รายงานเรื่องเต็ม ผลการทดลองสิ้นสุด ปีงบประมาณ 2563

1. **แผนงานวิจัย** วิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชและจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม
2. **โครงการวิจัย** ความหลากหลายทางชีวภาพและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของพืชที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ
3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** ดีเอ็นเอบาร์โค้ดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัว
   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) DNA Barcoding and Genetic Diversity of Lotus
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวอรุโณทัย ซาววา	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นายอรรถพล รุกขพันธ์	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง
	นางอัญชลี แก้วดวง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	นางสาวสุดใจ ล้อเจริญ	ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
	นางสาวกาญจนา พฤษพันธุ์	สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช
	นางสุภาภรณ์ สาชาติ	สถาบันวิจัยพืชสวน

5. **บทคัดย่อ**

บัวเป็นพืชล้มลุกนอกจากมีความสวยงามใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับได้แล้ว ยังมีประโยชน์และคุณค่าทางสมุนไพร ซึ่งประเทศไทยมีศักยภาพสูงในการผลิตบัวในระดับชั้นนำของโลกได้ อย่างไรก็ตามการพัฒนาสายพันธุ์บัวของไทยยังขาดข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมและข้อมูลชีวโมเลกุล การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัว ผลการทดลองพบว่า ไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืช ได้แก่ ยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในตัวอย่างบัวทั้ง 2 ชนิด คือ บัวสาย (*Nymphaea lotus*) และ บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) จำนวน 34 ตัวอย่าง มีขนาดแถบดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรสประมาณ 750 950 650 และ 450 คู่เบส เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx โดยสร้างแผนผังพันธุกรรม แบบ ML (Maximum Likelihood) สามารถแยกกลุ่มพันธุกรรมของตัวอย่างบัวสายออกจากบัวหลวงได้อย่างชัดเจน โดยมีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดจากยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* อยู่ที่ 0.481 0.207 0.030 และ 0.082 ตามลำดับ การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของตัวอย่างบัว ได้คัดเลือกชิ้นส่วนยีน *ITS* และ *rpoC1* มาใช้กับตัวอย่างบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ทั้งหมด จำนวน 162 ตัวอย่าง แบ่งเป็นบัวหลวง 110 ตัวอย่าง และบัวสาย 52 ตัวอย่าง โดยยีน *ITS* มีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดอยู่ที่ 1.08 และยีน *rpoC1* มีค่า 0.08 ทั้งนี้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างบัวทั้งหมดจะนำไปลงทะเบียนในฐานข้อมูล NCBI ต่อไป อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงร่วมกับการลงทะเบียนจะช่วยความน่าเชื่อถือมากขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

Lotus is an annual plant with a beautiful flower, can be used as an ornamental plant, and also has benefits of medicinal value. Thailand has high potential for lotus crop production at the world leading level. However, the development of Thai lotus varieties lacks genetic diversity and biomolecular data. This research aims to study of DNA barcode and genetic diversity in lotus. Results, the universal primers of a partial from *ITS matK rpoC1* and *RbcL* gene, could be generated DNA product in 34 samples of both *Numphaea lotus* and *Nelumbo nucifera.* The DNA band size approximately 750 950 650 and 450 bp respectively. The genetic relationship was analyzed with the MEGAx program by generating ML (Maximum Likelihood). It was clearly separate the genotype of *Numphaea lotus* from *N. nucifera.* The highest genetic distance index of *ITS matK rpoC1* and *RbcL* were 0.481 0.207 0.030 and 0.082 respectively. The *ITS* and *rpoC1* fragments were selected to prepare the DNA barcode of 162 samples, 101 samples of *Numphaea lotus* and 52 samples of *Nelumbo nucifera.* The ITS and rpoC1 results showed that highest genetic distance index at 1.08 and 0.08 respectively. All lotus nucleotide sequences will further registered in the NCBI database. However, the DNA barcode registration with voucher specimens will provide more credibility.

6. คำนำ

ประเทศไทยมีศักยภาพสูงในการผลิตไม้ดอกไม้ประดับจนสามารถเป็นสินค้าส่งออก เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศที่เอื้ออำนวย ต้นทุนด้านการผลิตต่ำ เกษตรกรและผู้ปลูกเลี้ยงมีความมุ่งมั่นในการพัฒนาสายพันธุ์อยู่ตลอดเวลา บัวจึงพืชอีกชนิดหนึ่งที่ไทยสามารถผลิตได้ในระดับชั้นนำของโลก นอกจากจะมีความสวยงามจนใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับได้แล้ว ยังเป็นพืชที่มีประโยชน์และคุณค่าทางสมุนไพรด้วย อย่างไรก็ตามการพัฒนาสายพันธุ์บัวของไทย ยังมีข้อจำกัดของการผลิตอีกมาก เช่น ความรู้ด้านเทคโนโลยี การศึกษาการใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าและเทคโนโลยีการขยายพันธุ์ เทคโนโลยีภายหลังการเก็บเกี่ยว การคุ้มครองทรัพย์สินทางปัญญา ตลอดจนการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของชนิดและสายพันธุ์ รวมถึงการจัดทำฐานข้อมูลชีวโมเลกุล ซึ่งเป็นปัญหาที่จำเป็นต้องได้รับการแก้ไข เพื่อให้ประเทศไทยได้อยู่ในสถานภาพผู้นำด้านบัวของโลก

จากความก้าวหน้าทางชีววิทยาโมเลกุล ทำให้เกิดเทคนิคใหม่ๆ ขึ้นมากมายที่เป็นประโยชน์ต่อการพิสูจน์ทราบหรือพิสูจน์เอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการนำเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของพืชและจัดทำฐานข้อมูลชีวโมเลกุล จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้อาทิเช่น Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis, Diagnostic Polymerase Chain Reaction (PCR), Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP), PCR-Restriction Fragment Length Polymorphisms (PCR-RFLP) ซึ่งเทคนิคต่างๆ เหล่านี้มีข้อดีและข้อจำกัดต่างๆ กันไป นอกจากเทคนิคข้างต้นแล้ว การทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA

barcoding) เป็นอีกหนึ่งเทคนิคที่กำลังได้รับความสนใจ เพราะเป็นเทคนิคที่ใช้ในการจำแนกชนิดสิ่งมีชีวิต ซึ่งเดิมใช้การจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการจำแนกด้วยลักษณะรูปร่างมีข้อจำกัดในเรื่องของรูปร่างที่ใกล้เคียงกันมากแต่เป็นคนละชนิด ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ดีเอ็นเอบาร์โค้ดจึงเริ่มพัฒนาขึ้นจากการจำแนกสิ่งมีชีวิตที่เป็นสัตว์และแมลง โดยใช้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน Cytochrome oxidase subunit I (COI) ที่อยู่ในไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างชนิดสูงกว่าความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดเดียวกัน จึงเหมาะในการสร้างไพรเมอร์จากด้านปลาย 5’ ของดีเอ็นเอที่เป็นบริเวณอนุรักษ์ สามารถนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ง่ายด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ต่อมาจึงได้นำมาประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวกับพืช โดยกลุ่มยีนที่สนใจเป็นดีเอ็นเอของพลาสติด เช่น ยีนบนคลอโรพลาสจีโนม ได้แก่ *maturase K (matK) rubisco L (rbcL)* เป็นต้น ดีเอ็นเอบาร์โค้ดได้รับความสนใจมาก เพราะมีประสิทธิภาพ และความแม่นยำ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ในระยะเวลาอันสั้น ช่วยยืนยันการจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาให้เป็นไปอย่างถูกต้อง รวดเร็ว รวมทั้งเป็นประโยชน์สำหรับการค้นคว้าวิจัยด้านวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางชีวภาพ รวมถึงการอนุรักษ์พันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย

บัวเป็นพืชล้มลุก ลักษณะลำต้นมีทั้งที่เป็นเหง้า ไหล หรือหัว ใบเป็นใบเดี่ยวเจริญขึ้นจากลำต้น โดยมีก้านใบส่งขึ้นมาเจริญที่ใต้น้ำ ผิวน้ำ หรือเหนือน้ำ รูปร่างของใบส่วนใหญ่กลมมีหลายแบบ บางชนิดมีก้านใบบัว บัวเป็นราชินีแห่งไม้น้ำ จัดเป็นพันธุ์ไม้น้ำที่ถือเป็นสัญลักษณ์ของคุณงามความดี บัวหลวงชอบขึ้นในน้ำจืด ออกดอกตลอดปี ชอบน้ำสะอาด อยู่ในน้ำลึกพอสมควร จะเริ่มบานตั้งแต่ตอนเช้า ก้านดอกยาวมีหนามเหมือนก้านใบ ชูดอกเหนือน้ำ และชูสูงกว่าใบเล็กน้อย กลีบเลี้ยง 4-5 กลีบ สีขาวอมเขียว หรือเทาชมพู ร่วงง่าย กลีบดอกจำนวนมากเรียงซ้อนหลายชั้น เกสรตัวผู้มีจำนวนหลายสี นักพฤกษศาสตร์ แบ่งบัวออกเป็น 3 สกุลใหญ่ คือ สกุลเนลุมโบ (Nelumbo) หรือ ปทุมชาติ สกุลนิมเฟียร์ (Nymphaea) หรือ อุบลชาติ และสกุลวิคตอเรีย (Victoria) หรือ บัววิกตอเรีย ในแต่ละสกุลสามารถจำแนกได้หลายชนิด สำหรับในประเทศไทยชนิดของบัวที่ปลูกเป็นการค้ามี 6 ชนิด ปทุมชาติ

1. บัวหลวง (Lotus) อยู่ในสกุลปทุมชาติ ลักษณะใบชูเหนือน้ำ เจริญเติบโตโดยมี ไหลอยู่ใต้ดิน ชอนไชไปใต้พื้นดิน ใบมีขนาดใหญ่ ดอกมีทั้งดอกซ้อนและไม่ซ้อน ใบและดอกชูเหนือขึ้นน้ำ ในประเทศไทยมีอยู่ 4 พันธุ์ แต่พันธุ์ของบัวหลวงที่นิยมปลูกในปัจจุบัน ได้แก่ พันธุ์ฉัตรขาว ฉัตรแก้ว และฉัตรแดง

2. บัวฝรั่ง (Hardy Water-Lilly) อยู่ในสกุลอุบลชาติยืนต้น มีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่น และเขตหนาว ลักษณะคล้ายบัวหลวง ต้นอ่อน เจริญเติบโตโดยสร้างลำต้น หรือเหง้า เจริญตามแนวนอนใต้ผิวดิน ลักษณะใบมีทั้งขอบเรียบ และขอบใบจัก ดอกลอยแตะผิวน้ำ หรือชูเหนือน้ำเล็กน้อย ดอกมีหลายสี กลีบดอกซ้อนสวยงาม มีชื่อเรียกต่างกันตามลักษณะสีและดอก สี ตามผู้พัฒนาพันธุ์ขึ้น

3. บัวผัน บัวเผื่อน (Tropical Water-Lilly) อยู่ในสกุลอุบลชาติล้มลุก ต้นที่งอกจากเมล็ดจะเจริญตามแนวดิ่งขึ้นสู่ผิวดิน แล้วแตกก้านใบบนผิวดิน ดอกชูพ้นน้ำ บานในเวลาเช้าหรือกลางวัน และหุบตอนเย็น ดอกมีกลิ่นหอมมาก เป็นบัวชนิดที่ขยายพันธุ์ได้ช้า ผสมพันธุ์ข้ามระหว่างสีต่างๆ ได้ง่าย โดยแมลงในธรรมชาติ และฝีมือมนุษย์ บัวชนิดนี้จึงเกิดสีสันต่างๆ นิยมปลูกเป็นไม้ประดับ ขยายพันธุ์ง่าย ดูแลง่าย หาซื้อได้ตามร้านขายทั่วไป กระถางละ 25 - 50 บาท

ตรวจการบ้าน

4. บัวสาย อยู่ในสกุลอุบลชาติ เป็นบัวที่ชาวบ้านนิยมเก็บสายบัวมาทำอาหาร บัวชนิดนี้มีก้านใบ และก้านดอกยาว สามารถขึ้นอยู่ในระดับน้ำลึกๆ ได้ พบได้ทั่วไปตามหนองบึง และแหล่งธรรมชาติตามชนบท มีหัวกลมๆ สายขนาดปลายนิ้วก้อย มีขนเล็กน้อย ใบมน ขอบใบจัก ดอกบานกลางคืน และหุบเวลาเช้า

5. บัวจงกลนี อยู่ในสกุลอุบลชาติ เป็นบัวที่พบใหม่ในธรรมชาติคาดว่าเกิดจากการแปลงพันธุ์ในธรรมชาติ ใบเหมือนบัวตระกูลบัวผัน บัวเผื่อน แต่ดอกซ้อนเหมือนบัวฝรั่ง มีเหง้าใต้ดินเจริญเติบโตในแนวดิ่ง ต้นอ่อนจะเกิดจากเหง้าใต้ดินเจริญเติบโตขึ้นมาจากต้นแม่ ใบลอยอยู่แตะผิวน้ำ ดอกลอยแตะผิวน้ำเล็กน้อย

6. บัวกระด้ง อยู่ในสกุลวิกตอเรีย จัดเป็นบัวขนาดใหญ่ที่สุด มีลำต้นใต้ดินเป็นหัวใหญ่ ใบเป็นใบเดี่ยวมีขนาดใหญ่ประมาณ 6 ฟุต ลอยบนผิวน้ำ ใบ ก้านใบ ก้านดอก มีหนามแหลมอยู่ทั่ว มีดอกสีขาว และสีชมพู ดอกมีกลิ่นหอมแรง บานตอนกลางคืน และหุบในตอนเช้า เป็นบัวที่ต้องใช้พื้นที่ปลูกมาก และมีปัญหากอบัวหลุดลอยขึ้นสู่ผิวน้ำหากระดับน้ำที่ปลูกมีการเปลี่ยนขึ้นอย่างกะทันหัน

ในจำนวนบัวทั้ง 6 ชนิดนี้ บัวหลวงนับเป็นบัวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุด และเกษตรกรปลูกมากที่สุด โดยมีวัตถุประสงค์ของการปลูก 2 ประการ คือ ปลูกเพื่อตัดดอกตูม ซึ่งนำไปใช้บูชาพระ และปลูกเพื่อเก็บเมล็ด ซึ่งสามารถใช้ประกอบอาหารทั้งคาวหวาน นอกจากนี้ส่วนอื่นของบัวหลวงก็สามารถจำหน่ายและใช้ประโยชน์อื่นๆ ได้ เช่น ใบแห้งใช้ทำยากันยุง มวนบุหรี่ ต้มเป็นยาไทยบำรุงหัวใจ แก้ไข และรักษาโรคตับ, ใบสด ใช้ห่ออาหาร และไหลหรือราก สามารถนำมาเชื่อมเป็นอาหารหวาน มีสรรพคุณแก้ร้อนใน และระงับอาการท้องร่วงได้อีกด้วย (ภทร, 2553)

ดอกบัวหลวง (*Nelumbo nucifera Gaerth*.) หรือเรียกว่า sacred หรือ Indian lotus จัดเป็น perennial herbaceous aquatic crops มีหลากหลายพันธุมีสีขาว เหลือง ชมพูและแดง พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย ไดแก พันธุ์บุณฑริก ปทุม สัตตบุษย และสัตตบงกช นิยมนำมาบูชาพระ และปัจจุบันนำมาใช้ในการตกแต่งสถานที่ในงานเลี้ยงสังสรรค์ งานแต่งงาน หรืองานต่างๆ ในโรงแรม ทำให้มีการใช้ดอกบัวหลวงมากขึ้น และมีการส่งไปจำหน่ายในต่างประเทศ เช่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น เป็นต้น แหล่งปลูกดอกบัวหลวงที่สำคัญอยู่ในเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และสุพรรณบุรี พันธุ์ที่ปลูกส่วนใหญ่เป็นพันธุ์สัตตบุษย์และสัตตบงกช (วชิรญา, 2553)

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม หรือการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของบัวในประเทศไทยมีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการศึกษา เช่น เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) และ Simple Sequence Repeat (SSR) เป็นต้น (กนกวรรณ และคณะ, 2551; Yang *et al*., 2013) อย่างไรก็ตามเทคนิค RAPD และ AFLP มีข้อจำกัดตรงที่หามีตัวอย่างมาเพิ่มเติมต้องเริ่มการทดลองใหม่ทั้งหมดไม่สามารถนำแถบดีเอ็นเอที่ได้ในแต่ละครั้งมาเปรียบเทียบกันเพื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ สำหรับเทคนิค SSR ของ Yang และคณะนั้น ต้องทำการรันเจลชนิดอะคริลาไมด์ถึงจะมองเห็นแถบดีเอ็นเอที่ห่างกันเพียง 50 เบส หากน้อยกว่านั้นก็ไม่สามารถแยกความแตกต่างด้วยตาเปล่าได้ จึงจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ช่วยในการแยกความแตกต่างในช่วง 3-20 เบส ซึ่งมีราคาสูง บางห้องปฏิบัติการไม่สามารถทำได้ ดังนั้นการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดจึงเป็นอีกวิธีทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และการจำแนกชนิดหรือพันธุ์พืชได้

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

นักวิทยาศาสตร์ได้นำแนวคิดการติดฉลากบาร์โค้ดในสินค้ามาประยุกต์ใช้ในงานด้านวิทยาศาสตร์ โดยนำดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรม ที่แสดงลักษณะเฉพาะของแต่ละสิ่งมีชีวิตหรือแต่ละบุคคล (Individual) มาเป็นเครื่องหมายในการระบุ สิ่งมีชีวิตหรือเรียกว่า “ดีเอ็นเอบาร์โค้ด” (DNA barcode) เพื่อเพิ่มความรวดเร็วและถูกต้อง ในการระบุชนิด (Species) สิ่งมีชีวิต และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ การค้นคว้าวิจัยด้านวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางชีวภาพ รวมถึงการอนุรักษ์ทรัพยากร ธรรมชาติ บาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตต้องเป็นสมบัติเฉพาะตัวของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่น ง่ายต่อการใช้ และมีความชัดเจน ดังนั้นการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดจึงเลือกใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สั้น สะดวกกับการใช้งาน เหมาะสมและสามารถแสดงความแตกต่างระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตสูง แต่มีความต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตในชนิดเดียวกันต่ำ ยีน (Gene) แรกที่นำมาใช้เป็นมาตรฐาน เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดในสัตว์ คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *Cytochrome c Oxidase* I (*COI*) ในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์มีความแตกต่างระหว่างชนิดมากกว่าในชนิดเดียวกัน การเปรียบเทียบ ลำดับนิวคลีโอไทด์ทำได้อย่างตรงไปตรงมา เพราะมีการแทรกเข้ามาและการหลุดหายของนิวคลีโอไทด์น้อย จึงนำยีนนี้มาใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดและจำแนกชนิดของแมลงและสัตว์ (พรณรงค์ และ อรุณรัตน์, 2554) ต่อมาในพืชการหาบาร์โค้ดที่เป็นมาตรฐานจึงเริ่มได้รับความสนใจมากขึ้น ซึ่งสิ่งสำคัญในการคัดเลือกบาร์โค้ดที่ได้มาตรฐาน คือ ต้องเป็นส่วนของยีนที่มีลักษณะสั้น สามารถเพิ่มปริมาณได้ง่าย เหมาะสำหรับทำงานตัวอย่างเยอะ และวิเคราะห์ลำดับเบสได้ง่าย จากการศึกษาบาร์โค้ดในพืชตั้งแต่ปี 2005-2010 มีการนำยีนจากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ITS, *accD, matK, ndhJ, rpoB, rpoC1, ycf, atpF-H, psbK-I, rbc,L rbcLa, trnH-psbA* และ *trnL*(P6) เป็นต้น แต่ที่ได้รับความสนใจได้แก่ยีนจากส่วนของนิวเคลียส ได้แก่ ITS และส่วนที่มาจากพลาสติด (plastid) เช่น *matK, rpoB, rpoCI, atpF-H, psbK-I, rbcL* และ *trnH-psbA* ซึ่งสามารถนำลำดับเบสมาต่อกันเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของพืชที่มีความใกล้เคียงกันสูงได้ (Hollingsworth *et al*., 2011; Ali *et al*., 2014) ยีนที่ถูกแนะนำให้นำมาต่อกันเพื่อใช้ในการจำแนกพืชบก (land plants) ได้แก่ *matK* + *rbcL* เนื่องจากมีความชัดเจน สามารถเพิ่มปริมาณได้งานเหมาะสำหรับงานที่ต้องทำเป็นประจำ และสามารถแบ่งแยกกลุ่มได้ดีกว่ายีน *CO1* ในสัตว์ (Janzen, 2009) อย่างไรก็ตามพืชที่มีความใกล้เคียงกันสูงสามารถนำเอาส่วนของยีนมาต่อกันได้หลายยีน เช่น ITS + *matK*, *rpoC1* + *rpoB* + *matK*, *rpoC1* + *matK* + *trnH-psbA*, *rbcL* + *trnH-psbA*, *matK* + *rtnH-psbA*, *rbcL* + *trnH-psbA*, *matK* + *atpF-H* + *psbK-I* และ *matK* + *atpF-H* + *trnH-psbA* เป็นต้น (Yu *et al*., 2011; Xu *et al*., 2015)

อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าประเทศไทยจะมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวไว้แล้วด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่หลากหลาย แต่ก็ยังขาดฐานข้อมูลทางชีวโมเลกุลของบัว ซึ่งปัจจุบันฐานข้อมูล NCBI ยังไม่พบข้อมูลด้านดีเอ็นเอบาร์โค้ดของบัวหลวงในประเทศไทยมากนัก จากการค้นข้อมูลเดือนมิถุนายน 2559 ในฐานข้อมูล NCBI ของยีน *rpoC1 rtnH-psbA matK* และ *rbcL* จากบัวหลวง พบว่ามีข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากยีน *rpoC1* ในบัวหลวงของประเทศไทยเพียง 2 accession no. ซึ่งมีความยาวประมาณ 551 เบส และยังไม่พบดีเอ็นเอบาร์โค้ดในยีนอื่น ทั้งนี้กรมวิชาการเกษตรเป็นหน่วยงานหนึ่งที่มีการศึกษาวิจัยและอนุรักษ์พันธุกรรมของบัว มีการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์บัวขึ้นมาใหม่ รวมถึงมีการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้นำเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด มาใช้ในการศึกษาความ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

หลากหลายทางพันธุกรรม และจัดทำข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของบัว เพื่อใช้ประโยชน์ในการจำแนก การปรับปรุงพันธุ์บัว การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และการอนุรักษ์พันธุกรรมของบัวในประเทศไทยต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

<u>อุปกรณ์</u>

1. สารเคมีที่สำคัญ ได้แก่ CTAB (cetyltrimethylammonium bromide), Tris-HCl, Tag DNA polymerase, sodium EDTA, PVP (Polyvinylpyrrolidone)}, Acetic acid และ Nacl เป็นต้น
2. เครื่อง spectrophotometer (PERKIN ELMER MBA2000)
3. เครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอนความเร็วสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (SORVALL RC28C)
4. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง (GeneAmp PCR System 9700)
5. ชุดถ่ายภาพ และ UV Transilluminators (BIORAD)
6. เครื่องตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนพีซีอาร์ (QIAxcel Advanced System)
7. เครื่องตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนพีซีอาร์ (ABI PRISM^{TM} 377 DNA Sequencer)
8. ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส

<u>วิธีการ</u>

1. การทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างบัว

1.1 ตัวอย่างบัว

การเก็บตัวอย่างใบบัวที่เก็บรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ไว้ของสถาบันวิจัยพืชสวน ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ จำนวน 34 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างบัวสาย 10 ตัวอย่าง และบัวหลวง 24 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างบัวที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็นเอ	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
1	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1001	Nyp_A011
2	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1002	Nyp_A017
3	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1006	Nyp_B003
4	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1007	Nyp_A003*
5	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1008	Nyp_A004
6	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1009	Nyp_A005*
7	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1010	Nym_Hb013

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็นเอ	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
8	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1011	Nym_Hb014
9	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1017	Nym_Sp005
10	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	Nym 1020	Nym_Sp008
11	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1021	N.lutea
12	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1022	ปทุม1
13	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1023	Nnu_A010
14	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1025	Nnu_A005
15	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1026	Nnu_A016
16	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1027	Nnu_B007
17	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1028	Nnu_B006
18	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1029	Nnu_B003
19	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1030	Nnu_B005
20	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1031	Nnu_B001
21	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1032	Nnu_C001
22	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1033	Nnu_C002
23	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1034	Nnu_C003
24	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1035	Nnu_C005
25	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1036	Nnu_D004
26	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1037	Nnu_D005
27	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1038	Nnu_D006
28	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1039	Nnu_A001
29	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1040	ลูกผสมจีน
30	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1041	ยโสธร1
31	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1042	Nnu_A003
32	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1043	ขอนแก่น6

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็นเอ	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
33	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1044	ลูกผสมบางพระ 3/2
34	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	Nu 1045	ประจวบ 29

1.2 การสกัดดีเอ็นเอของบัว

นำใบบัวจากตัวอย่างบัว 34 ตัวอย่าง แบ่งเป็นบัวหลวง 24 ตัวอย่าง และบัวสาย 10 ตัวอย่าง มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามรายงานของอรุโณทัยและคณะ (2552) ดังนี้เตรียมบัฟเฟอร์สำหรับสกัดดีเอ็นเอ [ประกอบด้วย 20 mM sodium EDTA, และ 100 mMTris-HCl pH 8.0, 1.4 M NaCl, 2% (W/V) และ CTAB (cetyltrimethylammonium bromide)] เติม 0.2% β-mercaptoethanol นำบัฟเฟอร์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ก่อนการใช้งาน จากนั้นชั่งใบบัว 0.5 กรัม บดในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดจนเป็นผงแป้ง ใส่หลอด 15 มิลลิลิตร เติม Extraction buffer ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำหลอดบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (เขย่าทุก 20 นาที) แล้วนำหลอดออกมาวางที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที เติม Choroform:Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมโดยการกลับหลอดไปมา 10 นาที นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดน้ำใสปริมาตร 750 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดใหม่ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม Choroform:Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมกลับหลอดไปมา 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม 3M NaOAC ปริมาตร 0.1 เท่า และ Isopropanol ปริมาตร 0.6 เท่า นำไปตกตะกอนดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เทน้ำใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 750 ไมโครลิตร สองครั้ง ทิ้งตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งแล้วละลายด้วยบัฟเฟอร์ TE ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติม RNaseA (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 4 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าความเข้มข้น (Optical Density) โดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสงที่ A260/A280

1.3 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างบัว 34 ตัวอย่าง แบ่งเป็นบัวหลวง 24 ตัวอย่าง และบัวสาย 10 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 4 ยีน ได้แก่ *RpoC1* *RbcL* *MatK* และ ITS (ตารางที่ 2)

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	เอกสารอ้างอิง
rpoC1F	GGCAAAGAAGGAAGATTTCG	Paween *et al*., 2011
rpoC1R	TGAGAAAACATAAGTAAACGAGC	Paween *et al*., 2011
rbcL_F	ATGTCACCACAAACAGAAACTAAAGC	Paween *et al*., 2011
rbcL_R	CTTCGGCACAAAATAAGAAACGATCTC	Paween *et al*., 2011
matK_1F	ATCCATATGGAAATCTTGGTTC	Paween *et al*., 2011
matK_1R	GTTCTAGCACACGAAAGTCG	Paween *et al*., 2011
ITSu1	GGAAGKARAAGTCGTAACAAGG	Cheng *et al*., 2016
ITSu4	RGTTTCTTTTCCTCCGCTTA	Cheng *et al*., 2016

1.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction)

เตรียมส่วนผสมปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้น้ำยา Green Gotaq® Flexi (Promega, USA) ดังนี้ ดีเอ็นเอต้นแบบ (100 นาโนกรัม/ไมโครลิตร) ปริมาตร 4 ไมโครลิตร บัฟเฟอร์ 5X Green Gotaq® Flexi ปริมาตร 20 ไมโครลิตร 25 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 8 ไมโครลิตร 2 mM dNTP ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ forward (5uM) ปริมาตร 4 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ reverse (5uM) ปริมาตร 4 ไมโครลิตร Gotaq DNA polymerase (5 ยูนิตต่อไมโครลิตร) ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ในปฏิกิริยาปริมาตรทั้งหมด 100 ไมโครลิตร โดยตั้งโปรแกรมการทำงานของเครื่อง thermal cycle, Gene Amp 9700 ตามขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอน	อุณหภูมิ	เวลา	จำนวน cycles
Initial denaturation	94 °C	3 นาที	1 cycle
Denaturation	94 °C	30 วินาที	35 cycle
Annealing	55 °C	30 วินาที	
Extension	72 °C	30 วินาที	
Final extension	72 °C	7 นาที	1 cycle

1.5 การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

ทำการตรวจสอบผล PCR ด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรโฟรีซีส (gel electropholesis) โดยหยดผลผลิตพีซีอาร์ 4 ไมโครลิตร ลงในแผ่นวุ้นอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ใน 1xTBE buffer ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ บันทึกแถบดีเอ็นเอด้วยชุดถ่ายภาพ UV Transilluminators (BIORAD)

1.6 การทำชิ้นส่วนพีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ (PCR purification)

นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากข้อ 1.4 มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด PureLink® PCR Purification Kit ยี่ห้อ Invitrogen ดังนี้ นำพีซีอาร์ 100 ไมโครลิตร มาเติม PureLink® Binding Buffer (B2) จำนวน 1 เท่า คือ 100

กรมวิชาการเกษตร

ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดของเหลวใส่ลงใน PureLink® Spin Column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 xg นาน 1 นาที ทิ้งส่วนใส ล้างคอลัมน์ด้วย Wash Buffer ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 xg นาน 1 นาที ทิ้งส่วนใส แล้วปั่นคอลัมน์ให้แห้งอีกรอบนาน 2 นาที ย้ายคอลัมน์ใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ จากนั้นชะผลผลิตพีซีอาร์ด้วย Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

1.7 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำตัวอย่างบัว 34 ตัวอย่าง วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทางด้านปลาย 5’ และ 3’ ทำการตรวจสอบและคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีภาพโครมาโตแกรมที่สมบูรณ์ มาเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม Clustal Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) เพื่อตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่เหมาะสม และได้ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความยาวเท่ากัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx ตามรายงานของ Kumar *et.al*., 2018 โดยสร้างแผนผังพันธุกรรมด้วยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

2. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของตัวอย่างบัว

2.1 ตัวอย่างบัว

ใช้ตัวอย่างใบบัวที่เก็บรวบรวมและอนุรักษ์พันธุ์ไว้ของสถาบันวิจัยพืชสวน ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ จำนวน 162 ตัวอย่าง แบ่งเป็น บัวหลวง 110 ตัวอย่าง และบัวสาย 52 ตัวอย่าง (ตารางผนวกที่ 1)

2.2 การสกัดดีเอ็นเอของบัว

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างบัว 162 ตัวอย่าง ด้วยวิธี CTAB ตามวิธีการในข้อ 1.1

2.3 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ใช้ไพรเมอร์ที่คัดเลือกมาจากการขั้นตอนที่ 1 จำนวน 2 ยีน ได้แก่ ITS และ *Rpo* (ตารางที่ 2)

2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction)

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ ตามวิธีการในข้อ 1.4

2.5 การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

ทำการตรวจสอบผล PCR ด้วยวิธีเจลอิเล็คโทรโฟรีซีส ตามวิธีการในข้อ 1.5

2.6 การทำชิ้นส่วนพีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ (PCR purification)

นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากข้อ 2.4 มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด PureLink® PCR Purification Kit ยี่ห้อ Invitrogen ตามวิธีการในข้อ 1.6

2.7 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำตัวอย่างบัว 162 ตัวอย่าง วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทางด้านปลาย 5’ และ 3’ ทำการตรวจสอบและคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีภาพโครมาโตแกรมที่สมบูรณ์ มาเปรียบเทียบด้วยโปรแกรม Clustal Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) เพื่อตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่เหมาะสม และได้ลำดับนิวคลี

กรมวิชาการเกษตร

โอไทด์มีความยาวเท่ากัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx ตามรายงานของ Kumar *et.al*., 2018 โดยสร้างแผนผังพันธุกรรมด้วยวิธี ML (Maximum Likelihood) ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

2.8 การทำพรรณไม้อ้างอิง

ทำการเตรียมแผงอัดพันธุ์ไม้ เชือกสำหรับผู้ กระดาษอัดพรรณไม้ ป้ายสำหรับผูกพันธุ์ไม้ ดินสอดำ จากนั้นนำตัวอย่างบัวจำนวน 20 สายพันธุ์ แบ่งเป็น บัวสาย 10 ตัวอย่าง บัวหลวง 10ตัวอย่าง โดยทำการอัดพันธุ์ไม้แล้วผึ่งให้แห้ง

<u>เวลาและสถานที่</u>

- ระยะเวลาการทดลอง (เริ่มต้น – สิ้นสุด)
  ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2560 สิ้นสุด กันยายน 2563 รวม 3 ปี
- สถานที่ดำเนินการทดลอง
  ห้องปฏิบัติการด้านชีวโมเลกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จังหวัดปทุมธานี

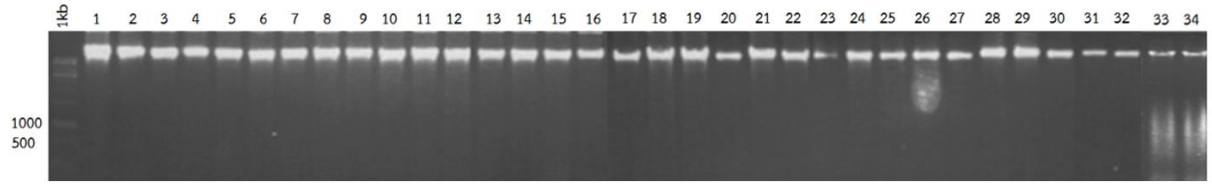
8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างบัว

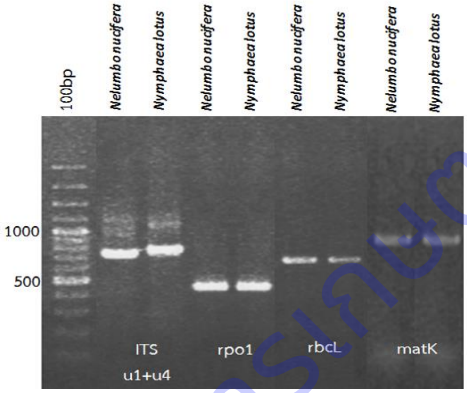
การสกัดดีเอ็นเอจากใบบัวทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ บัวสาย (*Nymphaea lotus*) และ บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) ด้วยวิธี CTAB ตามรายงานของอรุโณทัยและคณะ (2552) จำนวน 34 ตัวอย่าง (ภาพที่ 1) พบว่า มีค่าความเข้มข้น (Optical Density) ที่ความยาวคลื่นแสงที่ A260/A280 อยู่ในช่วง 1.8 -2.0 และได้ปริมาณดีเอ็นเอมากกว่าการสกัดด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอทางการค้า สามารถแบ่งเก็บรักษาได้จำนวนซ้ำหลายหลอด ทำให้สะดวกต่อการแบ่งเก็บและนำออกมาใช้ ดีเอ็นเอที่สกัดได้ถูกแบ่งเก็บรักษาแบบระยะยาวไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ในส่วนของการนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ดีเอ็นเอบัวที่ได้ถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์สากลที่นิยมใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืช ได้แก่ *RpoC1 RbcL MatK* และ ITS (Li *et al*., 2011; Paween *et al*., 2011 และ Cheng *et al*., 2016) ซึ่งการทดลองนี้ทดสอบกับไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ คือ ITSu1+ITSu4 rpoC1F+rpoC1R rbcL_F+ rbcL_R rpo2 และ matK_1F+ matK_1R จากการทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ดังกล่าว สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในบัวทั้ง 2 ชนิด และได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีแถบดีเอ็นเอเป้าหมายชัดเจนจำนวนหนึ่งแถบ (ภาพที่ 2) จึงมีความเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างบัวเพื่อการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดต่อไป การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ ได้ผลผลิตพีซีอาร์หรือชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่จากยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* ขนาดประมาณ 750 950 650 และ 450 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอไปทำบริสุทธิ์ด้วยชุด PCR purification ได้แถบดีเอ็นเอเป้าหมายที่บริสุทธิ์เพียง 1 แถบ (ภาพที่ 3) ที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

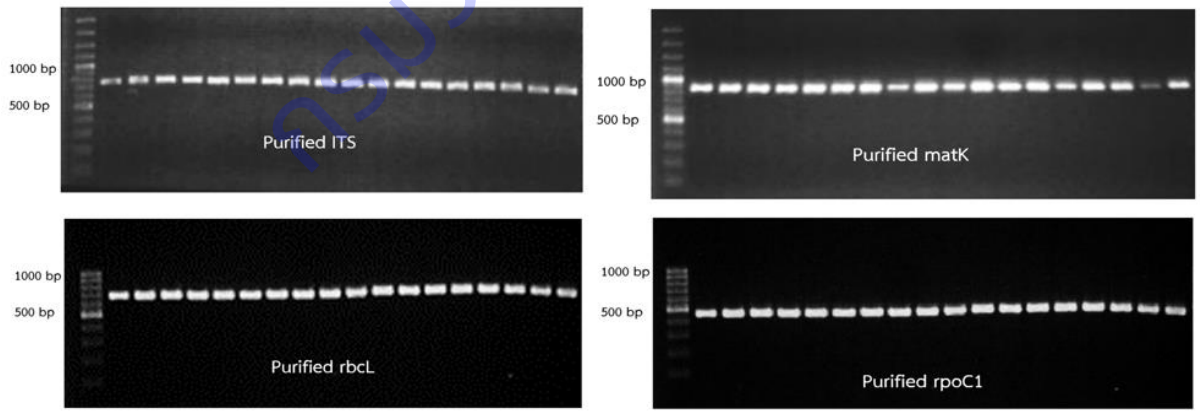
ไทด์ ซึ่งหากผลผลิตพีซีอาร์มีแถบดีเอ็นเออื่นๆ ปะปน จะไม่สามารถทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ ต้องทำการตัดแถบดีเอ็นเอก่อนการทำบริสุทธิ์และการวิเคราะห์ ซึ่งเป็นการเพิ่มขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติงาน



ภาพที่ 1 ดีเอ็นเอจากใบบัวจำนวน 34 ตัวอย่าง ที่สกัดโดยวิธี CTAB บนเจลอะกาโรส 1 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 2 ผลผลิตพีซีอาร์ก่อนการทำบริสุทธิ์ จากคู่ไพรเมอร์ ITSu1+ITSu4 rpoC1F+rpoC1R rbcL_F+ rbcL_R rpo2 และ matK_1F+ matK_1R บนเจลอะกาโรส 1 เปอร์เซ็นต์



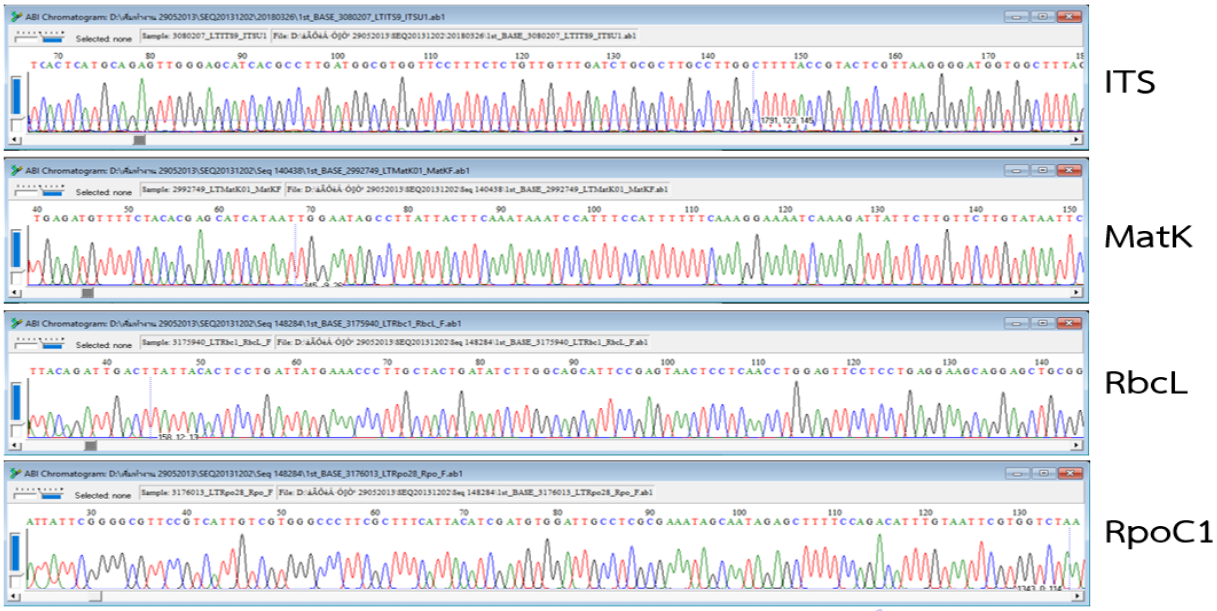
ภาพที่ 3 แถบดีเอ็นเอจากยีน *ITS, matK, rpoC1* และ *RbcL* ที่ผ่านการทำบริสุทธ์ก่อนการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์ บนอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์

กรมวิทยาศาสตร์

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งด้านปลาย 5’ และ 3’ ต้องมีภาพโครมาโตแกรม (Chromatogram) ที่ชัดเจนไม่มีพีคซ้อนทับกัน (ภาพที่ 4) จึงจะนำมาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (alignment) ด้วยโปรแกรม Clustal Omega เพื่อตรวจสอบและคัดเลือกส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต้องการ โดยตัดส่วนนิวคลีโอไทด์ด้านปลาย 5’ และ 3’ ที่ไม่ได้คุณภาพออกไป ให้ได้ขนาดความยาวของนิวคลีโอไทด์ที่เท่ากันในทุกตัวอย่าง ตัวอย่างการคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ของบัวสาย (*Nymphaea lotus*) จากยีน *ITS matK RbcL* และ *rpoC1* ได้ขนาดความยาว 503 600 615 และ 391 คู่เบส ตามลำดับ (ภาพที่ 5) ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เมื่อเทียบกับขนาดแถบดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรส พบว่าเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *ITS matK RbcL* และ *rpoC1* อยู่ที่ 67 63 94 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับฐานข้อมูล NCBI พบยีน *ITS* มีคล้ายกับ N. *rubra N.nouchali* และ *N. pubescens* ที่ค่าความเหมือน (identity) 98.61 98.21 และ 98.21 ตามลำดับ ยีน *matK* คล้ายกับ *N. pubescens* N. *rubra* และ *N. nouchali* ที่ค่าความเหมือน 100 98.3 และ 98 ตามลำดับ ยีน *rpoC1* คล้ายกับ *N. pubescens N. nouchali* และ N. *rubra* ที่ค่าความเหมือน 99.68 99.5 และ 99.03 ตามลำดับ ส่วนยีน *rpoC1* คล้ายกับ *N. capensis N. ampla* และ N. *jamesoniana* ที่ค่าความเหมือน 99.74 99.74 และ 99.74 ตามลำดับ

ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากบัว 34 ตัวอย่าง ถูกนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx โดยสร้างแผนผังพันธุกรรม (Phylogenetic tree) แบบ ML (Maximum Likelihood) ที่ค่า Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ ผลการวิเคราะห์พบแผนผังพันธุกรรมของยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* สามารถแยกกลุ่มพันธุกรรมของตัวอย่างบัวสายออกจากบัวหลวงได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 6, 7, 8 และ 9) โดยมีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดจากยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* อยู่ที่ 0.481 0.207 0.030 และ 0.082 ตามลำดับ (ตารางที่ 3, 4, 5 และ 6)

กรมวิชาการเกษตร

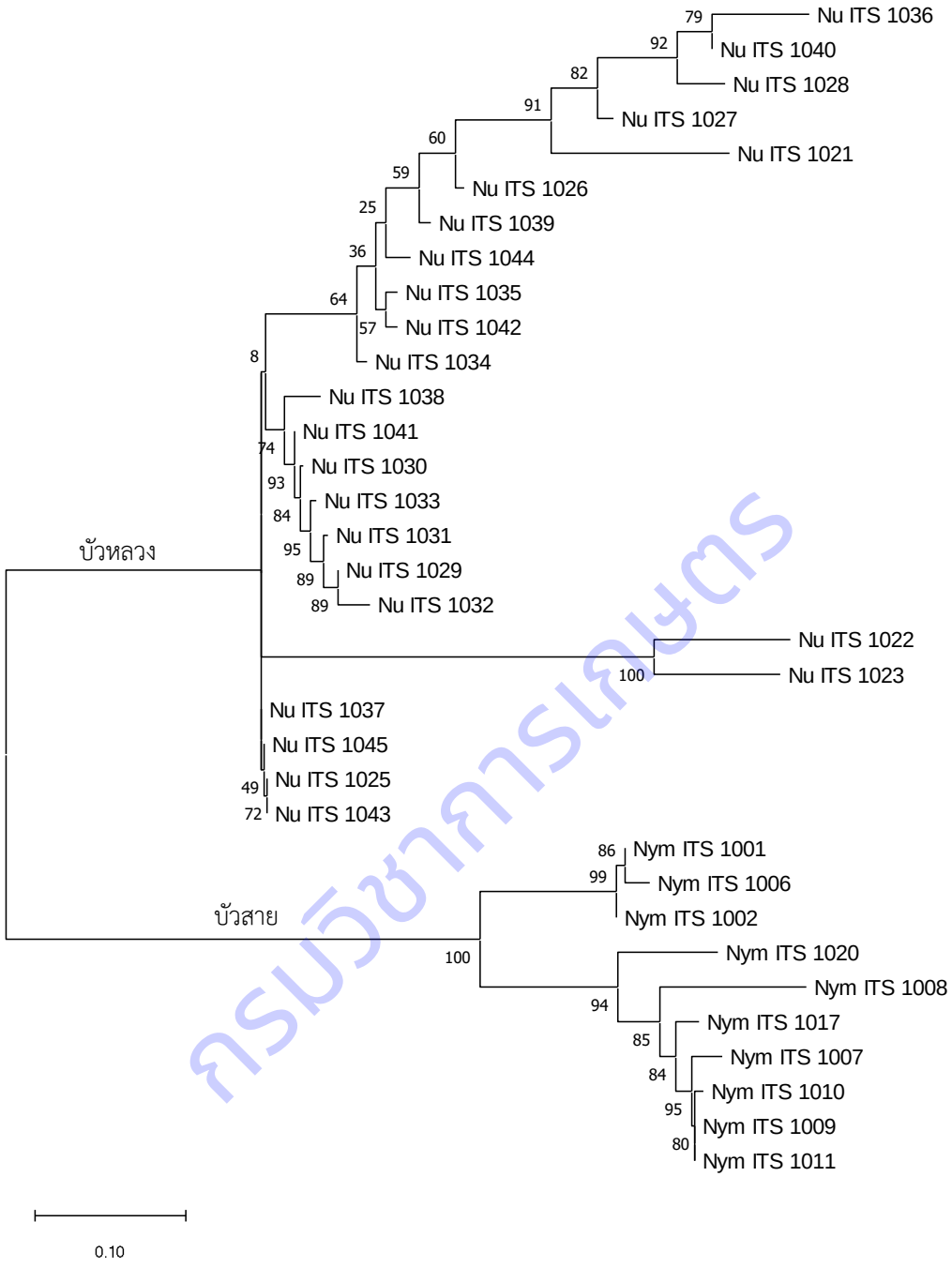


ภาพที่ 4 ภาพลักษณะ Chromatogram ที่นำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

```
>ITS
CTGGGGTCGCTTTAGCTGAACAAGAAGCCGAAGCCGCTTGCCTCAAGAGTCCCAATGGCCTTTCTCGATCAGGTGAGGCACAACTCACTGGGAAATCCACCGCTTGTTGTG
CCGCACAACTGATCGGCTTAGGCCAAGACGTTTCAACCTACGGCGTGCTTAAAAACAACACGCCGAAGGCCAGTCCTCCGCTCTCCCTCAGCCTTGGCTCGAAAGCACAAG
GGCATGGGAAGGGCGATGCAAAGCTTGACGCCCAGGCAGACGTGCCCTTGGCCGGATGGCCTTGGACGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCAAT
TCACACCAAGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTATATTGGAAGGGAAGAGGGACATCCCGCCACTCTTTCG
TGTGGCGGCACGCCCTCTCCTTTCGATCAAAGGTTTTCCTTGGCACCTAGAGGTGCCGA
>matK
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGATTATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCA
TGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCAATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAAGACATTTTTATGGAAAAATCAA
ACATCTTGTAGTGACGCCTCATAATGATTCTCAAATGACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCCATTATGGCTTC
AAGGTGTACTAATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTACATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCATATAAATGAATTATC
CAATCATTCTTTCTATTTTCTGGGCTATCTTTCCGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAATGCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACAGCTGTTAAGAG
ATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>RbcL
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGATTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCTCCTGAGG
AAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGC
CTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTACCCTTTGGACCTTTTTGAGGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTG
GGTTCAAAGCCCTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGA
ACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCTGCAAAGAACTATGGGAGAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTA
CCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTAT
>RpoC1
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTTGTAATTCGTGGTCTAATCAGACAAC
ATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATGGGAAATACTGCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAG
CACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCCAACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATG
GAGATCAAATGGCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
```

ภาพที่ 5 ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของบัวสาย (*Nymphaea lotus*) จากยีน *ITS matK RbcL* และ *rpoC1* ที่ผ่านการตรวจสอบและคัดเลือก มีขนาดความยาว 503 600 615 และ 391 คู่เบส ตามลำดับ



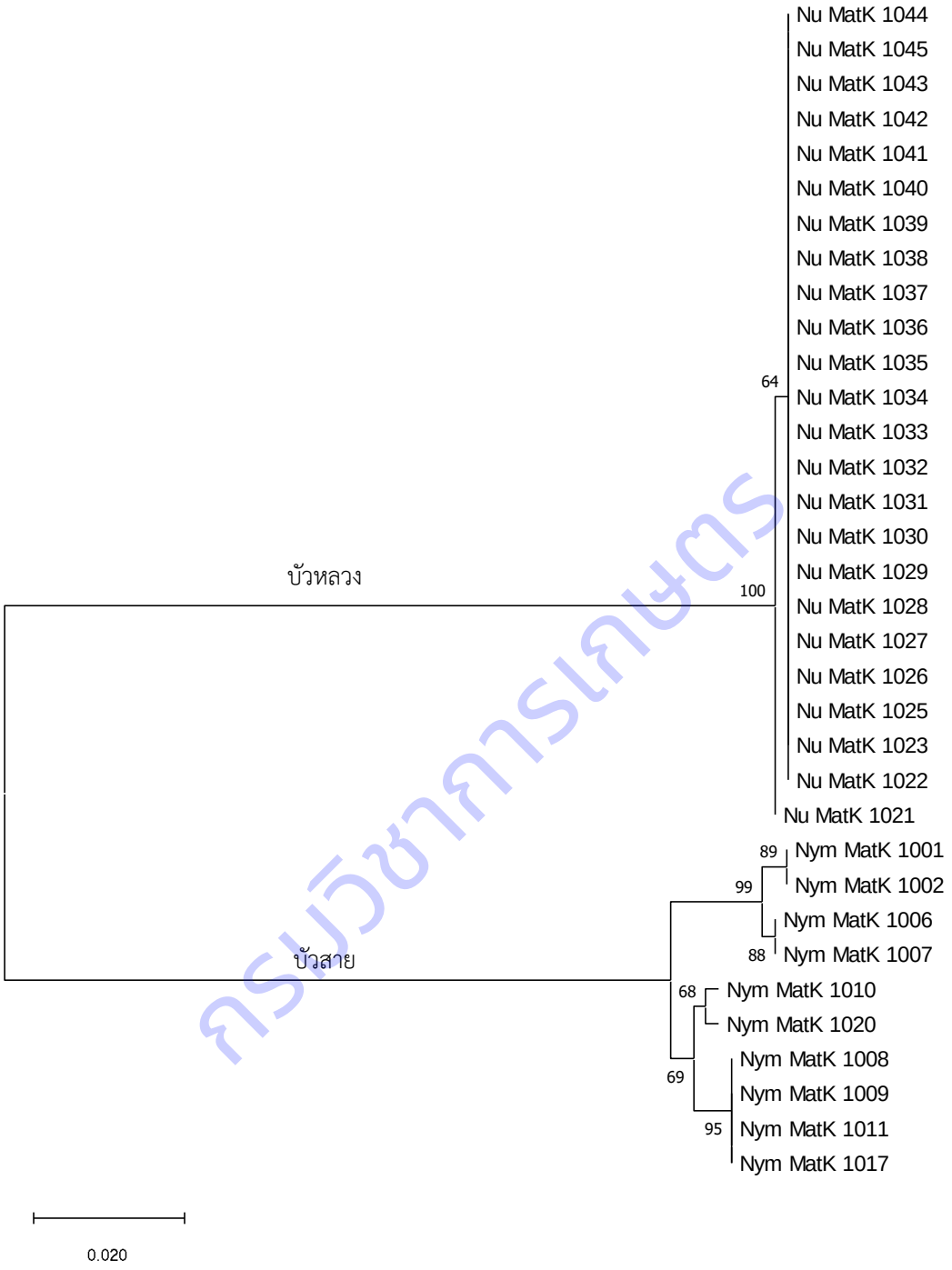
กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 6 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างบัว จำนวน 34 ตัวอย่าง จากยีน *ITS* ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx โดยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

ตารางที่ 3 ค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise distances) ของยีน ITS ในบัว จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx

	1001	1002	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1017	1020	1021	1022	1023	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045
Nym_ITS_1001																																		
Nym_ITS_1002	0.003																																	
Nym_ITS_1006	0.009	0.013																																
Nym_ITS_1007	0.130	0.127	0.136																															
Nym_ITS_1008	0.163	0.159	0.169	0.068																														
Nym_ITS_1009	0.128	0.125	0.134	0.013	0.066																													
Nym_ITS_1010	0.128	0.125	0.135	0.016	0.066	0.003																												
Nym_ITS_1011	0.128	0.125	0.134	0.013	0.066	0.000	0.003																											
Nym_ITS_1017	0.130	0.130	0.136	0.025	0.070	0.016	0.019	0.016																										
Nym_ITS_1020	0.136	0.134	0.142	0.074	0.109	0.066	0.069	0.066	0.065																									
Nu_ITS_1021	0.406	0.404	0.405	0.428	0.410	0.428	0.431	0.428	0.422	0.432																								
Nu_ITS_1022	0.474	0.474	0.469	0.474	0.484	0.475	0.478	0.475	0.473	0.473	0.274																							
Nu_ITS_1023	0.481	0.481	0.476	0.484	0.495	0.485	0.487	0.485	0.479	0.476	0.259	0.094																						
Nu_ITS_1025	0.290	0.288	0.285	0.294	0.324	0.298	0.300	0.298	0.295	0.296	0.170	0.183	0.171																					
Nu_ITS_1026	0.365	0.363	0.360	0.369	0.365	0.372	0.375	0.372	0.368	0.370	0.112	0.217	0.195	0.062																				
Nu_ITS_1027	0.406	0.404	0.401	0.414	0.409	0.415	0.416	0.415	0.409	0.411	0.095	0.225	0.200	0.113	0.065																			
Nu_ITS_1028	0.436	0.434	0.431	0.447	0.446	0.447	0.450	0.447	0.441	0.445	0.122	0.218	0.198	0.156	0.113	0.054																		
Nu_ITS_1029	0.302	0.301	0.298	0.309	0.330	0.310	0.313	0.310	0.305	0.309	0.165	0.198	0.183	0.030	0.064	0.110	0.147																	
Nu_ITS_1030	0.297	0.296	0.293	0.302	0.326	0.302	0.304	0.302	0.297	0.299	0.167	0.193	0.179	0.013	0.065	0.111	0.148	0.016																
Nu_ITS_1031	0.305	0.303	0.300	0.310	0.331	0.311	0.313	0.311	0.306	0.307	0.169	0.193	0.178	0.025	0.068	0.115	0.150	0.007	0.011															
Nu_ITS_1032	0.311	0.309	0.306	0.315	0.335	0.318	0.320	0.318	0.313	0.315	0.166	0.200	0.185	0.040	0.073	0.115	0.145	0.012	0.028	0.017														
Nu_ITS_1033	0.304	0.302	0.299	0.307	0.329	0.308	0.311	0.308	0.303	0.305	0.170	0.191	0.174	0.021	0.069	0.116	0.153	0.011	0.007	0.008	0.021													
Nu_ITS_1034	0.341	0.339	0.336	0.340	0.339	0.344	0.346	0.344	0.340	0.342	0.147	0.211	0.199	0.042	0.036	0.096	0.152	0.053	0.050	0.053	0.065	0.056												
Nu_ITS_1035	0.352	0.350	0.347	0.354	0.353	0.359	0.362	0.359	0.355	0.357	0.141	0.214	0.199	0.048	0.036	0.092	0.145	0.060	0.059	0.062	0.072	0.063	0.019											
Nu_ITS_1036	0.436	0.434	0.431	0.449	0.446	0.449	0.451	0.449	0.445	0.444	0.145	0.231	0.213	0.120	0.085	0.077	0.073	0.122	0.125	0.127	0.128	0.130	0.112	0.107										
Nu_ITS_1037	0.292	0.291	0.288	0.297	0.325	0.303	0.304	0.303	0.299	0.300	0.167	0.182	0.171	0.002	0.060	0.110	0.153	0.028	0.015	0.023	0.039	0.020	0.040	0.045	0.117									
Nu_ITS_1038	0.301	0.299	0.296	0.314	0.334	0.317	0.323	0.317	0.313	0.311	0.167	0.204	0.192	0.022	0.068	0.121	0.163	0.032	0.021	0.027	0.043	0.026	0.052	0.060	0.120	0.021								
Nu_ITS_1039	0.357	0.355	0.352	0.361	0.358	0.364	0.367	0.364	0.361	0.365	0.119	0.210	0.195	0.058	0.021	0.067	0.124	0.064	0.062	0.065	0.075	0.066	0.029	0.028	0.097	0.055	0.065							
Nu_ITS_1040	0.436	0.434	0.431	0.440	0.442	0.440	0.443	0.440	0.435	0.442	0.125	0.208	0.191	0.130	0.090	0.052	0.032	0.122	0.125	0.127	0.127	0.130	0.127	0.122	0.037	0.127	0.133	0.100						
Nu_ITS_1041	0.297	0.296	0.293	0.302	0.325	0.303	0.306	0.303	0.300	0.302	0.168	0.193	0.183	0.012	0.064	0.113	0.150	0.017	0.004	0.012	0.030	0.008	0.046	0.055	0.121	0.011	0.017	0.061	0.126					
Nu_ITS_1042	0.341	0.340	0.337	0.343	0.349	0.349	0.352	0.349	0.345	0.347	0.141	0.214	0.199	0.041	0.037	0.099	0.152	0.056	0.054	0.057	0.067	0.058	0.019	0.008	0.114	0.038	0.056	0.028	0.130	0.050				
Nu_ITS_1043	0.290	0.288	0.285	0.294	0.324	0.298	0.300	0.298	0.295	0.296	0.170	0.183	0.171	0.000	0.062	0.113	0.156	0.030	0.013	0.025	0.040	0.021	0.042	0.048	0.120	0.002	0.022	0.058	0.130	0.012	0.041			
Nu_ITS_1044	0.349	0.347	0.346	0.353	0.354	0.355	0.357	0.355	0.349	0.351	0.138	0.224	0.208	0.053	0.038	0.091	0.151	0.059	0.057	0.061	0.071	0.062	0.022	0.021	0.126	0.051	0.063	0.026	0.129	0.059	0.016	0.053		
Nu_ITS_1045	0.292	0.290	0.287	0.294	0.322	0.300	0.302	0.300	0.296	0.298	0.169	0.181	0.171	0.001	0.061	0.111	0.155	0.028	0.015	0.023	0.039	0.019	0.041	0.047	0.118	0.001	0.021	0.057	0.128	0.011	0.040	0.001	0.052	

ตัวอย่างเอกสาร



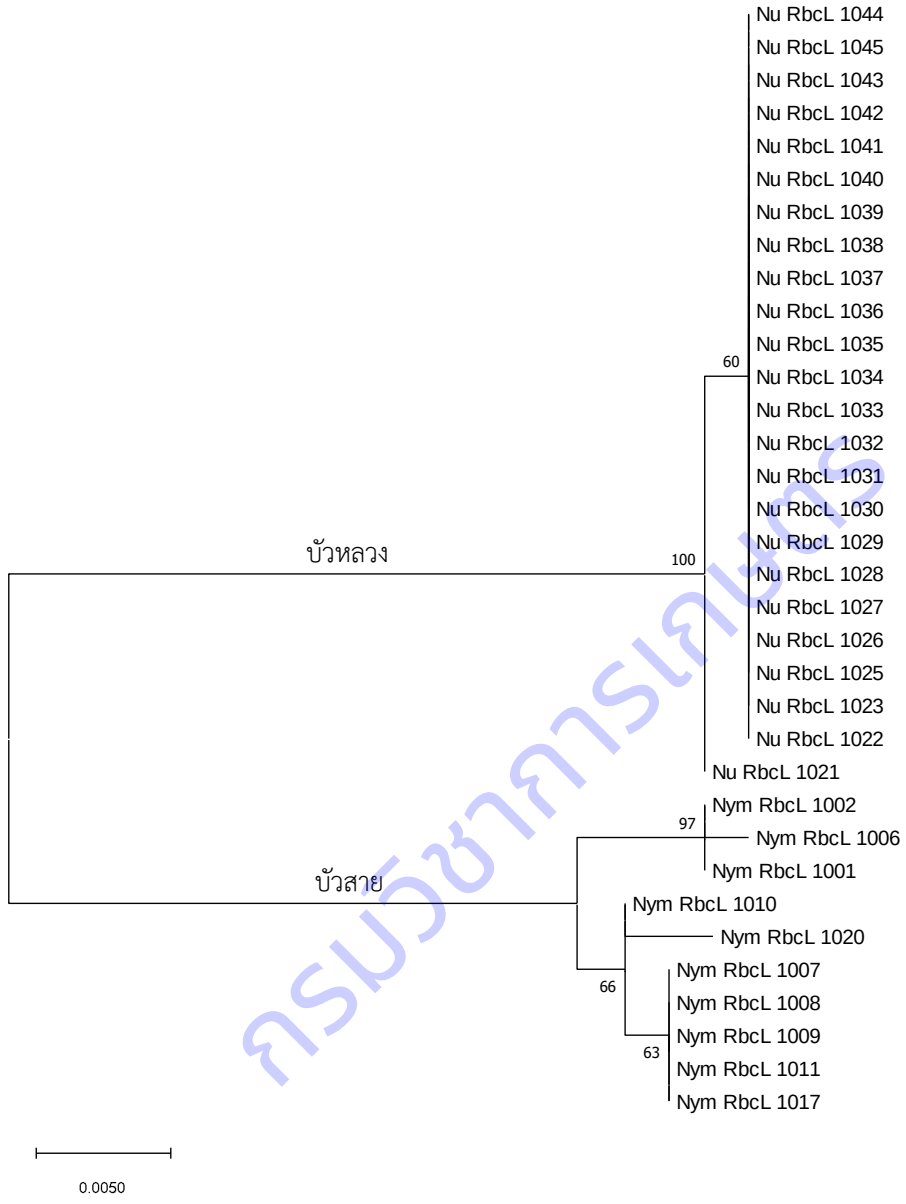
กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 7 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างบัว จำนวน 34 ตัวอย่าง จากยีน *MatK* ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx โดยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

ตารางที่ 4 ค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise distances) ของยีน *MatK* ในบัว จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx

	1001	1002	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1017	1020	1021	1022	1023	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045
Nym_MatK_1001																																		
Nym_MatK_1002	0.000																																	
Nym_MatK_1006	0.005	0.005																																
Nym_MatK_1007	0.005	0.005	0.000																															
Nym_MatK_1008	0.024	0.024	0.022	0.022																														
Nym_MatK_1009	0.024	0.024	0.022	0.022	0.000																													
Nym_MatK_1010	0.020	0.020	0.019	0.019	0.007	0.007																												
Nym_MatK_1011	0.024	0.024	0.022	0.022	0.000	0.000	0.007																											
Nym_MatK_1017	0.024	0.024	0.022	0.022	0.000	0.000	0.007	0.000																										
Nym_MatK_1020	0.020	0.020	0.019	0.019	0.007	0.007	0.003	0.007	0.007																									
Nu_MatK_1021	0.207	0.207	0.207	0.207	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.196																								
Nu_MatK_1022	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002																							
Nu_MatK_1023	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000																						
Nu_MatK_1025	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000																					
Nu_MatK_1026	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000																				
Nu_MatK_1027	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000																			
Nu_MatK_1028	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																		
Nu_MatK_1029	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																	
Nu_MatK_1030	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																
Nu_MatK_1031	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000															
Nu_MatK_1032	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000														
Nu_MatK_1033	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000													
Nu_MatK_1034	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000												
Nu_MatK_1035	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000											
Nu_MatK_1036	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000										
Nu_MatK_1037	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000									
Nu_MatK_1038	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
Nu_MatK_1039	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
Nu_MatK_1040	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						
Nu_MatK_1041	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
Nu_MatK_1042	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
Nu_MatK_1043	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000			
Nu_MatK_1044	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
Nu_MatK_1045	0.204	0.204	0.204	0.204	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.198	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย



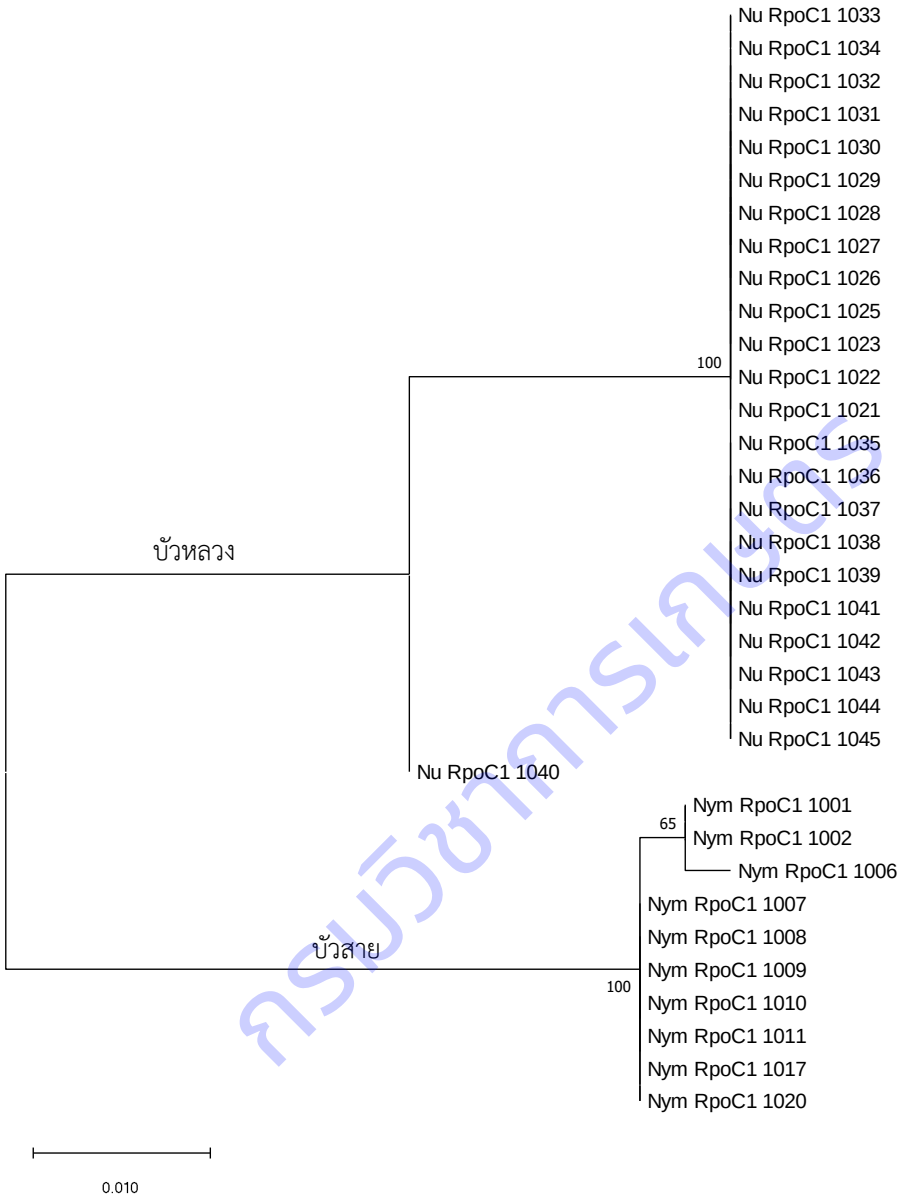
ภาพที่ 8 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างบัว จำนวน 34 ตัวอย่าง จากยีน *RbcL* ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx โดยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5 ค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise distances) ของยีน *RbcL* ในบัว จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx

	1001	1002	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1017	1020	1021	1022	1023	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045
Nym_RbcL_1001																																		
Nym_RbcL_1002	0.000																																	
Nym_RbcL_1006	0.001	0.001																																
Nym_RbcL_1007	0.005	0.005	0.005																															
Nym_RbcL_1008	0.005	0.005	0.005	0.000																														
Nym_RbcL_1009	0.005	0.005	0.005	0.000	0.000																													
Nym_RbcL_1010	0.004	0.004	0.005	0.001	0.001	0.001																												
Nym_RbcL_1011	0.005	0.005	0.005	0.000	0.000	0.000	0.001																											
Nym_RbcL_1017	0.005	0.005	0.005	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000																										
Nym_RbcL_1020	0.005	0.005	0.006	0.003	0.003	0.003	0.002	0.003	0.003																									
Nu_RbcL_1021	0.029	0.029	0.030	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.030																								
Nu_RbcL_1022	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001																							
Nu_RbcL_1023	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000																						
Nu_RbcL_1025	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000																					
Nu_RbcL_1026	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000																				
Nu_RbcL_1027	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000																			
Nu_RbcL_1028	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																		
Nu_RbcL_1029	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																	
Nu_RbcL_1030	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																
Nu_RbcL_1031	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000															
Nu_RbcL_1032	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000														
Nu_RbcL_1033	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000													
Nu_RbcL_1034	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000												
Nu_RbcL_1035	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000											
Nu_RbcL_1036	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000										
Nu_RbcL_1037	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000									
Nu_RbcL_1038	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
Nu_RbcL_1039	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
Nu_RbcL_1040	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000						
Nu_RbcL_1041	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
Nu_RbcL_1042	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				
Nu_RbcL_1043	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000			
Nu_RbcL_1044	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
Nu_RbcL_1045	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028	0.028	0.029	0.028	0.028	0.031	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 9 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างบัว จำนวน 34 ตัวอย่าง จากยีน *RpoC1* ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx โดยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 6 ค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise distances) ของยีน *RpoC1* ในบัว จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx

	1001	1002	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1017	1020	1021	1022	1023	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045
Nym_RpoC1_1001																																		
Nym_RpoC1_1002	0.000																																	
Nym_RpoC1_1006	0.003	0.003																																
Nym_RpoC1_1007	0.003	0.003	0.005																															
Nym_RpoC1_1008	0.003	0.003	0.005	0.000																														
Nym_RpoC1_1009	0.003	0.003	0.005	0.000	0.000																													
Nym_RpoC1_1010	0.003	0.003	0.005	0.000	0.000	0.000																												
Nym_RpoC1_1011	0.003	0.003	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000																											
Nym_RpoC1_1017	0.003	0.003	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																										
Nym_RpoC1_1020	0.003	0.003	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																									
Nu_RpoC1_1021	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079																								
Nu_RpoC1_1022	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000																							
Nu_RpoC1_1023	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000																						
Nu_RpoC1_1025	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000																					
Nu_RpoC1_1026	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000																				
Nu_RpoC1_1027	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																			
Nu_RpoC1_1028	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																		
Nu_RpoC1_1029	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																	
Nu_RpoC1_1030	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																
Nu_RpoC1_1031	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000															
Nu_RpoC1_1032	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000														
Nu_RpoC1_1033	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000													
Nu_RpoC1_1034	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000												
Nu_RpoC1_1035	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000											
Nu_RpoC1_1036	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000										
Nu_RpoC1_1037	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000									
Nu_RpoC1_1038	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000								
Nu_RpoC1_1039	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000							
Nu_RpoC1_1040	0.062	0.062	0.062	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059	0.059	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018						
Nu_RpoC1_1041	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018					
Nu_RpoC1_1042	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000				
Nu_RpoC1_1043	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000			
Nu_RpoC1_1044	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000		
Nu_RpoC1_1045	0.082	0.082	0.082	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.079	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	

ตัวอย่างเอกสาร

2. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของตัวอย่างบัว

การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของตัวอย่างบัว ได้คัดเลือกชิ้นส่วนยีนที่ศึกษาไว้ในขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างบัว จำนวน 34 ตัวอย่าง โดยขั้นตอนนี้ได้คัดเลือกชิ้นส่วนยีนที่มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุด ได้แก่ *ITS* และ *rpoC1* ถึงแม้ชิ้นส่วนยีน *matK* จะมีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมที่สูงกว่า แต่มีขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ยาวกว่า ทำให้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ประสบความสำเร็จน้อยกว่าชิ้นส่วนยีน rpoC1 ที่มีขนาดที่สั้นกว่าและมีเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จที่ 87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับยีน matK มีเพียง 63 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของบัวจึงใช้ยีน *ITS* และ *rpoC1* ศึกษาในตัวอย่างบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ทั้งหมด จำนวน 162 ตัวอย่าง แบ่งเป็น บัวหลวง 110 ตัวอย่าง และบัวสาย 52 ตัวอย่าง (ตารางผนวกที่ 1)

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างบัวทั้งหมดถูกนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยยีน *ITS* ทำการวิเคราะห์ทางด้านปลาย 5’ และ 3’ ส่วนยีน *rpoC1* ทำการวิเคราะห์เฉพาะด้านปลาย ปลาย 5’ จากนั้นทำการตรวจสอบและคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีภาพโครมาโตแกรมที่สมบูรณ์ มาเปรียบเทียบกันทุกตัวอย่างด้วยโปรแกรม Clustal Omega เพื่อตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ไม่เหมาะสม และได้ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความยาวเท่ากัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx ตามรายงานของ Kumar *et al*., 2018 โดยสร้างแผนผังพันธุกรรมด้วยวิธี ML (Maximum Likelihood) ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ พบว่า การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดด้วยยีน *ITS* สามารถแยกกลุ่มบัวสายออกจากบัวหลวงได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 10) การจัดทำแผนผังพันธุกรรมมีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดอยู่ที่ 1.08 การทำ alignment ด้วย ClustalW ของโปรแกรม MEGAx แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงลำดับคู่เบสในดีเอ็นเอประเภทเดียวกัน (tansition mutation) และการเปลี่ยนแปลงลำดับคู่เบสในดีเอ็นเอต่างชนิดกัน (transversion mutation) รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 7 ทั้งในบัวหลวง (ภาพที่ 11) และบัวสาย (ภาพที่ 12) ซึ่งบัวสายจะมีลักษณะคู่เบสแบบเพิ่มเข้ามา (insertion) และขาดหายไป (deletion) ที่พบมากกว่าบัวหลวง สำหรับการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดด้วยยีน *rpoC1* สามารถแยกกลุ่มบัวสายออกจากบัวหลวงเช่นกัน (ภาพที่ 13) โดยมีค่าดัชนีระยะห่างพันธุกรรมสูงสุดอยู่ที่ 0.08 การทำ alignment ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับคู่เบสในบัวหลวง (ภาพที่ 14) แต่แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงลำดับคู่เบสในดีเอ็นเอประเภทเดียวกัน และการเปลี่ยนแปลงลำดับคู่เบสในดีเอ็นเอต่างชนิดกันในบัวสาย (ภาพที่ 15) ทั้งนี้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างบัวทั้งหมดจะนำไปลงทะเบียนในฐานข้อมูล NCBI ต่อไป อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงร่วมกับการลงทะเบียนจะช่วยความน่าเชื่อถือมากขึ้น การทดลองนี้ได้ดำเนินงวิจัยไปควบคู่การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของบัวในการทดลองอื่นๆ ของทางสถาบันวิจัยพืชสวนและพืชสวนศรีสะเกษ นอกจากนี้การปลูกประสบกับปัญหาโรคและแมลงที่ทำลายต้นบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ จึงทำให้ได้ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเพียง 20 ตัวอย่าง และมีสภาพที่ไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 16)

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

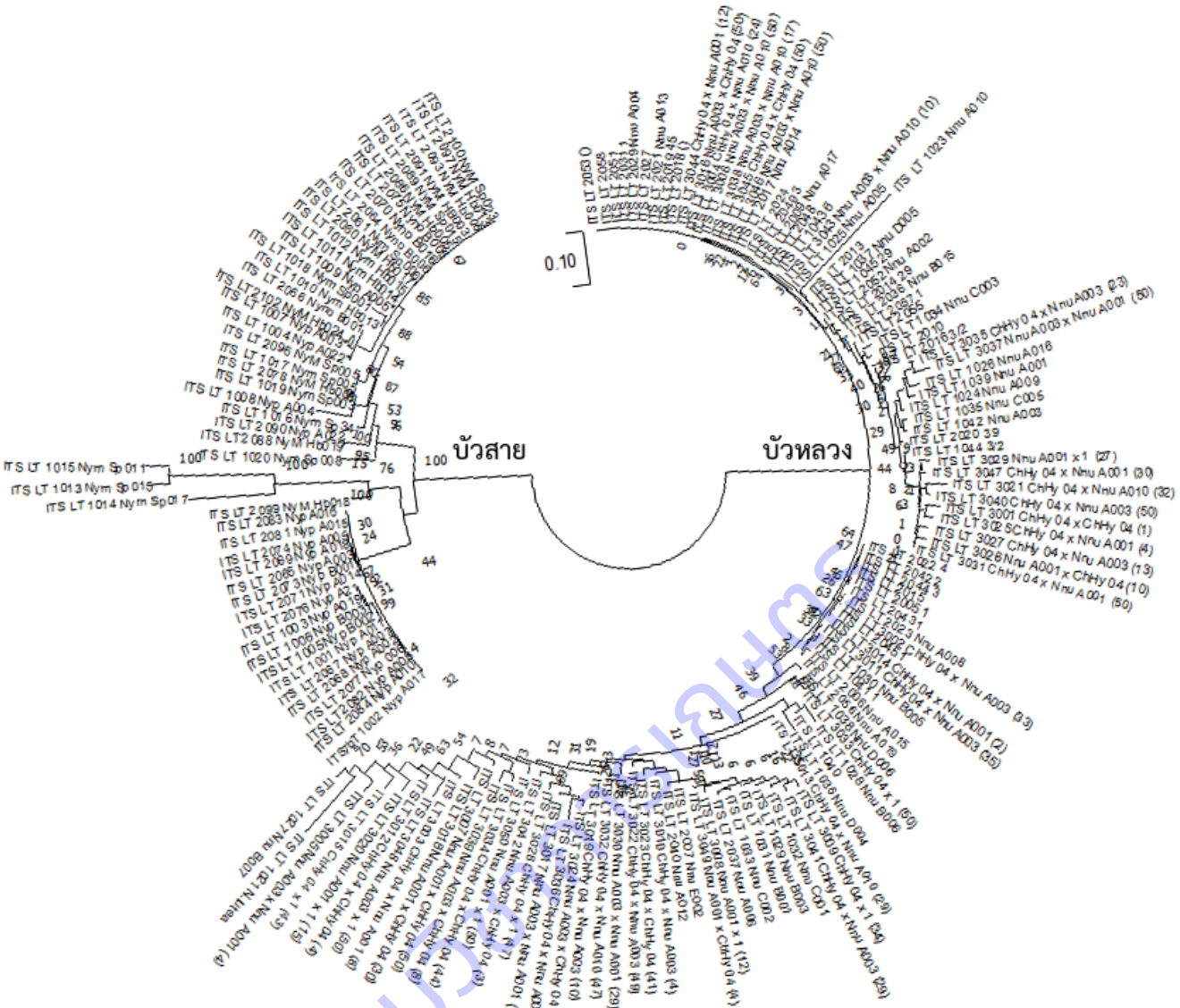
ตารางที่ 7 รูปแบบการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์

รูปแบบ	รายละเอียด
Transition mutation	เป็นการเปลี่ยนแปลงลำคับคู่เบสในดีเอ็นเอประเภทเดียวกัน ได้แก่ - เปลี่ยนจากเบส Purine เป็นเบส Purine เช่น เปลี่ยนเบส Adenine เป็นเบส Guanine - เปลี่ยนจากเบส Pyrimidine เป็นเบส Pyrimidine เช่น เปลี่ยนเบส Cytosine เป็นเบส Thymine
Transversion mutation	เป็นการเปลี่ยนแปลงลำคับคู่เบสในดีเอ็นเอต่างชนิดกัน ได้แก่ - เปลี่ยนจากเบส Purine เป็นเบส Pyrimidine เช่น เปลี่ยนเบส Adenine เป็นเบส Thymine - เปลี่ยนจากเบส Pyrimidine เป็นเบส Purine เช่น เปลี่ยนเบส Cytosine เป็นเบส Guanine

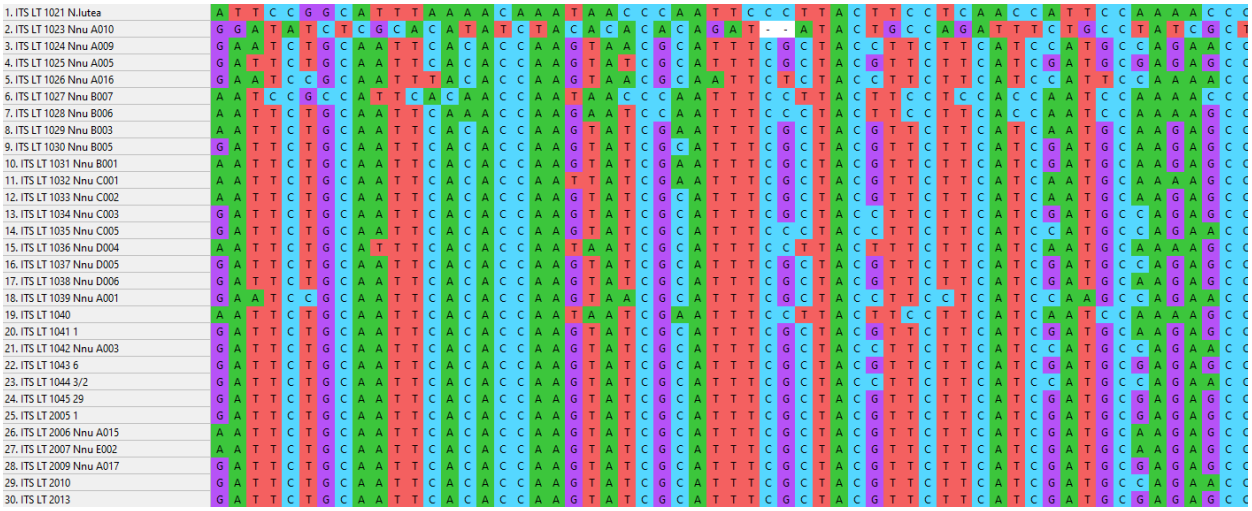
แหล่งที่มา: Yao *et al*., 2017

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืชมีประโยชน์หลายด้าน และได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แต่การนำมาประยุกต์ใช้จริงยังมีปัญหาและข้อจำกัดหลายประการ และการใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานเพียงบริเวณเดียวไม่สามารถระบุชนิดพืชได้แม่นยำเท่ากับการใช้มากกว่าหนึ่งบริเวณ แม้ว่าจะมีรายงานการใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานบริเวณอื่นเพิ่มเติมขึ้นมา แต่ยังไม่มีบริเวณใดที่เหมาะสมกับพืชทุกกลุ่ม ซึ่งทำให้การใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืชยังไม่สมบูรณ์แบบพอที่จะนำไปใช้ได้กับพืชทุกกลุ่มได้ นอกจากนี้ข้อจำกัดในการใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุชนิดพืช ละข้อพึงระวังหลายประการ โดยเฉพาะขั้นตอนการสร้างฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดต้องอาศัยความรู้ทางด้านอนุกรมวิธานอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ดังนั้น การไปประยุกต์ใช้ในพืชต้องตระหนักถึงข้อจำกัดของดีเอ็นเอบาร์โค้ด ซึ่งจะทำให้สามารถเลือกใช้ข้อมูลได้ถูกต้องและน่าเชื่อถือ ถึงแม้ว่าเทคโนโลยีดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะก้าวหน้ามากขึ้น อย่างไรก็ตามดีเอ็นเอบาร์โค้ดไม่สามารถมาทดแทนศาสตร์ทางด้านอนุกรมวิธาน แต่สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลประกอบ การระบุชนิดหรือกลุ่มพืชได้

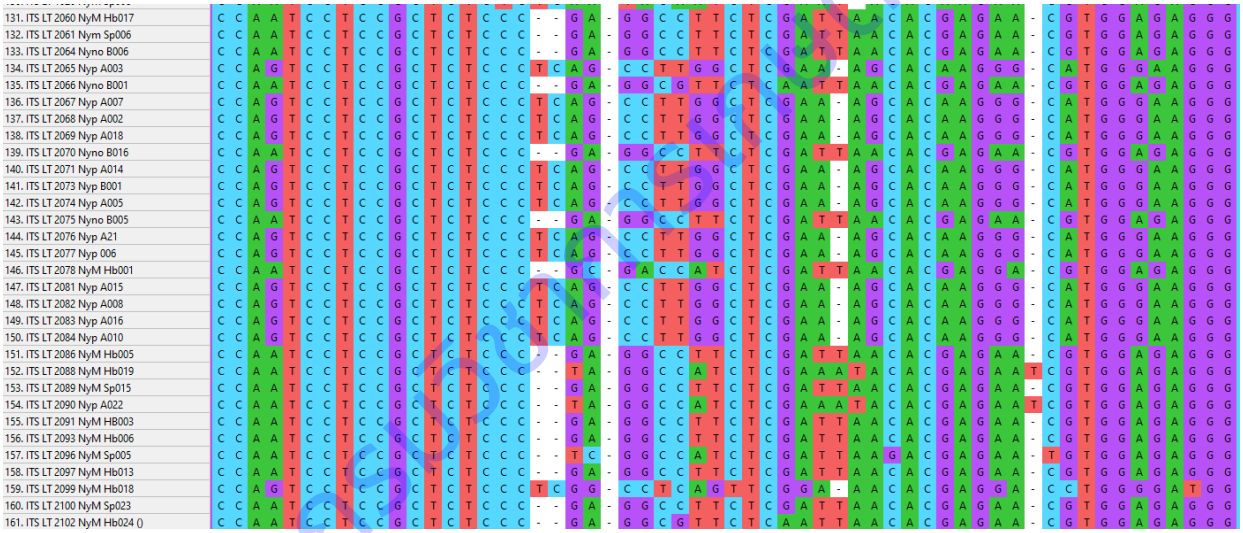
ลิขสิทธิ์เกษตร



ภาพที่ 10 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างบัว จำนวน 162 ตัวอย่าง จากยีน *ITS* ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx โดยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ

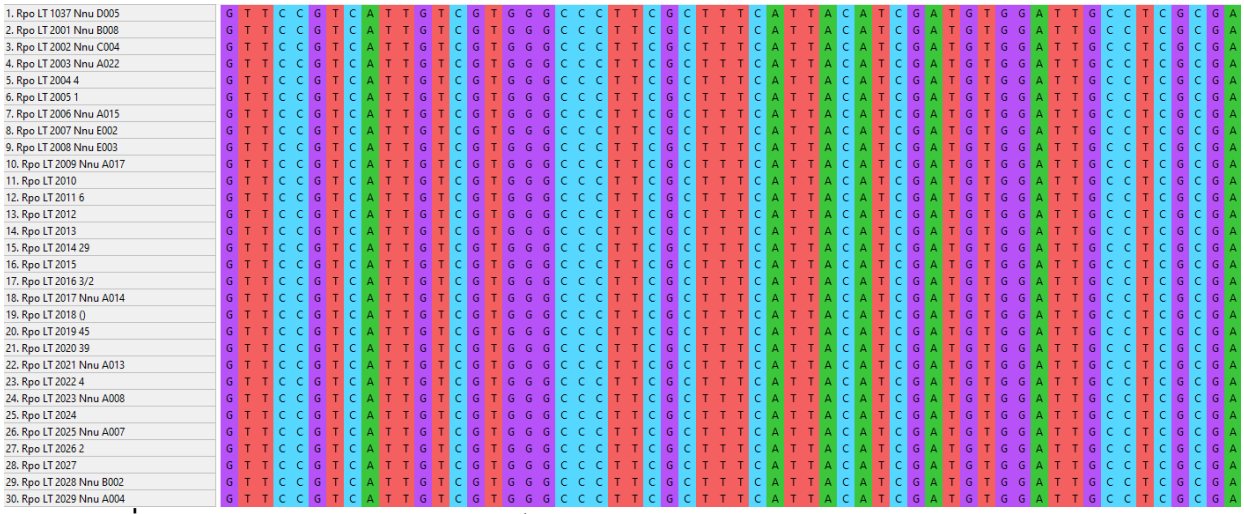


ภาพที่ 11 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS* ตัวอย่างบัวหลวงด้วยโปรแกรม MEGAx

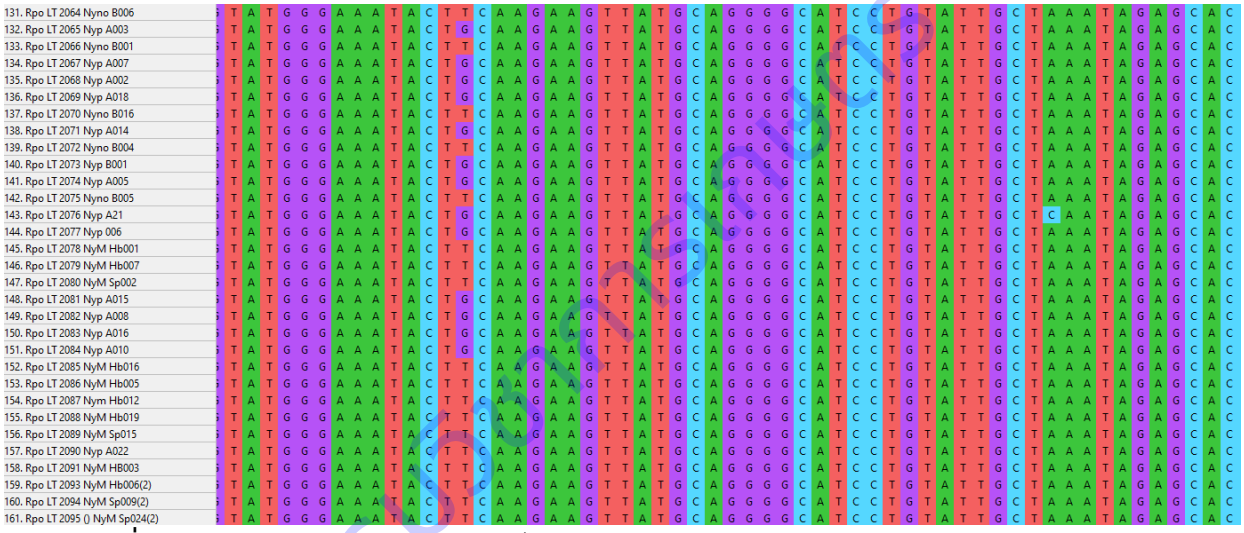


ภาพที่ 12 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ITS* ตัวอย่างบัวสายด้วยโปรแกรม MEGAx

ภาพที่ 13 แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างบัว จำนวน 162 ตัวอย่าง จากยีน *RpoC1* ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGAx โดยวิธี Maximum Likelihood ที่ค่า Boot strap จำนวน 1,000 ซ้ำ



ภาพที่ 14 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* ตัวอย่างบัวหลวงด้วยโปรแกรม MEGAx



ภาพที่ 15 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rpoC1* ตัวอย่างบัวหลวงด้วยโปรแกรม MEGAx

ภาพที่ 16 ตัวอย่างบัวที่จัดทำพรรณไม้อ้างอิง

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างบัว 2 ชนิด ได้แก่ บัวสาย (*Nymphaea lotus*) และ บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*) จากยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* มีขนาดแถบดีเอ็นเอบนเจลอะกาโรสประมาณ 750 950 650 และ 450 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์และคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีคุณภาพได้ขนาดความยาว 503 600 615 และ 391 คู่เบส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีคุณภาพ อยู่ที่ 67 63 94 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์จากบัว 34 ตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx โดยสร้างแผนผังพันธุกรรม (Phylogenetic tree) แบบ ML (Maximum Likelihood) ที่ค่า Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ พบว่าสามารถแยกกลุ่มพันธุกรรมของตัวอย่างบัวสายออกจากบัวหลวงได้อย่างชัดเจน โดยมีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดจากยีน *ITS matK rpoC1* และ *RbcL* อยู่ที่ 0.481 0.207 0.030 และ 0.082 ตามลำดับ

2. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของตัวอย่างบัว ได้คัดเลือกชิ้นส่วนยีน *ITS* และ *rpoC1* มาใช้กับตัวอย่างบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ทั้งหมด จำนวน 162 ตัวอย่าง แบ่งเป็น บัวหลวง 110 ตัวอย่าง และบัวสาย 52 ตัวอย่าง โดยยีน *ITS* ทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทางด้านปลาย 5’ และ 3’ ส่วนยีน *rpoC1* ทำการวิเคราะห์เฉพาะด้านปลาย ปลาย 5’ เมื่อวิเคราะห์ความความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGAx ยีน *ITS* ได้แผนผังพันธุกรรมที่มีค่าดัชนีระยะห่างทางพันธุกรรมสูงสุดอยู่ที่ 1.08 มีการเปลี่ยนแปลงลำดับคู่เบสในดีเอ็นเอประเภทเดียวกัน และการเปลี่ยนแปลงลำคับคู่เบสในดีเอ็นเอต่างชนิดกัน ซึ่งบัวสายจะมีลักษณะคู่เบสแบบเพิ่มเข้ามา และขาดหายไปมากกว่าบัวหลวง สำหรับยีน *rpoC1* สามารถแยกกลุ่มบัวสายออกจากบัวหลวงเช่นกัน โดยมีค่าดัชนีระยะห่างพันธุกรรมสูงสุดอยู่ที่ 0.08 การทำ alignment ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับคู่เบสในบัวหลวง แต่แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงลำดับคู่เบสในดีเอ็นเอประเภทเดียวกัน และการเปลี่ยนแปลงลำคับคู่เบสในดีเอ็นเอต่างชนิดกันในบัวสาย

3. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างบัวทั้งหมดจะนำไปลงทะเบียนในฐานข้อมูล NCBI ต่อไป อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงร่วมกับการลงทะเบียนจะช่วยความน่าเชื่อถือมากขึ้น การทดลองนี้ได้ดำเนินงวิจัยไปควบคู่การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของบัวในการทดลองอื่นๆ ของทางสถาบันวิจัยพืชสวน และศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ นอกจากนี้การปลูกประสบกับปัญหาโรคและแมลงที่ทำลายต้นบัวที่เก็บอนุรักษ์ไว้ จึงทำให้ได้ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเพียง 20 ตัวอย่าง และมีสภาพที่ไม่สมบูรณ์

4. การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอบาร์โค้ดในบัวยังมีปัญหาและข้อจำกัดหลายประการ ซึ่งการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพียงบริเวณเดียวไม่สามารถระบุชนิดพืชได้แม่นยำเท่ากับการใช้มากกว่าหนึ่งบริเวณ นอกจากนี้ขั้นตอนการสร้างฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดต้องอาศัยความรู้ทางด้านอนุกรมวิธาน ซึ่งจะทำให้สามารถเลือกใช้ข้อมูลได้ถูกต้องและน่าเชื่อถือ แม้ว่าเทคโนโลยีสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะก้าวหน้ามากขึ้นอย่างไรก็ตามยังไม่สามารถมาทดแทนศาสตร์ทางด้านอนุกรมวิธาน แต่สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลประกอบการระบุชนิดหรือกลุ่มพืชได้

สำนักวิจัยการเกษตร

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์:

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของบัวสายและบัวหลวงสามารถนำไปใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวได้ทั่วโลกจากฐานข้อมูล NCBI อีกทั้งสามารถใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกพันธุ์ ระบุชนิด และอนุรักษ์พันธุกรรมตัวอย่างบัวที่เก็บรักษาไว้ของกรมวิชาการเกษตร รวมถึงใช้เป็นแนวทางการปรับปรุงพันธุ์บัวให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยสวนศรีสะเกษ กรมวิชาการเกษตร ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างบัว และขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย นายฉลาด ไหวติง และนางสาวศุภรัสมิ์ พูลพัฒนสุวรรณ ที่ช่วยดำเนินงานวิจัยทั้งในส่วนของห้องปฏิบัติการและภาคสนาม เป็นอย่างดี

12. เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ แดงสวัสดิ์ วิภา หงษ์ตระกูล นิตย์ศรี แสงเดือน และนิรันดร์ จันทวงศ์. 2551. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของบัวหลวงโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. หน้า 128-134.

พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ และอรุณรัตน์ ฉวีราช. 2554. ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต กรณีศึกษา: จีน Cytochrome c Oxidase I (COI) ในสัตว์. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม; ว.มรม. ปีที่ 5 ฉบับที่ 2:พฤษภาคม - สิงหาคม 2554. หน้า 205-210.

ภทร รติวัฒน์. 2553. ชนิดของบัวในประเทศไทย. http://thailand-an-field.blogspot.com/2010/ 01/blog-post_820.html. สืบค้นวันที่ 28 เมษายน 2559.

วชิรญา อิ่มสบาย. 2553. โครงการฉบับสมบูรณ์ เรื่อง บทบาทของความสัมพันธ์ของน้ำและเอทิลีนกับการเสื่อมสภาพ และการเก็บรักษาดอกบัวหลวง. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร. 106 หน้า.

อรุโณทัย ซาววา สุภาวดี ง้อเหรียญ อัญชลี ศรีสุวรรณ ประพิศ วองเทียม และหทัยรัตน์ อุไรรงค์. 2552. การศึกษาความหลากหลายของพันธุ์มันสำปะหลังในประเทศไทยโดยใช้เทคนิค SCAR (Sequence Characterized Amplified Region). รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551-2552 สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร. หน้า 96-118.

Ali, M.A., G. Gyulai, N. Hidvegi, B. Kerti, F.M. Al Hemaid, A.K. Pandey and J. Lee. 2013. The changing epitome of species identification DNA bacoding. Saudi Journal of Biological Sciences (2014) 21: 204-231.

Cheng, T., C. Xu, L. Lei, C. Li, Y. Zhang and S. Zhou. 2016. "Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity." Molecular Ecology Resources 16(1): 138-149.

กรมวิชาการเกษตร

Janzen, H. Daniel. 2009. A DNA barcode for land plants. PNAS vol.106 no.3: 12794-12797.

LI, M., H. CAO, P.P. BUT and P. SHAW, 2011. Identification of herbal medicinal materials using DNA barcodes. Journal of Systematics and Evolution 49 (3): 271–283.

Parveen, I., H.K. Signh., S. Raghuvanshi and U.C. Pradhan. 2011. DNA barcoding of endangered Indian Paphiopedilum species. Molecular Ecology Resources. Doi:10.1111/j.1775-0998.2011.03071.x. 9 pages.

Xu, S., D. Li, J. Li, X. Xiang, W. Jin, W. Huang, X. Jin and L. Huang. 2015. Evaluation of the DNA Barcodes in *Dendrobium* (Orchidaceae) from Mainland Asia. PLOS ONE, DOI:10.1371/Journal.pone.0115168. 12 pages.

Yang, M., F. Liu, Y. Han, L. Xu, N. Juntawongc and Y. Liu. 2013. Genetic diversity and structure in populations of Nelumbo from America, Thailand and China: Implications for conservation and breeding. Aquatic Botany 107: 1–7.

Yao, P. C., H.Y. Gao, Y.N. Wei, J.H. Zhang, X.Y. Chen and H.-Q. Li. 2017. Evaluating sampling strategy for DNA barcoding study of coastal and inland halo-tolerant poaceae and chenopodiaceae: A case study for increased sample size. PLOS ONE. 12: e0185311. 14 pages.

Yu, J., J. Xue and S. Zhou. 2011. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. Journal of Systematic and Evolution 49(3): 176-181

กรมวิชาการเกษตร

13. ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
1	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1001	Nyp_A011
2	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1002	Nyp_A017
3	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1003	Nyp_A019
4	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1004	Nyp_A022*
5	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1005	Nyp_B002
6	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1006	Nyp_B003
7	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1007	Nyp_A003*
8	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1008	Nyp_A004
9	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1009	Nyp_A005*
10	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1010	Nym_Hb013
11	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1011	Nym_Hb014
12	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1012	Nym_Hb015
13	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1013	Nym_Sp015
14	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1014	Nym_Sp017
15	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1015	Nym_Sp011
16	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1016	Nym_Sp34
17	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1017	Nym_Sp005
18	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1018	Nym_Sp001
19	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1019	Nym_Sp003
20	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	1020	Nym_Sp008
21	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2060	Nym_Hb017
22	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2061	Nym_Sp006
23	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2064	Nyno_B006
24	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2065	Nyp_A003

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
25	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2066	Nyno_B001
26	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2067	Nyp_A007
27	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2068	Nyp_A002
28	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2069	Nyp_A018
29	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2070	Nyno_B016
30	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2071	Nyp_A014
31	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2073	Nyp_B001
32	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2074	Nyp_A005
33	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2075	Nyno_B005
34	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2076	Nyp_A21
35	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2077	Nyp_006
36	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2078	Nym_Hb001
37	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2081	Nyp_A015
38	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2082	Nyp_A008
39	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2083	Nyp_A016
40	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2084	Nyp_A010
41	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2086	Nym_Hb005
42	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2088	Nym_Hb019
43	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2089	Nym_Sp015
44	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2090	Nyp_A022
45	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2091	Nym_HB003
46	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2093	Nym_Hb006
47	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2096	Nym_Sp005
48	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2097	Nym_Hb013
49	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2099	Nym_Hb018
50	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2100	Nym_Sp023

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
51	บัวสาย (*Nymphaea lotus*)	2102	Nym_Hb024 (หอม)
52	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1021	N.lutea
53	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1022	ปทุม1
54	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1023	Nnu_A010
55	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1024	Nnu_A009
56	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1025	Nnu_A005
57	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1026	Nnu_A016
58	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1027	Nnu_B007
59	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1028	Nnu_B006
60	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1029	Nnu_B003
61	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1030	Nnu_B005
62	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1031	Nnu_B001
63	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1032	Nnu_C001
64	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1033	Nnu_C002
65	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1034	Nnu_C003
66	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1035	Nnu_C005
67	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1036	Nnu_D004
68	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1037	Nnu_D005
69	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1038	Nnu_D006
70	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1039	Nnu_A001
71	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1040	ลูกผสมจีน
72	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1041	ยโสธร1
73	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1042	Nnu_A003
74	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1043	ขอนแก่น6
75	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1044	ลูกผสมบางพระ 3/2
76	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	1045	ประจวบ 29

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
77	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2005	อำนาจเจริญ 1
78	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2006	Nnu_A015
79	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2007	Nnu_E002
80	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2009	Nnu_A017
81	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2010	พิจิตร
82	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2013	แดงทะเลน้อย
83	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2014	ประจวบคีรีขันธ์ 29
84	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2015	ยโสธร
85	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2016	ลูกผสมบางพระ 3/2
86	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2017	Nnu_A014
87	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2018	ขาวสงขลา (กลีบซ้อน)
88	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2019	แพร่ 45
89	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2020	ปทุมธานี 39
90	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2021	Nnu_A013
91	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2022	บัวจีนเบอร์ 4
92	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2023	Nnu_A008
93	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2024	สตูล
94	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2027	นราธิวาส
95	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2029	Nnu_A004
96	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2031	พิษณุโลก 1
97	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2036	Nnu_B015
98	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2037	Nnu_A006
99	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2040	Nnu_A012
100	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2042	บัวจีนเบอร์ 2
101	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2043	อุดร 1
102	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2044	บัวจีนเบอร์ 3

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
103	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2045	ยโสธร 1
104	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2048	ประจวบคีรีขันธ์
105	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2049	กระบี่ 3
106	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2051	นครศรีธรรมราช
107	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2052	Nnu_A002
108	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2053	ขาวสงขลา (กลีบไม่ซ้อน)
109	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2055	สกลนคร
110	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2056	Nnu_A019
111	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2057	ศรีสะเกษ 1
112	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	2058	สุโขทัย
113	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3001	ChHy 04 x ChHy 04 (1)
114	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3002	ChHy 04 x Nnu_A003 (33)
115	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3003	ChHy 04 x Nnu_A001 (8)
116	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3004	ChHy 04 x Nnu_A010 (24)
117	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3005	Nnu_A003 x Nnu_A001 (4)
118	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3006	Nnu_A003 x Nnu_A010 (50)
119	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3007	Nnu_A001 x ChHy 04 (50)
120	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3008	Nnu_A001 x ยโสธร 1 (12)
121	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3009	ChHy 04 x ยโสธร 1 (34)
122	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3010	ChHy 04 x Nnu_A003 (4)
123	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3011	ChHy 04 x Nnu_A003 (35)
124	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3012	ChHy 04 x ChHy 04 (4)
125	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3013	ChHy 04 x Nnu_A010 (29)
126	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3014	ChHy 04 x Nnu_A001 (2)
127	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3015	ChHy 04 x ยโสธร 1 (43)
128	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3016	Nnu_A003 x ChHy 04 (50)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
129	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3017	Nnu_A003 x Nnu_A001 (9)
130	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3018	Nnu_A001 x ChHy 04 (30)
131	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3019	ChHy 04 x Nnu_A003 (10)
132	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3020	Nnu_A001 x ยโสธร 1 (15)
133	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3021	ChHy 04 x Nnu_A010 (32)
134	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3022	ChHy 04 x Nnu_A003 (49)
135	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3023	ChHy 04 x ChHy 04 (41)
136	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3024	Nnu_A003 x ChHy 04 (16)
137	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3025	ChHy 04 x Nnu_A001 (4)
138	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3026	Nnu_A001 x ChHy 04 (10)
139	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3027	ChHy 04 x Nnu_A003 (13)
140	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3028	ChHy 04 x ยโสธร 1 (47)
141	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3029	Nnu_A001 x ยโสธร 1 (27)
142	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3030	Nnu_A003 x Nnu_A001 (29)
143	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3031	ChHy 04 x Nnu_A001 (50)
144	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3032	ChHy 04 x Nnu_A010 (47)
145	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3033	ChHy 04 x ยโสธร 1 (50)
146	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3034	ChHy 04 x ChHy 04 (44)
147	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3035	ChHy 04 x Nnu_A003 (23)
148	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3036	ChHy 04 x Nnu_A001 (10)
149	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3037	Nnu_A003 x Nnu_A001 (50)
150	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3038	Nnu_A003 x Nnu_A010 (17)
151	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3039	Nnu_A003 x ChHy 04 (8)
152	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3040	ChHy 04 x Nnu_A003 (50)
153	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3041	ChHy 04 x Nnu_A003 (29)
154	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3042	Nnu_A003 x ChHy 04 (3)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างบัวที่ใช้ในการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ลำดับที่	ชนิดบัว	รหัสดีเอ็น	ชื่อตัวอย่าง/รหัสการเก็บอนุรักษ์
155	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3043	Nnu_A003 x Nnu_A010 (10)
156	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3044	ChHy 04 x Nnu_A001 (12)
157	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3045	ChHy 04 x ChHy 04 (50)
158	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3046	Nnu_A003 x Nnu_A010 (50)
159	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3047	ChHy 04 x Nnu_A001 (30)
160	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3048	Nnu_A003 x ยโสธร 1 (50)
161	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3049	Nnu_A001 x ChHy 04 (4)
162	บัวหลวง (*Nelumbo nucifera*)	3050	Nnu_A001 x ยโสธร 1 (50)

กรมวิชาการเกษตร

Nnu_A 003

Nnu_A 004

Nnu_A 006

Nnu_A 007

Nnu_A 008

Nnu_A 009

Nnu_A 011

Nnu_A 012

Nnu_A 014

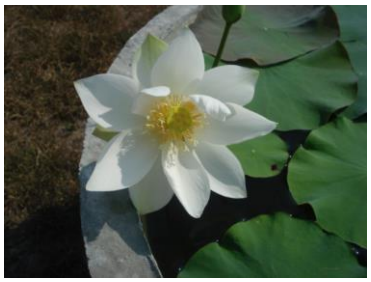
กรมวิชาการเกษตร

ภาพผนวกที่ 1 แสดงลักษณะดอกบัวปทุม

Nnu_B 001

Nnu_B 002

Nnu_B 003



Nnu_B 005

Nnu_B 006

Nnu_B 007

ภาพผนวกที่ 2 แสดงลักษณะดอกบัวบุณฑริก

Nnu_C 002

Nnu_C 003

Nnu_C 004

Nnu_C 005

Nnu_C 006

Nnu_C 007

ภาพผนวกที่ 3 แสดงลักษณะดอกบัวสัตบงกช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Nnu_D 005

ภาพผนวกที่ 4 แสดงลักษณะดอกบัวสัตตบุษย์

Nnu_E 001

Nnu_E 003

Nnu_E 004

ภาพผนวกที่ 5 แสดงลักษณะดอกบัวหลวงกลีบขาวขอบชมพู

กรมวิชาการเกษตร

ภาพผนวกที่ 6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *ITS* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym ITS 1001
CTGGGGTCGCTTTAGCTGAACAAGAAGCCGAAGCCGCTTGCCTCAAGAGTCCCAATGGCCTTTCTCGATCAGGTGAGGCACAACTC
ACTGGGAAATCCACCGCTTGTTGTGCCGCACAACTGATCGGCTTAGGCCAAGACGTTTCAACCTACGGCGTGCTTAAAAACAACAC
GCCGAAGGCCAGTCCTCCGCTCTCCCTCAGCCTTGGCTCGAAAGCACAAGGGCATGGGAAGGGCGATGCAAAGCTTGACGCCCAGG
CAGACGTGCCCTTGGCCGGATGGCCTTGGACGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTATATTGGAAGGGAAGAGGGACATC
CCGCCACTCTTTCGTGTGGCGGCACGCCCTCTCCTTTCGATCAAAGGTTTTCCTTGGCACCTAGAGGTGCCGA
>Nym ITS 1002
CTGGGGTCGCTTTAGCTGAACAAGAAGCCGAAGCCGCTTGCCTCAAGAGTCCCAATGGCCTTTCTCGATCAGGTGAGGCACAACTC
ACTGGGAAATCCACCGCTTGTTGTGCCGCACAACTGATCGGCTTAGGCCAAGATGTTTCAACCTACGGCGTGCTTAAAAACACCAC
GCCGAAGGCCAGTCCTCCGCTCTCCCTCAGCCTTGGCTCGAAAGCACAAGGGCATGGGAAGGGCGATGCAAAGCTTGACGCCCAGG
CAGACGTGCCCTTGGCCGGATGGCCTTGGACGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTATATTAGAAGGGAAGAGGGACATC
CCGCCACTCTTTCGTGTGGCGGCACGCCCTCTCCTTTCGATCAAAGGTTTTCCTTGGCACCTAGAGGTGCCGA
>Nym ITS 1006
CTGGGGTCGCTTTAGCTGAACAAGATGCCGAAGCCGCTTGCCTCAAGAGTCCCAATGGCCTTTCTCGATCAGGTGAGGCACAACTC
ACTGGGAAATCCACCGCTTGTTGTGCCGCACAACTGATCGGCGTAGGCCAAGACATTTCAACCTACGGCGTGCTTAAAAACGACAC
GCCGAAGGCCAGTCCTCCGCTCTTCCTCAGCCTTGGCTCGAAAGCACAAGGGCATGGGAAGGGCGATGCAAAGCTTGACGCCCAGG
CAGGCGTGCCCTTGGCCGGATGGCCTTGGACGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTATATTGGAAGGGAAGAGGGACATC
CCGCCACTCTTTCGTGTGGCGGCACGCCCTCTCCTTTCGATCAATGATTTTCCTTGGCACCTAGAGGTGCCGA
>Nym ITS 1007
CTGGGGTCGCTAAGGATGAAGCAAATAACTTGCATCAAAAGAGTCCTTGGGCCTTCTCGATCGGGTGAGGCACAATGACTCACTGG
GAAATCCACCGCTCGTTGTGCCGTCAACCAAAATCGTAGAGCCAACTGTAATGTTTCAACCTACAACGCCTTTGAAACTTGGCGCC
GAAGGCCAATCCTCCGCTCTCCCGAGGCGTTCTCAATTAACACGAGAACGTGGAGAGGGCGACACATAGCTTGACGCCCAGGCAGA
CGTGCCCTTGGCCGAATGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGTATCG
CATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCATCATAGATTAAAGGGTGAAAGGAACATCTC
TCACCACTTTGTGGTTGGATGCCCTCCCCTTCTTTACAATGTTCCTTGACTCTTAAAAGCGCCGGA
>Nym ITS 1008
CTGGGGTCGCTAAGGATGAAGCAAGAAAACTGAAAGATATAACTTGGATCAAAAGAATCCCAAGGGCCTTTTCCATCGGGTGAGGG
ACAACAACTCACTGGGAAATCCACCGCTTGTTGTGCCCTCCACCAAAATCCTAAAACCAACTATAATGTTTCAACCTACCACGCCC
TTGAAACTTGGCGCCCAAAGGCAATCCTCCGCTCTCCCCCGACCCTCTCGATTAACACGAAGACGTGGAGAGGGCGACCCATAACT
TGGCCCCCAGGCAGAAGTGCCCTTGGCCGAATGGCCTCCGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCCATGATTCCCGGGATTCTGCAAT
TCACACCAAGTATCGCATTTCCCTACCTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCCAAAGTCCTCCTAAATTAAAGGG
CGGAAGGAACATCTCTGACCACTTTGTGGTTGGATGCCCTCCCCTTTTTTTTAATGTTCCTTGACCCTTGAAAGCGCCGGA
>Nym ITS 1009
CTGGGGTCGCTAAGGATGAAGCAAATAAAAATCAAAAGATATTAACTTGCATCAAAAGAGTCCCACGGGCCTTCTCGATCGGGTGA
GGCACAACGACTCACTGGGAAATCCACCGCTCGTTGTGCCGTCAACCAAAATCGTAGAGCCAACTGTAATGTTTCAACCTACAACG
CCATTGAAACTTGGCGCCGAAGGCCAATCCTCCGCTCTCCCGAGGCCTTCTCGATTAACACGAGAACGTGGAGAGGGCGACGCATA
GCTTGACGCCCAGGCAGACGTGCCCTTGGCCGAATGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGC
AATTCACACCAAGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTCATAGATTAAA
GGGTGAAAGGAACATCTCTCACCACTTCGTGGTTGGATGCCCTCCCCTTCTTTACAATGTTCCTTGACGCTTAAAAGCGCCGGA
>Nym ITS 1010
CTGGGGTCGCTAGGATGAAGCAAATAAAAATCAAAAGATATTAACTTGCATCAAAAGAGTCCCACGGGCCTTCTCGATCGGGTGAG
GCACAACGACTCACTGGGAAATCCACCGCTCGTTGTGCCGTCAACCAAAATCGTAAAGCCAACTGTAATGTTTCAACCTACAACGC
CATTGAAACTTGGCGCCAAAGGCCAATCCTCCGCTCTCCCGAGGCCTTCTCGATTAACACGAGAACGTGAAGAGGGCGACGCATAG
CTTGACGCCCAGGCAGACGTGCCCTTGGCCGAATGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCA
ATTCACACCAAGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTCATAGATTAAAG
GGTGAAAGGAACATCTCTCACCACTTCGTGGTTGGATGCCCTCCCCTTCTTTACAATGTTCCTTGACGCTTAAAAGCGCCGGA
>Nym ITS 1011
CTGGGGTCGCTAAGGATGAAGCAAATAAAAATCAAAAGATATTAACTTGCATCAAAAGAGTCCCACGGGCCTTCTCGATCGGGTGA
GGCACAACGACTCACTGGGAAATCCACCGCTCGTTGTGCCGTCAACCAAAATCGTAGAGCCAACTGTAATGTTTCAACCTACAACG
CCATTGAAACTTGGCGCCGAAGGCCAATCCTCCGCTCTCCCGAGGCCTTCTCGATTAACACGAGAACGTGGAGAGGGCGACGCATA
GCTTGACGCCCAGGCAGACGTGCCCTTGGCCGAATGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGC
AATTCACACCAAGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTCATAGATTAAA
GGGTGAAAGGAACATCTCTCACCACTTCGTGGTTGGATGCCCTCCCCTTCTTTACAATGTTCCTTGACGCTTAAAAGCGCCGGA
>Nym ITS 1017
CTGGGGTCGCTAAGGATGATGCAAATAAAACTCAAAAAATATATAACTTGCATCAAAAGAGTCCCACGGGCCTTCTCGATCGGGTG
AGGCACAACGACTCACTGGGAAATCCACCGCTCGTTGTGCCGTCAACCAAAATCGTAGAGCCAACTATAACGTTTCAACCTACGAC
GCCATTGACACTTGGCGCCGAAGGCCAATCCTCCGCTCTCCCTCGGCCATCTCGATTAAGACGAGAATGTGGAGAGGGCGACGCAT
AGCTTGACGCCCAGGCAGACGTGCCCTTGGCCGAATGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTG
CAATTCACACCAAGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTCATAGATTAA
AGGGAGAAAGGAACATCTCTCACCACTTTGTGGTTGGATGCCCTCCCCTTCTTTACAATGTTCCTTGACGCTTAAAAGCGCCGGA

กรมวิทยาศาสตร์

ภาพผนวกที่ 6 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *ITS* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym ITS 1020
CTGGGGTCGCTAAGATGATGCAAGGAAAACTCAAAAGCTATAACTTGCATCAGAAGAGTCCCACGGGCCTTCTCGATCAGGTGAGG
CACAACAAATCACTGGATTATCCACCGCTCGTTGTGCCGTCAACCAAAACCGTAAGCCAAATGTAATGTTTCAACCTACGATGCCA
ATGTAACTTGGCACCGAAGGCCAATCCTCCGCTCTCTCTCAATACAATCTCGAATACACAAGAACGTGGAGAGGGCGACACATAGC
TTGACGCCCAGGCAGACGTGCCCTTGGCCGAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCGATGATTCACGGGATTCTGCAA
TTCACACCAAGTATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGTGGCGGGAGCCAAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTCATAGATATAAAG
AAGATGGAGCCATCACACACCACTTTTTTGTTTTGTGGCGGGATGCCCTCTCCATTTGGTAAATGTTCCTTGACGCTTAAAAGCGC
CGGA
>Nu ITS 1021
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCACCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAAACCCCCACCGGCCTGGCCCTTTGTTGGCCGGGGCCCTCCTTTTGGCCCACCCCACCA
AAACCGAACAAGAAGGCCAAATCCGGACCAACTCCCCCACACCCAAAGGGGGAAGGGAAGGAAGGGGAACCAAGCCTGAACCCCAA
GGCAGGCTGGCCCTGGCCCCAGGGCCTCCGGGGCCACTTGGCTTCAAAAAACCCAAGGGTCAAGGGATTCCGGCATTTAAAACAAA
TAACCCAATTCCCTTACTTCCTCAACCATTCCAAAACCCAAAAAACCCTTGGCCAAAATCCTTTTTTAATGCAAAAGCCAAACAAC
CAACCAAGGTTGGAATAAGCAACCCTTCCAGGAAAATCCCTGG
>Nu ITS 1022
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAGG
GAGGGGTGGCCTTGTGCTCAAAGGCCTCGGAGCGCAACTCTGTGGTGTCAAAGAACATCGCATAGGGTGTCACCGCGGGGATATTC
TTCGTCACATATTTCACCACCACACAAGATGATACTGCCGACTATTTTTCTGCCGTCATCAGCTGTTTCCTTCTTCTACTACTGCC
AAGTTTAGTCGGCAGGGAAAGGGACGCCCGCCAGGGAAAGTTAAA
>Nu ITS 1023
CTGGGGTCGCAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGAC
GTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCAA
AACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAAGC
AGGGGTGCCCTTGGCTCAAAGGCCTCGTGGCGCAACTTGCGGTTCAAAGAACTCCATGTGGTCACAGGGATATCTCGCACATATCT
ACACACACAGATATACTGCCAGATTTCTGCCTATCGCTGTTCTCTTCACTACTGCAGTAGTCGGCAAGGAAGGACGCCGCAGGAAG
TAATTACTCCCGCTTGTTTGTCCGCCCGCCAGGAAAGGAAATGCTG
>Nu ITS 1025
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAGG
CAGGCGTGCCCTTGGCTCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCGAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1026
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGGAAACAAGCCTGAAGCCCCAG
GCAGGCTGGCCTTGGCTCAAAGGGCTCCGGCGCAACTTGGCTTCCAAAAATCCATGGGTCACGGGAATCCGCAATTTACACCAAGT
AACGCAATTCTCTACCTTCTTCATCCATTCCAAAACCCAAATAACCCTTGCCCAAAATCCTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAAATTCCTT
>Nu ITS 1027
CTGGGGTCGCAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGAC
GTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCAA
AACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAAGGCCAACAATCCTGGACCCCAAGG
CAGGCAGGCCCTGGCTCAAAAGGCCCCGGCGCAACTTTGCTTCCAAAAACCCAAGGGTCAACGGAATCCGCCATTCACAACCAATA
ACCCAATTTCCTTACTTCCTCCACCAATCCAAAACCCAAAAAATCCTTTCCCAAAAGCCTTTTTTGAAAAATAAAGCCAAACAACC
AACAATGGTGGGAATAAGCAACCCTCCCTGGAAAATCCTTGGC
>Nu ITS 1028
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAAGGACAACAATCCTTGATGCCCAG
GCAGGCAGGCCCTTGGTCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCTTTCAAAAACTCAATGGTTCACGGAATTCTGCAATTCAAACCAAG
AATCCAATTTCCCTACTTCCTTCACCAATCCAAAAGCCAAAATATCCTTTGCCAAAAGTCTTTTTTTAAAAATAAAGGCAAAACAC
CCACCAAGGTTGGAATAATCAACCCTCCCTGGAAAATCCTTGGC
>Nu ITS 1029
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTAATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGAAGGGAAGGGCAACAATGCTTGACGCCCAG
GCAGGCATGCCCTTGGCCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCAATGGTTCACGGAATTCTGCAATTCACACCAAG
TATCGAATTTCGCTACGTTCTTCATCAATGCAAGAGCCAAAATATCCGTTGCCAAAAGTCGTTTTTTTGAATATAAAGGCAAAACAC
CCAACAATGTTGGAATAATGCACCCTTCCATGAAAATTCCTT

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ภาพผนวกที่ 6 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *ITS* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu ITS 1030
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTAATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAG
GCAGGCATGCCCTTGGCCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAG
TATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCAAGAGCCAAGATATCCGTTGCCAAGAGTCGTTTTTTGAATATAAAGGCAAAACAC
CCAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAAATTCCTT
>Nu ITS 1031
CTGGGGTCGCAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTAATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAAC
GTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCAA
AACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACAATGCGTGACGCCCAGG
CAGGCATGCCCTTGGCCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCAATGGTTCACGGAATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGAATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCAAGAGCCAAAATATCCGTTGCCAAAAGTCGTTTTTTGAATATAAAGGCAAAACACC
CAACAAGGTTGGAATTATGCACCCTTCCATGAAAATTCCTT
>Nu ITS 1032
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGAAGGGAAGGGCAACAATGCTTGACGCCCAG
GCAGGCATGCCCTTGGTCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCAATGGTTCACGGAATTCTGCAATTCACACCAAT
TATCGAATTTCGCTACGTTCTTCATCAATGCAAAAGCCAAAATATCCGTTGCCAAAAGTCGTTTTTTAAAAATAAAGGCAAAACAC
CCAAAATGGTTGGAATAATGCACCCTTCCAGGAAAATTCCTT
>Nu ITS 1033
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTAATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAG
GCAGGCATGCCCTTGGCCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGAATTCTGCAATTCACACCAAG
TATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCAATGCAAGAGCCAAGATATCCGTTGCCAAAAGTCGTTTTTTGAATATAAAGGCAAAACAC
CCAACAATGTTGGAATTATGCACCCTTCCAGGAAAATTCCTT
>Nu ITS 1034
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAGGGAAGGAAGGGCAAACATGCCTGACCCCCCAG
GAGGGGTGGCCTTGGCTCAAAGGGCTCGGGCGCAACTTGGGTTCAAAGACTCCATGGGTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACCTTCTTCATCGATGCCAGAGCCCAAATATCCGTTGCCCAAAGTCCTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1035
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGCAAACAAGCCTGACGCCCAAG
GAGGGGTGGCCTTGGCTCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGGGTTCAAAGAATCCATGGGTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCCCTACCTTCTTCATCCATGCCAGAACCGAAATATCCGTTGCCCAAAGAGCCTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACAC
CCAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT

>Nu ITS 1036
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTACACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGGCAACAATGCTGGACGCCCAG
GCAGGCTGGCCCTTGGTCCAAGGGCTCGGGGCGCAACTTGCGTCAAAAGACTCATGGGTTCACGGAATTCTGCATTTCACACCAAT
AATCGCATTTCCTTACTTTCTTCATCAATGCAAAAGCCAAAAAATCCGTTGCCAAAAGTCTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1037
CTGGGGTCGCAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGAC
GTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCAA
AACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAGGC
AGGCGTGCCCTTGGCTCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGTA
TCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCCAGAGCCGAGATATCCGTTGCCGAAAGTCGTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACCC
AACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1038
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTACACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
CAACGGAACGGGAGGTCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGGAGGGAGGGGCAACGATGCGTGACGCCCAG
GCAGGCGGGCCCTTGGCCCAAGGGCCTTAGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCAATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAG
TATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCAAGAGCCAAGATATCCGTTGCCAAAAGTCGTTTTTTGAATACAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ภาพผนวกที่ 6 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *ITS* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu ITS 1039
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGGAAACAAGCCTGACCCCCAAG
GAAGGCTGGCCTTGGCTCAAAGGGCTCCGGCGCAACTTGGCTTCAAAGAATCCATGGGTCACGGGAATCCGCAATTCACACCAAGT
AACGCATTTCGCTACCTTCCTCATCCAAGCCAGAACCGAAATAACCGTTGCCCAAAATCCTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGGTGGGAATATGCACCCTTCCATGGAAATTCCTT
>Nu ITS 1040
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGGCAACAATGCTTGACGCCCAG
GCAGGCAGGCCCTTGGTCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAAACTCAATGGTTCACGGAATTCTGCAATTCACACCAAT
AATCGAATTTCCTTACTTCCTTCATCAATCCAAAAGCCAAAATATCCTTTGCCAAAAGTCTTTTTTGAATAATAAAGCAAAACAAC
CAACAATGGTGGGAATAAGCACCCTTCCATGGAAAATCCTTGGC
>Nu ITS 1041
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTAATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACAA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTGTTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAG
GCAGGCATGCCCTTGGCCCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAG
TATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCAAGAGCCAAGATATCCGTTGCCAAAAGTCGTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACAC
CCAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1042
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGCAACCAAGCCTGACGCCCAAG
GAGGGGTGGCCTTGGCTCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGAATCCATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACCTTCTTCATCCATGCCAGAACCGAAATATCCGTTGCCGAAAATCCTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1043
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAGG
CAGGCGTGCCCTTGGCTCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCGAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT
>Nu ITS 1044
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCTAATGGGAAAAGGAAGGAAGGGCAACCAAGCCTGACGCCCAAG
CAGGCGTGGCCTTGGCTCAAAGGCTCCGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCCATGGGTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACCTTCTTCATCCATGCCAGAACCGAAATATCCGTTGCCCAAAATCGTTTTTTGAATATAAAAGCAAAACACC
CAACAATGGTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAAATTCCTT
>Nu ITS 1045
CTGGGGTCGCAAGGCAGGCTCCGTCAACAACGGATCCCTCATCGGGTCACACACTCGACACCCCAATGACAACACAACGTGCACGA
CGTCCAGCATTCCACCACCTAAGATTGAACCACCAACCGTCGTGGCACTTTATTGTCGGGGGCCATCATTTGGGCCAACCGCACCA
AAACGGAACGAGAGGCCAACATCTGCACCAACTCTCCAACACCAAATGGGAAAGGGAGGGAAGGGCAACGATGCGTGACGCCCAGG
CAGGCGTGCCCTTGGCTCAAAGGCCTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTCGATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGT
ATCGCATTTCGCTACGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCGAGATATCCGTTGCCGAAAGTCGTTTTTTGAATATAGAGGCAAAACACC
CAACAATGTTGGGATTATGCACCCTTCCATGGAGATTCCTT

ตัวอย่างเอกสาร

ภาพผนวกที่ 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *MatK* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym MatK 1001
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAAGACATTTTTATGGAAAAATCAAACATCTTGTAGTGACGCCTCATAATGATTCTCAAAT
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCCATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTACATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTATTTTCTGGGCTATCTTTCCGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACAGCTGTTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>Nym MatK 1002
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAAGACATTTTTATGGAAAAATCAAACATCTTGTAGTGACGCCTCATAATGATTCTCAAAT
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCCATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTACATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTATTTTCTGGGCTATCTTTCCGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACAGCTGTTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>Nym MatK 1006
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCTTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAAGACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCATAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCCATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTACATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTATTTTCTGGGCTATCTTTCCGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACAGCTGTTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>Nym MatK 1007
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCTTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAAGACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCATAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCCATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTACATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTATTTTCTGGGCTATCTTTCCGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACAGCTGTTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>Nym MatK 1008
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCACTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAACACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCGTAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCAATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATTCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTCTTTTCTGGGCTATCTTTCAGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACTGCTATTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCATTGGT
>Nym MatK 1009
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCACTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAACACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCGTAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCAATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATTCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTCTTTTCTGGGCTATCTTTCAGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACTGCTATTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCATTGGT
>Nym MatK 1010
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAACACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCGTAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCAATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTATCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTCTTTTCTGGGCTATCTTTCAGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACTGCTATTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>Nym MatK 1011
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCACTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAACACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCGTAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCAATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATTCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTCTTTTCTGGGCTATCTTTCAGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACTGCTATTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCATTGGT

ภาพผนวกที่ 7 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *MatK* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym MatK 1017
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCACTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAACACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCGTAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCAATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATTCAT
ATAAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTCTTTTCTGGGCTATCTTTCAGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACTGCTATTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCATTGGT
>Nym MatK 1020
ATGTTTTCTACACGAGCATCATAATTGGAATAGCCTTATTACTTCAAATAAATCCATTTCCATTTTTTCAAAGGAAAATCAAAGAT
TATTCTTGTTCTTGTATAATTCTCATGTATATGAATGCGAATCCGTATTAGTTTTCCTTCGTAAACAATCCTCTCATTTACGGTCA
ATATCTTCTCTAGCCTTTCTTGAGAGAACACATTTTTATGGAAAAATAAAACATCTTGTAGTGACGCCTCGTAATGATTCTCAAAG
GACCCTGCCCCTCTGGTTCTTCAAGGAACCTTTGATGCATTATGTTAGGTATCAAGGAAAATCAATTATGGCTTCAAGGTGTACTA
ATTTACTGATGAAGAAATGGAAATATTACCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTCACTTATGGTCTCAACCGGGTAGGATCCAT
ATCAATGAATTATCCAATCATTCTTTCTCTTTTCTGGGCTATCTTTCAGGTGTACGACTAACGCCTTGGGTGATAAGGAGTCAAAT
GCTAGAGAATTCATTTATGATCGATACTGCTATTAAGAGATTCGATACAATAGTCCCAATTTTTCCTCTGATTGGATCGTTGGT
>Nu MatK 1021
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTCAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1022
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1023
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1025
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1026
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1027
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC

ภาพผนวกที่ 7 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *MatK* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu MatK 1028
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1029
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1030
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1031
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1032
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1033
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1034
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1035
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC

ภาพผนวกที่ 7 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *MatK* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu MatK 1036
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1037
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1038
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1039
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1040
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1041
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1042
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC
>Nu MatK 1043
ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC

ภาพผนวกที่ 7 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *MatK* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu MatK 1044

ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC

>Nu MatK 1045

ATTTTTTCTCCACGAGTATCGTAATTGGAATAGTCTTATTACTCCAAAGAAATCTAGTTCCCTTTTGAAAAAAGGGAATCAAAGAT
TCTTCTTGTTCCTATATAATTCTCATGTATGTGAATGCGAATCTATATTCGTGTTTCTTCGTAAACAATCTTTTCATTTACGATCA
ACATCTTCTGGAGCCCTTCTTGAGCGAACCCATTTCTATGGAAAAATAGAACATTTTGGAGTAGTGTTTCGTAATGATTTTCAAAC
CATCCTATGGTTGGTCAAGGATCCTTTCATGCATTATGTTAGATATCAAGGAAAATCCATACTGGCTTCAAAAGGGACTCCTCTTT
TGATGAATAAATGGAAATATCACCTTGTAAATTTCTGGCAATGTCATTTTTACTTGTGGTCTCAACCCGGCAGGATCCATATAAAC
CAATTATCCAATCATTCCCTCGATTTTCTGGGTTATCTTTCAAGTGTACGACTAAATCCTTCACTGGTAAGGAGTCAAATGCTAGA
AAATTCATATCTAATAGATATTGCTAGTAAGAAGTTCGAAACCATCGTCCCAATTATTCCTCTGATTGGATCATTGGC

กรมวิชาการเกษตร

ภาพผนวกที่ 8 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RbcL* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym RbcL 1001
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGATTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCTCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTGGACCTTTTTGAGGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCTGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1002
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGATTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCTCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTGGACCTTTTTGAGGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCTGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1006
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGATTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCTCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTGGACCTTTTTGAGGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTTAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCTGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1007
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGAGTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1008
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGAGTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1009
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGAGTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1010
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGATTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT

ห้องสมุดกรมวิทยาศาสตร์บริการ

ภาพผนวกที่ 8 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RbcL* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym RbcL 1011
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGAGTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1017
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGAGTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCACCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nym RbcL 1020
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTACACTCCTGATTATGAAACCCTTGCTACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAGGAAGCAGGAGCTGCGGTGGCTGCCGAATCTTCCACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCTGTTGCTGGGGAGGAAAATCAATATATTGCTTATG
TAGCTTATCCTTTGGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTTTTTGGGTTCAAAGCC
CTACGAGCTCTACGTCTGGAGGATCTGAGAATTCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAGGGCCCGCCTCATGGAATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCAAAGAACTATGGGA
GAGCGGTTTATGAGTGTCTCCGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAAAACGTGAACTCCCAACCGTTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1021
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1022
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1023
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1025
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ 8 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RbcL* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu RbcL 1026
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1027
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1028
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1029
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1030
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1031
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1032
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT

ห้ามมิให้นำไปจำหน่าย

ภาพผนวกที่ 8 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RbcL* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu RbcL 1033
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1034
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1035
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1036
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1037
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1038
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1039
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ 8 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RbcL* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu RbcL 1040
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1041
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1042
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1043
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1044
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT
>Nu RbcL 1045
GCTGGTGTTAAGATTACAGATTGACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACT
CCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAGGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTGTGGACCGA
TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAGTCAATTTATTGCTTATG
TAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCC
CTACGTGCTCTACGTCTGGAGGATCTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCCAAGGCCCACCTCATGGTATCCAAGTTGA
GAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTA
GAGCGGTTTATGAATGTCTACGTGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGA
GATCGTTTCTTAT

ทรัพยากรชีวภาพ

ภาพผนวกที่ 9 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RpoC1* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nym RpoC1 1001
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTGCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1002
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTGCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1006
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTGCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTCAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1007
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1008
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1009
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1010
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1011
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1017
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT
>Nym RpoC1 1020
GTTCCGTCATTGTGGTAGGCCCTTCGCTTTCACTGCATCAATGTGGATTACCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTTCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATCTTGCTTCCAACATAGGACTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTATG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCTGTATTGCTAAATAGAGCACCCACTTTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AACCTATTTTAGTGGAGGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTGGTTTGTAAGGGATTCAATGCGGACTTCGATGGAGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCTTTGGAAGCTCAAGCAGAAGCTCGTTT

ร่างวิทยานิพนธ์

ภาพผนวกที่ 9 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RpoC1* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu RpoC1 1021
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1022
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1023
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1025
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1026
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1027
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1028
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1029
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1030
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1031
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT

ทรัพย์สินทางปัญญา

ภาพผนวกที่ 9 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RpoC1* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu RpoC1 1032
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1033
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1034
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1035
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1036
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1037
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1038
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1039
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1040
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTGCATCGATGTGGATTGCCTCGAGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCCATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCATCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCGTTCC
AGCCTATTTTAGTGGAAGGACGAGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1041
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT

ร่างวิทยานิพนธ์

ภาพผนวกที่ 9 (ต่อ) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีน *RpoC1* สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล

>Nu RpoC1 1042
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1043
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1044
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT
>Nu RpoC1 1045
GTTCCGTCATTGTCGTGGGCCCTTCGCTTTCATTACATCGATGTGGATTGCCTCGCGAAATAGCAATAGAGCTTTTCCAGACATTT
GTAATTCGTGGTCTAATCAGACAACATGTTGCTTCCAACATAGGAGTTGCTAAAAGTAAAATTCGGGAAAAAGAACCAATTGTGTG
GGAAATACTTCAAGAAGTTATGCAGGGGCACCCGGTATTGCTGAATAGAGCACCCACTCTGCATAGATTAGGCATACAGGCATTCC
AGCCCATTTTAGTGGAAGGACGTGCTATTTGTTTACATCCATTAGTTCGTAAGGGATTCAATGCAGACTTTGATGGGGATCAAATG
GCTGTTCATGTACCTTTATCCTTGGAGGCTCAAGCAGAGGCTCGTTT

กรมวิชาการเกษตร