

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่างและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคน

จากการสำรวจพื้นที่ที่พบเห็ดโคนได้มากในการเก็บตัวอย่างครั้งนี้ โดยแบ่งตามภูมิภาค ได้แก่ ภาคกลางพบมากในพื้นที่จังหวัดอุทัยธานี นครปฐม และนครสวรรค์ ภาคตะวันตกพบมากในพื้นที่จังหวัด กาญจนบุรี เพชรบุรี ภาคเหนือพบมากในพื้นที่จังหวัดตาก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบมากในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ นครราชสีมา มหาสารคาม และขอนแก่น (ตารางที่ 4)

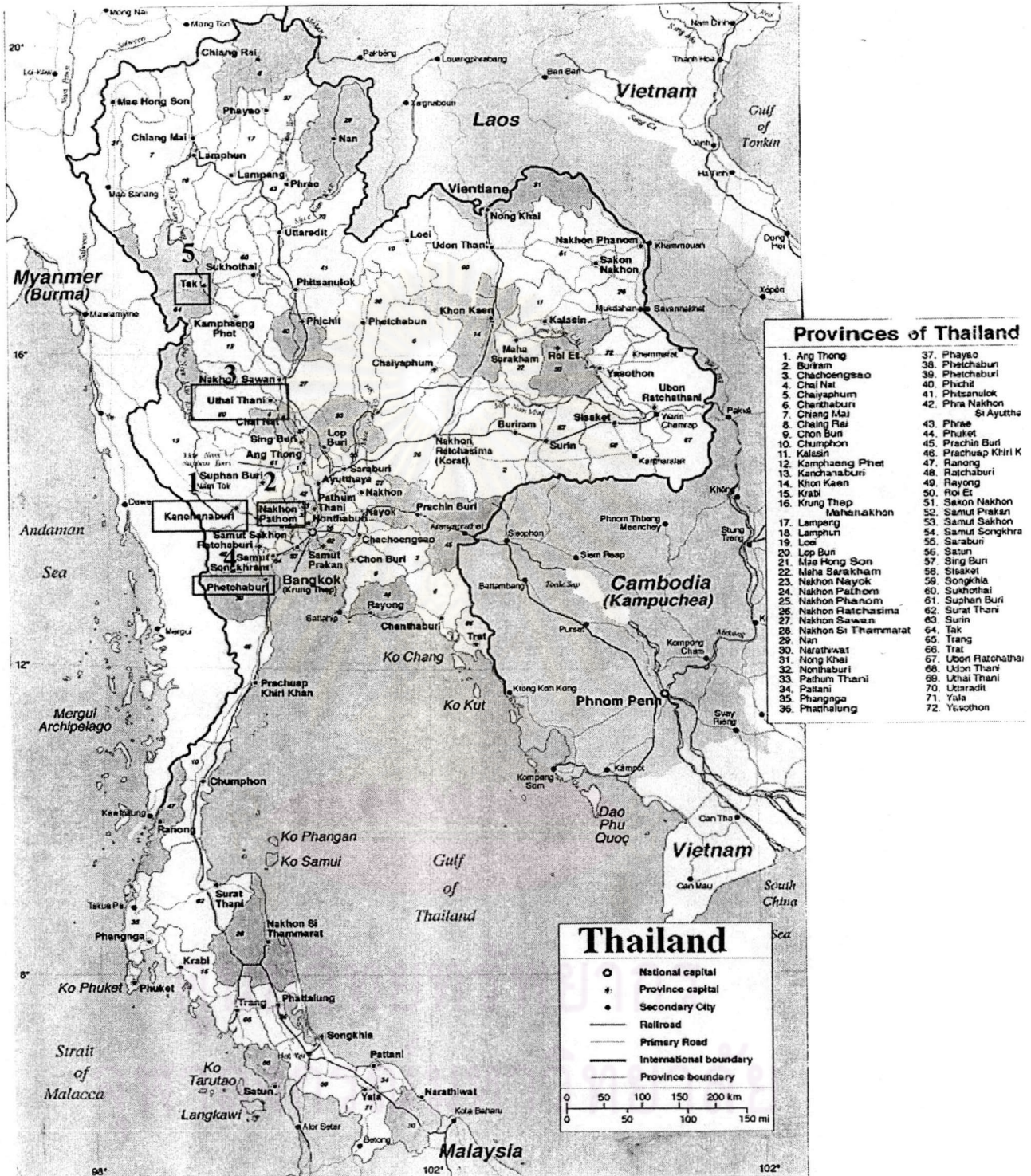
ตารางที่ 4 สรุปข้อมูลการสุ่มเก็บตัวอย่างเห็ดโคนในพื้นที่จังหวัดต่างๆใน 4 ภูมิภาค ได้แก่ ภาคกลางพบในพื้นที่จังหวัดอุทัยธานี นครปฐม และนครสวรรค์ ภาคตะวันตกพบในพื้นที่จังหวัด กาญจนบุรี เพชรบุรี ภาคเหนือพบในพื้นที่จังหวัดตาก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบในพื้นที่ จังหวัดบุรีรัมย์ นครราชสีมา มหาสารคาม และขอนแก่น

จังหวัดที่เก็บตัวอย่างเห็ดโคน	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	วันที่เก็บ	จำนวนตัวอย่าง (ดอก)
อุทัยธานี	อ.ทัพทัน	1/10/ 2544	28
	อ.บ้านไร่	1/10/ 2544	22
นครปฐม	อ.เมือง	23/9/2543	15
นครสวรรค์	อ.โกรกพระ	30/9/2544	15
ตาก	อ.อุ้มผาง	1/10/2544	15
เพชรบุรี	อ.เมือง	5/10/2544	15
กาญจนบุรี	อ.ศรีสวัสดิ์	30/9/2544	14
	อ.ไทรโยค	30/9/2544	19
	อ.เมือง	30/9/2544	11
บุรีรัมย์	อ.ท่ามะกา	30/9/2544	6
	อ.นางรอง	20/9/2543	20
นครราชสีมา	อ.สตึก	20/9/2543	16
	อ.สูงเนิน	20/9/2543	12
ขอนแก่น	อ.ชุมแพ	4/10/2544	7
มหาสารคาม	อ.โพนพิสัย	4/10/2544	10
รวม	15 แหล่ง		

นำเห็ดตัวอย่างมาวิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานเพื่อจำแนกชนิด โดยวิเคราะห์จากลักษณะต่างๆร่วมกัน คัดเลือกเห็ดโคนชนิด ได้แก่ ลักษณะหมวกดอก ก้านดอก pseudorhiza cystidia และสปอร์ พบว่า มีเห็ดโคนชนิด *T. striatus* (Beeli) Heim จำนวนทั้งหมด 17 ตัวอย่าง (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 แสดงวันที่เก็บตัวอย่าง แหล่งที่เก็บเห็ดโคน สัญลักษณ์แทนชื่อ และจำนวนตัวอย่างเห็ดโคน *T. striatus* (Beeli) Heim ที่เก็บได้

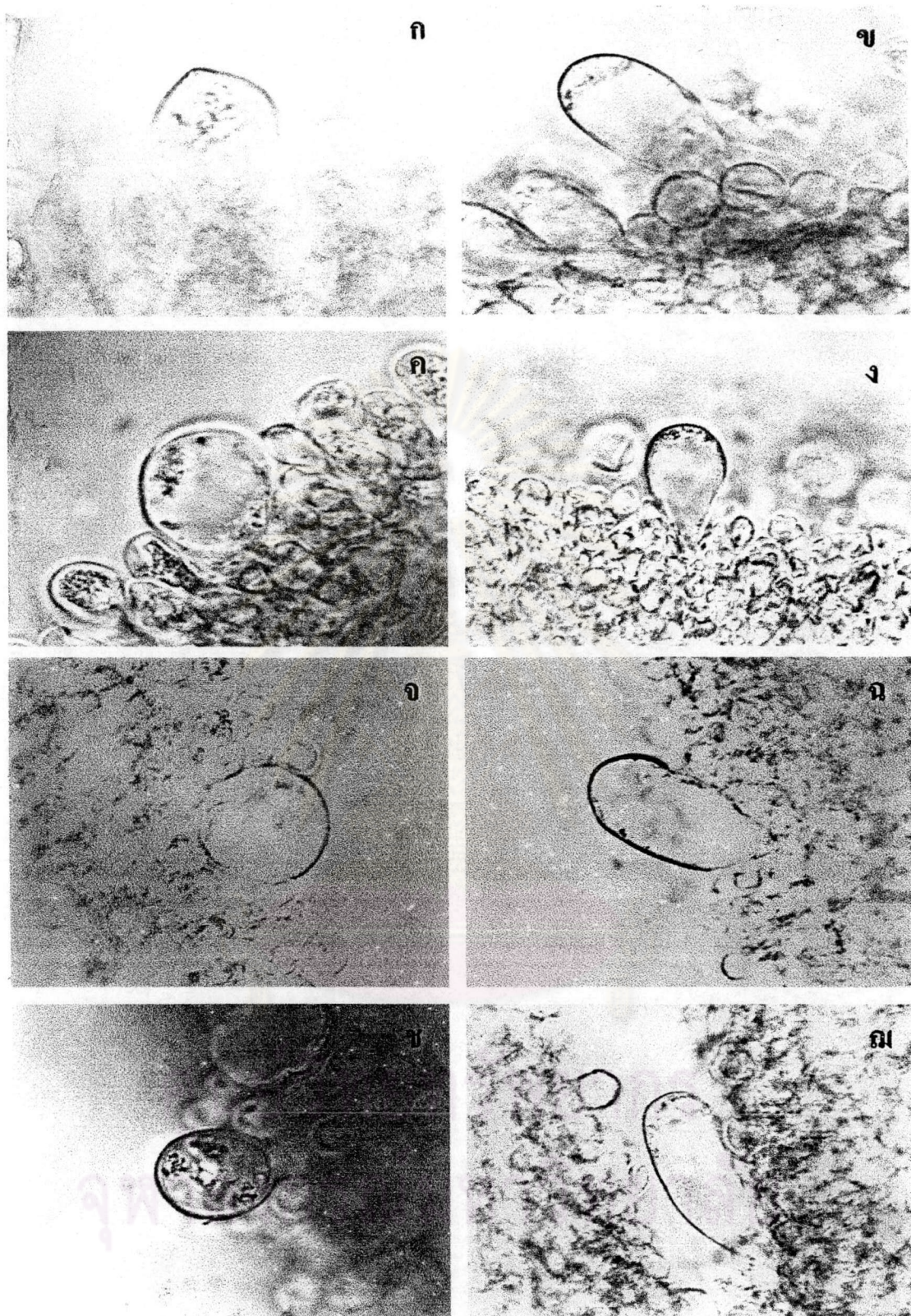
แหล่งที่เก็บเห็ดโคน	สัญลักษณ์แทนชื่อ
ต.บ้องตี้ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	TK 1 TK 2
ต.ลุ่มสุ่ม อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี	TK 3 TK 4 TK 5 TK 6,
ต.ลาดหญ้า อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	TK 7 TK 8
อ.เมือง จ.นครปฐม	TN 9 TN 10
เขาหลวง อ.ทัพทัน จ.อุทัยธานี	TU 11 TU 12 TU 13
อ.บ้านไร่ จ.อุทัยธานี	TU 14 TU 15
อ.เมือง จ.เพชรบุรี	TP 16
อ.อุ้มผาง จ.ตาก	TT 17



ภาพที่ 3 แผนที่แสดงแหล่งเก็บตัวอย่างเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim
 ครอบคลุมพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ 1) กาญจนบุรี 2) นครปฐม 3) อุทัยธานี 4) เพชรบุรี
 และ 5) ตาก



ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim จากแหล่งเห็ดโคน 8 แหล่งครอบคลุมพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม อุทัยธานี เพชรบุรี และตาก



ภาพที่ 5 แสดงเซลล์หมัน(cystidia) ของเห็ดโคนชนิด *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim จากแหล่งเห็ดโคน 8 แหล่ง ก) อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี ข) อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี ค) อ.เมือง จ.กาญจนบุรี ง) อ.เมือง จ.นครปฐม จ) อ.ทัพทัน จ.อุทัยธานี ฉ) อ.บ้านไร่ จ.อุทัยธานี ช) อ.เมือง จ.เพชรบุรี ฉ) อ.อุ้มผาง จ.ตาก

ตารางที่ 6 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดโคนที่เก็บรวบรวมมาจาก 10 จังหวัดในประเทศไทย

ลักษณะ	จ.กาญจนบุรี		จ.นครปฐม		จ.สุพรรณบุรี		จ.ตาก		จ.นครสวรรค์		จ.นครราชสีมา		จ.บุรีรัมย์		จ.มหาสารคาม		จ.ขอนแก่น	
	อ.ศรีสวัสดิ์	อ.ไทรโยค	อ.เมือง	อ.ทัพทัน	อ.บ้านไร่	อ.เมือง	อ.บ้านห้วย	อ.โกกรกพระ	อ.สูงเนิน	อ.นางรอง	อ.สตึก	อ.โพธิ์ชัย	อ.ชุมแพ					
เยื่อโคน	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
รูปทรงของหมวกดอก	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย	รูปกรวย
สีของหมวกดอก	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล
ขนาดØหมวก(cm)	6.5	6	5.5	4.5	6	4	4.5	4.8	4	6.5	7	8	6.5	7.0	6.5	7.0	6.5	7.0
รอยแตก(Striae)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ฐานหมวกดอก (Volva)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
การยึดของติวกับก้าน	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ	อิสระ
รอยย่นบนหมวก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ø ก้านดอก (cm)	2.0	1.2	1.8	1.2	1.5	0.9	1.4	1.4	0.5	1.2	1.8	1.5	1.0	1.5	1.0	1.5	1.5	
ความยาวก้านดอก(cm)	3.5	3	4.2	4.5	6	6.2	4.5	4.5	6.5	5	4	3.2	5	4	5	4	4	
สีของก้านดอก	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว
รากเทียม(Pseudorhizoid)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
สีของรากเทียม	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว	ขาว
รูปร่างของ cystidia	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย	ใบพาย
พิมพลีสปอร์	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู	ชมพู
รูปร่างสปอร์	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี	รี

หมายเหตุ 1/ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของก้านดอกวัดจาก 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ส่วนที่ติดกับดอก ส่วนกลางของก้าน และส่วนที่ติดกับราก

2. การแยกเส้นใยจากดอกเห็ดเพื่อให้ได้เส้นใยเห็ดบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ

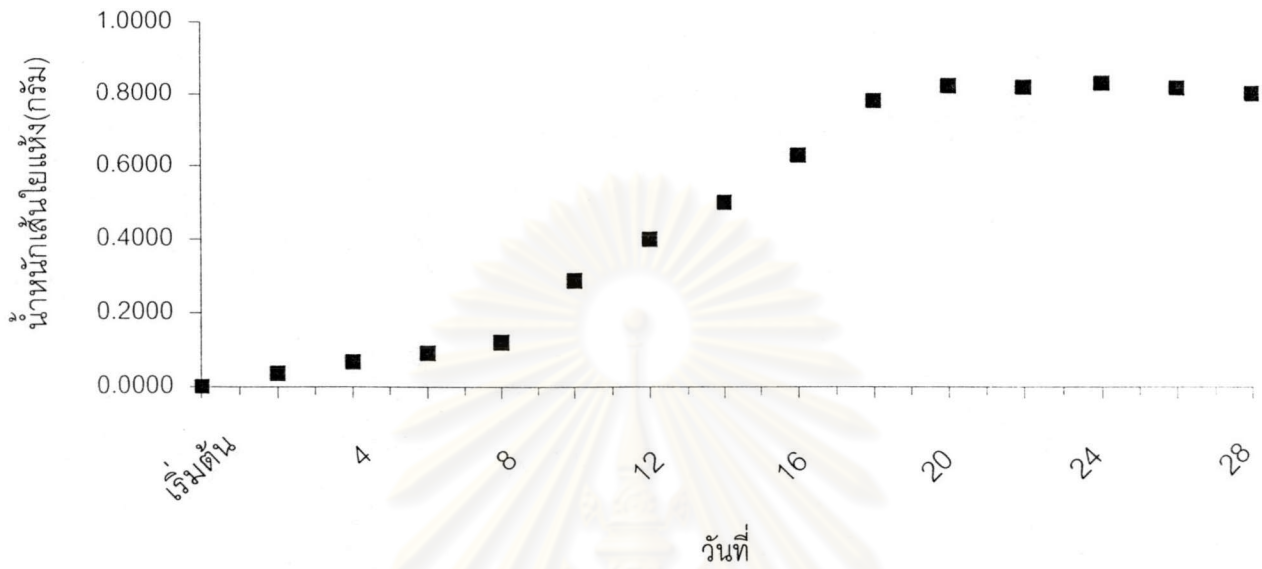
2.1 การแยกเชื้อจากดอกเห็ด

จากการแยกเชื้อจากดอกเห็ดบนอาหารแข็งสูตร PDA ด้วยวิธีปลอดเชื้อ ได้เส้นใยบริสุทธิ์ 17 ตัวอย่าง บ่มเส้นใยที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน แยกเส้นใยส่วนหนึ่งเก็บในหลอดอาหารแข็งเพื่อเก็บรักษา อีกส่วนนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร PDB

2.2 การเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเหลวสูตร PDB

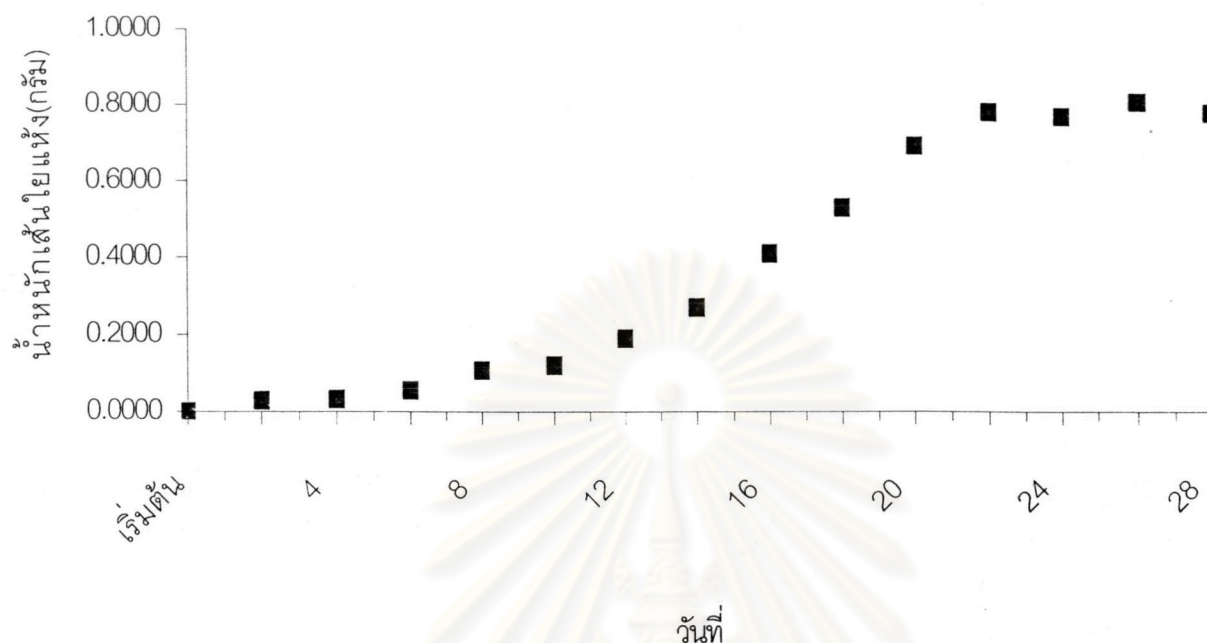
จากการเชื้อเห็ด 17 ตัวอย่างเลี้ยงในอาหารเหลว ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เส้นใยเจริญบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อและสานกันเป็นแผ่นหนา และมีเพียงตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างจากอำเภอ ศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี (TK 1) อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม (TN 10) และอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี (TP 16) เท่านั้นที่สามารถวัดอัตราการเจริญเติบโตได้ และพบว่า เห็ดโคนทั้ง 3 แห่ง มีอัตราการเจริญเติบโตของเส้นใยใกล้เคียงกัน คือ น้ำหนักเส้นใยแห้งที่วัดได้ตั้งแต่เริ่มเลี้ยงจนถึงวันที่ 10 จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ หลังจากนั้นเส้นใยจะเจริญอย่างรวดเร็ว หลังจาก 20 วันเป็นต้นไปเส้นใยเห็ดโคนจะเจริญเติบโตน้อยมากและมีน้ำหนักค่อนข้างคงที่ ส่วนเห็ดโคนที่เก็บจากจังหวัดอื่นนอกจาก 3 จังหวัดที่กล่าวมาข้างต้น พบว่า การเจริญเติบโตของเส้นใยบนอาหาร PDB มีน้อยมากจนไม่สามารถวัดน้ำหนักแห้งได้

นอกจากนี้นำเส้นใยที่เจริญดีมา กรองด้วยผ้าขาวบาง ล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นำไปทำแห้งด้วยความเย็น โดยเครื่อง Freeze dryer ก่อนนำมาสกัดดีเอ็นเอ



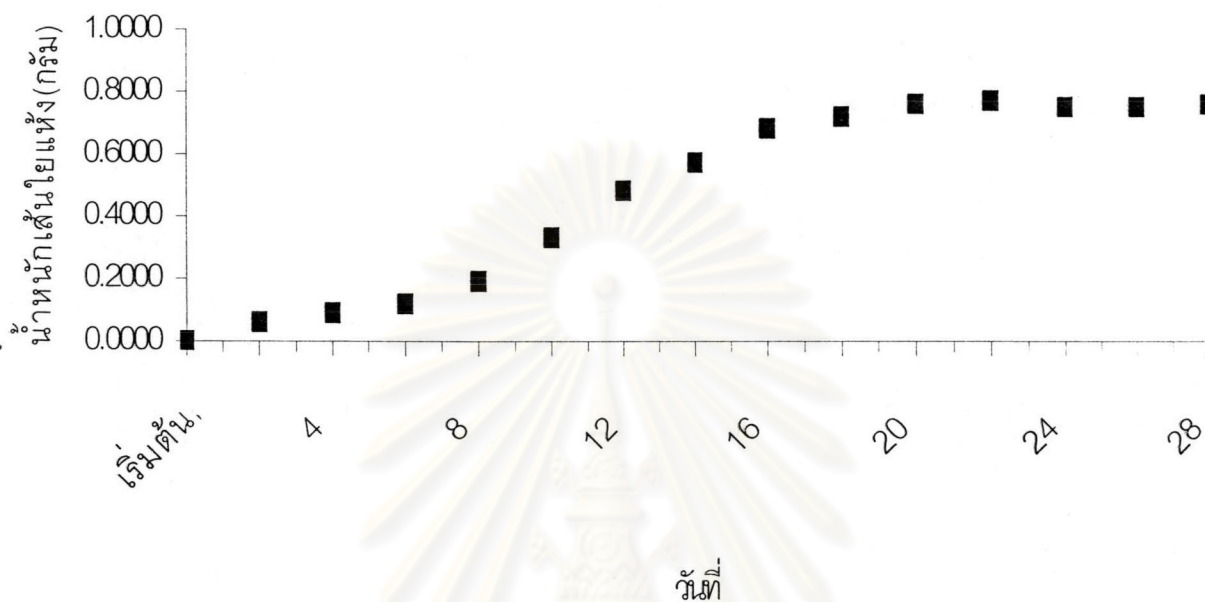
ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคน จากอำเภอ ศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี (TK 1) ในอาหารเหลว PDB ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาต่างๆ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



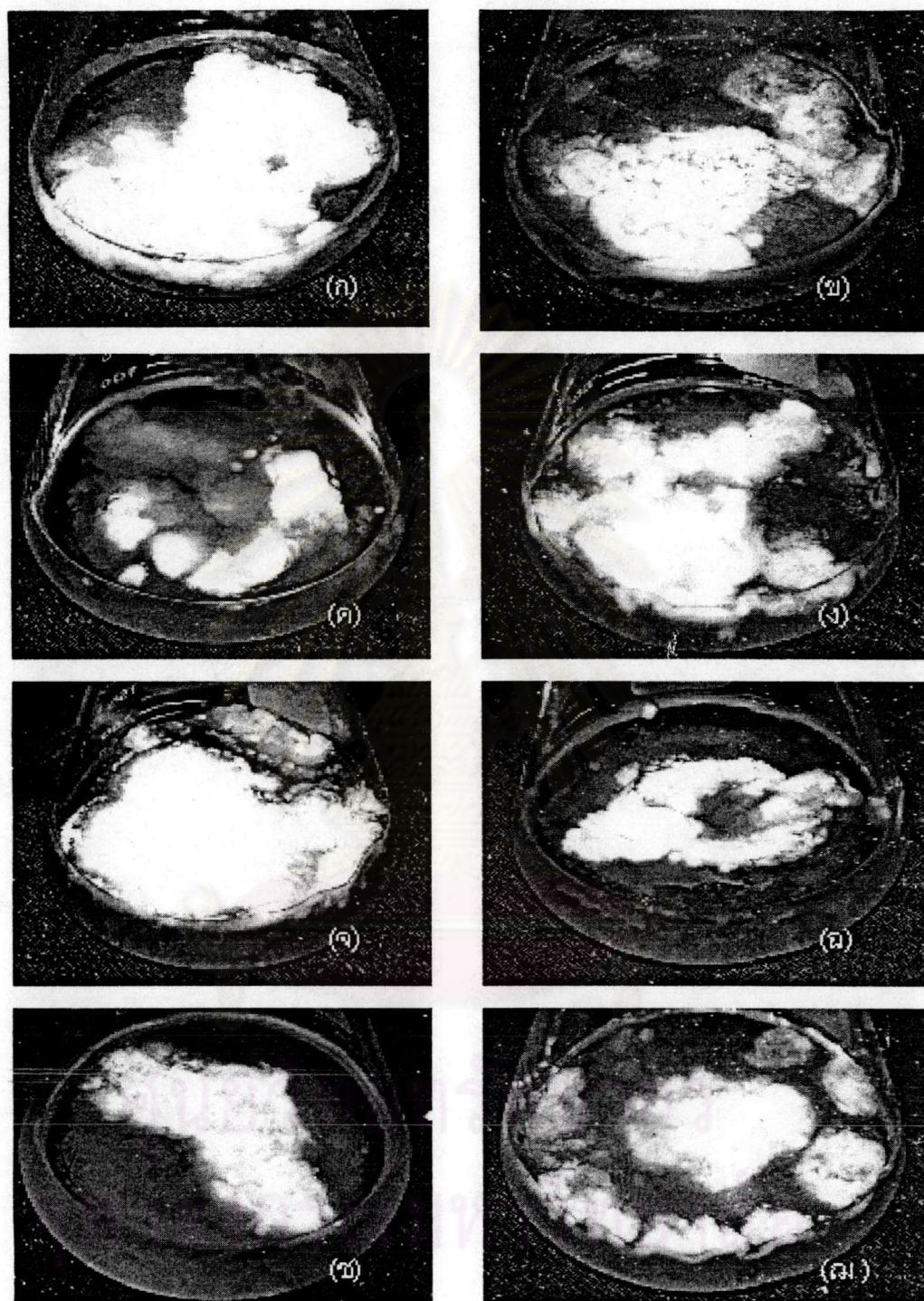
ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคน จากอำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม (TN 10) ในอาหาร
เหลว PDB ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาต่างๆ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดโคน จากอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี (TP 16) ในอาหาร
เหลว PDB ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาต่างๆ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 9 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim ที่เลี้ยงในอาหารเหลว PDB โดยใช้เส้นใยจากเห็ดโคน 8 แหล่ง ได้แก่ ก) อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี ข) อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี ค) อ.เมือง จ.กาญจนบุรี ง) อ.เมือง จ.นครปฐม จ) อ.ทัพทัน จ.อุทัยธานี ฉ) อ.บ้านไร่ จ.อุทัยธานี ช) อ.เมือง จ.เพชรบุรี ฉ) อ.อุ้มผาง จ.ตาก

3. คุณภาพของดีเอ็นเอ, การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ ITS โดยเทคนิค PCR และการโคลนชิ้นส่วนดีเอ็นเอในบริเวณ ITS

3.1 การสกัดดีเอ็นเอ

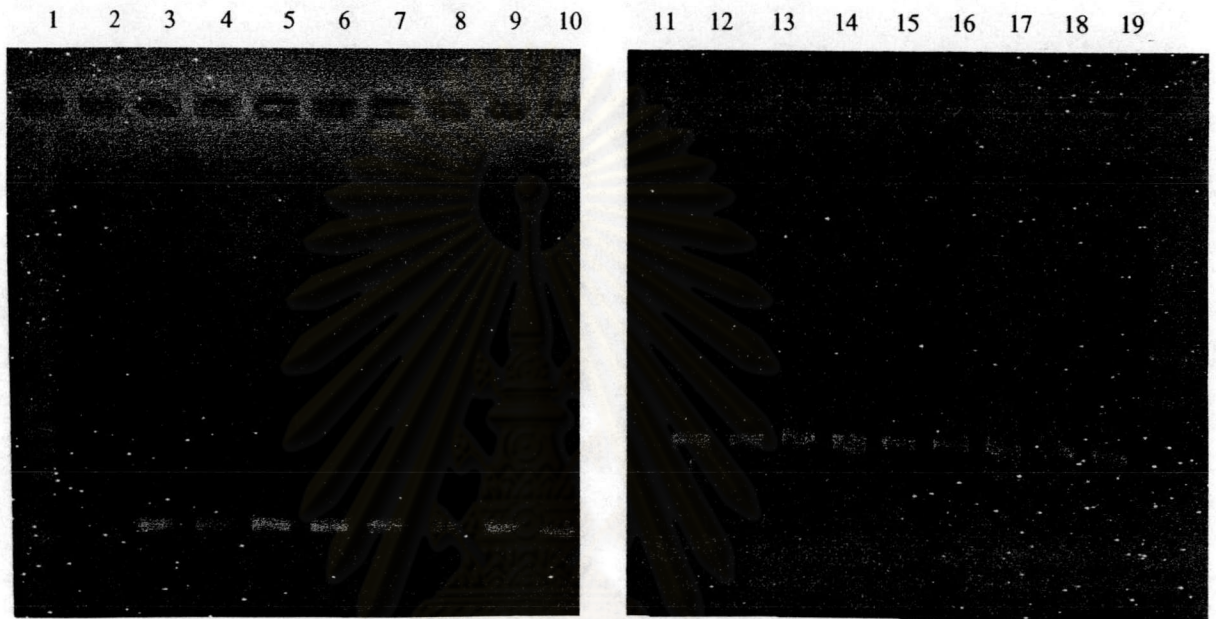
ดีเอ็นเอที่สกัดจากเส้นใยเห็ดแห้งทั้งหมด 17 ตัวอย่างโดยน้ำหนักเริ่มต้นตัวอย่างละ 10 กรัม โดยได้ดีเอ็นเอปริมาณตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร นำดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอจากอัตราส่วนค่า $OD_{260} : OD_{280}$ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1.7-1.9 แสดงว่าดีเอ็นเอส่วนใหญ่ที่สกัดได้ค่อนข้างบริสุทธิ์ ความเข้มข้นของดีเอ็นเอหาได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีเอ็นเอในช่วงแสงอุลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่นแสง 260 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ OD_{260} เท่ากับ 1 เทียบเท่ากับความเข้มข้นของดีเอ็นเอ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยดีเอ็นเอที่ใช้เจือจาง 100 เท่า (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 แสดงค่าความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ จากค่าการดูดกลืนแสงที่ 260, 280 และ 320 นาโนเมตร ดีเอ็นเอสกัดจากเส้นใยเห็ดแห้ง 10 กรัม

ตัวอย่าง	OD_{260}	OD_{280}	OD_{320}	$OD_{260} : OD_{280}$	ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ($\mu\text{g} / \mu\text{l}$)
TK1	0.089	0.047	0.005	1.89	0.478
TK2	0.191	0.109	0.068	1.75	0.96
TK3	0.139	0.075	0.073	1.83	0.70
TK4	0.199	0.111	0.001	1.79	1.00
TK5	0.229	0.120	0.005	1.90	1.15
TK6	0.184	0.043	0.002	1.92	0.42
TK7	0.079	0.048	0.028	1.65	0.40
TK8	0.079	0.047	0.044	1.67	0.40
TN9	0.076	0.041	0.022	1.86	0.38
TN10	0.091	0.053	0.004	1.70	0.46
TU11	0.086	0.047	0.036	1.83	0.43
TU12	0.193	0.112	0.081	1.71	0.97
TU13	0.082	0.050	0.045	1.65	0.41
TU14	0.201	0.107	0.008	1.88	1.00
TU15	0.103	0.053	0.004	1.93	0.52
TP16	0.082	0.044	0.022	1.84	0.41
TT17	0.093	0.054	0.015	1.73	0.47

3.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ ITS โดยเทคนิค PCR

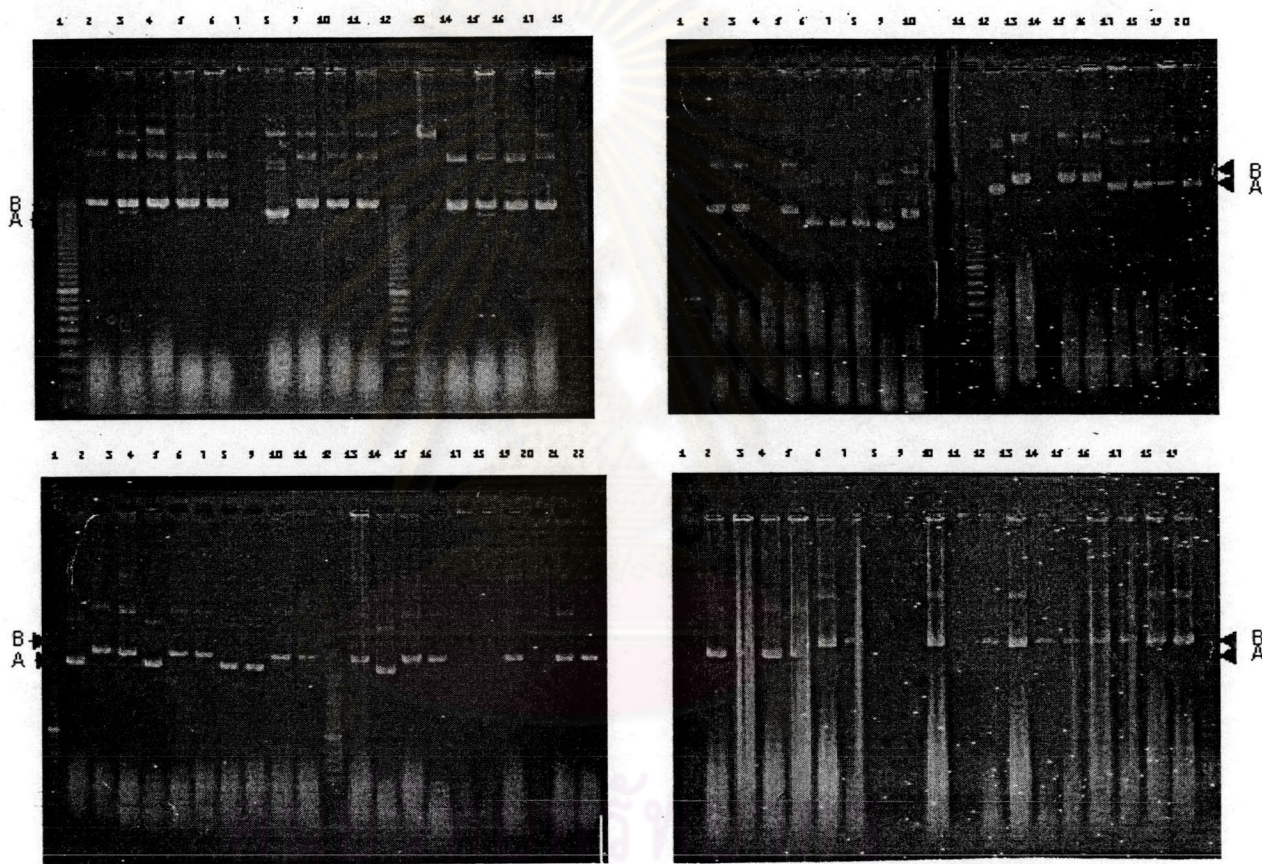
การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยไพรเมอร์ ITS โดยเทคนิค PCR พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้เฉพาะส่วน ITS ในทุกตัวอย่าง ได้แถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว แถบคมชัดดี ไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ไม่เฉพาะเจาะจงเกิดขึ้น (non-specific band) ขนาดของแถบดีเอ็นเอประมาณ 630 นิวคลีโอไทด์ มีความสม่ำเสมอเท่ากันในทุกตัวอย่าง แสดงดังภาพที่ 10



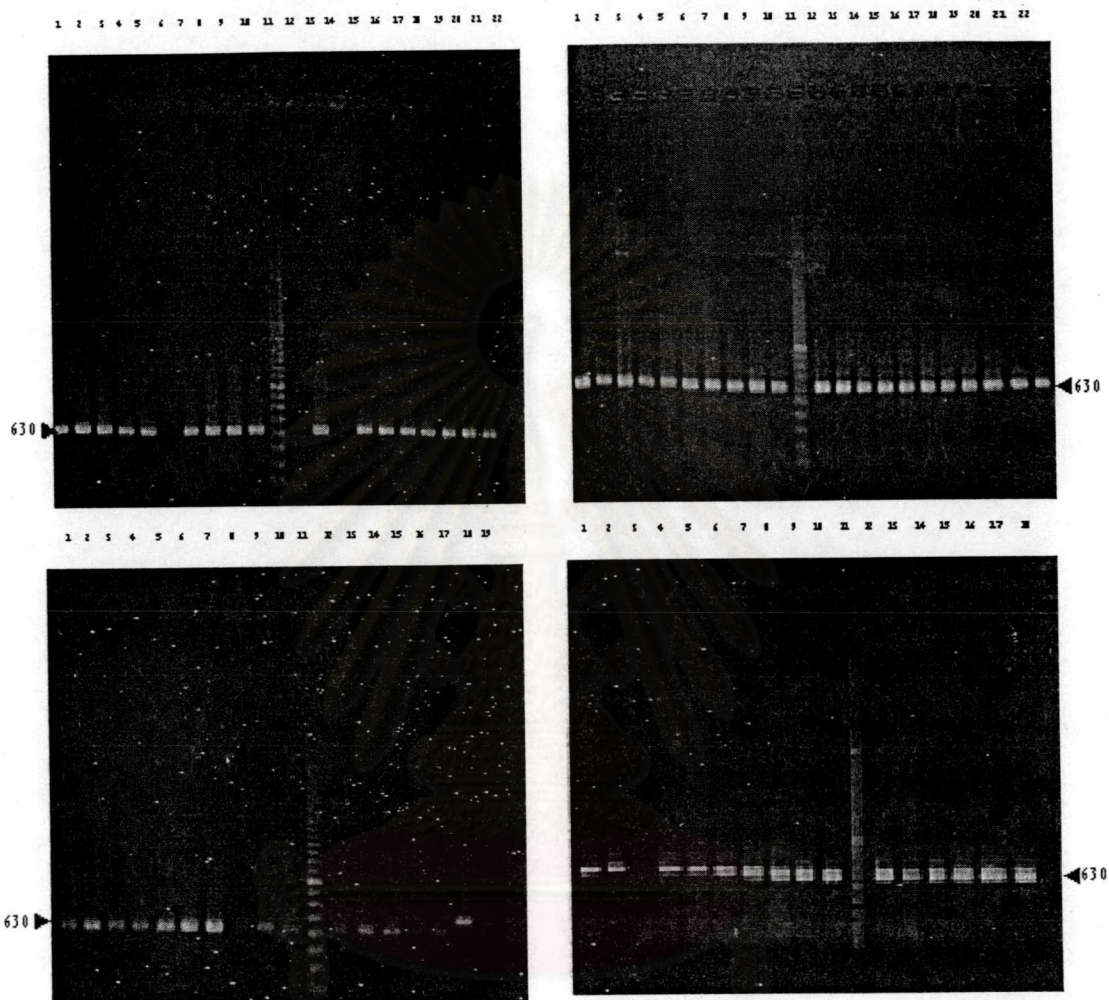
ภาพที่ 10 แสดงผลผลิตดีเอ็นเอจาก PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS ของเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง แยกดีเอ็นเอด้วยเครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าดีเอ็นเอใช้ 1% อะกาโรส-เจล ใน 1xTAE buffer ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 90 นาที ตรวจสอบดีเอ็นเอโดยการย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์และแสงอัลตราไวโอเลทพบว่า ได้ดีเอ็นเอขนาดเท่ากันในทุกๆตัวอย่าง คือ ประมาณ 630 นิวคลีโอไทด์ ก) ช่องที่ 1: DNA ladder ช่องที่ 2: negative control ช่องที่ 3-10: TK1 TK2 TK3 TK4 TK5 TK6 TK7 และ TK8 ตามลำดับ ข) ช่องที่ 1-8: TK9 TK10 TK11 TK12 TK13 TK14 TK15 TK16 และ TK17 ตามลำดับ ช่องที่ 9: DNA ladder

3.3 การโคลนชิ้นส่วนดีเอ็นเอในบริเวณ ITS

จากการตกตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ในข้อ 3.2 นำมาโคลนเข้าสู่พลาสมิดและย้ายเข้าสู่แบคทีเรีย *E. coli* แล้วเลือกโคโลนีแบคทีเรีย *E. coli* ที่ต้านยาปฏิชีวนะ Kanamycin ได้จำนวน 10-15 โคโลนีต่อหนึ่งตัวอย่างและทำ small scale ตรวจสอบพลาสมิดดีเอ็นเอที่ได้ โดยเลือกเฉพาะ พลาสมิดดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่กว่าพลาสมิดดีเอ็นเอมาตรฐานซึ่งมีขนาด 3,950 นิวคลีโอไทด์ จะแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ว่าพลาสมิดดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่กว่าพลาสมิดดีเอ็นเอมาตรฐานนั้น อาจได้รับชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่โคลนเข้าไปได้สำเร็จ (ภาพที่ 11) เมื่อตรวจสอบอีกครั้งด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS พบว่า สามารถโคลนได้ในทุกตัวอย่าง (ภาพที่ 12) แสดงข้อมูลสรุปในตารางที่ 8



ภาพที่ 11 แสดงการตรวจคัดเลือกลำดับโคลน (DNA ladder : ก) ช่องที่ 1 และ 12 ค) ช่องที่ 1 และ 12 ง) ช่องที่ 1 และ 11 A : พลาสมิดดีเอ็นเอมาตรฐาน: ก) ช่องที่ 2 5 8 9 และ 14 ข) ช่องที่ 2-5 ค) ช่องที่ 8 ง) ช่องที่ 6-9 12 และ 17-20 B : พลาสมิดดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่กว่ามาตรฐาน: ก) ช่องที่ 3-4 6 7 10 11 13 15 16 19 และ 21 22 ข) ช่องที่ 6 7 10 และ 12-19 ค) ช่องที่ 2-6 9-11 และ 14-17 ง) ช่องที่ 2 3 5 10 13 15 และ 16 ไม่มีพลาสมิดดีเอ็นเอ : ก) ช่องที่ 17 18 และ 20 ข) ช่องที่ 1 8 9 และ 11 ค) ช่องที่ 7 13 และ 18 ง) ช่องที่ 4 และ 14)



ภาพที่ 12 แสดงผลผลิตดีเอ็นเอจาก PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS เพื่อตรวจสอบว่าพลาสมิดดีเอ็นเอที่โคลนได้มีดีเอ็นเอส่วนที่ต้องการ โดยแยกดีเอ็นเอด้วยเครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าใช้ 1% อะกาโรส-เจล ใน 1xTAE buffer ได้ดีเอ็นเอขนาดเท่ากันในทุกๆตัวอย่าง คือ ประมาณ 630 นิวคลีโอไทด์

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพในการโคลนดีเอ็นเอในบริเวณ ITS ของเห็ดโคน *T. striatus* (Belli) Heim

ตัวอย่าง	จำนวน <i>i</i> ที่ด้านยา ปฏิชีวนะ(โคโลนี)	จำนวนโคโลนีของ <i>i</i> ที่พบ ITS	ผลการตรวจสอบโคลนที่ได้ด้วย เทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์	
			ITS	
TK1	10	9	8	
TK2	11	8	8	
TK3	16	9	7	
TK4	14	8	8	
TK5	12	7	5	
TK6	11	7	7	
TK7	10	6	5	
TK8	15	14	13	
TN9	15	11	8	
TN10	13	10	8	
TU11	13	12	10	
TU12	14	12	9	
TU13	12	11	10	
TU14	10	9	7	
TU15	11	8	5	
TP16	15	10	6	
TT17	13	11	8	

3.4 การเพิ่มปริมาณโคลนที่โคลนได้เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์

ทำการคัดเลือกโคลนที่โคลนได้จากข้อ 3.3 ไว้ตัวอย่างละ 5 โคลน เก็บเป็น glycerol stock ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส แบ่งส่วนหนึ่งไปทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค DNA Sequencing ตัวอย่างละ 5 โคลน แล้วสรุป consensus sequence ของแต่ละตัวอย่างและตั้งชื่อโคลนตามชื่อตัวอย่างที่เก็บได้ โดยที่แต่ละสัญลักษณ์มี 5 ตัวอย่างย่อยเพื่อยืนยันลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แท้จริง

ตารางที่ 9 แสดงสัญลักษณ์แทนชื่อโคลนที่โคลนได้

ตัวอย่าง	สัญลักษณ์แทนชื่อโคลน				
	1	2	3	4	5
TK1	Term 1/1	Term 1/2	Term 1/3	Term 1/4	Term 1/5
TK2	Term 2/1	Term 2/2	Term 2/3	Term 2/4	Term 2/5
TK3	Term 3/1	Term 3/2	Term 3/3	Term 3/4	Term 3/5
TK4	Term 4/1	Term 4/2	Term 4/3	Term 4/4	Term 4/5
TK5	Term 5/1	Term 5/2	Term 5/3	Term 5/4	Term 5/5
TK6	Term 6/1	Term 6/2	Term 6/3	Term 6/4	Term 6/5
TK7	Term 7/1	Term 7/2	Term 7/3	Term 7/4	Term 7/5
TK8	Term 8/1	Term 8/2	Term 8/3	Term 8/4	Term 8/5
TN9	Term 9/1	Term 9/2	Term 9/3	Term 9/4	Term 9/5
TN10	Term 10/1	Term 10/2	Term 10/3	Term 10/4	Term 10/5
TU11	Term 11/1	Term 11/2	Term 11/3	Term 11/4	Term 11/5
TU12	Term 12/1	Term 12/2	Term 12/3	Term 12/4	Term 12/5
TU13	Term 13/1	Term 13/2	Term 13/3	Term 13/4	Term 13/5
TU14	Term 14/1	Term 14/2	Term 14/3	Term 14/4	Term 14/5
TU15	Term 15/1	Term 15/2	Term 15/3	Term 15/4	Term 15/5
TP16	Term 16/1	Term 16/2	Term 16/3	Term 16/4	Term 16/5
TT17	Term 17/1	Term 17/2	Term 17/3	Term 17/4	Term 17/5

4. ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเห็ดโคนตัวอย่างโดยวิธี DNA sequencing

จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยเทคนิค DNA sequencing ตัวอย่างละ 5 โคลน พบว่าส่วนใหญ่ให้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกัน และสามารถสรุป consensus ได้ลำดับพันธุกรรมของ ITS ของแต่ละตัวอย่างทั้งหมด 17 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างมีลำดับนิวคลีโอไทด์แสดงในภาคผนวก เมื่อเปรียบเทียบขนาดของลำดับนิวคลีโอไทด์เห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim ภายในกลุ่มเดียวกัน จำนวน 17 ตัวอย่าง จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า มีจำนวนนิวคลีโอไทด์แปรผันตั้งแต่ 630 ไปจนถึง 637 นิวคลีโอไทด์แต่ก็มีขนาดใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างต่างกลุ่มที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ ได้แก่ เห็ดโคน *Termitomyces* sp. (Taprab และคณะ, 2002) และ *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim (Rouland และคณะ, 2002) (ตารางที่ 10) เมื่อวิเคราะห์ homology ของลำดับพันธุกรรมในกลุ่มเดียวกันดังตารางที่ 11 พบว่ามีค่าสูงถึงร้อยละ 99-100 แสดงว่าเห็ดที่เก็บในจังหวัดต่างๆมีความเหมือนกันสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบโดย homology (ตารางที่ 11)

ภายหลังจากการเปรียบเทียบ sequence alignment ที่ได้ทั้งหมดและพิจารณาผลการวิเคราะห์ พบว่า มีความแตกต่างที่เด่นชัดกว่า โดยเมื่อนำลำดับเบส ITS มาทำ alignment โดยวิธี CLUSTAL W (1.82) เพื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มตัวอย่างเดียวกัน พบว่า มีโดเมน (domain) ที่แตกต่างกันทั้งหมด 9 โดเมน (ตารางที่ 12) โดยความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในแต่ละโดเมน ได้แก่ โดเมนที่ 1 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 81 พบว่า โคลน TK 5 TK8 และ TN10 มีลำดับเบสเป็น A แตกต่างจากโคลนอื่นที่ไม่แสดงลำดับเบสในส่วนนี้ โดเมนที่ 2 ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 101 โคลน TK1 TK4 TK5 TU11 และ TU13 มีลำดับเบสเป็น C ส่วนโคลนอื่นๆมีลำดับเบสเป็น T โดเมนที่ 3 ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 287 พบว่า โคลน TU12 TU13 และ TT17 มีลำดับเบสเป็น C ส่วนโคลนอื่นไม่แสดงลำดับเบส โดเมนที่ 4 ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 350 โคลน TK 2 TK4 TU11 และ TU12 มีลำดับเบสเป็น C ส่วนโคลนอื่นๆ ไม่แสดงลำดับเบส โดเมนที่ 5 พบในตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 363 แสดงนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ เบส T พบในโคลน TK2 TK3 TK7 TK8 TN9 TU13 TU15 และ TP16 แต่ในโคลน TK1 TK4 TK5 TK6 TN10 TU12 และ TU14 จะพบเบส C ที่ตำแหน่งเดียวกัน โดเมนที่ 6 ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 368 โคลน TK2 TK4 TK6 และ TU13 มีลำดับเบสเป็น T ส่วนโคลนอื่นไม่แสดงลำดับเบส โดเมนที่ 7 ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 537 โคลน TK4 TK8 และ TN10 มีลำดับเบสเป็น G ส่วนโคลนที่เหลือมีลำดับเบสเป็น A โดเมนที่ 8 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ประมาณ 564 โคลน TK2 TK4 TU11 และ TT17 มีลำดับเบสเป็น TTAA ส่วนโคลนอื่นๆไม่แสดงลำดับเบส โดเมนที่ 9 ประมาณตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 611 โคลนส่วนมากไม่แสดงลำดับเบส ยกเว้นโคลน TK6 และ TN9 แสดงลำดับเบส T

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบขนาดลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วนของ ITS จากตัวอย่างเห็ดโคน *T.*

striatus (Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างต่างกลุ่ม
ที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ ได้แก่ เห็ดโคน *Termitomyces sp.*(Taprab และคณะ, 2002)
และ *T. striatus* (Beeli) Heim (Rouland และคณะ, 2002)

ตัวอย่างที่วิเคราะห์	ชื่อ Clone	ขนาดของลำดับเบส ITS (นิวคลีโอไทด์)
TK1	TK1	630
TK2	TK2	636
TK3	TK3	630
TK4	TK4	637
TK5	TK5	631
TK6	TK6	632
TK7	TK7	634
TK8	TK8	631
TN9	TN9	635
TN10	TN10	631
TU 11	TU 11	635
TU 12	TU 12	632
TU 13	TU 13	632
TU 14	TU 14	630
TU15	TU15	630
TP16	TP16	634
TT17	TT17	635

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ตัวอย่างที่วิเคราะห์	ชื่อ Clone	ขนาดของลำดับเบส ITS (นิวคลีโอไทด์)
AB081119	KB02_HCn_A5 ^{1/}	636
AB081119	KB02_HC_A2 ^{1/}	640
AB081114	KB02_3C_C27 ^{1/}	640
AB081112	KB02_3C_A1 ^{1/}	641
AB081108	KB02_2C_A2 ^{1/}	642
AB081106	KB02_1C_C8 ^{1/}	644
AB081102	BK01_7C_A4 ^{1/}	641
AB081101	BK01_7C_A3 ^{1/}	637
AB081100	BK01_3F_A5 ^{1/}	642
AB081099	BK01_3C_A2 ^{1/}	642
AB081110	KB02_2C_C29 ^{1/}	642
AB081104	KB02_1C_A1 ^{1/}	641
AB081115	KB02_3F_A3 ^{1/}	642
AB081096	BK01_1C_A2 ^{1/}	637
AB081107	KB02_1F_A3 ^{1/}	643
AF321367	Termstria ^{2/}	612

1/ *Termitomyces* sp.

2/ *T. striatus* (Beeli) Heim

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

HOMOLGY

Clone	TK1	TK2	TK3	TK4	TK5	TK6	TK7	TK8	TN9	TU10	TU11	TU12	TU13	TU14	TU15	TP16	TT1
TK1	99	99	99	99	100	99	99	99	99	99	100	99	99	99	99	99	99
TK2	0.444		100	99	99	99	100	99	99	99	99	99	99	99	100	100	99
TK3	0.003	0.441		99	99	99	100	99	100	99	99	99	99	99	100	100	100
TK4	0.585	0.548	0.585		99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
TK5	1.396	1.283	1.406	1.094		99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
TK6	0.375	0.402	0.375	0.607	0.519		99	99	99	99	99	99	99	100	99	99	99
TK7	0.102	0.46	0.098	0.587	0.144	0.381		99	100	99	99	99	99	99	100	100	100
TK8	1.396	1.266	1.406	1.088	0.005	0.522	1.44		99	99	99	99	99	99	99	99	99
TN9	0.098	0.454	0.095	0.589	1.431	0.378	0.027	1.431		99	99	99	99	99	100	100	99
TN10	1.386	1.275	1.396	1.088	0.003	0.519	1.431	0.002	1.421		99	99	99	99	99	99	99
TU11	0.391	0.37	0.394	0.623	0.607	0.118	0.396	0.61	0.355	0.607		99	99	99	99	99	99
TU12	0.625	0.22	0.618	0.36	0.995	0.491	0.619	0.989	0.616	0.989	0.562		99	100	99	99	99
TU13	0.625	0.199	0.629	0.386	0.932	0.497	0.629	0.921	0.626	0.926	0.526	0.019		99	99	99	99
TU14	0.002	0.441	0.002	0.589	1.406	0.373	0.1	1.406	0.096	1.396	0.394	0.622	0.629		99	99	99
TU15	0.003	0.441	0	0.585	1.406	0.375	0.098	1.406	0.095	1.396	0.394	0.618	0.629	0.002		100	100
TP16	0.102	0.46	0.498	0.587	1.44	0.381	0	1.44	0.027	1.431	0.396	0.619	0.629	0.1	0.098		100
TT17	0.552	0.513	0.548	0.457	0.447	0.222	0.552	0.444	0.5	0.447	0.091	0.402	0.375	0.548	0.548	0.552	

DISTANCE

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบค่า homology และ distance ภายในกลุ่มตัวอย่าง Termitomyces (Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง

ตารางที่ 12 แสดงการ alignment ลำดับเบส ITS จากตัวอย่างเห็ดโคน *T. striatus*
(Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง ด้วยวิธี CLUSTAL W (1.82)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TK7	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TN9	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TP16	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TT17	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TU15	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK2	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK3	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK8	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TN10	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK6	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TU14	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TU12	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK1	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TK4	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TU11	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60
TU13	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAAG	60

TK7	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TN9	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TU16	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TT17	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TU15	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TK2	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TK3	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TK8	TCTGGTGTGCTGGCCCTTACTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	120
TN10	TCTGGTGTGCTGGCCCTTACTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	120
TK6	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TU14	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TU12	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TK1	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TK5	TCTGGTGTGCTGGCCCTTACTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	120
TK4	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TU11	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119
TU13	TCTGGTGTGCTGGCCCTT--CTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACCTGTGC	119

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	-ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TK7	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TN9	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TP16	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TT17	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TU15	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TK2	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TK3	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TK8	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	180
TN10	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	180
TK6	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TU14	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TU12	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TK1	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TK5	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	180
TK4	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TU11	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179
TU13	ACCTTTGTAGACTTGTGTTGTCTACCGATAATTATTACTCCCATTTCAGAATGTAT	179

TK7	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TN9	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TP16	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TT17	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TU15	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TK2	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TK3	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TK8	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	240
TN10	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	240
TK6	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TU14	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TU12	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TK1	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TK5	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	240
TK4	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TU11	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239
TU13	TGATTGGCCTCAGTGCCCTTAATCAAATAATACAACCTTCAGCAACGGATCTCTGGCTC	239

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TK7	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TN9	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TP16	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TT17	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCCAGACACGTGAA	299
TU15	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TK2	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TK3	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TK8	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	299
TN10	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	299
TK6	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TU14	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TU12	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCCAGACACGTGAA	299
TK1	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TK5	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	299
TK4	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCCAGACACGTGAA	299
TU11	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGC--AGACACGTGAA	298
TU13	TCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGTAATGTGAATTGCCAGACACGTGAA	299

TK7	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TK9	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TP16	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TT17	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	358
TU15	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TK2	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTG	358
TK3	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TK8	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	358
TN10	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	358
TK6	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TU14	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TU12	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTG	359
TK1	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	357
TK5	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	358
TK4	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTG	359
TU11	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTG	358
TU13	TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTG	358

ตารางที่ 12 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TK7	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TN9	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TP1	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TT17	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	537
TU15	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TK2	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	538
TK3	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TK8	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTGC	537
TN10	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTGC	537
TK6	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	537
TU14	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TU12	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	538
TK1	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	536
TK5	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	537
TK4	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTGC	539
TU11	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	537
TU13	TTGTTGACCTTGTCCTGGTGTGATAAAACCTTTATCACCACCGTGTGCAGTCAGCTTAC	538
***** *		
TK7	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	596
TN9	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	596
TP16	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	596
TT17	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	597
TU15	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	592
TK2	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	598
TK3	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	592
TK8	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	593
TN10	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	593
TK6	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	593
TU14	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	592
TU12	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	594
TK1	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	592
TK5	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	593
TK4	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	599
TU11	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTAATTAACCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	597
TU13	TCTGCTTCTAACAACGTTTATTA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAATCAGGTAGG	594

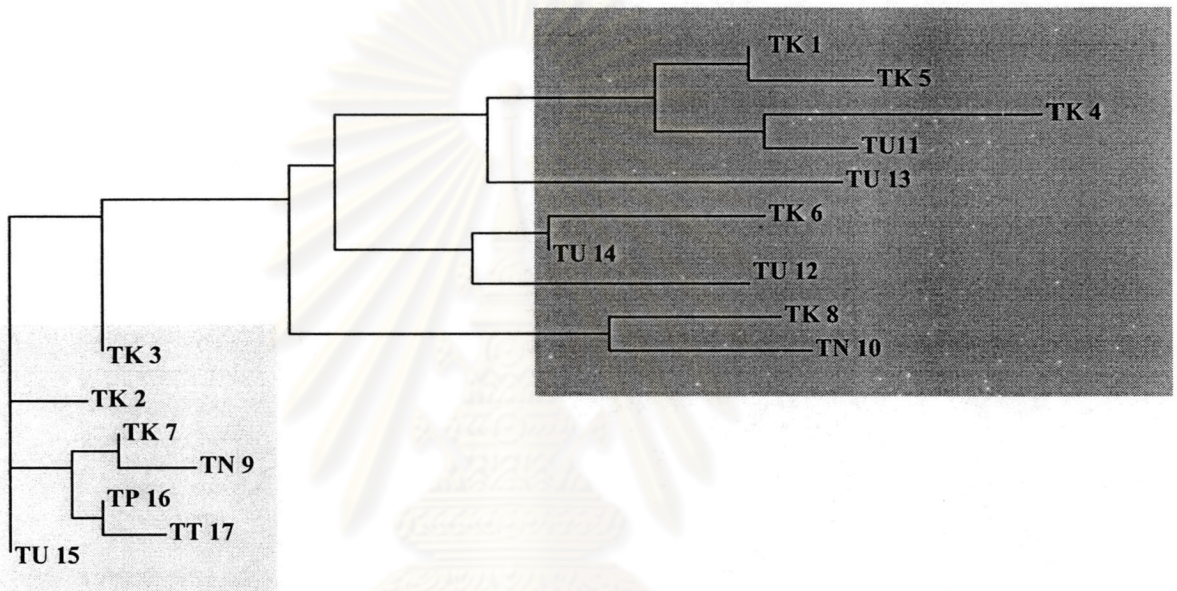
ตารางที่ 12 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TK7	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	634
TN9	ACTACCCGCTGTAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	635
TP16	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	634
TT17	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	635
TU15	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK2	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	636
TK3	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK8	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	631
TN10	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	631
TK6	ACTACCCGCTGTAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	632
TU14	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TU12	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	632
TK	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK5	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	631
TK4	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	637
TU11	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	635
TU13	ACTACCCGCTG--AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	632

***** *****

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

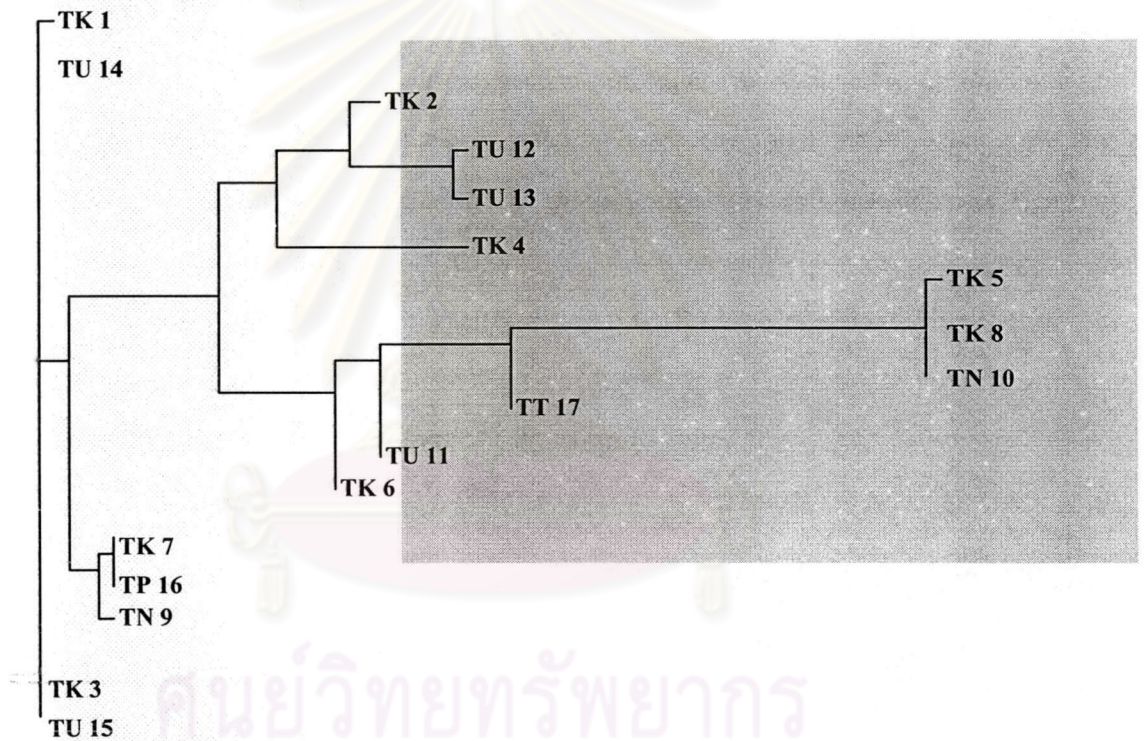
จากค่า distance ที่ได้จากการวิเคราะห์ alignment ด้วยโปรแกรม CLUSTAL W สามารถเขียน phynogram แสดงระยะห่างระหว่างตัวอย่างภายในกลุ่มการทดลองนี้ได้ดังภาพที่ 13 จากการเปรียบเทียบส่วนต่างที่พบในแต่ละ domain สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 โคลน TK2 TK3 TK7 TN9 TU15 TP16 และ TT17 กลุ่มที่ 2 TK1 TK4 TK5 TK6 TK8 TN10 TU11 TU13 และ TU14



ภาพที่ 13 Phynogram แสดงระยะห่างระหว่างตัวอย่างภายในกลุ่มของเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง ตามวิธี CLUSTAL W (1.82) โดยอาศัยลำดับเบส ITS (ITS sequence)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และเมื่อวิเคราะห์ระยะห่างระหว่างดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่างโดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์พื้นฐานของ nj(Saitou and Nei, 1987) phylip(Felsenstein,2002) และ distance method (CLUSTAL W :Thompson, Higgins and Gibson ,1994) พบว่า phenogram ที่ได้มีความคล้ายคลึงกัน แม้ว่าทั้ง 3 สมการพิจารณาลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างกันไปบ้างก็ตาม ดังนั้นเมื่อสรุปผลของการวิเคราะห์ทั้ง 3 แบบ รูปแบบของความสัมพันธ์ในรูปแบบ phylogenetic tree ที่ได้สามารถนำมาสร้างเป็นรูปแบบตัวแทนของ phylogenetic tree เป็นดังในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 ตัวแทน Phylogenetic tree ชนิด nj แสดงความสัมพันธ์ภายในกลุ่มตัวอย่างเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง ตามวิธี CLUSTAL (1.82) โดยอาศัยลำดับเบส ITS (ITS sequence)

5. เปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดโคนต่างกลุ่มกัน

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากตัวอย่างจากต่างกลุ่ม ได้แก่ *Termitomyces sp.* ที่ได้ศึกษาจากเห็ดโคนในประเทศไทยมาก่อนโดย Taprab และคณะ 2002 และ *T.striatus* ที่ศึกษาโดย Rouland และคณะ 2002 หรือผลการศึกษาเห็ดโคนชนิดเดียวกันในประเทศแอฟริกา อินโดนีเซีย และศรีลังกา พบว่ามีขนาดนิวคลีโอไทด์แปรผันในช่วง 630 ถึง 640 นิวคลีโอไทด์และเมื่อพิจารณา homology พบว่ามีค่า homology แตกต่างกันได้ซึ่งสามารถแบ่งความแตกต่างได้เป็น 3 ระดับ ค่า homology อยู่ในช่วง 99-100 เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในกลุ่มตัวอย่าง ค่า homology อยู่ในช่วง 93-100 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่าง *Termitomyces sp.* ที่ศึกษาจากเห็ดโคนที่พบในประเทศไทยโดย Taprab และคณะ 2002 และค่า homology อยู่ในช่วง 59-74 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างกับเห็ดโคน *Termitomyces sp.* ที่พบในประเทศไทย (Taprab และคณะ 2002) และ *T.striatus* ที่พบในแอฟริกา อินโดนีเซีย และศรีลังกา (Rouland และคณะ 2002) (ตารางที่ 13) และจากผลการวิเคราะห์ alignment โดยวิธี CLUSTAL W (1.82) เพื่อเปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่างในงานทดลองทั้ง 17 ตัวอย่าง กับตัวอย่างต่างกลุ่มที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ ได้แก่ *Termitomyces sp.* จำนวน 15 ตัวอย่าง และ *Termitomyces striatus* (Belli) Heim จำนวน 1 ตัวอย่าง โดยพิจารณาจากโดเมนที่แตกต่างกันทั้ง 9 โดเมนจากหัวข้อที่ 4 พบว่ามีความเหมือนกันเมื่อเปรียบเทียบ 3 กลุ่ม นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างเพิ่มขึ้นมากกว่าความแตกต่างภายในกลุ่มโดยจะพบโดเมนที่แตกต่างกันถึง 96 โดเมน (ตารางที่ 14)

จากค่า distance ที่คำนวณได้จากการวิเคราะห์เฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์โดยการทำ alignment สามารถเขียน phenogram แสดงระยะห่างระหว่างตัวอย่างภายในการทดลองนี้กับเห็ดโคน *Termitomyces sp.* ที่พบในประเทศไทย (Taprab และคณะ 2002) และ *T.striatus* ที่พบในแอฟริกา อินโดนีเซีย และศรีลังกา (Rouland และคณะ 2002) เป็น 2 กลุ่มแตกต่างกันอย่างชัดเจนโดย กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มเห็ดโคนที่ใช้ในการทดลองนี้ทั้งหมด 17 ตัวอย่างและโคลน termstria กับกลุ่มที่ 2 ได้แก่โคลนทั้งหมดในกลุ่ม *Termitomyces sp.*

ผลของการวิเคราะห์โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์พื้นฐานของ nj (Saitou and Nei, 1987) distance method (CLUSTAL W :Thompson, Higgins and Gibson ,1994) และ phylip (Felsenstein,2002) แสดงให้เห็นว่าทั้ง 3 แบบ มีรูปแบบของความสัมพันธ์ในรูป phylogenetic tree เหมือนกัน โดยตัวแทนของ phylogenetic tree ที่ได้แสดงดังในภาพที่ 15 จากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ 1 ได้แก่ กลุ่มเห็ดโคนที่ใช้ในการทดลองนี้ทั้งหมด 17 ตัวอย่างไม่ได้ Cluster termstria ไว้ด้วยกัน ขณะที่กลุ่มที่ 2 ได้แก่โคลนทั้งหมดในกลุ่ม *Termitomyces sp.* และโคลน termstria ที่อยู่

ด้วยกัน จากความสัมพันธ์ที่ได้ พบว่าเห็ดโคนในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากกลุ่มเห็ดโคนที่มีผู้ศึกษามาก่อนหน้า และแตกต่างจากตัวอย่างเห็ดโคนที่ได้จากประเทศอินโดนีเซีย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หมายเหตุ: Clon No. และรายละเอียด

1 : TK1	18 : KB02_HCn_A5
2 : TK2	19 : KB02_HC_A2
3 : TK3	20 : KB02_3C_C27
4 : TK4	21 : KB02_3C_A1
5 : TK5	22 : KB02_2C_A2
6 : TK6	23 : KB02_1C_C8
7 : TK7	24 : BK01_7C_A4
8 : TK8	25 : BK01_7C_A3
9 : TN9	26 : BK01_3F_A5
10 : TN10	27 : BK01_3C_A2
11 : TU11	28 : KB02_2C_C29
12 : TU12	29 : KB02_1C_A1
13 : TU13	30 : KB02_3F_A3
14 : TU14	31 : BK01_1C_A2
15 : TU15	32 : KB02_1F_A3
16 : TP16	33 : Termstria
17 : TT17	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 alignment ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบส ITS โดยวิธี CLUSTAL W (1.82)
เปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่างในงานทดลอง 17 ตัวอย่าง (Term 1-17) กับตัวอย่างต่าง
กลุ่มที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ (*Termitomyces sp.* และ *T. striatus* (Beeli) Heim)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TU15	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK2	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TP16	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
BK017CA3	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
BK011CA2	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGRAG--GATCATTATT--	56
KB02HCNA5	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTAWT--	56
KB023CC27	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB023CC8	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB02HCNA2	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTWWT	57
KB022CC29	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
BK017CA4	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB023CA2	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB023CA1	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB021CA1	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB023FA3	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
KB021FA3	--GGAAGTAAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	57
BK013FA5	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
BK013CA2	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK7	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TT17	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK3	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK8	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TN10	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TU12	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TU14	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK6	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK5	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TU13	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK1	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TK4	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TU11	--GGAAGTAAAA--GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG--GATCATTATT--	56
TermstriaR	GGGTTGTTGCTGGCCTCTA--GGGGCATGTGCACGCCACCATCGTTTTCAACCACCTGTG	59
	** ** * * * ** * * * * ** * *	

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TU15	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK2	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TP16	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
BK017CA3	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	113
BK011CA2	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	113
KB02HCNA5	GAAGTYKGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	113
KB023CC27	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB023CC8	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB02HCNA2	RAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	115
KB022CC29	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
BK017CA4	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB023CA2	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB023CA1	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB021CA1	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB023FA3	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTMTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
KB021FA3	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	115
BK013FA5	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
BK013CA2	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTTCTACGGCATTGTGCACGCCTTATTCAAACC--ACC	114
TK7	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TT17	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK3	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK8	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTACTTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	115
TN10	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTACTTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	115
TU12	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TU14	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK6	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK5	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTACTTGGGGCATGTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	115
TU13	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK1	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TK4	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TU11	GAAGTCTGGTTGTTGCTGGC--CTTCTTGGGGCAT--GTGCACGCCTTATTCAAACCCACC	114
TermstriaR	CACCTTTTGTAGACTTGGATACCTCTCGAGGTCACCTAACCTCGGTTTG----GGGACTGCTG	117

* * * * *

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TU15	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK2	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TP16	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
BK017CA3	TG--TGCACCCATTTGTAGACTT---GTATGTCTATTGATAATTTATTT-ACCC-----C	162
BK011CA2	TG--TGCACC--ATTTGTAGACTT---GTATGTCTATTGATAATTTATTT-ACCC-----C	161
KB02HCNA5	TG--TGCACC--ATTTGTAGACTT---GTATGTCTATTGATAATTTATTT-ACCC-----C	161
KB023CC27	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
KB023CC8	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
KB02HCNA2	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	165
KB022CC29	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
BK017CA4	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
KB023CA2	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----T	164
KB023CA1	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
KB021CA1	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
KB023FA3	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	164
KB021FA3	TG--TGCACCATTT--GTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACNYT-----C	166
BK013FA5	TG--TGCACCATTTGTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	165
BK013CA2	TG--TGCACCATTTGTAGACTT--TGTTTGTCTATTGATAATTTATTTTACCC-----C	165
TK7	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TT17	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK3	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK8	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	163
TN10	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	163
TU12	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TU14	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK6	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK5	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	163
TU13	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK1	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TK4	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
TU11	TG--TGCACCTTTT--GTAGACTTGTGTTTGTCTACCGATAATT-ATTT-ACTC-----	162
Termstria	TGCTGCATAAGTCGGCTCTCCCTACATTTCCGGTCTATGCTTTATATACCCCGTAAAGA	177

** **** * * * * * ** * * **

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TU15	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK2	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TP16	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
BK017CA3	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	279
BK011CA2	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCAGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	279
KB02HCNA5	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	278
KB023CC27	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
KB023CC8	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	283
KB02HCNA2	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	283
KB022CC29	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
BK017CA4	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
KB023CA2	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
KB023CA1	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
KB021CA1	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
KB023FA3	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	282
KB021FA3	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	284
BK013FA5	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	283
BK013CA2	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	283
TK7	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TT17	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK3	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK8	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	276
TN10	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	276
TU12	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TU14	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK6	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK5	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	276
TU13	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK1	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TK4	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TU11	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAACGCGATAAGT	275
TermstriaR	TTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGGACGCAGCGAAATGCGATAAGT	288

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TU15	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TK2	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TP16	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
BK017CA3	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	337
BK011CA2	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	337
KB02HCNA5	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	336
KB023CC27	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	340
KB023CC8	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	341
KB02HCNA2	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	341
KB022CC29	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	340
BK017CA4	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	340
KB023CA2	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	340
KB023CA1	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	340
KB021CA1	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGTACCTTGCCTCCTTGG	340
KB023FA3	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	340
KB021FA3	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	342
BK013FA5	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	341
BK013CA2	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	341
TK7	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TT17	AATGTGAATTGCCAGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TK3	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TK8	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TN10	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TU12	AATGTGAATTGCCAGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TU14	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TK6	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TK5	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TU13	AATGTGAATTGCCAGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TK1	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
TK4	AATGTGAATTGCCAGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	334
TU11	AATGTGAATTGC-AGACAC--GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	333
Termstria	AATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGG	348
	***** * * *****	

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
TU15	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
TK2	TGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTGAGTGCATTAAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	393
TP16	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
BK017CA3	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	395
BK011CA2	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTWGAGTGCATT-AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	395
KB02HCNA5	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	394
KB023CC27	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	398
KB023CC8	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	399
KB02HCNA2	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	399
KB022CC29	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	398
BK017CA4	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	98
KB023CA2	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	398
KB023CA1	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	398
KB021CA1	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	398
KB023FA3	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	398
KB021FA3	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	400
BK013FA5	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	399
BK013CA2	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	399
TK7	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
TT17	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	392
TK3	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
TK8	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	392
TN10	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	392
TU12	TGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTGAGTGCCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	393
TU14	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
TK6	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCCATTAAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	392
TK5	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	392
TU13	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCATTAAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	393
TK1	TGATCTGAGGAGCATGCC--TGTTTGAGTGCCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	391
TK4	TGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTGAGTGCCATTAAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	394
TU11	TGATCTGAGGAGCATGCCCTGTTTGAGTGCCATT--AAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	392
Termstria	TATTCCGAGGAGCATGCC---TGTTTGAGTGCATT--GAATTCTCAACCTAACCAGCTTTTG	406
	* ** ***** ** * * * * * *****	

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
TU15	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
TK2	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	448
TP16	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
BK017CA3	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCCCCAGAAAGTCA	454
BK011CA2	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCCCCAGAAAGTCA	454
KB02HCNA5	TGAGCTG-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCCCCAGAAAGTCA	453
KB023CC27	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	457
KB023CC8	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	458
KB02HCNA2	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	458
KB022CC29	TGAGCTTGGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	458
BK017CA4	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	457
KB023CA2	TGAGCTTGGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	458
KB023CA1	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	457
KB021CA1	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	457
KB023FA3	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	457
KB021FA3	TGAGCTT-GGGATARGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	459
BK013FA5	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	458
BK013CA2	TGAGCTT-GGGATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACCTCCCAGAAAGTCA	458
TK7	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
TT17	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	447
TK3	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
TK8	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	447
TN10	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	447
TU12	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	448
TU14	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
TK6	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	447
TK5	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	447
TU13	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	448
TK1	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	446
TK4	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	449
TU11	TGAGCTGGGATATAGGCTTGGATTGTGGGGGCTTTGCTGGCTTCAACC-----AAAGTCA	447
Termstria	TGAGCTT-----GGATAGGCTTGGAT-ATGGGG-----TTGCGGGCTTCA-----CAGAAAGTCG	455
	***** *** ***** ***** ***** ***** *****	

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	557
TU15	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	557
TK2	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	559
TP16	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	557
BK017CA3	--CCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--ACCTAGT	564
BK011CA2	--CCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--ACCTAGT	564
KB02HCNA5	--CCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--ACCTAGT	563
KB023CC27	ACCTTTATCACCACC---GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
KB023CC8	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
KB02HCNA2	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
KB022CC2	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
BK017CA4	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	568
KB023CA2	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	568
KB021CA1	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	568
KB023FA3	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
KB021FA3	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	570
BK013FA5	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
BK013CA2	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--AGCTAGT	569
TK7	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	557
TT17	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	558
TK3	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	555
TK8	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	556
TN10	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	556
TU12	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	557
TU14	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	555
TK6	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	556
TK5	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	556
TU13	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	557
TK1	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTT---T	555
TK4	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	560
TU11	ACCTTTATCACCACC----GT---GTGCAGTCAGCTTACTCTGCTT--CTAACAA--CGTTTAT	558
TermstriaR	ATCTACGCCGCGGTCAAGTCAGCGAACTTAAAGGGTTTGGCTTACAACCTGTCGCCTACA	573

* * * * * * * * * * * * * * * *

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

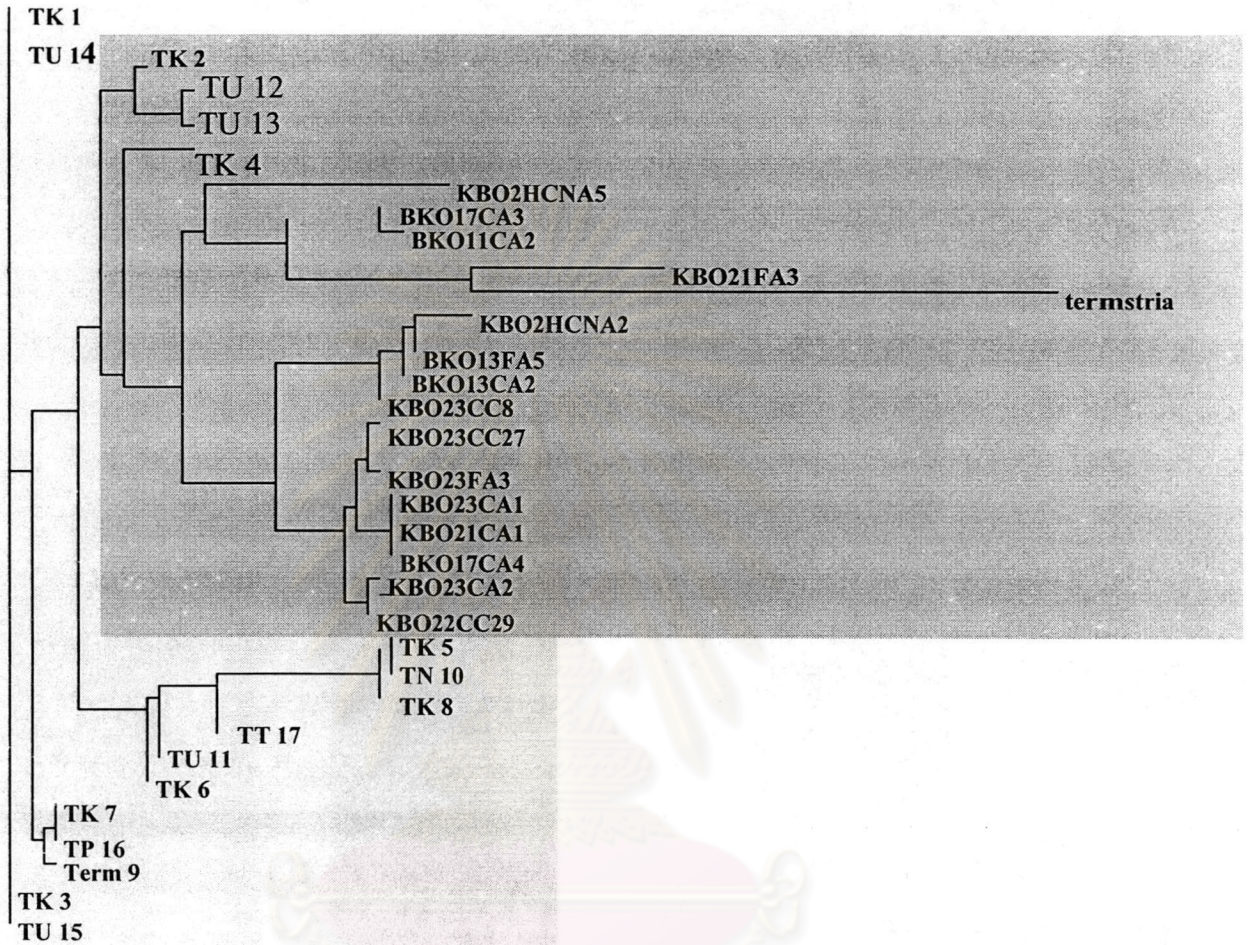
ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTGTAACCTAA	615
TU15	TAA-----ACTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	610
TK2	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	616
TP16	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	614
BK017CA3	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	617
BK011CA	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	617
KB02HCNA5	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	616
KB023CC27	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
KB023CC8	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCCCGCTG-AACTTAA	624
KB02HCNA2	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
KB022CC29	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
BK017CA4	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	621
KB023CA2	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
KB023CA1	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	621
KB021CA1	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	621
KB023FA3	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
KB021FA3	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	623
BK013FA5	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
BK013CA2	CTTTGA-----CTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	622
TK7	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	614
TT17	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	615
TK3	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	610
TK8	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	611
TN10	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	611
TU12	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	612
TU14	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	610
TK6	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	612
TK5	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	611
TU13	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	612
TK1	ATTAAA---CTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	610
TK4	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	617
TU11	TAATTAAGCTCTTGACCATTTGACCTCAAA--TCAGGTAGGACTACCC--GCTG-AACTTAA	615
Termstria	TGGGGACGCTTTTGACCAATTGACCTCAAA--TCAGGTAGG-----	612

***** * * * * *****

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ชื่อโคลน	ลำดับเบส	ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์
TN9	GCATATCAATAAGCGGAGGA	635
TU15	GCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK2	GCATATCAATAAGCGGAGGA	636
TP16	GCATATCAATAAGCGGAGGA	634
BK017CA3	GCATATCAATAAGCGGAGGA	637
BK011CA2	GCATATCAATAAGCGGAGGA	637
KB02HCNA5	GCATATCAATAAGCGGAGGA	636
KB023CC27	GCATATCAATAAGCGGAGGA	640
KB023CC8	GCNTATCAATAAGCGGAGGA	644
KB02HCNA2	GCATATCAATAAGCGGAGGA	640
KB022CC29	GCATATCAATAAGCGGAGGA	642
BK017CA4	GCATATCAATAAGCGGAGGA	641
KB023CA2	GCATATCAATAAGCGGAGGA	642
KB023CA1	GCATATCAATAAGCGGAGGA	641
KB021CA1	GCATATCAATAAGCGGAGGA	641
KB023FA3	GCATATCAATAAGCGGAGGA	642
KB021FA3	GCATATCAATAAGCGGAGGA	643
BK013FA5	GCATATCAATAAGCGGAGGA	642
BK013CA2	GCATATCAATAAGCGGAGGA	642
TK7	GCATATCAATAAGCGGAGGA	634
TT17	GCATATCAATAAGCGGAGGA	635
TK3	GCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK8	GCATATCAATAAGCGGAGGA	631
TN10	GCATATCAATAAGCGGAGGA	631
TU12	GCATATCAATAAGCGGAGGA	632
TU14	GCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK6	GCATATCAATAAGCGGAGGA	632
TK5	GCATATCAATAAGCGGAGGA	631
TU13	GCATATCAATAAGCGGAGGA	632
TK1	GCATATCAATAAGCGGAGGA	630
TK4	GCATATCAATAAGCGGAGGA	637
TU11	GCATATCAATAAGCGGAGGA	635
TermstriaR	-----	



ภาพที่ 15 Phylogenetic tree ที่สร้างขึ้นจากการวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมITS บนสมการ nj แสดงความสัมพันธ์ภายในกลุ่มตัวอย่างเห็ดโคน *Termitomyces striatus* (Beeli) Heim จำนวน 17 ตัวอย่าง ตามวิธี CLUSTAL W (1.82)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย