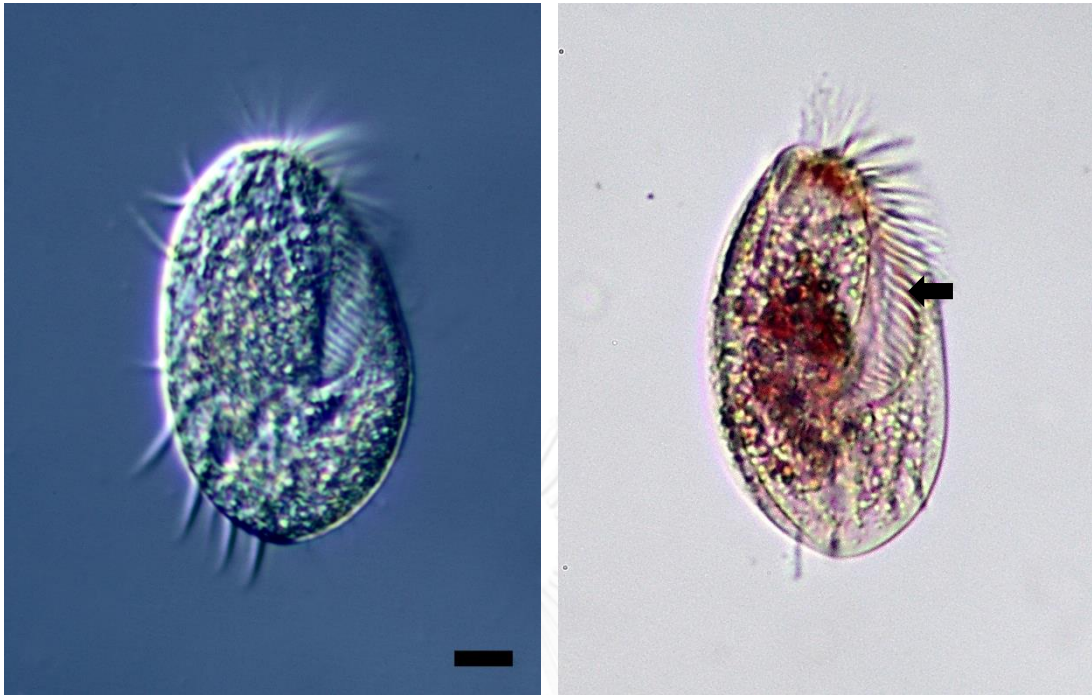
เป็นสกุลที่พบได้ทั่วไปในเขตชีวชาติระหว่างเมดิเตอร์ราเนีย สมาชิกในสกุลนี้มีเซลล์ค่อนข้างกลมรี มีบริเวณปากและแผงซีเลียประกอบ AZM ที่มีขนาดแตกต่างกันอยู่ด้านหน้าทางซ้ายของตัวเซลล์ เซลล์แบนในแนวหลัง-ท้อง และอาจพบลายบริเวณด้านหลังของตัวเซลล์ กระจุกซีเลีย (cirri) ของเซลล์แบ่งออกเป็นสามกลุ่ม คือ กระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า (frontoventral cirri) กระจุกซีเลียตามขวาง (transverse cirri) และกระจุกซีเลียส่วนท้าย (caudal cirri) ซึ่งกลุ่มของกระจุกซีเลียเหล่านี้เป็นลักษณะสำคัญสำหรับการระบุชนิดของ *Euplotes* แมโครนิวเคลียสมีรูปร่าง 3 แบบขึ้นกับชนิด คือ อาจมีรูปร่างแบบตัว C, มีรูปร่างเหมือนเลข 3 หรือมีรูปร่างแบบเกือบกลม

Euplotes quinquecarinatus Gelei, 1950 (ภาพที่ 41) อ้างอิงตาม Curds (1975) เซลล์มีรูปร่างกลมรี ปากเซลล์มีขนาดประมาณครึ่งหนึ่งของความยาวลำตัว แผงซีเลียประกอบบริเวณปาก (AZM) มีขนาดเล็กประกอบด้วยแผงย่อยอย่างน้อยจำนวน 25 แผง พบสันนูนที่ด้านหลังจำนวน 4 สัน เซลล์มีกระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า 9 กระจุก กระจุกซีเลียตามขวาง 5 กระจุก กระจุกซีเลียส่วนท้าย 4 กระจุก เซลล์มีแมโครนิวเคลียสรูปตัวซี และพบคอนแทกโทลล์แควิวโอลจำนวน 1 อันทางด้านท้ายเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 66-81 ไมโครเมตร กว้าง 45-54 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดยาวกว่าที่รายงานไว้ใน Curds (1975)

Euplotes rariseta Curds, West and Dorahy, 1974 (ภาพที่ 42) อ้างอิงตาม Curds, West, and Dorahy (1974) เซลล์รูปร่างกลมรี แผงซีเลียประกอบบริเวณปาก AZM ยาวสองในสามของความยาวตัวเซลล์ เซลล์ด้านท้องพบสันนูนจำนวน 3 สัน มีกระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า 10 กระจุก กระจุกซีเลียตามขวาง 5 กระจุก และกระจุกซีเลียส่วนท้าย 3 กระจุก นิวเคลียสรูปตัวเอส และพบคอนแทกโทลล์แควิวโอลจำนวน 1 อันทางด้านท้ายเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 36-42 ไมโครเมตร กว้าง 27-30 ไมโครเมตร

Euplotes vannus (Müller, 1786) Minkjewicz, 1901 (ภาพที่ 43) อ้างอิงตาม Marine species identification portal (2013) เซลล์มีรูปร่างยาวรี ช่องปากแคบ และอาจยาวถึงสามในสี่ของความยาวลำตัว พบกระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า 10 กระจุก กระจุกซีเลียตามขวาง 5 กระจุก กระจุกซีเลียส่วนท้าย 3 กระจุก เซลล์ที่พบมีความยาว 101-109 ไมโครเมตร กว้าง 51-64 ไมโครเมตร

Euplotes cf. vannus (ภาพที่ 44) อ้างอิงตาม Marine species identification portal (2013) เซลล์มีรูปร่างยาวรี ช่องปากมีขนาดสามในสี่ของความยาวลำตัว พบกระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า 10 กระจุก กระจุกซีเลียตามขวาง 5 กระจุก กระจุกซีเลียส่วนท้าย 2 กระจุก มีแมโครนิวเคลียสรูปแบบเกือบกลมหรือรูปตัว C เซลล์ที่พบมีความยาว 83-95 ไมโครเมตร กว้าง 44-45 ไมโครเมตร



ภาพที่ 41 ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Euplotes quinquecarinatus*, สเกล 10 μm ขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิคใช้แสงธรรมดา แสดงนิวเคลียสรูปตัว C สีแดงหลังการย้อมด้วยสี neutral red และลูกศรแสดงแฟงซีเลียประกอบ AZM



ภาพที่ 42 ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Euplotes rariseta*, สเกล 20 μm ขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิคใช้แสงธรรมดา แสดงนิวเคลียสรูปตัว S สีแดงหลังการย้อมด้วยสี neutral red



ภาพที่ 43 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Euplotes vannus*, สเกล 20 μm ภาพด้านขวาแสดงกระจุกซีเลีย (cirri) ที่บริเวณต่าง ๆ ทางด้านท้องของเซลล์



ภาพที่ 44 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Euplotes cf. vannus*, สเกล 20 μm ภาพด้านขวาแสดงลักษณะนิวเคลียสรูปตัวซีสีแดง หลังการย้อมด้วยสี neutral red

Family *Gastrocirrhidae* Fauré-Fremiet, 1961

Genus *Euplotidium* Noland, 1937 (ภาพที่ 45)

เป็นซีเลียตที่มีรูปร่างกลมรีหรือยืดยาว เซลล์ในภาคตัดขวางมีรูปร่างรีไข่หรือเป็นทรงกระบอก ไม่มีลักษณะแบนในแนวท้อง-หลัง บริเวณปากเซลล์กว้างเป็นรูปสามเหลี่ยม และมีแผงซีเลียประกอบ AZM เห็นได้ชัดเจน มีกระจุกซีเลียด้านท้องส่วนหน้าและกระจุกซีเลียตามขวางและอาจพบกระจุกซีเลียส่วนท้ายที่ลดจำนวน

Euplotidium sp. (ภาพที่ 45) เซลล์รูปร่างยาว ปากเซลล์กว้างยาวสามในสี่ของความยาวลำตัว เซลล์ที่พบมีขนาดยาวประมาณ 97 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 52 ไมโครเมตร



ภาพที่ 45 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Euplotidium* sp., สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาถูกสรแสดงบริเวณปากเซลล์ที่กว้างเป็นรูปสามเหลี่ยม และมีแผงซีเลียประกอบ AZM เห็นได้ชัดเจน

Family Uronychiidae Jankowski, 1975

Genus *Diophrys* Dujardin, 1841 (ภาพที่ 46-47)

เซลล์มีรูปร่างกลมรี หรือมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยม มีขนาดหลากหลาย โดยบริเวณด้านข้างส่วนท้ายทางขวาจะมีลักษณะเว้าลงไปและมีกระจุกซีเลียส่วนท้าย (caudal cirri) ที่มีลักษณะโค้งขนาดใหญ่โผล่ออกมาจำนวน 3 กระจุก ปากเซลล์กว้างและมีแฟงซีเลียประกอบที่เจริญดี เซลล์มีกระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า 5-10 กระจุก กระจุกซีเลียตามขวาง 4-6 กระจุก ซึ่งกระจุกซีเลียตามขวางอาจมีการเจริญจนมีขนาดใหญ่มาก และมีกระจุกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ด้านซ้าย (left marginal cirri) จำนวน 2-3 กระจุก

Diophrys sp. 1 (ภาพที่ 46) เซลล์มีรูปร่างกลมรี พบร่องลึกทางด้านท้ายได้ชัดเจน มีกระจุกซีเลียตามขวาง 5-6 กระจุก และบริเวณขอบเซลล์ด้านซ้าย 2 กระจุก เซลล์ที่พบมีความยาว 107 ไมโครเมตร กว้าง 75 ไมโครเมตร

Diophrys sp. 2 (ภาพที่ 47) เซลล์มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยม มีกระจุกซีเลียตามขวาง 5 กระจุก เซลล์ที่พบมีความยาว 72-73 ไมโครเมตร กว้าง 40-44 ไมโครเมตร



ภาพที่ 46 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Diophrys* sp. 1, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาถูกครแสดงกระจุกซีเลียตามขวาง (transverse cirri) ทางด้านท้องของตัวเซลล์



ภาพที่ 47 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Diophrys* sp. 2, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาแสดงลักษณะของตัวเซลล์ที่มีรูปร่างสี่เหลี่ยม

Genus *Uronychia* Stein, 1859 (ภาพที่ 48)

โดยปกติเซลล์มีรูปร่างกลมรี ขนาดมีความแปรผัน อาจปรากฏลักษณะของสันและร่องบนตัวเซลล์ ปากเซลล์มีขนาดใหญ่และมีแผงซีเลียเห็นได้ชัดเจน แต่ชุดของแผงซีเลี่ยนี้อาจจำกัดอยู่เฉพาะที่บริเวณขอบด้านหน้าและบริเวณข้างปากเซลล์ การจัดเรียงของกระดูกซีเลียประกอบด้วยกระดูก 3 กระดูก ซึ่งยื่นออกมาจากบริเวณจุดกำเนิดของแผงซีเลียประกอบ (adoral zone of membranelles) กระดูกซีเลียตามขวาง 4-5 กระดูก และกระดูกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ด้านซ้าย 2 กระดูก ซึ่งยื่นออกมาจากรอยบุ๋มลึกทางด้านท้อง (ventral concavities) ที่เห็นได้ชัดเจน

Uronychia transfuga (Muller, 1786) Stein, 1859 (ภาพที่ 48) เซลล์กลมรี แต่มีขนาดค่อนข้างแปรผันอยู่ในช่วง 50-260 ไมโครเมตร บริเวณปากกว้างและยาวลงมาเกือบถึงส่วนท้าย แผงซีเลีย (membranelles) ของแผงซีเลียประกอบ AZM เห็นได้ชัดอยู่ทางด้านหน้าของตัวเซลล์ มีเยื่อพารอร์ล (paroral membrane) จำนวน 4-5 แผง อยู่ทางด้านซ้ายของช่องในบริเวณปาก เซลล์มีเยื่ออันเดลูติงขนาดใหญ่ และมีกระดูกซีเลียตามขวาง 4-5 กระดูก ยื่นออกมาจากรอยบุ๋มสองรอยทางส่วนท้องด้านซ้ายเซลล์ ในรอยบุ๋มด้านซ้ายทางซ้ายที่ขนาดเล็กกว่ามีกระดูกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ขนาดใหญ่จำนวน 2 กระดูก และในบางครั้งอาจพบกระดูกซีเลียขนาดเล็กอีกหนึ่งหรือสองกระดูก ที่รอยบุ๋มด้านซ้ายของเซลล์ทางขวามีกระดูกซีเลียด้านท้ายที่มีลักษณะโค้ง 3 กระดูก ผิวเซลล์ด้านหลังตามปกติจะมีลักษณะเป็นสัน 3-4 สัน ในการศึกษาครั้งนี้เซลล์ที่พบมีความยาว 51-83 ไมโครเมตร กว้าง 36-58 ไมโครเมตร ซิลิเอตชนิดนี้พบได้บ่อยมาก



ภาพที่ 48 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Uronychia transfuga*, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาถูกแสดงกระจุกซิเลียตามขวางขนาดใหญ่ จำนวน 5 กระจุก

ซิเลียเอตกลุ่ม hypotrich (ภาพที่ 49-52)

ซิเลียเอตในกลุ่มนี้จัดอยู่ใน Subclass Hypotrichia ซึ่งมีลักษณะร่วมกันคือ มีขนาดเซลล์เล็กถึงปานกลาง ตัวเซลล์แบนในแนวหลัง-ท้อง (dorsoventrally flattened) เซลล์โดยทั่วไปค่อนข้างคงรูป มีรูปร่างตั้งแต่รีไข่ไปจนถึงรูปร่างเหลี่ยม ชิเลียร่างกายมักปรากฏลักษณะเป็นแถว และมีซิเลียที่อยู่รวมกลุ่มกันเป็นกระจุกซิเลีย (cirri) ที่เห็นได้ชัดเจนทางด้านท้อง เซลล์มีซิเลียบริเวณปากพัฒนาเห็นได้ชัดเจน

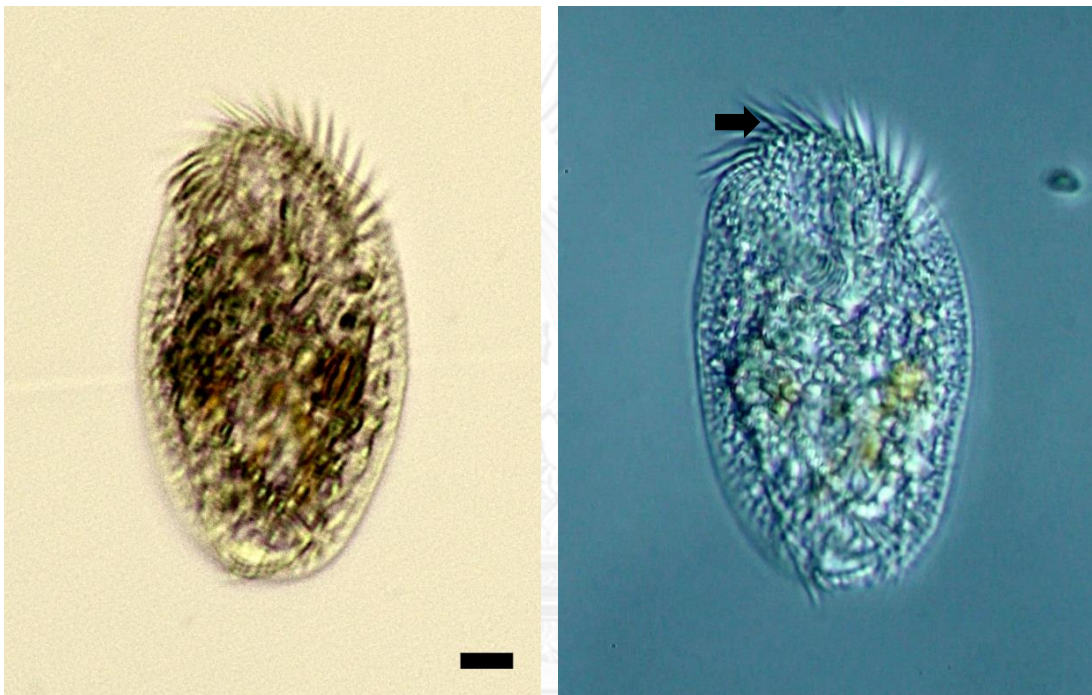
hypotrich 1 (ภาพที่ 49) เซลล์รูปร่างกลมรี มีสารสะสมสีดำเข้มภายในเซลล์ แผงซิเลียประกอบ AZM มีลักษณะโค้งงออยู่ทางด้านหน้าของตัวเซลล์ เซลล์มีความยืดหยุ่นสามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้เล็กน้อย เซลล์มีขนาดแปรผัน โดยพบความยาวอยู่ในช่วง 84-137 ไมโครเมตร และกว้าง 45-55 ไมโครเมตร

hypotrich 2 (ภาพที่ 50) เซลล์รูปร่างยาวรี ส่วนหน้าของตัวเซลล์มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับบริเวณกลางลำตัวที่ขยายออกและบริเวณด้านท้ายของเซลล์ที่มีลักษณะโค้งมน มีสารสะสมสีดำเข้มภายในเซลล์ กระจุกซิเลียทางด้านหน้าและด้านท้ายของเซลล์มีขนาดเล็ก เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 210 ไมโครเมตร กว้าง 71 ไมโครเมตร

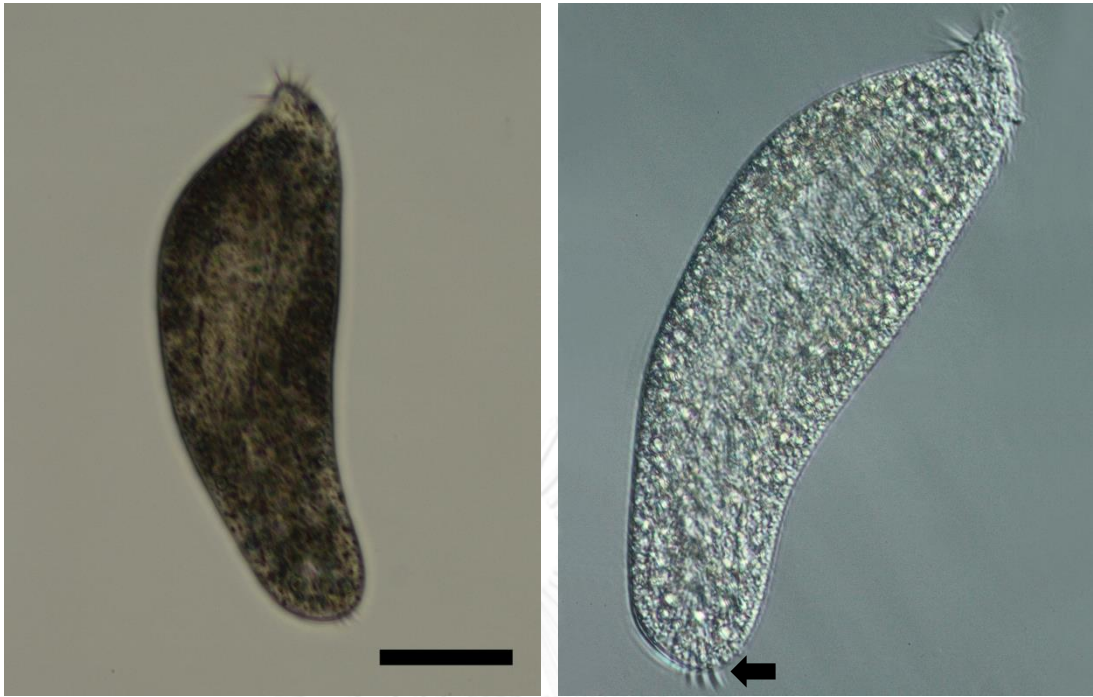
hypotrich 3 (ภาพที่ 51) เซลล์รูปร่างยาวรี มีลักษณะแหลมหัวแหลมท้าย แผงซิเลียประกอบ AZM เห็นได้ชัดเจน โค้งงออยู่ทางด้านหน้าของตัวเซลล์ พบกระจุกซิเลียบริเวณขอบเซลล์ทั้งด้านขวาและด้านซ้าย ส่วนด้านท้ายของเซลล์มีลักษณะเฉพาะ คือ พบกระจุกซิเลียตามขวาง

และพบบริเวณเซลล์ที่ยาวต่อไปคล้ายหางสั้น ๆ รูปตัว V กระจุกซีเลียทางด้านท้ายเซลล์มีขนาดเล็ก เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 145-189 ไมโครเมตร กว้าง 32-41 ไมโครเมตร

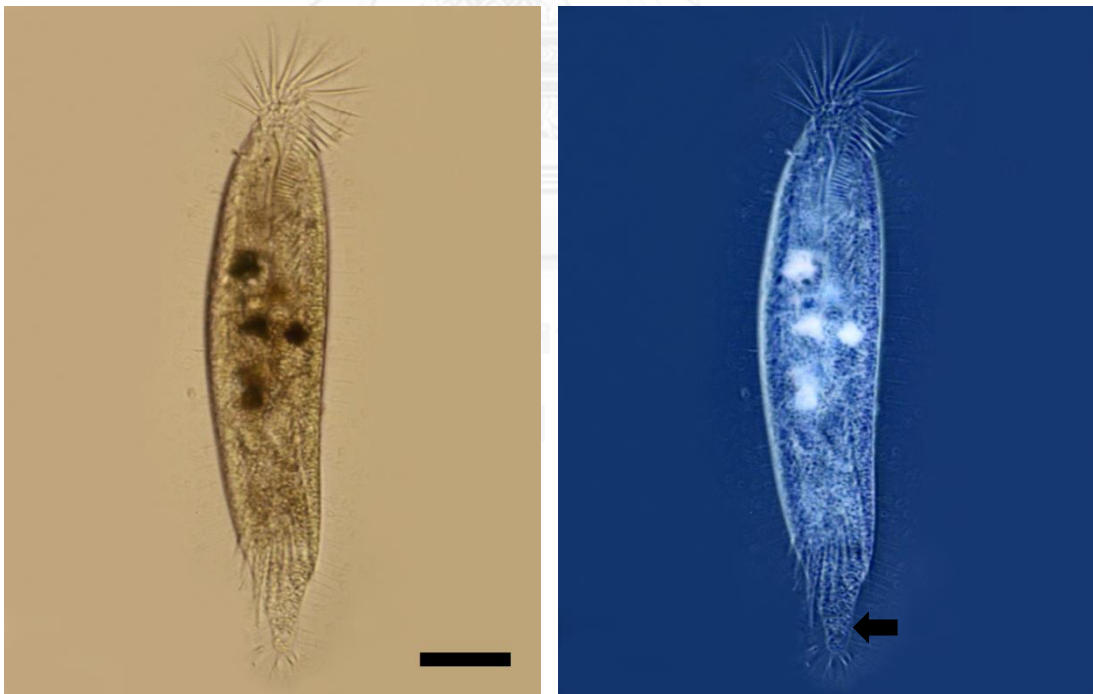
hypotrich 4 (ภาพที่ 52) เซลล์รูปร่างยาวรี ด้านหน้าเซลล์โค้งมน ส่วนทางด้านท้ายมีลักษณะคล้ายหางแหลมเห็นได้ชัดเจน ความยาวหนึ่งในสี่ของความยาวลำตัว พบสารสะสมสีดำเข้มภายในเซลล์ เซลล์มีกระจุกซีเลียยาวทั้งทางด้านหน้าและด้านท้องของเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 163 ไมโครเมตร กว้าง 30 ไมโครเมตร



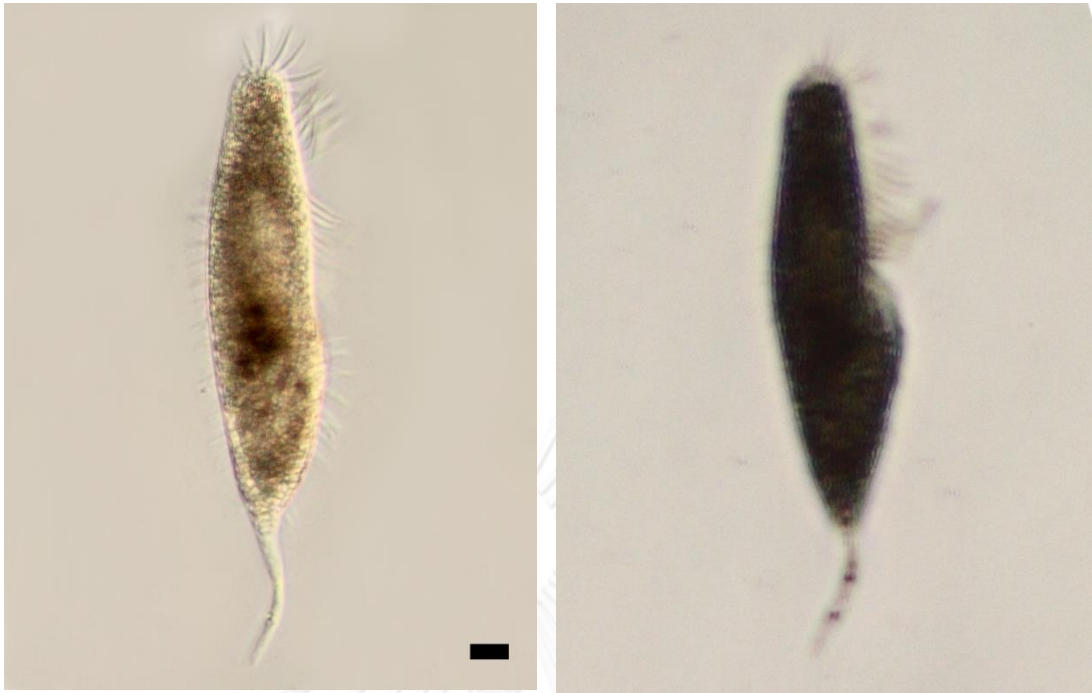
ภาพที่ 49 ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดาแสดง hypotrich 1, สเกล 10 μm และขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิค DIC ลูกศรแสดงแผงซีเลียประกอบ AZM



ภาพที่ 50 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง hypotrich 2, สเกล 50 μm
 ภาพด้านขวาทำการปรับแสง แสดงกระจุกซิเลียทางด้านท้ายของตัวเซลล์ (ลูกศร)



ภาพที่ 51 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง hypotrich 3, สเกล 30 μm
 ภาพด้านขวาทำการปรับแสง แสดงส่วนที่คล้ายหางเซลล์ (ลูกศร)



ภาพที่ 52 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง hypotrich 4, สเกล 10 μm
ภาพด้านขวาแสดงสีเข้มที่ปรากฏในตัวเซลล์

Subclass *Stichotrichia* Small and Lynn, 1985

Order *Sporadotrichida* Fauré-Fremiet, 1961

Family *Oxytrichidae* Ehrenberg, 1830

Genus *Oxytricha* (Bory St Vincent, 1826) Ehrenberg, 1838 (ภาพที่ 53)

เซลล์รูปร่างกลมหรือรียาว มีความยืดหยุ่นสูง แผงซีเลียประกอบ AZM มีความยาวหนึ่งในสามหรือหนึ่งในสี่ของความยาวลำตัว มีกระจุกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ (marginal cirri) จำนวนสองแถว มีลักษณะลู่ไปทางด้านท้ายของตัวเซลล์ อาจพบกระจุกซีเลียส่วนท้าย (caudal cirri) ซึ่งในบางชนิดอาจมีขนาดยาวมาก มีแมโครนิวเคลียสรูปร่างกลมรีจำนวน 2 อัน

Oxytricha aeruginosa Wrzesnioski, 1870 (ภาพที่ 53) เซลล์รูปร่างรียาว อาจยาวถึง 60 ไมโครเมตร ด้านหัวและด้านท้ายเซลล์มน ปากเซลล์มีขนาดหนึ่งในสี่ของความยาวลำตัวสามของตัวเซลล์ ไม่พบกระจุกซีเลียส่วนท้าย แมโครนิวเคลียสกลมรีจำนวน 2 อัน เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 59-72 ไมโครเมตร และกว้าง 28-40 ไมโครเมตร

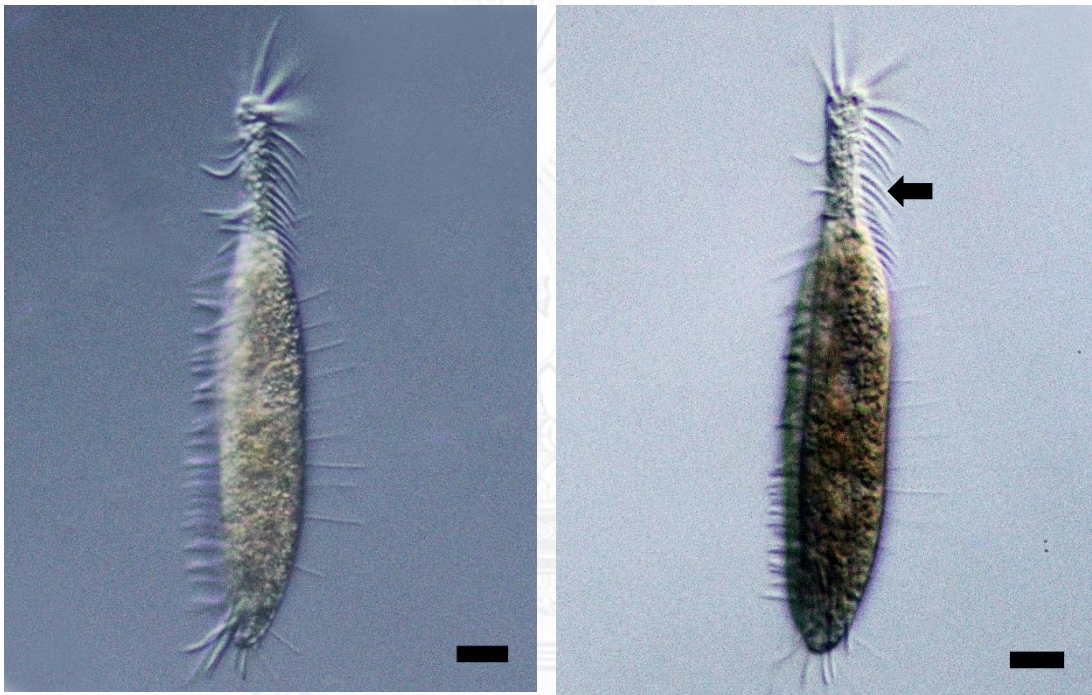


ภาพที่ 53 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Oxytricha aeruginosa*, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาแสดง *Oxytricha* จำนวนสามเซลล์ที่มีขนาดต่าง ๆ กัน

Family Trachelostylidae Small and Lynn, 1985

ซีเลียตกลุ่ม trachelostylid (ภาพที่ 54)

เซลล์รูปร่างยาว ซีเลียร่างกายทางด้านท้อง (somatic ventral ciliature) มีลักษณะเป็นกระจุกซีเลียทางด้านท้องส่วนหน้า (frontoventral cirri) ที่กระจายอยู่ทางด้านหน้าใกล้บริเวณปาก บางครั้งอยู่ทางส่วนท้ายของเซลล์ แต่จะไม่พบอยู่ที่บริเวณกลางตัวเซลล์ของผิวเซลล์ด้านท้อง ที่ส่วนท้องพบกระจุกซีเลียบริเวณขอบเซลล์ (marginal cirri) ทั้งด้านซ้ายและขวา เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 105 ไมโครเมตร กว้าง 19 ไมโครเมตร



ภาพที่ 54 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง trachelostylid, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาถูกรศแสดงซีเลียร่างกายทางด้านท้องที่กระจายอยู่ทางด้านหน้าใกล้บริเวณปากเซลล์

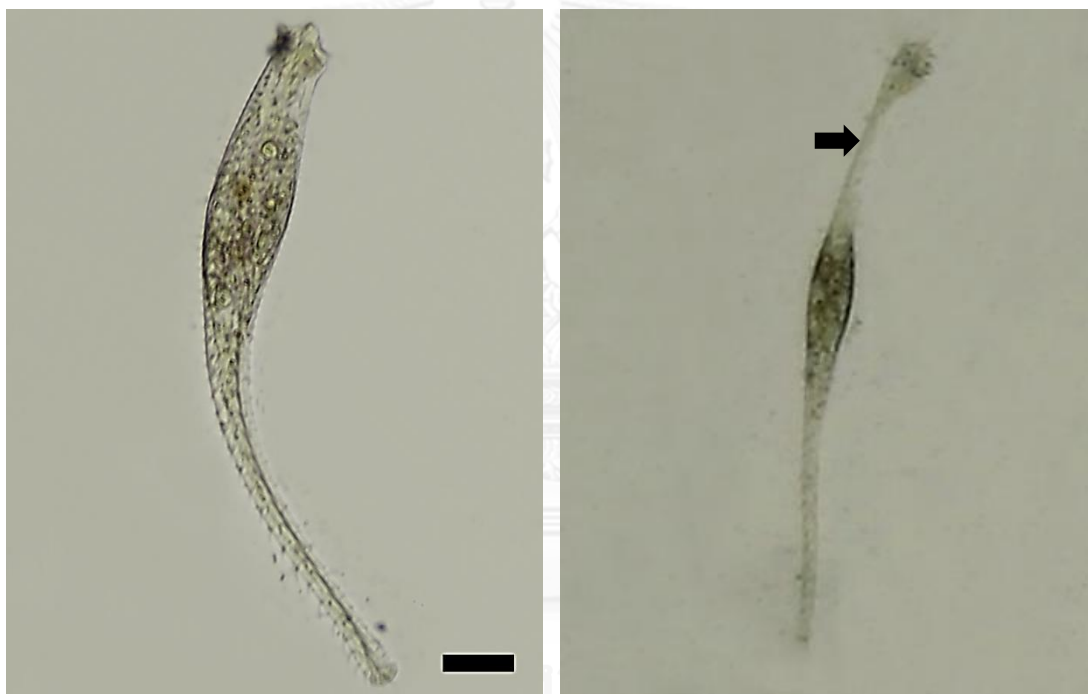
Order **Urostylida** Jankowski, 1979

Family **Epiclintidae** Wicklow and Borror, 1990

Genus ***Epiclintes*** (Stein, 1862) Carey and Tatchell, 1938 (ภาพที่ 55)

เป็นซิติเอตสกุลที่พบได้ทั่วไปในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย เซลล์มีความยืดหยุ่นและหดตัวได้มากและมีรูปร่างยาว ตัวเซลล์แบ่งเป็นสามส่วน คือ 1) ส่วนหัวที่มีลักษณะแบน 2) บริเวณกลางลำตัวที่ขยายออก และ 3) ส่วนหางที่ยาวแบน ปากเซลล์จะอยู่บริเวณส่วนหัว

***Epiclintes* sp.** (ภาพที่ 55) ตัวเซลล์แบ่งออกเป็นสามส่วนชัดเจนคือ ส่วนหัว ส่วนกลางลำตัว และส่วนหาง มีส่วนคอเซลล์ที่มีความยืดหยุ่นสูงทำให้ยืดยาวได้มาก เซลล์ในขณะหดค้อมีความยาวของตัวเซลล์ประมาณ 280-300 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 35-38 ไมโครเมตร



ภาพที่ 55 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง *Epiclintes* sp., สเกล 30 μm ภาพขวาถูกตรึงแสดงส่วนคอในขณะที่เซลล์กำลังยืดตัว

Family Urostylidae Bütschli, 1889

Genus *Holosticha* Wrzesniowski, 1877 (ภาพที่ 56-57)

โดยปกติเซลล์มีรูปร่างกลมยาว แผงซีเลียประกอบ AZM มีลักษณะโค้งงอไป ความยาวหนึ่งในสี่ของความยาวลำตัว มีกระจุกซีเลียอยู่บริเวณขอบทั้งด้านซ้ายและด้านขวาของเซลล์ พบกระจุกซีเลียตามขวางเรียงตัวเป็นแถวรูปตัว V อยู่ทางด้านท้ายของเซลล์ และพบกระจุกซีเลียตรงกลางจำนวนสองแถวยาวตลอดด้านท้องของตัวเซลล์

Holosticha cf. kessleri (ภาพที่ 56) ตัวเซลล์ยาว ด้านหน้าโค้งมน ส่วนด้านท้ายของเซลล์มีลักษณะสอบเข้าแบบปลายตัด แผงซีเลียประกอบ AZM ยาวหนึ่งในสี่ของความยาวลำตัว เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 87-119 ไมโครเมตร กว้าง 27-28 ไมโครเมตร ส่วน *Holosticha kessleri* (Wrzesniowski, 1877) Kahl, 1930-5 ที่รายงานไว้มีความยาว 150 ไมโครเมตร

Holosticha diademata (Rees, 1884) Kahl, 1930-5 (ภาพที่ 57) ตัวเซลล์ยาว มีขนาด 140 ไมโครเมตร เซลล์ชนิดนี้มีลักษณะเด่น คือ มีกระจุกซีเลียทางด้านหน้า (frontal cirri) ที่มีขนาดยาวหนาจำนวน 7 กระจุก ซึ่งคลุมด้านหน้าของเซลล์ แผงซีเลียประกอบบริเวณปากยาว โดยมีความยาวหนึ่งในสามของความยาวลำตัว เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 121-134 ไมโครเมตร กว้าง 44-54 ไมโครเมตร



ภาพที่ 56 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Holosticha cf. kessleri*, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาถูกครีแสดงกระจุกซีเลียจำนวนสองแถวที่ยาวตลอดแนวด้านท้องของตัวเซลล์ โดยเป็นลักษณะเฉพาะที่พบประจำสกุล



ภาพที่ 57 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Holosticha diademata*, สเกล 10 μm ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงกระจุกซิเลียทางด้านหน้า (frontal cirri) ที่มีขนาดยาว ส่วนภาพด้านขวาแสดงกระจุกซิเลียที่พบบริเวณต่าง ๆ ทางด้านท้องของเซลล์

Genus *Urostyla* Ehrenberg, 1830 (ภาพที่ 58)

เซลล์รูปร่างกลมรีไปจนถึงรียาว ซิลิเอตในสกุลนี้มีความโดดเด่นโดยมีแถวกระดูกซี่เลียทางด้านท้อง (ventral rows of cirri) จำนวนมาก อาจพบบริเวณของกระดูกซี่เลียตามขวางได้ ส่วนกระดูกซี่เลียทางด้านหน้าอาจไม่แตกต่างจากด้านท้องหรืออาจปรากฏเป็นโครงสร้างเล็ก ๆ เท่านั้น (finely structured)

Urostyla sp. (ภาพที่ 58) ตัวเซลล์มีขนาดใหญ่และมีสีเข้ม ส่วนหัวและส่วนท้ายของเซลล์มน เซลล์ที่พบมีความยาวเซลล์ประมาณ 148-203 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 40-55 ไมโครเมตร



ภาพที่ 58 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Urostyla* sp., ภาพด้านซ้ายสเกล 10 μm ภาพด้านขวาสเกล 30 μm

Class **Litostomatea** Small and Lynn, 1981

Subclass **Haptoria** Corliss, 1974

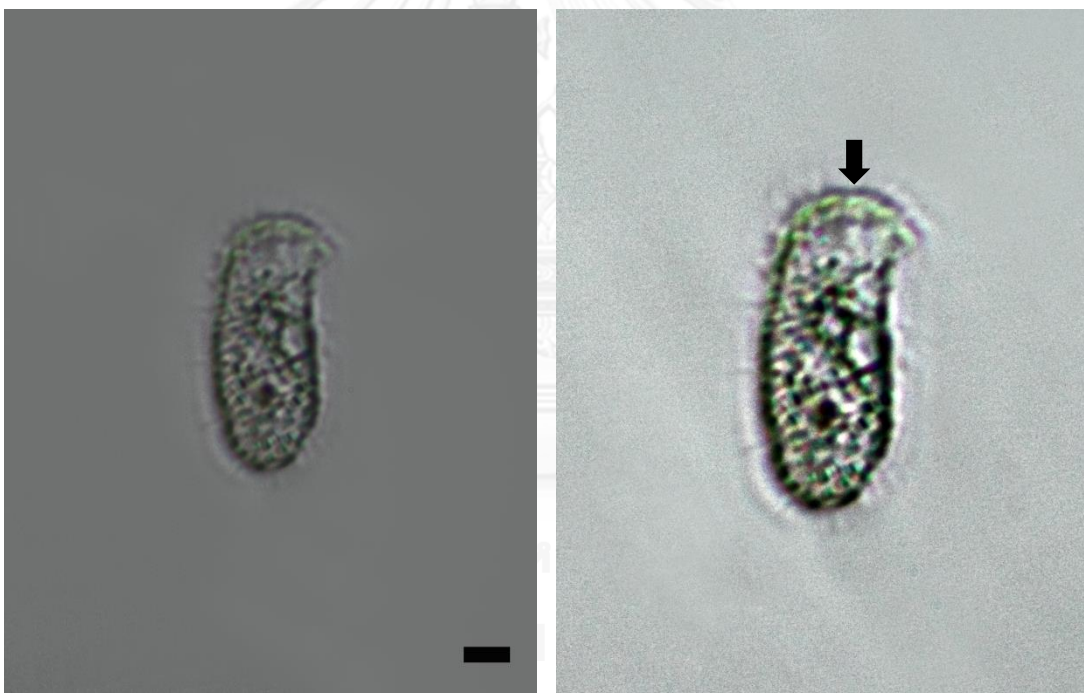
Order **Haptorida** Corliss, 1974

Family **Spathidiidae** Kahl in Doflein and Reichenow, 1929

Genus **Spathidium** Dujardin, 1841 (ภาพที่ 59)

สมาชิกในสกุลมีรูปร่างยาวกลม ด้านหน้าของเซลล์มีลักษณะตัดเฉียงด้านบนมีลักษณะเป็นสันที่ไม่มีซิเลีย ปากเซลล์มีลักษณะเป็นร่อง ยาวตลอดแนวสัน ซิเลียเรียงตัวตามแนวยาวของเซลล์

Spathidium sp. (ภาพที่ 59) เซลล์รูปทรงกระบอก บริเวณส่วนหน้าของเซลล์ขยายออกคล้ายรูปพัดส่วนปลายสุดมีลักษณะเป็นสันเห็นได้ชัดเจน ด้านท้ายเซลล์มน เซลล์ที่พบมีความยาว 57 ไมโครเมตร กว้าง 23 ไมโครเมตร



ภาพที่ 59 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง *Spathidium* sp., สเกล 10 μm ภาพด้านขวาทำการปรับแสงให้เห็นบริเวณด้านหน้าสุดของเซลล์ที่มีลักษณะเป็นสันเห็นได้ชัดเจน (ลูกศร)

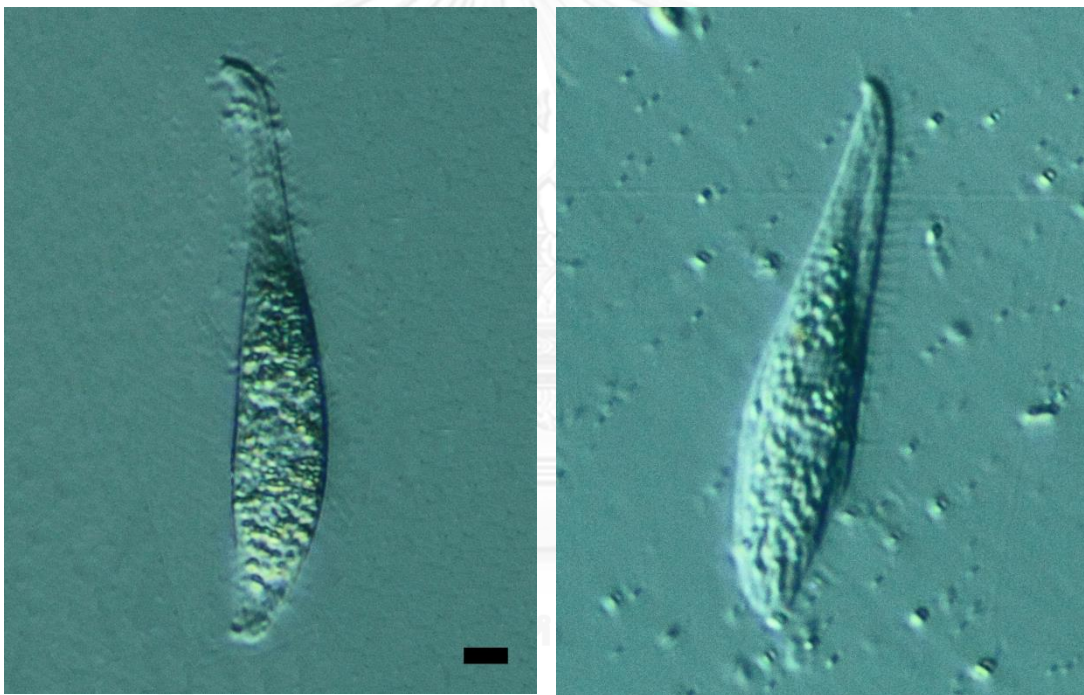
Order **Pleurostomatida** Schewiakoff, 1896

Family **Litonotidae** Kent, 1882

Genus **Litonotus** Wrzesniowski, 1870 (ภาพที่ 60)

ซีเลียตสกุลนี้ตัวเซลล์แบนทางด้านข้างและมีบริเวณคอของเซลล์ยาวด้านหน้าของตัวเซลล์ ช่องปากมีลักษณะเป็นร่องยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของตัวเซลล์และมีซีเลียที่มีลักษณะคล้ายแปรง การจัดเรียงตัวของซีเลียบนผิวเซลล์ด้านขวาจะมีลักษณะขนานกันไปตามแนวยาว

Litonotus anguilla (Kahl, 1930) (ภาพที่ 60) เซลล์ยาวมีส่วนคอเซลล์ยาวโค้งและส่วนหางแหลม เซลล์มีขนาด 150-160 ไมโครเมตร ตัวเซลล์สามารถบิดเป็นเกลียว มีคอนแทร็กไทล์แควิวโอล 1 อัน แมโครนิวเคลียส 1 อัน ประกอบด้วย 2 ส่วนที่มีไมโครนิวเคลียสอยู่ระหว่างกลาง เซลล์ที่พบมีความยาว 123-130 ไมโครเมตร กว้าง 20-23 ไมโครเมตร



ภาพที่ 60 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง *Litonotus anguilla*, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาแสดงเซลล์ในขณะที่กำลังเคลื่อนที่

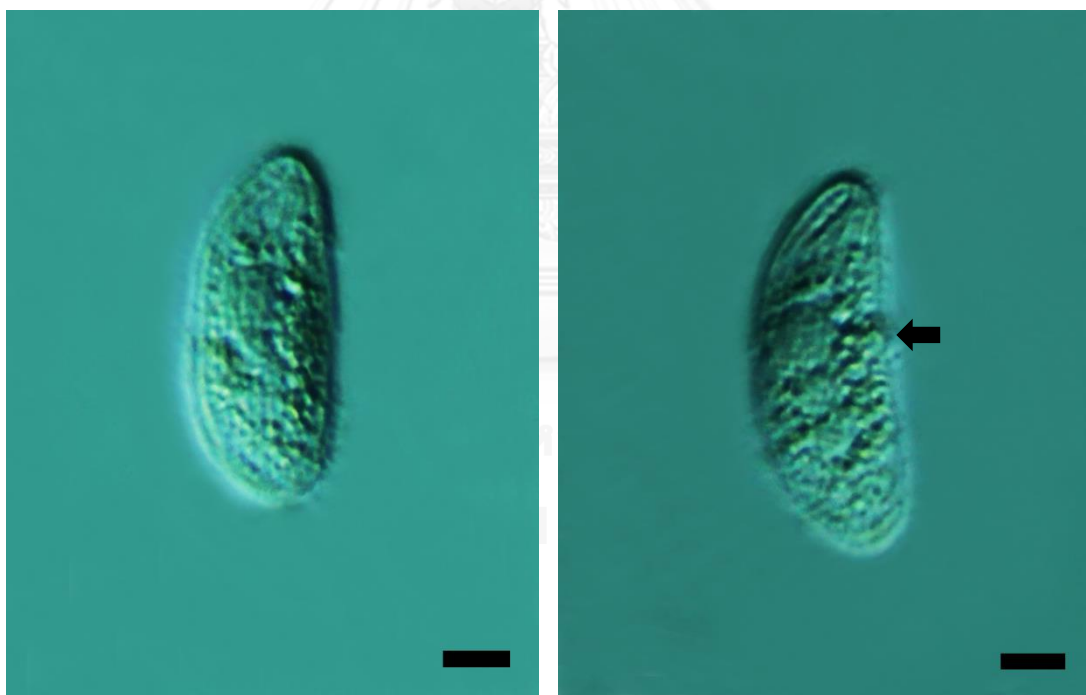
Genus *Loxophyllum* Dujardin, 1841 (ภาพที่ 61-63)

ตัวเซลล์ตามปกติมีลักษณะยาว แบนทางด้านข้าง ตัวเซลล์ด้านขวามีลักษณะแบนในขณะที่ยังโค้งเป็นโดมเล็กน้อย ช่องปากมีลักษณะเป็นร่องยาวตลอดขอบเซลล์ทางด้านท้อง ไม่พบแผงซีเลียที่มีลักษณะคล้ายแปรง โดยขอบเซลล์ทางด้านท้องจะมีริ้วหรือลายตามขวางที่เกิดจากทริโคซิสต์ (trichocyst) ซึ่งเป็นเข็มพิษจำนวนมากเรียงตัวตามแนวขวาง

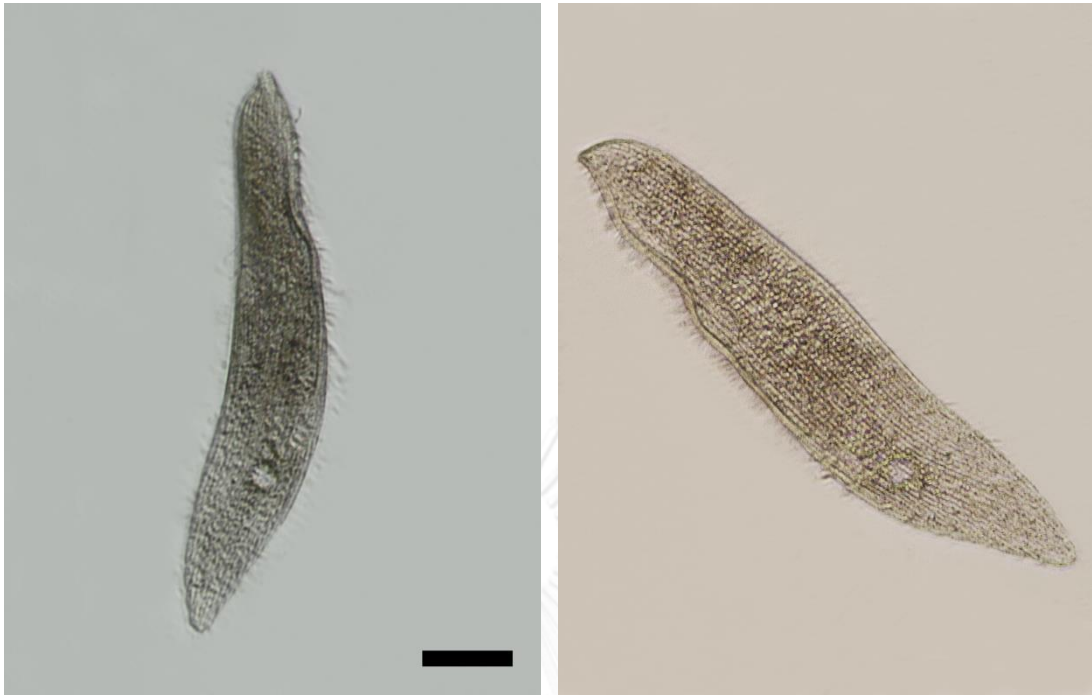
Loxophyllum sp. 1 (ภาพที่ 61) เซลล์มีรูปร่างแบบตัวดี คือด้านหนึ่งแบนราบ ส่วนอีกด้านโค้งเล็กน้อย มีริ้วเล็ก ๆ ตลอดแนวความยาวของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 43 ไมโครเมตร กว้าง 20 ไมโครเมตร

Loxophyllum sp. 2 (ภาพที่ 62) เซลล์มีขนาดใหญ่ รูปร่างยาวคล้ายฝักถั่ว ช่องปากอยู่ทางด้านท้องและยาวประมาณสองในสามของลำตัว พบลายริ้วเล็ก ๆ ตลอดแนวยาวของตัวเซลล์ โดยเซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 214-319 ไมโครเมตร กว้าง 35-53 ไมโครเมตร

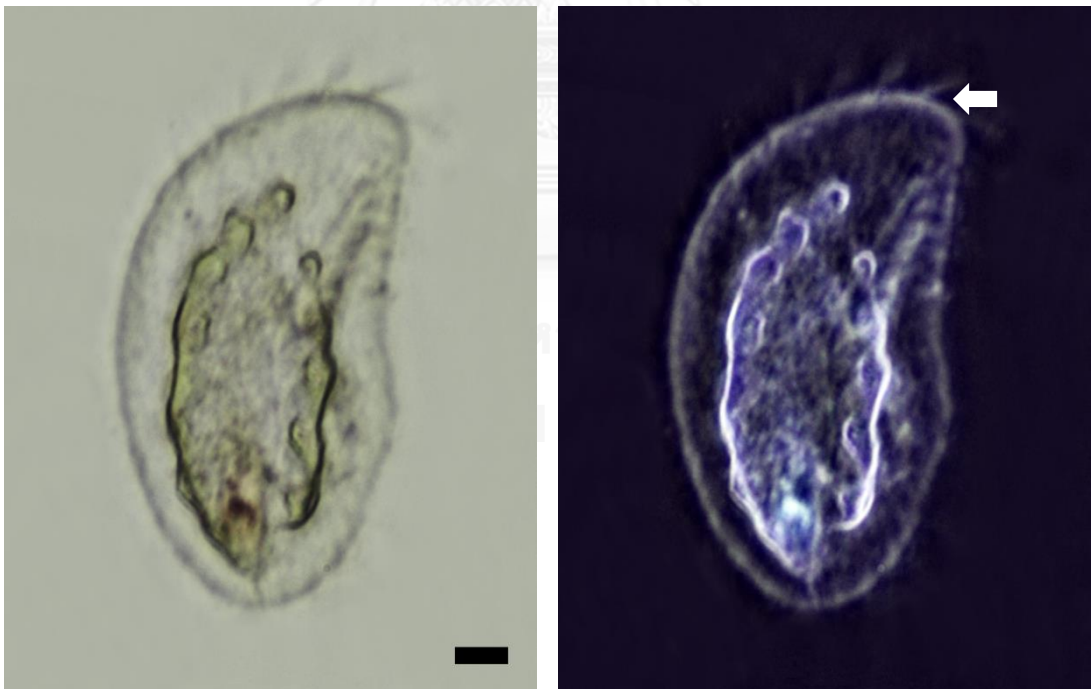
Loxophyllum sp. 3 (ภาพที่ 63) เซลล์มีรูปร่างแบบตัวดี คือด้านหนึ่งแบนราบ ส่วนอีกด้านโค้งเล็กน้อย ซีเลียทางด้านหน้าของตัวเซลล์ยาวมีลักษณะคล้ายใบพัด พบสารสะสมและจุดสีภายในเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 100 ไมโครเมตร กว้าง 50 ไมโครเมตร



ภาพที่ 61 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวิดีโอแสดง *Loxophyllum* sp. 1, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาถูกครอบตัดแสดงตัวเซลล์ทางด้านขวาที่มีลักษณะแบน ในขณะที่ตัวเซลล์ทางด้านซ้ายมีลักษณะโค้งเป็นโดมเล็กน้อย



ภาพที่ 62 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Loxophyllum* sp. 2, สเกล 50 μm ภาพด้านขวาแสดงลายริ้วเล็ก ๆ ตลอดแนวยาวของตัวเซลล์



ภาพที่ 63 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Loxophyllum* sp. 3, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาทำการปรับแสงให้เห็นลักษณะซีเลียทางด้านหน้าของตัวเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายใบพัด (ลูกศร)

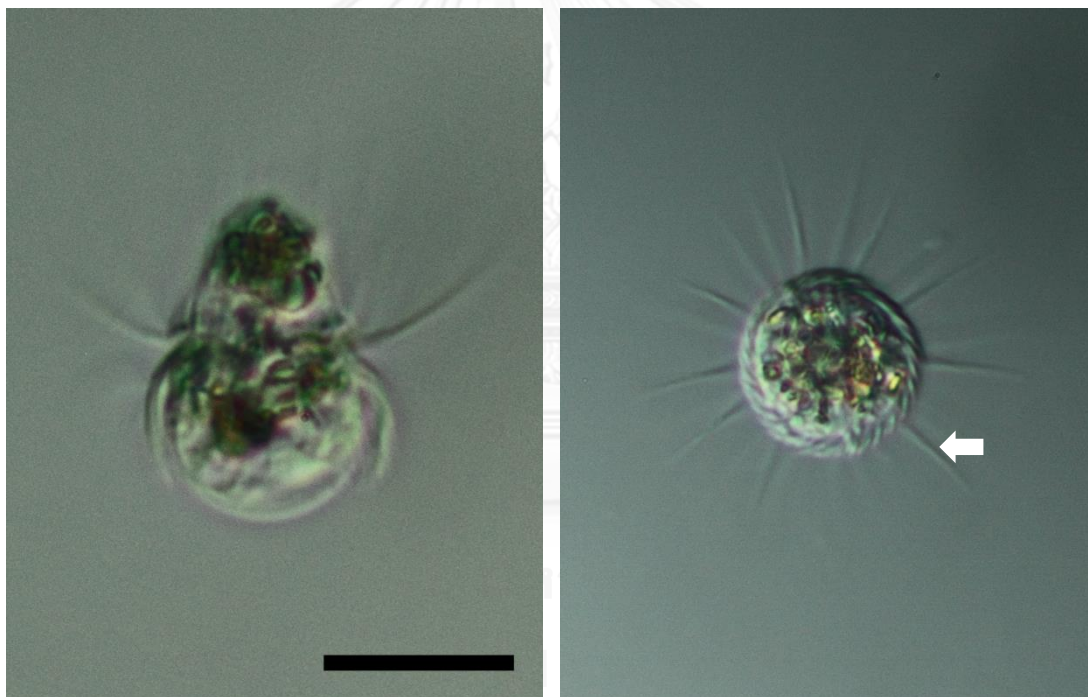
Order *Cyclotrichiida* Jankowski, 1980

Family *Mesodiniidae* Jankowski, 1980

Genus *Mesodinium* Stein, 1862 (ภาพที่ 64)

เซลล์มีลักษณะทรงกลมหรือรูปกรวยโดยมีส่วนของบริเวณปากอยู่ทางด้านปลายสุดของตัวเซลล์ มีร่องลึกเป็นวงแหวนรอบบริเวณกลางลำตัว มีหนวด (tentacle) ยื่นออกมาจากบริเวณไซโทฟาริงซ์ (cytopharynx) ของปาก โดยปลายหนวดจะมีลักษณะเป็นแฉก ซิเลียบริเวณลำตัวลดรูปเหลือเพียง 2 แถบอยู่บริเวณร่องรูปวงแหวนกลางลำตัว แถบซิเลียทางด้านหน้าแข็งยื่นออกมาทางด้านหน้าและด้านข้าง ส่วนแถบซิเลียทางด้านหลัง มีลักษณะยาวคล้ายแผงขนและยื่นไปทางด้านหลัง

Mesodinium sp. (ภาพที่ 64) เซลล์มีขนาดเล็ก ตัวเซลล์ด้านหน้าเป็นรูปกรวย ด้านหลังเป็นทรงกลม แถบซิเลียด้านหน้ายาวและยื่นออกไปตามแนวรัศมี ส่วนแถบซิเลียทางด้านหลังยื่นไปทางด้านท้ายของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 17 ไมโครเมตร



ภาพที่ 64 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Mesodinium* sp., สเกล 10 μ m, ภาพด้านขวาแสดงมุมมองภาพจากทางด้านบนของตัวเซลล์ แสดงให้เห็นว่าตัวเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม และลูกศรแสดงแถบซิเลีย (band of cilia)

Class **Phyllopharyngea** de Puytorac, Batisse, Bohatier, Corliss, Deroux, Didier, Dragesco, Fryd-Versavel, Grain, Grolière, Hovasse, Iftode, Laval, Roque, Savoie and Tuffrau, 1974

Subclass **Cyrtophoria** Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Order **Chlamyodontida** Deroux, 1976

Family **Chlamyodontidae** Stein, 1859

Genus **Chlamyodon** Ehrenberg, 1835 (ภาพที่ 65)

เซลล์มีรูปร่างกลมรีหรือมีรูปร่างคล้ายไต ตัวเซลล์แบนในแนวหลัง-ท้อง โดยขอบเซลล์ด้านหลังยื่นออกมาคลุมเลยส่วนขอบด้านท้อง โดยระหว่างสองส่วนนี้จะมีแถบของวงไทรโคท (trichite) ปรากฏคล้ายเส้นทางรางรถไฟ ซีเลียร่างกายพบเฉพาะที่บริเวณด้านท้องและมีแถวของซีเลียจำนวนมากทางด้านขวามือซึ่งขยายไปทางด้านหน้าโค้งรอบบริเวณส่วนหัว เซลล์มีโครงสร้างที่สานกันคล้ายหลอดอาหาร (cytopharyngeal basket) ซึ่งมีขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจน และมีรอยต่อก่อนบริเวณปาก (preoral suture) มีแมโครนิวเคลียสจำนวนหนึ่งอันและมีคอนแทร็กไทล์แควิวโอลจำนวนมาก

Chlamyodon sp. (ภาพที่ 65) เซลล์มีรูปร่างคล้ายไต พบแถบวงของไทรโคทเรียงตัวคล้ายรางรถไฟที่บริเวณขอบภายในเซลล์ เซลล์มีแมโครนิวเคลียสจำนวนหนึ่งอันอยู่บริเวณกลางเซลล์ โดยเซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 52-59 ไมโครเมตร กว้าง 27-34 ไมโครเมตร



ภาพที่ 65 ซ้ายภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Chlamyodon* sp., สเกล 10 μ m และขวาภาพถ่ายด้วยเทคนิคใช้แสงธรรมดาแสดงสีตามธรรมชาติของเซลล์

Class **Prostomatea** Small and Lynn, 1985

Order **Prorodontida** Corliss, 1974

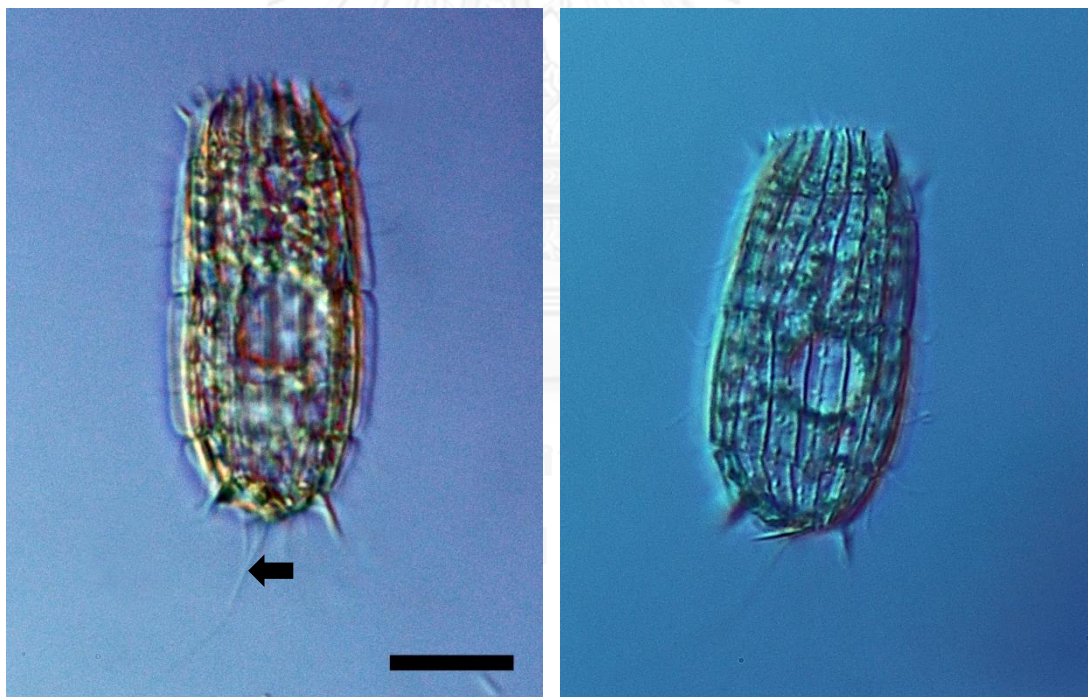
Family **Colepidae** Ehrenberg, 1838

Genus **Coleps** Nitzsch, 1827 (ภาพที่ 66-67)

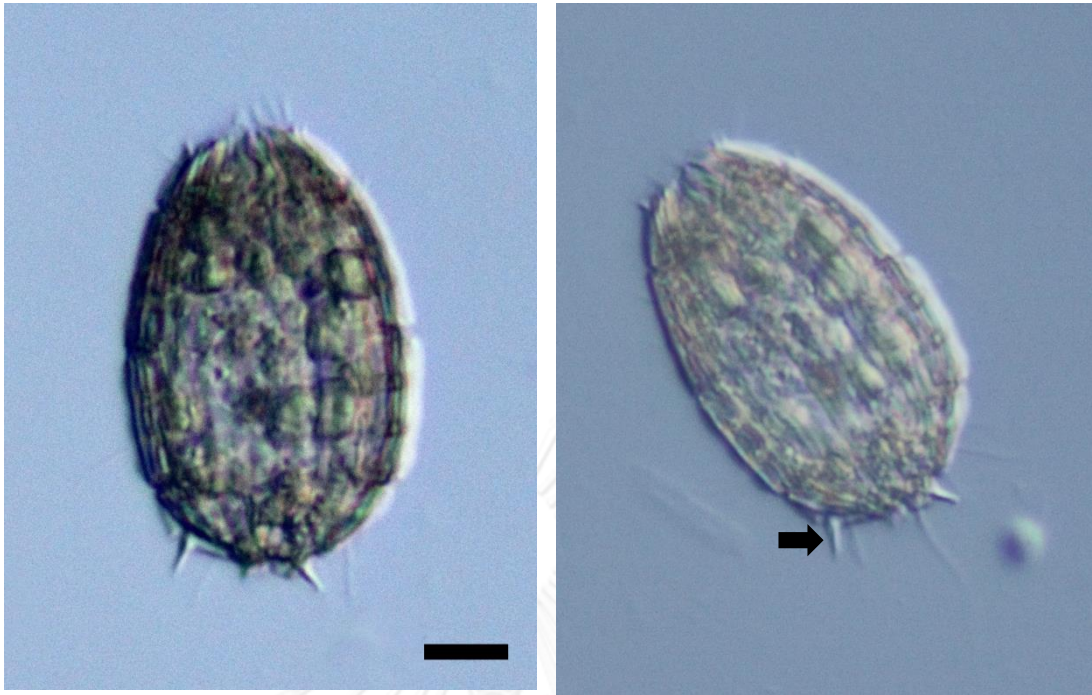
เซลล์รูปร่างกลมรีแบบถังและปกคลุมด้วยแผ่นซึ่งมีแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบ ซิเลียยื่นออกมาจากแนวลายตามยาวของแผ่นปกคลุม โดยแผ่นปกคลุมเหล่านี้จะมีลักษณะเป็นซี่ฟันทางด้านข้างและ/หรือมีลักษณะเป็นหนามทางด้านหัวท้าย ซึ่งใช้ในการแยกชนิดทางอนุกรมวิธาน ด้านท้ายของตัวเซลล์มักพบซิเลียยาวหนึ่งเส้น

Coleps tessellatus Kahl, 1930 (ภาพที่ 66) เซลล์รูปร่างทรงกระบอกยาว และพบรอยเว้าคอดที่บริเวณกลางตัวเซลล์ ด้านท้ายของตัวเซลล์พบซิเลียจำนวนหนึ่งเส้นและพบหนามรูปพีระมิดจำนวน 3 อัน โดยเซลล์ที่พบมีความยาว 34 ไมโครเมตร กว้าง 16 ไมโครเมตร

Coleps sp. (ภาพที่ 67) เซลล์มีรูปร่างกลมรี พบรอยเว้าคอดที่บริเวณตัวเซลล์ และพบหนามบริเวณด้านท้ายของตัวเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาว 52 ไมโครเมตร กว้าง 34 ไมโครเมตร



ภาพที่ 66 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Coleps tessellatus*, สเกล 10 μm ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงซิเลียจำนวนหนึ่งเส้นที่พบทางด้านท้ายของตัวเซลล์

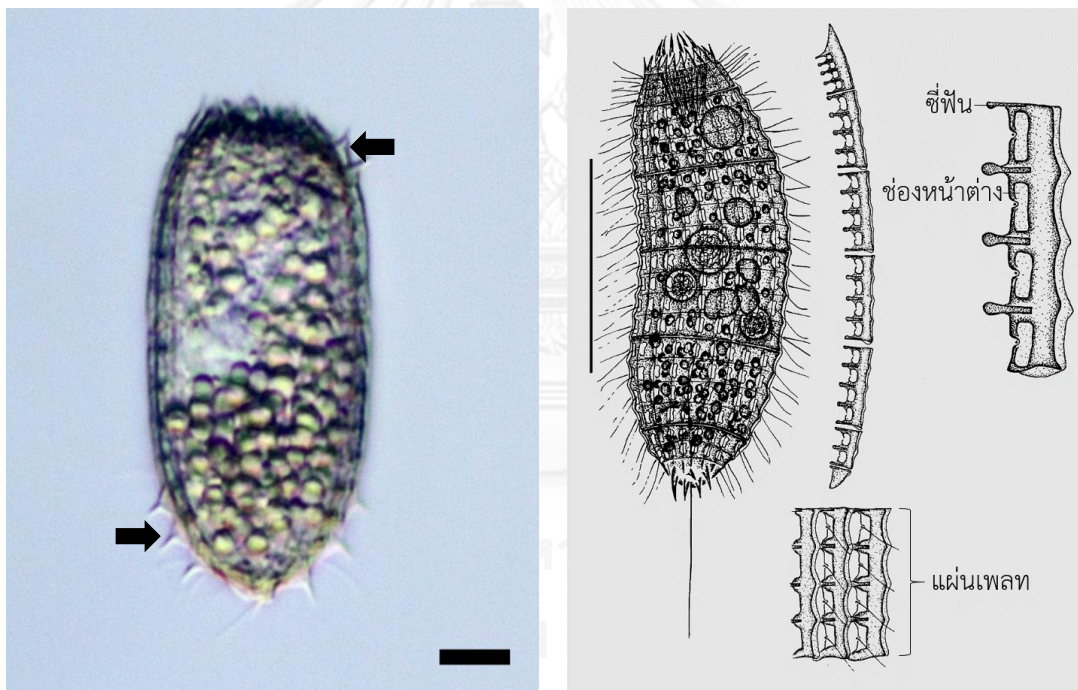


ภาพที่ 67 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Copeps* sp., สเกล 10 μ m
ภาพด้านขวาแสดงแผ่นปกคลุมเซลล์และหนามที่ด้านท้ายของตัวเซลล์

Genus *Apocoleps* Chen, Warren and Song, 2009 (ภาพที่ 68)

เป็นซิลิเอตสกุลใหม่ที่ถูกตั้งชื่อในปี 2009 โดย Chen และคณะ โดยใช้ลักษณะรายละเอียดของแผ่นปกคลุม หนามบนตัวเซลล์ จากการศึกษาตัวอย่างที่มีชีวิตและการย้อมด้วยโลหะเงิน (silver impregnation) โดยพบว่าสมาชิกในสกุลนี้มีแผ่นปกคลุมเซลล์เป็นเกราะ ซึ่งประกอบด้วยแผ่นเพลทจำนวน 8 แถว (eight tiers) แผ่นปกคลุมมีช่องรูเพียง 1 ช่องรูปไต โดยขอบแผ่นด้านขวาจะมีซี่ฟันเรียงสลับกับช่องหน้าต่างต่าง (ภาพที่ 68 ขวา) เซลล์มีหนามทั้งที่ด้านหน้าและด้านท้ายของตัวเซลล์ (ภาพที่ 68 ซ้าย)

Apocoleps sp. (ภาพที่ 68) เซลล์มีรูปร่างคล้ายถังหรือทรงกระบอก พบหนามทั้งบริเวณด้านหน้าและด้านท้ายของตัวเซลล์ มีไมโครนิวเคลียสรูปกลมอยู่บริเวณกลางเซลล์ โดยเซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 60-65 ไมโครเมตร กว้าง 26-27 ไมโครเมตร ซิลิเอตในสกุลนี้ใช้ข้อมูลของดีเอ็นเอในการจัดจำแนกออกมา โดยแต่เดิมเมื่อพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระดับจุลวิภาคเพียงอย่างเดียว พบว่าคล้ายกับ *Coleps pulcher* Spiegel, 1926



ภาพที่ 68 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Apocoleps* sp., สเกล 10 μm ภาพด้านซ้ายลูกศรแสดงหนามที่ด้านหน้าและด้านท้ายของตัวเซลล์ ส่วนภาพวาดด้านขวาแสดงลักษณะของซี่ฟัน ช่องหน้าต่างต่าง และแผ่นเพลทจำนวน 8 แถว ที่พบปกคลุมเซลล์ของ *Apocoleps magnus*, สเกลบาร์ 50 μm (Chen et al., 2009)

Class **Plagiopylea** Small and Lynn, 1985

Order **Plagiopylida** Jankowski, 1978

Family **Plagiopylidae** Schewiakoff, 1896

ซีเลียตกลุ่ม **plagiopylid** (ภาพที่ 69)

ซีเลียตกลุ่มนี้เซลล์มีขนาดเล็กถึงปานกลาง รูปร่างคล้ายถั่วแบน และมีปากเซลล์ที่ส่วนเว้าของเซลล์ โดยเซลล์ที่พบมีร่องเหนือบริเวณปากและยาวโค้งไปทางด้านท้ายของตัวเซลล์ และพบร่องตามยาวซึ่งยาวขนานกันไปอย่างน้อย 4 ร่องบริเวณกลางตัวเซลล์ เซลล์ยาวประมาณ 38 ไมโครเมตร กว้าง 22 ไมโครเมตร



ภาพที่ 69 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC ซึ่งจับภาพจากวีดิโอแสดง plagiopylid, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาทำการปรับแสงให้เห็นลักษณะร่องที่พบบนสันโค้งตัวเซลล์ (ลูกศร)

Class **Oligohymenophorea** de Puytorac, Batisse, Bohatier, Corliss, Deroux, Didier, Dragesco, Fryd-Versavel, Grain, Grolière, Hovasse, Iftode, Laval, Roque, Savoie and Tuffrau, 1974

Subclass **Peniculia** Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Order **Peniculida** Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Family **Frontoniidae** Kahl, 1926

Genus **Frontonia** Ehrenberg, 1838 (ภาพที่ 70)

ตัวเซลล์กลมรีหรือยืดยาว เซลล์ด้านหน้าและด้านท้ายมน ตัวเซลล์แบนในแนวหลัง-ท้อง (dorsoventrally flattened) เซลล์ค่อนข้างยืดยาว โดยทั่วไปช่องปากอยู่บริเวณด้านหน้าและมีขนาดค่อนข้างเล็ก ถ้าช่องปากมีรูปร่างแบบชมพู ช่องปากทางด้านหน้าจะมีลักษณะแคบส่วนทางด้านหลังจะมีลักษณะแบบปลายตัดและรอบล้อมด้วยซิเลียจำนวนมากที่ยืดยาวออกไปทางด้านหลังตามแนวของร่องที่อยู่ด้านหลังปากเซลล์ ด้านขวาของช่องปากมีเยื่ออันคูลเลติงและแผงซิเลียอีกสามแผงที่อยู่ใกล้กันทางด้านซ้าย การจัดเรียงของซิเลียบริเวณลำตัวเป็นรูปแบบเดียวกันหมดทั้งเซลล์ เซลล์เต็มไปด้วยถุงเข็มพิษ (trichocyst)

Frontonia maris-albi Burkovsky, 1970 (ภาพที่ 70) เซลล์ยาวมีรูปร่างคล้ายไตหรือเม็ดรี เซลล์มีขนาดยาว 80-140 ไมโครเมตร ช่องปากมีขนาดเล็กและมีรอยระหว่างแถวซิเลีย (suture) ชัดเจน เซลล์มีคอนแทร็กไทล์แควิวโอลจำนวนมากหนึ่งอันอยู่บริเวณกลางเซลล์ เซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 107-115 ไมโครเมตร กว้าง 46-47 ไมโครเมตร



ภาพที่ 70 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Frontonia maris-albi*, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาลูกศรแสดงช่องของปากเซลล์

Subclass *Scuticociliatia* Small, 1967

Order *Philasterida* Small, 1967

Family *Uronematidae* Thompson, 1964

Genus *Uronema* Dujardin, 1841 (ภาพที่ 71)

Uronema marinum Dujardin, 1841 (ภาพที่ 71) เซลล์รูปร่างกลมรีจนถึงรูปแป้น มีขนาด 30-50 ไมโครเมตร เซลล์มีการคอดตัวเล็กน้อยที่บริเวณกึ่งกลางเซลล์ทำให้ปรากฏรูปร่างแบบรูปไตในขณะที่เซลล์ยังมีชีวิต บริเวณปากเห็นได้ชัดเจนเนื่องจากมีเยื่ออันดูลेटิง การจัดเรียงซิเลียบริเวณตัวเซลล์มีรูปแบบเดียวกันทั้งหมด ส่วนปลายสุดของเซลล์ค่อนข้างแบนและปราศจากซิเลีย พบคอนแทร็กไทล์แควิวโอลจำนวนหนึ่งอันและซิเลียจำนวนหนึ่งเส้นบริเวณด้านท้ายของเซลล์ โดย *Uronema* เป็นสกุลที่พบได้ทั่วไป มีการรายงานการค้นพบในหลายพื้นที่ โดยเซลล์ที่พบมีความยาวประมาณ 20-30 ไมโครเมตร กว้าง 8-12 ไมโครเมตร



ภาพที่ 71 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Uronema marinum*, สเกล 10 μm ภาพด้านขวาถูกสร้างขึ้นเซลล์ทางด้านท้าย (caudal cilium) ของตัวเซลล์จำนวนหนึ่งเส้น

Order **Pleuronematida** Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

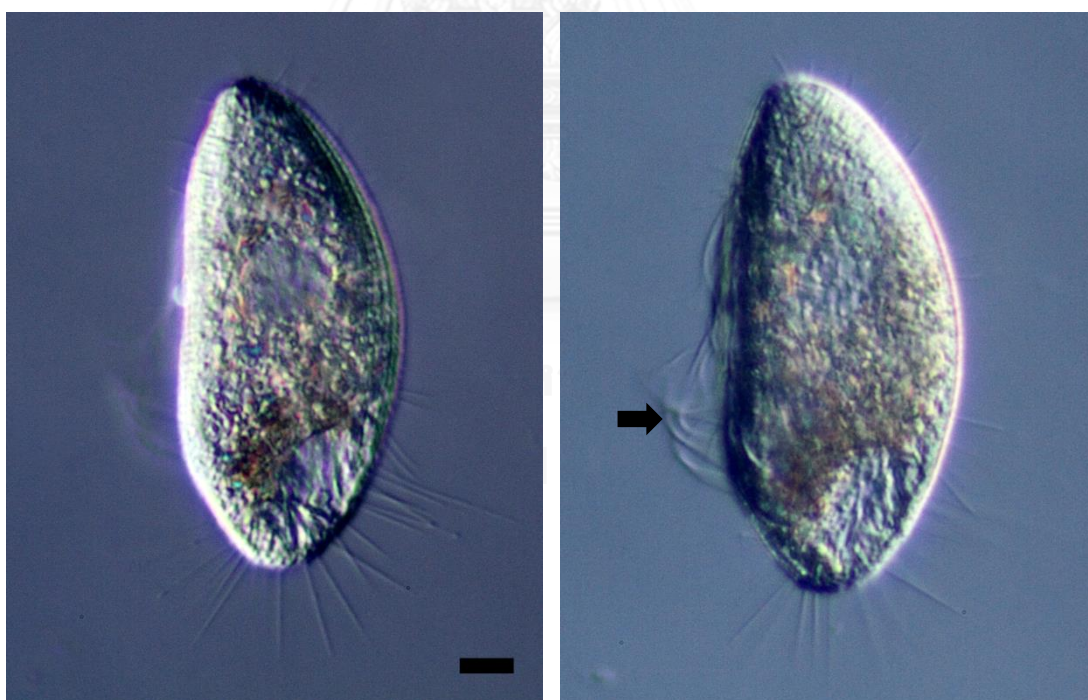
Family **Pleuronematidae** Kent, 1881

Genus **Pleuronema** Dujardin, 1836 (ภาพที่ 72-73)

สมาชิกในสกุลมีรูปร่างกลมรีแบน หลายชนิดมีขนาดใหญ่ เซลล์มีเยื่ออันดูลิตขนาดใหญ่ยาว 2 ใน 3 ของตัวเซลล์ อยู่บริเวณด้านขวาของปากเซลล์ และมีแฟงซีเลียสามแผงในบริเวณปาก การจัดเรียงซีเลียบริเวณตัวเซลล์มีรูปแบบเดียวกันทั้งหมด มักพบซีเลียที่มีลักษณะยาวกว่าบริเวณอื่นที่ด้านท้ายของเซลล์ เซลล์มีแอมโครนิวเคลียสหนึ่งอันอยู่บริเวณกลางตัวเซลล์

Pleuronema sp. 1 (ภาพที่ 72) เซลล์มีรูปร่างยาวรีเกือบคล้ายรูปไต มีเยื่ออันดูลิตขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจนอยู่ทางด้านขวาของปากเซลล์ พบแอมโครนิวเคลียสรูปทรงกลมบริเวณกลางเซลล์ ด้านท้ายของเซลล์พบคอนแทร็กไทล์แควิวโอลและพบซีเลียที่ยาวกว่าบริเวณอื่นจำนวนหลายเส้น เซลล์ที่พบมีความยาว 92 ไมโครเมตร และกว้าง 42 ไมโครเมตร

Pleuronema sp. 2 (ภาพที่ 73) เซลล์มีรูปร่างยาวรีและค่อนข้างมน มีเยื่ออันดูลิตขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจนอยู่ทางด้านขวาของปากเซลล์ พบแอมโครนิวเคลียสรูปปร่างกลมบริเวณกลางเซลล์ ด้านท้ายของเซลล์พบคอนแทร็กไทล์แควิวโอลและซีเลียที่ยาวกว่าบริเวณอื่นจำนวนหลายเส้น เซลล์ที่พบมีความยาว 67 ไมโครเมตร และกว้าง 26 ไมโครเมตร



ภาพที่ 72 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Pleuronema* sp. 1, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาถูกแสดงเยื่ออันดูลิต (undulating membrane)



ภาพที่ 73 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเทคนิค DIC แสดง *Pleuronema* sp. 2, สเกล 10 μ m ภาพด้านขวาถูกปรับแสดงเยื่ออันดูเลติง

ข. ซิลิเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย

จากการสอบสวนเอกสารจาก 25 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (อ้างอิงรายนามตามบทที่ 2 หัวข้อ การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของซิลิเอตในประเทศไทย ข้อ ก.-ข.) พบว่ามีซิลิเอตจำนวน 13 ชนิด ที่พบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทย คือ *Coleps tessellatus* (ภาพที่ 66), *Euplotes quinquecarinatus* (ภาพที่ 41), *Euplotes rariseta* (ภาพที่ 42), *Euplotes vannus* (ภาพที่ 43), *Frontonia maris-albi* (ภาพที่ 70), *Holosticha diademata* (ภาพที่ 57), *Kentrophoros flavum* (ภาพที่ 12), *Kentrophoros gracilis* (ภาพที่ 13), *Litonotus anguilla* (ภาพที่ 60), *Oxytricha aeruginosa* (ภาพที่ 53), *Trachelocerca laevis* (ภาพที่ 17), *Trachelocerca schultzei* (ภาพที่ 18) และ *Uronychia transfuga* (ภาพที่ 48) อีกทั้งยังพบซิลิเอตจำนวน 12 สกุล ที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบในประเทศไทยมาก่อน ได้แก่ *Anigsteinia* (ภาพที่ 35), *Apocoleps* (ภาพที่ 68), *Avelia* (ภาพที่ 34), *Chlamydodon* (ภาพที่ 65), *Epiclintes* (ภาพที่ 55), *Euplotidium* (ภาพที่ 45), *Prodiscocephalus* (ภาพที่ 39), *Protocruzia* (ภาพที่ 38), *Remanella* (ภาพที่ 31-33), *Trachelocerca* (ภาพที่ 16-22), *Tracheloraphis* (ภาพที่ 23-26) และ *Urostyla* (ภาพที่ 58) อย่างไรก็ตาม จากจำนวนซิลิเอตทั้ง 12 สกุลที่มีรายงานการพบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย ทำให้สามารถคาดประมาณจำนวนชนิดของซิลิเอตที่น่าจะมีรายงานเป็นครั้งแรกของไทย แต่ยังไม่สามารถทำการระบุชนิดที่แน่ชัดได้จำนวน 23 ชนิด คือ *Anigsteinia* cf. *salinarum* (ภาพที่ 35), *Apocoleps* sp. (ภาพที่ 68), *Avelia* cf. *martinicense* (ภาพที่ 34), *Chlamydodon* sp. (ภาพที่ 65), *Epiclintes* sp. (ภาพที่ 55), *Euplotidium* sp. (ภาพที่ 45),

Prodiscocephalus sp. (ภาพที่ 39), *Protocruzia* sp. (ภาพที่ 38), *Remanella* sp. 1-3 (ภาพที่ 31-33), *Trachelocerca* cf. *ditis* (ภาพที่ 16), *Trachelocerca* sp. 1-4 (ภาพที่ 19-22), *Tracheloraphis* sp. 1-3 (ภาพที่ 23-25), *Urostyla* sp. (ภาพที่ 58) และจาก trachelocercid 3 ชนิด (ภาพที่ 27-29) ที่อาจเป็นซีลิเอตในสกุล *Trachelocerca*, *Trachelonema* หรือ *Tracheloraphis* ซึ่งทั้งหมดล้วนเป็นสกุลที่ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศมาก่อนหน้านี้

ค. ชนิดและการกระจาย

จากการสำรวจ 7 ครั้ง พบซีลิเอตที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเลตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จำนวน 29 สกุล 61 ชนิด ได้แก่ *Anigsteinia* cf. *salinarum*, *Apocoleps* sp., *Aspidisca* sp., *Avelia* cf. *martinicense*, *Chlamydodon* sp., *Coleps tessellatus*, *Coleps* sp., *Condyllostoma arenarium*, *Condyllostoma* cf. *enigmatica*, *Diophrys* sp. 1-2, *Epiclintes* sp., *Euplotes quinquecarinatus*, *Euplotes rarisetia*, *Euplotes vannus*, *Euplotes* cf. *vannus*, *Euplotidium* sp., *Frontonia maris-albi*, *Holosticha* cf. *kessleri*, *Holosticha diademata*, *Kentrophoros flavum*, *Kentrophoros gracilis*, *Kentrophoros* sp. 1-2, *Litonotus anguilla*, *Loxodes* cf. *striatus*, *Loxophyllum* sp. 1-3, *Mesodinium* sp., *Oxytricha aeruginosa*, *Pleuronema* sp. 1-2, *Prodiscocephalus* sp., *Protocruzia* sp., *Remanella* sp. 1-3, *Spathidium* sp., *Trachelocerca* cf. *ditis*, *Trachelocerca laevis*, *Trachelocerca schultzei*, *Trachelocerca* sp. 1-4, *Tracheloraphis* sp. 1-3, *Uronema marinum*, *Uronychia transfuga*, *Urostyla* sp., ซีลิเอต hypotrich 4 ชนิด, ซีลิเอต plagiopylid 1 ชนิด, ซีลิเอต trachelocercid 3 ชนิด, และซีลิเอต trachelostylid 1 ชนิด (ตารางที่ 3)

โดยเมื่อทำการจัดกลุ่มซีลิเอตทั้งหมดตามวงศ์ พบว่าซีลิเอตในกลุ่ม trachelocercid จากวงศ์ Trachelocercidae พบจำนวนชนิดมากที่สุดถึง 13 ชนิด ได้แก่ *Trachelocerca* cf. *ditis* (ภาพที่ 16), *Trachelocerca laevis* (ภาพที่ 17), *Trachelocerca schultzei* (ภาพที่ 18), *Trachelocerca* sp. 1-4 (ภาพที่ 19-22), *Tracheloraphis* sp. 1-3 (ภาพที่ 23-26) และ ซีลิเอต trachelocercid 3 ชนิด คือ trachelocercid 1-3 (ภาพที่ 27-29) รองลงมาเป็นซีลิเอตในกลุ่ม euplotid, kentrophorid, litonotid และ loxodid จากวงศ์ Euplotidae, Kentrophoridae, Litonotidae และ Loxodidae ตามลำดับ ที่พบวงศ์ละ 4 ชนิด ซีลิเอตในกลุ่ม colepid, uronychiid และ urostylid จากวงศ์ Colepidae, Uronychiidae และ Urostylidae พบวงศ์ละ 3 ชนิด ซีลิเอตในกลุ่ม condylostomatid และ pleuronematid จากวงศ์ Condylostomatidae และ Pleuronematidae พบวงศ์ละ 2 ชนิด ส่วนซีลิเอตในกลุ่มที่เหลือจำนวน 15 กลุ่ม พบวงศ์ละ 1 ชนิด ได้แก่ ซีลิเอตในกลุ่ม aspidiscid, blepharismid, chlamyodontid, discocephalid, epiclontid, frontoniid, gastrocirrhid, geleiid, mesodiniid, oxytrichid, plagiopylid, protocruziid, spathidiid, trachelostylid และ uronematid จากวงศ์ Aspidiscidae, Blepharismidae, Chlamyodontidae, Discocephalidae, Epiclontidae, Frontoniidae, Gastrocirrhidae, Geleidae, Mesodiniidae, Oxytrichidae, Plagiopylidae, Protocruziidae, Spathidiidae, Trachelostylidae และ Uronematidae ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ชื่อสกุลและชื่อชนิดของซีลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จากการสำรวจทั้ง 7 ครั้ง

ลำดับที่	สกุล/ชนิด	ช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง		ช่วงเก็บตัวอย่างจริง				
		มี.ค. 2554	พ.ค. 2554	ก.ย. 2554	ม.ค. 2555	มี.ค. 2555	พ.ค. 2555	ก.ค. 2555
1	<i>Anigsteinia cf. salinarum</i>					✓		
2	<i>Apocoleps</i> sp.				✓	✓		
3	<i>Aspidisca</i> sp.	✓	✓		✓	✓	✓	✓
4	<i>Avelia cf. martinicense</i>		✓			✓	✓	
5	<i>Chlamydodon</i> sp.					✓		
6	<i>Coleps tesselatus</i>			✓	✓	✓		
7	<i>Coleps</i> sp.	✓				✓		
8	<i>Condylostoma arenarium</i>		✓			✓		✓
9	<i>Condylostoma cf. enigmatica</i>							✓
10	<i>Diophrys</i> sp. 1			✓	✓	✓	✓	✓
11	<i>Diophrys</i> sp. 2			✓		✓		
12	<i>Epiclintes</i> sp.						✓	
13	<i>Euplotes quinquecarinatus</i>					✓		
14	<i>Euplotes rariseta</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
15	<i>Euplotes vannus</i>			✓				
16	<i>Euplotes cf. vannus</i>		✓					
17	<i>Euplotidium</i> sp.		✓					
18	<i>Frontonia maris-albi</i>		✓		✓			✓
19	<i>Holosticha cf. kessleri</i>			✓		✓		
20	<i>Holosticha diademata</i>	✓	✓			✓		
21	<i>Kentrophoros flavum</i>						✓	✓

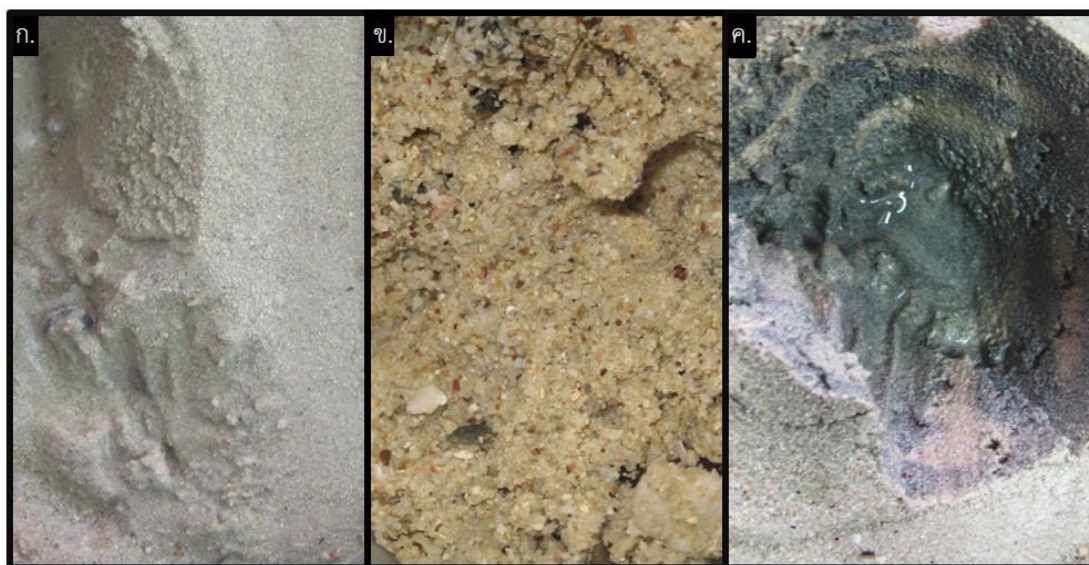
ตารางที่ 3 (ต่อ) ชื่อสกุลและชื่อชนิดของซีลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จากการสำรวจทั้ง 7 ครั้ง

ลำดับที่	สกุล/ชนิด	ช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง		ช่วงเก็บตัวอย่างจริง				
		มี.ค. 2554	พ.ค. 2554	ก.ย. 2554	ม.ค. 2555	มี.ค. 2555	พ.ค. 2555	ก.ค. 2555
22	<i>Kentrophoros gracilis</i>					✓	✓	✓
23	<i>Kentrophoros</i> sp. 1		✓			✓	✓	✓
24	<i>Kentrophoros</i> sp. 2						✓	✓
25	<i>Litonotus anguilla</i>		✓					
26	<i>Loxodes</i> cf. <i>striatus</i>		✓				✓	
27	<i>Loxophyllum</i> sp. 1			✓	✓			
28	<i>Loxophyllum</i> sp. 2					✓		
29	<i>Loxophyllum</i> sp. 3						✓	
30	<i>Mesodinium</i> sp.			✓	✓	✓		
31	<i>Oxytricha aeruginosa</i>			✓			✓	
32	<i>Pleuronema</i> sp. 1	✓	✓			✓		
33	<i>Pleuronema</i> sp. 2				✓			
34	<i>Prodiscocephalus</i> sp.					✓		
35	<i>Protocruzia</i> sp.						✓	✓
36	<i>Remanella</i> sp. 1		✓			✓	✓	✓
37	<i>Remanella</i> sp. 2		✓				✓	✓
38	<i>Remanella</i> sp. 3		✓			✓	✓	✓
39	<i>Spathidium</i> sp.					✓		
40	<i>Trachelocerca</i> cf. <i>ditis</i>		✓			✓		✓
41	<i>Trachelocerca laevis</i>		✓				✓	
42	<i>Trachelocerca schultzei</i>			✓				
43	<i>Trachelocerca</i> sp. 1		✓	✓	✓			

ตารางที่ 3 (ต่อ) ชื่อสกุลและชื่อชนิดของซิวเลียตที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จากการสำรวจทั้ง 7 ครั้ง

ลำดับที่	สกุล/ชนิด	ช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง		ช่วงเก็บตัวอย่างจริง				
		มี.ค. 2554	พ.ค. 2554	ก.ย. 2554	ม.ค. 2555	มี.ค. 2555	พ.ค. 2555	ก.ค. 2555
44	<i>Trachelocerca</i> sp. 2		✓			✓		✓
45	<i>Trachelocerca</i> sp. 3		✓	✓			✓	✓
46	<i>Trachelocerca</i> sp. 4		✓			✓	✓	✓
47	<i>Tracheloraphis</i> sp. 1		✓	✓			✓	
48	<i>Tracheloraphis</i> sp. 2					✓		
49	<i>Tracheloraphis</i> sp. 3		✓			✓		✓
50	<i>Uronema marinum</i>				✓	✓	✓	✓
51	<i>Uronychia transfuga</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
52	<i>Urostyla</i> sp.				✓	✓	✓	
53	hypotrich 1						✓	✓
54	hypotrich 2					✓		
55	hypotrich 3						✓	
56	hypotrich 4						✓	
57	plagiopylid						✓	
58	trachelocercid 1		✓			✓		
59	trachelocercid 2		✓					✓
60	trachelocercid 3		✓				✓	✓
61	trachelostylid		✓				✓	✓
รวม	61 ชนิด	6	28	14	12	36	30	24

สำหรับทรายที่พบบริเวณหาดลูกกลมสามารถแบ่งตามลักษณะทรายออกได้เป็น 3 ประเภท คือ 1) ทรายสีขาวเนื้อละเอียด อยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงสูงสุด ห่างจากฝั่งนับจากแนวหญ้าลอยลม ประมาณ 15 เมตร (ตัวอย่างพิกัด 47P 711444 และ UTM 1392003) 2) ทรายน้ำตาลเนื้อหยาบมีกรวดปน อยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับกลาง ห่างจากฝั่งนับจากแนวหญ้าลอยลมประมาณ 30 เมตร (ตัวอย่างพิกัด 47P 711403 และ UTM 1391866) และ 3) ทรายน้ำตาลปนเทาเนื้อละเอียด อยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงต่ำสุด ห่างจากฝั่งนับจากแนวหญ้าลอยลมประมาณ 45 เมตร (ตัวอย่างพิกัด 47P 711391 และ UTM 1391923) (ภาพที่ 74) โดยทรายสีขาวเนื้อละเอียด มักจะพบซิลิเกตในชั้น Spirotrichea เช่น ซิลิเกตในสกุล *Aspidisca*, *Diophrys* และ *Euplotes* ฯลฯ ส่วนทรายน้ำตาลเนื้อกรวดมักจะพบซิลิเกตในชั้น Protostomatea เช่น ซิลิเกตในสกุล *Colpes* ฯลฯ ขณะที่ทรายน้ำตาลปนเทาเนื้อละเอียด ซึ่งอยู่ใต้น้ำทะเล มักจะพบซิลิเกตในชั้น Karyorelictea เช่น ซิลิเกตในสกุล *Kentrophoros*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Remanella* ฯลฯ โดยจะพบได้เป็นจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น ซิลิเกตในสกุล *Kentrophoros* พบจำนวนมากถึง 41 เซลล์ ต่อหนึ่งวงกลิ้งที่กำลังขยาย 50 เท่า



ภาพที่ 74 ลักษณะทรายที่พบบริเวณหาดลูกกลม ก. ทรายสีขาวเนื้อละเอียด, ข. ทรายน้ำตาลเนื้อหยาบมีกรวดปน และ ค. ทรายน้ำตาลปนเทาเนื้อละเอียด

การระบุชนิดของซิลิเอต โดยอาศัยลักษณะทางอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอ

ก. การทดลองเพาะเลี้ยงซิลิเอต

จากการทดลองเพาะเลี้ยงซิลิเอตด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ f/2-silica (Guillard and Ryther, 1962) และยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงซิลิเอตสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่เริ่มจากเซลล์ตั้งต้นเพียงเซลล์เดียวได้ใน 5 สกุล คือ *Aspidisca*, *Diophrys*, *Euplotes*, *Protocruzia* และ *Uronema*

โดยในปัจจุบันมีซิลิเอตที่ยังคงรักษาสายพันธุ์ (isolate) ไว้ได้ จำนวน 4 ชนิด และ 8 สายพันธุ์ (isolated) ดังนี้

<i>Euplotes quinquecarinatus</i> (ภาพที่ 41)	จำนวน 2 สายพันธุ์
<i>Euplotes rariseta</i> (ภาพที่ 42)	จำนวน 1 สายพันธุ์
<i>Euplotes cf. vannus</i> (ภาพที่ 44)	จำนวน 1 สายพันธุ์
<i>Uronema marinum</i> (ภาพที่ 71)	จำนวน 4 สายพันธุ์

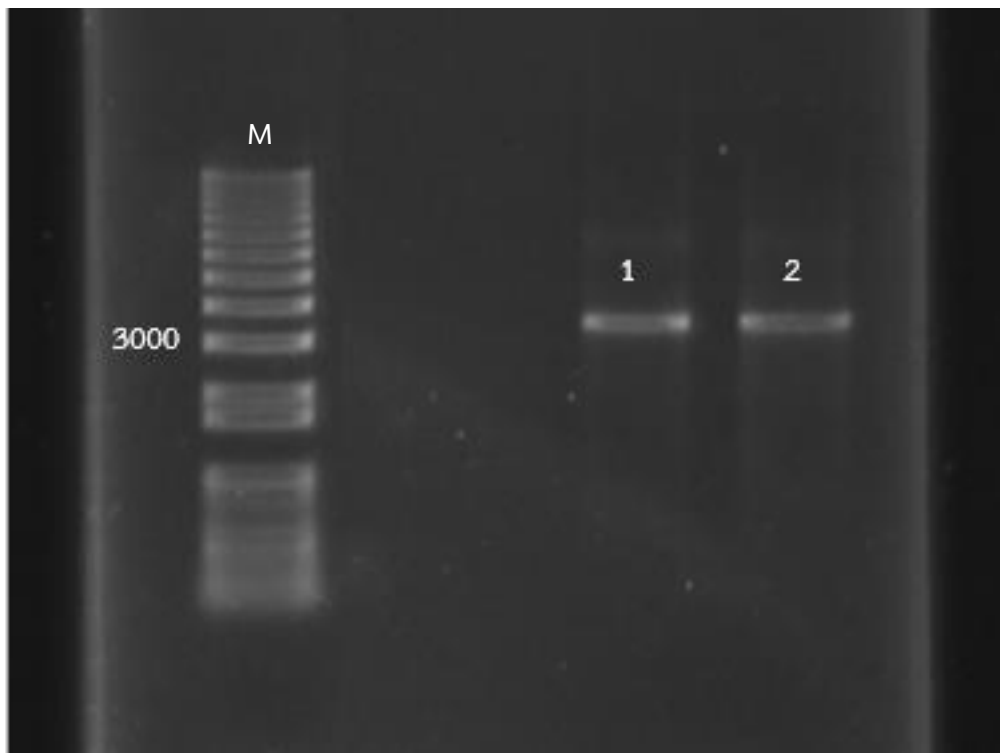
ส่วนซิลิเอตใน 3 สกุลที่เหลือ คือ *Aspidisca*, *Diophrys* และ *Protocruzia* (ภาพที่ 40, 46 และ 38) สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ แต่ไม่สามารถเก็บรักษาไว้จนถึงปัจจุบันเนื่องจากการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ทำให้สูญเสียสายพันธุ์ไปในระหว่างการศึกษา

โดยซิลิเอตที่ทำการเพาะเลี้ยงได้นี้มีประโยชน์ในการใช้เป็นตัวอย่างในการสกัดดีเอ็นเอ สำหรับกรณีที่ต้องการดีเอ็นเอบริสุทธิ์จากซิลิเอตในปริมาณมาก เพื่อใช้เป็นสารแม่แบบในการหาสถานะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจใช้ในการระบุชนิดของซิลิเอตต่อไป

ข. การหาสถานะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

จากการทดลองเพิ่มจำนวนยีนหรือช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจสำหรับการระบุชนิดซิลิเอต ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส และหาสถานะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม ด้วยไพรเมอร์ที่ถูกออกแบบจากตำแหน่งที่แตกต่างกัน พบว่าไพรเมอร์ SSU-RPF1 และ 28S-1316R ตลอดจนสถานะในการทำปฏิกิริยาที่ทดลอง สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ rDNA (ribosomal DNA) ได้ผลิตภัณฑ์ขนาดตั้งแต่ 2,900-3,600 คู่เบส (ภาพที่ 75) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของซิลิเอตครอบคลุมตั้งแต่ ยีน 18S หรือสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (small subunit ribosomal DNA: SSU), ช่วงลำดับ ITS1 (internal transcribed spacer 1), ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 (internal transcribed spacer 2) และส่วนต้นของยีน 28S หรือลาร์จซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (large subunit ribosomal DNA: LSU) ของซิลิเอตทั้ง 20 ชนิด ดังนี้ *Apocoleps* sp. (ภาพที่ 68), *Aspidisca* sp. (ภาพที่ 40), *Condyllostoma cf. enigmatica* (ภาพที่ 37), *Condyllostoma* sp., *Diophrys* sp. 1-2 (ภาพที่ 46-47), *Euplotes quinquecarinatus* (ภาพที่ 41), *Euplotes rariseta* (ภาพที่ 42), *Euplotes vannus* (ภาพที่ 43), *Euplotes cf. vannus* (ภาพที่ 44), *Holosticha diademata* (ภาพที่ 56), *Kentrophoros* sp. 1 (ภาพที่ 14), *Mesodinium* sp. (ภาพที่ 64),

Trachelocerca schultzei (ภาพที่ 18), *Trachelocerca* sp. 2 (ภาพที่ 20), *Trachelocerca* sp. 3 (ภาพที่ 21), *Trachelocerca* sp. 4 (ภาพที่ 22), *Tracheloraphis* sp. 2 (ภาพที่ 25), *Uronema marinum* (ภาพที่ 71), และ *Uronychia transfuga* (ภาพที่ 48)



ภาพที่ 75 แผ่นวุ้นอะกาโรสภายใต้การสกัดแยกด้วยไฟฟ้า แสดงผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอขนาดประมาณ 3,500 คู่เบส จาก 1. *Euplotes vannus* และ 2. *Euplotes rariseta*; M คือ เครื่องหมายโมเลกุลใช้ในการเทียบขนาด ชนิด 1 kb plus

ค. การระบุอัตลักษณ์ของซิลิเกตโดยอาศัยข้อมูลทางอนุชีววิทยา

การวิเคราะห์หาความเหมือนและความต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากซิลิเกตจำนวน 20 ชนิด ใน 12 สกุล จากลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 33 ลำดับ ที่มีความยาวของลำดับประมาณ 2,900-3,600 คู่เบส โดยครอบคลุมยีน 18S, ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S ของบริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอ เปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ปรากฏในฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (NCBI, 2013a: Online) โดยแสดงรายละเอียดของซิลิเกตทั้ง 20 ชนิด ดังนี้ (ตารางที่ 4)

1. *Apocoleps* sp. (ภาพที่ 68) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 4-1 มีความยาว 3,567 คู่เบส (ภาคผนวก ก1) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Apocoleps* sp. WS-2010 (GenBank accession no. HM747137.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

2. *Aspidisca* sp. (ภาพที่ 40) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ นิวคลีโอไทด์ลำดับที่ 5-5, 5-6 และ 5-7 ตามลำดับ โดยแต่ละสายมีความยาว 3,349 คู่เบส เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ (pairwise comparison) และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (number of nucleotide differences) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ (percentage of pairwise sequence divergences) ด้วยแบบจำลอง Kimura's two-parameter (K2P) ได้ค่าเฉลี่ย 2.67 ตำแหน่ง และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาคผนวก ก2) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Aspidisca magna* (EU880598.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด ซึ่งมีความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 96%

3. *Condylostoma* cf. *enigmatica* (ภาพที่ 37) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 2 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 5-6 และ 5-7 โดยแต่ละสายมีความยาว 3,123 และ 3,122 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 11 ตำแหน่ง และ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาคผนวก ก3) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Condylostoma* sp. (FJ868178.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 98%

4. *Condylostoma* sp. (ไม่มีภาพ) มีนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 3-4 มีความยาว 3,119 คู่เบส (ภาคผนวก ก4) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Condylostoma* sp. (FJ868178.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสาย ในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 98%

5. *Diophrys* sp. 1 (ภาพที่ 46) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 1-4 มีความยาว 3,493 คู่เบส (ภาคผนวก ก5) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Diophrys* cf. *oligothrix* (JF701983.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

6. *Diophrys* sp. 2 (ภาพที่ 47) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 4-1, 4-2 และ 5-4 โดยแต่ละสายมีความยาว 3,499, 3,500 และ 3,501 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 20.67 ตำแหน่ง และ 0.59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาคผนวก ก6) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Diophrys scutum* (HM154532.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 98%

7. *Euplotes quinquecarinatus* (ภาพที่ 41) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 2 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 1-5 และ 1-6 โดยแต่ละสายมีความยาว 3,615 และ 3,627 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 10 ตำแหน่ง และ 0.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาคผนวก ก7) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Euplotes quinquecarinatus* (JX437136.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

8. *Euplotes rariseta* (ภาพที่ 42) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 3-1, ลำดับที่ 3-2, และลำดับที่ 3-3 โดยแต่ละสายมีความยาว 3,620 คู่เบส เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 3.33 ตำแหน่ง และ 0.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาคผนวก ก8) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Euplotes rariseta* (FJ423449.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

9. *Euplotes vannus* (ภาพที่ 43) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 1-4, 1-5, และลำดับที่ 1-6 โดยแต่ละสายมีความยาว 3,636, 3,654 และ 3,654 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 6.67 ตำแหน่ง และ 0.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาคผนวก ก9) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Euplotes vannus* (EF094956.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

10. *Euplotes cf. vannus* (ภาพที่ 44) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 4-2 มีความยาว 3,648 คู่เบส (ภาคผนวก ก10) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Euplotes vannus* (EF094957.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

11. *Holosticha diademata* (ภาพที่ 57) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 5-5 มีความยาว 3,558 คู่เบส (ภาคผนวก ก11) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Holosticha diademata* (DQ059583.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

12. *Kentrophoros* sp. 1 (ภาพที่ 14) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 7-6 มีความยาว 3,014 คู่เบส (ภาคผนวก ก12) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของ *Kentrophoros gracilis* (FJ467506.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 93%

13. *Mesodinium* sp. (ภาพที่ 64) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 2 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 11-3 และลำดับที่ 11-6 โดยแต่ละสายมีความยาว 2,875 คู่เบส เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 8 ตำแหน่ง และ 0.28 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาคผนวก ก13) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของ *Mesodinium pulex* (JN412740.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 93%

14. *Trachelocerca schultzei* (ภาพที่ 18) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 8-6 มีความยาว 2,930 คู่เบส (ภาคผนวก ก14) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของ *Trachelocerca sagitta* (KC542935.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

15. *Trachelocerca* sp. 2 (ภาพที่ 20) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 6-1 มีความยาว 2,852 คู่เบส (ภาคผนวก ก15) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของ Uncultured Trachelocercidae (AJ971529.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

16. *Trachelocerca* sp. 3 (ภาพที่ 21) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 6-7 มีความยาว 2,931 คู่เบส (ภาคผนวก ก16) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของ Uncultured Trachelocericidae (AJ971533.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

17. *Trachelocerca* sp. 4 (ภาพที่ 22) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 5-1 มีความยาว 2,807 คู่เบส (ภาคผนวก ก17) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของ Uncultured Trachelocericidae (AJ971525.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 97%

18. *Tracheloraphis* sp. 2 (ภาพที่ 25) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 15-1 มีความยาว 2,931 คู่เบส (ภาคผนวก ก18) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Trachelocerca ditis* (GQ167153.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

19. *Uronema marinum* (ภาพที่ 71) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย คือ ลำดับที่ 4-6 มีความยาว 3,463 คู่เบส (ภาคผนวก ก19) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Uronema marinum* (GQ259745.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

20. *Uronychia transfuga* (ภาพที่ 48) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 3-1, 3-2 และ 3-3 โดยแต่ละสายมีความยาว 3,541, 3,544 และ 3,542 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างนิวคลีโอไทด์ ด้วยแบบจำลอง K2P ได้ค่าเฉลี่ย 10 ตำแหน่ง และ 0.28 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาคผนวก ก20) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Uronychia transfuga* (AF260120.1) ในฐานข้อมูลของ NCBI มากที่สุด พบความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 99%

จากผลการระบุอัตลักษณ์ของซีลีเอตทั้ง 20 ชนิด 12 สกุล จากดีเอ็นเอจำนวน 33 ลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ปรากฏในฐานข้อมูลของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLAST (NCBI, 2013a: Online) พบว่าลำดับดีเอ็นเอทั้งหมดมีความคล้ายคลึงกับยีน 18S หรือ สมอลซ์ยูนิตรโบโซมอลดีเอ็นเอ และมีความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 93-99% โดยค่าความคล้ายคลึงตั้งแต่ 93-98% มีความสอดคล้องกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาในระดับสกุล ส่วนค่าความคล้ายคลึง 99% มีความสอดคล้องกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาในระดับชนิด ยกเว้นใน *Trachelocerca schultzei* และ *Tracheloraphis* sp. 2 ที่พบความคล้ายคลึงกับยีน 18S ของ *Trachelocerca sagitta* และ *Trachelocerca ditis* ถึง 99% แต่ไม่พบความสอดคล้องกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาในระดับชนิด ส่วน *Coleps pulcher* เดิมที่จำแนกไว้ พบความคล้ายคลึงกับยีน 18S ถึง 99% กับ *Apocoleps* ซึ่งเป็นสกุลใหม่ที่รายงานไว้โดย Chen, Warren และ Song (2009) แต่ยังขาดข้อมูลในส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Apocoleps* sp. (HM747137.1) ที่จะนำมาใช้เปรียบเทียบกับ *Apocoleps* ที่พบในการศึกษารุ่นนี้

ตารางที่ 4 แสดงผลการระบุอัตลักษณ์ของซีลีเอตจำนวน 20 ชนิด ที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (NCBI, 2013a: Online)

การระบุอัตลักษณ์ของซีลีเอต					
ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากการศึกษาในครั้งนี้			ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จาก GenBank		
สกุล/ชนิดของซีลีเอต	จำนวนลำดับ	ความยาว (คู่เบส)	ค่าความคล้ายคลึง*	สกุล/ชนิดของซีลีเอต ที่พบความคล้ายคลึง	เลขการเข้าถึงข้อมูล
<i>Apocoleps</i> sp.**	1	3,567	99%	<i>Apocoleps</i> sp.	HM747137.1
<i>Aspidisca</i> sp.	3***	3,349	96%	<i>Aspidisca magna</i>	EU880598.1
<i>Condylostoma</i> cf. <i>enigmatica</i>	2	3,122-3,123	98%	<i>Condylostoma</i> sp.	FJ868178.1
<i>Condylostoma</i> sp.	1	3,119	98%	<i>Condylostoma</i> sp.	FJ868178.1
<i>Diophrys</i> sp. 1	1	3,493	99%	<i>Diophrys</i> cf. <i>oligothrix</i>	JF701983.1
<i>Diophrys</i> sp. 2	3	3,499-3,501	98%	<i>Diophrys scutum</i>	HM154532.1
<i>Euplotes quinquecarinatus</i>	2	3,615-3,627	99%	<i>Euplotes quinquecarinatus</i>	JX437136.1
<i>Euplotes rariseta</i>	3	3,620	99%	<i>Euplotes rariseta</i>	FJ423449.1
<i>Euplotes vannus</i>	3	3,636-3,654	99%	<i>Euplotes vannus</i>	EF094956.1
<i>Euplotes</i> cf. <i>vannus</i>	1	3,648	99%	<i>Euplotes vannus</i>	EF094957.1
<i>Holosticha diademata</i>	1	3,558	99%	<i>Holosticha diademata</i>	DQ059583.1
<i>Kentrophoros</i> sp. 1	1	3,014	93%	<i>Kentrophoros gracilis</i>	FJ467506.1
<i>Mesodinium</i> sp.	2	2,875	93%	<i>Mesodinium pulex</i>	JN412740.1
<i>Trachelocerca schultzei</i>	1	2,930	99%	<i>Trachelocerca sagitta</i>	KC542935.1
<i>Trachelocerca</i> sp. 2	1	2,852	99%	uncultured Trachelocercidae	AJ971529.1
<i>Trachelocerca</i> sp. 3	1	2,931	99%	uncultured Trachelocercidae	AJ971533.1
<i>Trachelocerca</i> sp. 4	1	2,807	97%	uncultured Trachelocercidae	AJ971525.1
<i>Tracheloraphis</i> sp. 2	1	2,931	99%	<i>Trachelocerca ditis</i>	GQ167153.1
<i>Uronema marinum</i>	1	3,463	99%	<i>Uronema marinum</i>	GQ259745.1
<i>Uronychia transfuga</i>	3	3,541-3,544	99%	<i>Uronychia transfuga</i>	AF260120.1
จำนวนลำดับทั้งหมด	33				

* ค่าความคล้ายคลึง แสดงเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกับสมอลซ์ยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอในความยาวที่สามารถเทียบกันได้

** ในช่วงการศึกษาเบื้องต้นเมื่อพิจารณาแต่เพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าคล้ายกับ *Coleps pulcher* Spiegel, 1926

*** ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้ มีจำนวนซ้ำขึ้นกับโอกาสในการสุ่มเจอโคโลนีแบบที่เรียสสีขาว ที่มีพลาสมิดซึ่งมีช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สนใจอยู่ในขั้นตอนการโคลนผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ โดยทำการสุ่มครั้งละ 7 โคโลนี ต่อชนิด สำหรับในกรณีที่ไม่พบพลาสมิดที่มีผลิตภัณฑ์ที่ต้องการอยู่ในการสุ่มครั้งแรก จะทำการสุ่มเพิ่มซ้ำอีกครั้ง จำนวน 7 โคโลนี

การหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดซิลิเอต

จากการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอของซิลิเอตทั้ง 12 สกุล ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือ *Aspidisca*, *Apocoleps*, *Condylostoma*, *Diophrys*, *Euplotes*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Mesodinium*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis*, *Uronema* และ *Uronychia* ร่วมกับข้อมูลลำดับดีเอ็นเอของซิลิเอตทั้ง 12 สกุลที่ปรากฏในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI ซึ่งส่วนใหญ่พบข้อมูลปรากฏเฉพาะบริเวณยีน 18S หรือ สมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ การวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอจากซิลิเอตแต่ละสกุลโดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6 โดยพิจารณาค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (number of nucleotide differences) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (percentage of pairwise sequence divergences) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบเป็นคู่ (pairwise comparison) โดยใช้แบบจำลอง Kimura's two-parameter (K2P) พบว่า ช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ ประมาณ 500 คู่เบส ในบริเวณยีน 18S สามารถใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการระบุชนิดของซิลิเอต 9 สกุล คือ *Apocoleps*, *Aspidisca*, *Condylostoma*, *Diophrys*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Uronema* โดยแสดงรายละเอียดและผลการคำนวณ ดังนี้

ก. ซิลิเอตสกุล *Apocoleps*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดจำนวน 4 สาย เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด (interspecific) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 504 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 1-12 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 4 ตำแหน่ง) และ 0.20-2.43% (เฉลี่ย 1.31%) ตามลำดับ (ตารางที่ 5) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด (intraspecific) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน ไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากแต่ละชนิดมีเพียงชนิดละ 1 ลำดับเท่านั้น โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 504 คู่เบส ที่เสนอนี้ มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 589 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 504 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V3 ถึง V5 ในส่วนที่ 22-31 ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ [variable regions 3-5 (22-31): อ้างอิงบริเวณตำแหน่งตามโครงสร้างทุติยภูมิของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอของ *Tetrahymena bergeri* (Strüder-Kypke et al., 2001)]

ข. ซิลิเอตสกุล *Aspidisca*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 8 สาย เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 551 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 16-93 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 51.92 ตำแหน่ง) และ 3.61-23.92% (เฉลี่ย 12.61%) ตามลำดับ โดยไม่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดของ *Aspidisca* เท่ากับ 0 (ตารางที่ 6) โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 551 คู่เบส ที่เสนอนี้ มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่หนึ่งถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 551 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V1 ถึง V3 ในส่วนที่ 1 ถึง 21 ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ค. ซิลิเอตสกุล *Condylostoma*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 10 สาย เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 537 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 2-20 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 11.86 ตำแหน่ง) และ 0.38-3.94% (เฉลี่ย 2.31%) ตามลำดับ (ตารางที่ 7) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ในช่วง 0-1 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 0.5 ตำแหน่ง) และ 0.00-0.19% (เฉลี่ย 0.10%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 537 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่หนึ่งถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 537 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V1 ถึง V3 ในส่วนที่ 1 ถึง 21 ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ง. ซิลิเอตสกุล *Diophrys*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 22 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 9 กลุ่มตามชนิด เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละกลุ่มของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 569 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 0-18 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 11.35 ตำแหน่ง) และ 0.00-3.20% (เฉลี่ย 2.07%) ตามลำดับ (ตารางที่ 8) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ในช่วง 0-10 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 2.51 ตำแหน่ง) และ 0.00-1.82% (เฉลี่ย 0.45%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 569 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่หนึ่งถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 569 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V1 ถึง V3 ในส่วนที่ 1 ถึง 21 ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

จ. ซิลิเอตสกูล *Holosticha*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 7 สาย เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 567 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 7-44 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 22.16 ตำแหน่ง) และ 1.27-8.37% (เฉลี่ย 4.13%) ตามลำดับ (ตารางที่ 9) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ในช่วง 0-3 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 1.5 ตำแหน่ง) และ 0.00-0.54% (เฉลี่ย 0.27%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 567 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่หนึ่งถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 567 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V1 ถึง V3 ในส่วนที่ 1 ถึง 21 ของสมอลซับยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอ

ฉ. ซิลิเอตสกูล *Kentrophoros*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 3 สาย เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 568 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 2-45 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 30 ตำแหน่ง) และ 0.36-8.52% (เฉลี่ย 5.66%) ตามลำดับ (ตารางที่ 10) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน ไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากแต่ละชนิดมีเพียงชนิดละ 1 ลำดับเท่านั้น โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 568 คู่เบส ที่ใช้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,085 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 568 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V5 ถึง V9 ในส่วนที่ 35 ถึง 50 ของสมอลซับยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอ

ช. ซิลิเอตสกูล *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 6 และ 2 สาย ตามลำดับ โดยนำมาพิจารณาเปรียบเทียบร่วมกันเนื่องจากภายหลังทำการระบุอัตลักษณ์แล้วพบว่า *Tracheloraphis* sp. 2 ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ มีความคล้ายคลึงกับสมอลซับยูนิตรไโบโซมอลดีเอ็นเอของ *Trachelocerca ditis* ถึง 99% เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 514 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 2-34 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 15.64 ตำแหน่ง) และ 0.45-8.00% (เฉลี่ย 3.61%) ตามลำดับ (ตารางที่ 11) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน ไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากแต่ละชนิดมีเพียงชนิดละ 1 ลำดับเท่านั้น โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 514 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้น

ในตำแหน่งที่หนึ่งถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 514 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V1 ถึง V3 ใน ส่วนที่ 1 ถึง 21 ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ช. ซิลิเอตสกุล *Uronema*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด จำนวน 7 สาย เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละสายของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และ คำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่าง ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 563 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 2-44 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 39.21 ตำแหน่ง) และ 0.36- 8.51% (เฉลี่ย 7.51%) ตามลำดับ (ตารางที่ 12) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน ภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ใน ช่วง 0-8 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 4.5 ตำแหน่ง) และ 0.00-1.47% (เฉลี่ย 1.00%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัส ดีเอ็นเอความยาว 563 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่หนึ่งถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาว ไป 563 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ V1 ถึง V3 ในส่วนที่ 1 ถึง 21 ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ตารางที่ 5 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่า เปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็น คู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของ ซิลิเอตในสกุล *Apocoleps* ความยาว 504 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 4 สาย

ชนิด	1)	2)	3)	4)
1)	-	8	12	9
2)	1.61	-	4	1
3)	2.43	0.80	-	5
4)	1.81	0.20	1.00	-

หมายเลขแสดง 1) *Apocoleps magnus* [GenBank accession no. FJ858213.1]; 2) *Apocoleps* sp. ลำดับที่ 4-1 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้); 3) *Apocoleps* sp. [FJ858214.1]; และ 4) *Apocoleps* sp. [HM747137.1]

ตารางที่ 6 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซัยยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Aspidisca* ความยาว 551 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 8 สาย

ชนิด	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)
1)	-	75	60	54	64	55	55	55
2)	18.64	-	54	61	93	58	58	58
3)	14.52	12.94	-	33	75	22	22	22
4)	12.94	14.81	7.64	-	69	16	16	16
5)	15.62	23.92	18.70	17.01	-	69	69	69
6)	13.20	13.99	5.00	3.61	17.02	-	0	0
7)	13.20	13.99	5.00	3.61	17.02	0.00	-	0
8)	13.20	13.99	5.00	3.61	17.02	0.00	0.00	-

หมายเลขแสดง 1) *Aspidisca aculeata* [GenBank accession no. EF123704.1]; 2) *Aspidisca hongkongensis* [FJ998020.1]; 3) *Aspidisca leptaspis* [EU880597.1]; 4) *Aspidisca magna* [EU880598.1]; 5) *Aspidisca orthopogon* [EU430745.1]; และ 6)-8) *Aspidisca* sp. ลำดับที่ 5-5, 5-6 และ 5-7 ตามลำดับ (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของ 6)-8) *Aspidisca* sp. ลำดับที่ 5-5, 5-6 และ 5-7 มีค่าเท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซ์ยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Condyllostoma* ความยาว 537 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 10 สาย

ชนิด	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)	9)	10)
1)	–	16	15	10	20	20	12	10	13	11
2)	3.13	–	1	12	17	17	8	14	9	13
3)	2.93	0.19	–	11	16	16	7	13	8	12
4)	1.94	2.33	2.14	–	14	14	8	3	9	2
5)	3.94	3.33	3.13	2.73	–	0	15	14	14	15
6)	3.94	3.33	3.13	2.73	0.00	–	15	14	14	15
7)	2.34	1.55	1.35	1.55	2.93	2.93	–	10	3	9
8)	1.94	2.73	2.53	0.58	2.73	2.73	1.94	–	9	3
9)	2.54	1.74	1.55	1.74	2.73	2.73	0.58	1.75	–	10
10)	2.14	2.53	2.33	0.38	2.93	2.93	1.75	0.58	1.94	–

หมายเลขแสดง 1) *Condyllostoma cf. arenarium* [GenBank accession no. FJ998021.1]; 2)-3) *Condyllostoma cf. enigmatica* ลำดับที่ 5-6 และ 5-7 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*; 4) *Condyllostoma curva* [EU379939.1]; 5)-6) *Condyllostoma spatiosum* [HM140390.1] และ [HM140390.1]*; 7) *Condyllostoma sp.* ลำดับที่ 3-4; 8) *Condyllostoma sp.* [AM295496.1]; 9) *Condyllostoma sp.* [FJ868178.1]; และ 10) *Condyllostoma sp.* [FJ868179.1]

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของ

2)-3) *Condyllostoma cf. enigmatica* ลำดับที่ 5-6 และ 5-7 เท่ากับ 1 ตำแหน่ง และ 0.19% ตามลำดับ

5)-6) *Condyllostoma spatiosum* [HM140390.1 และ HM140390.1] เท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ระหว่างกลุ่ม คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเกตในสกุล *Diophrys* ความยาว 569 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 22 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 9 กลุ่ม

กลุ่ม	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)	9)
1)	–	15	11	11	18	8	11	12	9
2)	2.65	–	14	14	6	15	14	15	15
3)	1.91	2.46	–	2	16	12	2	3	15
4)	1.91	2.46	0.36	–	16	12	0	1	15
5)	3.20	1.09	2.92	2.92	–	17	16	17	17
6)	1.41	2.70	2.24	2.23	3.16	–	12	13	8
7)	1.91	2.46	0.36	0.00	2.92	2.23	–	1	15
8)	2.09	2.65	0.54	0.18	3.11	2.42	0.18	–	16
9)	1.66	2.77	2.68	2.68	3.05	1.44	2.68	2.86	–

เลขกลุ่มแสดง 1) *Diophrys apoligothrix* [GenBank accession no. EU189068.1 และ JF694038.1]*; 2) *Diophrys appendiculata* [AY004773.1 และ F694041.1]*; 3) *Diophrys oligothrix* [DQ353850.1 และ HE664172.1]*; 4) *Diophrys cf. oligothrix* [JF694039.1 และ JF701983.1]*; 5) *Diophrys parappendiculata* [EU267928.1 และ EU267930.1]*; 6) *Diophrys scutum* [DQ353851.1, EU189069.1, HM140401.1, HM154532.1, HQ413691.1, HQ413692.1 และ JF694040.1]*; 7) *Diophrys* sp. [HE664174.1]; 8) *Diophrys* sp. 1 ลำดับที่ 1-4; และ 9) *Diophrys* sp. 2 ลำดับที่ 4-1, 4-2 และ 5-4 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของกลุ่ม: 1) เท่ากับ 1 ตำแหน่ง และ 0.18% ตามลำดับ; 2) 10 ตำแหน่ง และ 1.82%; 3) 2 ตำแหน่ง และ 0.36%; 4) 0 ตำแหน่ง และ 0.00%; 5) 2 ตำแหน่ง และ 0.36%; 6) 0.6 ตำแหน่ง และ 0.10%, และ 9) 2 ตำแหน่ง และ 0.36% ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม 7)-8) ไม่มีค่าเปรียบเทียบ เนื่องจากแต่ละชนิดมีเพียงชนิดละ 1 สายของลำดับนิวคลีโอไทด์เท่านั้น

ตารางที่ 9 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซ์ยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Holosticha* ความยาว 567 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 7 สาย

ชนิด	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)
1)	–	3	7	7	26	7	40
2)	0.54	–	9	9	28	8	43
3)	1.27	1.63	–	0	23	7	40
4)	1.27	1.63	0.00	–	23	7	40
5)	4.80	5.19	4.23	4.23	–	27	26
6)	1.27	1.45	1.27	1.27	5.00	–	44
7)	7.56	8.16	7.55	7.55	4.80	8.37	–

หมายเลขแสดง 1)-2) *Holosticha bradburyae* [GenBank accession no. EF123706.1 และ FJ775716.1]*; 3)-4) *Holosticha diademata* [DQ059583.1] และ ลำดับที่ 5-5 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*; 5) *Holosticha heterofoissneri* [DQ059582.1]; 6) *Holosticha* cf. *heterofoissneri* [FJ775717.1]; และ 7) *Holosticha multistylata* [AJ277876.1]

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของ

1)-2) *Holosticha bradburyae* [EF123706.1 และ FJ775716.1] เท่ากับ 3 ตำแหน่ง และ 0.54% ตามลำดับ

3)-4) *Holosticha diademata* [DQ059583.1] และ ลำดับที่ 5-5 เท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ

ตารางที่ 10 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Kentrophoros* ความยาว 568 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 3 สาย

ชนิด	1)	2)	3)
1)	–	2	45
2)	0.36	–	43
3)	8.52	8.11	–

หมายเลขแสดง 1) *Kentrophoros flavus* [GenBank accession no. FJ467505.1]; 2) *Kentrophoros gracilis* [FJ467506.1]; และ 3) *Kentrophoros* sp. 1 ลำดับที่ 7-6 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)

ตารางที่ 11 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซัยยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* ความยาว 514 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 8 สาย

ชนิด	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)
1)	–	2	7	8	5	32	16	5
2)	0.45	–	6	10	7	31	15	5
3)	1.57	1.35	–	13	8	33	14	10
4)	1.80	2.26	2.95	–	11	33	19	9
5)	1.12	1.57	1.80	2.49	–	34	18	10
6)	7.52	7.28	7.75	7.79	8.00	–	29	31
7)	3.65	3.41	3.18	4.36	4.11	6.78	–	17
8)	1.12	1.12	2.26	2.03	2.26	7.28	3.88	–

หมายเลขแสดง 1) *Trachelocerca ditis* [GenBank accession no. GQ167153.1]; 2) *Trachelocerca sagitta* [KC542935.1]; 3) *Trachelocerca schultzei* ลำดับที่ 8-6 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้); 4) *Trachelocerca* sp. 2 ลำดับที่ 6-1; 5) *Trachelocerca* sp. 3 ลำดับที่ 6-7; 6) *Trachelocerca* sp. 4 ลำดับที่ 5-1; 7) *Tracheloraphis* sp. [L31520.1]; และ 8) *Tracheloraphis* sp. 2 ลำดับที่ 15-1

ตารางที่ 12 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของสมอลซ์ยูนิตรอบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเอตในสกุล *Uronema* ความยาว 563 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 7 สาย

ชนิด	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)
1)	–	41	42	44	42	37	37
2)	7.90	–	6	8	4	38	38
3)	8.10	1.10	–	2	8	39	39
4)	8.51	1.47	0.36	–	10	41	41
5)	8.10	0.73	1.47	1.85	–	35	35
6)	7.07	7.25	7.45	7.85	6.65	–	0
7)	7.07	7.25	7.45	7.85	6.65	0.00	–

หมายเลขแสดง 1) *Uronema heteromarinum* [GenBank accession no. FJ870100.1]; 2)-5) *Uronema marinum* [DQ867072.1], [GQ259749.1], [GQ465466.1] และ ลำดับที่ 4-6 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*; 6)-7) *Uronema nigricans* [JF973324.1] และ [JN638884.1]*

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของ

2)-5) *Uronema marinum* [DQ867072.1], [GQ259749.1], [GQ465466.1] และ ลำดับที่ 4-6 เท่ากับ 5 ตำแหน่ง และ 0.98% ตามลำดับ

6)-7) *Uronema nigricans* [JF973324.1] และ [JN638884.1] เท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ

สำหรับซิลิเอตใน 3 สกุล ที่เหลือ คือ *Euplotes*, *Mesodinium* และ *Uronychia* เมื่อพิจารณาค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยเปรียบเทียบเป็นคู่ และใช้แบบจำลอง K2P พบว่าช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 400-600 คู่เบส ในบริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และบางส่วนของยีน 28S สามารถใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดได้ โดยแสดงรายละเอียดและผลการคำนวณ ดังนี้

ฉ. ซิลิเอตสกุล *Euplotes*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดจำนวน 37 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 7 กลุ่มตามชนิด เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละกลุ่มของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 492 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 0-120 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 54.64 ตำแหน่ง) และ 0.08-37.62% (เฉลี่ย 15.98%) ตามลำดับ (ตารางที่ 13) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ในช่วง 0-6 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 1.62 ตำแหน่ง) และ 0.00-1.61% (เฉลี่ย 0.41%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 492 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,870 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 492 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ญ. ซิลิเอตสกุล *Mesodinium*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดจำนวน 8 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 6 กลุ่มตามชนิด เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละกลุ่มของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่าช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 639 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 15-105 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 76.10 ตำแหน่ง) และ 2.54-19.98% (เฉลี่ย 14.07%) ตามลำดับ (ตารางที่ 14) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ในช่วง 1-10 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 5.5 ตำแหน่ง) และ 0.17-1.68% (เฉลี่ย 0.92%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 639 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,563 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 639 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ฎ. ซิลิเอตสกุล *Uronychia*

มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดจำนวน 9 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 6 กลุ่มตามชนิด เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละกลุ่มของแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบเป็นคู่ และคำนวณหาจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด ด้วยแบบจำลอง K2P พบว่า

ช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 529 คู่เบส ให้ค่าความแตกต่างระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 15-48 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 33.36 ตำแหน่ง) และ 3.30-10.94% (เฉลี่ย 7.46%) ตามลำดับ (ตารางที่ 15) สำหรับค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกัน อยู่ในช่วง 0-30 ตำแหน่ง (เฉลี่ย 15 ตำแหน่ง) และ 0.00-6.68% (เฉลี่ย 3.91%) ตามลำดับ โดยช่วงรหัสดีเอ็นเอความยาว 529 คู่เบส ที่เสนอนี้มีจุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ 1,729 ถัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1 ยาวไป 529 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และ ช่วงลำดับ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ

ตารางที่ 13 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และช่วงลำดับ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเกตในสกุล *Euplotes* ความยาว 492 คู่เบส จำนวน 37 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 7 กลุ่มตามชนิด

กลุ่ม	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)
1)	-	112	17	33	32	30	30
2)	34.57	-	112	120	113	113	113
3)	4.32	34.54	-	27	35	33	33
4)	8.61	37.62	6.98	-	47	44	44
5)	8.33	35.13	9.21	12.48	-	4	4
6)	7.90	35.15	8.72	11.85	0.99	-	**0
7)	7.81	35.01	8.62	11.75	0.90	0.08	-

เลขกลุ่มแสดง 1) *Euplotes minuta* [GenBank accession no. AY36190 1.1, AY36190 3.1, AY361905.1, AY361907.1, AY361909.1, AY361910.1, AY361911.1 และ AY361912.1]*; 2) *Euplotes nobilii* [JQ003928.1, JQ003929.1, JQ003930.1, JQ003931.1, JQ003932.1, JQ003933.1, JQ003934.1, JQ003935.1, JQ003936.1 และ JQ003937.1]*; 3) *Euplotes quinquecarinatus* ลำดับที่ 1-5 และ 1-6 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*; 4) *Euplotes rariseta* ลำดับที่ 3-1 , 3-2 และ 3-3*; 5) *Euplotes vannus* [AY361849.1, AY361851.1, AY361853.1, AY361855.1, AY361859.1, AY361857.1, AY361858.1, AY361860.1, AY361864.1 และ AY361866.1]*; 6) *Euplotes vannus* ลำดับที่ 1-4, 1-5 และ 1-6*; และ 7) *Euplotes cf. vannus* ลำดับที่ 1-4

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของกลุ่ม: 1)-2) เท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ; 3) 2 ตำแหน่ง และ 0.50%; 4) 1 ตำแหน่ง และ 0.61%; 5) 6 ตำแหน่ง และ 1.61%; 6) 1 ตำแหน่ง และ 0.16%

** มีค่าก่อนปิดทศนิยม 0.33 ตำแหน่ง

ตารางที่ 14 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ คำนวณโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และ ส่วนต้นของยีน 28S ของโรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิติเอตในสกุล *Mesodinium* ความยาว 639 คู่เบส จำนวน 8 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 6 กลุ่มตามชนิด

กลุ่ม	1)	2)	3)	4)	5)	6)
1)	–	81	105	40	38	101
2)	14.85	–	96	70	69	63
3)	19.98	18.08	–	100	96	103
4)	6.99	12.53	18.71	–	15	84
5)	6.63	12.42	17.97	2.54	–	84
6)	18.96	11.21	19.56	15.34	15.35	–

กลุ่ม แสดง 1) *Mesodinium chamaeleon* [GenBank accession no. JN084213.1]; 2) *Mesodinium pulex* [JN412740.1]; 3) *Mesodinium pupula* [JN412739.1]; 4) *Mesodinium rubrum* [JN412736.1 และ JN412738.1]*; 5) *Mesodinium* sp. [JN412737.1] และ 6) *Mesodinium* sp. ลำดับที่ 11.3 และ 11.6 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้จากการศึกษาในครั้งนี้)*

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของกลุ่ม

4) *Mesodinium rubrum* [JN412736.1 และ JN412738.1] เท่ากับ 10 ตำแหน่ง และ 1.68% ตามลำดับ

6) *Mesodinium* sp. ลำดับที่ 11.3 และ 11.6 เท่ากับ 1 ตำแหน่ง และ 0.17% ตามลำดับ

ตารางที่ 15 ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน (ช่องตารางสามเหลี่ยมบนขวา) และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ (ช่องตารางสามเหลี่ยมล่างซ้าย) เมื่อเปรียบเทียบเป็นคู่ จำนวนโดยใช้แบบจำลอง K2P จากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และ ช่วงลำดับ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเกตในสกุล *Uronychia* ความยาว 529 คู่เบส จำนวน 9 สาย โดยจัดกลุ่มการเปรียบเทียบเป็น 6 กลุ่มตามชนิด

กลุ่ม	1)	2)	3)	4)	5)	6)
1)	–	20	15	30	30	46
2)	4.36	–	25	30	26	42
3)	3.30	5.51	–	35	34	48
4)	6.63	6.64	7.82	–	23	40
5)	6.63	5.71	7.58	5.04	–	46
6)	10.44	9.46	10.94	9.00	10.43	–

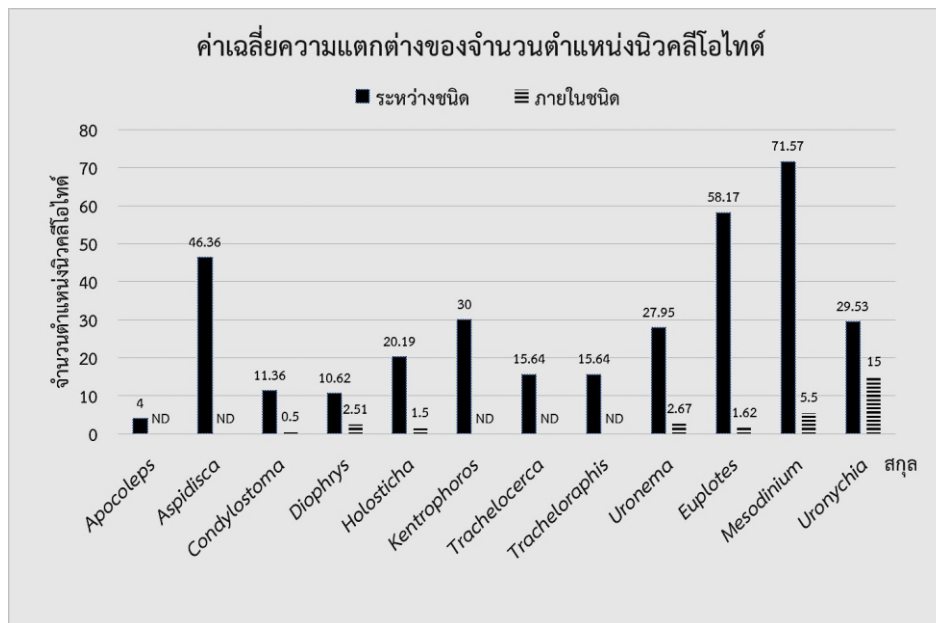
กลุ่มแสดง 1) *Uronychia binucleata* [GenBank accession no. EF198667.1]; 2) *Uronychia multicirrus* [JF694078.1]; 3) *Uronychia setigera* [EF198669.1 และ JF694082.1]*; 4) *Uronychia transfuga* [EF198670.1]; 5) *Uronychia transfuga* ลำดับที่ 3.1, 3.2 และ 3.3 (ข้อมูลที่ขีดเส้นใต้ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้)*; และ 6) *Uronychia* sp. [JF694083.1]

* ค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันภายในชนิด และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดเดียวกันของกลุ่ม

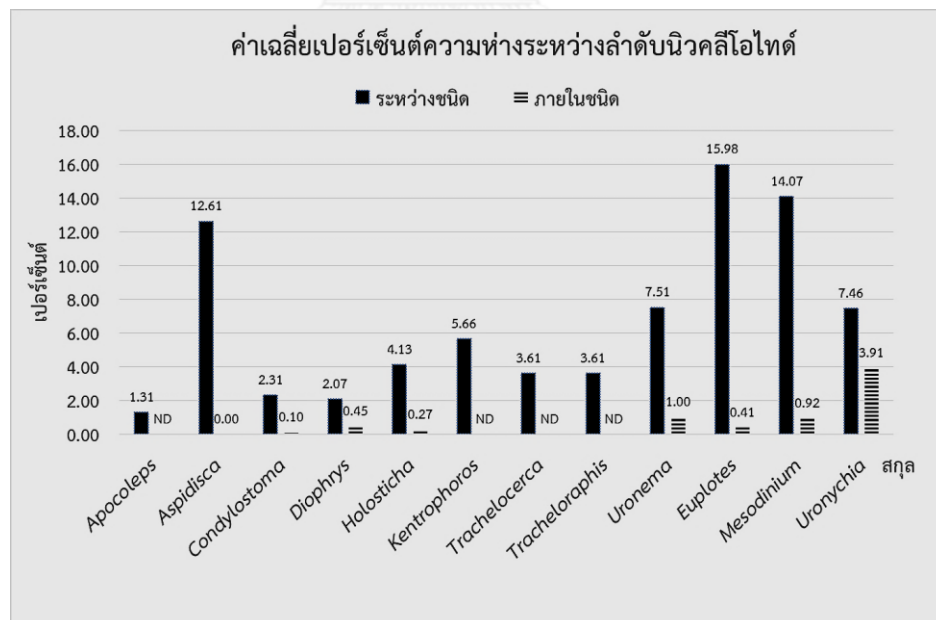
3) *Uronychia setigera* [EF198669.1 และ JF694082.1] เท่ากับ 30 ตำแหน่ง และ 6.68% ตามลำดับ

5) *Uronychia transfuga* ลำดับที่ 3.1, 3.2 และ 3.3 เท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์จากดีเอ็นเอบาร์โค้ดของซีลีเอตทั้ง 12 สกุล แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบสรุปไว้ในภาพที่ 76 และ 77 ตามลำดับ



ภาพที่ 76 ค่าเฉลี่ยจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันระหว่างชนิดและภายในชนิด จากช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดของซีลีเอตทั้ง 12 สกุล [ND (no data) = ไม่มีข้อมูล]



ภาพที่ 77 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบระหว่างชนิดและภายในชนิด จากช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดของซีลีเอตทั้ง 12 สกุล [ND (no data) = ไม่มีข้อมูล]

รายละเอียดการหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของซิลิเอตทั้ง 12 สกุล แสดงผลการสรุปไว้ในตารางที่ 16 ตารางที่ 16 การหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอ เพื่อใช้ในการระบุชนิดซิลิเอตจำนวน 12 สกุล ที่ได้มาจากการศึกษาในครั้งนี้และที่พบข้อมูลในฐานข้อมูลของ GenBank

สกุลซิลิเอต	ขนาดดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่เสนอ (คู่เบส)			ตำแหน่งอ้างอิง*	
	18S	ITS1, 5.8S และ ITS2	ITS1, 5.8S, ITS2 และ บางส่วน ของ 28S	ตำแหน่ง เริ่มต้น	โครงสร้าง ทุติยภูมิของ SSUrRNA
1. <i>Apocoleps</i>	504	-	-	589	V3-V5
2. <i>Aspidisca</i>	551	-	-	1	V1-V3
3. <i>Condylostoma</i>	537	-	-	1	V1-V3
4. <i>Diophrys</i>	569	-	-	1	V1-V3
5. <i>Euplotes</i>	-	492	-	1,870	-
6. <i>Holosticha</i>	567	-	-	1	V1-V3
7. <i>Kentrophoros</i>	568	-	-	1,085	V5-V9
8. <i>Mesodinium</i>	-	-	639	1,563	-
9. <i>Trachelocerca</i>	513	-	-	1	V1-V3
10. <i>Tracheloraphis</i>	513	-	-	1	V1-V3
11. <i>Uronema</i>	563	-	-	1	V1-V3
12. <i>Uronychia</i>	-	529	-	1,729	-

* ตำแหน่งเริ่มต้น คือ จุดเริ่มต้นในตำแหน่งที่ตัดจากไพรเมอร์ SSU-RPF1

โครงสร้างทุติยภูมิของ rRNA คือ การอ้างอิงบริเวณตำแหน่งตามโครงสร้างทุติยภูมิของสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอของ *Tetrahymena bergeri* (Strüder-Kypke et al., 2001)

บทที่ 5

อภิปรายผลการศึกษา สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

การระบุชนิดของซีลิเอต โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ก. กลุ่มทางอนุกรมวิธานของซีลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกลม

ซีลิเอตน้ำเค็มที่อาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเม็ดทรายที่พบจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เป็นสมาชิกในไฟลัมซีลิโอพอร่า ซึ่งเป็นไฟลัมประจำของซีลิเอตทั้งหมด โดยพบสมาชิกซีลิเอตในทั้งสองไฟลัมย่อย (subphylum) คือ Postciliodesmatophora และ Intramacronucleata จำนวน 8 ชั้น (class) คือ Heterotrichea, Karyorelictea, Litostomatea, Oligohymenophorea, Phyllopharyngea, Plagiopylea, Prostomatea และ Spirotrichea จากจำนวนชั้นทั้งหมด 11 ชั้น ที่มีการจัดเสนอโดย Lynn (2003) โดยการจัดหมวดหมู่ตั้งแต่ระดับไฟลัมลงไปจนถึงระดับสกุล ยึดระบบการจำแนกตาม Lynn (2008) ดังนั้นหากทำการเทียบเคียงกับงานศึกษาอื่น ๆ ที่ตีพิมพ์ก่อนปี 2008 หรือ ปี พ.ศ. 2551 ซึ่งใช้ระบบอื่นในการจัดจำแนก อาจพบข้อมูลตั้งแต่ในระดับไฟลัมจนถึงระดับวงศ์ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการเทียบเคียงสามารถทำได้ในระดับสกุลและในระดับชนิด โดยซีลิเอตส่วนใหญ่ที่พบในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีลักษณะเด่นประจำสกุลที่ตรงกับรูปวิธานของ Carey (1992)

ข. ซีลิเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย

จากซีลิเอตทั้งหมดที่พบและสามารถทำการระบุชนิดได้ในครั้งนี้ มีซีลิเอตที่พบรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทย จำนวน 13 ชนิด คือ *Coleps tessellatus*, *Euplotes quinquecarinatus*, *Euplotes rarisetia*, *Euplotes vannus*, *Frontonia maris-albi*, *Holosticha diademata*, *Kentrophoros flavum*, *Kentrophoros gracilis*, *Litonotus anguilla*, *Oxytricha aeruginosa*, *Trachelocerca laevis*, *Trachelocerca schultzei* และ *Uronychia transfuga* และมีซีลิเอตอีก 12 สกุล ที่รายงานการค้นพบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย ได้แก่ *Anigsteinia*, *Apocoleps*, *Avelia*, *Chlamydodon*, *Epiclintes*, *Euplotidium*, *Prodiscocephalus*, *Protocruzia*, *Remanella*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Urostyla* ในจำนวน 12 สกุลนี้ มีซีลิเอต 23 ชนิด ที่ไม่สามารถระบุชื่อได้ถึงระดับชนิด ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับลึก เช่น การย้อมสีนิวเคลียส เทคนิคการย้อมสีด้วยโลหะเงิน (silver impregnation) หรือการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อให้สามารถระบุชนิดที่แน่ชัดได้ในที่สุด หากมีการระบุชนิดที่แน่ชัดได้แล้ว จะสามารถคาดการณ์ได้ว่ามีซีลิเอตทั้งหมด 36 ชนิด ที่จะมีรายงานการค้นพบเป็นครั้งแรกของประเทศซึ่งมาจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้

เมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาโปรโทซัว รวมทั้งซีลิเอตในแหล่งน้ำจืดของไทย พบว่าการศึกษาในครั้งนี้มีจำนวนชนิดของซีลิเอตที่พบเป็นครั้งแรกของประเทศมากกว่าที่เคยรายงานไว้ในงานของ Charubhun และ Charubhun ในปี 2000 ที่พบซีลิเอตจำนวน 2 ชนิด คือ *Neobursaridium gigas* และ *Loxodes rex* เป็นครั้งแรกของไทย อีกทั้งยังมีจำนวนชนิดของ

ซีเลียตที่พบเป็นครั้งแรกของไทยมากกว่าที่เคยรายงานไว้ในการศึกษาของ Prasarnboon และคณะ (2007) ที่พบซีเลียต 4 ชนิดเป็นครั้งแรกของประเทศ ได้แก่ *Mesodinium rubrum*, *Strobilidium caudatum*, *Vorticella picta* และ *Thuricola kellicotiana* และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการศึกษาโพโรไซวันน้ำจืดในจังหวัดชลบุรี พบว่ารายงานในครั้งนี้มีจำนวนชนิดของซีเลียตที่พบเป็นครั้งแรกของไทยจำนวน 13 ชนิด ซึ่งน้อยกว่าที่ Matchacheep และ Dumrongrojwattana (2007) รายงานไว้ว่าพบซีเลียตจำนวน 20 ชนิด จากโพโรไซวันจำนวน 34 ชนิดที่พบเป็นครั้งแรกของไทย อย่างไรก็ตามหากมีการศึกษาต่อไปในระดับลึกจนทำให้สามารถทำการระบุชนิดของซีเลียตที่พบเป็นครั้งแรกของไทยแต่ยังไม่สามารถทำการระบุชนิดที่แน่ชัดจำนวน 23 ชนิดจากการศึกษาในครั้งนี้ได้ จะทำให้ยอดการค้นพบใหม่ในไทยเพิ่มเป็น 36 ชนิดในที่สุด

จากข้อมูลการค้นพบใหม่ในประเทศไทยของซีเลียตทั้ง 12 สกุล และ 13 ชนิด ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ เป็นเพียงข้อมูลที่มาจากการศึกษาในบริเวณหาดเดียว เกาะเดียว ของจังหวัดเดียวในประเทศไทยเท่านั้น คือ บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยเมื่อทำการเทียบขนาดจาก Google Maps (2014) พบว่าหาดลูกกลมมีความยาวประมาณ 0.55 กิโลเมตร ในขณะที่ข้อมูลจากกรมทรัพยากรทางทะเล และชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2555) รายงานว่าแนวชายฝั่งทะเลของประเทศไทยมีความยาวประมาณ 3,148.23 กิโลเมตร นอกจากนี้ยังมีจำนวนเกาะในประเทศไทยที่ได้รับการบันทึกไว้มากถึง 936 เกาะ แพร่กระจายอยู่ใน 19 จังหวัด ในเขตอ่าวไทย พบจำนวน 374 เกาะ ส่วนในฝั่งทะเลอันดามันพบจำนวน 562 เกาะ โดยจังหวัดที่มีจำนวนเกาะมากที่สุด 3 อันดับแรก คือ จังหวัดพังงา จำนวน 155 เกาะ, ภูเก็ต 154 เกาะ และสุราษฎร์ธานี 108 เกาะ โดยเกาะที่มีขนาดพื้นที่ใหญ่ที่สุด คือ จังหวัดภูเก็ต ส่วนในจังหวัดชลบุรี พบทั้งสิ้น 47 เกาะ ตั้งอยู่ใน 7 ตำบล และ 4 อำเภอ โดยเกาะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดเรียงตามขนาด 3 เกาะ คือ เกาะคราม เกาะสีซัง และเกาะล้าน (อนุวัฒน์ นทีวัฒนา, 2551) จากข้อมูลที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่ายังมีถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเลของไทยที่ยังรอการสำรวจอยู่เป็นจำนวนมาก

ค. ชนิดและการกระจายของซีเลียตที่พบบริเวณหาดลูกกลม

การศึกษาในครั้งนี้พบซีเลียตทะเลในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย บริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จำนวน 29 สกุล 61 ชนิด ซึ่งมีรายงานในระดับสกุลมากกว่าการศึกษาเดิมก่อนหน้าของ สุขุา ฉะยศิริ และคณะ (2554) ที่ทำการศึกษาความหลากหลายและการกระจายตัวของโพโรติสต์ทั้งในกลุ่มโพโรไซวันและสาหร่ายขนาดเล็ก บริเวณหาดทรายทางด้านทิศเหนือของเกาะแสมสาร ซึ่งพบซีเลียตจำนวน 6 สกุล 15 ชนิด จากโพโรติสต์ทั้งหมดกว่า 71 ชนิด จากการเปรียบเทียบพบซีเลียตระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเลเพิ่มขึ้นจำนวน 21 สกุล และมีสกุลที่เหมือนกันจำนวน 5 สกุล คือ *Aspidisca*, *Coleps*, *Euplotes*, *Mesodinium* และ *Uronychia* โดย *Aspidisca* และ *Euplotes* เป็นสกุลที่มีการรายงานว่าพบได้ทั่วไปในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทราย (Carey, 1992) เมื่อพิจารณาซีเลียตระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเลจำนวนทั้งหมด 29 สกุล ที่พบจากการศึกษาครั้งนี้ คือ *Anigsteinia*, *Apocoleps*, *Aspidisca*, *Avelia*, *Chlamydodon*, *Coleps*, *Condylostoma*, *Diophrys*, *Epiclintes*, *Euplotes*, *Euplotidium*, *Frontonia*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Litonotus*, *Loxodes*, *Loxophyllum*, *Mesodinium*, *Oxytricha*, *Pleuronema*,

Prodiscocephalus, *Protocruzia*, *Remanella*, *Spathidium*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis*, *Uronema*, *Uronychia* และ *Urostyla* (ภาพที่ 12-73) ในจำนวนนี้มีซิลิเอต 4 สกุล ที่มีการรายงานว่าพบเฉพาะในถิ่นอาศัยระหว่างเมืงทราย คือ *Kentrophoros*, *Remanella*, *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* ส่วนซิลิเอต 6 สกุล ได้แก่ *Aspidisca*, *Coleps*, *Epiclintes*, *Euplotes*, *Holosticha* และ *Uronema* มีการรายงานว่าพบได้ทั่วไป และพบในถิ่นอาศัยระหว่างเมืงทราย (Carey, 1992) โดยจากศึกษาพบว่าซิลิเอตในสกุล *Euplotes* มีความหลากหลายทางชนิดสูงและพบได้ทั่วไปในหลายถิ่นอาศัย ทั้งในแหล่งน้ำจืด (Song, Warren, and Hill, 1998) แหล่งน้ำเค็มระหว่างเมืงทราย (Gomiero et al., 2013) น้ำทะเลแถบขั้วโลก (Vallesi et al., 2009) รวมไปถึงในแหล่งน้ำเสีย (Martin-González et al., 2006) นอกจากนี้การค้นพบซิลิเอตในสกุล *Kentrophoros* (ภาพที่ 12-15) ที่มีความบอบบางค่อนข้างสูงในการศึกษาครั้งนี้ เป็นเครื่องชี้วัดที่ว่าซิลิเอตในทรายสามารถอยู่รอดในระหว่างขั้นตอนการเก็บและสกัดตัวอย่างได้ (Carey, 1992)

จากผลการสำรวจในตารางที่ 3 พบว่าจำนวนชนิดของซิลิเอตที่พบบริเวณหาดลูกกลมในช่วงเก็บตัวอย่างจริงมีจำนวนน้อยกว่าในช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง โดยในช่วงเก็บตัวอย่างจริงครั้งที่ 1 ในเดือนกันยายน และครั้งที่ 2 ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2554 พบจำนวนซิลิเอต 14 และ 12 ชนิดตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าในช่วงทดลองเก็บตัวอย่างในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2554 ที่พบซิลิเอตจำนวน 28 ชนิด ทั้งนี้เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลในเรื่องตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างและระดับน้ำขึ้นน้ำลงต่ำสุดในช่วงเวลากลางวันของวันที่ทำการเก็บตัวอย่าง บริเวณอ่าวสัตหีบ สามารถคาดการณ์ได้ว่าการที่จำนวนความหลากหลายชนิดของซิลิเอตที่พบลดลงนั้นเป็นเพราะในช่วงเดือนพฤษภาคม ปี 54 มีระดับน้ำลงต่ำที่สุด คือ 0.6 เมตร ในเวลา 13:00 น. ซึ่งลงต่ำมากกว่าในช่วงเดือนกันยายน และ มกราคม ปี 55 ที่มีระดับน้ำลงต่ำสุดเพียง 1.2 และ 2.4 เมตร ในเวลา 13:00 น. และ 15:00 น. ตามลำดับ โดยทรายในเขตน้ำลงต่ำสุดในช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง (เดือนพฤษภาคม 2554) มีสีน้ำตาลปนเทา ซึ่งสำรวจพบซิลิเอตน้ำเค็มระหว่างเมืงทรายจำนวนมากเมื่อเทียบเป็นจำนวนตัวต่อชนิด ดังนั้นเพื่อทำการทดสอบสมมติฐานดังกล่าว ในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อไปในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างในจุดอ้างอิงเดิมที่ใกล้เคียงกับช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง คือ ห่างจากฝั่งนับจากแนวห้วยาลอยลม ประมาณ 45 เมตร ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับสมมติฐาน กล่าวคือ ในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3 ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 พบจำนวนซิลิเอตเพิ่มขึ้นเป็น 36 ชนิด ซึ่งพบเพิ่มขึ้นและพบมากกว่าในช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง ดังนั้นในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อไป ๆ จึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทรายในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับจุดอ้างอิงเดิม ซึ่งในบางครั้งของการเก็บตัวอย่างแม้จะเป็นช่วงที่ระดับน้ำทะเลลดลงต่ำสุดแล้ว แต่ถ้ายังลงต่ำไม่ถึงจุดอ้างอิงเดิมจะต้องทำการลุยน้ำไปเก็บทรายตัวอย่าง นอกจากนี้การที่พบจำนวนตัวอย่างซิลิเอตลดลงในช่วงเดือนกันยายน ปี 2554 และ เดือนมกราคม ปี 2555 ยังสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Goswami ในปี 1977 ที่ถูกอ้างอิงในการศึกษาของ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ (2548) โดยพบว่าการศึกษาที่ฝนตกชุกในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน ด้วยอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ทำให้ปริมาณน้ำจืดไหลลงสู่ทะเลจำนวนมาก มีผลทำให้ความเค็มลดลงและส่งผลให้ความอุดมสมบูรณ์ของแพลงก์ตอนสัตว์ลดลงด้วย โดยลดลงมากในเดือนสิงหาคม ส่วนโพโรโทซัวจำพวกซิลิเอตพบจำนวนหลากหลายชนิดในช่วงฤดูร้อน ประมาณช่วงปลายเดือนกุมภาพันธ์ไป

จนถึงเดือนพฤษภาคม ซึ่งสอดคล้องกับการพบจำนวนชนิดของซีลิเอตสูงถึง 28 และ 30 ชนิด ในเดือนพฤษภาคมของปี 2554 และปี 2555 ตามลำดับ

สำหรับซีลิเอตในกลุ่ม trachelocercid ที่พบจำนวนชนิดมากที่สุดถึง 13 ชนิด จัดอยู่ในวงศ์ Trachelocercidae ซึ่งประกอบด้วยซีลิเอตจำนวน 3 สกุล ได้แก่ *Trachelocerca*, *Trachelonema* และ *Tracheloraphis* โดยจากการศึกษาในครั้งนี้พบจำนวน 2 สกุล และ 1 กลุ่ม ได้แก่ สกุล *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* และซีลิเอตในกลุ่ม trachelocercid 3 ชนิด ที่ยังไม่สามารถจัดจำแนกถึงระดับสกุลได้ โดยซีลิเอตในวงศ์ Trachelocercidae มีรายงานว่าพบเฉพาะในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทรายเท่านั้น (Carey, 1992) ซีลิเอตในวงศ์นี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกันสองประการ คือ หนึ่งลักษณะของตัวเซลล์ที่ยืดยาว และสองลักษณะที่เซลล์มีความยืดหยุ่นสูง โดยลักษณะทั้งสองเป็นลักษณะเด่นของซีลิเอตที่อาศัยอยู่ตามช่องว่างระหว่างเม็ดทราย โดยมีรายงานการค้นพบในทรายและดินตะกอน บริเวณชายฝั่งทะเล หรือบริเวณแหล่งน้ำกร่อยปากแม่น้ำ ทั้งในแอฟริกา ยุโรปตะวันตกและตะวันออก อเมริกาเหนือ อาหรับ (Lynn, 2008) และรัสเซีย (Azovsky et al., 2013) ซึ่งการค้นพบซีลิเอตกลุ่มนี้ในประเทศไทย แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวเป็นวงกว้างของซีลิเอตกลุ่มนี้ที่พบได้ในระบบนิเวศหาดทรายต่าง ๆ ของหลายประเทศ ขณะเดียวกันการที่เซลล์ของซีลิเอตกลุ่มนี้มีความยืดหยุ่นค่อนข้างสูง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้หลายลักษณะแม้ในชนิดเดียวกัน (ภาพที่ 16) ดังนั้นการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกในการจัดจำแนกและระบุชนิดจึงค่อนข้างทำได้ยาก และยังต้องการการศึกษาในระดับลึกต่อไป

ขณะเดียวกันเมื่อทำการเปรียบเทียบผลศึกษาครั้งนี้กับงานวิจัยของชนวัฒน์ ต้นติวราญรักษ์ (2548) ซึ่งทำการสำรวจซีลิเอตในน้ำทะเลตามแนวชายฝั่งของจังหวัดชลบุรี พบว่าการศึกษาในครั้งนี้มีการรายงานในระดับสกุลมากกว่าการศึกษาก่อนหน้าเช่นเดียวกัน โดยในครั้งนี้พบจำนวน 29 สกุล ขณะที่การศึกษาก่อนหน้าพบจำนวน 17 สกุล และเมื่อเปรียบเทียบสกุลของซีลิเอตระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเล กับซีลิเอตในน้ำทะเล พบว่ามีรายงานเหมือนกันจำนวน 6 สกุล คือ *Condylostoma*, *Diophrys*, *Euplotes*, *Loxophyllum*, *Oxytricha* และ *Pleuronema* แสดงให้เห็นว่าโพโทซัวใน 6 สกุลนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในแหล่งน้ำเค็มทั้งสองลักษณะถิ่นอาศัย อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานศึกษาในต่างประเทศของ Azovsky และคณะ (2013) ที่ทำการศึกษากลุ่มซีลิเอต ความหลากหลาย และการกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตตามพื้นที่ท้องน้ำขนาดเล็ก (microbenthos) ตลอดเขตน้ำขึ้นน้ำลงของเกาะ Ryazhkov ที่ตั้งอยู่บริเวณทะเลขาว (White Sea) ของอ่าว Kandalaksha ประเทศรัสเซีย พบว่าซีลิเอตตามพื้นทรายในน้ำเค็มที่พบในการศึกษาครั้งนี้ มีความหลากหลายน้อยกว่าที่รายงานในการศึกษาของ Azovsky และคณะ ที่พบซีลิเอต 49 สกุล 98 ชนิด โดย Azovsky และคณะ ใช้วิธีการเก็บตัวอย่างที่แตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ กล่าวคือ ทำการแบ่งพื้นที่เก็บตัวอย่าง ออกเป็น 5 เขต ได้แก่ 1) แนวเขตส่วนบนของเขตน้ำขึ้นน้ำลง (the upper intertidal zone) ห่างจากฝั่งไปในทะเลเป็นระยะทาง 23 เมตร, 2) แนวเขตส่วนบนของเขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับกลาง (the upper part of the mid-intertidal zone), 3) แนวเขตส่วนล่างของเขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับกลาง (the lower part of the mid-intertidal zone), 4) แนวเขตส่วนบนของเขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับล่าง (the upper part of the lower intertidal zone) และ 5) แนวเขตส่วนล่างของเขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับล่าง (the lower part of the lower intertidal zone)

ทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 3 วัน ของเดือนกรกฎาคมปี 2552 โดยเก็บผิวทรายที่ความลึก 3 เซนติเมตร ด้วยแกนหลอดพลาสติก (plastic tube core) ในความจุ 3 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อหนึ่งจุดเก็บตัวอย่าง โดยในแต่ละเขตทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ชุด ๆ ละ 15 ตัวอย่าง ตัวอย่างชุดแรกใช้สำหรับศึกษาซิลิเอตและแฟลเจลเลต ส่วนตัวอย่างชุดที่สองใช้สำหรับศึกษาไดอะตอม ส่วนการศึกษาในครั้งนี้ทำการเก็บอย่างแบบสุ่มจำนวน 7 ครั้ง ใน 7 เดือน ระหว่างปี 2554-2555 และเก็บตัวอย่างตามแนวความยาวของหาดในเขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับล่างของวันที่ทำการเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างทรายจำนวน 12 ตัวอย่าง ที่ผิวทรายความลึกประมาณ 10 เซนติเมตร และบรรจุลงในกล่องพลาสติก ปริมาตร 750 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อหนึ่งจุดเก็บตัวอย่าง จากการเปรียบเทียบพบว่าการศึกษาในครั้งนี้มีการกระจายตัวของจุดเก็บตัวอย่างอยู่ในเขตเดียวคือ เขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับล่าง ส่วนการศึกษาของ Azovsky และคณะมีการกระจายของจุดเก็บตัวอย่างถึง 5 เขต แบ่งตามระดับน้ำขึ้นน้ำลง และมีการเก็บตัวอย่างต่อหนึ่งเขตมากกว่า ถึงแม้จะเก็บในปริมาณที่น้อยกว่ามาก แสดงให้เห็นว่าปัจจัยต่าง ๆ ทั้ง สถานที่ ช่วงเวลา และวิธีการเก็บตัวอย่าง มีผลต่อจำนวนตัวอย่างที่พบอย่างไรก็ตาม ซิลิเอตระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเลที่พบบริเวณหาดลูกกลมของเกาะแสมสาร และที่พบบริเวณหาดทรายของเกาะ Ryazhkov มีรายงานที่เหมือนกันในระดับสกุลถึง 22 สกุล ได้แก่ *Anigsteinia*, *Aspidisca*, *Chlamydodon*, *Coleps*, *Condylostoma*, *Diophrys*, *Epiclintes*, *Euplotes*, *Frontonia*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Litonotus*, *Loxodes*, *Loxophyllum*, *Mesodinium*, *Oxytricha*, *Pleuronema*, *Remanella*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis*, *Uronema* และ *Uronychia* ความสอดคล้องระหว่างสองงานวิจัยที่พบเป็นเครื่องยืนยันได้ว่าซิลิเอตทั้ง 22 สกุลนี้มีการปรากฏในถิ่นอาศัยระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเล และแสดงให้เห็นว่าแม้ทำการสำรวจในเขตประเทศและในเขตทวีปที่แตกต่างกัน แต่ถ้ามีลักษณะของถิ่นอาศัยรูปแบบเดียวกัน เช่นระบบนิเวศหาดทรายชายฝั่งทะเลเหมือนกัน ก็มีแนวโน้มที่จะพบซิลิเอตส่วนใหญ่ที่มีลักษณะเหมือนกันได้ถึงในระดับสกุล ส่วนซิลิเอตในสกุลที่พบแตกต่างกันและพบเฉพาะในการศึกษารุ่นนี้ มีจำนวน 7 สกุล คือ *Apocoleps*, *Avelia*, *Euplotidium*, *Prodiscocephalus*, *Protocruzia*, *Spathidium* และ *Urostylela*

สำหรับลักษณะทรายกับการกระจายตัวของชนิดซิลิเอต พบว่า ทรายสีขาวเนื้อละเอียด มักจะพบซิลิเอตในชั้น Spirotrichea เช่น ซิลิเอตในสกุล *Aspidisca*, *Diophrys* และ *Euplotes* ซึ่งมีรายงานว่ากินทั้งแบคทีเรียและสาหร่ายขนาดเล็กเป็นอาหาร (Foissner and Berger, 1996) โดยมีการกินอาหารแบบกรองผ่านน้ำ (upstream filter feeders) และมีการเลือกอนุภาคที่สอดคล้องกับพื้นฐานตามธรรมชาติของโครงสร้างในช่องปาก (Lynn, 2008) ซึ่งลักษณะอาหารขนาดเล็กที่ซิลิเอตกลุ่มนี้บริโภค มีความสอดคล้องกับลักษณะทรายเนื้อละเอียดที่มีช่องว่างระหว่างเม็ดทรายขนาดเล็กกว่าทรายเนื้อหยาบ ขณะที่ทรายสีน้ำตาลเนื้อหยาบมีกรวดปนมักจะพบซิลิเอตในชั้น Prostomatea เช่น ซิลิเอตในสกุล *Coleps* ฯลฯ ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณนี้มีความสมบูรณ์ของอาหาร จึงเหมาะสมสำหรับซิลิเอตในสกุล *Coleps* ที่มีรายงานว่ากินทั้งแบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียวแบบเส้นใย ซิลิเอตชนิดอื่น ๆ ไปจนถึงซากของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเป็นอาหาร (Lynn, 2008) โดยความสมบูรณ์ของอาหารเป็นผลเนื่องมาจากลักษณะของเม็ดทรายที่หยาบของทรายที่มีกรวดปน ทำให้พบช่องว่างระหว่างเม็ดทรายมากกว่า จึงทำให้พรทิสต์หลายชนิดสามารถแทรกตัวและอาศัยอยู่ในน้ำทะเลตามช่องว่าง

ระหว่างเม็ดทรายได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Burkovsky and Mazei (2010) ที่พบว่าช่องว่างระหว่างเม็ดทรายที่ลดลง มีผลลดปริมาณแสงที่ส่องผ่านและการไหลเวียนของน้ำ ซึ่งมีผลต่อโครงสร้างสังคมสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศหาดทราย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ผลิตลำดับต้น ซึ่งเป็นอาหารของผู้บริโภคในลำดับถัดไป โดยสามารถเปรียบเทียบกลับได้ว่า ช่องว่างที่เพิ่มขึ้นน่าจะมีผลต่อปริมาณแสงส่องผ่านที่เพิ่มขึ้นตลอดจนการไหลเวียนของน้ำ ทำให้มีการแลกเปลี่ยนและหมุนเวียนสารต่าง ๆ ระหว่างทรายกับสิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนประชากรและการเพิ่มผลผลิตสุทธิจากผู้ผลิตลำดับต้นในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เช่น ไดอะตอมและไดโนแฟลเจลเลต ขณะเดียวกันสิ่งมีชีวิตพื้นทะเลเหล่านี้ล้วนเป็นอาหารสำหรับผู้บริโภคในระดับการกินอาหารที่สูงขึ้น เช่น อะมีบา ซิลิเอต และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็กอื่น ๆ (สุชา เฉยศิริ และคณะ, 2554) ส่วนทรายสีน้ำตาลปนเทาเนื้อละเอียดซึ่งอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงต่ำสุด ที่มีการท่วมถึงของน้ำทะเลเป็นระยะเวลายาวนาน จะพบซิลิเอตในชั้น Karyorelictea เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องจากซิลิเอตส่วนใหญ่ในชั้นนี้เป็นชนิดที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเพื่อการเจริญ (microaerophilic) จึงพบเฉพาะในดินตะกอนเนื่องจากบริเวณเหล่านี้มีความเข้มข้นของออกซิเจน (oxygen concentration) ที่ลดลงและมักกลายเป็นสภาวะที่ปราศจากออกซิเจน (anoxic) ภายในระดับความลึกเพียงไม่กี่เซนติเมตรนับจากผิวน้ำและผิวทราย (Lynn, 2008) โดยทรายสีน้ำตาลปนเทาเนื้อละเอียดที่พบในเขตน้ำขึ้นน้ำลงต่ำสุดของการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ามีการจัดจำแนกไว้เป็นชุดดินซลบุรี ซึ่งเกิดจากตะกอนน้ำพามาทับถมอยู่บนตะกอนน้ำทะเลบริเวณที่ราบชายฝั่งทะเล ลักษณะและสมบัติดิน ดินร่วนละเอียดลึกมาก ดินในช่วงระดับความลึก 0-25 เซนติเมตร มีเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทรายหรือดินร่วนเหนียวปนทราย มีสีน้ำตาลปนเทา ปฏิกริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นด่างปานกลาง (pH 6.5-8.0) (กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2557)

การระบุชนิดของซิลิเอต โดยอาศัยลักษณะทางอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอ

ก. การทดลองเพาะเลี้ยงซิลิเอต

การศึกษาในครั้งนี้พบซิลิเอตทั้งหมดกว่า 61 ชนิด จาก 29 สกุล โดยในจำนวนนี้มี 5 สกุล ได้แก่ *Aspidisca*, *Diophrys*, *Euplotes*, *Protocruzia* และ *Uronema* ที่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ f/2-silica (Guillard and Ryther, 1962) และยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ เนื่องจากซิลิเอตทั้ง 5 สกุลนี้มีรายงานว่ากินทั้งแบคทีเรีย และสาหร่ายขนาดเล็กเป็นอาหาร (Foissner and Berger, 1996) โดยเป็นกลุ่มที่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั่วไป และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกันคือ เซลล์มีขนาดเล็กและมีปากที่มีโครงสร้างซับซ้อนซึ่งเป็นลักษณะร่วมกันของซิลิเอตในกลุ่มที่มีลักษณะพัฒนาไป (derived character) (Lynn, 2008) นอกจากนี้ยังพบรายงานว่า *Euplotes rarisetia* ชนิดเดียวกับที่เพาะเลี้ยงได้ในครั้งนี้ สามารถเพาะเลี้ยงได้โดยใช้น้ำทะเลและเมล็ดข้าว (Curds et al., 1974) ซึ่งให้ผลตรงกับการทดลองเพาะเลี้ยงในช่วงหลังที่เปลี่ยนมาใช้น้ำทะเลที่ผ่านการกรองและการอบฆ่าเชื้อแทนการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ f/2-silica ซึ่งมีน้ำทะเลและวิตามินเป็นองค์ประกอบ โดยยังคงให้ยีสต์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วตามปกติ พบว่าเซลล์ต่าง ๆ ที่ทำการเพาะเลี้ยงนั้นสามารถเติบโตได้เป็นปกติ

ข. การหาสถานะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

จากผลที่ได้พบว่าสถานะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมของตัวอย่างกลุ่มหนึ่ง อาจไม่เหมาะสมกับตัวอย่างอีกกลุ่ม ดังนั้นจึงต้องมีการปรับสถานะในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่างโดยรวม อย่างไรก็ตามไพรเมอร์ SSU-RPF1 และ 28S-1316R ตลอดจนสถานะในการทำปฏิกิริยาที่ทดลองสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ rDNA (ribosomal DNA) ได้ผลิตผลิตภัณฑ์ขนาดตั้งแต่ 2,900-3,500 คู่เบส ขึ้นอยู่กับชนิดของซิลิเกต ครอบคลุมตั้งแต่ ยีน 18S หรือสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ, ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S หรือลาร์จซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซิลิเกตทั้ง 20 ชนิด คือ *Apocoleps* sp., *Aspidisca* sp., *Condylostoma* cf. *enigmatica*, *Diophrys* sp. 1-2, *Euplotes quinquecarinatus*, *Euplotes rariseta*, *Euplotes vannus*, *Euplotes* cf. *vannus*, *Holosticha diademata*, *Kentrophoros* sp. 1, *Mesodinium* sp., *Trachelocerca schultzei*, *Trachelocerca* sp. 2, *Trachelocerca* sp. 4, *Trachelocerca* sp. 4, *Tracheloraphis* sp. 2, *Uronema marinum* และ *Uronychia transfuga* โดยพบว่าสถานะในการทำปฏิกิริยาดังกล่าวครอบคลุมซิลิเกตทั้งในกลุ่มดั้งเดิม (primitive) และในกลุ่มที่พัฒนาไป (derived) ซึ่งซิลิเกตในกลุ่มดั้งเดิมจะมีขนาดใหญ่และมีการพัฒนาของปากเซลล์อย่างง่าย เช่น *Condylostoma* cf. *enigmatica* (ภาพที่ 37), *Kentrophoros* sp. 1 (ภาพที่ 14), *Trachelocerca schultzei* (ภาพที่ 18), *Trachelocerca* sp. 2 (ภาพที่ 20), *Trachelocerca* sp. 3 (ภาพที่ 21), *Trachelocerca* sp. 4 (ภาพที่ 22), *Tracheloraphis* sp. 2 (ภาพที่ 25) ส่วนซิลิเกตในกลุ่มที่มีลักษณะพัฒนาไปจนมีขนาดเล็กและมีปากที่มีโครงสร้างซับซ้อน ได้แก่ *Apocoleps* sp. (ภาพที่ 68), *Aspidisca* sp. (ภาพที่ 40), *Diophrys* sp. 1-2 (ภาพที่ 46-47), *Euplotes quinquecarinatus* (ภาพที่ 41), *Euplotes rariseta* (ภาพที่ 42), *Euplotes vannus* (ภาพที่ 43), *Euplotes* cf. *vannus* (ภาพที่ 44), *Holosticha diademata* (ภาพที่ 53), *Mesodinium* sp. (ภาพที่ 64), *Uronema marinum* (ภาพที่ 71) และ *Uronychia transfuga* (ภาพที่ 48) (Lynn, 2008) โดยจากการสืบค้นฐานข้อมูลใน GenBank (NCBI, 2013b) พบว่าซิลิเกตในกลุ่มดั้งเดิมที่มีขนาดใหญ่ เช่น *Kentrophoros*, *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* กลับเป็นกลุ่มที่ข้อมูลการศึกษาทางอณูชีววิทยาในระดับดีเอ็นเอน้อย ผิดกลับซิลิเกตที่มีขนาดเล็กในกลุ่มที่พัฒนาไป เช่น *Aspidisca*, *Coleps*, *Euplotes* และ *Diophrys* ฯลฯ ซึ่งพบข้อมูลการศึกษาเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากซิลิเกตในกลุ่มดั้งเดิมเป็นกลุ่มที่ทำการเพาะเลี้ยงได้ยากในห้องปฏิบัติการ ทำให้การสกัดดีเอ็นเอเป็นไปได้ยากกว่าในกลุ่มที่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ (Andreoli et al., 2009)

ค. การระบุอัตลักษณ์ของซิลิเกตจำนวน 20 ชนิด

จากผลการระบุอัตลักษณ์พบว่าลำดับดีเอ็นเอของซิลิเกตระหว่างเม็ดทรายชายฝั่งทะเลทั้ง 12 สกุน และ 20 ชนิด ทั้งหมดมีความคล้ายคลึงกับยีน 18S หรือ สมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ โดยมีความเหมือนระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสายในความยาวที่สามารถเทียบกันได้ 93-99% โดยค่าความคล้ายคลึงตั้งแต่ 93-98% มีความสอดคล้องกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาในระดับสกุนเท่านั้น ส่วนค่าความคล้ายคลึงที่ 99% ส่วนใหญ่มีความสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระดับชนิด โดยซิลิเกตที่ให้ผลสอดคล้องกันในระดับชนิดทั้งจากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยา

มีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Euplotes quinquecarinatus* (ภาพที่ 41), *Euplotes rariseta* (ภาพที่ 42), *Euplotes vannus* (ภาพที่ 43), *Holosticha diademata* (ภาพที่ 57), *Uronema marinum* (ภาพที่ 71) และ *Uronychia transfuga* (ภาพที่ 48) อย่างไรก็ตาม ยังพบกรณีที่ลำดับนิวคลีโอไทด์แสดงค่าความสอดคล้องกับฐานข้อมูลถึง 99% แต่กลับพบลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ขัดแย้งกัน จำนวน 2 ชนิด ในระหว่าง 2 คู่ คือ 1) *Trachelocerca schultzei* (ภาพที่ 18) ซึ่งมีลักษณะประจำชนิด คือ เซลล์มีรูปร่างที่เรียวยาว แต่กลับให้ผลในระดับดีเอ็นเอตรงกับ *Trachelocerca sagitta* (GenBank accession no. KC542935.1) (Yan et al., 2013) ซึ่งเซลล์ไม่แสดงลักษณะนี้เมื่อเปรียบเทียบกับจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยละเอียดของ *Trachelocerca sagitta* โดย Foissner และ Dragesco (1996) ซึ่งในกรณีนี้อาจเป็นไปได้ว่ามีการระบุชนิดผิด เนื่องจากซิลิเกตสกุล *Trachelocerca* มีความสามารถในการยึดหัดตัวค่อนข้างสูง ทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้หลายลักษณะแม้ในชนิดเดียวกัน การระบุชนิดจึงทำได้ยากและต้องอาศัยความชำนาญ (Carey, 1992) ส่วนในคู่ที่ 2) *Tracheloraphis* sp. 2 (ภาพที่ 25) ที่ในขณะหัดตัวแสดงลักษณะเซลล์หัดเป็นเกลียว กลับมีความคล้ายคลึงในระดับดีเอ็นเอที่ตรงกับ *Trachelocerca ditis* ซึ่งในขณะหัดตัวเซลล์มีลักษณะแบบขดก้นป่อง โดยลักษณะแบบขดก้นป่องที่พบคล้ายกับ *Trachelocerca* cf. *ditis* (ภาพที่ 16) ในกรณีเช่นนี้อาจเป็นไปได้ว่ามีการระบุชนิดผิดหรือเกิดการปนเปื้อนของดีเอ็นเอจากซิลิเกตต่างสกุลเข้ามาในระหว่างขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามอาจเป็นไปได้ว่าช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบบริเวณยีน 18S ระหว่างซิลิเกตบางชนิดในทั้งสองสกุลนี้ ซึ่งแสดงความคล้ายคลึงกันสูงถึง 99% เป็นปรากฏการณ์ในระดับโมเลกุลที่พบเช่นเดียวกับในรายงานของ Chantangsi และคณะ (2007) ที่พบค่าความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S ระหว่างชนิดของซิลิเกตในสกุล *Tetrahymena* ส่วนใหญ่ต่างกันเพียง 0-2% เท่านั้น หรือมีความเหมือนกัน 98-100% นั่นเอง จากทั้งสองกรณีดังกล่าวมา ชี้ให้เห็นว่าควรมีการทบทวนข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาระดับดีเอ็นเอของ *Trachelocerca schultzei* และ *Tracheloraphis* sp. 2 ที่พบบริเวณหัดลูกกลมซ้ำอีกครั้ง เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่ถูกต้องในการระบุชนิดต่อไป

การหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิดซิลิเกต

จากการหาช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมาะสมสำหรับการระบุชนิด พบช่วงรหัสดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ขนาดประมาณ 500-600 คู่เบส ที่สามารถใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดซิลิเกตจำนวน 12 สกุล โดยตำแหน่งของช่วงรหัสดีเอ็นเอที่เสนอมีความแตกต่างกันไปขึ้นกับความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเกตแต่ละชนิดในแต่ละสกุล โดยตำแหน่งที่เสนอยู่ใน 3 บริเวณหลัก คือ 1) บริเวณยีน 18S ในส่วนต้นและส่วนปลาย, 2) บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S และ ช่วงลำดับ ITS2 และ 3) บริเวณช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S โดยดีเอ็นเอบาร์โค้ดบริเวณยีน 18S ในส่วนต้นและส่วนปลาย สามารถแสดงค่าความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดของซิลิเกตใน 9 สกุล คือ *Apocoleps*, *Aspidisca*, *Condylostoma*, *Diophrys*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Uronema* ส่วนช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S ช่วงลำดับ ITS2 สามารถแสดงค่าความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดของซิลิเกตใน 2 สกุล คือ *Euplotes* และ *Uronychia* ใน

ขณะที่ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S สามารถแสดงค่าความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดของซิลิเอตใน 1 สกุล คือ *Mesodinium*

สำหรับดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ตีควรรแสดงค่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดสูง แต่พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดต่ำ (Moniz and Kaczmarzka, 2010) ซึ่งช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดทั้งหมดจากซิลิเอต 12 สกุล ที่เสนอในการศึกษานี้ แสดงเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบระหว่างชนิดสูงกว่าค่าภายในชนิด (ภาพที่ 77) โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด อยู่ในช่วง 1.31-15.98% และภายในชนิด 0.00-3.91% ตามลำดับ สอดคล้องกับงานศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทำการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ขนาดประมาณ 600-700 คู่เบส มาใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดซิลิเอต เช่น การศึกษาของ Barth และคณะ (2006) ที่แสดงให้เห็นว่าช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ความยาว 767 คู่เบส จากยีน *cox1* ซึ่งเป็นช่วงดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่นิยมใช้ในการระบุชนิดของสัตว์กลุ่มต่าง ๆ สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างระหว่างชนิดของซิลิเอตในสกุล *Paramecium* ได้ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิด เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบเป็นคู่ อยู่ในช่วง 12-17% และมีค่าเดียวกันภายในชนิดน้อยกว่า 2% เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chantangsi และคณะ (2007) ที่ใช้ช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ความยาว 689 คู่เบส จากยีน *cox1* ในการระบุชนิดของซิลิเอตสกุล *Tetrahymena* พบค่าความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดสูงถึง 11% และค่าเดียวกันภายในชนิดต่ำกว่า 0.65% เป็นต้น ขณะเดียวกันในโพรทิสต์กลุ่มอื่น ๆ เช่น อะมีบา พบการใช้ยีน *cox1* ในการระบุชนิด เช่นเดียวกัน โดยมีค่าความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดในสกุล *Vannella* อยู่ในช่วง 7.3-21.6% ส่วนค่าความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดโดยทั่วไปมีค่า 0.1% (Nassonova et al., 2010) ในไดอะตอมสกุล *Sellaphora* พบค่าความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดจากยีน *cox1* อย่างน้อยที่สุด 18 คู่เบส และมีค่าความแตกต่างภายในชนิดอยู่ในช่วง 0-5 คู่เบส (Evans, Wortley, and Mann, 2007) ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อพิจารณาค่าความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบภายในชนิดจากซิลิเอตทั้ง 7 สกุล ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือ *Aspidisca*, *Condyllostoma*, *Diophrys*, *Euplotes*, *Holosticha*, *Mesodinium* และ *Uronema* พบว่าซิลิเอตในทุกสกุลข้างต้นมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่า 2% ซึ่งใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยภายในชนิดที่พบรายงานในสัตว์มีกระดูกสันหลังหลายชนิดรวมทั้งแมลงเศรษฐกิจส่วนใหญ่ ที่ทำการศึกษาโดยเลือกใช้ยีนต่าง ๆ จากไมโทคอนเดรีย (Cognato, 2006) อย่างไรก็ตามในซิลิเอต 4 สกุล คือ *Apocoleps*, *Kentrophoros*, *Trachelocerca* และ *Tracheloraphis* ไม่สามารถคำนวณค่านี้ภายในชนิดได้ เนื่องจากมีลำดับนิวคลีโอไทด์ชนิดละ 1 ลำดับเท่านั้น ขณะเดียวกันแม้ว่าซิลิเอตสกุล *Uronychia* จะแสดงค่าเฉลี่ยความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดสูงกว่าในสกุลอื่น คือ 3.91% แต่ค่าเฉลี่ยดังกล่าวก็ยังคงแสดงความสอดคล้องกับค่าเฉลี่ยภายในชนิดที่มีค่าสูงถึง 4% ในแมลงเศรษฐกิจ ซึ่งเลือกใช้ช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์จากนิวเคลียสมาใช้ในการระบุชนิด (Cognato, 2006) เหมือนเช่นในการศึกษานี้ อย่างไรก็ตามในซิลิเอตบางชนิดที่นำลำดับนิวคลีโอไทด์มาจากฐานข้อมูลของ GenBank เช่น *Uronychia setigera* [GenBank accession no. EF198669.1 และ JF694082.1] กลับแสดงค่าตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันและค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างชนิด สูงถึง 30 ตำแหน่ง และ 6.68% ตามลำดับ หรือในกรณีของ *Diophrys cf. oligothrix* [JF694039.1 และ

JF701983.1] และ *Diophrys* sp. [HE664174.1] พบว่าค่าจำนวนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์ความห่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดกลับมีค่าเท่ากับ 0 ตำแหน่ง และ 0.00% ตามลำดับ กล่าวคือ ไม่พบความแตกต่างระหว่างชนิด หรืออาจกล่าวได้อีกนัยหนึ่งว่า *Diophrys* sp. [HE664174.1] อาจเป็นชนิดเดียวกันกับ *Diophrys* cf. *oligothrix* [JF694039.1 และ JF701983.1] นั้นเอง ซึ่งจากค่าทั้งหมดที่ได้ในทั้งสองกรณี ชี้ให้เห็นว่าควรมีการทบทวนข้อมูลทางอนุกรมวิธานและอนุชีววิทยาในระดับดีเอ็นเอที่จะนำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของ *Uronychia setigera* และ *Diophrys* cf. *oligothrix* ต่อไป

แม้ว่าการหาช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดในซิลิเกตสกุล *Paramecium* และ *Tetrahymena* รวมทั้งโพรทิสต์กลุ่มอื่น ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นจะเสนอให้ใช้ช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cox1* แต่จากการสืบค้นข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเกตแต่ละชนิดใน 12 สกุลที่รายงานไว้ในการศึกษาครั้งนี้ จากฐานข้อมูล GenBank กลับปรากฏข้อมูลบริเวณยีน *cox1* น้อยมาก โดยพบแค่ใน 2 สกุล คือ *Euplotes* และ *Uronema* ซึ่งพบจำนวน 2 และ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ ขณะเดียวกันกลับพบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของซิลิเกตส่วนใหญ่จากโรโบโซมอลดีเอ็นเอ โดยเฉพาะในบริเวณยีน 18S ยิ่งไปกว่านั้นยังพบรายงานว่ายีน *cox1* จากไมโทคอนเดรีย ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับการระบุชนิดสัตว์ และโพรทิสต์บางชนิด ยังไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับยูคาริโอตได้ทุกกลุ่ม เนื่องด้วยข้อจำกัดหลายประการ ยกตัวอย่างเช่น 1) ซิลิเกตหลายชนิดพบการเพิ่มลำดับเบส (insertion) ในขนาดที่แตกต่างกันบริเวณยีน *cox1* ทำให้ยากต่อการเพิ่มจำนวนโดยใช้ไพรเมอร์สากล; 2) ยูคาริโอตบางชนิดไม่มีไมโทคอนเดรีย จึงไม่มียีนนี้ในเซลล์; และ 3) ในยูคาริโอตหลายกลุ่มยังไม่มีข้อมูลจีโนมของไมโทคอนเดรีย ทำให้ยากต่อการออกแบบไพรเมอร์สำหรับยีน *cox1* เป็นต้น (Chantangsi and Leander, 2010)

การใช้ยีนสมอลซับยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอหรือยีน 18S มาเป็นช่วงรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับการระบุชนิดในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ Chantangsi และ Leander (2010) ที่ทำการหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในบริเวณสมอลซับยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอของโพรโทซัวในกลุ่ม cercozoan ที่อาศัยอยู่ตามทรายชายฝั่งทะเล โดยพบว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดขนาด 618 คู่เบส แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในระหว่างสกุลเมื่อทำการเปรียบเทียบเป็นคู่ มีค่าสูงถึง 7% และมีค่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดเมื่อทำการเปรียบเทียบเป็นคู่ต่ำเพียง 0-0.5% โดยการใช้สมอลซับยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอในการระบุชนิด มีข้อดี คือ 1) โรโบโซมอลดีเอ็นเอพบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เพราะเป็นยีนที่มีความสำคัญทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน จึงทำให้พบช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนนี้มีความอนุรักษ์สูง ซึ่งเป็นประโยชน์ในการเปรียบเทียบความเหมือนและความต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตทุกกลุ่ม อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ต่อการออกแบบไพรเมอร์สากล เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในบริเวณที่สนใจจากสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่น ๆ (Chantangsi and Leander, 2010; Hillis and Dixon, 1991); 2) บริเวณสมอลซับยูนิตโรโบโซมอลดีเอ็นเอ มีอัตราแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide substitution) ช้า จึงสามารถนำมาใช้ในการหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสิ่งมีชีวิตที่มีการแยกสายวิวัฒนาการมานานได้ เช่น ในแบคทีเรียและโพรทิสต์ ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตในยุคดั้งเดิมที่ถือกำเนิดขึ้นมาในมหายุคพรีแคมเบรียน (Precambrian) (Hillis and Dixon, 1991) เช่นเดียวกับซิลิเกตทั้ง 9

สกุลจากการศึกษาในครั้งนี้ คือ *Apocoleps*, *Aspidisca*, *Condyllostoma*, *Diophrys*, *Holosticha*, *Kentrophoros*, *Trachelocerca*, *Tracheloraphis* และ *Uronema* ที่สามารถใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากบริเวณยีน 18S ในส่วนต้นและส่วนปลายของยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดได้ และ 3) บริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอที่พบในนิวเคลียสของยูคาริโอตมีจำนวนซ้ำตั้งแต่ 1 ชุดใน *Tetrahymena* ไปจนถึงหลายพันชุดในธัญพืช ซึ่งง่ายต่อการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของยีนนี้ (Hillis and Dixon, 1991) ขณะเดียวกันการใช้ข้อมูลจากยีน 18S ในการจัดจำแนกชนิดยังมีความใกล้เคียงกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ใช้เทคนิคต่างกัน โดยพบว่าการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคการเพิ่มจำนวนไรโบโซมอลดีเอ็นเอแล้วตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (amplified ribosomal DNA restriction analysis: ARDRA) สามารถใช้จำแนกความแตกต่างในระดับชนิดระหว่าง *Diophrys oligothrix* และ *Diophrys appendiculata* ได้ (Chen and Song, 2002) นอกจากนี้การใช้ข้อมูลจากยีนสมอลซับยูนิตไรโบโซมอลดีเอ็นเอ ยังสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นที่ใช้ยีนนี้ในการจำแนกความแตกต่าง เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการของซิลิเอต เช่น 1) งานวิจัยของ Hirt และคณะ (1995) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซิลิเอตผ่านการสร้างแผนภูมิต้นไม้ทางวิวัฒนาการของซิลิเอต 7 สกุล ที่พบในทรายชายฝั่งทะเลของประเทศเดนมาร์ก คือ *Blepharisma*, *Gruberia*, *Loxodes*, *Metopus*, *Spathidium*, *Spirostomum* และ *Tracheloraphis*; 2) การศึกษาของ Andreoli และคณะ (2009) ที่ศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของซิลิเอตกลุ่ม karyorelictean ทั้งในสกุล *Geleia*, *Loxodes* และ *Remanella* สกุลละหนึ่งตัวอย่าง และจากซิลิเอต trachelocercids จำนวน 9 ตัวอย่าง และ 3) งานวิจัยของ Guo และคณะ (2008) ที่ทำการศึกษาวิวัฒนาการของซิลิเอตในสกุล *Condyllostoma* จำนวน 3 ชนิด และพบว่าซิลิเอตสกุลนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสกุล *Condyllostentor* เป็นต้น

การใช้รหัสดีเอ็นเอจากช่วงลำดับของ ITS, และ LSU rDNA หรือยีน 28S อาร์อาร์เอ็นเอในการระบุชนิดของซิลิเอตทั้ง 3 สกุลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือ *Euplotes*, *Mesodinium* และ *Uronychia* มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Litaker และคณะ (2007) ที่ทำการศึกษาไดโนแฟลเจลเลต 14 สกุล โดยพบค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในชนิดระหว่างช่วงลำดับ ITS 0.000-0.021 ซึ่งมีความน้อยกว่าค่าระหว่างชนิด 0.042-0.580 อีกทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wylezich และคณะ (2010) ที่พบว่าช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน 28S ในบริเวณ D1-D5 สามารถใช้ระบุชนิดของเฮเทอโรโทรฟิคานาโนแฟลเจลเลต (heterotrophic nanoflagellates) ได้หลายกลุ่ม นอกจากนี้บริเวณยีน 28S ยังมีอัตราการวิวัฒนาการที่เร็วกว่ายีน 18S ทำให้สามารถใช้ช่วงรหัสดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ในการแยกความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการออกจากกันได้ โดย Hillis และ Dixon (1991) รายงานว่ายีน 28S มีประโยชน์ในการศึกษาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิต ในมหายุคพาลีโอโซอิก (Paleozoic) และมหายุคมีโซโซอิก Mesozoic ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางวิวัฒนาการ เช่น ในกลุ่มสัตว์มีกระดูกสันหลัง (vertebrate) ตัวอย่างเช่น ปลา และ กบ ส่วนช่วงลำดับ ITS มีประโยชน์ในการศึกษาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตในมหายุคซีโนโซอิก (Cenozoic) ที่เพิ่งแยกจากกันไม่นานมานี้ ตัวอย่างเช่น กบ และ คน โดยซิลิเอตทั้ง 3 สกุลคือ *Euplotes*, *Mesodinium* และ *Uronychia* ต่างก็เป็นซิลิเอตในกลุ่มที่มีลักษณะพัฒนาไปจนมีขนาดเล็กและมีปากที่มีโครงสร้างซับซ้อนที่มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ โดย *Euplotes* และ

Uronychia จัดอยู่ในชั้น Spirotrichea ส่วน *Mesodinium* อยู่ในชั้น Litostomatea ที่เริ่มมีการแยกสายวิวัฒนาการออกมาในช่วงมหายุคพาลีโอโซอิกและมหายุคมีโซโซอิก ประมาณ 500-200 ล้านปีก่อน ตามลำดับ (Lynn, 2008; Wright and Lynn, 1997)

จากการสืบค้นข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของซีลิเอตที่ปรากฏในฐานข้อมูล GenBank (NCBI, 2013b) พบว่ามีข้อมูลปรากฏเฉพาะยีน 18S เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของการศึกษาและเพิ่มเติมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต ส่วนข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากการศึกษาในครั้งนี้ทั้งในส่วนยีน 18S และในส่วนที่นอกเหนือจากยีน 18S ได้แก่ ช่วงลำดับ ITS1, ยีน 5.8S, ช่วงลำดับ ITS2 และส่วนต้นของยีน 28S จากซีลิเอตทั้ง 12 สกุล 20 ชนิด จะเป็นการเพิ่มข้อมูลพื้นฐานที่จะปรากฏอยู่ในฐานข้อมูลของ GenBank ต่อไป

สรุปผลการศึกษา

ความหลากหลายของซีลิเอตระหว่างเมดทรายชายฝั่งทะเลที่พบบริเวณหาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี จากการศึกษาร่วมกันโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาในระดับดีเอ็นเอ พบซีลิเอตทั้งสิ้นจำนวน 29 สกุล 61 ชนิด โดยในจำนวนนี้มีซีลิเอต 12 สกุล และ 13 ชนิด ที่มีรายงานการค้นพบเป็นครั้งแรกของประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีซีลิเอตอีกกว่า 23 ชนิด ที่ยังไม่สามารถทำการระบุชนิดที่แน่ชัดได้ แต่คาดว่าซีลิเอตทั้ง 23 ชนิดนี้อาจเป็นซีลิเอตชนิดใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย เนื่องจากซีลิเอตจำนวนนี้อยู่ใน 12 สกุลที่มีการรายงานเป็นครั้งแรกของไทย โดยการที่จะยืนยันข้อมูลดังกล่าวให้ถูกต้องถึงในระดับชนิด จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับลึกต่อไป เช่น การย้อมด้วยสีพิเศษ การศึกษาลักษณะบางประการด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เป็นต้น สำหรับการศึกษาการระบุชนิดด้วยลักษณะทางอณูชีววิทยาพบว่าสถานะในการทำปฏิกิริยาที่ใช้สามารถเพิ่มจำนวนและการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณไรโบโซมอลดีเอ็นเอของซีลิเอตที่พบ ได้ผลิตภัณท์ดีเอ็นเอขนาดประมาณ 2,900-3,600 คู่เบส จำนวนทั้งหมด 33 ลำดับนิวคลีโอไทด์ จากซีลิเอต 20 ชนิด ใน 12 สกุล และพบดีเอ็นเอบาร์โค้ดขนาดประมาณ 500-600 คู่เบส ที่สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของซีลิเอตทั้ง 12 สกุลได้ อย่างไรก็ตามจำนวนชนิดของซีลิเอตน้ำเค็มที่พบในประเทศไทยในปัจจุบัน น่าจะมีจำนวนที่ต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากยังมีการศึกษาอยู่เฉพาะในจังหวัดชลบุรีเท่านั้น และท้ายที่สุดการศึกษาในครั้งนี้ยังเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญที่นำข้อมูลทางอณูชีววิทยาในระดับดีเอ็นเอมาใช้ในการระบุชนิดของซีลิเอตเป็นครั้งแรกของไทย เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้อีกกับงานวิจัยในระดับสากล

ข้อเสนอแนะ

กรณีที่มีข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางอณูชีววิทยาในระดับดีเอ็นเอให้ผลที่แตกต่างกัน จำเป็นต้องมีการทบทวนข้อมูลอีกครั้งและทำการระบุชนิดที่แน่ชัดต่อไป โดยอาจทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบต่าง ๆ ที่มีความจำเพาะกับลักษณะที่ใช้ในทางอนุกรมวิธาน หรือทำการศึกษารายละเอียดในระดับลึกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และการศึกษาข้อมูลทางอณูชีววิทยาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) หลาย ๆ เครื่องหมายประกอบกัน เป็นต้น

สำหรับการเก็บตัวอย่างทรายในการศึกษาครั้งต่อ ๆ ไป แนะนำให้ใช้วิธีการตาม Azovsky และคณะ (2013) ซึ่งใช้วิธีการเก็บตัวอย่างที่ละปริมาณน้อยในแต่ละจุด แต่กระจายจุดเก็บตัวอย่างสม่ำเสมอครอบคลุม เขตน้ำขึ้นน้ำลงสูงสุด เขตน้ำขึ้นน้ำลงระดับกลาง ไปจนถึงเขตน้ำขึ้นน้ำลงต่ำสุดของหาด โดยเก็บทรายปริมาตร 3 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อหนึ่งจุดเก็บตัวอย่าง และทำการเก็บตัวอย่างทราย กระจายทั่วทั้งเขตน้ำขึ้นน้ำลง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2549. มาตรฐานคุณภาพน้ำ. [Online]. Available from: http://www.zeiss.com/microscopy/en_de/downloads/axiovision.html [2014, May 4]
- กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2557. ลักษณะและสมบัติชุดดินจัดตั้งในภาคใต้และชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก. [Online]. Available from: http://www.ldd.go.th/thaisoils_museum/pf_desc/south/Cb.htm [2013, May 11]
- จงดี้ ศรีนพรัตน์วัฒน์. 2530. โปรโตซัวที่เป็นปรสิตภายนอกของปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยาศาสตร์-มหบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การประมง คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จิตรา ตีระเมธี. 2552. ความหลากหลายทางชีวภาพของแพลงก์ตอนทะเลบริเวณหาดนางรอง และเกาะจรเข้ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี. ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี-ปีงบประมาณ 2552, สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา. 1-34.
- ชนวัฒน์ ต้นติวรานุกษ์. 2548. การสำรวจจลิลิเอทโปรโตซัวในน้ำทะเลของจังหวัดชลบุรี. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว ฉบับพิเศษ ปีที่ 19-21: 74-90.
- ชัยวัฒน์ มั่นอก. 2547. การศึกษาความหลากหลายของโปรโตซัว เพื่อใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สภาพนิเวศวิทยาบางประการของน้ำในสวนส้มทุ่งรังสิต. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, วิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ฯ.
- เชิดพันธ์ มูรณันท์. 2526. การสำรวจโปรโตซัวในคูเมืองเชียงใหม่. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาการสอนชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ฐิติพงศ์ รื่นระวัฒน์. 2527. การสำรวจโปรโตซัวในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืดในบางท้องที่ของเชียงใหม่. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาการสอนวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ทัศนธร ภูมิยุทธ์ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนในป่าชายเลนปลูกบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. in การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 5 "ทรัพยากรไทย ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ". pp. 277-284. ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ.เมือง จ.นครราชสีมา.
- บพิธ จารุพันธ์ และ นันทพร จารุพันธ์. 2529. โปรโตซัวในแหล่งน้ำจืด. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรินต์ติ้งเฮาส์.
- บพิธ จารุพันธ์ และ นันทพร จารุพันธ์. 2549. โปรโตซัวในแหล่งน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พงษ์ชัย หาญยุทธนากร, มาลินี ฉัตรมงคลกุล, นิพาดา เรือนแก้ว ดิษยทัต, ศรีณย์ อัครวานุชิต และ สุดา-สวรรค์ ลิ้มรักษา. 2555. ความหลากหลายของโปรโตซัวและแพลงก์ตอนในจังหวัดน่าน. ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555 โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, ภาควิชาชีววิทยา, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 1-27.

- พินิจ หวังสมนึก, ภูวภูณ กรพันธ์ และ สมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร. 2547. ความหลากหลายของโปรโตซัวในแม่น้ำพอง จังหวัดขอนแก่น. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 32: 53-69.
- มนตรี ประเสริฐฤทธิ์. 2551. การกระจายตัวและความหลากหลายชนิดของโปรโตซัวและสัตว์น้ำขนาดเล็กในคลองสมอวิล เทศบาลเมืองมหาสารคาม. โครงการครุวิจัย สกว.-สิ่งแวดล้อมศึกษา, โรงเรียนบางกะปิ กรุงเทพฯ. 1-12.
- รอฮานา ดาคาเฮง, วิสสา คงนคร และ พงศ์ศักดิ์ เหล่าดี. 2555. การใช้โปรโตซัวในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในพื้นที่ตำบลลำพะยา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา. ใน การประชุมวิชาการ การพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน ประจำปี 2555 “ชุมชนท้องถิ่น ฐานรากการพัฒนาประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน”. หน้า 16-19 กุมภาพันธ์ 2555.
- ราชบัณฑิตยสถาน. 2546. ศัพท์วิทยาศาสตร์ อังกฤษ-ไทย ไทย-อังกฤษ ฉบับราชบัณฑิตยสถาน/ราชบัณฑิตยสถาน. พิมพ์ครั้งที่ 5 (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม). กรุงเทพฯ: ราชบัณฑิตยสถาน.
- วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2544. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์ในจังหวัดกาญจนบุรี. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, วิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิริมาศ สุขประเสริฐ. 2549. องค์ประกอบและความชุกชุมของแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มโปรโตซัว บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ. 2556. ฐานข้อมูล Thai Digital Collection. [Online]. 2000. Available from: <http://202.28.199.6/tdc/basic.php> [15 พฤศจิกายน 2556]
- สุขสรณ์ ชูบุญ. 2548. ความหลากหลายของโปรโตซัวและคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้วและอ่างเก็บน้ำห้วยตึงเฒ่า จังหวัดเชียงใหม่. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุชา เฉยศิริ, ชิตชัย จันทร์ตั้งสี และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของโปรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. ใน การประชุมวิชาการ ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 5 "ทรัพยากรไทย: ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ". หน้า 36-47. ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อ.เมือง จ.นครราชสีมา.
- อนุวัฒน์ นทีวัฒนา. 2551. ความหลากหลายของเกาะในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: เอกสารเผยแพร่สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.
- อินทรา ปรงเกียรติ. 2542. ความหลากหลายของโปรโตซัวและคุณภาพน้ำในคลองแม่ข่า จังหวัดเชียงใหม่. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัย เชียงใหม่.
- โอภาส ศรีนวลละออง. 2523. การสำรวจโปรโตซัวในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาการสอนชีววิทยา, มหาวิทยาลัย เชียงใหม่.

ภาษาอังกฤษ

- Andreoli, I., Mangini, L., Ferrantini, F., Santangelo, G., Verni, F., and Petroni, G. 2009. Molecular phylogeny of unculturable Karyorelictea (Alveolata, Ciliophora). Zoologica Scripta 38: 651-662.
- Azovsky, A., Saburova, M., Tikhonenkov, D., Khazanova, K., Esaulov, A., and Mazei, Y. 2013. Composition, diversity and distribution of microbenthos across the intertidal zones of Ryazhkov Island (the White Sea). European Journal of Protistology 49: 500-515.
- Barth, D., Krenek, S., Fokin, S.I., and Berendonk, T.U. 2006. Intraspecific genetic variation in *Paramecium* revealed by mitochondrial cytochrome c oxidase I sequences. Journal of Eukaryotic Microbiology 53: 20-25.
- Brum, G.D. 1994. Biology: Exploring life/ Gil Brum, Larry McKane and Gerry Karp. 2nd ed. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Burkovsky, I.V., and Mazei, Y.A. 2010. Long-term dynamics of marine interstitial ciliate community. Protistology 6: 147-172.
- Carey, P.G. 1992. Marine interstitial ciliates: An illustrated key. 1st ed. London: Chapman & Hall.
- Chantangsi, C. 2001. An investigation on protozoan diversity in α -mesosaprobic zone of a man-made canal at Chulalongkorn University. The Natural History Journal of Chulalongkorn University 1: 83-85.
- Chantangsi, C., and Leander, B.S. 2010. An SSU rDNA barcoding approach to the diversity of marine interstitial cercozoans, including descriptions of four novel genera and nine novel species. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 60: 1962-1977.
- Chantangsi, C., Lynn, D.H., Brandl, M.T., Cole, J.C., Hetrick, N., and Ikonomi, P. 2007. Barcoding ciliates: A comprehensive study of 75 isolates of the genus *Tetrahymena*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57: 2412-2423.
- Charubhun, B., and Charubhun, N. 2000. Biodiversity of freshwater protozoa in Thailand. Kasetsart Journal (Natural Science) 34: 486-494.
- Chen, X., Warren, A., and Song, W. 2009. Taxonomic studies on a new marine ciliate, *Apocoleps magnus* gen. nov., spec. nov. (Ciliophora, Colepidae), isolated from Qingdao, China. Journal of Ocean University of China 8: 317-321.
- Chen, Z., and Song, W. 2002. Characterization and identification of the *Diophrys* species (Protozoa, Ciliophora, Hypotrichida) based on RAPD fingerprinting and ARDRA riboprinting. European journal of protistology 38: 383-391.

- Cognato, A.I. 2006. Standard percent DNA sequence difference for insects does not predict species boundaries. Journal of Economic Entomology 99: 1037-1045.
- Curds, C.R. 1975. A guide to the species of the genus *Euplotes* (Hypotrichida, Ciliata). Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology 28: 1-61.
- Curds, C.R., West, B.J., and Dorahy, J.E. 1974. *Euplotes rariseta* sp.n. (Protozoa Ciliata), a new small marine hypotrich. Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology 27.
- Decamp, O., and Warren, A. 1998. Bacterivory in ciliates isolated from constructed wetlands (reed beds) used for wastewater treatment. Water Research 32: 1989-1996.
- Farmer, J.N. 1980. The protozoa: Introduction to protozoology. St. Louis: C. V. Mosby Co.
- Finlay, B., Tellez, C., and Esteban, G. 1993. Diversity of free-living ciliates in the sandy sediment of a Spanish stream in winter. Journal of General Microbiology 139: 2855-2863.
- Foissner, W. 1998. An updated compilation of world soil ciliates (Protozoa, Ciliophora), with ecological notes, new records, and descriptions of new species. European Journal of Protistology 34: 195-235.
- Foissner, W. 2006. Biogeography and dispersal of micro-organisms: A review emphasizing protists. Acta Protozoologica 45: 111-136.
- Foissner, W., and Berger, H. 1996. A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. Freshwater Biology 35: 375-482.
- Foissner, W., Chao, A., and Katz, L. 2008. Diversity and geographic distribution of ciliates (Protista: Ciliophora). Biodiversity and Conservation 17: 345-363.
- Foissner, W., and Dragesco, J. 1996. Updating the trachelocercids (Ciliophora, Karyorelictea) III Redefinition of the genera *Trachelocerca* Ehrenberg and *Tracheloraphis* Dragesco, and evolution in trachelocercid ciliates. Archiv für Protistenkunde 147: 43-91.
- Gomiero, A., Sforzini, S., Dagnino, A., Nasci, C., and Viarengo, A. 2013. The use of multiple endpoints to assess cellular responses to environmental contaminants in the interstitial marine ciliate *Euplotes crassus*. Aquatic Toxicology 114-115: 206-216.
- Google Inc. 2013. Google Earth 7.1. [Online]. Available from: <http://www.google.com/earth/download/ge/agree.html> [2013, October 31]
- Guillard, R.R.L., and Ryther, J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (Cleve) Gran. Canadian Journal of Microbiology 8: 229-239.

- Guo, W., et al. 2008. Phylogenetic position of three *Condylostoma* species (Protozoa, Ciliophora, Heterotrichea) inferred from the small subunit rRNA gene sequence. Progress in Natural Science 18: 1089-1093.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.
- Hirt, R.P., Dyal, P.L., Wilkinson, M., Finlay, B.J., Roberts, D.M., and Embley, T.M. 1995. Phylogenetic relationships among karyorelictids and heterotrichs inferred from small subunit rRNA sequences: Resolution at the base of the ciliate tree. Molecular phylogenetics and evolution 4: 77-87.
- Hoppenrath, M., Horiguchi, T., Miyoshi, Y., Selina, M., and Leander, B.S. 2007. Taxonomy, phylogeny, biogeography, and ecology of *Sabulodinium undulatum* (Dinophyceae), including an emended description of the species. Phycological Research 55: 159-175.
- Inc., G. 2014. Google Maps. [Online]. Available from: <https://maps.google.com> [2014, Mar 6]
- Katz, L., de Berardinis, J., Hall, M., Kovner, A., Dunthorn, M., and Muse, S. 2011. Heterogeneous rates of molecular evolution among cryptic species of the ciliate morphospecies *Chilodonella uncinata*. Journal of Molecular Evolution 73: 266-272.
- Kudo, R.R. 1966. Protozoology 4th ed. 3rd printing. Illinois, U.S.A: Charles C Thomas.
- Lara, E., Heger, T.J., Mitchell, E.A., Meisterfeld, R., and Ekelund, F. 2007. SSU rRNA reveals a sequential increase in shell complexity among the Euglyphid testate amoebae (Rhizaria: Euglyphida). Protist 158: 229-237.
- Laybourn-Parry, J. 1992. Protozoan plankton ecology. 1st ed. London: Chapman & Hall.
- Leander, B.S., Clopton, R.E., and Keeling, P.J. 2003. Phylogeny of gregarines (Apicomplexa) as inferred from small-subunit rDNA and β -tubulin. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 53: 345-354.
- Lynn, D. 2009. Ciliates. In M. Schaechter (ed.), Encyclopedia of Microbiology, pp. 578-592. Oxford: Academic Press.
- Lynn, D.H. 2008. The ciliated protozoa: Characterization, classification, and guide to the literature. 3rd ed. New York: Springer.
- Mader, S.S. 2011. Concepts of biology. 2nd ed. New York: McGraw-Hill.
- Marine species identification portal. 2013. Zooplankton of the South Atlantic Ocean: *Euplotes vannus*. [Online]. Available from: [2013, Dec 25]
- Martín-González, A., Díaz, S., Borniquel, S., Gallego, A., and Gutiérrez, J.C. 2006. Cytotoxicity and bioaccumulation of heavy metals by ciliated protozoa isolated from urban wastewater treatment plants. Research in microbiology 157: 108-118.

- Matchacheep, S., and Dumrongrojwattana, P. 2007. Freshwater protozoa of Chonburi Province, Eastern Thailand (Protozoa: Mastigophora, Sarcodina and Ciliophora). in The Proceeding of 45th Kasetsart University Annual Conference. pp. 565-571. January 30- February 2, 2007.
- Medlin, L., Elwood, H.J., Stickel, S., and Sogin, M.L. 1988. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. Gene 71: 491-499.
- Moniz, M.B., and Kaczmarska, I. 2010. Barcoding of diatoms: Nuclear encoded ITS revisited. Protist 161: 7-34.
- Moreira, D., von der Heyden, S., Bass, D., López-García, P., Chao, E., and Cavalier-Smith, T. 2007. Global eukaryote phylogeny: Combined small- and large-subunit ribosomal DNA trees support monophyly of Rhizaria, Retaria and Excavata. Molecular Phylogenetics and Evolution 44: 255-266.
- Nanney, D.L., Park, C., Preparata, R., and Simon, E.M. 1998. Comparison of sequence differences in a variable 23S rRNA domain among sets of cryptic species of ciliated protozoa. Journal of Eukaryotic Microbiology 45: 91-100.
- NCBI. 2013a. Basic Local Alignment Search Tool: BLAST. [Online]. Available from: http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome [2013, October 1]
- NCBI. 2013b. GenBank®. [Online]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> [2013, October 1]
- Petroni, G., Dini, F., Verni, F., and Rosati, G. 2002. A molecular approach to the tangled intrageneric relationships underlying phylogeny in *Euplotes* (Ciliophora, Spirotrichea). Molecular phylogenetics and evolution 22: 118-130.
- Polameesanaporn, Y. 2008. Biodiversity of protozoa in freshwater case study in the Chao-Praya River, Thailand. in Proceeding of Taal2007: The 12th World Lake Conference. pp. 484-489.
- Prasarnboon, P., Matchacheep, S., and Dumrongrojwattana, P. 2007. Protozoa in Khundanprakarnchon Dam, Nakornnayok Province (protozoa: Mastigophora, Ciliata, Sarcodina and Suctoria). in The Proceeding of 45th Kasetsart University Annual Conference. pp. 535-541. January 30- February 2, 2007.
- Raven, P., Johnson, G.B., Mason, K.A., Losos, J.B., and Singer, S.S. 2014. Biology. 10th ed. USA: McGraw-Hill Higher Education.
- Rojanapaibul, A., Marayong, T., Proongkiat, I., and Suwattanakupt, S. 1999. Distribution of protozoa in some areas of Northern Thailand. in 25th Congress on Science & Technology of Thailand. pp. October, 1999.

- Sciicluna, S.M., Tawari, B., and Clark, C.G. 2006. DNA barcoding of *Blastocystis*. Protist 157: 77-85.
- Song, W., Warren, A., and Hill, B.F. 1998. Description of a new freshwater ciliate, *Euplotes shanghaiensis* nov. spec. from China (Ciliophora, Euplotidae). European Journal of Protistology 34: 104-110.
- Sooksmarn, M. 1995. Protozoa ecology and its distribution in a semiurban area in the central plain of Thailand. Journal of The Science Society of Thailand 21: 305-322.
- Strüder-Kypke, M.C., Wright, A.-D.G., Jerome, C.A., and Lynn, D.H. 2001. Parallel evolution of histophagy in ciliates of the genus *Tetrahymena*. BMC evolutionary biology 1: 5.
- Takano, Y., and Horiguchi, T. 2006. Acquiring scanning electron microscopical, light microscopical and multiple gene sequence data from a single dinoflagellate cell1. Journal of Phycology 42: 251-256.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A., and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular biology and evolution 30: 2725-2729.
- Uhlig, G. 1964. Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen 11: 178-185.
- Vallesi, A., Alimenti, C., La Terza, A., Di Giuseppe, G., Dini, F., and Luporini, P. 2009. Characterization of the pheromone gene family of an Antarctic and Arctic protozoan ciliate, *Euplotes nobilii*. Marine Genomics 2: 27-32.
- Vilgalys, R. 2005. Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA. [Online]. Available from: <http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm> [2013, Mar 11]
- Wangsomnuk, P., Kornpan, P., and Proongkiat, I. 2003. Survey of protozoa in the Ubolratana Dam, Khon Kaen Province. in 28. Congress on science and technology of Thailand (Extended abstracts). pp. 384. October 24-26, 2002. Bangkok, Thailand.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: A guide to methods and applications 18: 315-322.
- Wikipedia. 2013. Chonburi Province. [Online]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Chonburi_Province [2013, October 31]
- Wright, A.-D.G., and Lynn, D.H. 1997. Maximum ages of ciliate lineages estimated using a small subunit rRNA molecular clock: Crown eukaryotes date back to the Paleoproterozoic. Archiv für Protistenkunde 148: 329-341.
- Xu, Y., Huang, J., Warren, A., Al-Rasheid, K.A., Al-Farraj, S.A., and Song, W. 2011. Morphological and molecular information of a new species of *Geleia* (Ciliophora,

Karyorelictea), with redescrptions of two *Kentrophoros* species from China. European Journal of Protistology 47: 172-85.

Yan, Y., Xu, Y., Yi, Z., and Warren, A. 2013. Redescrptions of three trachelocercid cili (Protista, Ciliophora, Karyorelictea), with notes on their phylogeny based on small subunit rRNA gene sequences. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63: 3506-3514.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

พิกัดแสดงตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ของการเก็บตัวอย่างทรายบริเวณหาดลูกกลม เกาะเสม็ดสาร จังหวัดชลบุรี ในช่วงเก็บตัวอย่างจริง*

จุดเก็บ ตัวอย่าง	พิกัดตำแหน่งทางภูมิศาสตร์				
	10 ก.ย. 2554	21 ม.ค. 2555	28 มี.ค. 2555	20 พ.ค. 2555	21 ก.ค. 2555
1	47P 0711758	47P 0711770	47P 0711769	47P 0711767	47P 0711739
	UTM 1391557	UTM 1391548	UTM 1391630	UTM 1391602	UTM 1391523
2	47P 0711760	47P 0711772	47P 0711778	47P 0711771	47P 0711751
	UTM 1391571	UTM 1391565	UTM 1391666	UTM 1391636	UTM 1391534
3	47P 0711765	47P 0711774	47P 0711781	47P 0711777	47P 0711758
	UTM 1391592	UTM 1391580	UTM 1391689	UTM 1391682	UTM 1391584
4	47P 0711770	47P 0711778	47P 0711784	47P 0711782	47P 0711763
	UTM 1391622	UTM 1391610	UTM 1391704	UTM 1391708	UTM 1391584
5	47P 0711775	47P 0711783	47P 0711779	47P 0711786	47P 0711765
	UTM 1391648	UTM 1391640	UTM 1391742	UTM 1391716	UTM 1391596
6	47P 0711779	47P 0711784	47P 0711791	47P 0711789	47P 0711761
	UTM 1391683	UTM 1391650	UTM 1391750	UTM 1391730	UTM 1391603
7	47P 0711786	47P 0711788	47P 0711796	47P 071179	47P 0711771
	UTM 1391713	UTM 1391671	UTM 1391773	UTM 1391743	UTM 1391627
8	47P 0711793	47P 0711793	47P 0711798	47P 0711793	47P 0711765
	UTM 1391748	UTM 1391698	UTM 1391792	UTM 1391759	UTM 1391649
9	47P 0711797	47P 0711795	47P 0711798	47P 0711795	47P 0711772
	UTM 1391779	UTM 1391712	UTM 1391811	UTM 1391773	UTM 1391683
10	47P 0711798	47P 0711798	47P 0711799	47P 07118	47P 0711785
	UTM 1391813	UTM 1391732	UTM 1391834	UTM 1391813	UTM 1391730
11	47P 0711799	47P 0711804	47P 0711799	47P 0711801	47P 0711788
	UTM 1391855	UTM 1391765	UTM 1391862	UTM 1391840	UTM 1391758
12	47P 0711791	47P 0711808	47P 0711796	47P 0711825	47P 0711792
	UTM 1391899	UTM 1391864	UTM 1391889	UTM 1391879	UTM 1391805

* ในช่วงทดลองเก็บตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (24 มี.ค. 2554) และ 2 (21 พ.ค. 2554) ทำการอ้างอิงตำแหน่งในลักษณะการบรรยาย และการเก็บทรายจำนวน 12 กล่อง เริ่มต้นในช่วงเก็บตัวอย่างจริง

ภาคผนวก ข

ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 33 สาย ที่สามารถใช้ในการระบุอัตลักษณ์ของซีเลียตจำนวน 20 ชนิด ดังนี้

1. *Apocoleps* sp. (ภาพที่68) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 3,567 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCCTAAA GACTAAGCCA 50
 TGCATGTCTA AGTATAAATA GTATACAGTG AAACCTGCGAA TGGCTCATT A 100
 AAACAGTTAT AGTTTACTTG ATAATTGAAT TCTACATGGA TAACCGTGGT 150
 AATTCTAGGG CTAATACATG CTGTCAAAACC TGACTTTTTG GAAAGGTTGT 200
 ATTTATTAGA TAACAAACCA ATATTCC TTC GGGTCATTG TGATGATTCA 250
 TAGTAACTGA TCGGAGCGAG GCTTTGCCAC GCTAAATCAT TCAAGTTTCT 300
 GCCCTATCAG CTTTCGATGG TAGTGATTG GACTACCATG GCAGTCACGG 350
 GTAACGGGGA ATTAGGGTTC GATTCCGGAG AGGGAGCCTG AGAAACGGCT 400
 ACCACATCTA AGGAAGGCAG CAGGC GCGTA AATTACCCAA TCCTAATTCA 450
 GGGAGGTAGT GACAAGAAAT AACAACTCGG AGTCTCACGA CTTGCGGAGAT 500
 TGCAATGAGC ACAATTTAAA TCTCTTAGCA AGGAACAATT GGAGGGCAAG 550
 TCTGGTGCCA GCAGCCGCGG TAATTCCAGC TCCAATAGCG TATATTAAAG 600
 TTGTTGCAGT TAAAAAGCTC GTAGTTGAAC TTCTGGGCGT CGTCTTCATG 650
 GCTTCGGTCG TGAAAGAGGGC GTCCATCCGT CTGAGAACCG CATTCCGGCCT 700
 TCACTGGTCG GTGTGGGGAT CAGGCATTTT ACTTTGAAAA AATTAGAGTG 750
 TTCCAGGCAG GCTTTCGCC TGAATACACA AGCATGGAAT AATGGAATAG 800
 GACTATGGTT CATTTTGTTG GTTATTGGAT CATAGTAATG ATTAACAGGG 850
 ACAGTTGGGG GCATTAGTAT TTAATTGTCA GAGGTGAAAT TCTTGGATTT 900
 ATTAAGACT AACTTATGCG AAAGCATTTG CCAAGGATGT TTTCATTAAAT 950
 CAAGAACGAA AGTTAGGGGA TCAAAGACGA TCAGATACCG TCCTAGTCTT 1000
 AACCATAAAC TATTCCGACT AGGGATTGGT TGGGTTATTC AGCTCAATCA 1050
 GCACCTTATG AGAAATCAAA GTCTTTGGGT TCCGGGGGA GTATGGTCGC 1100
 AAGGCTGAAA CTTAAAGGAA TTGACGGAAG GGCACCACCA GGAGTGGAGC 1150
 CTGCGGCTTA ATTTGACTCA ACACGGGGAA ACTCACCCAGC GCAAAACATG 1200
 GGTGGGATTG ACAGATTGAG AGCTCTTCT TGATTCTATG GGTGGTGGTG 1250
 CATGGCCGTT CTTAGTTGGT GGAGTATTT GTCTGGTTAA TTCCGTTAAC 1300
 GAACGAGACC TTAACCTGCT AACTAGTCTC TTCATGTTAA ATGGGGAGGA 1350
 CTTCTTAGAG GGACTATGTG ACTAAACACA TGGAAGTTTG AGGCAATAAC 1400
 AGGTCTGTGA TGCCCTTAGA TGTGCTGGGC CGCACGCGG CTACACTGAT 1450
 ACGTTCAGCA AGTTCTATCC TGGTCCGGAA GGATTTCCGG TAATCTTGTT 1500
 AATGCGTATC GTGCTGGGGA TCGATCTTTG CAATTATAGA TCTTGAACGA 1550

GGAATTCCTA GTAAGTGCAA GTCATCAGCT TGTACTGATT ACGTCCCTGC 1600
 CCTTTGTACA CACCGCCCGT CGCTCCTACC GATTTCGAGTG ATCCGGTGAA 1650
 CCTTCTGGAC CGCTGCAGTC TTCAGGCTGC GGTGGAAAAGT TAAGTAAACC 1700
 TTATCACTTA GAGGAAGGAG AAGTCGTAAAC AAGGTTTCCG TAGGTGAACC 1750
 TCGGGAAGGA TCATTAGCAC ATTTTAATCC GAACCTTAAT TTTATGTTCT 1800
 GAGGGGAGTT TTTTAATAAG ACTCCTCTTC TTTTCATAAA AACTATTCTT 1850
 AAAACCTAAT TTGAAAAAAA ATAAAAAAC CAAAAAGAA AATTTTCAAC 1900
 GATGGATATC TTGGTTCCCA TAACGATGAA GAACGCAGCA AAATGCGATA 1950
 CGCAATGCGA ATTGACAGAA ACCGCGAGTC ATCAGATCTT CTAACGCAAA 2000
 TGGCGCTGAG GGGCTATCCC CTTAGCATGT TTGCTTCAGT GTGTTAATTC 2050
 ACTCACAAAA ATCTAAATGC GATTGAGATT TTAATTAATT TCTCTCGTGA 2100
 AAGGAGAAAA AAGTGCCGAG ACTATCAGCC AACGAAGCGG TCACTCAAAA 2150
 AAAAAATAGA GTGATTTTCGT TGGAAACAAA CCGATATTGT TTCGAAATTA 2200
 TCACTTTTTA AATAAAAAACA AAATTCTAAA TTCAGCACCT GAAGTCAAGC 2250
 AAGATCACCC GCTGAACTTA AGCATATCAG TAAGCGGAGG AAAAGAACT 2300
 AACAAAGGATT GCCTCAGTAG CGGCGAGTGA ACCGGCAAAA GCTCAAAGTG 2350
 AAAATCTGTA ATGGACAAA TTACAGAAAT GTAATCTAGA GGGTTTCGCG 2400
 AAAGGGAGGT CCTCGACAA AGGCCTGAAA CAGCCTATCA GAGAGGTGA 2450
 AAATCCCGTA GATGGCGAAG GACTGACCGG CCGTGAGATT TCGAAGAGTC 2500
 GGGTTGTTTG GGATTTGCAGC CCTAAATGGG AGATAAACTT CTTCATAAGC 2550
 TAAATATTTA TGGGAGACCG ATAGCGAACA AGTACTACGA AGGAAAGATG 2600
 AAAAGAACCT TGAAAAGAGG GTTAAAAGAC TTGAAATCGT TGAGAAGGAA 2650
 GTGGTAGAAG AGGATTATTT GGGTGGGACG TTAGTTGTGA AAGCATGGGT 2700
 CCTTGTAGCG TGGAGTTCGT CAAAAGCCTT CGTTGCGAGA GATAACTAGG 2750
 CTTTGCGGCT TTTTCCTGCT CAAAAGACAA AATGAGGCC TCGGCTGTCGG 2800
 AGACACTGAA AGGAACGTCC CTTGAAAACA AGGAGTCCCTA GCAGAACACG 2850
 GCAGTGTAAAG GCCTGAGGGA CCGAAAAGTG ATTTTGTCTGA AATGGCTTCT 2900
 ACTGACCCGT CTTGAAACAC GGACCAAGGA GTGTAAACACA TATGCGAGTT 2950
 TCGGGGTGGA AAAACCCATC AGGCCTAATG AAAGTAAGAA AAAGATGTGA 3000
 AGCCGCAAGG CAGCAACATC GACCCACCTT GATCTTCTGG TGAAGGGTTG 3050
 GAGTAAGAGC ATATTTGTTA CGACCCGAAA GATGGTGAAC TATGCTTGGG 3100
 TAGGCTGAAG CCAGGGGAAA CTCTGGTGGA AGGTCGCAGC GATACTGACC 3150
 TGCAAATCGT TCGTCTAACT TGAGTATAGG GGCGAAAGAC TAATCGAACC 3200
 ATCTAGTAGC TGGTTCCCTC TGAAGTTTCT CTCAGGATAG CTGGAACAGA 3250
 CAAAAGCGC AGTTTTATCA GGTAAGCGA ATGATTAGAG GAATCGGAGC 3300
 TCAAAGAGCT TTGACCTATT CTCAAACCTT AAAATTGGTAA GAACCTTCAG 3350
 TTTACTTAAT TGAACCTGGAG GGTAGAATGC GTTGTCTTAA GTGGGCCCTT 3400
 TTTGGTAAAG AGAACGGGTA ATGAGGGATG AACCTAACGT TGAGCTAAGG 3450
 CGCCGAAATC CCCGCTCATC AGATACCACA AAAGGTGTTG ATTCATACAG 3500
 ACAGCAGGAC GGTGGCCATG GAAGTCGGAA TCCGCTAAGG AGTGTGTAAC 3550

AACTCACCTG CCGAATC 3567

2. *Aspidisca* sp. (ภาพที่ 40) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(5-5), 2(5-6) และ 3(5-7) แต่ละสายมีความยาว 3,349 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (5-5)	ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT <u>AGTACACGCT</u> TGTCTAAAGG ACTAAGCCAT	50
2 (5-6) <u>.....</u>	50
3 (5-7) C <u>.....</u>	50
1 (5-5)	GCATGTCTGA GTTTAAATCT GAAACTGCCA ATGGCTCATT AAAACAGTTA	100
2 (5-6) <u>.....</u>	100
3 (5-7) <u>.....</u>	100
1 (5-5)	TAGTTTACAT GATATTTGAG GTTTAAATGG ATATCCGTGG TAACCCAGAG	150
2 (5-6) <u>.....</u>	150
3 (5-7) <u>.....</u>	150
1 (5-5)	CTAATACATG CGTTACGTCC GACTTTTTGG AAGGACAGTA TTTATTAGAT	200
2 (5-6) <u>.....</u>	200
3 (5-7) <u>.....</u>	200
1 (5-5)	TAAATCAAAG CTTCTGCTT TTGATGATTC ACAATAACTG ATCGAATCGT	250
2 (5-6) <u>.....</u>	250
3 (5-7) <u>.....</u>	250
1 (5-5)	TGGCCGTGCC GACGATGAAT CATCCAAGTT TCTGCCCTT CACGCTAGAT	300
2 (5-6) <u>.....</u>	300
3 (5-7) <u>.....</u>	300
1 (5-5)	GGTAGTGAT TGGACTACCA TGGCATTTAC GGGTAACGGG GGATTAGGGT	350
2 (5-6) <u>.....</u>	350
3 (5-7) <u>.....</u>	350
1 (5-5)	TCGACACCGG AGAGGGAGCC TGAGAAACGG CTACCACATC TACGGAAGGC	400
2 (5-6) <u>.....</u>	400
3 (5-7) <u>.....</u>	400
1 (5-5)	AGCAGGCGCG TAAATTACCC AATCCTAATT CAGGGAGGTA GTGACAAGAA	450
2 (5-6) <u>.....</u>	450
3 (5-7) <u>.....</u>	450

1 (5-5)	ATAACAGACC GGGAA T TCCC GGG T TGCAA TGGGCCTAAT TTACACTAAT	500
2 (5-6)	500
3 (5-7)	500
1 (5-5)	TTGCTAGGAT CCATTGGAGG GCAAG T CTGG TGCCAGCAGC CGCGGTAATT	550
2 (5-6)	550
3 (5-7)	550
1 (5-5)	CCAGCTCCAA TAGCGTGTGT TAAAG T TGTT GCAGTTAAAA GCTCGTAGTT	600
2 (5-6)	600
3 (5-7)	600
1 (5-5)	GGACTTCTGA AGGCAGCAGT CGGGCCCCGC CCAC T TCTGA CTTTCATCCTT	650
2 (5-6)	650
3 (5-7)	650
1 (5-5)	CTGTTAACGG AT C TTGGCCT TCATTGGCTG GTTCAGGGCT CAGATTCTTT	700
2 (5-6) T	700
3 (5-7) T	700
1 (5-5)	ACCATGAGGA AAATAGAGTG T TCAGGCAG GCTCGCGCCG GAATACGTTA	750
2 (5-6)	750
3 (5-7)	750
1 (5-5)	GCATGGAATA TAATATGACT TCTCGCTTTT GGTGAGTGC GAAGTAATGG	800
2 (5-6)	800
3 (5-7)	800
1 (5-5)	TTAATAGGGA TAGTTGGGGC ATTGGTATTC CATTGTCAGA GGTGAAATTC	850
2 (5-6)	850
3 (5-7)	850
1 (5-5)	TTTGATTTAT GGAAGACTAA CTAAGGCGAA AGCATTG C C AGGGATGTTT	900
2 (5-6)	900
3 (5-7)	900
1 (5-5)	TCATTAATCA AGAACGAAAG TTAGGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC	950
2 (5-6)	950
3 (5-7)	950

1 (5-5)	CTAGTCTTAA CCATAAACTA TGCCGACTAG GGATCGGAGG CGCGCGCTTT	1000
2 (5-6)	1000
3 (5-7)	1000
1 (5-5)	CCGCC TTCGG CACCTTATGA GAAATCAAAG TTTCGGTTCT GGGGAAGTA	1050
2 (5-6)	1050
3 (5-7)	1050
1 (5-5)	TGGTCGCAAG GCTGAAACTT AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACCAGGA	1100
2 (5-6)	1100
3 (5-7)	1100
1 (5-5)	GTGGAGCCTG CGGCTTAATT TGACTCAACA CGGGAAAAC T CACCAGGTCC	1150
2 (5-6)A..	1150
3 (5-7)	1150
1 (5-5)	AGACATAGGA AGGATTGTCA GATTGATAGC TCTTACTTGA TTCTATGGGT	1200
2 (5-6)	1200
3 (5-7)	1200
1 (5-5)	GGTGGTGCAT GGCCGTTCTT AGTTGGTGGA GCGATTTGTC TGGTTAATTC	1250
2 (5-6)	1250
3 (5-7)	1250
1 (5-5)	CGATAACGAA CGAGACCTTA GCCTGCTAAC TAGTTGTCAC CTTCCGAGGC	1300
2 (5-6)	1300
3 (5-7)C..	1300
1 (5-5)	TATTCAACTT CTTAGAGGGA CTTTGTGCTA AACACAAGGA AGTTTGAGGC	1350
2 (5-6)	1350
3 (5-7)	1350
1 (5-5)	AATAACAGGT CTGTGATGCC CTTAGATGTC CTGGGCCGCA CGCGTGCTAC	1400
2 (5-6)	1400
3 (5-7)	1400
1 (5-5)	ACTGATACGT ACAGAAAGTC CTCC TGAGCC GATAGGCCCC GGGTAACTCG	1450
2 (5-6)	1450
3 (5-7)	1450

1 (5-5)	CAATACGTAT CGTGATAGGG ATAGATCTTT GCAATTATGG ATCTTGAACG	1500
2 (5-6)	1500
3 (5-7)	1500
1 (5-5)	AGGAATTCCCT AGTAAGTGCA AGTCATCATC TTGCGCTGAT TAAGTCCCTG	1550
2 (5-6)	1550
3 (5-7)	1550
1 (5-5)	CCCTTTGTAC ACACCGCCCG TCGCTTCTAC CGACAGAGTG GTCAGGTGAG	1600
2 (5-6)	1600
3 (5-7)	1600
1 (5-5)	CCTTTTGGAC CGTCGGGCAA CCGTACGGAA AATCAAGCAA GCCCAATCAC	1650
2 (5-6)	1650
3 (5-7)	1650
1 (5-5)	TTGGAGGAAG AAGAAGTCGT AACCAAGGTTT CCGTAGGTGA ACCTGCGGAA	1700
2 (5-6)	1700
3 (5-7)	1700
1 (5-5)	GGATCATTCA CACATCCATC CAAACCTAAC TAAGCCTTTT GGCCTGACTT	1750
2 (5-6)	1750
3 (5-7)	1750
1 (5-5)	GTCAGGCACC AAAACTTACA AATGGAGATT ACTAACTCTA AGACATTAAA	1800
2 (5-6)	1800
3 (5-7)	1800
1 (5-5)	GTTTCAACAG TGGATGTCTT GGCTCCCATTA TCGATGAAGA ACGCAGCAAA	1850
2 (5-6)	1850
3 (5-7)	1850
1 (5-5)	GTGCGATAAG CAATGCGAAT TGCAGACTGT GAGTCATCAG ATTTTCGAAC	1900
2 (5-6)	1900
3 (5-7)	1900
1 (5-5)	GCATCTGGCG CCAGCTGGTC CTCCAGCTGG CATGCTTGCT TCAGTGTTTC	1950
2 (5-6)	1950
3 (5-7)	1950

1 (5-5)	TTTAGTCACT GCCCTACATC TTAATGCGAG TGAGTCAGCT CTCTCGTTAA	2000
2 (5-6)	2000
3 (5-7)	2000
1 (5-5)	ATTTGCAGCA CGCTGTCAGG AGGCTTCGAG CCTCGCTCAA TGCAGCAGTC	2050
2 (5-6)	2050
3 (5-7)	2050
1 (5-5)	ACTCCGGTGA ACTCATTGGG AAGCGCGTGC TAGAGCTCTG TAAACCTTTT	2100
2 (5-6)	2100
3 (5-7)	2100
1 (5-5)	AACCTGAAGT CAAGTGAGGT TACCCGCTGA ACTTAAGCAT ATCACTAAGC	2150
2 (5-6)	2150
3 (5-7)	2150
1 (5-5)	GGAGGAAAAG AAATTAAAGA AGATTACCTC AGTAGCGGCG AGCGAACCGG	2200
2 (5-6)	2200
3 (5-7)	2200
1 (5-5)	TAAACAGCCCA AACTGAAAAT CTCTGGCCCT CAGGTCATGA GAATTGTAGT	2250
2 (5-6)	2250
3 (5-7)	2250
1 (5-5)	CTAGAGATCA TTGCCGCCGA CGGGTCCGAA GTGAGTTGGA ACACTCCGCC	2300
2 (5-6)	2300
3 (5-7)	2300
1 (5-5)	AAGGAAGGTG AAAGCCCTGT TAGGATCCAC AGTGCGTATG GCAAGATTCTG	2350
2 (5-6)	2350
3 (5-7)	2350
1 (5-5)	AAGAGTCGAG TTGCTTGGGA CTGCAGCTCA AAACGGGAGA TAAACTTCTT	2400
2 (5-6)	2400
3 (5-7)	2400
1 (5-5)	CTAAGGCTAA ATAGCTATGG GAGACCGATA GCGAACCAAGT ACTGTGAAGG	2450
2 (5-6)	2450
3 (5-7)	2450

1 (5-5)	AAAGATGAAA AGAACTTTGA AAAGAGAGTT AACAGACCTG AAAC TGTGTA	2500
2 (5-6)	2500
3 (5-7)	2500
1 (5-5)	GAAGGAAGCT GTAGACATCA ATAAATTCGCT GTTGACCTGC CAAAAGGGTA	2550
2 (5-6)	2550
3 (5-7)	2550
1 (5-5)	GTTGTGGAGTC ACTGTAAAAG GGCGAAGCAC CTCCCGCCGA TTCCCGGCGC	2600
2 (5-6)	2600
3 (5-7)	2600
1 (5-5)	TTGGTCGGCA GCGATAGGCA AGGTAGGCTC GGCGGCCTCA AACTCCCCGC	2650
2 (5-6)	2650
3 (5-7)	2650
1 (5-5)	GACACCCGCA AGGACTGTCA GTGGGATGAC GTGGCGGCCG AAGCGTACCC	2700
2 (5-6)	2700
3 (5-7)	2700
1 (5-5)	TTGTCAAAAC GATTTTACAG TCCCGTCTTG AAACACGGAC CAAGGAGTCT	2750
2 (5-6)	2750
3 (5-7)	2750
1 (5-5)	AACACAAGTG CAAAGTTTGC TGGTGTA AAA CCAACGAGCA GAATGAAAGT	2800
2 (5-6)	2800
3 (5-7)	2800
1 (5-5)	AAGCGGTGCG AAGCGCAAGC TGCAGCATCG GCCGACCGAA GGTTTCGAGTA	2850
2 (5-6)	2850
3 (5-7)	2850
1 (5-5)	TGAGCACTTT TGTTAGGACC CGAAAGATGG TGA ACTATGC TTGAGTAGGG	2900
2 (5-6)	2900
3 (5-7)	2900
1 (5-5)	TGAAGTCAGG GGAAACTCTG ATGGAGGCTC GTAGCGATAC TGACGTGCAA	2950
2 (5-6)	2950
3 (5-7)	2950

1 (5-5)	ATCGTTCGTC AAAC TTGAGT ATAGGGGCGA AAGACTAATC GAACTATCTA	3000
2 (5-6)	3000
3 (5-7)	3000
1 (5-5)	GTAGCTGGTT CCCTCCGAAG TTTCTCTCAG GATAGCAAGG TCTTTACTGC	3050
2 (5-6)	3050
3 (5-7)	3050
1 (5-5)	AGTTTTACCA GGTAAGCGA ATGATTAGAA GTGTGGGGAT TATTTCTTCA	3100
2 (5-6)	3100
3 (5-7)	3100
1 (5-5)	GCTTATTCTC AAAC TTTAAA TTGGTAAGAA CTCTTCCGCT ACTTTATTGA	3150
2 (5-6)	3150
3 (5-7)	3150
1 (5-5)	GCGGAGAGGT AGAATGCACG ACCTTAGTGG GCCATACTTG GTAAGCAGGA	3200
2 (5-6)	3200
3 (5-7)	3200
1 (5-5)	CTGGCGATGA GGGATGAACC TAACGTCGAG ATAAGGTGCC TAAGATGCAC	3250
2 (5-6)	3250
3 (5-7)	3250
1 (5-5)	GCGCATCAGA TTTAAAAGTTG TTGGTTCATT AAGACAGCAG GACGGTGGCC	3300
2 (5-6)	3300
3 (5-7)	3300
1 (5-5)	ATGGAAGTCG GAATCCGCTA AGGAGTGTGT AACAACTCAC CTGCCGAAT	3349
2 (5-6)	3349
3 (5-7)	3349

1 (5-6)	GTATATTAAA GTTGTTCAG TTA AAAAGCT CGTAGTTGAA GCTCTGTACG	600
2 (5-7)	600
1 (5-6)	GAACGAGCGG TACATACTGC ACGCGCCGTA CATCCGCCTG AGCAGCGGCC	650
2 (5-7)	650
1 (5-6)	GTCGTCTTTA CGGTGGTCGT GATCAGGCAC TTTACCTTGA GCAAATTAGA	700
2 (5-7)	700
1 (5-6)	GTGTTCCAGG CAGGCGCCAG CCTGAATAGT CCAGCATGGA ATAATAGAAA	750
2 (5-7)	750
1 (5-6)	AGGACTGAGA GCCACTGTTG GTGCGTGGCT TTTAGTAATG ATTAATAGGG	800
2 (5-7)	800
1 (5-6)	ATAGTTGGGG GCATTCGTAT TTAATTGTCA GAGGTGAAAT TCTATGATTT	850
2 (5-7)	850
1 (5-6)	ATTAAAGACG AACCTATGCG AAAGCATTG CCAAGGATGT TTCATTAAT	900
2 (5-7)	900
1 (5-6)	CAAGAACGAA AGTTAAGGGA TCAAAGACGA TCAGATACCG TCGTAGTCTT	950
2 (5-7)	950
1 (5-6)	AACCATAAAC TATGCCGACT AGAGATTGGA GGAGCAATTA AAAAGACTCC	1000
2 (5-7)	1000
1 (5-6)	TTCAGCATCT TCCGAGAAAT CAAAAGTCTTT GGGTTCTGGG GGGAGTATGG	1050
2 (5-7)	1050
1 (5-6)	TCGCAAGACT GAAACTTAAA GGAAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGTGTG	1100
2 (5-7)	1100
1 (5-6)	GAGCCTGCGG CTTAATTTGA CTCAACACGG GGAAACTTAC CAGGTCCAGA	1150
2 (5-7)	1150
1 (5-6)	CATAGCCAGG ATTGACAGAC TGACAGCTCT TTCTTGATT C TATGGGTGGT	1200
2 (5-7)T.....	1200

1 (5-6)	GGTGCATGGC CGTTCCTAGT TGGTGGAGTG ATTTGTCTGG TTAATTCCGA	1250
2 (5-7)	1250
1 (5-6)	TAAACGAACGA GACCTCAGCC TGCTAACTAG TCAGATTCCG TTTGGATTCT	1300
2 (5-7)C.....C.....	1300
1 (5-6)	GGACTTCTTA GAGGGACTGT GGGGGCTACT CCACGGAAGT TTGAGGCAAT	1350
2 (5-7)	1350
1 (5-6)	AACAGGTCTG TGATGCCCTT AGATGTCCCTG GGCCGCACGC GCGCTACACT	1400
2 (5-7)	1400
1 (5-6)	GATGCAGGCA GCGAGCTCCG TGGTAGACAT ACCTCGGGAA ACTACAAACT	1450
2 (5-7)	1450
1 (5-6)	GCATCGTGAT GGGGATTGAC TCTTGGAATT CTTGGTCATC AACGAGGAAT	1500
2 (5-7)	1500
1 (5-6)	ACCTAGTAAA CGCAAGTCAT CAGCTTGCAT TGATTACGTC CCTGCCCTTT	1550
2 (5-7)	1550
1 (5-6)	GTACACACCG CCCGTCGCTC CTGCCGATTG AGTGGTGCGG TGAACCC TTC	1600
2 (5-7)A.....	1600
1 (5-6)	GGACCGGTTC GCCGGGAAGT TGTGTAAACC TTACCACCTA GAGGAAGGAG	1650
2 (5-7)	1650
1 (5-6)	AAGTCGTAAC AAGGTTTCTG TAGGTGAACC TGCAGAAGGA TCATTATCGC	1700
2 (5-7)	1700
1 (5-6)	ACAAAAATTA TTTATTTATA ACTTTTTTTT GATATTAAAA CCTTAACGGT	1750
2 (5-7)-.....	1749
1 (5-6)	GGATATCTCG GCTCTCGTAT CGATGAAGAA CGCAGCAAAC TGCGAAAAGC	1800
2 (5-7)	1799
1 (5-6)	ACTGCGAATT GCAGGCTCTG TGAGTCAGTA GACTTTCGAA CGCATCTTGC	1850
2 (5-7)A.....	1849

1 (5-6)	CGCTGGGTGC ACTGGCCCGT CTTGAAACAC GGACCAAGGA GTCCAGCCTA	2550
2 (5-7)	2549
1 (5-6)	TGTGCAAGTA GAGGGTTAA AAATCCCAGA TGCACAACGT AAGTAATCTC	2600
2 (5-7)	2599
1 (5-6)	TGTTTCCACA GAGGCCGCAA TAGCGAGCTC AGCAGATAGG CTGGGACCCG	2650
2 (5-7)	2649
1 (5-6)	AAAGATGGTG AACTATGCTT GGGGAAGGTG AAGCCAGGGG AAACCTCTGGT	2700
2 (5-7)	2699
1 (5-6)	GGAAGCTTGT AGAGGTA CTG ACGTGCAAAAT CGTTCTTCTG ACCTGAGTAT	2750
2 (5-7)	2749
1 (5-6)	AGGGGCGAAA GACTTATCGA ACCATCTAGT AGCTGGTTCC CTCCGAAATT	2800
2 (5-7)	2799
1 (5-6)	TCCCTCAGGA TAGCAGGAGC ATGGCAGTTT TACCGGGTAA AGCGAATGAT	2850
2 (5-7)	2849
1 (5-6)	TAGAGGTTCTG GGGGTTGAAA CAACCTTCAC CTATTCTCAA ACTTTAAATT	2900
2 (5-7)G.....	2899
1 (5-6)	GGTAAGGTGA TTGAGTACT TCAGTGA ACT CATTCTTGAA TGCGAGCTCC	2950
2 (5-7)	2949
1 (5-6)	TAGTGGGCCA TTTTTGGTAA GCAGAACTGG CAACGAGGGT TCAACCTAAG	3000
2 (5-7)	2999
1 (5-6)	GCGATGTTGA GGCGACAAA T GACTGCTCA TAGATGGAAA GGTGTTGGTT	3050
2 (5-7)	3049
1 (5-6)	CATTTAGACA GTAGGACGGT GGCCATGGAA GTCGGAATCC GCTAAGGAGT	3100
2 (5-7)	3099
1 (5-6)	GTGTAACAAC TCACCTGCCG AAT	3123
2 (5-7)	3122

4. *Condylostoma* sp. (ไม่มีภาพ) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย ความยาว 3,119 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTTAAA GATTAAGCCA 50
 TGCATGTCTA AGTATAAGCT TTTATACAGT GAGACTGCCA ATGGCTCATT 100
 AAAACAGTTA TAGTTTATTT GCTGATCGTT TATATGGATA ACCGTAGTAA 150
 TTCTAGAGCT AATACATGCT GGTTGCGCAG TGCGTAGTAT TTATTAGATA 200
 TAAGCCAACG TGCGAGGACT CATAATAACT TAGCGGACTT CTTCGGAAGT 250
 GCAGCATTCA AGTTTCTGCC CTATCAGCTT GATGGTAGTG TATTGGACTA 300
 CCATGGCAGT GACGGGTGAC GGAGAAATTAG GGTTCGATTC CGGAGAGGGA 350
 GCCTGAGAAA CGGCTACCAC ATCTAAGGAA GGAGCAGGC GCGCAAATTA 400
 CCCAATCCTA ACTCAGGGAG GTAGTGACAA GAAATAACAA CGCGGGGGCTC 450
 AGTCTCGTGA TTGGAATGAG AACCAATGTAA AAGCCTTAAC GAGGATCAAC 500
 TGGAGGGCAA GTCTGGTGCC AGCAGCCGCG GTAAATACCAG CTTCCAGTAGC 550
 GTATATTTAAA GTTGTTGCAG TTAATAAAGCT CGTAGTTGAA ATTCTGCACG 600
 GAACGAGTTA CACACGTAGC ACGAGCCGTG CATCCGCCTG AGCAGCGTTC 650
 GTCGTCTTTA CGGGGTTCTG GATCAGGCAC TTTACCTTGA GCAAATTAGA 700
 GTGTTCAGG CAGGCGTCAG CCTGAAATAGT CCAGCATGGA ATAATAGAAA 750
 AGGACTGAGA GCCACTGTTG GTGCGTGGCT TTTAGTAATG ATTAATAGGG 800
 ATAGTTGGGG GCATTCGTAT ATAATTGTCA GAGGTGAAA TCTATGATTT 850
 ATTAAGACG AACCTATGCG AAAGCATTTG CCAAGGATGT TTTCAATTAAT 900
 CAAGAACGAA AGTTAAGGGA TCAAAGACGA TCAGATACCG TCGTAGTCTT 950
 AACCATAAAC TATGCCGACT AGAGATTGGA GGAGCAATAA AAAGACTCCT 1000
 TCAGCATCTT CCGAGAAATC AAAGTCTTTG GGTTCCTGGGG GGAGTATGGT 1050
 CGCAAGACTG AAACTTAAAG GAAATTGACGG AAGGGCACC AAGGTTGTGG 1100
 AGCCTGCGGC TTAATTTGAC TCAACACGGG GAAACTTACC AGGTCCAGAC 1150
 ATAGCTAGGA TTGACAGACT GACAGCTCTT TCTTGATTCT ATGGGTGGTG 1200
 GTGCATGGCC GTTCTTAGTT GGTTGGAGTGA TTTGTCTGGT TAAATCCGAT 1250
 AACGAACGAG ACCTCAGCCT GCTAACTAGT CAGATTCCGT CTGGATTCTG 1300
 GACTTCTTAG AGGGACTGTG GGGGCTACTC CACGGAAGTT TGAGGCAATA 1350
 ACAGGTCTGT GATGCCCTTA GATGTCCCTGG GCCGCACGCG CGCTACACTG 1400
 ATGCAGGCAG CAAGCTCCGT GGCAGACATG TCTCGGAAAA CTACAAACTG 1450
 CATCGTGATG GGGATTGACT CTTGGAATTC TTGGTTCATCA ACGAGGAATA 1500
 CCTAGTAAAC GCAAGTCATC AGCTTGCAAT GATTACGTCC CTGCCCTTTG 1550
 TACACACCGC CCGTCGCTCC TACCATTGA GTGGTGCGGT GAACCCFTCC 1600
 GACCGGTTCC CCGGGAAGTT GTGTAAACCT TACCCTTAG AGGAAGGAGA 1650
 AGTCGTAACA AGGTTTCTGT AGGTGAACCT GCAGAAGGAT CATTATCGCA 1700
 CAATTTATTT ATTTATTACC TTTTTTGATA TTAATAAACC TTAAACGGTGGAT 1750
 ATCTCGGCTC TCGTACCGAT GAAGAACGCA GCTAACTGCG AAAAGCACTG 1800
 CGAATTGCAG ACTCTGTGAG TCAGTAGATT TTCGAACGCA CCTCGCACCG 1850

TTTTACGGTA TGCTTGGTTC AGGGCCTCGT TCGCTATAAA CTGCAAGTGT 1900
 AGTACTCTTG CTAAATATTA ACGCTCTTAT CTGGCGGATC AGATTAGAGC 1950
 CCAGCGAGTG CCTGAACTCA AGCAAGGCTA CCCGCTGGGC TTAAGCATAT 2000
 CACTAAGCGG AGGAAAAGAA ACTAACTAGG ATTGCCCCAG TAACGGCGAG 2050
 TGAAGCGGCA ATAGCCCACA CTGAAAATCG CTTGCGCGAA TTGTACAGTG 2100
 AAGACGTCAA CCTCACAGCA TCATGCTCGC GTAACCTACC TGGAACGGTA 2150
 GACCAGAGAG GGTGCTAGTC CCGTGCCGCG AGCGTGTTTC TGACAGGTAG 2200
 CGTTCTAAGA GTCGGGTAGC TTGGGATTGC TGCCCTAATT GGGAGGTAGA 2250
 CTCCCTCCTAA GGCTAAATAT CGACGAGAGA CCGATAGTGC ACAAGTACTG 2300
 TGAAGGAAAAG ATGAAAAGAA CTTTGGAAAAG AGAGTTAAAA GACTTGAAAC 2350
 CGTTAAGGAG GAAGCAGTTC GCCTGGTACA GCCATTACAG AAACCTCTGT 2400
 ACGCAGGAGC TAGAGTGAAT GGTGGAGTCA GTGGTCTGGG AGATACGCCG 2450
 TAGCCTAAAC TGTGTGTTGG GTGGAACGCG TATTGAACAG GCACTGGCGC 2500
 TAGGTGCACT GGCCCGTCTT GAAACACGGA CCAAGGAGTC TAGCCTATGT 2550
 GCAAGTAGAG GGGCTAAACC CCAGATGCGC AACGAAAAGTA ATCTCTGTTT 2600
 CCACAGAGGC CGCAATAGCG AGCTCAGCAG ATAGGCTGGG ACCCGAAAGA 2650
 TGGTGAAC TA TGCTTGGGAA AGGCGAAGCC AGGGGAAACT CTGGTGGAGG 2700
 CTTGTAGAGG TACTGACGTG CAAATCGTTC TTCTGACCTG AGTATAGGGG 2750
 CGAAAGACTT ATCGAACCAT CTAGTAGCTG GTTCCCTCCG AAATTTCCCT 2800
 CAGGATAGCT GGAGCAATTG CAGTTTTACC GGGTAAAGCG AATGATTAGA 2850
 GGTTGCGGGG TTGAAACAAC CTTACCTAT TCTCAAACTT TAAATTTGGTA 2900
 AGGTGATTGA GTTACTTCAG TGAATCATT CTTGAATGCG AGCTCCTAGT 2950
 GGGCCATTTT TGGTAAGCAG AACTGGCAAC GAGGGTTCAA CCTAAGGCGA 3000
 TGTTGAGGCG ACAAATTGAC TGCTCACAGA TGGAAGGTG TTGGTTCATT 3050
 TAGACAGTAG GACGGTGGCC ATGGAAGTCG GAA TCCGCTA AGGAGTGTGT 3100
 AACAACTCAC CTGCCGAAT 3119

5. *Diophrys* sp. 1 (ภาพที่ 46) ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย ความยาว 3,493 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วง ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA GACTAAGCCA 50
 TGCATGTGTA AGTATAAGCG ATATACAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATT A 100
 AAACAGTTAT AGTTTTATTTG ATAATGGAAT TTTATATGGA TAACCGTAGT 150
 AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTCAAGCC TGACTTATCG GAAGGGCTGT 200
 GTTTATTAGA TACAAATCAA TATTCCFTTC GGTCTATTGT ATGATTAAACA 250
 ATAACTGATC GAATCGCATG GGTTTTCCCG CGATAAAATCA TTCAAGTTTC 300
 TGCCCCATCA GCTTGATGGT AGTGTAATTGG ACTACCATGG CTTTCACGGG 350
 TAACGGAGGA TTAGGGTTTCG ATTCCGGAGA GGGAGCCTGA GAAACGGCTA 400
 CCACATCTAA GGAAGGCAGC AGGCGCGTAA ATTACCCAA TACTGACTCAG 450
 TGAGGTAGTG ACAAGAGATA ACAGACCGGA GCTTTTGAC CGGGATTGCA 500
 ATGAGTACAA TTTACAACCC TTAACGAGGA TCAATTGGAG GGCAAGTCTG 550

GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGCGTATA TTAAAGTTGT 600
 TGCAGTTAAA AAGCTCGTAG TTGGATTTCT GAATGGATAC CGATGCCCGC 650
 CTGCTGGCGT GTGCAAAGGT GCCCGTTTCAT CCTTCTGTTA AGGTTTCTTG 700
 GTATTCATTT ACTGGTTTCC GGCTCAGATA TTTTACCCTG AATAAAATTAG 750
 AGTGTTCAG GCAAGCTTGG TCTTGAATAC ATTAGCATGG AATAATAGAA 800
 TAGGACTCTA GATCCTTTGT TGGTTTCTGG ATTTGGAGTA ATGATTAATA 850
 GGGATAGTTG GGGGCATTAG TATTTAATTG TCAGAGGTGA AATTCCTTGA 900
 TTTATAAAGA CTAAC TTATG CGAAAGCATT TGCCAAGGAT GTTTTCATTA 950
 ATCAAGAACG AAAGTTAGGG GATCGAAGAC GATCAGATAC CGTCGTAGTC 1000
 TTAACCATAA ACTATGCCGA CTAGGGATCG GAGGCGAATA GTTCGCCTTC 1050
 GGCACCTTAT GAGAAATCAA AGTCTTTGGG TTCTGGGGGG AGTATGGTCC 1100
 CAAGGCTGAA ACTTAAAGGA ATTGACGGAA GGGCACCACC AGGAGTGGAG 1150
 CTTGCGGCTT AATTTGACTC AACGCGGGGA AACTTACCAG GTCCAGACAT 1200
 AGTGAGGATT GACAGATTGA TAGCTCTTTC TTGATTCTAT GGGTGGTGGT 1250
 GCATGGCCGT TCTTAGTTGG TGGAGTGATT TGTCTGGTTA ATTCCGTTAA 1300
 CGAACGAGAC CTTAGCCTGC TAACTAGCTG CTGTCCTACC TAGGGCTGCT 1350
 AGCTTCTTAG AGGGACTTTG TGCAAAACAC AAGGAAGTTT GAGGCAATAA 1400
 CAGGTCTGTG ATGCCCTTAG ATGTCCTGGG CCGCACGCGT GCTACACTGA 1450
 CGCATACAAC GAGCATTTCC TGTTCGCGA GGCTACAGGT AATCTATAAT 1500
 ATGCGTCGTG ATGGGGATAG ATCTTTGGAA TTGTAGATCT TGAACGAGGA 1550
 ATTCCTAGTA AGCGCAAGTC ATCATCTTGC GCTGATTAAG TCCCTGCCCT 1600
 TTGTACACAC CGCCCGTCGC TCCTACCGAT TTCGAGTGAT CCGGTGAACT 1650
 CCTCGGACTG CTTTAGCAAT AGAGCGGAAA GTTGAGTGAA CCTTATCACT 1700
 TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA ACAAGGTTTC CGTAGGTGAA CCTGCGGAAG 1750
 GATCATTAAAC ACATCCAAAA AACCTTAACC TGCCTTATTA GCTTGGGTTG 1800
 CTTTGCACCT GAGCTCTTAA ACCTAAACTT AAGAAAGTAA CTAAGCTTTT 1850
 ACCAAGATAA ATTCTCAACG GTGGATGTCT TGGCTCCCAT AACGATGAAA 1900
 GACGCAGCTA AGTGCATAA GCAATGCGAA TTGCAGAACC ATGAATCATT 1950
 AGAATTTTGA ACGCATCCGG CACCGGTTGG CTCTCCGATC GGTATGTTTG 2000
 TTTTCTGTC TATTA AAAACA ATGACCTAAA CCTTAATGCA AAGGATGCC 2050
 TTCTTTGTT AAGTCAGAAA ACGCACTGAA TCTGCGAGCA TCTTCGGATG 2100
 CACTCAATGC AGCAGTCACA CTTTGTGTGA ACTCATTGGG AGTGGGTTCA 2150
 GAAGTCGAAA GACGTTGCGT TTAGCACGAA GAACTTCTT GTATCTGAAA 2200
 TCAAGCAAGA GTACCCCTG AACCTAAGCA TATCACTAAG GGGAGGAGAA 2250
 GAAAAAATACT ATGATTCCTT CAGTAAAGGC GATTGAAGCG GGAATAGCCC 2300
 AAAGTGGTAA TCTCCGTCCT CCGGACGGCG AATTGTAATC TAAATGCTCG 2350
 ATCCAGACGG GTGAAGCGGA AGCGTAAATT CCATTGAATG GGATGCCAAA 2400
 GAAGGTGAAA GCCCTGTATG GCTTCTGCTT TGCCTCGAGG ATGGGTAGAC 2450
 GAGTCGGGTA GTTTGGAACT GCTGCCCTAA TTGGGAGATA AACTTCTTCT 2500
 AAGGCTAAAT ACTTATGGGA GACCGATAGC GAACAAGTAC TGTGAAGGAA 2550

AGATGAAAAG AACTTTGAAA AGAGAGTTAA CAGACCTGAA ACCGTTGAGG 2600
 AGGAAGCTGT AAAAAATTAT TATATGCTGA GATCTATAGG AAGCGGCCAA 2650
 ATCATCAACC TTAAAGGCAC TGTCAAAAAG CTGGAGGGAA GTATGAGGAA 2700
 GCTGCTCTGC GGATTTTCAGC GTTAGGCAAA ATGAGGTTGC GCAGTTACAA 2750
 ACGCTTGGCG TCCTGCAAGC TTGCTTCAGT TCGTCTTTGC CGTAACTGCA 2800
 AAGCCTGAGG GGCTACGGCG ATTTTGCCAA AATGATTTTT ACCGACCCGT 2850
 CTTGAAACAC GGACCAAGGA GTCTAACATA TATGCGAGTT TGGTGGTGGAA 2900
 GAAACCAACA AGCGCAATGA AAGTAAGTGA TGCCAACCGC AAGGTGCAGC 2950
 ATCAACCGAC CATGATTCTA CGAAGAAAAG TTTGAGTATG AGCGTATCTG 3000
 TTAGGACCCG AAAGATGGTG AACTTTGCCT GAGTAGGGTG AAGCCAGGGG 3050
 AAACCTCTGGT GGAAGCTCGT AGCGATACTG ACGTGCAAAAT CGTTCGTCGA 3100
 ACTTGGGTAA AGGGGCGAAA GACTAATCGA ACCATCTAGT AGCTGGTTCC 3150
 CTCCGAAGTT TCCCTCAGGA TAGCTGGGAC AATCATGCAG TTTTATTAGG 3200
 TAAAGCGAAT GATTAGAGGC ATCTGGGATG TAATGTCCTA GACCTATTCT 3250
 CAAACTTTAA ATTGGTAAGA ACCTTGGGCT TCTTAAGTGA GCTCCAGGGG 3300
 TGGAATGCAT GTCCCAAGTG GGCCATTTTT GGTAAGCAGA ACTGGCGATG 3350
 AGGGATGAAC CTAACGCTAA GTTAAGGTGC CCAACTACAC GCTCATCAGA 3400
 CACCACAAA GGTGTTGATT CATTTAGACA GCAGGACGGT GACCATGGAA 3450
 GTCGGGACCC GCTAAGGAGT GTGTAACAAC TCACCTGCCG AAT 3493

6. *Diophrys* sp. 2 (ภาพที่ 47) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(4-1), (4-2) และ 3(5-4) แต่ละสายมีความยาว 3,499, 3,500 และ 3,501 คู่เบส ตามลำดับ [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็น ดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (4-1)	ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT <u>AGTCATATGC</u> TTGTCTCAA GACTAAGCCA	50
2 (4-2) <u>.....</u>	50
3 (5-4) <u>.....</u>	50
1 (4-1)	TGCATGTGTA AGTATAAGCG ATATACAGTG AAACCTGCGAA TGGCTCATTA	100
2 (4-2) <u>.....</u>	100
3 (5-4) <u>.....</u>	100
1 (4-1)	AAACAGTTAT AGTTTATTTG ATAATGGAAT TTTATATGGA TAACCGTAGT	150
2 (4-2) <u>.....</u>	150
3 (5-4) <u>.....</u>	150

1 (4-1)	GCTTGGGCT TAATTTGACT CAACGCGGGG AAACCTACCA GGTCAGACA	1200
2 (4-2)C.....	1200
3 (5-4)	1200
1 (4-1)	TAGTGAGGAT TGACAGATTG ATAGCTCTTT CTTGATTCTA TGGGTGGTGG	1250
2 (4-2)	1250
3 (5-4)	1250
1 (4-1)	TGCATGGCCG TTCTTAGTTG GTGGAGTGAT TTGTCAGGTT AATTCCGTTA	1300
2 (4-2)C.....	1300
3 (5-4)	1300
1 (4-1)	ACGAACGAGA CCTTAGCCTG CTAAGTAGTT TCTAGTCCTA CCTAGGGCAA	1350
2 (4-2)	1350
3 (5-4)	1350
1 (4-1)	GAACTTCTTA GAGGGACTTT GTGCAAAACA CAAGGAAGTT TGAGGCAATA	1400
2 (4-2)	1400
3 (5-4)	1400
1 (4-1)	ACAGGTCTGT GATGCCCTTA GATGTCCTGG GCCGCACGCG TGCTACACTG	1450
2 (4-2)	1450
3 (5-4)	1450
1 (4-1)	ACGCATACAA CGAGTATTC TGTTCCGAAA GGCTACAGGT AATCTATAAT	1500
2 (4-2)	1500
3 (5-4)	1500
1 (4-1)	ATGCGTCGTG ATGGGGATAG ATCTTTGGAA TTGTAGATCT TGTACGAGGA	1550
2 (4-2)A.....	1550
3 (5-4)T...A.....	1550
1 (4-1)	ATTCCTAGTA AGCGCAAGTC ATCATCTTGC GCTGATTAAG TCCCTGCCCT	1600
2 (4-2)A.....	1600
3 (5-4)	1600
1 (4-1)	TTGTACACAC CGCCCGTCGC TCCTACCGAT TTCGAGTGAT CCGGTGAACC	1650
2 (4-2)	1650
3 (5-4)	1650

1 (4-1)	TCTTGGACCG CGCTAGCAAT AGCGCGGG-A AGTTAGGTAA ACCTTATCAC	1699
2 (4-2) -	1699
3 (5-4) :...G.W..M.	1700
1 (4-1)	TT-AGAGGAA GGAGAAGTCG TAACAAGGTT TCCGTAGGTG AACCTGCGGA	1748
2 (4-2)	1748
3 (5-4)	..T..... ..RR..R.....	1750
1 (4-1)	AGGATCATT A CCGTATCCAA AAAACCTTAA CCTGCCTTAC TAGCTTGGGT	1798
2 (4-2) T.A.....	1798
3 (5-4)	1800
1 (4-1)	TGCATTTGCA CCTGAGCTCT TAAACGTAAA CGCTGGAATG TAACTAAGTT	1848
2 (4-2)C.....	1848
3 (5-4)S.....	1850
1 (4-1)	TTTACCGAGA CTAAATTCCT AACGGTGGAT GTCTTGGCTC CCATAACGAT	1898
2 (4-2)	1898
3 (5-4)	1900
1 (4-1)	GAAAGACGCA GCGAAGTGC AATAAGCAATG CGAATTGCAG AACCATGAAT	1948
2 (4-2)	1948
3 (5-4)	1950
1 (4-1)	CATTAGAGTT TTGAACGCAA TCGGCACCGG TTGGCTATCC GATCGGTATG	1998
2 (4-2) T C... T..... A.....	1998
3 (5-4)	2000
1 (4-1)	CTTGTTTCAG TGTCTACTAA AACCAATGACC TATACCTTAA TGCGAGGGAT	2048
2 (4-2)	2048
3 (5-4)	2050
1 (4-1)	ACCCTTCCCT TGATAAGTCA GAAAACGCAC TGAATCTGCG AGCGATACTT	2098
2 (4-2)	2098
3 (5-4)	2100
1 (4-1)	CGGTGTCGCA CTCAATGCAG CAGTCACTCT CTGAGTGAAC TCATTGAGAG	2148
2 (4-2)	2148
3 (5-4)	2150

1 (4-1)	CTTATTCAGC AGTCGAAAGA CTATGCGTTT AGAAAAGTTA ACTTTCCTGT	2198
2 (4-2)	2198
3 (5-4)	2200
1 (4-1)	ATCTGAAATC AAGCAAGACT ACCCCCTGAA CTTAAGCATA TCACTAAGGG	2248
2 (4-2)	2248
3 (5-4)	2250
1 (4-1)	GAGGAAAAGA AAATAACAAT GATTGCCTCA GTAACGGCGA GTGAAGCGGC	2298
2 (4-2)	2298
3 (5-4)	2300
1 (4-1)	AAGAGCCCAA GCTGGTAATC TCTGGCCTTC GGTCAGCGAA TTGTAATCTA	2348
2 (4-2)A.....	2348
3 (5-4)	2350
1 (4-1)	GAGGCCTGGT CCACACAGTT AAGGCGGAGG CATAAATTCC CTGGAA-GGG	2397
2 (4-2)A.....A...	2398
3 (5-4)G.....A...	2400
1 (4-1)	GAGCCACAGA AGGTGAAAGC CCTGTATAGC CTCTGCTGAA GCTCGAGGAC	2447
2 (4-2)	2448
3 (5-4)	2450
1 (4-1)	GGGTTGAAGA GTCGGGTAGT TTGGAAGTGC TGCCCTAAAT GGGAGATAAA	2497
2 (4-2)T.....A.....T.....	2498
3 (5-4)	2500
1 (4-1)	CTTCTTCTAA GGCTAAATAC TTATGGGAGA CCGATAGCGA ACAAGTACTG	2547
2 (4-2)	2548
3 (5-4)	2550
1 (4-1)	TGAAGGAAAG ATGAAAAGAA CTTTGAAAAG AGAGTTAACA GACCTGAAAC	2597
2 (4-2)	2598
3 (5-4)	2600
1 (4-1)	CGTTGAGGAG GAAGCTGTAA AAATTTATTA TTCGGCGAGG TTTAGAGGAA	2647
2 (4-2)T.....	2648
3 (5-4)	2650

1 (4-1)	GTGGCCAAAT CGTCTACTGC AACGGCACTG TAAAAAGGCC GGAAGGAAAG	2697
2 (4-2)	2698
3 (5-4)	2700
1 (4-1)	TACGAGGAAG CTGCTCTGCG AACTTCGTGG ATAAGCAAAA TGAGGTTGAG	2747
2 (4-2) T.....	2748
3 (5-4)	2750
1 (4-1)	CAGTCACAAA CGCTTAGTGT TTCACGGCTT CGGTCTGATT CATTGATGTC	2797
2 (4-2) TT..... GG.....	2798
3 (5-4) K.....	2800
1 (4-1)	GTGACTGCAA GGCCCTGAGGG GCTACGGCGA TTTTGCTAAA ATGATTTTTA	2847
2 (4-2)	2848
3 (5-4)	2850
1 (4-1)	CTGACCCGTC TTGAAACACG GACCAAGGAG TCTAACATAT ATGCGAGTTT	2897
2 (4-2)	.C.....	2898
3 (5-4)	.C.....	2900
1 (4-1)	GGTGGTGGAA AAACCAACAA GCGCAATGAA AGTAAGAGAT GCCAACCPCA	2947
2 (4-2) A.....	2948
3 (5-4)	2950
1 (4-1)	AGGTGCAGCA TCGGCCGACC ATGATTCTCC GAAGAAAGGT TTGAGTAAGA	2997
2 (4-2)	2998
3 (5-4)	3000
1 (4-1)	GCATATCTGT TAGGACCCGA AAGATGGTGA ACTATGCCTG AGTAGGGTGA	3047
2 (4-2)	3048
3 (5-4)	3050
1 (4-1)	AGCCAGGGGA AACTCTGGTG GAGGCTCGTA GCGATACTGA CGTGCAAATC	3097
2 (4-2)	3098
3 (5-4)	3100
1 (4-1)	GTTTCGTCAAA CTTGGGTATA GGGCGAAAG ACTAATCGAA CCATCTAGTA	3147
2 (4-2)	3148
3 (5-4)	3150

1 (4-1)	GCTGGTTCCC TCCGAAGTTT CCCTCAGGAT AGCTGGGACA AACATGCAGT	3197
2 (4-2)	3198
3 (5-4)	3200
1 (4-1)	TTTATTAGGT AAAGCGAATG ATTAGAGGCA TCTGGGATGC AATGTTCTAG	3247
2 (4-2)C.....	3248
3 (5-4)	3250
1 (4-1)	ACCTATTCTC AAACTTTAAA TTGGTAAGAA CCTTGGGCTT CTTAAGTGAG	3297
2 (4-2)C...	3298
3 (5-4)	3300
1 (4-1)	CTCCAGGGGA AGAATGCATG TCCCAAGTGG GCCATTTTTG GTAAGCAGAA	3347
2 (4-2)	3348
3 (5-4)	3350
1 (4-1)	CTGGCGATGA GGGATGAACC TAACGCTAAG TTAAGGTGCC CAACTGCACG	3397
2 (4-2)	3398
3 (5-4)	3400
1 (4-1)	CTCATCAGAT ACCACAAAGG GTGTTGATTC GTTTAGACAG CAGGACGGTG	3447
2 (4-2)A.....	3448
3 (5-4)A.....	3450
1 (4-1)	ACCATGGAAG TCGGGATCCG CTAAGGAGTG TGTAACAACCT CACCTGCCGA	3497
2 (4-2)C.....	3498
3 (5-4)	3500
1 (4-1)	AT	3499
2 (4-2)	..	3500
3 (5-4)	..	3502

7. *Euplotes quinquecarinatus* (ภาพที่ 41) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 2 สาย ได้แก่ 1(1-5) และ 2(1-6) แต่ละสายมีความยาว 3,615 และ 3,627 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (1-5)	<u>ACCTGGTTGA</u> TCCTGCCAGT AGTCATACGC TTGTCTCAA GATTAAGCCA	50
2 (1-6)	50
1 (1-5)	TGCATGTCTA AGTATAAAGG TTACATACAA TGAAACTGCG AATGGCTCAT	100
2 (1-6)	100
1 (1-5)	TCAAACAGTT ATAGTTTATT TGGATTAAAA CATTGTGTTA AATGGATAAC	150
2 (1-6)	150
1 (1-5)	CGTAGTAATT CTAGGGCTAA TACATGCGTT ACGAGGGACT TTACGGAACC	200
2 (1-6)	200
1 (1-5)	TCAGTATTTA TTAGATTTCA AACCAATATT CCGCAAGGTC TACTGAGATG	250
2 (1-6)	250
1 (1-5)	ATTCATGATA ACTTATCGGA TTGCTGGTCT TCCGACAATG AACCATTCAT	300
2 (1-6)G.....	300
1 (1-5)	GTTTCTGCTT CCCATCAGCT TGATGGTAGT GTATTGGACA ACCATGGCAT	350
2 (1-6)	350
1 (1-5)	TCACGGGCTA TCGGGGGATT AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA	400
2 (1-6)C.....	400
1 (1-5)	AACGGCTACC ACTTCTACGG AAGGCAGCAG GCGCGAAAAAT TATCCAATCC	450
2 (1-6)	450
1 (1-5)	TGATTCAGGG AGGTAGTGAA AGAAATAATG AACTAGGATT TATCCTGGGG	500
2 (1-6)	500
1 (1-5)	TCACAATGGG CTTGATTTGC AAACTTTCTA GCGAGGAACA ATTGGAGGGC	550
2 (1-6)	550
1 (1-5)	AAGTCTGGTG CCAGCAGCCG CGGTAAATTC AGCTCCAATA GTGTATATTA	600
2 (1-6)	600

1 (1-5)	AAACTCAGCC AGTGCTCCAC GTGAGTAAAG CGAACAAAAC TTTATTACTT	1950
2 (1-6)	1950
1 (1-5)	CTCAAACGCT TGGGTTTGTG CAGTAAAACT TAACATCCTA AAATTTTCAA	2000
2 (1-6)	2000
1 (1-5)	CGGTGGATGT CTTGGCTCTC ATATCGATGA AGAGCGCAGC AAAGTGGAT	2050
2 (1-6)C.....A.....	2050
1 (1-5)	AAGCAATGCG AATTGCAGGC CGTGAGTCAT TAGAATTTTCG AAAGCAACTT	2100
2 (1-6)	2100
1 (1-5)	GCGCCTCCGC CTGGCGAGAG GCATGTTTGC TTCAGTGTAT CTTTAACAAC	2150
2 (1-6)	2150
1 (1-5)	AATTAAAGAC AACTAACCAA ATCATGAAGT GAGTGAGCTG TAAAGCTCTC	2200
2 (1-6)	2200
1 (1-5)	G TTCACAACG TATGCAAGTA GCTGTATTTA CATTACTCAT TAACCCGATC	2250
2 (1-6)	2250
1 (1-5)	ACCTTGTGTG AACTTGGTCT AATAGAGGGT AACTGCAGGA GTTCTACTCG	2300
2 (1-6)	2300
1 (1-5)	ACTACTTGTG AGTTAGTAAA CTAAAAATATC ATATCTGAAG TCAAGCAAGA	2350
2 (1-6)	2350
1 (1-5)	GCACGCCTG AACTTAAGCA TATCACTAAG CGCAGGTAAA AGAAAAAATC	2400
2 (1-6)	2400
1 (1-5)	TATGATTGCC TCAGTAACGG CGAGTGAACC GGCAATAGCC CAAGATGAGA	2450
2 (1-6)	2450
1 (1-5)	ACCGCTGCTC TGCGAGCACG CGGGTTGTAA TCTAAAGAGG GGTCTGCTGAC	2500
2 (1-6)	2500
1 (1-5)	AGGTTCTTCT GACGCCCAAG TGTCTTGGAA TAGACCGCCA GGGAGGGTGA	2550
2 (1-6)	2550

1 (1-5)	GCAAATCGTT CGTCAAAC TT GAGTGTAGGG GCGAAAGACT AATCGAACCA	3250
2 (1-6)	3250
1 (1-5)	TCTAGTAGCT GGTTCCCTCC GAAGTTTCTC TCAGGATAGC AAGGACAGTT	3300
2 (1-6)	3300
1 (1-5)	AAAGCAGTTT TTATTTCAAT TAGGTAAAAGA ATAAATGATT AGAAGCATCT	3350
2 (1-6)	3350
1 (1-5)	GGGGCGTTT TAGTGTTC TC GACTTAGTTC TCAAAC TCTA AATATTTGTA	3400
2 (1-6)	3400
1 (1-5)	ATAACTCGGT ATTCCCTAAC TGAAGATCGA GGCAGAATGC TTGTCCCTTAG	3450
2 (1-6)	3450
1 (1-5)	TGGGCCATTT TTGGTAAGCA GAACTGGCGA TGAGGGATGA ACCTAACTCT	3500
2 (1-6)	3500
1 (1-5)	GGGTTAAGGT GCCCAACTGC ACGCGCATCA GATACCTCAA AGGGTGTT	3550
2 (1-6)	3550
1 (1-5)	GATTCATTTA GACAGCAGGA CGGTGGCCAT GGAAGTCGGA ATCCGCTAAG	3600
2 (1-6)	3600
1 (1-5)	GAGTGTGTAA CAACT----- 3615	
2 (1-6)CACCT GCCGAAT 3627	

8. *Euplotes rariseta* (ภาพที่ 42) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(3-1), 2(3-2), และ 3(3-3) แต่ละสายมีความยาว 3,620 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (3-1)	ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATACGC TTGTCTCAA GATTAAGCCA	50
2 (3-2)	50
3 (3-3)	50
1 (3-1)	TGCATGTCTA AGTATAAAGG TTACATACAA TGAAACTGCG AATGGCTCAT	100
2 (3-2)	100
3 (3-3)	100

1 (3-1)	TCAAACAGTT ATAGTTTATT TGATATTCAA ACTTATATTT ATATTAGTTT	150
2 (3-2)	150
3 (3-3)	150
1 (3-1)	AAATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCGT TACGGGGGAC	200
2 (3-2)G.	200
3 (3-3)	200
1 (3-1)	TTTATGGAAC CTCAGTATTT ATTAGATTTT AAAACCAATA TTCCGCAAGG	250
2 (3-2)	250
3 (3-3)	250
1 (3-1)	TCTACTGAGA TGATTCATGA TAACTGATCG AATTGCTGGG TCTACCGGCA	300
2 (3-2)	300
3 (3-3)	300
1 (3-1)	ATAAATCATT CATGTTTCTG CTTCCCATCA GCTTGATGGT AGTGTATTGG	350
2 (3-2)	350
3 (3-3)	350
1 (3-1)	ACAACCATGG CATTACCGGG CTATCGGGGG ATTAGGGTTC GATTCCGGAG	400
2 (3-2)	400
3 (3-3)	400
1 (3-1)	AGGGAGCCTG AGAAACGGCT ACCACTTCTA CGGAAGGCAG CAGGCGCGAA	450
2 (3-2)	450
3 (3-3)	450
1 (3-1)	AATTATCCAA TCCTGATTCA GGGAGGTAGT GAAAGATATA ATGAACTAGG	500
2 (3-2)	500
3 (3-3)	500
1 (3-1)	ATTTATCCTG GGATCACAAT GGGCTTGATT TGCAAACTTT ATTTAGCGAG	550
2 (3-2)	550
3 (3-3)	550
1 (3-1)	GAACAATTGG AGGGCAAGTC TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC	600
2 (3-2)	600
3 (3-3)	600

1 (3-1)	CAATAGTGTA TATTAATGTT CCTGCAGTTA TTCGATGCTC GTAGTTGGAT	650
2 (3-2)	650
3 (3-3)C.....	650
1 (3-1)	TTCTGGAGGT TGAGGCAGGA GGGTGGCTAT GGTCACCGCC AGCCTTTTCC	700
2 (3-2)	700
3 (3-3)	700
1 (3-1)	TTCATCCACC TGTTAACCGT GCCCGGGATT CATTCTCGG CTTGGGGCTC	750
2 (3-2)T.....	750
3 (3-3)T.....	750
1 (3-1)	AGGTATTTTA CCCTTTCTAT ATATTCATTT ATTTATCTCT CTTTTTGAGC	800
2 (3-2)	800
3 (3-3)	800
1 (3-1)	AAATTATAGT GTTTCAGGCA GGCGTGCGCC GGAATACCTT AGCATGGAAT	850
2 (3-2)	850
3 (3-3)	850
1 (3-1)	AATCGAACTG GACCGTGTAT TCATCATTG AATTCTTCCT TATTTGTTGG	900
2 (3-2)	900
3 (3-3)	900
1 (3-1)	TTCTAAGGAC ACGGATATGG TTAATAGGGA TAGTAATTTT CAGGGGAGGC	950
2 (3-2)	950
3 (3-3)	950
1 (3-1)	ATTAGTATTT AATTTCCAGA GGTGAAATTC TTTGAAATAT TAAAGACTAA	1000
2 (3-2)	1000
3 (3-3)	1000
1 (3-1)	CCTATGCGAA AGCATTATTT TTGCCAATAA TGTTTTCATT AATCATTGAA	1050
2 (3-2)	1050
3 (3-3)	1050
1 (3-1)	CGAAAGTTAG GGGATCAAAG ACGATCAGAT ACCGTCCTAG TCTTAACCAT	1100
2 (3-2)	1100
3 (3-3)	1100

1 (3-1)	AAACGTTGCC GACTAGGGAT CGGAGGGCGT GCACATTCCG CCTTCGGCAC	1150
2 (3-2)	1150
3 (3-3)	1150
1 (3-1)	CTTACGAGAA ATCAAAGTCT TTTGGGTTCT GGGGGTAGTA TGGTCGCAAG	1200
2 (3-2)	1200
3 (3-3)	1200
1 (3-1)	GCTGAAACTT AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACCAGGA GTGGAGCTTG	1250
2 (3-2)	1250
3 (3-3)	1250
1 (3-1)	CGGCTCAATT TGACTCAACA CGGGAAATCT TACCAGGTCC AGACATAGCG	1300
2 (3-2)	1300
3 (3-3)	1300
1 (3-1)	AGGATTGACA GATTGATAGC TCTTCTTGA TTCTATGGGT ATTTTTGGTG	1350
2 (3-2)	1350
3 (3-3)	1350
1 (3-1)	GTGCATGGCC GTTCTTAGTT GGTGGAGTGA TTTGTCTGGT TAATTCCGTT	1400
2 (3-2)	1400
3 (3-3)	1400
1 (3-1)	AAACGAACGA GACCTCAGCC TGCTAAATAG TTACCTGTCT TTCTTTTACG	1450
2 (3-2)	1450
3 (3-3)	1450
1 (3-1)	AGACGTGCTG ACTTCTTAGA GGGACGTTGT GTGCAACCAC AAGGAAGTTG	1500
2 (3-2)A	1500
3 (3-3)A	1500
1 (3-1)	AGGCAATAAC AGGTCTGTGA TGCCCTTAGA TGTCCCTGGGCGCACGCGTG	1550
2 (3-2)	1550
3 (3-3)	1550
1 (3-1)	CTACACTGAT ACGTACAACG AGGTATATGT ACTTGACAT CAATGCTGCT	1600
2 (3-2)	1600
3 (3-3)	1600

1 (3-1)	CCGAAATAGA CAAAGCTAAA TCTTCTAAAA TACGTATCGT GCTGCGGATA	1650
2 (3-2)G.....	1650
3 (3-3)	1650
1 (3-1)	GATCGTTGAA ATTATGAATC TTGAAGGTGG AATTCCTAGT AAGCGCGAGT	1700
2 (3-2)	1700
3 (3-3)	1700
1 (3-1)	CATTAACTCG CGTTGATTAC GTCCCTGCC TTTGTACACA CCGCCCGTCG	1750
2 (3-2)	1750
3 (3-3)	1750
1 (3-1)	CTCCTACCAA TTTCGAGTGG CTCGGTGAAC CTCTTTGGAC TGTGAGCAA	1800
2 (3-2)	1800
3 (3-3)	1800
1 (3-1)	TCGCGAAATT AGAGTGAACC TGGTCACTTA GAGGAAGGAG AAGTCGTAAC	1850
2 (3-2)	1850
3 (3-3)	1850
1 (3-1)	AAGGTTTCCG TAGGTGAACC TCGGAAGGA TCAATCATAA ACTATACTAA	1900
2 (3-2)	1900
3 (3-3)	1900
1 (3-1)	CCTAAACTCA GCCAGTGCTC CACGTGAGTA AAGCGAACAA AACTTTTACT	1950
2 (3-2)	1950
3 (3-3)	1950
1 (3-1)	TCTCAGCTTC GGCTGCAGCA GTAAGACTTA AAGTCAAAAC TTTAAAATTT	2000
2 (3-2)C.....	2000
3 (3-3)	2000
1 (3-1)	TCAACGGTGG ATGTCTTGGC TCTCATATCG ATGAAGAACG CAGCAAAGTG	2050
2 (3-2)	2050
3 (3-3)	2050
1 (3-1)	CGATAAGCAA TGCGAATTGC AGGCCGTGAG TCATTAGAAT TTCGAAAGCA	2100
2 (3-2)	2100
3 (3-3)	2100

1 (3-1)	CGAGCGTATC TGTTAGGACC CGAAAGATGG TGAAC TACGC TTGAGTAGGG	3150
2 (3-2)	3150
3 (3-3)	3150
1 (3-1)	TGAAGCCAGG GGAAACTCTT GTGGAAGCCC GAAGCGGTAC TGACGTGCAA	3200
2 (3-2)	3200
3 (3-3)	3200
1 (3-1)	ATCGTTCGTC AAAC TTGAGT GTAGGGGCGA AAGACTAATC GAACCATCTA	3250
2 (3-2)	3250
3 (3-3)	3250
1 (3-1)	GTAGCTGGTT CCCTCCGAAG TTTCTCTCAG GATAGCAAGG ACAGTTAAAG	3300
2 (3-2)	3300
3 (3-3)	3300
1 (3-1)	CAGTTTTTAT CAATTAGGTA AAGAA TAAAT GATTAGAAGA TCCGGGAGTT	3350
2 (3-2)	3350
3 (3-3)	3350
1 (3-1)	TTATAGTGTT CTCGACTTAG TTCTCAAAC TAAATATTT GTAATAACTC	3400
2 (3-2)	3400
3 (3-3)	3400
1 (3-1)	GATATTCCTT AACTGAAGAT CGAGGTAGAA TGCTTGTCC TTAGTGGGCCA	3450
2 (3-2)	3450
3 (3-3)	3450
1 (3-1)	TTTTTGGTAA GCAGA ACTGG CGATGAGGGA TGAACCTAAC TCCGAGTTAA	3500
2 (3-2)	3500
3 (3-3)	3500
1 (3-1)	GGTGCCCAAC TGCACGCGCA TCAGATACCT TAAAGGGTGT GTTGATTCAT	3550
2 (3-2)	3550
3 (3-3)	3550
1 (3-1)	TTAGACAGCA GGACGGTGGC CATGGAAGTT GGAACCCGCT AAGGAGTGTG	3600
2 (3-2)	3600
3 (3-3)	3600

1 (3-1) TAACAAC TCA CCTGCCGAAT 3620
 2 (3-2) 3620
 3 (3-3) 3620

9. *Euplotes vannus* (ภาพที่ 43) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(1-4), 2(1-5), และ 3(1-6) แต่ละสายมีความยาว 3,636, 3,654 และ 3,654 คู่เบส ตามลำดับ [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (1-4) ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATACGC TTGTCTCAA GATTAAGCCA 50
 2 (1-5) 50
 3 (1-6) 50

1 (1-4) TGCATGTCTA AGTACAAAGG TTACATACAA TGAAACTGCG AATGGCTCAT 100
 2 (1-5) T 100
 3 (1-6) T G 100

1 (1-4) TCAAACAGTT ATAGTTTATT TGGATTAAAA ACATTTGTTA AATGGATAAC 150
 2 (1-5) 150
 3 (1-6) 150

1 (1-4) CGTAGTAATT CTAGGGCTAA TACATGCGTT ACGGGGGACT TTTCGGAACC 200
 2 (1-5) 200
 3 (1-6) 200

1 (1-4) CCAGTATTTA TTAGATTCAA ACCAATATTC CGCAAGGTCT ACTTGAGATG 250
 2 (1-5) 250
 3 (1-6) 250

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

1 (1-4) GTTTCTGCTT CCCATCAGCT TGATGGTAGT GTATTGGACA ACCATGGCAT 350
 2 (1-5) 350
 3 (1-6) 350

1 (1-4) TCACGGGCTA TCGGGGGATT AGGGTTCGAT TCCGGAGAGG GAGCCTGAGA 400
 2 (1-5) 400
 3 (1-6) 400

1 (1-4)	AACGGCTACC ACTTCTACGG AAGGCAGCAG GCGCGAAAAAT TATCCAATCC	450
2 (1-5)	450
3 (1-6)	450
1 (1-4)	TGATTCAGGG AGGTAGTGAA AGAAATAATG AACTAGGATT TATCCTGGGG	500
2 (1-5)	500
3 (1-6)	500
1 (1-4)	TCACAATGGG CTTGATTTGC AAACTTTATT TAGCGAGGAA CAATTGGAGG	550
2 (1-5)	550
3 (1-6)	550
1 (1-4)	GCAAGTCTGG TGCCAGCAGC CGCGGTAATT CTAGCTCCAA TAGTGATAT	600
2 (1-5)C.....	600
3 (1-6)C.....	600
1 (1-4)	TAATGTTCCCT GCAGTTATTC GATGCTCGTA GTTGGATTTC TGGAGGCTGA	650
2 (1-5)	650
3 (1-6)	650
1 (1-4)	GATCGGAGGG TAGCCAAGGT TACCGCTGAA CTCTTCCTTC ATCCACCTGT	700
2 (1-5)	700
3 (1-6)	700
1 (1-4)	TAACGTTGTC CGGGATTTCGT TTCTCGGCTT CGGGCTCAGG CATATACTTT	750
2 (1-5) T.....	750
3 (1-6)	750
1 (1-4)	ATTTTTTTTA CCCTTCTAT ATTTATTTTT TTTGAGTAAA TTATAGTGT	800
2 (1-5)	800
3 (1-6)	800
1 (1-4)	TCAGGCAGGC GTGCGCCGGA ATACTTTAGC ATGGAATAAT CGAATTGGAC	850
2 (1-5)	850
3 (1-6)	850
1 (1-4)	CGTGTATTCT TATTGAATTC TTCCTTATTG TTGGTTTCAA GGACACGGAA	900
2 (1-5)	900
3 (1-6)	900

1 (1-4)	ATGGTTAATA GGGATAGTGT TTTTTTATTA TCAGGGGAGG CATTAGTATT	950
2 (1-5)	950
3 (1-6)	950
1 (1-4)	TAATTTCCAG AGGTGAAATT CTTTGAAATA TTAAAGACTA ACTTATGCGA	1000
2 (1-5)	1000
3 (1-6)	1000
1 (1-4)	AAGCATTAT TTTTGCCAAT AATGTTTTCA TTAATCATTG AACGAAAGTT	1050
2 (1-5)	1050
3 (1-6)	1050
1 (1-4)	AGGGGATCAA AGACGATCAG ATACCGTCCT AGTCTTAACC ATAAACGTTG	1100
2 (1-5)	1100
3 (1-6)	1100
1 (1-4)	CCGACTAGGG ATCGGAGGGC GTGCACATTC CGCCTTCGGC ACCTTACGAG	1150
2 (1-5)	1150
3 (1-6)	1150
1 (1-4)	AAATCAAAGT CTTTTGGGTT CTGGGGGTAG TATGGTCGCA AGGCTGAAAC	1200
2 (1-5)	1200
3 (1-6)	1200
1 (1-4)	TTAAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACCAG GAGTGGAGCT TGCGGCTCAA	1250
2 (1-5)	1250
3 (1-6)	1250
1 (1-4)	TTTGACTCAA CACGGGAAAT CTTACCAGGT CCAGACATAG CGAGGATTGA	1300
2 (1-5)	1300
3 (1-6)	1300
1 (1-4)	CAGATTGATA GCTCTTCTT GATTCTATGG GTATTTATAA TTTTGTGG	1350
2 (1-5)	1350
3 (1-6)	1350
1 (1-4)	TGGTGCATGG CCGTTCCTAG TTGGTGGAGT GATTTGTCTG GTTAATCCG	1400
2 (1-5)	1400
3 (1-6)	1400

1 (1-4)	CTATACAACC TAAACTCAGC CAGTGCTCCA CGTGAGTAAA GCGAACAAAA	1950
2 (1-5)	1950
3 (1-6)	1950
1 (1-4)	ATAACTCTCT ACTTATTAAA CGCTCGCGTT TGATTAGTAG ACTTGACATC	2000
2 (1-5)	2000
3 (1-6)	2000
1 (1-4)	ATAAGATAAA ATTTTCAACG GTGGATGTCT TGGCTCTCAT ATCGATGAAG	2050
2 (1-5)	2050
3 (1-6)	2050
1 (1-4)	AACGCAGCAA AGTGCGATAA GCAATGCGAA TTGCAGGCCG TGAGTCATTA	2100
2 (1-5)	2100
3 (1-6)G.....	2100
1 (1-4)	GAAATTCGAA AGCAACTTGC GCCTCCGCCT GGCGAGAGGC ATGTTTGCTT	2150
2 (1-5)	2150
3 (1-6)	2150
1 (1-4)	CAGTGTATTT TCAACAATAC TGAAATAACT AACCACAAAC CTTGAAGTGA	2200
2 (1-5)	2200
3 (1-6)	2200
1 (1-4)	GTGAGCTGTC AAGCTCTCGT TCACAACGTT TGGCAAGTAG TGTATTTACG	2250
2 (1-5)	2250
3 (1-6)	2250
1 (1-4)	TTACTCATTA AACCCGATCA CCCAGTGTGA AGTTGTATAA TAGAGGGTAA	2300
2 (1-5)	2300
3 (1-6)	2300
1 (1-4)	ATAAATGCCA TAGGCGACTA CTTGAGAGTT ACTAAACTTG TAACCATATC	2350
2 (1-5)	2350
3 (1-6)	2350
1 (1-4)	TGAAGTCAAG CAAGAGCACG CGCTGAACTT AAGCATATCA CTAAGCGCAG	2400
2 (1-5)	C.....	2400
3 (1-6)	2400

1 (1-4)	GTA AAAAGAA AAAAATAACT ATGATTGCCT CAGTAACGGC GAGTGAACCG	2450
2 (1-5)	2450
3 (1-6)	2450
1 (1-4)	GCAATAGCCC AAGATGAGAA CCGCAGCCCT TCGGGCTCGT GGGTTGTAAT	2500
2 (1-5)	2500
3 (1-6)	2500
1 (1-4)	CTAAAGAGCA GTCACTGACT GGCTTTCCTG ACGCCCAAGT GTCTTGAAT	2550
2 (1-5)	2550
3 (1-6)	2550
1 (1-4)	AGACCGCCAG GGAGGGTGAA AGCCCCGTAC GGTGTCGGGA GAGCGCTAGG	2600
2 (1-5)	2600
3 (1-6)	2600
1 (1-4)	TGGCCGCTTG AAGAGTCGAG TTGTTTCGGGA CTGCAGCTCT AAGTGGGAGG	2650
2 (1-5)	2650
3 (1-6)	2650
1 (1-4)	TAGACTTCTC CTAAGGCTAA ATAACTATGA GAGACCGATA GCGAACCAAGT	2700
2 (1-5)	2700
3 (1-6)	2700
1 (1-4)	AATGTGAATG AAAGATGAAA AAATATTTTT TCCTTCCGTA AGAACTTTGA	2750
2 (1-5)	2750
3 (1-6)	2750
1 (1-4)	ATGAACAAAA GAGAA TAAA GAGACCTGAA ACCGTTGAGG TGAAGCGAT	2800
2 (1-5)	2800
3 (1-6)	2800
1 (1-4)	AGGAAGTTTT CATTTGGCCT GGAGCTGGCA AAGCGGGTTC GCCTGCGAGT	2850
2 (1-5)	2850
3 (1-6)	2850
1 (1-4)	TTGCTCCTGG TCGAAACGGT CGTTCGGCTT TGCGCGCCTC ATAAACCCCC	2900
2 (1-5)	2900
3 (1-6)	2900

1 (1-4)	CCGGGCAAGG GCTTCGGCAC CACTCGGAGG GAGCCTGTTG CGTGCGAGGT	2950
2 (1-5)	2950
3 (1-6)	2950
1 (1-4)	CGAGGGATTT TTGATGTTTT TCCTACCGAC CCGTCTTGAA ACACGGACCA	3000
2 (1-5)	3000
3 (1-6)	3000
1 (1-4)	AGGAGTCTAA CATATATGCG ATTATGTTGG TGTGTTTAA ACCATACATG	3050
2 (1-5)	3050
3 (1-6)	3050
1 (1-4)	AGCAATGAAA GTAAGCGGTG CCAACCGTAA GGTGCAGCAT CGGCCAGTTG	3100
2 (1-5)	3100
3 (1-6)	3100
1 (1-4)	TGATCCTCTG GAGAAGCGTA CTGGCTGTGA GCATATCTGT TAGGACCCGA	3150
2 (1-5)	3150
3 (1-6)	3150
1 (1-4)	AAGATGGTGA ACTACGCTTG GGTAGGGTGA AGCCAGGGGA AACTCTTGTG	3200
2 (1-5)	3200
3 (1-6)	3200
1 (1-4)	GAAGCCCGAA GCGGTACTGA CGTGCAAAATC GTTCGTCAAA CTTGAGTGTA	3250
2 (1-5)	3250
3 (1-6)	3250
1 (1-4)	GGGGCGAAAG ACTAATCGAA CCGTCTAGTA GCTGGTCCC TCCGAAGTTT	3300
2 (1-5)A.....	3300
3 (1-6)A.....	3300
1 (1-4)	CTCTCAGGAT AGCAAGGACA GTTAAAGCAG TTTTTATTT CAATTAGGTA	3350
2 (1-5)	3350
3 (1-6)	3350
1 (1-4)	AAGAATAAAT GATTAGAAGC ATCTGGGGGC TTTATTAGTG TTCTCGACTT	3400
2 (1-5)	3400
3 (1-6)	3400

1 (1-4)	AGTTCTCAAA CTCTAAATAT TTGTAATAAC TCGGTATTCC TTAAGTGAAG	3450
2 (1-5)	3450
3 (1-6)	3450
1 (1-4)	ATCGAGGCAG AATGCCTGTC CTTAGTGGGC CTTTTTTT-G GTAAGCAGAA	3499
2 (1-5)T.....T.....	3500
3 (1-6)T.....T.....	3500
1 (1-4)	CTGGCGATGA GGGATGAACC TAACTCTGAG TTAAGGTGCC CAACTGCACG	3549
2 (1-5)	3550
3 (1-6)	3550
1 (1-4)	CGCATCAGAT ACCTTAAAGG GTGTGTTGAT TCATTTAGAC AGCAGGTCGG	3599
2 (1-5)A...	3600
3 (1-6)A...	3600
1 (1-4)	TGGCCATGGA AGTCGGAATC CGCTAAGGAG TGTGTAA-----	3636
2 (1-5)CAA CTCACCTGCC	3650
3 (1-6)G.....CAA CTCACCTGCC	3650
1 (1-4)	----	3636
2 (1-5)	GAAT	3654
3 (1-6)	GAAT	3654

10. *Euplotes cf. vannus* (ภาพที่ 44) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 3,648 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATACGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA	50
TGCATGTCTA AGTATAAAGG TTACATACAA TGAAACTGCG AATGGCTCAT	100
TCAAACAGTT ATAGTTTATT TGGATTAAAA AACATTTGTT AAATGGATAA	150
CCGTAGTAAT TCTAGGGCTA ATACATGCGT TACGGGGGAC TTTTCGGAAC	200
CCCAGTATTT ATTAGATTCA AACCAATATT CCGCAAGGTC TACTTGAGAT	250
GATTCATGAT AACTGATCGA ATTGCTGGTC TACCGGCAAT AAGTCATTCA	300
TGTTTCTGCT TCCCATCAGC TTGATGGTAG TGTATTGGAC AACCATGGCA	350
TTACAGGGCT ATCGGGGGAT TAGGGTTCTGA TTCCGGAGAG GGAGCCTGAG	400
AAACGGCTAC CACTTCTACG GAAGGCAGCA GGC CGGAAAA TTATCCAATC	450
CTGATTCAGG GAGGTAGTGA AAGAAATAAT GAACTAGGAT TTATCCTGGG	500
GTCACAATGG GCTTGATTTG CAAACTTTAT TTAGCGAGGA ACAATTGGAG	550
GGCAAGTCTG GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT TCCAGCTCCA ATAGTGTATA	600
TTAATGTTCC TGCAGTTATT CGATGCTCGT AGTTGGATTT CTGGAGGCTG	650
AGATCGGAGG GTAGCCAAGG TTACCGCTGA ACTCTTCCTT CATCCACCTG	700

TTAACGTTGT CCGGGATTCG TTTCTCGGCT TCGGGCTCAG GCATATACTT 750
 TATTTTTTAC CCTTCTATA TTTATTTTTT TGAGTAAATT ATAGTGTTTC 800
 AGGCAGGCGT GCGCCGGAAT ACTTTAGCAT GGAAATAATCG AATTGGACCG 850
 TGTATTCTTA TTGAATTCTT CCTTATTGTT GGTTTCAAGG ACACGGAAAT 900
 GGTTAATAGG GATAGTGTTT TTATTATCAG GGGAGGCATT AGTATTTAAT 950
 TTCCAGAGGT GAAATTCCTT GAAATATTAA AGACTAACTT ATGCGAAAAGC 1000
 ATTTATTTTT GCCAATAATG TTTTCATTAA TCATTGAACG AAAGTTAGGG 1050
 GATCAAAGAC GATCAGATAC CGTCCTAGTC TTAACCATAA ACGTTGCCGA 1100
 CTAGGGATCG GAGGGCGTGC ACATTCCGCC TTCGGCACCT TACGAGAAAT 1150
 CAAAGTCTTT TGGGTCTGG GGGTAGTATG GTCGCAAGGC TGAAACTTAA 1200
 AGGAATTGAC GGAAGGGCAC CACCAGGAGT GGAGCTTGC GCTCAATTTG 1250
 ACTCAACACG GGAAATCTTA CCAGGTCCAG ACATAGCGAG GATTGACAGA 1300
 TTGATAGCTC TTTCTTGATT CTATGGGTAT TTATAATTTT GTTGGTGGTG 1350
 CATGGCCGTT CTTAGTTGGT GGAGTGATTT GTCTGGTTAA TTCCGTTAAA 1400
 CGAACGAGAC CTCAGCCTGC TAAATAGTTA CCTGCTTTTT ATATTACGGG 1450
 ACTTGATAAC TTCTTAGAGG GACGTTGTGT GCAACCACAA GGAAGTTGAG 1500
 GCAATAACAG GTCTGTGATG CCCTTAGATG TCCTGGGCCG CACGCGTGCT 1550
 ACACTGATAC GTACAACAAG GTATATGCAT TCATGCATCG ATGCTGCTCC 1600
 GAGATAGACA CAGCTAAATC TTCTAAAATA CGTATCGTGC TGCGGATAGA 1650
 TCGTTGAAAT TATGGATCTT GAAGCCGGAA TTCCTAGTAA GCGCGGGTCA 1700
 TCAGCCCGCG TTGATTACGT CCCTGCCCTT TGTACACACC GCCCCTCGCT 1750
 CCTACCAATT TCGAGTGGCT CGGTGAACCT CTTTGGACTG TCGAGCAATC 1800
 GCGAAATTAG AGTGAACCTG GTCACCTTAGA GGAAGGAGAA GTCGTAACAA 1850
 GGTTTCCGTA GGTGAACCTG CCGAAGGATC AATCTTAGAA TACTATACAA 1900
 CCTAAACTCA GCCAGTGCTC CACGTGAGTA AAGCGAACAA AAATAACTCT 1950
 CTACTTATTA AACGCTCGCG TTTGATTAGT AGACTTGACA TCATAAGATA 2000
 AAATTTTCAA CGGTGGATGT CTTGGCTCTC ATATCGATGA AGAACGCAGC 2050
 AAAGTGCAT AAGCAATGCG AATTGCAGGC CGTGAGTCAT TAGAATTTTCG 2100
 AAAGCAACTT GCGCTCCGC CTGGCGAGAG GCATGTTTGC TTCAGTGAT 2150
 TTTCAACAAT ACTGAAATAA CTAACCACAA ACCTTGAAGT GAGTGAGCTG 2200
 TCAAGCTCTC GTTCACAACG TTTGCAAGTA GTGATTTTAC GTTACTCATT 2250
 AAACCCGATC ACCCAGTGTG AAGTTGTATA ATAGAGGGTA AATAAAATGCC 2300
 ATAGGCGACT ACTTGAGAGT TACTAAACTT GTAACCATAT CTGAAGTCAA 2350
 GCAAGAGCAC GCGCTGAACT TAAGCATATC ACTAAGCGCA GGTA AAAAGA 2400
 AAAAAATAAC TATGATTGCC TCAGTAACGG CGAGTGAACC GGCAATAGCC 2450
 CAAGATGAGA ACCGCAGCCC TTCGGGCTCG TGGGTTGTAA TCTAAAGAGC 2500
 AGTCACTGAC TGGCTTTCTT GACGCCAAG TGTCTTGAA TAGACCGCCA 2550
 GGGAGGGTGA AAGCCCCGTA CGGTGTCTGG AGAGCGCTAG GTGGCCGCTT 2600
 GAAGAGTCGA GTTGTTGGG ACTGCAGCTC TAAGTGGGAG GTAGACTTCT 2650
 CCTAAGGCTA AATAACTATG AGAGACCGAT AGCGAACAAG TAATGTGAAT 2700

GAAAGATGAA AAAATATTTT TCCTTCCGTA AGAACTTTGA ATGAACAAAA 2750
 GAGAAATAAA GAGACCTGAA ACCGTTGAGG TGGAAAGCGAT AGGAAGTTTT 2800
 CATTGGCCCT GGAGCTGGCA AAGCGGGTTC GCCTGCGAGT TTGCTCCTGG 2850
 TCGAAACGGT CGTTCGGCTT TCGCGCCTC ATAAACCCCC CCGGGCAAGG 2900
 GCTTCGGCAC CACTCGGAGG GAGCCTGTTG CGTGCAGGT CGAGGGATTT 2950
 TTGATGTTTT TCCTGCCGAC CCGTCTTGAA ACACGGACCA AGGAGTCTAA 3000
 CATATATGCG ATTATGTTGG TGTGTTTTAA ACCATACATG AGCAATGAAA 3050
 GTAAGCGGTG CCAACCGTAA GGTGCAGCAT CGGCCAGTTG TGATCCTCTG 3100
 GAGAAGCGTA CTGGCTGTGA GCATATCTGT TAGGACCCGA AAGATGGTGA 3150
 ACTACGCTTG GGTAGGGTGA AGCCAGGGGA AACTCTTGTG GAAGCCCGAA 3200
 GCGGTACTGA CGTGCAAATC GTTCGTCAA CTTGAGTGTA GGGGCGAAAG 3250
 ACTAATCGAA CCATCTAGTA GCTGGTTCCT TCCGAAGTTT CTCTCAGGAT 3300
 AGCAAGGACA GTTAAAGCAG TTTTTTTATT ATTTCAATTA GGTAAAGAAT 3350
 AAATGATTAG AAGCATCTGG GGGCTTTATT AGTGTTCCTG ACTTAGTTCT 3400
 CAAACTCTAA ATATTTGTAA TAACTCGGTA TTCCTTAACT GAAGATCGAG 3450
 GCAGAATGCT TGTCCCTAGT GGGCCATTTT TTTGGTAAGC AGAACTGGCG 3500
 ATGAGGGATG AACCTAACTC TGAGTTAAGG TGCCCAACTG CACGCGCATC 3550
 AGATACCTTA AAGGGTGTGT TGATTCATTT AGACAGCAGG ACGGTGGCCA 3600
 TGGAAAGTCGG AATCCGCTAA GGAGTGTGTA ACAACTCACC TGCCGAAT 3648

11. *Holosticha diademata* (ภาพที่ 57) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุ
 อัตลักษณ์จำนวน 1 สาย ความยาว 3,558 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และ
 ตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAA GACTAAGCCA 50
 TGCATGTCTA AGTATAAGCG ATTTATAGTG AAACTGCGAA TGGCTCATT 100
 AAACAGTTAT AGTTTATTTG ATAATCGAAT TTTACATGGA TAACCGTGGT 150
 AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTTAAGCC TGACTTTTTG GAAGGGCTGT 200
 ATTTATTAGA TACAAACCAA TATTCCCTCG GGTCTATTGT GATGATTCAA 250
 TATAACTGAT CGAATCGCAT GGTCTTGAC CGCGATAAAT CATTCAAGTT 300
 TCTGCCCCAT CAGCTTTCGA TGGTAGTGTA TTGGACTACC ATGGCTTTCA 350
 CGGGTAACGG AGGATTAGGG TTCGATTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAAACG 400
 GCTACCACAT CTAAGGAAGG CAGCAGGCGC GTAAATTACC CAATCCTGAC 450
 TCAGGGAGGT AGTGACAAGA AATAACAGAC CGGAGCCTCT GTTCCGGGA 500
 TTGCAATGAG TACAATTTAG ACTCCTTAAC AAGTAACAA TGGAGGGCAA 550
 GTCTGGTGCC AGCAGCCCGG GTAATTCCAG CTCCAAATAGC GTATATTAAA 600
 GTTGTTCAG TTAATAAGCT CGTAGTTGGA TTTCTGTGAG AGTGCCGGTG 650
 TCGGCTGATG CTTGTACGCA GCGCTCTTA CATCCTTCTG TTAACGTTC 700
 TTGGCATTTC ATTGCTGGTT CAGGGCTCAG ATATTTTACC TTGAGAAAAT 750
 TAGAGTGTTC CAGGCAGGCT TATGCCGGAA TACATTAGCA TGGAAATAATG 800
 GAATAGGACC TGTGCGGCTC TCGGGTCGCC GGTCTCCGTT GTTGGTTTCG 850
 GGGACTAATG TAAATGATTAA TAGGGATAGT TGGGGCATT AGTATTTAAT 900

AGTCAGAGGT GAAATTCTCG GATTTGTTAA AGACTAACTT ATGCGAAAAGC 950
 ATTTGCCAAG GATGTTTTCA TTAATCAAGA ACGAAAGTTA GGGGATCAAA 1000
 GACGATCAGA TACCGTCCTA GTCTTAACCA TAAACTATGC CGACTAGGGA 1050
 TCGGGGGCGA GTECTAACAG CCCTCGGCAC CTTATGAGAA ATCAAAGTCT 1100
 TTGGGTTCCTG GGGGGAGTAT GGTCCGAAGG CTGAAACTTA AAGGAATTGA 1150
 CGGAAGGGCA CCACCAGGCG TGGAGCTTGC GGCTCAATTT GACTCAACAC 1200
 GGGAAAACCTT ACCAGGTCCA GACATAGGTA GGATTGACAG ATTGATAGCT 1250
 CTTTCTTGAT TCTATGGGTG GTGGTGCATG GCCGTTCTTA GTTGGTGGAG 1300
 TGATTTGTCT GGTTAATTCC GTTAACGAAC GAGACCTTAG CCTACTAACT 1350
 AGTCGATTCA ACTTGGTTGA CTTTGACTTC TTAGAGGGAC TTTGTGTATC 1400
 AAGCACAAGG AGGTTTGAGG CAATAACAGG TCTGTGATGC CCTTAGATGT 1450
 CCTGGGCCGC ACGCGTGCTA CACTGATGCA TACAGCGAGC ACTTCCCGGC 1500
 CCCGAAAGGC GGCTGGTAAAT CAGCAATATG CATCGTGATG GGGATAGATC 1550
 TTTGGAATTC TTGATCTTGA ACGAGGAATG CCAAGTAGGC GCAAGTCATT 1600
 ACCTTGCGTC GATTAAGTCC CTGCCCTTTG TACACACTGC CCGTCGCTCC 1650
 TACCGATTCC AGTGATCCGG TGAACCTTTT GGACCAGGGC CGCTTGCGGT 1700
 TCTGGAAAAAT CAAGTAAACC ACGTCACCTTA GAGGAAGGAG AAGTCGTAAC 1750
 AAGGTTTCCG TAGGTGAACC TCGGGAAGGA TCATTAACAC AAATTCACAC 1800
 AATTC AACCA AGCCTACAGC AGTCGTGTAG CAGCTAGTCT GCGGCACACC 1850
 GCAAACCTTA CCTAAAGGAA GCTAACTAAG CTACTTTACA ACCTAAATTT 1900
 TCAACGGTGG ATGTCTAGGT TCCTACAACG ATGAAGAACG CAGCGAAGTG 1950
 CGATAAGCAT TGCGAATTGC AGAACCGTGA GTCATCAGAT TTTTGAACGC 2000
 AACTGGCGCC GGCTGGTTCT CCAGACGGCA TGCTTGTTTC AGTGTCTTAT 2050
 TTCCCCATCA CCTACATCAT AATGCGAGGG ATGCCCTTCT CTCGTTAAGC 2100
 ATGAAAGCGC TCTGTACTCT GCGAGCTACA GTCTTCGGAT GGTAGCGCTC 2150
 AATGCAGCGG TCACATTGCT CATAATGTGA ACTCATTGAG AGCGGAGGCA 2200
 GTCGGTAGGG CGAAAGCCTT GCTGGAGAGC TTAGGTACCC AAACCTCTAT 2250
 TGATCTGAA ATCAAGCAGG AGGACCCGCT GAACTTAAGC ATATCACTAA 2300
 GCGGAGGAAA AGAAATCAAC TGAGATTGCC CTAGTACCGG CGAGGGAAGC 2350
 GGCAAGAGCC CAGACTGGAA ATCTTCAGGG TTCCCCTGAC GAATTGTAAT 2400
 CTAGGAGGCA TTACTCAACT GTCTACGGCG CAGAAGTGTG ATCGAACGGA 2450
 CCGCCAGAGA GGGTGATAGC CCCGTATGTG GTGCCGTGGA CTAACGAGTG 2500
 AGGTCTTAAA GAGTCGGGTT GCTTGGTATT GCAGCCCTAA GCGGGAGATA 2550
 AACTTCTCCT AAGGCTAAAT ACATGTAGGA AACCGATAGC GAACAAGTAC 2600
 TGTGAAGGAA AGATGAAAAG AACTTTGAAA AGAGAGTCAA AAGACCTGAA 2650
 ACTGTTGAGA AGGAAACGGT AGAAGTGAAT ATGCGTTTGC CCCCAGGTGAC 2700
 GTCTGCCTAA CTACCCAGGG AAAGGGCACT GTAAAAAGGT CCTTAACTGG 2750
 GGCTAGGGAA GCGGGCGGCT TGGGGACAGG CGAAAAGGCAG GATGGGGTGG 2800
 CGCATCCGCA AAGGCTTTCT GGACCTCGTG CTTCCGGTGCA GTCCAGGGAT 2850
 GCCGGTGGGC GCGTCGCCTG AGGTGCTTCG TGCATCTTG CCAAAAAGGC 2900

TTTTACCGAC TCGTCTTGAA ACACGAACCA AGGAGTTTAC CAGACATGCA 2950
 AGTGTGCTGG CGGAAAAACC AACACGCGAA ATGAAAGTGA CTGATGCCAA 3000
 GCGCAAGCAG CAGCATCGAC CGACCATGAT TCTTCGATGA AAGGTTTGAG 3050
 TAAGAGCATA TCTGTTAGGA CCCGAAAGAT GGTGAACTAT GCCTGAGTAG 3100
 GGTGAAGTCA GGGGAAACTC TGATGGAAGC TCGTAGCGAT ACTGACGTGC 3150
 AAATCGTTTC TCGAACTTGG GTATAGGGGC GAAAGACTAA TCGAACCATC 3200
 TAGTAGCTGG TTCCCTCCGA AGTTTCCCTC AGGATAGCTA GGACAATAAT 3250
 GCAGTTTTAT CAGGTAAAGC GAATGATTAG AGGCATCGGG GCAAAATTGC 3300
 CCTTGACCTA TTCTCAAAC TTAAAATTGGT AAGAACCCTG GCCTTTCTTA 3350
 AGTGAGGCTC GAGGGCTCAA TCGTGTCTCT TAGTGGGCCA TTTTGGTAA 3400
 GCAGAACTGG CGATGAGGGA TGCTCCTAAC GTTGGGTTAA GGTGCCTAAC 3450
 TGCACGCTCA TCAGACACCA CAAAGGGTGT TGGTTCATAT AGACAGCAGG 3500
 ACGGTGGCCA TGGAACTCGG AATCCGCTAA GGAGTGTGTA ACAACTCACC 3550
 TGCCGAAT 3558

12. *Kentrophoros* sp. 1 (ภาพที่ 34) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 1 สาย ความยาว 3,014 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

CTGCCAGTAG CCATATGCTT GTCTCAAAGA TTAAGCCATG CATGTATAAG 50
 TGTAAACTGT ATAATAGTAG GACTGCGAAT GGCTCATTAA AACAGTGATA 100
 GTTTATTTGA TGGTTTGTTA GATGGATAAC CGTAGTAATF CTAGAGCTAA 150
 TACATGCAAA ATGTTTATTA GATATCGTCT TTGTGGGAAT TACAATGAAT 200
 GATGACCATG TTGGGAAACA TGCGCCTCA TTCAAGTTTC TGCCCTATCA 250
 GCTTTCGATG GTAGTGTAAT GGACTACCAT GGCAAGTACG GGTAAACGGAG 300
 AATTAGGGTT CGATTCCGGA GAGGGAGCCT GAGAGACGGC TACCACATCT 350
 AAGGAAGGCA GCAGGCGCGC AAATTACCCA ATCCTGATTC AGGGAGGTAG 400
 TGACAAGAAA TAACGACACC GGGCTTCGTC TCGGTGATTG GAATGAGCAC 450
 AATGCAAAAAG CGTTAGCGAG GACCCACTGG AGGGCAAGTC TGGTGCCAGC 500
 AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC CAGTAGCGTA TATTAAAGTT GTTGCAGTTA 550
 AAAAGCTCGT AGTTGGACGT CTCTCCGAGG TATCTTCACA GTTTATCTTG 600
 GAGATCTGCC TGGCAGCTCC ACACGGCGTT CACTCGTTGG TGGTGATATG 650
 CGGTCCCTTT ACCTTGAGGA AACTAGAGTG TTTAAGGCAG GCTTCTGCC 700
 GAATACCGCA GCTGGGAATA ATGCACTCGG AATGTCCTTG CGAGACACTT 750
 CGAATTTATT AATAGGGACA GTTGGGGGCA TTCGTACTCA GCAGTCAGAG 800
 GTGAAATCTT TGGATTTGCT GAAGACGGAC TAGTGCGAAA GCATTTGCCA 850
 AGGATGTTTT CATTAATCAA GAACGAAAGT TAAGGGATCC AAGACGATCA 900
 GATACCGTCC TAGTCTTAAC CATAAACGAT GCCGACTAGG GATTGGGAGG 950
 AACGTACATA TCCTCTCAGC ACCTTCCGAG AAATCAAAGT CTTTGGGTTC 1000
 TGGGGGGAGT ATGGTCGCAA GTCTGAAACT TAAAGGAATT GACGGAAGGG 1050
 CACCACAAGG AGTGGAGCCT GCGGCTTAAT TTGACTCAAC AC^uGGGAAAC 1100
 TTACCAGGTC CAGACATAGT GAGGATTGAC AGATTGAGAG CTCTTTCTTG 1150

ATCCATGTTG TGGTGGTGCA TGGCCGTTCC TAGTTGGTGG AGTGATCTGT 1200
 CTGGTTAATT CCGATAACGA ACGAGACCTC AGCCTGCTAA ATAGACTTTT 1250
 ATAGTTTTTT ATTTATAGTC TCCTTAGAGG GACTTCCGGG GCTACTCGGA 1300
 GGAAGTGTGA GGCAATAACA GGTCTGTGAT GCCCTTAGAT GTCCGGGGCC 1350
 GCACGCGCGC TACACTGACA CAGGCAGTAA GTTCCTTGGC TGAAAAGTCT 1400
 AGGCAACCTA GAAACTGTGT CGTAGTTGGG ATTGACCCCTT GCAATTCTTG 1450
 GTCATTAACC AGGAATTCCCT AGTAAGCGCA AGTCATCAGC TTGCACTGAT 1500
 TAAGTCCCTG CCCTTTGTAC ACACCGCCCG TCGCTCCTAC CGATTCCGAG 1550
 TGATGAGGTG AACCTCTCGG ACCGAAAGGG AAGTTAAGTA AACCTTATCA 1600
 CTTAGAGGAA GGAGAAGTCG TAAACAAGGTA TCCGTAGGTG AACCTGCGGA 1650
 TGGATCATTG ACACATAAAA TTTATTGATA AAACTATAGC TATTGAGGCT 1700
 AATTTTTTACG ATAATTAATT GATGATTATA TTTGAAATAA ATTAATAAAC 1750
 TTAACGATGG ATACCTAGGT TCTGGCGTCG ATGAAGGACG CAGCAAAGCG 1800
 CGATAGTCAA TGCGAATCGC AGGACTCCGA GAGTCATTAG ATTTCCCAAC 1850
 GCAACTTGCA CAGTGGGGAA ACTCACTGCA TGTTCCTTC AGAATCAGTG 1900
 AAAATAAAAT TCTGAGTGAA CGTAGTTCTC TTGGTAAGTA AATAAATGTG 1950
 AGCTGAACTG AGATGTTGAT CTGAGGGGAA CAAGATAACC CGCTGAACTT 2000
 AAGCATATCA GTAAGCGGAG GAAAAGAAAC TAACTAGGAT GGCCTTAGTA 2050
 ACTGCGAGTG AACAGGCCCTC AGCCCACCTG TTAATCTTCG GAATTGTAAG 2100
 TGAGCGGAGG GAAGCTAAAA CCCGTTTGGC CTAAGTCTTC AGGAACGAGG 2150
 CTTTCATGGAG GGTGATAGTC CCGTCTGGCT ATTTGGGGAA ACGGCTGACC 2200
 TTTCTAAGAG TCGGGCAGTT TGGGATTGCT GTCCAAAAGT GGAGGTAAAC 2250
 TCCTCCTAAG GCTAAATACG TCCAGAGCCC GATAGCGCAC AAGTACC GCG 2300
 AGGGAAAAGG GAAAAGCACT TTGGAAAAGAG AGTTAAAAGA CTTGAAATCG 2350
 TTAAGGAGGA AGCTGTGTTG TCTTCACAAG GATAAGTAAA GCTTCATTTT 2400
 CAGTGAAGTA TTGCGAATCC AGAGAGGACA ATACCGACCC GTCTTGAAAC 2450
 ACGGGCCAAG GAGTCCAGCT TTATTGCAAG TCGGCGCATT TTAAATGTGT 2500
 AGGCGTAATG AAAGTGAACT CTATAAGCAA TAGAGACCCG GTTACGGAGT 2550
 AAGCAATAAG GCTGGGACCC GAAAGATGGT GATCTATGCT TGGGCAGGAT 2600
 GAAGTCAGGG GAAACTCTGA TGGAAAGTCG AACTGGTGCT GACGTGCAAA 2650
 TCGCTCTGTG GACCTGAGTA TAGGGGCGAA AGACTCATCG AACCATCTAG 2700
 TAGCTGGTTC CCTCCGAAGT TTCCCTCAGG ATAGCTAGGA CTTTGAGTGG 2750
 CATCCGGTAA AGCTAATGAG TAGGGGTTTC GGAGGAGTCA CTCCCTCCTC 2800
 CTATTATCAA ACTTTAAATG GGTGCAACAA GTTCTTATT TGATCTAAAG 2850
 AACTTGATTG CATCTTTGTC CTTAGTGGGC CATTCTGGT AAGCAGGACT 2900
 GCGATGAGG GTCCAACCTC AAGCGGAGTT AAGGCGACGA ATACCGTCTG 2950
 TAAGTAAAGG AGTTAGTCCA TTTAGACAGT AGGACGGTGG CCATGGAAGT 3000
 CGAACCCGCT AAGA 3014

13. *Mesodinium* sp. (ภาพที่ 64) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์จำนวน 2 สาย ได้แก่ ลำดับที่ 11-3 และลำดับที่ 11-6 แต่ละสายมีความยาว 2,875 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (11-3)	<u>ACCTGGCTGA</u> <u>TCCTGCCAGT</u> <u>AGTCATATGC</u> <u>TTGTCTCAA</u> <u>GATTAAGCCA</u>	50
2 (11-6)T.....	50
1 (11-3)	<u>TGCATGTCTA</u> <u>AGTAATAGCT</u> <u>TTATAATGGT</u> <u>GAAACTGCAA</u> <u>ATGGCTCACT</u>	100
2 (11-6)TC	100
1 (11-3)	<u>ACAACGGTTA</u> <u>TGATGTACCC</u> <u>GGGATCTCCG</u> <u>ATGGATATTT</u> <u>CCAGTAACAC</u>	150
2 (11-6)	150
1 (11-3)	<u>TAGAGCTAAT</u> <u>ACATGTTTCT</u> <u>GCGTTTATTA</u> <u>GTTTCAAACA</u> <u>GAATCTGTCTG</u>	200
2 (11-6)	200
1 (11-3)	<u>CTGAGTCATG</u> <u>GTA AACGGTT</u> <u>GATCAGACTG</u> <u>ACATCCC GGA</u> <u>ACAGTTTCCG</u>	250
2 (11-6)	250
1 (11-3)	<u>CCCCATCAGC</u> <u>TTCGATGGTT</u> <u>GGGTATTGGC</u> <u>CTACCATTGC</u> <u>AACAACGGGT</u>	300
2 (11-6)	300
1 (11-3)	<u>GACGAGGAAT</u> <u>TAGGGTTTGA</u> <u>TTTCGGAGAG</u> <u>GGAGCCTGAG</u> <u>AAACGGCTAC</u>	350
2 (11-6)	350
1 (11-3)	<u>CACATCTACG</u> <u>GATGGCAGCA</u> <u>GGCGCGAAA</u> <u>TTACCCAATG</u> <u>CAGACACTGT</u>	400
2 (11-6)	400
1 (11-3)	<u>GAGGTAGTGA</u> <u>CGAGAAATAA</u> <u>TAAAGCGAGG</u> <u>CTACTGTCTT</u> <u>GCTATTATAA</u>	450
2 (11-6)	450
1 (11-3)	<u>TGAGGAATAA</u> <u>CTAAATGTCA</u> <u>TTCTATTAG</u> <u>CAACTGATGG</u> <u>GAAAGTCTGG</u>	500
2 (11-6)	500
1 (11-3)	<u>TGCCAGCAGC</u> <u>CGCGGTAATA</u> <u>CCAGCTTCAG</u> <u>TAGCATATAT</u> <u>TAAAATTGTT</u>	550
2 (11-6)	550
1 (11-3)	<u>GCAGTTAAAA</u> <u>CGTCCGTAGT</u> <u>CTGTACGTCG</u> <u>TCAAAGACTT</u> <u>TACTACTGCT</u>	600
2 (11-6)	600

1 (11-3)	TTATCTATTT TTAATTGAAT GGATGATAGT TAGTAGTTGC TCCCTTGATC	650
2 (11-6)	650
1 (11-3)	AAAATAGAGT GTTCAAGGTA GACCAAGTCT TCATAAATTC ACATGGAATT	700
2 (11-6)	700
1 (11-3)	GGGTGAAGGA ACTTAAGAGT TTAAGTTTCT CGTCTTAGGA TCATCTGGGG	750
2 (11-6)	750
1 (11-3)	TCATTCTGAC TCGACCGCGA GAGGTGAAAT TCTTGGACCG GCCGAAGACG	800
2 (11-6)	800
1 (11-3)	ATCAGCAGCG AAAGCATCTG TCAGGGATGT TTTCTGCGAC AAAGGACGAA	850
2 (11-6)	850
1 (11-3)	GGTCAGGGTA TCGAAGACGA TTAGATACCG TCGTAGTCCT GACTGTAAAC	900
2 (11-6)	900
1 (11-3)	TATGCCGACT TGGATCTTGC AGAGTAAATA CTTTGTGAGA TCCAAACAGA	950
2 (11-6)	950
1 (11-3)	AATGAAAGTG TATGGGTTCT GGGGGTAGTA TGGACACAAG TCTGAAACTT	1000
2 (11-6)	1000
1 (11-3)	GAAGGAAATG ACGGAAGAGC ACCATCAGAC GTGGAGCTTG CGGCTTAATT	1050
2 (11-6)	1050
1 (11-3)	TGACTCAACG CGGGAAAACT TACCAGGTCA AGACATGGGC GTGATTGACA	1100
2 (11-6)	1100
1 (11-3)	GGCTAATGAC CTTTCTCGAT TCCTTGGATG GTGGTGCATG GTCGCACTTA	1150
2 (11-6)	1150
1 (11-3)	GTTGGTGCAG TGATTTGTCA GGTTTATTCC GGTAACGAAC GAGACCTCGG	1200
2 (11-6)	1200
1 (11-3)	CCTTGTAACT AGCAATAGCT TCTTACAGGG ACAATGTCCG CTACGTCAAG	1250
2 (11-6)	1250

1 (11-3)	GAAGTTCGAG GCAATTGCAG ATCTGGAATG CCCTTAGATG TCCTGGGTCG	1300
2 (11-6)	1300
1 (11-3)	CACGCGTGCT ACAATGACGT CACGAGCAAG TTCATGTGAT GAAAATCATG	1350
2 (11-6)	1350
1 (11-3)	TGAAATCATC AATCGTCGTC TTAAGGGACA GTCTCTTGTA ACTGTGGGAC	1400
2 (11-6)	1400
1 (11-3)	TCTAACTAGG AATGTCTCGT AAGCACAAAGT CAACATCTTG TGTTGATTAC	1450
2 (11-6)	1450
1 (11-3)	GTCCCTGCTC TTTGTACACA CCGCCCGTCG CTCCTACCGA TCGAGTGATT	1500
2 (11-6)	1500
1 (11-3)	AGATGAGTTT AGCGGACTCA CGGAAGTTAA ACAAATCTGA CCACTTAGAG	1550
2 (11-6)	1550
1 (11-3)	GAAGGAGAAG TCGTAACAAG GTTCCGTCG GTGACCTGC GGAAGGATCA	1600
2 (11-6)G.. ..	1600
1 (11-3)	TTCCTGTATG TTTCTGCCA TTCTTTGAG TTCATCCGGT CGTCTGCCGC	1650
2 (11-6)	1650
1 (11-3)	GTACGAGGTT TTTCTGCTTT GGAAATGTCG GGTGCTGAGC CGAGGAAGGA	1700
2 (11-6)	1700
1 (11-3)	CGCAGTTAAG TGCGAAAAATC AACCTGAATC GCAAAAACTG CTGATGGTCG	1750
2 (11-6)	1750
1 (11-3)	GGTGCTGAA TGCTCTAAGC CAGAGTTACT TATCACGTGC TAAATCTTTC	1800
2 (11-6)	1800
1 (11-3)	ATTCTGGGTT TCATTTCCGT GTGATATGAA AATTCAAACG ATTATTTTCA	1850
2 (11-6)	1850
1 (11-3)	CGTGATATGT AGCGGGCAAT GTAGTTAATT TAAGCTTATA AGTTAATACA	1900
2 (11-6)	1900

1 (11-3)	CTCTCTGAAG TTTCCCTCAG GATAGCAATC CCTTCTGAGT AATGTGCGGT	2600
2 (11-6)	2600
1 (11-3)	AAAGAGAATG ATTAGAGGTA TCTGGGAAAT AATTTCCCTAG GCCGATTTTC	2650
2 (11-6)	2650
1 (11-3)	AAACTCAGAA TGCGCATCAG TAAATTCCTTC CTGAATTACT GAACTATCAA	2700
2 (11-6)	2700
1 (11-3)	AGGGATTAGT GGGCCTTTTT TGGTAAGCAG ATCGGGCGAT GAGGATTCCT	2750
2 (11-6)	2750
1 (11-3)	CCTAGAGTCG AGATAACGTG CTCAAAGCTA CATCAATTAA ATGATGTCAG	2800
2 (11-6)	2800
1 (11-3)	TGCATATTGA CAGCAGGAGG GTGGCCATGG AAGTTGGAAT CCACTAAGGA	2850
2 (11-6)	2850
1 (11-3)	GTGTGTAACA ACTCACATGG GGAAT	2875
2 (11-6)C..C C.....	2875

14. *Trachelocerca schultzei* (ภาพที่ 18) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 2,930 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT <u>AGT</u> GATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA	50
TGCATGTGTA AGTGTAAGCT GATTAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT	100
AAAACAGTGA TAGTTTATTT GATGGGATTT AGATGGATAA CCGTAGTAAT	150
TCTAGAGCTA ATACATGCAA GTGTGTATTA GATATCGCCC CTGTGGGAAT	200
AACAGTACAC CCATACCGTG TCGGGAGATA CGGTGCATCA TTC AAGTTTC	250
TGCCCTATCA GCTTTCGATG GTAGTGTATT GGACTACCAT GGCAGTGACG	300
GGTAACGGAG AATTAGGGTT CGATTCCGGA GAGGGAGCCT GAGAGACGGC	350
TACCACATCT AAGGAAGGCA GCAGGCGCGC AAAATTACCCA ATCCTAATTC	400
AGGGAGGTAG TGACAAGAAA TAACAACAAC GGGCTTTGTC TCGTTGATTG	450
GAATGAGCAC AATGTAAAAG TCTTAGCAAG GACCCACTGG AGGGCAAGTC	500
TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC <u>CAG</u> TAGCGTA TATTAAAGTT	550
GTTGCAGTTA AAAAGCTCGT AGTTGGACTT GCACTCCTTT TGGAGCAGCC	600
TGGCAACTCC GCATGTCCCTT AGGTGGATGG CGGAGACCTG CGGGCCCTTT	650
ACCTTGAGAA AATTAGAGTG TTTAAGGCAG GCCACGCCTG AATACTGCAG	700
CTGGGAATAA TGCATCACGA CTGTCTTGGC GAGGCAGCTC TACACTTTTA	750
ATAGGAACGG TTGGGGGCAT TCGTACTCAG CAGTCAGAGG TGAAATTCCTT	800
GGATTTGCTG AAGACGGACT AGTGCGAAAAG CATTGCCAA GGATGTTTTC	850

ATTAATCAAG AACGAAAGTT AAGGGATCAA AGACGATCAG ATACCGTCC 900
 AGTCTTAACC ATAAACGATG CCGACTAGGG ATTGGCAAGA GCGCACAAAT 950
 CTTGTCAGCA CCTTACGAGA AATCAAAGTC TTTGGGTTCT GGGGGGAGTA 1000
 TGGTCGCAAG ACTGAAACTT AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACAAGGA 1050
 GTGGAGCTTG CGGCTTAATT TGACTCAACA CGGGGAAACT TACCAGGTCC 1100
 AGACATAGTC AGGATTGACA GATTGAGAGC TCTTCTTGA TCCTATGGGT 1150
 GGTGGTG CAT GGCCGTTCTT AGTTGGTGA GTGATCTGTC TGGTTAATTC 1200
 CGATAACGAA CGAGACCTCA ACCTGCTAAA TAGTCTACT CGGGTACAAC 1250
 TTCTTAGAGG GACTTCCAAG GCTACTTGA GGAAGTGTGA GGCAATAACA 1300
 GGTCTGTGAT GCCCTTAGAT GTCCGTTGGC GCACGCGTGC TACTGACG 1350
 CAGGCATCCA GTTCTCGAC TGAAAAGTCT AGGCAACCTT CAAACTGCGT 1400
 CGTAGTTGGG ATTGACCCCTT GCAATTCTTG GTCATGAACC AGGAATTCCT 1450
 AGTAAGCGCA AGTCATCAGC TTGCACTGAT TAAGTCCCTG CCTTTGTAC 1500
 ACACCGCCCG TCGCTCCTAC CGATTCCGAG TGATGAGGTG AATTTCTCGG 1550
 ACTCTGAAAG TTAAGTGAAC CTTATCACTT AGAGGAAGGA GAAGTCGTAA 1600
 CAAGGTATCC GTAGGTGAAC CTGCGGATGG ATCATTGATA TCACTTTCTG 1650
 TCGCATCAGA TCATCTCAAC TTGAAAAGCTG CAACGATGGA TACCTAGGTT 1700
 CTGGGGTCGA TGAAGGACGC AGCAAAGCGC GAAAGGCAAT GCGAATTGCA 1750
 GGACTCCGAG AGTCATTGGA TTTCCCAACG CAACATGCAC TCTGGGGAAA 1800
 CTCAGAGTAT GTTCCACTCA GGATCATCAG ACATACAAAT GCAAGTGC GG 1850
 AGCTCTTGC GAGTATCGAC TTGGATGTTT CCGTGATCTG AGTGGAGCAA 1900
 GGTACCCGC TGAAC TTAAG CATATCAGTA GCGGAGGAA AAGAACTAA 1950
 CAAGGATGGC CTCAGTAACG GCGAGTGAAG CGGCCAAAGC CCAAATGTCA 2000
 ATCTTCGGAA TTGTAAGGGA CGACGTCTAA AGCGGAATGC TCACAAGTCA 2050
 TCAGGAAAGA TGATCAAGG AAGGTGAGAA TCCTGTGGTG AGCGTTCCGT 2100
 GAGCGGCGAA GTCAGGGCAG AGTCGTGCAG CTTGGGATTG CTGTACAAAG 2150
 CGGGAGGTAA ACTCCTCCTA AGGCTAAATA CACCCAGAGC CCGATAGCGC 2200
 ACAAGTACCG TGAGGGAAAAG GCGAAAAGCA CTTTGGAAAAG AGAGTTAAAA 2250
 GACTTGAACT CGTTGAGAG GAAGCCGTGC GTCCATCCTG ATCCAATCCA 2300
 AGGCTCCATT CCGTGGAGTT ATGGAGAGGG TTGCTTTGGG CGGACCGTCC 2350
 CGTCTTAAAA CACGGGCCAA GGAGTCTATC TCAGTCGCGA GTCGGATCAT 2400
 GCAAATGGTT AGGCGCAATG AAAGTGAACC CGCTAACACG GAGAAAGCGG 2450
 CTGGGATGGG ACCCGAAAGA TGGTGAGCTA TGCTCGGGCA GGACGAAGCC 2500
 AGGGGAAAAC CTGGTGGAGG TTCGAGAAGG TGCTGACGTG CAAATCGCTC 2550
 TGTGGACCTG AGTATAGGGG CGAAAAGACTC ATCGAACCAT CTAGTAGCTG 2600
 GTTCCCTCCG AAGTTTCCCT TAGGATAGCT GGGACTATCA GTGGCATCCG 2650
 GTCAAGCTAA TGAGTAGAGG TTCGGGAGGA GTCACCTCCT CCTCCTATTA 2700
 TCAAAC TTTA AATGGGTGCG AATGGGCTCT TCCAGGCAGA GTCTATTGTT 2750
 CATGAGTGTG CCTAGTGGGC CATTCC TGGT AAGCAGGACT GCGGATGAGG 2800
 GCCAACCTC AAGCTGTGTT AAGGCCACGA ACATCGTCGG CAGTAAAGGC 2850

GTTAGTCCAT TTAGACAGTA GGACGGTGGC CATGGAAGTC GGAACCCGCT 2900
 AAGGAGTGTG TAACAACCTCA CCTGCCGAAT 2930

15. *Trachelocerca* sp. 2 (ภาพที่ 20) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 2,852 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

GATTAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT AAAACAGTGA TAGTTTATTT 50
 GATGGATTTT AGATGGATAA CCGTAGTAAT TCTAGAGCTA ATACATGCCA 100
 AGTGTTTATT AGATATCGCC CTTGTGGGAA CAACGATAAA CCCATACCAT 150
 ATCGGGAGAT ATGGTGATC ATTCAAGTTT CTGCCCTATC AGCTTTCGAT 200
 GGTAGTGAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC GGGTAACGGA GAATTAGGGT 250
 TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG CTACCACATC TAAGGAAGGC 300
 AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTAATT CAGGGAGGTA GTGACAGGAA 350
 ATAACAACAA CGGGCTTTGT CTCGTTGATT GGAATGAGCA CAATGTAAAA 400
 GTCTTAGCTA GGACCCACTG GAGGGCAAGT CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT 450
 AATTCAGCT CCAGTAGCGT ATATTAAAGT TGTTCAGTT AAAAAGCTCG 500
 TAGTTGGACT TGCACTCCCT CGGGAGCAGC CTAGCAACTC GGCATGTCC 550
 TAACTGGATG GCCGAGACCT GCGGGCCCTT TACCCTGAGA AAAC TAGAGT 600
 GTTTAAGGCA GGCCACGCCC GAATACTACA GCTGGGAATA ATGCATCACG 650
 ACTGTCTTTG GCGAGGCAGC TCTACACTTT TAATAGGAAC AGTTGGGGGC 700
 ATTCGTACTC AGCAGTCAGA GGTGAAATTC TTGGATTTGC TGAAGACGGA 750
 CTAGTGCAG AAACATTTGCC AAGGATGTTT TCATTAATCG AGAACGAAAG 800
 TTAAGGGATC AAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTCTTAA CCATAAACGA 850
 TGCCGACTAG GGATTGGGAG GACCGTTCAA ATCCTGTCAG CACCTTACGA 900
 GAAATCAAAG TCTTTGGGTT CTGGGGGGAG TATGGTCGCA AGACTGAAAC 950
 TTAAGGAAT TGACGGAAGG GCACCACAAG GAGTGGAGCC TGCGGCTTAA 1000
 TTTGACTCAA CACGGGGAAA CTTACCAGGT CCAGACATAG TCAGGATTGA 1050
 CAGATTGAGA GCTCTTTCTT GATCCTATGG GTGGTGGTGC ATGGCCGTTT 1100
 TTAGTTGGTG GAGTGATCTG TCTGGTAAAT TCCGATAACG AACGAGACCT 1150
 CAACCTGCTA AATAGTTCTA CCCTCCGCAG GGTACAACCTT CTTAGAGGGA 1200
 CTTCCAAGGC TACTTGGAGG AAGTGTGAGG CAATAACAGG TCTGTGATGC 1250
 CCTTAGATGT CCTGGGCCGC ACGCGCGCTA CACTGACGCA GGCATCGAGT 1300
 TCCTTGGCTG ACAAGCCTAG GCAACCTCCA AACTGCGTCG TAGTCGGGAT 1350
 TGACCCTTGC AATTCCTGGT CATGAACCAG GAATTCCTAG TAAGCGCAAG 1400
 TCATCAGCTT GCACTGATTA AGTCCCTGCC CTTTGTACAC ACCGCCGTC 1450
 GCTCCTACCG ATTCCGAGTG ATGAGGTGAA TTTCTCGGAC ACTGGAAGTT 1500
 AAGTGAACCT TATCACTTAG AGGAAGGAGA AGTCGTAAAC AGGTATCCGT 1550
 AGGTGAACCT GCGGATGGAT CATTCACAAT GTCCCCTTAT TTTCAGTTCC 1600
 ATGAAATCAG TTAAGAAAAC AAAGCTGCAA CGATGGATAC CTAGGCTCTG 1650
 GGGTCGATGA AGGACGCAGC AAAGCGCGAA AGGCAATGCG AATTGCAGGA 1700
 CTCCGAGGGT CATTAGATTT CCCAACGCAA CATGCACTCT GGGGAAACTC 1750

AGGGTATGTT CCACTCAGGA TCATGAAACA TACAAATGCA AGCGCGAGGC 1800
 TCTTGCCGAG TCAACTGTTG GCTGGAACAG TGATCTGAGT GGAGCAAGGC 1850
 AACCCGCTGA ACTTAAGCAT ATCAGTAAGC GGAGGAAAAG AAAC TAACAA 1900
 GGATGGCCCT AGTAAAGGCG AGTGAAGCGG CCAAAGCCCA AATGTCAATC 1950
 TTCGGAATTG TAAGGGACAA CGCCAAAAC TGGCTGTAC AGGTCATCAG 2000
 GAAAGATGCA TCGAGGAGGG TGAGAAATCCC GTGCTGACAG CCCGGGTAAAC 2050
 GCGAAGTCA GGGCAGAGTC GTGCAGCTTG GGATTGCTGT ACAAAGTGGG 2100
 AGGTAAACTC CTCTAAGGC TAAATACATC CAGAGCCCGA TAGCGTACAA 2150
 GTACCGTGAG GGAAAGGCGA AAAGCACTTT GGAAAGAGAG TTAAAAGACT 2200
 TGAAATCGTT GCAGAGGAAAG CCGTGCGTCC ATATCGGTTC AATCCAAGGC 2250
 TCCATTCCGT GGAGTTATGG AGAGAAGCAT TTTGGGCGGA CCGTCCCCTC 2300
 TTGAAACACG GGCCAAGGAG TCTATCTCAG TCGCAAGTCG GATCATAGTA 2350
 AATGGTTAGG CGCAATGAAA GTGAACCCGC TAACACGGAG AAAGCGGTTG 2400
 GGATGGGACC CGAAAGATGG TGAGCTATGC TTGGGCAGGA CGAAGCCAGG 2450
 GGAAACTCTG GTGGAGGTTT GAGAAGGTGC TGACGTGCAA ATCGCTCTGT 2500
 GGACCTGAGT ATAGGGGCGA AAGACTCATC GAACCATCTA GTAGCTGGTT 2550
 CCCTCCGAAG TTTCCCCTAG GATAGCTGGG ACCATCAGTG GCATCCGGTC 2600
 AAGCTAATGA GTAGAGGTTT GGGAGGAGTC ACTCCTTCTT CCTATTATCA 2650
 AACTTTAAAT GGGTGCGAAT TGGCTCTTCC AGGCAGAGTC GATTGTTCAT 2700
 GTGCGTCCCT AGTGGGCCAA TCCTGGTAAG CAGGACTGGC GATGAGGGTC 2750
 CAACCTCAAG CTGTGTTAAG GCCACAAACA TCGCCGCCAG TAAAGGCGTT 2800
 AGTCCATTTA GAGAGTAGGA CGGTGGCCAT GGAAGTCGGA ACCCGCTAAG 2850
 AG 2852

16. *Trachelocerca* sp. 3 (ภาพที่ 21) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 2,931 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAGA GATTAAGCCA 50
 TGCATGTGTA AGTGTAAGCA AATTAATGGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT 100
 AAAACAGTGA TAGTTTATTT GATGTATTTT TAGATGGATA ACCGTAGTAA 150
 TTCTAGAGCT AATACATGGA AGTGTGTATT AGATAATCGCC CCTGTGGGAA 200
 CAACAATACA CCCATACCGT ATCGGGAGAT ACGGTGCATC ATTCAAGTTT 250
 CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC 300
 GGGTAACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG 350
 CTACCACATC TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTAATT 400
 CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACAACAA CGGGCTTTGT CTCGTTGATT 450
 GGAATGAGCA CAATGTAAAA GTCTTAGCAA GGACCCACTG GAGGGCAAGT 500
 CTGGTGCCAG CAGCCCGGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT ATATTAAAGT 550
 TGTTGCGGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGA CT TGCATCCTT TTGGAGCAGC 600
 CTAGCAACTC CGCATGTCC TTAGTTGGATG GTGGAGACCT GCGGGCCCTT 650
 TACCTTGAGA AAAATTAGAGT GTTTAAGGCA GGCCACGCC TGAATACTACA 700

GCTGGGAATA ATGCATCACG ACTGTCTTGG CGAGGCAGCT CTACACTTTT 750
 AATAGGAACG GTTGGGGGCA TTCGTA CTCA GCAGTCAGAG GTGAAATTCT 800
 TGGATTTGCT GAAGACGGAC TAGTGCGAAA GCATTTGCCA AGGATGTTTT 850
 CATTAAATCAA GAACGAAAGT TAAGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC 900
 TAGTCTTAAC CATAAACGAT GCCGCC TAGG GATTGGCCAG AACGAACAAA 950
 TCTGGTCAGC ACCTTACGAG AAATCAAAGT CTTTGGGTTC TGGGGGGAGT 1000
 ATGGTCGCAA GACTGAAACT TAAAGGAATT GACGGAAGGG CACCACAAGG 1050
 AGTGGAGCTT GCGGCTTAAT TTGACTCAAC ACGGGGAAAC TTACCAGGTC 1100
 CAGACATAGT CAGGATTGAC AGATTGAGAG CTCTTTCTTG ATCCTATGGG 1150
 TGGTGGTGCA TGGCCGTTCT TAGTTGGTGG AGTGATCTGT CTGGTTAATT 1200
 CCGATAACGA ACGAGACCTC AACCTGCTAA ATAGTTCTAC TCGGGTAAAA 1250
 CTTCTTAGAG GGACTTCCAA GGCTACTTGG AGGAAGTGTG AGGCAATAAC 1300
 AGGTCTGTGG TGCCCTTAGA TGTCCGTGGC CGCACGCGTG CTACACTGAC 1350
 GCAGGCATCG AGTTCCCTGA CTGAGAAAGTC TAGGCAACCT CCAAAC TGGC 1400
 TCGTAGTTGG GATTGACCTT TGCAATTCTT GGTCAATGAAC CAGGAATTCC 1450
 TAGTAAGCGC AAGTCATCAG CTTGC ACTGA TTAAGTCCCT GCCCTTTGTA 1500
 CACACCGCCC GTCGCTCCTA CCGATTCCGA GTGATGAGGT GAATTTCTCG 1550
 GACCTGAAA GTTAAGTGAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGTCCGA 1600
 ACAAGGTATC CGTAGGTGAA CCTGCGGATG GATCATT CAT ATCACTTTCT 1650
 GTCGCATCAA ATCAGAAGAA AATTGCAACC TGCAACGATG GATACCTCGG 1700
 TTCTGGGGTC GATGAAGGAC GCAGCAAAGC GCGAAAAGCA ATGCGAATTG 1750
 CAGGACTCCG AGAGTCATTG GATTTCCCAA CGCAACATGC ACTCTGGGGA 1800
 AACTCAGAGT ATGTTCCACT CAGGATCATG ACACATGTAA TTGCAAGTGC 1850
 GTAGCTCTTG CCGAGTCTCT AATTGGCTTG TTCCAGTGAT CTGAGTGGAG 1900
 CAAGGTTACC CGCTGAACTT AAGCATATCA GTAAGCGGTG GAAAAGAAAC 1950
 TAACAAGGAT GGCCCTCAGTA ACGGCGAGTG AAGCGGCCAA AGCCCAAATG 2000
 TCAATCTTCG GAATTGTAAG GGACGACGCC AACGCTGCGC TGTCAACAAGT 2050
 CATCAGGAAA GATGCATCAC GGAAGGTGAG AATCCTGTGG TGGCAGTTCG 2100
 GTGAACGGCC TAGTCAGGGC AGAGTCGTGC AGCTTGGGAT TGCTGTACAA 2150
 AGTGGGAGGT AAAC TCC TCC TAAGGCTAAA TACACCCAGA GCCCGATAGC 2200
 GCACAAGTAC CGTGAGGGAA AGGCGAAAAG CACTTTGGAA AGAGAGTTAA 2250
 AAGACTTGAA ATCGTTGCAG AGGAAGCCGT GCGTCCATGT GTTCCCAATC 2300
 CAAGGCTTGA TTCCGTGAAG CTATGGAGAG GGTTTTTTGG GCGGACCGTC 2350
 CCGTCTTGAA ACACGGGCCA AGGAGTCTAT CTCAGTCGCG AGTCGGATCA 2400
 TGCAAA TGGT TAGGCGTAAT GAAAAGTGAAC CCGCTAACAC GGAGAAAGCG 2450
 GTTGGGATGG GACCCGAAAAG ATGGTGAGCT ATGCTCGGGC AGGACGAAGC 2500
 CAGGGGAAAC TCTGGTGGAG GTTCGAGAAG GTGCTGACGT GCAAATCGCT 2550
 CTGTGGACCT GAGTATAGGG GCGAAAAGACT CATCGAACCA TCTAGTAGCT 2600
 GGTTCCTCC GAAGTTTCCC TTAGGATAGC TGGGACCTTC AGTGGCATCC 2650
 GGTCAAGCTA ATGAGTAGAG GTTCGGGAGG AGTCACTCCT TCCTCCTATT 2700

ATCAAAC TTT AAATGGG TGC GAATGGG CTC TTCCAGG CAG AGTCTATT GT 2750
 TCATGATT GT CCCTAGT GGG CCATTCC TGG TAAGCAGG AC TGGCGATG AG 2800
 GGCCCAAC CT CAAGCTG CGT TAAGGCC ACG AACATCG TCG GCAGTAAAG G 2850
 CGTTAGTCCA TTTAGACAG T AGGACGG TGG CCATGGAAG T CGGAAACCC G 2900
 TAAGGAGTGT GTAACAAC TC ACCTGCCGAA T 2931

17. *Trachelocerca* sp. 4 (ภาพที่ 22) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 2,807 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAGA GATTAAGCCA 50
 TGCATGTGTA AGTGTAAGCA AATTAATGGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT 100
 AAAACAGTGA TAGTTTATTT GATGTATTTT TAGATGGATA ACCGTAGTAA 150
 TTCTAGAGCT AATACATGGA AGTGTGTATT AGATATCGCC CCTGTGGGAA 200
 CAACAATACA CCCATACCGT ATCGGGAGAT ACGGTGCATC ATTCAAGTTT 250
 CTGCCCTATC AGCTTTCGAT GGTAGTGAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC 300
 GGGTAACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG 350
 CTACCACATC TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTACCC AATCCTAATT 400
 CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACAACAA CGGGCFTTGT CTCGTTGATT 450
 GGAATGAGCA CAATGTAAAA GTCTTAGCAA GGACCCACTG GAGGGCAAGT 500
 CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT ATATTAAAGT 550
 TGTTGCGGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACT TGCAC TCC TT TGAGCAGC 600
 CTAGCAACTC CGCATGTCC TTAGTTGGATG GTGGAGACCT GCGGGCCCTT 650
 TACCTTGAGA AAATTAGAGT GTTTAAGGCA GGCCACGCCT GAATACTACA 700
 GCTGGGAATA ATGCATCACG ACTGTCTTGG CGAGGCAGCT CTACACTTTT 750
 AATAGGAACG GTTGGGGGCA TTCGTACTCA GCAGTCAGAG GTGAAATTCT 800
 TGGATTTGCT GAAGACGGAC TAGTGCGAAA GCATTTGCCA AGGATGTTTT 850
 CATTAAATCAA GAACGAAAAGT TAAGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC 900
 TAGTCTTAAC CATAAACGAT GCCGCC TAGG GATTGGCCAG AACGAACAAA 950
 TCTGGTCAGC ACCTTACGAG AAATCAAAGT CTTTGGGTTT TGGGGGAGT 1000
 ATGGTCGCAA GACTGAAACT TAAAGGAATT GACGGAAGGG CACCACAAGG 1050
 AGTGAGACTT GCGGCTTAAT TTGACTCAAC ACGGGGAAAC TTACCAGGTC 1100
 CAGACATAGT CAGGATTGAC AGATTGAGAG CTC TTTCTT G ATCCTATGGG 1150
 TGGTGGTGCA TGGCCGTCT TAGTTGGTGG AGTGATCTGT CTGGTTAATT 1200
 CCGATAACGA ACGAGACCTC AACCTGCTAA ATAGTTCTAC TCGGGTAAAA 1250
 CTTCTTAGAG GGACTTCCAA GGCTACTTGG AGGAAGTGTG AGGCAATAAC 1300
 AGGTCTGTGG TGCCCTTAGA TGTCC TGGGC CGCACGCGTG CTACACTGAC 1350
 GCAGGCATCG AGTTCC TTGA CTGAGAAGTC TAGGCAACCT CCAAAC TGCG 1400
 TCGTAGTTGG GATTGACCTT TGCAATTCTT GGT CATGAAC CAGGAATTCC 1450
 TAGTAAGCGC AAGTCATCAG CTTGCACTGA TTAAGTCCCT GCCCTTTGTA 1500
 CACACCGCCC GTCGCTCCTA CCGATTCCGA GTGATGAGGT GAATTTCTCG 1550
 GACCC TGAAA GTTAAGTGAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGT CGTA 1600

ACAAGGTATC CGTAGGTGAA CCTGCGGATG GATCATTTCAT ATCACTTTCT 1650
 GTCGCATCAA ATCAGAAGAA AATTGCAACC TGCAACGATG GATACCTCGG 1700
 TTCTGGGGTC GATGAAGGAC GCAGCAAAAGC GCGAAAAGGCA ATGCGAATTG 1750
 CAGGACTCCG AGAGTCATTG GATTTCCCAA CGCAACATGC ACTCTGGGGA 1800
 AACTCAGAGT ATGTTCCACT CAGGATCATG ACACATGTAA TTGCAAGTGC 1850
 GTAGCTCTTG CCGAGTCTCT AATTGGCTTG TTCCAGTGAT CTGAGTGGAG 1900
 CAAGGTTACC CGCTGAACTT AAGCATATCA GTAAGCGGTG GAAAAGAAAC 1950
 TAACAAGGAT GGCCTCAGTA ACGGCAGATG AAGCGGCCAA AGCCCAAATG 2000
 TCAATCTTCG GAATTGTAAG GGACGACGCC AACGCTGCGC TGTCAAGTGC 2050
 CATCAGGAAA GATGCATCAC GGAAGGTGAG AATCCTGTGG TGGCAGTTCG 2100
 GTGAACGGCC TAGTCAGGGC AGAGTCGTGC AGCTTGGGAT TGCTGTACAA 2150
 AGTGGGAGGT AAACCTCTCC TAAGGCTAAA TACACCCAGA GCCCGATAGC 2200
 GCACAAGTAC CGTGAGGGAA AGCGGAAAAG CACTTTGGAA AGAGAGTTAA 2250
 AAGACTTGAA ATCGTTGCAG AGGAAGCCGT GCGTCCATGT GTTCCCAATC 2300
 CAAGGCTTGA TTCCGTGAAG CTATGGAGAG GGTTTTTTGG GCGGACCGTC 2350
 CCGTCTTGAA ACACGGGCCA AGGAGTCTAT CTCAGTCGCG AGTCGGATCA 2400
 TGCAAAATGGT TAGGCGTAAAT GAAAAGTGAAC CCGCTAACAC GGAGAAAGCG 2450
 GTTGGGATGG GACCCGAAAAG ATGGTGAGCT ATGCTCGGGC AGGACGAAGC 2500
 CAGGGGAAAC TCTGGTGGAG GTTCGAGAAG GTGCTGACGT GCAAAATCGCT 2550
 CTGTGGACCT GAGTATAGGG GCGAAAAGACT CATCGAACCA TCTAGTAGCT 2600
 GGTTCCCTCC GAAGTTTCCC TTAGGATAGC TGGGACCTTC AGTGGCATCC 2650
 GGTC AAGCTA ATGAGTAGAG GTTCGGGAGG AGTCACTCCT TCCTCCTATT 2700
 ATCAAACCTT AAATGGGTGC GAATGGGCTC TTCCAGGCAG AGTCTATTGT 2750
 TCATGATTGT CCTTAGTGGG CCATTCCCTG TAAGCAGGAC TGGCGATGAG 2800
 GGCCCAACCT CAAGCTGCGT TAAGGCCACG AACATCGTCG GCAGTAAAGG 2850
 CGTTAGTCCA TTTAGACAGT AGGACGGTGG CCATGGAAGT CGGAACCCGC 2900
 TAAGGAGTGT GTAACAACCT ACCTGCCGAA T 2931

18. *Tracheloraphis* sp. 2 (ภาพที่ 25) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 2,931 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTGATATGC TTGTCTCAAA GATTAAGCCA 50
 TGCATGTGTA AGTGTAAGCT GATTAATAGT GGGACTGCGA ATGGCTCATT 100
 AAAACAGTGA TAGTTTATTT GATGGATTTT TAGATGGATA ACCGTAGTAA 150
 TTCTAGAGCT AATACATGCG CAGTGTGTAT TAGATATCGC CCTTGTGGGA 200
 ACAACGATAC ACCCATACCG TGTCTGGGAGA TACGGTGCAT CATTCAAGTT 250
 TCTGCCCTAT CAGCTTTCGT AGTAGTGTAT TGGACTACCA TGGCAGTGAC 300
 GGGTAACGGA GAATTAGGGT TCGATTCCGG AGAGGGAGCC TGAGAGACGG 350
 CTACCACATC TAAGGAAGGC AGCAGGCGCG CAAATTAACC AATCCTAATC 400
 CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACAACAA CGGGCTTTGT CTCGTTGATT 450
 GGAAATGAGCA CAATGTAAAA GTCTTAGCTA GGACCCACTG GAGGGCAAGT 500

CTGGTGCCAG CAGCCGCGGT AATTCCAGCT CCAGTAGCGT ATATTAAAGT 550
 TGTTGCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGGACT TGCACTCCTT TTGGAGCAGC 600
 CTAGCAACTC CGCATGTCCT TAATTGGATG GCGGAGACCT GCGGGCCCTT 650
 TACCTTGAGA AAAGTAGAGT GTTTAAGGCA GGCCACGCC TGAATACTGCA 700
 GCTGGGAATA ATGCATCACG ACTGTCTTGG CGAGGCAGCT CTACACTTTT 750
 AATGGGAACG GTTGGGGGCA TTCGTA CTCA GCAGTCAGAG GTGAAATTCT 800
 TGGATTTGCT GAAGACGGAC TAGTGCAGAA GCATTTGCCA AGGATGTTTT 850
 CATTAA TCAA GAACGAAAGT TAAGGGATCA AAGACGATCA GATACCGTCC 900
 TAGTCTTAAC CATAAACGAT GCCAACTAGG GATTGGCAAG AACGTACAAA 950
 TCTTGT CAGC ACCTTACGAG AAATCAAAAGT CTTTGGGTTC TGGGGGGAGT 1000
 ATGGTCGCAA GACTGAAACT TAAAGGAATT GACGGAAGGG CACCACAAGG 1050
 AGTGGAGCCT GCGGCTTAAA TTGACTCAAC ACGGGGAAAAC TTACCAGGTC 1100
 CAGACATAGT CAGGATTGAC AGATTGAGAG CTCTTCTTTG ATCCTATGGG 1150
 TGGTGGTGCA TGGCCGTTCT TAGTTGGTGG AGTGATCTGT CTGGTTAATT 1200
 CCGATAACGA ACGAGACCTC AACCTGCTAA ATAGTTCTAC TCGGGTACAA 1250
 CTTCTTAGAG GGACTTCCAA GGTTACTTGG AGGAAGTGTG AGGCAATAAC 1300
 AGGTCTGTGA TGCCCTTAGA TGTCC TGGGC CGCACGCGCG CTACACTGAC 1350
 GCAGGCATCG AGTTCCCTTGA CTGAGAAGTC TAGGCAACCT CCAAAC TGGC 1400
 TCGTAGTTGG GATTGACCC TGC AATTCTT GGT CATGAAC CAGGAATTCC 1450
 TAGTAAGCGC AAGTCATCAG CTTGC ACTGA TTAAGTCCCT GCCCTTTGTA 1500
 CACACCGCCC GTCGCTCCTA CCGATTCCGA GTGATGAGGG GAA TTTCTCG 1550
 GACCCTGAAA GTTAAGTGAA CCTTATCACT TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA 1600
 ACAAGGTATC CGTAGGTGAA CCTGCGGATG GATCATT CAT ATGACTTTCT 1650
 GTTTCATCAG ATCATTCTAA AATTGAAAAGC TGCAACGATG GATACCTAGG 1700
 TTCTGGGGTC GATGAAGGAC GCAGCAAAGC GCGAAAAGGCA ATGCGAATTG 1750
 CAGGACTCCG AGAGTCATTA GATTTCCCAA CGCAACATGC ACTCTGGGGA 1800
 AACTCAGAGT ATGTTCCACT CAGGATCATG ATACATAGAA ATGCAGGCGC 1850
 GTAGCACTTG CTGAGTCCAT GATTGGATGT TTCAGTGATC TGAGTGGAGC 1900
 AAGGCCACCC GCTGAACTTA AGCATATCAG TAGGCGGAGG AAAAGAAACT 1950
 AACAAAGGATG GCCTCAGTAA CGGCGAGTGA AGCGGCCAAA GCCCAAATGT 2000
 CAATCTTCGG AATTGTAAGG GACAACGCCA ACGCCTTGCT GTCACAAGTC 2050
 ATCAGGAAAG ATGCATCAAG GAAGGTGAGA ATCCTGTGGT GACAGTGAGG 2100
 TTAACGGCGA AGTCAAGGCA GAGTCGTGCA GCTTGGGATT GCTGTACAAA 2150
 GTGGGAGGTA AACTCCTCCT AAGGCTAAAT ACACCCAGAG CCCGATAGCG 2200
 CACAAGTACC GTGAGGGAAA GCGGAAAAGC ACTTTGGAAA GAGAGTTAAA 2250
 AGACTTGAAA TCGTTGCAGA GGAAGCCGTG CGTCCATATT GTCTCAATCC 2300
 AAGGCTTCAT TCCGTGAAGT TATGGAGAGA GTTTTCTTGG GCGGACCGTC 2350
 CCGTCTTGAA ACACGGGCCA AGGAGTCTAT CTCAGTCGCG AGTCGGATCA 2400
 TGCAAA TGGT TAGGCGCAAT GAAAGTGAAC CCGCTAACGC GGAGAAAGCG 2450
 GCTGGGATGG GACCCGAAAG ATGGTGAGCT ATGCTCGGGC AGGACGAAGC 2500

CAGGGGAAAC TCTGGTGGAG GTTCGAGAAG GTGCTGACGT GCAAATCGCT 2550
 CTGTGGACCT GAGTATAGGG GCGAAAGACT CATCGAACCA TCTAGTAGCT 2600
 GGTTCCCTCC GAAGTTTCCC TTAGGATAGC TGGGACCATC AGTGGCATCC 2650
 GGTCAAGCTA ATGAGTAGAG GTTCGGGAGG AGTCACTCCT TCCTCCTATT 2700
 ATCAAACTTT AAATGGGTGC GAAATTGGCTC TTCCAGGCAG AGTCCATTGT 2750
 TCATGTGCGT CCCTAGTGGG CCAATCCTGG TAAGCAGGAC TGGCGATGAG 2800
 GGTTCAACCT CAAGCTGCGT TAAGGCCACA AACATCGTCG GCAGTAAAGG 2850
 TGTTAGTCCA TTTAGACAGT AGGACGGTGG CCATGGAAGT CGGAAACCGC 2900
 TAAGGAGTGT GTAACAACCT ACCTGCCGAA T 2931

19. *Uronema marinum* (ภาพที่ 71) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 1 สาย ความยาว 3,463 คู่เบส [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

ACCTGGTTGA TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAAA AATTAACACA 50
 TGCATGTCTA AGTATAAATA GTATACAGTG AAAC TGCGAA TGGCTCATTA 100
 AAACAGTTAT AGTTTATTTG ATAAATGGAAA GCTACATGGA TAACCGTGGT 150
 AATTCTAGAG CTAATACATG CTGTCAAGCC TGACTTCTCG GAAGGGCTGT 200
 ATTTATTAGA TATCAAGCCA ATATTCCCTC GGGTCTATTG TGGTGAATCA 250
 TAGTAACTGA TCGAATCCCTC AAAGGATAAA TCATTCAAGT TTCTGCCCTA 300
 TCAGCTTTTCG ATGGTAGTGT ATTGGACTAC CATGGCATT ACGGGTACGG 350
 AGAATTAGGG TTCGGTCCG GAGAGGGAGC CTGAGAAAACG GCTACCACAT 400
 CTAAGGAAGG CAGCAGTGGT GAAAAATTACC CAATCCTGAT TCAGGGAGGT 450
 AGTGACAAGA AATAGAAATC TGGGCCACTT CTGTGGTTAC GGAATTTAAA 500
 TGAGAACAAT TTA AAA GACT TATCGAGGAA CAATTGGAGG GCAAGTCTGG 550
 TGCCAGCAGC CGCGGTAATT CCAGCTCCAA TAGCGTATAT TAAAGTTGTT 600
 GCAGTTAAAA AGCTCGTAGT TGAAC TTCTG TACAGTCTCA CTTCTGGCTT 650
 CGGTC AAGGT GTTGGCTGTG CATCCGCTTG CAAAGCTGGT TCGGCCTTAA 700
 CTGGTCGGCT AGTAGAGTAA GCCCTTTACT TTGAAAAAAT TAGAGTGTTT 750
 CAGGCAGGCA ATGGCTCGAA TACATTAGCA TGGAA TAATG GAATAGGACT 800
 TTTGTCCATT TGGTTGGTTA TTGGACTTAA GTAATGATTA AAAGGGACAG 850
 TTGGGGGCAT TGGTATTTAA CAGTCAGAGG TGAAA TTCTT GGATTTGTTA 900
 AAGACTAACT TATGCGAAAAG CATTGCCAA GGATGTTTTT ATTAATCAAG 950
 AACGAAAGTT AGGGGATCAA AGACGATCAG ATACCGTCCT AGTCTTAACT 1000
 ATAAACTATA CCGACTCAGA ATCGGAATGG CCTTTC AAAC TATTCCGGCG 1050
 CTGTATGAGA AATCAAAGTC TTTGGGTTCT GGGGGGAGTA TGGTCGCAAG 1100
 GCTGAAACTT AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACCAGGC GTGGAACCTG 1150
 CGGCTTAATT TGA CTCAACA CGGGGAAACT TACGAGCGCA AAAC TAGGGT 1200
 AGGATTGACA GATTGAGAGC TCTTCTTGA TTCTTAGGGT GGTGGTGCAT 1250
 GGCCGTCTT AGTTGGTGGG GTGATTTGTC TGGTTAATTC CGTTAACGAA 1300
 CGAGACCTTA ACCTGCTAAA TAGTACGTTG ATCTTTAATT GCGTTACTT 1350
 CTTAGAGGGA CTATGTGTAT TGAAACACAT GGAAGTTTGA GGCAATAACA 1400

GGTCTGTGAT GCCCTTAGAT GTGGTCGGCC GCACGCGCGT TACAATGATA 1450
AATTCAGAAA GTTTACCTGG TTCGGAAGAA TTCAGGGTAA TCTTTGTAAT 1500
ATTTATCGTG TTAGGGATCG ATCTTTGCAA TTATAGATCT TGAACGAGGA 1550
ATGCCTAGTA AGTGCGCTTC ATCAGAGCGT ACTGATTACG TCCCTGTCC T 1600
TTGTACACAC CGCCCGTCGC TCCTACCGAT TTCGAATTAT CCGGTGAACC 1650
TTCTGGACTG AAGTGGCAAC ACATCGGGAA GTTAGGTAAA CTTTATAATT 1700
TAGAGGAAGG AGAAGTCGTA ACAAGGTTTC CGTAGGTGAA CCTGCGGAAG 1750
GATCATTAAAC AAAAAATGAA TTACCTTAAC TTAAGTGCTT TGGAGGGTGA 1800
AAAAGTTTAG GCTTGGAAC CCCCCAATCA TTTAATTTAA ACTTTTTATA 1850
AAAATAAAA TAAATTTTTA AATAAAATCA ATTATTTAAT TAAAAATTT 1900
CAACGGTGGA TATCTTGGTT CCCATATCGA TGAAGAACGC AGCCAAATGC 1950
GATACGTAAT GCGAATTGCA GAATTCGCG AGTCATCAA TCTTTGAACG 2000
CAATTGGCGC TTGGGC AAAAC AATAACCAAG CATGTTTGT TCCAGTGTATT 2050
AGGAATCATA CATAATAATG TGATTGAAAAG GCAACTTTCT CTCACTAAAT 2100
TCGTAAGCGC TGAATCGTTC AGTGTCATC GAAGTAGTCA CTTCTCGCAA 2150
GTGATCTCGA TCTGACTATA CTGGAGATTC ACTAAAGCGA CTTATTAAAA 2200
TTATTATTTT TCCATTCAAT ACCTGAAAATC AAGCAAGAAC ACCCGCTGAA 2250
CTTAAGCATA TCAGTAAGCG GAGGAAAAGA AACTAACTAG GATTGCCCA 2300
GTAGCGGCGA GTGAACAGGC AAAAGCTCAA GTTGAAAATC CTTGGCACAA 2350
AGTTAAGGAA TTGTAATCTA GAGAGGATGT TCGGAGGGGA TGGTCGTAGC 2400
ATAAGTTCTT TGGAACAGGA CGTCATAGAG GGTGAAAACC CCGTAGTCGG 2450
CTACTACCGG ATCTAACGAA TGTTTTCGAA GAGTCGGGTT GTTTGGGATT 2500
GCAGCCCTAA ATGGGAGATA AACTTCTTCT AAAGCTAAAT ATTTATGGGA 2550
AACCGATAGC GAACAAGTAC TCGGAAGGAA AGGTGAAAAG AACTTTGAAA 2600
AGAGGGTTAA AAGACTTGAA ATCGTTGAGA AGGAAGTGGT TAAAGAGTAA 2650
TCATTTGTAT ACGATAAATG TTTTCGCTTCC CTGGCTTTGG CATGCTTTAG 2700
TACTTCATAG GCTGTGTGTG TCAAACGTTA GGTAGCTAGG CTGTCTTCGT 2750
ATGCAAGAGG CAACATGAAG TTTGGAGCCG GGAATAAACT AGTAGAACGC 2800
CCCAGCAATG GAGTCTATTA GTGAAAACGG CATCGAGCTT GAGGGGCCGT 2850
AGGGCGATGT TGTCAAAATG GCTTTAACTG TCCCGTCTTG AAACACGGTC 2900
CATGGAGTGT AACCTACCGG CAAGTGTTAG GGTGGAAAAA CCCGAACGCA 2950
TAAGGAAACT AAGGATAAGT TGTTTACAGC AACAGCGGAC CTAGCGTCTC 3000
TGACAAAGGG CTCCAGCAAG AGCGAGTATG TTACGACCCG AAAGATGATG 3050
AACTTTACTT GAGTAGGGTG AAGCCAGGGG AAACCTCTGGT GGAAGCTCGC 3100
AAGATCTTCT GACGTGCAAA TCGATTTCCA AACTTGAGTA AAGGGGCGAA 3150
AGACTAATCG AATCATCTAG TAGCTGGTTC CCTCTGAAGT TTCTCTCAGG 3200
ATAGCTGGAA CAAACCAAGC AGTTTTATTA GGTAAAGCGA ATGATTAGAG 3250
GAATCGGAGC TCAAAAGAGT TTGACCTATT CTCAAACTTT AAATTTGGTAA 3300
GAACCGGGGG TTAACCTAAT TGAACTCTG GGCAGAAATG TTGTTCCAAG 3350
TGGGCCATTT TTGGTAAGCA GAACTGGCGA TGAGGGATGA ACCTAACGCT 3400

TAGATAAGGT TCCTAAGTAT GCATTCATGA GATCCCACAA AAGGTGTTGG 3450
 TTCATTAACA CAG 3463

20. *Uronychia transfuga* (ภาพที่ 48) มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการระบุอัตลักษณ์ จำนวน 3 สาย ได้แก่ 1(3-1), 2(3-2) และ 3(3-3) แต่ละสายมีความยาว 3,541, 3,544 และ 3,542 คู่เบส ตามลำดับ [นิวคลีโอไทด์ที่ขีดเส้นใต้ คือ ตำแหน่งเริ่มต้น และตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด]

1 (3-1)	<u>ACCTGGTTGA</u> TCCTGCCAGT AGTCATATGC TTGTCTCAA GACTAAGCCA	50
2 (3-2)	50
3 (3-3)	50
1 (3-1)	TGCATGTCTA <u>AGTATAAGCG</u> ATATACAGTG AACTGCGAA TGGCTCATTA	100
2 (3-2) C	100
3 (3-3)	100
1 (3-1)	<u>AAACAGTTAT</u> AGTTTATTTG ATAAATGGAAT TTTATATGGA TAACCGTAGT	150
2 (3-2)	150
3 (3-3)	150
1 (3-1)	<u>AATTC</u> TAGAG CTAATACATG CTGTTTAGCC CGACTTATCG GAAGGGCTGT	200
2 (3-2)	200
3 (3-3)	200
1 (3-1)	<u>ATTTATTAGA</u> TAACAAACCA ATATTCCCTC GGGTCTATTG TGATGAATCA	250
2 (3-2)	250
3 (3-3)	250
1 (3-1)	<u>TAGTAACTGT</u> TCGAATCGCA TGGGCTTTGC CCGCGATAAA TCATTCAAGT	300
2 (3-2)	300
3 (3-3) A	300
1 (3-1)	<u>TTCTGCCCCA</u> TCAGCTTGAT GGTAGTGAT -GGACTACCA TGGCACTCAC	349
2 (3-2) T	350
3 (3-3) T	350
1 (3-1)	GGGTAACGGA GAATTAGGGT <u>TCGATTCCGG</u> AGAGGGAGCC TGAGAAACGG	399
2 (3-2)	400
3 (3-3)	400

1 (3-1)	CTACCAATC TAAGGAAGGC AGCAGGCGC TAAATTACCC AATCCTAATT	449
2 (3-2)	450
3 (3-3)	450
1 (3-1)	CAGGGAGGTA GTGACAAGAA ATAACAGGCC GGTGCTTGC ATCGTGTTG	499
2 (3-2)G.....T.....	500
3 (3-3)	500
1 (3-1)	CAATGAGTTT AATCCAAATC CCTTTTCGAG TAACAATTGG AGGGCAAGTC	549
2 (3-2)	550
3 (3-3)	550
1 (3-1)	TGGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATTCCAGCTC CAATAGCGTA TATTAAAGTT	599
2 (3-2)	600
3 (3-3)G.....	600
1 (3-1)	GTTGCAGTTA AAAAGCTCGT AGTTGGATTT CTGAAGGCGC GACAATGTCC	649
2 (3-2)	650
3 (3-3)	650
1 (3-1)	GCTGATTGCG TGTGCAGCGT TGCTCTTICA TCCTTCTGTT AACGTTTCTT	699
2 (3-2)	700
3 (3-3)	700
1 (3-1)	GGCATTATTT TGCTGGTTTC GGGCTCAGAT ATTTTACCTT GAGAAAATTA	749
2 (3-2)	750
3 (3-3)	750
1 (3-1)	GAGTGTTC A GGCAGGCTTG TGCTGGAATA CATTAGCATG GAATAATGGA	799
2 (3-2)	800
3 (3-3)	800
1 (3-1)	AAAGGACTTT GGTCTCTTTT GTTGGTTTGA GGGACCTCAG TAATGATTAA	849
2 (3-2)	850
3 (3-3)	850
1 (3-1)	TAGGGATAGT TGGGGGCATT AGTATTTAAT TGTGAGAGGT GAAATTCCTA	899
2 (3-2)G.....	900
3 (3-3)	900

1 (3-1)	GATTTGTTAA AGACTAACTT ATGCGAAAGC ATTTGCCAAG GATGTTTTCA	949
2 (3-2)	950
3 (3-3)	950
1 (3-1)	TTAATCAAGA ACGAAAGTTA GGGGATCAAA GACGATCAGA TACCGTCCTA	999
2 (3-2)	1000
3 (3-3)	1000
1 (3-1)	GTCTTAACCA TAAACTATGC CAACTAGGGA TCGGAGGAGT GTGTTTTTCC	1049
2 (3-2)A.....	1050
3 (3-3)	1050
1 (3-1)	TCCTTCGGCA CCTTATGAGA AATCAAAGTC TTTGGGTTCT GGGGGGAGTA	1099
2 (3-2)G.....	1100
3 (3-3)	C.....	1100
1 (3-1)	TGGTCGCAAG GCTGAAACTT AAAGGAATTG ACGGAAGGGC ACCACCAGGA	1149
2 (3-2)	1150
3 (3-3)	1150
1 (3-1)	GTGGAGCTTG CGGCTCAATT TGA CTCAACG CGGGGAAACT TACCAGGTCC	1199
2 (3-2)	1200
3 (3-3)	1200
1 (3-1)	AGACATAGGA AGGATTGACA GATTGATAGC TCTTCTTGA TTCTATGGGT	1249
2 (3-2)	1250
3 (3-3)	1250
1 (3-1)	GGTGGTG CAT GGCCGTTCTT AGTTGGTGA GTGATTTGTC TGGTTAATTC	1299
2 (3-2)C.....	1300
3 (3-3)	1300
1 (3-1)	CGTTAACGAA CGAGACCTTA GCCTGCTAAA TAGTCAATTT CCTATCAGGA	1349
2 (3-2)	1350
3 (3-3)	1350
1 (3-1)	ATTTGACTT CTTAGAGGGA CTTTGTGATC TAAACACAAG GAAGTTTGAG	1399
2 (3-2)	1400
3 (3-3)	1400

1 (3-1)	AACGATGGAT ATCTTGGCTC CCACTACGAT GAAGAACGCA GCGAAGTGCG	1949
2 (3-2)	1950
3 (3-3)	1950
1 (3-1)	ATAAGCAATG CGAATTGCAG AACCGTGAAT CATTAGAATT TTGAACGCAA	1999
2 (3-2)	2000
3 (3-3)	2000
1 (3-1)	ATGGCGCCAT TCGGTTCTCC GTTTGGCACA CTTGTTTCAG TGTCTTTTTA	2049
2 (3-2)	2050
3 (3-3)	2050
1 (3-1)	AAC TTGACCT AAATCATAAT GCAAGGGATG TAGTTCCTCTT GTTAAATGCG	2099
2 (3-2)	2100
3 (3-3)	2100
1 (3-1)	AAAGCATACT GATCTTTGCA TGTGACAGTT CGCTGTCACA CTCAATGCAG	2149
2 (3-2)	2150
3 (3-3)	2150
1 (3-1)	CAGTCACCTT GTGTGAACTC ATTGAGAGTA AAGTCAGAGC GACGAAAGTT	2199
2 (3-2)	2200
3 (3-3)	2200
1 (3-1)	GCGTTATGCT TAGAGCTACT AAC TTTTCT GTATCTGAAA TCAAGTGAGA	2249
2 (3-2)	2250
3 (3-3)	2250
1 (3-1)	TTACCCGCTG AAC TTAAGCA TATCACTAAG CGGAGGAAAA GAAACTAACT	2299
2 (3-2)	2300
3 (3-3) C.....	2300
1 (3-1)	AAGATTGCCT CAGTAGCGGC GAGCGAAGCG GCAAGAGTCC AACCTGTAAA	2349
2 (3-2)	2350
3 (3-3)	2350
1 (3-1)	TCTCTGGTCT TCGGCCAGCG AATTGTAATC TACAGGGGCG CGCTGACAAG	2399
2 (3-2)	2400
3 (3-3)	...C.....	2400

1 (3-1)	TGAGTTGGTG CATAAGTGCC TTGGCATAGG CCGCCAGAGA AGGTAACAGC	2449
2 (3-2)	2450
3 (3-3)	2450
1 (3-1)	CCTGTCTTTG GTGCTAACTT GCTCTAAGTG TGCTTACGAC GAGTCGGGTT	2499
2 (3-2)	2500
3 (3-3)	2500
1 (3-1)	GTTTGGTACC TGCAGCCCTA ATTGGGAGAT AAACCTCTTC TAAGACTAAA	2549
2 (3-2)	2550
3 (3-3)G.....	2550
1 (3-1)	TACTCGTGGG AGACCGATAG CGAACCAAGTA CTGTGAAGGA AAGATGAAAA	2599
2 (3-2)	2600
3 (3-3)	2600
1 (3-1)	GAACTTTGAA AAGAGAGTTA ACAGACTTGA AATTGTTGAG GTGGAAGCGG	2649
2 (3-2)	2650
3 (3-3)	2650
1 (3-1)	TAGAAATTCA TTATTCTACG ATGAGCTAGA GAGTTCCGCC TAACTGTCGG	2699
2 (3-2)	2700
3 (3-3)	2700
1 (3-1)	AGTGCGTGTG CACTGCTAAA GGCAC TGTAT TTCGTT CAGG GAAGCGTGCT	2749
2 (3-2)	2750
3 (3-3)	2750
1 (3-1)	TGTCGTTCTA CGTGGATAGA CAAGATGAAG TTGTTCCCTC TCACAAGTTT	2799
2 (3-2)	2800
3 (3-3)	2800
1 (3-1)	CCTGAGTCTC TTGGCTTCGG TCATGGCTCA GGTTCCCTGT TGGAGGACAG	2849
2 (3-2)	2850
3 (3-3)	2850
1 (3-1)	CTTGAGGGGC CATGTGCGAT CTTGTCAAAA TGGTTTCTAC CGGCCCGTCT	2899
2 (3-2)	2900
3 (3-3)	2900

1 (3-1)	TGAAACACGG ACCAAGGAGT CTAACATATA TGCGAGTGTG CTGGTGCAAA	2949
2 (3-2)	2950
3 (3-3)	2950
1 (3-1)	AACTAACACG CGGAATGAAA GTGATCGATG CCACGGAGCA ATCCTACAGC	2999
2 (3-2)	3000
3 (3-3)	3000
1 (3-1)	ATCGGCCGAC CATGATCCTC TGGTGAAAGG TTTGAGTATG AGCATATCTG	3049
2 (3-2)	3050
3 (3-3)	3050
1 (3-1)	TTAGGACCCG AAAGATGGTG AACTATGCCT GAGTAGGGTG AAGCCAGAGG	3099
2 (3-2)G..	3100
3 (3-3)	3100
1 (3-1)	AAACTCTGGT GGAGGCTCGT AGCGATTCTG ACGTGCAAAT CGATCGTCGA	3149
2 (3-2)	3150
3 (3-3)	3150
1 (3-1)	ACTTGGGTAT AGGGGCGAAA GACTAATCGA ACCATCTAGT AGCTGGTTCC	3199
2 (3-2)	3200
3 (3-3)	3200
1 (3-1)	CTCCGAAGTT TCCCTCAGGA TAGCTGAGAC ATTATGCAGT TTTATTAGGT	3249
2 (3-2)	3250
3 (3-3)	3250
1 (3-1)	AAAGCGAATG ATTAGAGGCC TCGGGATTGT AATGATCTCG ACCTATTCTC	3299
2 (3-2)	3300
3 (3-3)	3300
1 (3-1)	AAACTTTAAA TTGGTAAGAA CCCTGGGCTT CTTAACTGAG TGCCAGGGGC	3349
2 (3-2)	..G.....	3350
3 (3-3)	3350
1 (3-1)	AGAATGCATG TCTTAAGTGG GCCATTTTTG GTAAGCAGAA CTGGCGATGA	3399
2 (3-2)	3400
3 (3-3)	3400

1 (3-1)	GGGATGCTCC TAACGCTGAG TTAAGGTGCC CAACTGTACG CTCATCAGAT	3449
2 (3-2)	3450
3 (3-3)	3450
1 (3-1)	ACCAGAAAAG GTGTTAGTTC ATCTAGACAG CAGGACGGTG GCCATGGAAG	3499
2 (3-2)	3500
3 (3-3)	3500
1 (3-1)	TCGGAACCCG CTAAGGAGTG TGTAACAACCT CACCTGCCGA AT	3541
2 (3-2)	3542
3 (3-3)	3542



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุชา เฉยศิริ เกิดวันที่ 11 มิถุนายน พ.ศ. 2531 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2552 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโทในสาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2553

ผลงาน

สุชา เฉยศิริ ชิตชัย จันทร์ตั้งสี่ และ มาลินี ฉัตรมงคลกุล. 2554. ความหลากหลายและการกระจายตัวของโพรทิสต์ในหาดทรายชายฝั่งทะเลบริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. ใน การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 5 "ทรัพยากรไทย: ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ". หน้า 36-47. ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อ.เมือง จ.นครราชสีมา.

สุชา เฉยศิริ มาลินี ฉัตรมงคลกุล และชิตชัย จันทร์ตั้งสี่. 2556. การเปิดเผยความหลากหลายของซิลิเอตที่ถูกซ่อนเร้น: กรณีศึกษาซิลิเอตที่อาศัยตามทรายชายฝั่งทะเล พื้นที่หาดลูกกลม เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย. ใน การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 6 "ทรัพยากรไทย: นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก". หน้า 279-287. เชื้อนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี.

Choeisiri, S., and Chantangsi, C. 2014. Exploring diversity of marine interstitial ciliates at Look-Lom Beach, Samaesarn Island, Thailand using combined morphological and molecular data. in 18th Biological Sciences Graduate Congress (BSGC). pp. 192. University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia.