การคัดกรองและลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก

โดย

นายนวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การคัดกรองและลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก

โดย

นายนวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Screening and characterization of lactic acid bacteria from Thai's chilli pastes

BY

Mr. Nawat Ketsawasdiwong

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2015
COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วิทยานิพนธ์

ของ

นายนวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์

เรื่อง

การคัดกรองและลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติ ให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

เมื่อ วันที่ 15 มิถุนายน พ.ศ. 2559

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จรีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก _____
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระชัย ธนานันต์)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม _____
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ธนานันต์)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ _____
(อาจารย์ ดร. ภัทรพร คุ้มภัย)

คณบดี _____
(รองศาสตราจารย์ ปกรณ์ เสริมสุข)

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดกรองและลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก
ชื่อผู้เขียน	นายนวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
สาขาวิชา/คณะ/มหาวิทยาลัย	เทคโนโลยีชีวภาพ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระชัย ธนานันต์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ธนานันต์
ปีการศึกษา	2558

บทคัดย่อ

น้ำพริกเป็นอาหารของคนไทยที่ประกอบไปด้วยวัตถุดิบ เครื่องปรุง และสมุนไพรต่าง ๆ หลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รวมทั้งมีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถพบได้ในอาหารซึ่งเกิดเมื่อการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติกที่สามารถช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาอาหาร รวมทั้งสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคได้ งานวิจัยนี้ได้คัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร de Man Regosa Sharpe agar (MRS) ที่มี แคลเซียมคาร์บอนเนต 1 เปอร์เซ็นต์ จากน้ำพริก 5 ขนิด พบแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียกรดแลคติก 14 ไอโซเลต และ *Pseudomanas* spp. 15 ไอโซเลต ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานและทดสอบทางชีวเคมีพบว่ามีความมั่นใจว่าเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก สกุลต่าง ๆ ได้แก่ *Lactobacillus* spp. *Weisella* spp. และ *Leuconostoc* spp. เป็นต้น เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส ของยีน *16S rRNA* โดยการใช้โปรแกรม BLASTN เปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank ของ NCBI พบว่าสามารถแยกชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติกสกุลต่าง ๆ ได้เป็น *Lactobacillus* 4 ชนิด *Weisella* 1 ชนิด และ *Leuconostoc* 1 ชนิด และเมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการวิเคราะห์การจัดกลุ่มพบว่าสามารถแบ่งกลุ่มและแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของแบคทีเรียได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: การคัดกรองแบคทีเรีย, ลักษณะเฉพาะของแบคทีเรีย, แบคทีเรียกรดแลคติก, น้ำพริก

Thesis Title	Screening and characterization of Lactic Acid Bacteria from Thai's Chilli Pastes
Author	Mr. Nawat Ketsawasdiwong
Degree	Master of science in biotechnology
Department/Faculty/University	Department of biotechnology Faculty of Science and Technology Thammasat University
Thesis Advisor	Associate Professer Dr. Theerachai Thanananta
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Dr. Narumol Thanananta
Academic Years	2015

ABSTRACT

Chilli pastes are the nutritious food of Thailand which included many raw materials, which are composed of spices and herbs. They have benefit of microorganism, including lactic acid bacteria that found in without oxygen food fermentation. Therefore, these products have lactic acid which preserve the shelf life of food and inhibit the pathogen and microbial spoilage. This study, we focused on screening and identified lactic acid bacteria from chilli pastes that grown in de Man-Regosa Sharpe agar (MRS) added with 1 % $CaCO_3$. The result showed that 29 isolates of bacteria were found clear zone on agar in 5 chilli paste, they have 14 isolates of lactic acid bacteria and 15 isolates of *Pseudomonas* spp. These isolates were screened and identified using Gram's strain and sugar fermentation for investigating bacterial morphology and biochemistry so we found *Lactobacillus* spp., *Weisella* spp. and *Leuconostoc* spp. On further, we can certainly using *16S rRNA* gene for investigating bacterial strains, so we can identify three genus for separating the species including *Lactobacillus* 4 species, *Weisella* 1 specie and *Leuconostoc* 1 specie. Finally, each of samples was clearly analyzed phylogenetic tree and cluster analysis for evolutionary relationships and segmentation respectively.

Keywords: Screening of bacteria, Characterization of bacteria, Lactic acid bacteria, Chilli paste

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระชัย ธนานันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ธนานันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และช่วยแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ทั้งให้ความรู้ ความเข้าใจ ในการศึกษาการวิจัยวิทยานิพนธ์นี้ดำเนินไปได้อย่างดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จรีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ อาจารย์ ดร. ภัทรพร คุ้มภัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่คอยให้การดูแล ให้ความรู้และคำแนะนำ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย และช่วยแนะแนวทางสำหรับการแก้ไขปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ จนงานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ พี่ ๆ นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่าน สำหรับความช่วยเหลือและความเอื้อเฟื้อ ที่ให้คำแนะนำแก่ตัวข้าพเจ้าในการเบิกอุปกรณ์และสารเคมีเพื่อความสะดวกสำหรับการทำงานวิจัยมากขึ้น

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน สำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ตลอดระยะเวลาในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบคุณครอบครัวของข้าพเจ้าที่ให้กำลังใจ เข้าใจ และสนับสนุนในด้านการศึกษาของข้าพเจ้ามาโดยตลอด

สุดท้าย ผู้วิจัย ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2558 ภายใต้ทุนวิจัยทั่วไปตามสัญญาเลขที่ ทน 28/2558 ที่ให้เงินช่วยเหลือสำหรับการทำวิจัยเพื่อให้ได้ผลงานที่ดี

นายนวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(2)
กิตติกรรมประกาศ	(3)
สารบัญตาราง (ถ้ามี)	(8)
สารบัญภาพ (ถ้ามี)	(9)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 สมมุติฐาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.6 สถานที่ทำการวิจัย	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 น้ำพริก	4
2.1.1 ประวัติความเป็นมาของน้ำพริก	4
2.1.2 ประเภทของน้ำพริก	5

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2 แบคทีเรียกรดแลคติก	9
2.2.1 สายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก	10
2.2.2 ประโยชน์ของแบคทีเรียกรดแลคติก	12
2.3 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย	13
2.3.1 การศึกษาลักษณะสัณฐาน	13
2.3.2 การทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรีย	14
2.3.3 การวิเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล	16
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	21
3.1 การเก็บตัวอย่างน้ำพริก	21
3.2 การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก	21
3.3 การตรวจสอบสายพันธุ์ของแบคทีเรียทางสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมี	21
3.3.1 การย้อมสีแกรม	21
3.3.2 การทดสอบทางชีวเคมีโดยการหมักน้ำตาล	22
3.3.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส	22
3.3.4 การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย	22
3.3.5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน	22
3.4 การตรวจสอบสายพันธุ์ของแบคทีเรียด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล	23
3.4.1 การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบใช้โคโลนี	23
3.4.2 การต่อและแก้ไขลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA*	24
3.4.3 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียเทียบกับฐานข้อมูล	24
3.4.4 การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	25
3.4.5 การสร้างกราฟสำหรับการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม	25

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	26
4.1 การคัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก 5 ชนิด	26
4.2 การระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมี	27
4.2.1 การย้อมสีแกรม	27
4.2.2 การทดสอบการหมักของน้ำตาล	28
4.2.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส	33
4.2.4 การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย	33
4.2.5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน	33
4.3 การระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีชีวโมเลกุล	34
4.3.1 จำนวนสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกที่ระบุได้	34
4.3.2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ระบุได้ด้วยยีน *16S rRNA*	35
4.3.3 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติก	65
4.3.4 กราฟสำหรับการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม	66
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	69
รายการอ้างอิง	71
ภาคผนวก	76
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	77
ภาคผนวก ข ภาพการทดสอบเอนไซม์แคตาเลส การเคลื่อนที่ของแบคทีเรียและการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน	81

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ค การแยกขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส 84
ภาคผนวก ง การระบุสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* spp. 86
ภาคผนวก จ การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Pseudomonas* spp. 87
ภาคผนวก ฉ แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและกราฟการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต 99
ภาคผนวก ช ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย 29 ไอโซเลตจากฐานข้อมูล 101

ประวัติผู้เขียน 130

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 สารเคมีและความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบใช้โคโลนี	23
4.1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีด้วยวิธีการหมักน้ำตาล 10 ชนิด ทั้งหมด 13 ไอโซเลตของน้ำพริกปลาร้า	30
4.2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีด้วยวิธีการหมักน้ำตาล 10 ชนิด ทั้งหมด 13 ไอโซเลตของน้ำพริกปลาร้า น้ำพริกหนุ่มและน้ำพริกกุ้งจ่อม	31
4.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีด้วยวิธีการหมักน้ำตาล 10 ชนิด ทั้งหมด 3 ไอโซเลตของน้ำพริกมะม่วง	32
4.4 ผลที่ได้จากการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล	35
4.5 ตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียกรดแลคติก	43
4.6 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 14 ไอโซเลต	66
ง.1 ผลที่ได้จากการระบุสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* spp. ที่เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล	86
จ.1 ตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *16S rRNA* ของ *Pseudomonas* spp.	95

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 น้ำพริกกะปิ	6
2.2 น้ำพริกหนุ่ม	7
2.3 น้ำพริกปลาร้า	8
2.4 น้ำพริกกุ้งจ่อม	8
2.5 น้ำพริกมะม่วง	9
2.6 ลักษณะของเซลล์ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการย้อมสีแกรมและส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง	10
2.7 ลักษณะของเซลล์และโคโลนีของ ***Leuconostoc*** *mesenteroides* ที่ได้จากการย้อมสีแกรมและส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่เลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส	11
2.8 ลักษณะของเซลล์ ***Weisella*** *viridescens* ที่ได้จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง	12
2.9 แผนผังการหมักน้ำตาลกลูโคสทั้ง 2 ประเภท	15
2.10 ตำแหน่งของยีนที่มีการสร้างไรโบโซมบนโครโมโซมของแบคทีเรีย	19
2.11 กราฟจำลองของการจัดแบ่งกลุ่มของข้อมูลต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรม PCoA	20
4.1 ลักษณะวงใสรอบโคโลนีของแบคทีเรียกรดแลคติก 2 ไอโซเลต	27
4.2 รูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย 4 ไอโซเลตเมื่อย้อมด้วยสีแกรมและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 1000 เท่า	28
4.3 การเปลี่ยนสีของอาหาร phenol red carbohydrate broth ที่ใส่น้ำแลคโตส	29
4.4 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 14 ไอโซเลต ด้วยโปรแกรม ClustalW	35
4.5 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 14 ไอโซเลต	65
4.6 กราฟสำหรับการจัดกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 14 ไอโซเลต	67
ข.1 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส	81
ข.2 การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย	81

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ข.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน	82
ค.1 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด 1 Kb Plus DNA Ladder	84
ค.2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของของแบคทีเรียบริเวณยีน *16S rRNA*	84
จ.1 ผลจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ของ *Pseudomonas* spp.	87
ฉ.1 แผนความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต	99
ฉ.2 กราฟการกระจายแบบ 2 มิติสำหรับการจัดกลุ่มของแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต	100
ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ	101

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

น้ำพริกเป็นอาหารและเป็นภูมิปัญญาของคนไทยมาตั้งแต่โบราณ โดยมีอยู่หลากหลายรูปแบบ ทั้งในรูปแบบสดและแห้ง ด้วยรสชาติที่จัดจ้านทำให้น้ำพริกเป็นที่ชื่นชอบของคนไทยมาเป็นเวลายาวนาน โดยนิยมบริโภคร่วมกับผักสดหรือผักลวก น้ำพริกประกอบด้วยเครื่องปรุงต่าง ๆ มากมาย รวมถึงสมุนไพรที่อุดมไปด้วยประโยชน์ต่อร่างกาย จึงเป็นอาหารที่ชื่นชอบสำหรับคนที่รักษาสุขภาพได้เป็นอย่างดี (นิรมล, 2550)

เนื่องจากการนิยมบริโภคน้ำพริกเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้มีการผลิตน้ำพริกออกมาเป็นจำนวนมาก ปัญหาที่เกิดขึ้นตามมาหลังจากที่มีการปรุงเสร็จและเก็บรักษาเพียงไม่กี่วัน คือ จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งทำให้อาหารเน่าเสียและมีผลต่อสุขภาพ โดยอาจมีสาเหตุจากวัตถุดิบที่ใช้ในการทำน้ำพริกล้างไม่สะอาด หรือภาชนะที่ใช้ในการบรรจุน้ำพริกผ่านการฆ่าเชื้อไม่ได้มาตรฐาน จึงส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กลิ่น สี รสชาติของน้ำพริกเปลี่ยนไป ทำให้อายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (shelf life) ลดลง เว้นแต่ว่าอาหารที่มีการใส่วัตถุกันเสียซึ่งจะช่วยชะลอและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ แต่มีผลข้างเคียงตามมาเมื่อมีการสะสมภายในร่างกายมาก โดยส่งผลต่อการทำงานของตับและไตในการกำจัดและขับวัตถุกันเสียออกจากร่างกาย

น้ำพริกสดถือว่าเป็นอาหารอย่างหนึ่งที่สามารถพบจุลินทรีย์ที่เป็นโทษได้ ถ้าอาหารไม่สะอาดเพียงพอ แต่บางครั้งอาจพบมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งบางชนิดสามารถทนความร้อนได้ดีและส่งเสริมต่อการลดจำนวนของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่เป็นโทษ หรือที่เรียกว่าจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) ซึ่งสามารถสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย จึงมีผลในการช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และมีความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์น้ำพริก 5 ชนิด ได้แก่ น้ำพริกกะปิ น้ำพริกหนุ่ม น้ำพริกปลาร้า น้ำพริกกุ้งจ่อม และน้ำพริกมะม่วง เป็นต้น

1.2.2 จำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกได้ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* เปรียบเทียบกับการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมี

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 คัดแยกแบคทีเรียแลคติกจากน้ำพริก 5 ชนิด ด้วยวิธีมาตรฐานตาม International Organization for Standardization (ISO) Standard 15214: 1998

1.3.2 จำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Genbank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) จากนั้นสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) และการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม (cluster analysis)

1.4 สมมุติฐาน

1.4.1 น้ำพริกทั้ง 5 ชนิดจะมีแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสร้างกรดอินทรีย์และสารยับยั้งแบคทีเรีย สายพันธุ์อื่น ๆ จึงสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาของอาหารได้นานขึ้น

1.4.2 การใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* การตรวจลักษณะสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมีสามารถใช้ในการจำแนกและระบุแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 แบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่คัดแยกได้จากน้ำพริก 5 ชนิด สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารอื่น ๆ เพื่อยืดอายุในการเก็บรักษาอาหาร

1.5.2 สามารถจำแนกและพิสูจน์แบคทีเรียกรดแลคติกด้วยลักษณะสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมีเปรียบเทียบกับการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ได้

1.5.3 ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้ที่สนใจการตรวจจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่มีอยู่ในอาหาร

1.6 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ B401, B403 และ B407 อาคารเรียนและปฏิบัติการ (บร.5) ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำพริก

น้ำพริก เป็นอาหารไทยประเภทเครื่องจิ้มชนิดหนึ่ง โดยการนำวัตถุดิบและเครื่องปรุงต่าง ๆ มาโขลกรวมกันในครกแล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำมาใส่ภาชนะเป็นถ้วย ซึ่งน้ำพริกถูกปรุงขึ้นมาเพื่อสร้างความอร่อยให้กับประเทศไทยมาตั้งแต่สมัยอดีต โดยมีการผสมผสานกันระหว่างเครื่องปรุงต่าง ๆ กับสมุนไพรนานาชนิด เครื่องปรุงที่สำคัญในการทำน้ำพริก ได้แก่ พริก หอม กระเทียม เป็นต้น

การพัฒนาน้ำพริกใหม่ ๆ ทำให้มีความหลากหลายให้แก่ผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น ได้แก่ น้ำพริกหนุ่ม น้ำพริกกะปิ น้ำพริกแมงดา เป็นต้น นอกจากนี้การเติมเนื้อสัตว์ลงไปเป็นการชูรสให้กับน้ำพริกและเพิ่มคุณค่าอาหารมากยิ่งขึ้น ส่วนใหญ่น้ำพริกนิยมรับประทานกับผักต่าง ๆ ทำให้คนไทยรับประทานผักมากขึ้นจึงทำให้คนที่รับประทานมีสุขภาพที่ดีขึ้น (ศูนย์วิชาการ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2553)

ปัจจุบันมีการพัฒนาการแปรรูปน้ำพริกให้สามารถเก็บไว้ได้นานมากขึ้นโดยใช้ความรู้ด้านวิศวกรรมอาหารมาประยุกต์ใช้เพื่อยืดอายุในการเก็บรักษาให้นานขึ้นโดยผ่านกระบวนการทางด้านอุตสาหกรรมที่มีการใส่ภาชนะบรรจุที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันจุลินทรีย์จากภายนอกไม่ให้เข้ามาปนเปื้อนกับอาหาร จึงทำให้ได้น้ำพริกที่มีความสะอาดและปลอดภัยมากขึ้น นอกจากนี้ถ้ามีจุลินทรีย์บางชนิด เช่น แบคทีเรียแลคติกอยู่ในน้ำพริกเกิดการสร้างกรดและสารที่ช่วยยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทำให้น้ำพริกมีอายุในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (อรรณพ และวรรณภา, 2553)

2.1.1 ประวัติความเป็นมาของน้ำพริก

น้ำพริก กำเนิดขึ้นตั้งแต่สมัยกรุงศรีอยุธยา โดยคำว่า "น้ำพริก" มีความหมายมาจากการปรุงด้วยการนำสมุนไพรต่าง ๆ เช่น พริก กระเทียม เครื่องเทศที่มีกลิ่นแรง มาโขลกและบดรวมเป็นเนื้อเดียวกัน เป็นกับข้าวใช้สำหรับเป็นเครื่องจิ้ม โดยมีผักสดต่างๆ เช่น มะเขือยาว แตงกวา ถั่วฝักยาว ถั่วพู รวมถึงสัตว์น้ำต่าง ๆ เช่น ปลา กุ้งที่ยังสดอยู่หรือผ่านการตากแห้งมาแล้ว เป็นต้น โดยส่วนใหญ่คนในสมัยก่อนนิยมรับประทานสัตว์น้ำมากกว่าสัตว์บก จึงมีการคิดค้นน้ำพริกขึ้นเพื่อเพิ่มรสชาติ สีสัน และดับกลิ่นคาวต่าง ๆ จากอาหารอื่น ๆ ที่ทำจากสัตว์ และถูกใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารต่าง ๆ หรือใช้ในการรับประทานเป็นกับข้าวที่ได้รับความนิยมมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

นอกจากนี้น้ำพริกบางชนิดสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องปรุงได้ เช่น น้ำพริกเครื่องแกง เพราะอาหารไทยจำพวกแกง จำเป็นที่จะต้องมีส่วนประกอบเพื่อให้สะดวกเวลาทำอาหารประเภทแกง เพราะนอกจากจะช่วยย่นระยะเวลาในการเตรียมอาหารแต่ละครั้งแล้ว ยังสามารถทำน้ำพริกเครื่องแกงไว้ได้ในจำนวนมากและเก็บไว้ใช้ในครั้งต่อไปได้อีกด้วย เพื่อลดขั้นตอนการปรุงอาหารลง บางครั้งน้ำพริกชนิดต่าง ๆ ยังดัดแปลงเป็นอาหารหลากหลายประเภท รวมถึงนำมาผัดกับข้าว เช่น ข้าวผัดน้ำพริกนรก ข้าวผัดน้ำพริกปลาทู เป็นต้น

2.1.2 ประเภทของน้ำพริก

น้ำพริกของประเทศไทยในแต่ละภูมิภาคมีหลากหลายประเภทแตกต่างกันไปตามวิธีการทำ วัตถุดิบและเครื่องปรุงต่าง ๆ ที่นำมาประกอบอาหาร สามารถจัดจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภทที่อยู่ในรูปแบบเครื่องจิ้ม ดังนี้ คือ

2.1.2.1 น้ำพริกแห้ง

น้ำพริกแห้งเป็นน้ำพริกที่ทำจากพริกแห้ง น้ำพริกจะมีลักษณะป่นที่มีความหยาบและความละเอียดที่แตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ น้ำพริกแห้งส่วนใหญ่บรรจุอยู่ในภาชนะที่แห้งและสะอาด สามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน จึงป้องกันความชื้นและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้ และสะดวกต่อการนำไปรับประทานได้ในสถานที่ต่างๆ สามารถประกอบเป็นอาหารได้ภายในบ้านจนถึงระดับอุตสาหกรรม จึงสามารถส่งออกได้ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ได้แก่ น้ำพริกตาแดง น้ำพริกนรก น้ำพริกสวรรค์ น้ำพริกกุ้งเสียบ เป็นต้น

2.1.2.2 น้ำพริกสด

น้ำพริกสดเป็นน้ำพริกที่ทำจากพริกสด น้ำพริกจะมีลักษณะเป็นกึ่งของแข็งและของเหลวผสมกันเหมือนสารแขวนลอย (paste) ส่วนใหญ่เมื่อประกอบเป็นอาหารแล้วนิยมบริโภคทันที เนื่องจากระยะเวลาการเก็บรักษาต่ำกว่าน้ำพริกแห้งจึงมีโอกาสเน่าเสียได้มากกว่า แต่มีข้อดีคือ ในขั้นตอนการทำนำพริกส่วนใหญ่ไม่ได้ถูกให้ความร้อน ทำให้สารอาหารต่างๆ ยังไม่ถูกทำลายไป คนที่ได้รับประทานจึงได้รับสารอาหารที่มีประโยชน์เข้าสู่ร่างกายได้มากกว่าและนิยมบริโภคภายในบ้านเป็นหลัก ซึ่งน้ำพริกสดที่นำมาใช้สำหรับงานวิจัยนี้ ได้แก่

(1) น้ำพริกกะปิ

พบได้ในทั่วภูมิภาคของประเทศไทย โดยมีจุดเริ่มต้นที่ภาคใต้ที่มีการทำกะปิที่ได้จากกุ้งเคยซึ่งหาได้จากทะเล และนำมาประยุกต์ทำเป็นน้ำพริก จึงเป็นที่นิยมของประชาชน มีวัตถุดิบหลักคือกะปิที่นำมาเผาไฟ พริก และกระเทียมที่ถูกโขลกอย่างละเอียด เมื่อทำเสร็จแล้วจะมีสีน้ำตาลอมม่วง โรยหน้าด้วย มะอึก มะเขือพวงและพริก น้ำพริกกะปิจะรับประทานคู่กับปลาทูทอด ผักสด หรือผักชุบไข่ และมีรสชาติที่กลมกล่อมครบทุกรส

ภาพที่ 2.1 น้ำพริกกะปิ (http://f.ptcdn.info/164/012/000/1384515607-thaifoodfo-o.jpg)

(2) น้ำพริกหนุ่ม

พบได้ในภาคเหนือมีวัตถุดิบหลัก คือ พริกหนุ่มซึ่งเป็นพริกอ่อนสีเขียวที่มีรสชาติที่เผ็ดมาก นิยมใช้พริกหนุ่มที่ยังสดอยู่มาประกอบอาหารโดยการนำไปย่างไฟ พร้อมกับหอมแดงและกระเทียม จากนั้นนำมาโขลกให้ละเอียด ทำให้น้ำพริกมีลักษณะข้นและมีสีเขียว เหมาะสำหรับผู้ที่ชอบรสชาติที่เผ็ด นิยมรับประทานกับแคบหมูและผักสดต่าง ๆ ซึ่งน้ำพริกชนิดนี้เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาอันสั้นอาจเกิดการเน่าเสียได้อย่างรวดเร็วมาก เมื่อเทียบกับน้ำพริกชนิดอื่น

ภาพที่ 2.2 น้ำพริกหนุ่ม (http://orsimages.unileversolutions.com/ORS_Images/Knorr_th-TH/165_6_1.1.88_326X580.Jpeg)

(3) น้ำพริกปลาร้า

เป็นน้ำพริกที่มีวัตถุดิบหลักคือ ปลาร้าหรือปลาแดก ที่เกิดจากการหมักโดยการนำปลาน้ำจืดขนาดเล็ก เช่น ปลาสร้อยขาวหรือ ปลากระดี่ ทั้งตัวมาหมักกับรำข้าวและเกลือ จากนั้นนำมาบรรจุใส่ไหและหมักไว้ประมาณ 7-8 เดือน นิยมใช้เป็นวัตถุดิบและเครื่องปรุงรสสำหรับการทำน้ำพริก พบได้ในภูมิภาคที่มีการทำปลาร้า เช่น ภาคเหนือและภาคอีสาน รวมถึงประเทศลาว ซึ่งในปัจจุบันน้ำพริกปลาร้ามีอยู่ทั้งในรูปแบบสดและแห้งนิยมนำมาคลุกข้าวหรือรับประทานกับผักสด

ภาพที่ 2.3 น้ำพริกปลาร้า (http://food.mthai.com/wp-content/uploads/2015/01/tampon 065. jpg)

(4) น้ำพริกกุ้งจ่อม

เป็นน้ำพริกที่มีวัตถุดิบหลักคือ กุ้งจ่อมที่เกิดจากการหมักโดยการนำกุ้งฝอยสดที่ไม่ผ่านการทำให้สุกมาคลุกกับเกลือ ข้าวคั่วและข่าสับอะเอียด แล้วหมักไว้เป็นเวลา 3-5 วัน ทำให้กุ้งจ่อมมีรสออกเปรี้ยว ซึ่งวิธีการหมักมีความคล้ายกับปลาร้าแต่ใช้เวลาในการหมักน้อยกว่า พบได้ในแถบภาคอีสานและนิยมนำมาต้มทำเป็นน้ำแกงหรือเป็นวัตถุดิบสำหรับการทำน้ำพริก

ภาพที่ 2.4 น้ำพริกกุ้งจ่อม (http://f.ptcdn.info/641/006/000/1372305381-o.jpg)

(5) น้ำพริกมะม่วง

ใช้วัตถุดิบหลักคือมะม่วงดิบ ซึ่งมีรสเปรี้ยวสามารถใช้แทนมะนาวและมะขามที่มีรสเปรี้ยวเหมือนกัน นอกจากนี้มะม่วงนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการประกอบอาหารมากมาย ได้แก่ น้ำพริก ยำ แกงเผ็ดต่าง ๆ เป็นต้น

ภาพที่ 2.5 น้ำพริกมะม่วง (http://f.ptcdn.info/225/011/000/1382421223-1006203JPG-o.jpg)

2.2 แบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) คือ กลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีลักษณะเป็นรูปทรงกลม (cocci) หรือท่อน (rod) ไม่มีการสร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) และน้ำตาลแล็กโทส (lactose) ให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid fermentation) กับกรดอินทรีย์อื่น ๆ ได้แก่ กรดแอซีติก (acetic acid) และกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์สารอื่น ๆ ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซต์ (hydrogen peroxide) และไดอะซิติล (diacetyl) เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นและรสของอาหารหมัก และสามารถสร้างแบคทีริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดก่อโรค และทำให้อาหารเน่าเสียได้ แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่ไม่มีการสร้างเอนไซม์เคตาเลส (catalase) แต่มีบางสายพันธุ์สามารถทำหน้าที่คล้ายเอนไซม์แคตาเลส (Whittenbury, 1960) ส่วนในระดับชีวโมเลกุลพบว่ามีเบสกวานีน (guanine) กับไซโตซีน (cytosine) รวมกันประมาณ 55 โมล

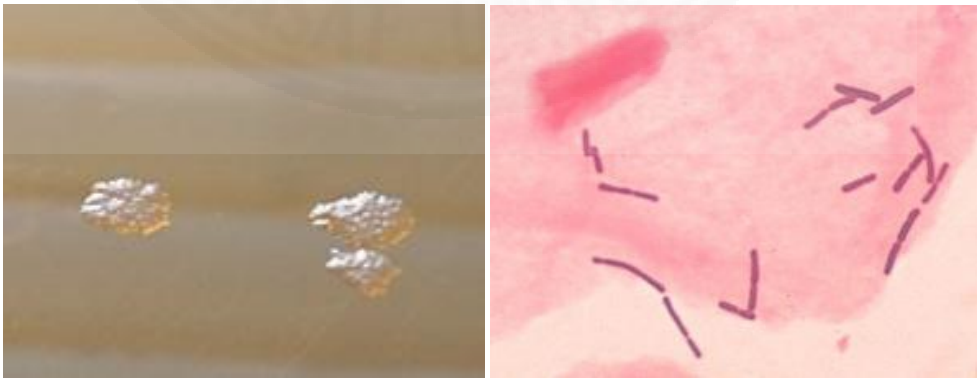
เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเหมาะสำหรับนำมาใช้ในการออกแบบไพร์เมอร์ (primer design) เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะ ทำให้สายดีเอ็นเอต่อกันเป็นสายคู่ได้หนาแน่นยิ่งขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่มีหลายสายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium* และ *Weisella* เป็นต้น (บุษกร, 2552)

2.2.1 สายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้ในปัจจุบันมีอยู่หลายสายพันธุ์ซึ่งมีรูปร่างลักษณะสัณฐานและทางพันธุกรรมที่เหมือนกันและแตกต่างกันไป โดยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้ง แหล่งที่พบและสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติกทุกสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่พบได้บ่อยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

2.2.1.1 *Lactobacillus spp.*

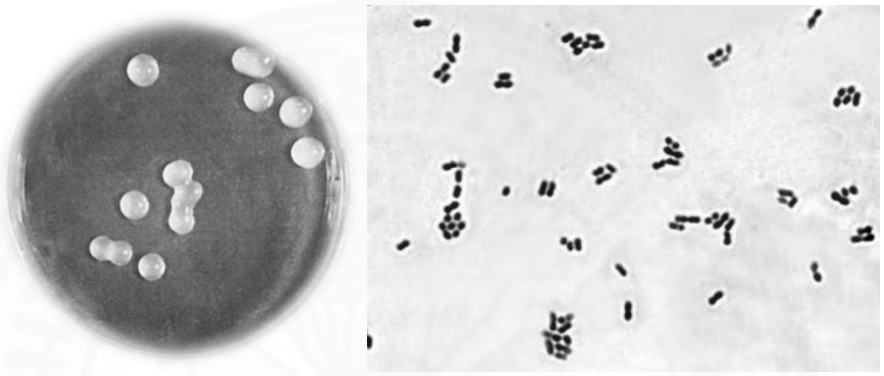
สกุล *Lactobacillus* ถือว่าเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้เป็นส่วนใหญ่ในอาหารที่เกิดจากการหมัก เช่น นม เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ นอกจากนี้ยังพบตามธรรมชาติในอวัยวะภายใน เช่น ทางเดินของลำไส้ใหญ่ ช่องคลอด ซึ่งมีส่วนช่วยให้ระบบขับถ่ายในร่างกายทำงานดีขึ้น โดยลักษณะของ *Lactobacillus* มีรูปร่างเป็นท่อน สามารถเห็นได้เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส ยกเว้นบางชนิดที่ชอบเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงกว่า เช่น *Lactobacillus bulgaricus* ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส สามารถหมักน้ำตาลได้หลายชนิด เช่น กลูโคส ซูโครส ส่วนชนิดที่พบบ่อยได้แก่ *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* เป็นต้น



ภาพที่ 2.6 ลักษณะของเซลล์ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการย้อมสีแกรมและส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (http://lactobacillus acidophilus.pbworks.com /f/240px-Lactobacillus_sp_01.png)

2.2.1.2 *Leuconostoc spp.*

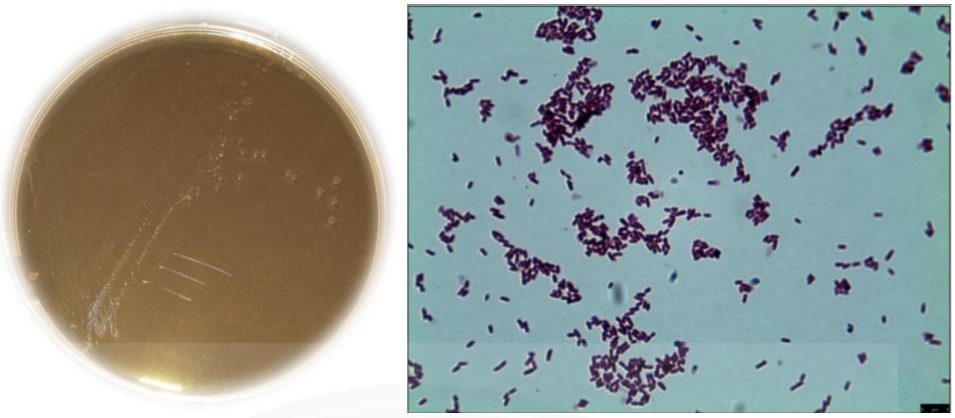
สกุล *Leuconostoc* เป็นแบคทีเรียลักษณะทรงกลมต่อกันเป็นลูกโซ่สายสั้น เจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลสูงและชอบอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 1-2 องศาเซลเซียส จึงเป็นสาเหตุทำให้อาหารแช่แข็งเสื่อมเสียได้ ซึ่งชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ *Luconostoc mesenteroides* และ *Luconostoc cremoris* เป็นต้น



ภาพที่ 2.7 ลักษณะของเซลล์และโคโลนีของ ***Leuconostoc*** *mesenteroides* ที่ได้จากการย้อมสีแกรมและส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่เลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส (Dimic, 2006)

2.2.1.3 *Weisella spp.*

สกุล *Weisella* เป็นสกุลใหม่ที่แยกออกมาจากสกุล ***Leuconostoc*** ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกึ่งท่อนและทรงกลม พบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักและอาหารเน่าเสียจำพวกผักและผลไม้หลายชนิด เช่น คิมฉิ (Cho, 2008) ซาวร์เคราท์ (Plengvidhya *et.al*, 2007) ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ *Weisella viridescens* และ *Weissella confusa* เป็นต้น



ภาพที่ 2.8 ลักษณะของเซลล์ ***Weisella*** *viridescens* ที่ได้จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Dušková, 2013)

2.2.2 ประโยชน์ของแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์และมีความปลอดภัย (generally regarded as safe) นิยมใช้ในการหมักอาหารและถนอมอาหาร สามารถหมักได้ตามธรรมชาติโดยใช้แบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบหรือเติมแบคทีเรียกรดแลคติกในรูปเชื้อตั้งต้น (starter culture) ลงไป ประโยชน์ของแบคทีเรียกรดแลคติกมีดังนี้

2.2.2.1 การหมักอาหาร

สามารถนำวัตถุดิบมาใช้ในผลิตอาหารหมักได้หลายชนิด ได้แก่ นม เนื้อสัตว์ และผัก เป็นต้น จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในอาหาร ให้กลายเป็นสารประกอบอื่น ๆ เช่น แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ กรดแลคติก โดยมีจุลินทรีย์เป็นตัวการทำให้เกิดปฏิกิริยา เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักแล้วทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารใหม่ ๆ เกิดขึ้น ได้แก่ นมเปรี้ยว เนยแข็ง ผักดอง เต้าเจี้ยว เป็นต้น (นิธิยา และพิมพ์เพ็ญ, 2549)

2.2.2.2 การถนอมอาหาร

กรดแลกติกที่ผลิตขึ้นจากแบคทีเรียกรดแลคติกช่วยในการถนอมอาหารและทำให้อาหารมีความปลอดภัยเพราะกรดที่ได้จากการหมักทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารลดลงจึงช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้แก่ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค รา และยีสต์ เนื่องจาก H^+ จะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์และเข้าสู่ไซโตพลาสซึมทำให้มีสภาวะความเป็นกรดสูง ซึ่งส่งผลให้ความสมดุลของประจุบวกและลบ (electrochemical proton gradient)

ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียไป เซลล์จึงถูกทำลายไป นอกจากนี้ในการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกยังได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และไดอะซิติล (diacetyl) ที่มีฤทธิ์เป็นวัตถุกันเสีย (preservative) ด้วย (นิธิยา และพิมพ์เพ็ญ, 2549)

2.2.2.3 โปรไบโอติก

แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่จัดเป็นโปรไบโอติก ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ของมนุษย์สามารถผลิตกรดอินทรีย์และแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) ในลำไส้ใหญ่ จึงช่วยเพิ่มและยืดอายุในการเก็บรักษามากยิ่งขึ้น (อุทัย, 2549)

ปัจจุบันมีวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจสอบหาแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่หลายวิธีแต่สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาและทดสอบทางชีวเคมีซึ่งมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน เช่น การย้อมสีแกรม การทดสอบการหมักน้ำตาล การสร้างเอนไซม์แคตาเลส ฯลฯ ซึ่งเป็นการตรวจสอบที่ง่าย ไม่ซับซ้อน เสียค่าใช้จ่ายน้อย แต่มีข้อเสีย คือ ต้องใช้เครื่องมือในการทดสอบเยอะและเสียเวลา ผลการทดลองอาจมีโอกาสความเคลื่อนสูง ส่วนอีกวิธีหนึ่ง คือ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการระบุชนิดของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นตรวจสอบที่ให้ผลแม่นยำและมีความถูกต้องสูง สามารถระบุรายละเอียดสายพันธุ์ของแบคทีเรียได้ แต่มีข้อเสียคือ เสียค่าใช้จ่ายมาก

2.3 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย

แบคทีเรียกรดแลคติกนั้นมีอยู่หลายสายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องมีการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย ซึ่งมีประโยชน์ในการทราบถึง สกุล (genus) ชนิด (species) และสายพันธุ์ (strain) ต่าง ๆ ของแบคทีเรีย โดยสามารถใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงและเพิ่มแหล่งข้อมูลสำหรับผู้ที่สนใจที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปศึกษาต่อ ซึ่งการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียสามารถทำได้หลายวิธี เช่น

2.3.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ส่วนใหญ่เป็นการศึกษารูปร่างของเซลล์และโคโลนีด้วยตาเปล่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อหรือการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้สีย้อม แต่เนื่องจากการศึกษาด้วยวิธีนี้อาจไม่สามารถระบุสายพันธุ์ได้ละเอียดมากนักจึงจำเป็นต้องมีทดสอบทางชีวเคมีเข้ามาช่วยเพื่อความละเอียดยิ่งขึ้น โดยงานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการย้อมสีแกรม ซึ่งสามารถทำได้ดังนี้ คือ

2.3.1.1 การย้อมสีแกรมของแบคทีเรีย

การย้อมสีแกรม (Gram’s stain) คือ เทคนิคการย้อมสีของแบคทีเรียเพื่อใช้ในการศึกษาเซลล์ของแบคทีเรียร่วมกับกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) คิดค้น โดย Han Christian Gram ในปี ค.ศ. 1984 สามารถจำแนกแบคทีเรียออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive) ใช้สีย้อมคือคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) และแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) คือ ซาฟลานินโอ (safranin O) และมีการเติมสารละลายไอโอดีนเพื่อยึดสีย้อมกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของสีย้อม กับสารละลายไอโอดีนจับกัน (crystal violet – iodine complex) ซึ่งจะเกิดขึ้นเฉพาะในแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบจะไม่ติดกับสารประกอบดังกล่าว แต่จะติดกับสีย้อมของซาฟลานินโอแทน

ผลของการย้อมสีแบคทีเรียแกรมบวกและลบที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวข้องกับโครงสร้างและองค์ประกอบของผนังเซลล์ โดยเฉพาะในแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีสารพวกไขมันเกาะอยู่ที่ผนังเซลล์มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวกและยังมีผนังเซลล์ที่บางกว่าด้วย ในกระบวนการย้อมสีเมื่อล้างด้วยแอลกอฮอล์หรืออะซิโตนจะไปละลายไขมันทำให้รูที่ผนังเซลล์ เปิดกว้างขึ้น ยอมให้สารประกอบเชิงซ้อนของสีคริสตัลไวโอเลตกับไอโอดีนหลุดออกมา จึงติดสีแดงของซาฟลานินโอ แต่ในแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีไขมันที่ผนังเซลล์น้อยกว่าและมีความซับซ้อนขององค์ประกอบที่ผนังเซลล์น้อยกว่า เมื่อล้างสีด้วยแอลกอฮอล์จะทำให้เซลล์เหี่ยวเพราะเกิดจากการสูญเสียน้ำ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีขนาดเล็กลง สารประกอบเชิงซ้อนของของสีคริสตัลไวโอเลตกับไอโอดีนจึงละลายออกมาไม่ได้ ทำให้เซลล์ยังคงติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลตและเมื่อย้อมทับด้วยสีซาฟลานินโอเซลล์จึงไม่ติดสีแดง

2.3.2 การทดสอบทางชีวเคมี

เป็นการทดสอบการเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีของแบคทีเรียซึ่งเกิดจากกระบวนการเมตาบอริซึมของแบคทีเรียที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตสารต่าง ๆ ซึ่งการทดสอบทางชีวเคมี ทำเพื่อดูสมบัติของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์สามารถดูได้จาก Bergey's manual (Breed *et al.*, 1957) ซึ่งเป็นหนังสือที่ใช้สำหรับการจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรีย ส่วนปฏิกิริยาที่ใช้ทดสอบสำหรับงานวิจัยมีดังนี้

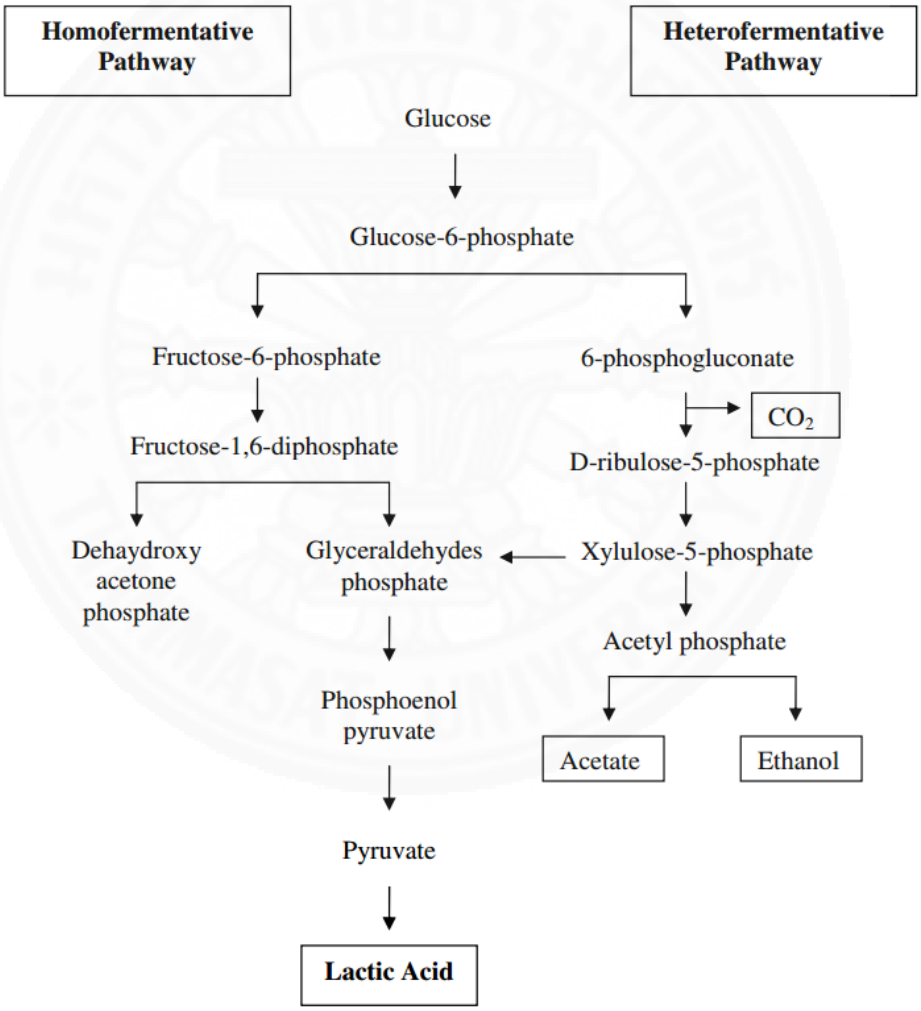
2.3.2.1 การหมักน้ำตาล

น้ำตาลเป็นอาหารที่แบคทีเรียสามารถนำมาใช้สำหรับการเจริญเติบโตและผลิตสารต่าง ๆ ซึ่งเกิดขึ้นจากการหมักจึงทำให้เกิดกระบวนการเมตาบอริซึม แบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีการหมักน้ำตาลที่แตกต่างกันและสามารถมองเห็นได้จากการเติมสารอินดิเคเตอร์ เช่น ฟีนอลเรด (phenol red) เมทิลีนบลู (methylene blue) บรอมครีซอลเพอร์เพิล (bromocresol purple) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และสีของสารอินดิเคเตอร์ ซึ่งการหมักน้ำตาลโดยหลัก ๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้หลังจากการหมักน้ำตาล ดังนี้ คือ

(1) โฮโมเฟอร์เมนเตชัน (homofermentation) เป็นการหมักด้วยแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลแล้วให้กรดแลคติก สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 85-95 %

เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ ส่วนน้ำตาลที่เหลืออาจใช้เพื่อให้พลังงานและสารระเหยอื่นๆ ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Lactobacillus Streptococcus* และ *Pediococcus* เป็นต้น

(2) เฮทโทโรเฟอร์เมนเตชัน (heterofermentation) เป็นการหมักที่ใช้น้ำตาลประมาณ 50 % ให้เป็นกรดแลคติก ส่วนน้ำตาลที่เหลืออีกประมาณ 20-25 % ให้เป็นกรดแอซีติกและเอทิลแอลกอฮอล์ และที่เหลืออีก 20-25 % ใช้ในการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เช่น *Leuconoctoc* เป็นต้น



ภาพที่ 2.9 แผนผังการหมักน้ำตาลกลูโคสทั้ง 2 ประเภท (Bulut, 2003)

2.3.2.2 การสร้างเอนอไซม์เคตาเลส

เอนไซม์เคตาเลส (catalase) เป็นเอนไซม์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมาเพื่อย่อยสลายไฮโดรเจนเปอร์ไซด์ซึ่งเป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อเซลล์โดยเปลี่ยนผลิตภัณฑ์สุดท้ายให้เป็นน้ำกับออกซิเจนได้จึงทำให้เกิดสมการเคมี ดังนี้ คือ $2H_2O_2$ + Catalase $\longrightarrow$ $2H_2O + O_2$ ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เคตาเลสได้จะสามารถป้องกันการถูกทำลายจากสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังมีส่วนในการสร้างซุปเปอร์ออกไซด์(superoxide) และไฮดรอกไซด์ (hydroxide) ที่สามารถทำให้เกิดการทำลายชีวโมเลกุล ได้แก่ กรดนิวคลีอิก (Byczkowski and Gessner, 1988) และยังมีรายงานการยับยั้ง *Pseudomonas* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารที่อุณหภูมิต่ำโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ผลิตโดย *Lactobacillus plantarum* ระหว่างการเก็บรักษาหอยนางรมโดยการแช่แข็ง (Price และ Lee, 1970)

2.3.2.3 การเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

แบคทีเรียบางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลา (flagella) มีขนาดเล็กมากและไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบไม่ย้อมสีหรือย้อมแกรม จึงมีการทดสอบแบบง่าย ๆ โดยนำแบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้ไปเพาะเลี้ยงลงบนอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว (semisolid media) จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่มีแบคทีเรียทิ่มลงในอาหาร ซึ่งผลที่ได้คือแบคทีเรียที่มีแฟลกเจลลาจะสามารถเคลื่อนที่เข้าไปยังเนื้อของอาหารได้

2.3.2.4 การสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลส

แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลส (arginine dihydrolase) สามารถใช้กรดอะมิโนอาร์จินีนเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตได้ ผลิตภัณฑ์เป็นแอมโมเนียมและกรดอะมิโนซิทรูลีนหรือกรดอะมิโนอื่น ๆ ออกมา ซึ่งมีสมการเคมี ดังนี้ คือ L-arginine + H_2O $\rightleftharpoons$ L-citrulline + NH_3 โดยกรดอะมิโนซิทรูลีนสามารถพบตามธรรมชาติได้ในผลไม้ เช่น แตงโม ที่สามารถช่วยลดความเหนื่อยอ่อนของกล้ามเนื้อ (Bendahan *et al*, 2002)

2.3.3 การวิเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

ปัจจุบันมีวิธีทางชีวโมเลกุลมีหลายวิธีที่สามารถระบุชนิดของแบคทีเรียได้ถึงระดับชนิด (species) และสายพันธุ์ (strain) โดยอาศัยฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ที่มีผู้รวบรวมไว้ หรือเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์มาตรฐานที่รู้ชนิดไว้ก่อน ซึ่งการระบุชนิดของแบคทีเรียอาจทำด้วยหลักการตัดด้วยเอนไซม์ (restriction enzyme) โดยการตัดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ได้หรือใช้ชิ้นดีเอ็นเอทั้งยีนหรือทั้งจีโนม มาทำการเพิ่มจำนวนด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิมอเรส (polymerase chain reaction) แล้วนำไปแยกตามขนาดด้วยเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (gel electrophoresis) ทำให้พบบริเวณของดีเอ็นเอบางบริเวณที่มีความจำเพาะในแต่ละชนิดและสายพันธุ์ จึงทำให้เกิดชิ้นส่วนของ

ดีเอ็นเอที่มีขนาดต่าง ๆ กัน แต่บางครั้งแยกขนาดชิ้นดีเอ็นเออย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ จึงต้องมีการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) เพื่อทราบตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นบนยีนหรือจีโนมที่เราต้องการศึกษาจึงทำให้ทราบถึงความเหมือนและความแตกต่างที่เกิดขึ้นของสิ่งมีชีวิตที่เราศึกษาและมีความแม่นยำมากขึ้นในการระบุสายพันธุ์ ซึ่งในปัจจุบันวิธีทางชีวโมเลกุลได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่ละเอียด แต่ต้องหายีนหรือชิ้นดีเอ็นเอที่เราต้องการศึกษาก่อนซึ่งสามารถทำได้ดังนี้ คือ

2.3.3.1 เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้ระบุชนิดของแบคทีเรีย

ก่อนที่จะมีการมีการเพิ่มปริมาณยีนและระบุแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ จะต้องมีการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนใดส่วนหนึ่งของจีโนมก่อน เนื่องจากจีโนมของสิ่งมีชีวิตประกอบด้วยส่วนที่มีวิวัฒนาการด้วยอัตราที่ต่างกันมีผลทำให้ความสามารถในการแยกแตกต่างกัน การใช้อาร์เอ็นเอไรโบโซมหรือดีเอ็นเอไรโบโซมในการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ นิยมนำมาใช้ในการประเมินความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากทุกสิ่งมีชีวิตจะต้องมีไรโบโซมและมีจุดเริ่มต้นของวิวัฒนาการร่วมกัน สามารถผลิตไรโบโซมชนิดเดิมอยู่เสมอเพื่อความอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ไรโบโซมประกอบไปด้วยหลายหน่วยย่อยและมีหลายชุดในแต่ละเซลล์ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rRNA* แต่ละส่วนจะมีวิวัฒนาการมากและน้อยแตกต่างกันไป ถ้ามีวิวัฒนาการน้อยเรียกว่า บริเวณอนุรักษ์ (conserved region) ถ้ามีวิวัฒนาการมากเรียกว่าบริเวณผันแปร (variable region) สิ่งเหล่านี้สามารถใช้เป็นจุดอ้างอิงเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของบริเวณที่ผันแปรได้ การจำแนกสายพันธุ์ต่าง ๆ ของแบคทีเรียควรพิจารณาความเหมือนหรือความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งเป็นพื้นฐานของวิวัฒนาการเพื่อทำให้เกิดความน่าเชื่อถือมากขึ้น การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของอาร์เอ็นเอไรโบโซมหรือดีเอ็นเอไรโบโซมของแบคทีเรียนิยมใช้ยีน *16S rRNA* ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่สร้างไรโบโซมหน่วยย่อยที่มีขนาดเท่ากับ 16S พบได้เฉพาะในแบคทีเรียที่มีขนาดประมาณ 1500 คู่เบส ในการเพิ่มจำนวนยีน *16S rRNA* โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอพอลิเมอเรสหรือพีซีอาร์ (polymerase chain reaction, PCR) จากนั้นทำการออกแบบไพรเมอร์ที่เป็นเบสคู่สมกับยีน *16S rRNA* ทำให้ได้แถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นและเห็นได้ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟเรซิส (electrophoresis) และส่องด้วยเครื่อง UV transilluminator จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้จากการทำพีซีอาร์ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อไป

2.3.3.2 การตรวจสอบเพื่อระบุสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยยีน *16S rRNA*

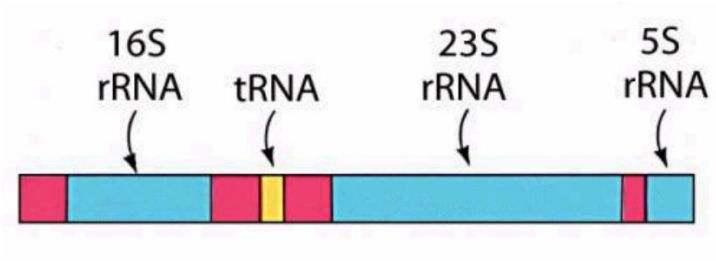
การตรวจสอบสายพันธุ์ของแบคทีเรียสามารถทำได้โดยการใช้โปรแกรมเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งโปรแกรมที่นิยมใช้ เช่น BLAST เพื่อนำข้อมูลของยีน *16S rRNA* เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียแลคติกที่ได้จากการทดลองกับฐานข้อมูลในคอมพิวเตอร์ จากนั้นคอมพิวเตอร์จะค้นหาสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใกล้เคียงกับฐานข้อมูล

มากที่สุดและแสดงรายชื่อของสายพันธุ์ของแบคทีเรียพร้อมกับค่าความเหมือนหรือค่าความเป็นได้มากที่สุดมาให้ซึ่งมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (% identify) ส่วนฐานข้อมูลที่นิยมใช้ เช่น ข้อมูล GenBank ขององค์กร National Center for Biotechnology Information (NCBI) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่เก็บรวบรวมข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ข้อมูลที่จัดเก็บมีทั้งที่เป็นรหัสพันธุกรรมของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอที่อยู่ในรูปของลำดับนิวคลีโอไทด์ และข้อมูลของลำดับกรดอะมิโนของยีนต่าง ๆ ซึ่งข้อมูลทั้งหมดถูกจัดเก็บอย่างเป็นระบบอยู่ในสื่ออิเล็กทรอนิกส์ เพื่อสะดวกต่อการค้นหาและการนำไปใช้งานมากขึ้น (ยงยุทธ และพินทิพ, 2544)

เมื่อมีข้อมูลของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ระบุสายพันธุ์ต่าง ๆ สามารถนำไปสร้างแผนความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกัน ซึ่งโปรแกรมที่นิยมใช้ เช่น MEGA เพื่อนำไปทำการแบ่งแยกและจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตโดยตัวโปรแกรมจะทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์ก่อน จากนั้นคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมรวมถึงการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มออกมา (ยงยุทธ และพินทิพ, 2544)

2.3.3.3 ยีน *16S ribosomal RNA*

ยีน *16S rRNA* กำหนดการสร้าง 16S rRNA ที่เป็นส่วนประกอบของไรโบโซมหน่วยย่อยขนาด 30S พบได้เฉพาะสิ่งมีชีวิตจำพวกโพรคารีโอต ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการแปลรหัส (translation) ของสิ่งมีชีวิต มีลำดับนิวคลีโอไทด์ประมาณ 1,500 คู่เบส เป็นยีนที่นิยมใช้สำหรับการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เนื่องจากมีอัตราการเปลี่ยนแปลงของวิวัฒนาการที่ต่ำจึงสามารถผลิตไรโบโซมแบบเดิมอยู่เสมอ ยีน *16S ribosomal RNA* อยู่บนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตจำพวกโพรคารีโอต โดยแต่ละยีนถูกคั่นด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ ที่ไม่ใช่ยีนที่เรียกว่าช่องว่าง (spacer) ไม่มีอินทรอน (intron) และถัดจากช่องว่างเป็นยีนสำหรับการสร้าง tRNA ยีน *23S ribosomal RNA* และ *5S ribosomal RNA* ตามลำดับ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของไรโบโซมหน่วยใหญ่ขนาด 50S พบเฉพาะสิ่งมีชีวิตจำพวกโพรคารีโอตเช่นกัน (กวี, 2547)



ภาพที่ 2.10 ตำแหน่งของยีนที่มีการสร้างไรโบโซมบนโครโมโซมของแบคทีเรีย (Dorroh, 2006)
โดย แถบสีแดง คือ ช่องว่าง
แถบสีฟ้า คือ ตำแหน่งของยีน
แถบสีเหลือง คือ ตำแหน่งที่มีการสร้าง tRNA

2.3.3.4 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) คือ การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต โดยใช้องค์ความรู้พื้นฐานทางด้านวิวัฒนาการมาเป็นตัวบ่งบอกความสัมพันธ์เหล่านั้น จากนั้นนำมาเสนอความสัมพันธ์ออกมาเป็นรูปแบบแผนภูมิซึ่งทำได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของงานวิจัย ส่วนใหญ่แผนภูมิที่เกิดขึ้นเกือบทุกรูปแบบจะมีลักษณะคล้ายต้นไม้ที่มีการแตกกิ่งแยกออกจากกันเพื่อบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ต่าง ๆ ที่เหมือนหรือแตกต่างกันกับสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ นอกจากจะบ่งบอกความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิต บางครั้งยังอาจพบสิ่งมีชีวิตใหม่ที่มีความแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตแบบดั้งเดิม จึงทำให้มีความหลากหลายทางชีวภาพมากยิ่งขึ้น (ประเวช, 2544)

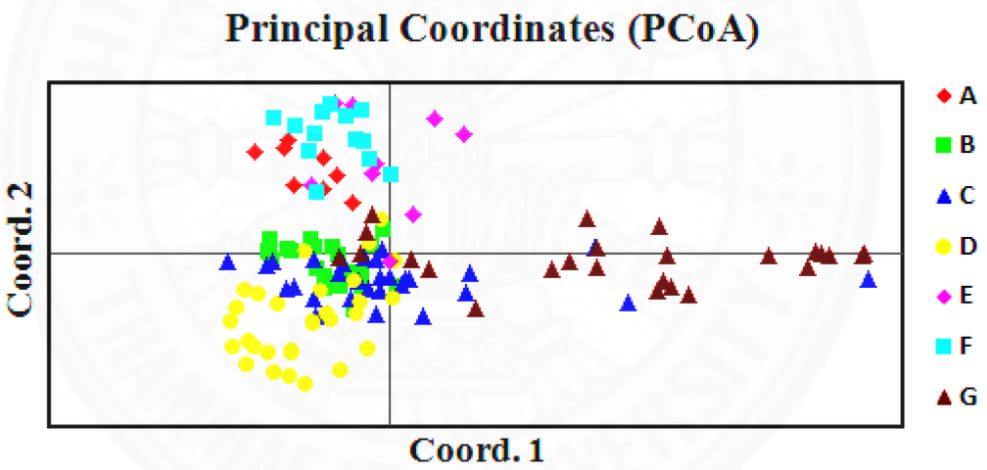
ในช่วงเริ่มแรกของการศึกษาแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้อาศัยข้อมูลจากสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตทำให้ได้รายละเอียดที่ไม่มากพอ แต่ต่อมาเมื่อมีการสร้างลำดับทางพันธุกรรมที่อยู่ในรูปของดีเอ็นเอ (DNA sequence) หรือโปรตีน (protein sequence) ด้วยเทคนิคต่าง ๆ ทำให้นักวิจัยเริ่มใช้ลำดับทางพันธุกรรมในการสร้างแผนภูมิ จึงเป็นที่มาของแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเพราะใช้ลำดับทางพันธุกรรมเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์

2.3.3.5 การวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม

การวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม (cluster analysis) คือ การวิเคราะห์เชิงสำรวจโดยนำข้อมูลจำนวนมากที่ได้จากการสำรวจ หรือ การทดลองต่าง ๆ มาทำการจัดหมวดหมู่กับสิ่งที่เราต้องการศึกษาอาจไม่ใช่สิ่งมีชีวิตอย่างเดียว แต่สามารถใช้ข้อมูลที่เป็นชื่อหรือตัวเลขมาจัดกลุ่มได้ เช่น อายุ องค์กร ตำแหน่ง และจัดให้เป็นกลุ่ม ๆ เพื่อให้ง่ายต่อการศึกษาโดยลักษณะที่เหมือนกัน

หรือคลายคลึงกัน (homogeneous) จะจัดให้อยู่กลุ่มเดียวกัน ซึ่งการจัดแบ่งกลุ่มนี้เป็นที่นิยมมาก และถูกนำไปใช้ในศาสตร์หลากหลายแขนงมากรวมถึงทางด้านชีวโมเลกุลที่นำเอาข้อมูลทางพันธุกรรมมาใช้ในการจัดแบ่งกลุ่มได้เช่นกัน (ดนัย, 2558)

ส่วนใหญ่การวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มของสิ่งมีชีวิตนิยมใช้ข้อมูลในรูปของเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ลำดับทางพันธุกรรม และดัชนีความเหมือน (distance matrix) เป็นต้น ซึ่งการวิเคราะห์สามารถทำได้โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่มีสูตรคำนวณทางสถิติเข้ามาช่วยคำนวณและจัดแบ่งกลุ่มให้อยู่ในรูปของกราฟที่สามารถทำได้ตั้งแต่ 2 มิติขึ้นไป และข้อมูลทุกอย่างจะอยู่ในรูปเป็นจุด (plot) กระจายอยู่บนกราฟที่เรานำเสนอ ซึ่งจุดแต่ละจุดจะกระจุกกันเป็นกลุ่มๆ จึงสามารถทราบว่าข้อมูลทั้งหมดอยู่กลุ่มไหนและมีกี่กลุ่มอย่างชัดเจน ส่วนโปรแกรมที่นิยมใช้สำหรับการวิเคราะห์มีอยู่หลายโปรแกรม ได้แก่ PCoA, NTsys และ GenAlEx เป็นต้น



ภาพที่ 2.11 กราฟจำลองของการจัดแบ่งกลุ่มของข้อมูลต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรม PCoA (Liu *et.al*, 2013)

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่างน้ำพริก

เก็บตัวอย่างน้ำพริก 5 ชนิด ที่วางขายที่ตลาดโต้รุ่งหมอสาโรจน์ ถนนสุขุมวิท ตำบลเนินพระ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง มาวิเคราะห์ตัวอย่าง ดังนี้ คือ น้ำพริกกะปิ (KP) น้ำพริกปลาร้า (PR) น้ำพริกหนุ่ม (NU) น้ำพริกกุ้งจ่อม (KJ) และน้ำพริกมะม่วง (MG) โดยชั่งตัวอย่างน้ำพริก 25 กรัม ใส่ลงในถุงซิบล็อกอเนกประสงค์ที่ผสมกับสารละลาย phosphate buffer solution (PBS) pH 7.0 225 มิลลิลิตร เป็นเนื้อเดียวกันจนได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-1} แล้วดูดเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลวมาเจือจางต่อที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-2} ถึง 10^{-4} ในแต่ละตัวอย่าง แล้วนำสารละลายตัวอย่างไปตรวจหาแบคทีเรียแลคติกต่อไป (Draft International Standard, 2014)

3.2 การคัดแยกแบคทีเรียแลคติก

ดูดตัวอย่างแต่ละระดับการเจือจางลงในอาหาร de Man Regosa Sharpe (MRS) agar ที่ผสมกับ 1 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียมคาร์บอนเนต ($CaCO_3$) เกลี่ยให้ทั่วด้วยแท่งแก้ว นำไปบ่มแบบไม่ใช้ออกซิเจนใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง แล้วคัดเลือกโคโลนีที่เกิดเป็นวงใส (clear zone) บนจานเพาะเชื้อมาตรวจวิเคราะห์เพื่อระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อไป (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548)

3.3 การตรวจสอบสายพันธุ์ของแบคทีเรียทางสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมี

3.3.1 การย้อมสีแกรม

การย้อมสีแกรมทำตามวิธีของ Han Christian Gram โดยนำโคโลนีของแบคทีเรียแตะลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นนำไปผ่านเปลวไฟอ่อน ๆ บนตะเกียงแอลกอฮอล์แล้วหยดสีย้อมตัวแรกด้วยคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) เสร็จแล้วล้างออกด้วยน้ำ ทิ้งไว้ให้แห้ง ต่อมาหยดสารละลายไอโอดีนลงบนแผ่นสไลด์แล้วล้างออกด้วยน้ำ จากนั้นชะล้างสีจากคริสตัลไวโอเลตส่วนเกินออกด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วล้างออกด้วยน้ำทิ้งไว้ให้แห้ง หยดสีตัวที่สองด้วยซาฟรานินโอ (safranin O) แล้วล้างออกด้วยน้ำทิ้งไว้ให้แห้ง สุดท้ายตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า โดยนำ Immersion oil มาหยดบนแผ่นสไลด์ก่อนส่องดู จากนั้นบันทึกผลและสังเกตลักษณะรูปร่างของเซลล์และโคโลนีที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวก (positive control) และตัว

ควบคุมลบ (negetive control) คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ตามลำดับ (นงลักษณ์ และปรีชา, 2550)

3.3.2 การทดสอบทางชีวเคมีโดยการหมักน้ำตาล

เริ่มจากนำห่วงถ่ายเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียใส่ลงในหลอดทดลองที่มีอาหาร phenol red carbohydrate broth โดยมีฟีนอลเรด (phenol red) เป็นสารอินดิเคเตอร์ผสมอยู่และน้ำตาล 10 ชนิด ที่แตกต่างกัน ได้แก่ sorbitol, cellobiose, thehalose, lactose, maltose, mannitol, xylose, rhamnose, raffinose และ arabinose เป็นต้น จากนั้นนำไปบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิ 30 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง และวิเคราะห์ผลโดยสังเกตการเปลี่ยนสีและฟองอากาศที่เกิดขึ้นจากหลอดดักก๊าซเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวกและลบ คือ *Klebsiella pseumoniae* TISTR 1383 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ตามลำดับ (Nielsen *et al.*, 2007)

3.3.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส

เริ่มจากนำห่วงถ่ายเชื้อแตะโคโลนีของแบคทีเรียมาวางบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด จากนั้นหยด 3 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แล้วสังเกตการสร้างฟองอากาศที่เกิดขึ้นแผ่นสไลด์ทันทีและบันทึกผลที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวกและลบ คือ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ตามลำดับ (Gelman *et al.*, 2001)

3.3.4 การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

เริ่มจากนำเข็มเขี่ยเชื้อ (needle) แตะโคโลนีของแบคทีเรียมาจิ้มลงบนอาหาร Motility medium ที่อยู่ในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมงในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จากนั้นสังเกตการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในอาหารและบันทึกผลที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวกและลบ คือ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Klebsiella pseumoniae* TISTR 1383 ตามลำดับ (Horn *et al*, 2002)

3.3.5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน

นำเข็มเขี่ยเชื้อ (needle) แตะโคโลนีของแบคทีเรียมาจิ้มลงบนอาหาร arginine dihydrolase broth ที่มีสีย้อมของโบรโมครีซอลเพอร์เพิล (Bromocresol purple) เป็นสารอินดิเคเตอร์ในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมงในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารที่เกิดขึ้นและบันทึกผลที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับตัวควบคุมบวกและลบ คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Klebsiella pseumoniae* TISTR 1383 ตามลำดับ (Williams *et al*, 1971)

3.4 การตรวจสอบสายพันธุ์ของแบคทีเรียด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

3.4.1 การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบใช้โคโลนี

งานวิจัยนี้จะเพิ่มปริมาณยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งคู่ไพรเมอร์ที่ใช้เป็นแบบสากลสำหรับแบคทีเรียโดยเฉพาะ (universal primer) ของบริษัท Sigma-Aldrich มีอยู่ 4 สาย ซึ่งมีชื่อของไพร์เมอร์ดังนี้ คือ F27 (forward primer ชิ้นที่ 1) F984 (forward primer ชิ้นที่ 2) F'984 (reverse primer ชิ้นที่ 1) และ R1492 (reverse primer ชิ้นที่ 2) ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ คือ 5´-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3´ (T_m = 65.1 องศาเซลเซียส) 5´- AACGCGAAGAACCTTAC-3´ (T_m = 55.2 องศาเซลเซียส) 5´-GTAAGGTTCTTCGCGTT-3´ (T_m = 55.2 องศาเซลเซียส) และ 5´-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3´ (T_m = 62.5 องศาเซลเซียส) ตามลำดับ (Heuer *et al*., 1997) โดยนำไม้จิ้มฟันปราศจากเชื้อเขี่ยโคโลนีที่อยู่บนจานเพาะเชื้อ 1 โคโลนี มาละลายเชื้อลงใน TE บัฟเฟอร์ 50 ไมโครลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำมาวัดค่า O.D. เพื่อเจือจางให้ตัวอย่างมีความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และดูดตัวอย่าง 1-2 ไมโครลิตร ผสมกับสารที่ใช้ทำพีซีอาร์ทั้งหมด ดังตารางที่ 3.1 และเติมเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase ของบริษัท RBC Bioscience ลงไปเป็นอันดับสุดท้ายในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร

ตารางที่ 3.1 สารเคมีและความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบใช้โคโลนี

สารเคมี	ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม
1. ddH_2O	-
2. 10X PCR buffer	1X
3. 2 mM dNTP	0.2 mM
4. 50 mM $MgCl_2$	1 mM
5. 100 µM primerF	5 µM
6. 100 µM primerR	5 µM
7. ตัวอย่างดีเอ็นเอ	-
8. 5U *Taq* polymerase	1 U

หลังจากนั้นนำสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง thermocycler โดยตั้งอุณหภูมิต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ ดังนี้ คือ (1) initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (2) denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (3) annealing ที่อุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (4) extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดย (2)-(4) ให้ทำซ้ำอีก 26 รอบ และ (5) Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส ไปแยกขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel) ที่มีความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเจลไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) 3-5 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำ และนำไปตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นได้ด้วยเครื่อง UV transilluminator จึงทำให้เห็นแถบดีเอ็นเอขึ้นบนเจลอะโรส ซึ่งมีขนาดประมาณ 1,000 คู่เบส (ของคู่ไพร์เมอร์ F27 และ F'984) และ 500 คู่เบส (ของคู่ไพร์เมอร์ F984 และ R1492) เสร็จแล้วนำผลผลิตที่ได้ส่งไปตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท SolGent และบริษัท Bioneer ประเทศเกาหลีใต้ หลังจากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาต่อและแก้ไขลำดับนิวคลีโอไทด์ให้ถูกต้องเพื่อให้ได้ยีน *16S rRNA* ที่สมบูรณ์เพื่อใช้สำหรับการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อไป (นฤมล และธีระชัย, 2553)

3.4.2 การประกอบและแก้ไขลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA*

หลังจากได้ข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์จากบริษัทเรียบร้อยแล้ว ตรวจสอบและแก้ไขลำดับนิวคลีโอไทด์ให้ถูกต้องตามกราฟโครมาโตแกรม (chromatogram) โดยใช้โปรแกรม Bioedit 7.2.5 (http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html) จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์สายหน้า (forward primer) และลำดับนิวคลีโอไทด์สายหลัง (reverse primer) มาต่อหรือประกอบให้เป็นสายเดียวกัน โดยงานวิจัยนี้นำลำดับนิวคลีโอไทด์สายหลังที่มีชื่อว่า F'984 และ R1492 มาทำการกลับสาย (reverse complement) ให้เป็นสายหน้า โดยใช้เว็บไซต์ (http://www.bioinformatics.org/sms/rev_comp.html) แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 สายที่ชื่อว่า F27, F'984, F984 และ R1492 ที่มีบริเวณที่ซ้อนทับกัน (overlap) มาต่อรวมกันทั้งหมดใน 1 ตัวอย่าง จนได้ลำดับนิวคลีโอไทด์สายที่สมบูรณ์ของ *16S rRNA* ออกมา จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไประบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อไป

3.4.3 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียเทียบกับฐานข้อมูล

เมื่อได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ที่สมบูรณ์แล้วทุกตัวอย่าง ให้นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้มาระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียด้วยโปรแกรม Blastn ในฐานข้อมูล GenBank (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของผู้วิจัยกับฐานข้อมูล จนทราบสกุล ชนิด

และสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีความเหมือนหรือใกล้เคียงกันมากที่สุดในฐานข้อมูล โดยรู้ได้จากเปอร์เซ็นต์ของความเหมือนในการจำแนกสายพันธุ์ (% Identities) จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างทั้งหมดมาทำการจัดเรียงตำแหน่งของลำดับเบสให้ถูกต้อง (multiple sequence alignment) โดยใช้โปรแกรม ClustalW ที่อยู่ในเว็บไซต์ (http://www.megasoftware.net/) เพื่อใช้สำหรับการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มต่อไป

3.4.4 การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

หลังจากจัดเรียงตำแหน่งของลำดับเบสเรียบร้อยแล้วจะนำข้อมูลทั้งหมดมาศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตโดยการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยโปรแกรม MEGA 6.06 (http://www.megasoftware.net/) โดยการเลือกวิธีการสร้างแบบจำลองแผนภูมิของ neighbor-joining และใช้สูตรการคำนวณแผนภูมิทางสถิติของ maximum composite likelihood ที่มีการตั้งค่าจำนวนรอบในการสร้างแผนภูมิที่เป็นไปได้มากที่สุดเท่ากับ 1,000 รอบ (bootstrap method) สังเกตและบันทึกแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้ออกมา

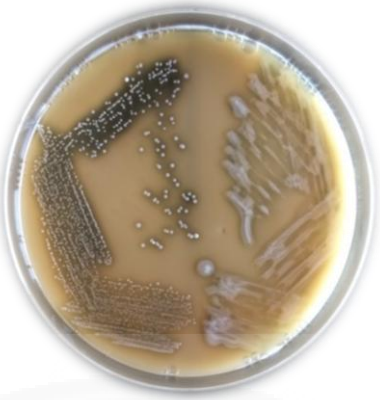
3.4.5 การสร้างกราฟสำหรับการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม

ข้อมูลของตัวอย่างทั้งหมดจะถูกนำมาทำการจัดแบ่งกลุ่มโดยใช้โปรแกรม NTsyspc-2.01e (http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html) ซึ่งข้อมูลที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมนี้ต้องอยู่ในรูปแบบเครื่องหมายโมเลกุล ซึ่งทำได้โดยนำข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของเครื่องหมายโมเลกุล ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel โดยข้อมูลที่นำมาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลจะเลือกเฉพาะตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันเพียง 2 นิวคลีโอไทด์ เนื่องจากเพียงพอสำหรับการจัดแบ่งกลุ่มในระดับชนิดและผลของกราฟที่แสดงออกจะอยู่ในรูปแบบที่ง่ายและไม่ซับซ้อน จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดเข้าสู่โปรแกรม NTsyspc-2.01e แล้วคำนวณทางสถิติเพื่อวิเคราะห์หาค่าทั่วไป (general) ค่าความคล้ายคลึงกัน (similarity) และค่าการจัดลำดับตัวอย่าง (ordination) ออกมา หลังจากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาแสดงผลอยู่ในรูปของกราฟการกระจายแบบ 2 มิติ (XY scatter) ผ่านโปรแกรม Microsoft Excel สังเกตกราฟและบันทึกผลที่ได้ออกมา

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การคัดกรองแลคติกจากน้ำพริก 5 ชนิด

ผลการวิจัยพบว่าสามารถคัดกรองแบคทีเรียจากน้ำพริก 5 ชนิด ได้ทั้งหมด 29 ไอโซเลต คือ น้ำพริกปลาร้า 13 ไอโซเลต ได้แก่ PR01, PR02, PR03, PR04, PR05, PR06, PR07, PR08, PR09, PR10, PR11, PR13 และ PR14 น้ำพริกหนุ่ม 5 ไอโซเลต ได้แก่ NU01, NU02, NU03, NU04 และ NU05 น้ำพริกกุ้งจ่อม 5 ไอโซเลต ได้แก่ KJ01, KJ02, KJ03, KJ04 และ KJ05 น้ำพริกกะปิ 3 ไอโซเลต ได้แก่ KP01, KP02 และ KP04 น้ำพริกมะม่วง 3 ไอโซเลต ได้แก่ MG01, MG02 และ MG03 โดยทั้ง 29 ไอโซเลตน่าจะเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกเนื่องจากมีการสร้างวงใส (clear zone) เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง MRS ส่วนกรดแลคติกที่แบคทีเรียสร้างขึ้นนั้นเมื่อทำปฏิกิริยากับ $CaCO_3$ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุพันธ์เชิงซ้อนของ $Ca(C_3H_6O_3)_2$ น้ำและคาร์บอนไดออกไซต์เกิดขึ้น (Moorehead & Shumway, 2008) ซึ่งสารเชิงซ้อน $Ca(C_3H_6O_3)_2$ ทำให้เกิดวงใสบนอาหารแข็ง ดังภาพที่ 4.1 ลักษณะวงใสที่เกิดขึ้นสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับการคัดเลือกเพื่อนำไปทดสอบด้วยวิธีอื่น ๆ และใช้ข้อพิสูจน์ว่าเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกจริงหรือไม่ต่อไปได้ นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกทุกตัวสามารถสร้างกรดแลคติกได้แล้ว บางสายพันธุ์ยังสามารถสร้างแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ได้ซึ่งเป็นโปรตีนหรือเพปไทด์ที่ถูกสร้างขึ้นจากไรโบโซมที่ช่วยส่งเสริมการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อโรคและอาหารเน่าเสียและมีฤทธิ์ยับยั้งคล้ายกับยาปฏิชีวนะ (อรอนงค์, 2550) โดยการไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียอื่น ๆ โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคและอาหารเน่าเสีย (Jack *et.al*, 1995) สายพันธุ์ที่สามารถสังเคราะห์ได้ เช่น *Lactococcus lactis* พบได้ในนมที่ไม่มีไขมัน (Choi *et al.*, 2000) *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici* (Papagianni & Anastasiadou, 2009) พบได้ในผักและเนื้อสัตว์ที่ผ่านกระบวนการหมัก โดยส่วนใหญ่แล้วจะสังเคราะห์ออกมาพร้อมกับกรดแลคติก และแบคทีเรียที่สามารถถูกยับยั้งได้ เช่น *Listeria monocytogenes* (Pucci, 1988) *Clostridium botulinum* (Okereke & Montville, 1991) *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* (Noonpakdee *et al.*, 2009) โดยการเข้าไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์และทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (cervical cancer) และลำไส้ใหญ่ (colon cancer) ได้ด้วย (Shukla & Goyal, 2013)



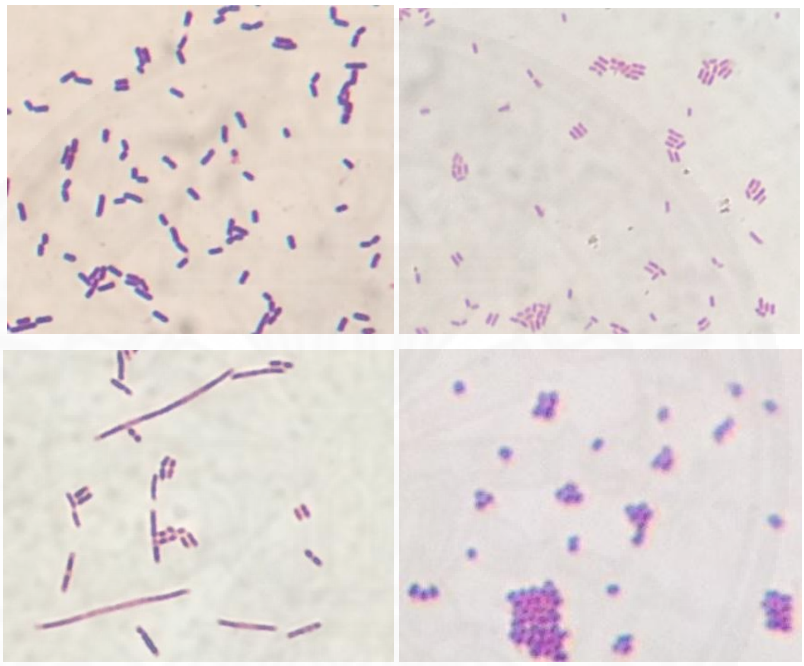
ภาพที่ 4.1 ลักษณะวงใสรอบโคโลนีของแบคทีเรียแลคติก 2 ไอโซเลต คือ PR05 (ซ้าย) และ PR06 (ขวา)

4.2 การระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมี

4.2.1 การย้อมสีแกรม

เมื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานด้วยวิธีย้อมแกรมจะใช้วิธีการทดสอบตามมาตรฐานของ Bergey's manual (Breed *et al.*, 1957) เพื่อเปรียบเทียบและระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้น พบว่ามีแบคทีเรียบางไอโซเลตที่สามารถย้อมติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีทั้งลักษณะเป็นรูปท่อน (rod) และทรงกลม (coccus) ที่แตกต่างกันไป จึงทำให้ผลไอโซเลตที่กล่าวมาสามารถคาดเดาได้ว่าไอโซเลตเหล่านั้นเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกมีสกุลต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ คือ *Lactobacillus* spp. เช่น PR11 *Weisella* spp. เช่น KP04 และ *Leuconostoc* spp. เช่น NU01 ดังภาพที่ 4.2 เนื่องจาก 3 สกุลนี้หลายสายพันธุ์มีลักษณะเป็นรูปท่อน ยกเว้น *Leuconostoc* ที่มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมต่อกันอย่างน้อย 2 เซลล์ แต่มีบางไอโซเลตที่ย้อมติดสีแดงของซาฟลานินโอ (Safranin O) จึงคาดเดาว่าไม่ใช่แบคทีเรียกรดแลคติก เช่น NU04 ที่มีลักษณะของเซลล์เป็นรูปท่อน โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียแลคติกสามารถพบได้ในอาหารหลายชนิดที่เกิดจากการหมักเช่น ปลาร้าพบ *Lactobacillus acidipiscis* (Tanasupawat *et al*., 2000) ปลาส้มพบ *Lactobacillus plantarum* (Hwanhlem *et al.*, 2011) และคิมฉิพบ *Weisella confusa* (Cho *et al.*, 2009) หรืออาหารสดที่เก็บไว้เป็นเวลานาน เช่น Chilli bo (Leisner *et al.*, 1999) ซึ่งเป็นเครื่องปรุงที่มีพริกเป็นส่วนประกอบของประเทศมาเลเซียที่ผ่านการเก็บด้วยการแช่เย็นเป็นเวลา 25 วันแล้วทำการคัดแยกแบคทีเรียแลคติกโดยใช้อาหาร MRS agar และวิเคราะห์สายพันธุ์ของแบคทีเรียด้วยยีน *16S rRNA* ได้ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus animalis*, *Weissella*

paramesenteroides และ *Weissella viridescens* เป็นต้น นอกจากนี้บางงานวิจัยยังพบแบคทีเรียรูปทรงกลม (coccus) ในอาหารอื่น ๆ เช่น *Pediococcus pentosaceus* ที่สามารถพบได้ใน นม (Tserovska *et al.*, 2002) คิมฉิ (Jang *et al.*, 2014) และ ไส้กรอก (Nie *et al.*, 2014) เป็นต้น ซึ่งสามารถสังเกตได้จากการย้อมแกรมและส่องกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่มีกำลังขยาย 1000 เท่าเช่นกัน (Cal *et al.*, 1999)

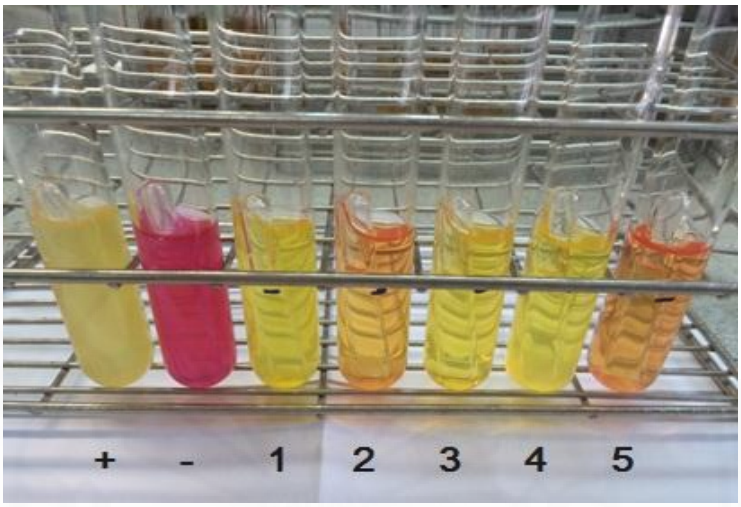


ภาพที่ 4.2 รูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต เมื่อย้อมด้วยสีแกรมและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 1000 เท่า โดยแต่ละไอโซเลตมีรายชื่อดังไปนี้ คือ KP04 ชนิดแกรมบวก (ซ้ายบน) NU04 ชนิดแกรมลบ (ขวาบน) PR11 ชนิดแกรมบวก (ซ้ายล่าง) NU01 ชนิดแกรมบวก (ขวาล่าง)

4.2.2 การทดสอบการหมักของน้ำตาล

การทดสอบทางชีวเคมีโดยการหมักน้ำตาลชนิดต่าง ๆ 10 ชนิด พบว่าแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้จึงทำให้อาหาร phenol red carbohydrate broth มี pH ลดลง ทำให้ phenol red เปลี่ยนสีของอาหารจากสีแดงเป็นสีเหลือง โดยไอโซเลตที่มีการสร้างกรดมากจะทำให้มีสีเหลืองเข้มมากขึ้นจึงให้ผลเป็นบวก ส่วนบางไอโซเลตที่ไม่มีการเปลี่ยนสีหรือยังคงเป็นสีแดงอยู่แสดง

ว่า pH ของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงไปจึงให้ผลเป็นลบ ส่วนสีส้มอาจเกิดจากความเคลื่อนของการทดลองเนื่องจากโคโลนีที่นำมาลงในอาหาร phenol red carbohydrate broth ยังมีกรดแลคติกที่สร้างมาตั้งแต่เลี้ยงบนอาหารแข็ง MRS จึงทำให้ pH ของอาหารเปลี่ยนสีไปเล็กน้อย แต่สรุปให้มีผลเป็นลบเช่นกัน ดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนสีของอาหาร phenol red carbohydrate broth ที่ใส่น้ำแลคโตส (lactose) โดย *Klebsiella pneumonia* (positive control) ให้ผลบวก (+)
Pseudomonas aeruginosa (negative control) ให้ผลลบ (-)
1-5 คือ ตัวอย่าง PR07 PR08 NU01 KP04 และ KJ01 ตามลำดับ

ส่วนผลจากการหมักน้ำตาลของตัวอย่างทั้งหมด 29 ไอโซเลต พบว่าบางไอโซเลตไม่สามารถเปลี่ยนสีของอาหารได้เลยจากน้ำตาลทั้ง 10 ชนิด ซึ่งมีทั้งหมด 5 โซเลต ได้แก่ KJ01, KP02, MG01, MG02 และ MG03 จึงคาดเดาว่าไม่ใช่แบคทีเรียกรดแลคติก แต่อาจเป็นแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เช่น *Pseudomonas* spp. เนื่องจาก *Pseudomonas* เกือบทุกชนิดไม่สามารถหมักน้ำตาลชนิดไหนได้เลย จึงทำให้มีผลเป็นลบทั้งหมด ดังตารางที่ 4.1 นอกจากนี้ทุกไอโซเลตไม่มีการสร้างก๊าซในหลอดดักก๊าซเกิดขึ้น แต่มีบางสายพันธุ์ที่สามารถสร้างก๊าซได้ เช่น *Lactobacillus brevis* ที่พบได้ในผลิตภัณฑ์ประเภทนม (Nikita & Hemangi, 2012) ซึ่งผลการหมักน้ำตาลแสดงไว้ในตารางที่ 4.1-4.3 นอกจากนี้แบคทีเรียทรงกลมจำพวก *Pediococcus* sp. ได้ผลที่แตกต่างกันจากแบคทีเรียรูปท่อนเช่นกัน (Cal *et al.*, 1999)

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีด้วยวิธีการหมักน้ำตาล 10 ชนิด ทั้งหมด 13 ไอโซเลต ของน้ำพริกปลาร้า

ไอโซเลต	ชนิดของน้ำตาล									
	Sorbitol	Cellobiose	Thehalose	Lactose	Maltose	Mannitol	Xylose	Rhamnose	Raffinose	Arabinose
PR01	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
PR02	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-
PR03	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
PR04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PR05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PR06	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
PR07	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
PR08	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
PR09	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
PR10	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
PR11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PR13	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
PR14	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+

โดย + คือ สามารถสร้างกรดและเปลี่ยนสีของอาหารจากแดงเป็นเหลือง

– คือ ไม่สามารถสร้างกรดและอาหารเป็นสีแดงเหมือนเดิม

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีด้วยวิธีการหมักน้ำตาล 10 ชนิด ทั้งหมด 13 ไอโซเลต ของน้ำพริกปลาร้า น้ำพริกหนุ่ม และน้ำพริกกุ้งจ่อม

ไอโซเลต	ชนิดของน้ำตาล									
	Sorbitol	Cellobiose	Thehalose	Lactose	Maltose	Mannitol	Xylose	Rhamnose	Raffinose	Arabinose
NU01	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-
NU02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NU03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NU04	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
NU05	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
KJ01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KJ02	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
KJ03	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
KJ04	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
KJ05	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
KP01	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
KP02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KP04	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

โดย + คือ สามารถสร้างกรดและเปลี่ยนสีของอาหารจากแดงเป็นเหลือง

– คือ ไม่สามารถสร้างกรดและอาหารเป็นสีแดงเหมือนเดิม

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีด้วยวิธีการหมักน้ำตาล 10 ชนิด ทั้งหมด 3 ไอโซเลต ของน้ำพริกมะม่วง

ไอโซเลต	**ชนิดของน้ำตาล**									
	Sorbitol	Cellobiose	Thehalose	Lactose	Maltose	Mannitol	Xylose	Rhamnose	Raffinose	Arabinose
MG01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MG02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MG03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

โดย + คือ สามารถสร้างกรดและเปลี่ยนสีของอาหารจากแดงเป็นเหลือง

– คือ ไม่สามารถสร้างกรดและอาหารเป็นสีแดงเหมือนเดิม

4.2.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส

การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลสของแบคทีเรียพบว่าทุกสายพันธุ์ที่ไม่มีเอนไซม์แคตาเลสจะไม่มีฟองอากาศเกิดขึ้นบนแผ่นสไลด์จึงมีผลเป็นลบ ส่วนแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสได้จะสามารถสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซต์ให้กลายเป็นก๊าซออกซิเจนกับน้ำได้ แต่มีสกุล *Lactobacillus* sp., *Leuconostocs* sp., *Streptococcus* sp. และ *Pediococcus* sp. บางสายพันธุ์สามารถเกิดฟองอากาศได้เล็กน้อยเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของแมงกานีสไดออกไซต์ (MDO) และ blood o-dianisidine (HBD) ที่มีการให้ความร้อนและบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนั้นผู้วิจัยได้กล่าวไว้ว่าอาจไม่ใช่เอนไซม์แคตาเลส แต่ทำหน้าที่คล้ายกับเอนไซม์แคตาเลส (catalase-like) จึงให้ผลเป็นบวกเกิดขึ้น (Whittenbury, 1964)

4.2.4 การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียพบว่าทุกสายพันธุ์ไม่มีการสร้าง ไรซอยด์ (rhizoid) จึงไม่สามารถเจริญเติบโตทั่วทั้งหลอดอาหาร แต่จะเจริญเติบโตเฉพาะบริเวณที่มีการจิ้มตัวอย่างของแบคทีเรียลงไปเท่านั้น จึงสรุปได้ว่าทุกสายพันธุ์คาดว่าเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก ยกเว้นสกุล *Sporolactobacillus* sp. ที่สามารถสร้าง rhizoid ได้เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร Motility medium (Sharma, 1992)

4.2.5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน

การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮเลสพบว่าถ้าเกิดการสร้างกรดจะทำให้ pH ของอาหารมีค่าต่ำลงและอาหารจะเปลี่ยนสีของโบร-โมครีซอลเพอร์เพิล จากสีม่วงเป็นสีเหลืองในวันที่ 1 แสดงว่ามีการสร้างกรดเกิดขึ้น ทำให้ pH ของอาหารต่ำลง และต่อมาจะเปลี่ยนสีกลับมาเป็นสีม่วงเหมือนเดิมในวันที่ 2 แสดงว่ามีการสร้างแอมโมเนียมของแบคทีเรียเกิดขึ้นทำให้ pH ของอาหารสูงขึ้นจึงมีผลเป็นบวก แต่กรณีของแบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่มีผลเป็นลบเนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนสีหรือเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอย่างเดียวและไม่กลับมาเป็นสีม่วง แต่มีงานวิจัยหนึ่งได้ทำการทดสอบพบว่าสายพันธุ์ *Lactobacillus brevis* และ *Streptococcus thermophilus* ในผลิตภัณฑ์จากนมที่ให้ผลเป็นบวกเกิดขึ้น (Lee *et al*., 1986)

ดังนั้นลักษณะสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมีนี้ยังไม่สามารถระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียได้อย่างชัดอย่างชัดเจน เนื่องจากมีหลายงานวิจัยที่มีผลการทดลองค่อนข้างหลากหลายและไม่มีรูปแบบที่ตายตัว ส่งผลให้การระบุสายพันธุ์ต้องอาศัยการคาดเดาเป็นหลัก จึงจำเป็นต้องใช้วิธีทางชีวโมเลกุลโดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* เพื่อระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกต่อไป

4.3 การระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีชีวโมเลกุล

4.3.1 จำนวนสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่ระบุได้

ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างทั้งหมด 29 ไอโซเลต ที่ได้จากการใช้โปรแกรม Blastn ในการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกกับฐานข้อมูล Genbank ของ NCBI พบว่ามี 14 ไอโซเลตเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก พบได้ในน้ำพริก 4 ชนิด ยกเว้น น้ำพริกมะม่วง (MG) ที่ไม่พบแบคทีเรียกรดแลคติก และสามารถแบ่งได้ทั้งหมด 3 สกุล 6 ชนิด และ 10 สายพันธุ์ ดังตารางที่ 4.4 ซึ่งส่วนใหญ่ค่าที่เปรียบเทียบความเหมือนในการจำแนกสายพันธุ์ได้จะอยู่ในช่วงประมาณ 96-100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งโอกาสสูงที่จะมีความน่าเชื่อถือและถูกต้อง ส่วน 15 ไอโซเลตที่เหลือ คือ *Pseudomonas spp*. ทั้งหมด สามารถแบ่งได้ทั้งหมด 3 ชนิด และ 6 สายพันธุ์

ตารางที่ 4.4 ผลที่ได้จากการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล

สกุล (genus)	ชนิด (species)	สายพันธุ์ (strain)	ไอโซเลต (isolate)
Lactobacillus	*plantarum*	JBE 245	KP01
	farciminis	DSM 20185	KJ02 KJ03 KJ05 และ PR14
		Y124D	KJ04
		NBRC 107150	PR13
	sakei	NRIC 0125	PR02
		23k	PR07 และ PR11
	acidipiscis	LZLJ18-1	PR09
		Ni 1465	PR10
Weissella	*viridescens*	JCM 1174	KP04
Leuconostoc	*galicum*	IMAUFB 093	NU01

4.3.2 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียแลคติกที่ระบุได้ด้วยยีน *16S rRNA*

เมื่อนำมาจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด 14 ไอโซเลต ที่มีขนาดของลำดับนิวคลีโอไทด์ประมาณ 1,500 คู่เบส เพื่อดูตำแหน่งของที่มีการเกิดกลาย (mutation) สามารถจัดเรียงได้ ดังนี้

```
CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

                    ไพร์เมอร์ส่วนหน้า (Forward primer)

KJ02                AGAGTTTGATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
PR13                AGAGTTTGATCATGGCTCAG-ACGAACGTTT-TGGCGCATCCTATACATGCA-GTCGAAC
KJ03                AGAGTTTGATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
KJ05                AGAGTTTGATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
PR14                AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
KJ04                AGAGTTTGATCATGGCTCAG-ACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
KP01                AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
PR07                AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
PR11                AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
PR02                AGAGTTTGATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
PR09                AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
```

```
PR10        AGAGTTTGATCATGGCTCAGGACGAACGTTGGAGGGGTGTCTAATACATGCAAGTCGAAC
KP04        AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
NU01        AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
            *********** ******** * ***** *   **     *  ********* *******

KJ02        GAACCATCCT---GAAGATTGAAG---CTTGCTT---CA---TGATTCAGACCTTGGTGA
PR13        GAACCATCCT---GAAGATTGAAG---CTTGCTT---CA---TGATTCAGACCTTGGTGA
KJ03        GAACCATCCT---GAAGATTGAAG---CTTGCTT---CA---TGATTCAGACCTTGGTGA
KJ05        GAACCATCCT---GAAGATTGAAG---CTTGCTT---CA---TGATTCAGACCTTGGTGA
PR14        GAACCATCCT---GAAGATTGAAG---CTTGCTT---CA---TGATTCAGACCTTGGTGA
KJ04        GAACCATCCT---GAAGATTGAAG---CTTGCTT---CA---TGATTCAGACTTTGGTGA
KP01        GAACTCTGGT---ATTGATTGGTG---CTTGCAT---CA---TGATTTACATTTGAGTGA
PR07        GCACTCTCGT---TTAGATTGAAGGAGCTTGCTC---CTGATTGATAAACATTTGAGTGA
PR11        GCACTCTCGT---TTAGATTGAAGGAGCTTGCTC---CTGATTGATAAACATTTGAGTGA
PR02        GCACTCTCGT---TTAGATTGAAGGAGCTTGCTC---CTGATTGATAAACATTTGAGTGA
PR09        GCAATCTTTG---ACCAATGAGTG---CTTGCAC---TC-AGCGGTCAAAGT----GCGA
PR10        GCAATCTTTG---ACTAATGAGTG---CTTGCAC---TC-AGCGGTCAAAGT----GCGA
KP04        GCTTTGTGGTCCAACTGATTTGAAGAGCTTGCTCAGATATGACGATGGACATTGCAAAGA
NU01        GCGC---------AGCGAAAGGTG---CTTGCAC---CT------TTCAA------GCGA
            *             *          *****           *  *         **

KJ02        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
PR13        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
KJ03        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
KJ05        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
PR14        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
KJ04        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
KP01        GTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGA
PR07        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
PR11        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
PR02        GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTAAAGTGGGGGATAACATTTGGA
PR09        GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACACTTGGA
PR10        GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCAAAAGTGGGGGATAACACTTGGA
KP04        GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTACCTCTTAGCAGGGGATAACACTTGGA
NU01        GTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGATAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGA
            ****** ** ***************  ** ** **     *  **********  ****

KJ02        AACAAGTGCTAATACCGCATAACAACTACTTTCACATGATCGTAGCTTGAAAGATGGCTC
PR13        AACAAGTGCTAATACCGCATAACAACTACTTTCACATGATCGTAGCTTGAAAGATGGCTC
KJ03        AACAAGTGCTAATACCGCATAACAACTACTTTCACATGATCGTAGCTTGAAAGATGGCTC
KJ05        AACAAGTGCTAATACCGCATAACAACTACTTTCACATGATCGTAGCTTGAAAGATGGCTC
PR14        AACAAGTGCTAATACCGCATAACAACTACTTTCACATGATCGTAGCTTGAAAGATGGCTC
KJ04        AACAAGTGCTAATACCGCATAACAACTACTTTCACATGATCGTAGCTTGAAAGATGGCTC
KP01        AACAGATGCTAATACCGCATAACAACTTGGACCGCATGGTCCGAGCTTGAAAGATGGCTT
PR07        AACAGATGCTAATACCGCATAAAACCTAACACCGCATGGTGTAGGGTTGAAAGATGGTTT
PR11        AACAGATGCTAATACCGCATAAAACCTAACACCGCATGGTGTAGGGTTGAAAGATGGTTT
PR02        AACAGATGCTAATACCGCATAAAACCTAACACCGCATGGTGTAGGGTTGAAAGATGGTTT
PR09        AACAGGTGCTAATACCGCATCAACCGGCTGACCGCATGGTCGGCCGGGCAAAGACGGCGT
PR10        AACAGGTGCTAATACCGCATCAACCGGCTGACCGCATGGTCGGCCGGGCAAAGACGGCGT
KP04        AACAAGTGCTAATACCGTATAACACTAATAACCGCATGGTTATTAGTTAAAAGATGGTCT
NU01        AACAGATGCTAATACCGAATAAAACTTAGTATCGCATGATACAAAGTTGAAAGGCGCTAC
            ****  *********** ** *          * **** *         ****  *

KJ02        TG-CTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATAGCTCAC
PR13        TG-CTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATAGCTCAC
KJ03        TG-CTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATAGCTCAC
KJ05        TG-CTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATAGCTCAC
PR14        TG-CTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATAGCTCAC
KJ04        TG-CTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATAGCTCAC
KP01        CGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCAC
PR07        CGGCTATCACTTTAGGATGGACCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCAC
PR11        CGGCTATCACTTTAGGATGGACCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCAC
PR02        CGGCTATCACTTTAGGATGGACCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCAC
```

```
PR09        CAGCTGTCGCTTTTGGATGAGCCCGCGGCGTATTAACTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTAC
PR10        CAGCTGTCGCTTTTGGATGAGCCCGCGGCGTATTAACTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTAC
KP04        TG-CTATCACTAAGAGATGGTCCCGCGGTGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAATGGCTTAC
NU01        GG--CGTCACCTAGAGATGGGTCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTAC
                  ** *     ****   ****** * ****  *** ****  *****  **  **

KJ02        CAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
PR13        CAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
KJ03        CAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
KJ05        CAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
PR14        CAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
KJ04        CAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
KP01        CATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
PR07        CAAGACCGTGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACACTGGGACTGAGACACG
PR11        CAAGACCGTGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACACTGGGACTGAGACACG
PR02        CAAGACCGTGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACACTGGGACTGAGACACG
PR09        CAAGGTGATGATACGTAGCCGAACTGAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
PR10        CAAGGTGATGATACGTAGCCGAACTGAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
KP04        CAAGGCAATGATACATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACG
NU01        CAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
            ** *    **** * *******  ******  * ********** ***************

KJ02        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
PR13        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
KJ03        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
KJ05        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
PR14        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
KJ04        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
KP01        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATG
PR07        GCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATATTCCACAATGGACGAAAGTCTGATG
PR11        GCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATG
PR02        GCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATG
PR09        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATG
PR10        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATG
KP04        GCCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATG
NU01        GCCCAAACTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATG
            ***** *************** ************ *********** ** *** ******

KJ02        GAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGAAGAAGA
PR13        GAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGAAGAAGA
KJ03        GAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGAAGAAGA
KJ05        GAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGAAGAAGA
PR14        GAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGAAGAAGA
KJ04        GAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGAAGAAGA
KP01        GAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTTGTAAAGAAGA
PR07        GAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGA
PR11        GAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGA
PR02        GAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGA
PR09        GAGCAACGCCGCGTGTATGAAGAAGGTCTTCGGATCGTAAAATACTGTTGTCAGAGAAGA
PR10        GAGCAACGCCGCGTGTATGAAGAAGGTCTTCGGATCGTAAAATACTGTTGTCAGAGAAGA
KP04        GAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACACTGTTGTAAGAGAAGA
NU01        GAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTAGGGTCGTAAAGCACTGTTGTATGGGAAGA
            ****** ********  *** *****  ** ** *******   *****      *****

KJ02        ACATGCGTGAGAGTAACTGTTCACGTACTGACGGTATTCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
PR13        ACATGCGTGAGAGTAACTGTTCACGTACTGACGGTATTCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
KJ03        ACATGCGTGAGAGTAACTGTTCACGTACTGACGGTATTCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
KJ05        ACATGCGTGAGAGTAACTGTTCACGTACTGACGGTATTCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
PR14        ACATGCGTGAGAGTAACTGTTCACGTACTGACGGTATTCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
KJ04        ACATGCGTGAGAGTAACTGTTCACGTACTGACGGTATTCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
KP01        ACATATCTGAGAGTAACTGTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
PR07        ATGTATCTGATAGTAACTGATCAGGTAGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
PR11        ATGTATCTGATAGTAACTGATCAGGTAGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
PR02        ATGTATCTGATAGTAACTGATCAGGTAGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
```

```
PR09        ACACGTGATAGAGTAACTGTTATGGCGCTGACGGTATCTGACCAGCAAGTCACGGCTAAC
PR10        ACACGTGATAGAGTAACTGCTATGGCGCTGACGGTATCTGACCAGCAAGTCACGGCTAAC
KP04        ATGACATTGAGAGTAACTGTTCAGTGTGTGACGGTATCTTACCAGAAAGGAACGGCTAAA
NU01        AATGCTAGAATAGGGAATGATTCTAGTTCGACGGTACCATACCAGAAAGGGACGGCTAAA
            *        * **  * ** *        *******    ***** ***  ********

KJ02        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR13        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
KJ03        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
KJ05        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR14        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
KJ04        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
KP01        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR07        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR11        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR02        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR09        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
PR10        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
KP04        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTATGTTCCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGT
NU01        TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGT
            *************************** **   * ****** *****************

KJ02        AAAGAGAATGTAGGCGGTTTATTAAGTTTGAAGTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAG
PR13        AAAGAGAATGTAGGCGGTTTATTAAGTTTGAAGTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAG
KJ03        AAAGAGAATGTAGGCGGTTTATTAAGTTTGAAGTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAG
KJ05        AAAGAGAATGTAGGCGGTTTATTAAGTTTGAAGTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAG
PR14        AAAGAGAATGTAGGCGGTTTAT-AAGTTTGAAGTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAG
KJ04        AAAGAGAATGTAGGCGGTTTATTAAGTTTGAAGTGAAAGCCCTCGGCTCAACCGAGGAAG
KP01        AAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAG
PR07        AAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAG
PR11        AAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAG
PR02        AAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAG
PR09        AAAGGGAACGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAG
PR10        AAAGGGAACGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAG
KP04        AAAGCGAGCGCAGACGGTTATTTAAGTCCGAAGTGAAAGCCCACAGCTTAACTGTGGAAG
NU01        AAAGCGAGCGCAGACGGTTGATTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAAT
            **** **  * ** ****   * ****  ** ********    *** ***    ***

KJ02        TGCTTCGAAAACTGGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR13        TGCTTCGAAAACTGGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
KJ03        TGCTTCGAAAACTGGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
KJ05        TGCTTCGAAAACTGGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR14        TGCTTCGAAAACTGGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
KJ04        TGCTTCGAAAACTGGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
KP01        TGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR07        TGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR11        TGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR02        TGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR09        TGCATTGGAAACTGGAAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
PR10        TGCATTGGAAACTGGAAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
KP04        TGCTTTGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGTAGAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
NU01        GGCATTGGAAACTGGTTAACTTGAGTGTTGTAGAGGTAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGG
             ** * * *******   *********  * *****  **********************

KJ02        TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAACT
PR13        TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAACT
KJ03        TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAACT
KJ05        TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAACT
PR14        TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAACT
KJ04        TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGTCTGTAACT
KP01        TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACT
PR07        TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACT
PR11        TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACT
PR02        TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACT
```

```
PR09            TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAAGCGGCTCTCTGGTCTGTAACT
PR10            TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAAGCGGCTCTCTGGTCTGTAACT
KP04            TGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGACTGTAACT
NU01            TGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACAACAACT
                ** ********************************** ******  **** *   ****

KJ02            GACGCTGAGATTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
PR13            GACGCTGAGATTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
KJ03            GACGCTGAGATTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
KJ05            GACGCTGAGATTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
PR14            GACGCTGAGATTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
KJ04            GACGCTGAGATTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
KP01            GACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACC
PR07            GACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
PR11            GACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
PR02            GACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCC
PR09            GACGCTGAGGTTCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCT
PR10            GACGCTGAGGTTCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCT
KP04            GACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACC
NU01            GACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACC
                **** ****  *******  **** *** ***************************  *

KJ02            GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
PR13            GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
KJ03            GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
KJ05            GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
PR14            GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
KJ04            GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
KP01            GTAAACGATGAATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
PR07            GTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCAT
PR11            GTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCAT
PR02            GTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCAT
PR09            GTAAACGATGAATGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCGGTGCCGCAGCTAACGCAC
PR10            GTAAACGATGAATGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCGGTGCCGCAGCTAACGCAC
KP04            GTAAACGATGAGTGCTAGATGTTTGAGGGTTTCCGCCCTTAAGTGTCGCAGCTAACGCAT
NU01            GTAAACGATGAATACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCAT
                *********** * ***  **** *  **********  *  ***  * **********

KJ02            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR13            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
KJ03            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
KJ05            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR14            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
KJ04            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
KP01            TAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR07            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR11            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR02            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR09            TAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
PR10            TAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
KP04            TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGAC
NU01            TAAGTATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGAC
                **** * *****************  ******  ************************ *

KJ02            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
PR13            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
KJ03            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
KJ05            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
PR14            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
KJ04            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
KP01            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
PR07            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
PR11            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
PR02            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
```

```
PR09            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
PR10            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
KP04            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
NU01            CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
                ************************************ *********************

KJ02            TTGACATACCATGACAAACTAAGAGAT-TAGTCTTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
PR13            TTGACATACCATGACAAACTAAGAGAT-TAGTCTTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
KJ03            TTGACATACCATGACAAACTAAGAGAT-TAGTCTTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
KJ05            TTGACATACCATGACAAACTAAGAGAT-TAGTCTTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
PR14            TTGACATACCATGACAAACTAAGAGAT-TAGTCTTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
KJ04            TTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGAT-TAGTCTTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
KP01            TTGACATACTATGCAAATCTAAGAGAT-TAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGT
PR07            TTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGAT-AGAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGT
PR11            TTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGAT-AGAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGT
PR02            TTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGAT-AGAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGT
PR09            TTGACATCTTTTGACCATCTGAGAGAT-CAGAATTTCCCTTCGGGGACAAAATGACAGGT
PR10            TTGACATCTTTTGACCATCTGAGAGAT-CAGAAGTTCCCTTCGGGGACAAAATGACAGGT
KP04            TTGACATCCTTTGACCACTTCAGAGAT-GAAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGT
NU01            TTGACATCCTTTGAAGCTTCTAGAGATAGAAGTGTTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGGT
                *******    **       ******       *** ****** ****     ******

KJ02            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR13            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
KJ03            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
KJ05            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR14            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
KJ04            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
KP01            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR07            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR11            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR02            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR09            GGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
PR10            GGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
KP04            GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
NU01            GGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
                *********  ************************************************

KJ02            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
PR13            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
KJ03            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
KJ05            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
PR14            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
KJ04            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
KP01            AACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAA
PR07            AACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAA
PR11            AACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAA
PR02            AACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAA
PR09            AACCCTTATTGTCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGCGAGACTGCCGGTGACAA
PR10            AACCCTTATTGTCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGCGAGACTGCCGGTGACAA
KP04            AACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAA
NU01            AACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAA
                **********   ************* ************* * *****************

KJ02            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
PR13            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
KJ03            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
KJ05            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
PR14            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
KJ04            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
KP01            ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
PR07            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
PR11            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
PR02            ACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
```

```
PR09        ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
PR10        ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
KP04        ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
NU01        ACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACAC
            ************ ***** *******  ********************************

KJ02        GTGCTACAATGGTCGGTACAACGTGTTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAA
PR13        GTGCTACAATGGTCGGTACAACGTGTTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAA
KJ03        GTGCTACAATGGTCGGTACAACGTGTTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAA
KJ05        GTGCTACAATGGTCGGTACAACGTGTTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAA
PR14        GTGCTACAATGGTCGGTACAACGTGTTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAA
KJ04        GTGCTACAATGGTCGGTACAACGTGTTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAA
KP01        GTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAG
PR07        GTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAA
PR11        GTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAA
PR02        GTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAA
PR09        GTGCTACAATGGACGATACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTGAAAG
PR10        GTGCTACAATGGACGATACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTGAAAG
KP04        GTGCTACAATGGCAAGTACAACGAGCAGCTAACCCGCGAGGGTACGCGAATCTCTTAAAA
NU01        GTGCTACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAG
            ************    ******* *  ** *   ******     ** **** ** ***

KJ02        CCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
PR13        CCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
KJ03        CCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
KJ05        CCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
PR14        CCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
KJ04        CCGATCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
KP01        CCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAA
PR07        CCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAA
PR11        CCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAA
PR02        CCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAA
PR09        TCGTTCTCAGTTCGGATCGTAGGCTGCAACTCGCCTACGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAA
PR10        TCGTTCTCAGTTCGGATCGTAGGCTGCAACTCGCCTACGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAA
KP04        CTTGTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAA
NU01        TACGTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGAAGTCGGAATCGCTAGTAA
                ************  * ** ********** ** *  ****  **************

KJ02        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR13        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
KJ03        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
KJ05        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR14        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
KJ04        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
KP01        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR07        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR11        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR02        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR09        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
PR10        TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACA
KP04        TCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACA
NU01        TCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACA
            ************* ********************** **********************

KJ02        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTA
PR13        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTA
KJ03        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTA
KJ05        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTA
PR14        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTA
KJ04        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTA
KP01        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCG------------------------------
PR07        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGGTAACCCTTCGGGGAGCCAGCCGTCTA
PR11        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGGTAACCCTTCGGGGAGCCAGCCGTCTA
PR02        CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGGTAACCCTTCGGGGAGCCAGCCGTCTA
```

```
PR09            CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGCGGTAACCATTTTGG-AGCCAGCCGTCTA
PR10            CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGCGGTAACCATTTTGG-AGCCAGCCGTCTA
KP04            CCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGGTAACCTTTTAGG-AGCCAACCGTCTA
NU01            CCATGGGAGTTTGTAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTATGGAGGG--AGCCGTCTA
                ***** **********  ******* **

KJ02            AGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR13            AGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
KJ03            AGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
KJ05            AGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR14            AGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
KJ04            AGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
KP01            ---------------------AAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR07            AGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR11            AGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
PR02            AGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR09            AGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR10            AGGGGGGACAAATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
KP04            A----------------------AAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
NU01            AGGCAGGACAGATGACTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
                                        *************** *****
```

ไพร์เมอร์ส่วนหลัง (Reverse primer)

ภาพที่ 4.4 ผลจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียแลคติก ทั้งหมด 14 ไอโซเลต ด้วยโปรแกรม ClustalW โดยกำหนดให้แถบสีต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบการแทรกเพิ่มหรือขาดหาย (Indel)
- แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบทรานสเวอร์ชัน (Transverion)
- แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบไพริมิดีนทรานสิชัน (Pyrimidine transition)
- แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบพิวรีนทรานสิชัน (Purine transition)
- แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายหลายแบบ

ส่วนรายละเอียดของตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนของลำดับเบสจะเกิดขึ้นตามตารางตัวอย่างที่ตำแหน่งที่ 21-65 ดังต่อไปนี้ คือ

ตารางที่ 4.5 ตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *16S rRNA* ของแบคทีเรียกรดแลคติก

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
21	PR13 และ KJ04	Indel	Deleted G
23	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
29	PR10 และ PR13	Pyrimidine transition	C to T
31	PR10	Transversion	G to T
32	PR13	Indel	Deleted G
33	PR10 และ PR13	หลายแบบ	หลายแบบ
36	PR10	Transversion	C to G
37	KJ02 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Purine transition	G to A
38	PR13	Pyrimidine transition	T to C
39	PR13	Purine transition	G to A
40	PR10 และ PR13	Pyrimidine transition	C to T
42	PR13	Pyrimidine transition	T to C
43	PR13	Transversion	A to T
53	PR13	Indel	Deleted A
62	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	C to A
63	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
64	KP04 PR09 และ PR10	หลายแบบ	หลายแบบ
65	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
66	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
67	NU01	Indel	Deleted T

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
68	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
69	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
70	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
71	KP04	Indel	Inserted C
72	KP04	Indel	Inserted C
73	KP04	Indel	Inserted A
74	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
75	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
76	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
77	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
79	NU01	Transversion	T to A
80	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
81	PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
82	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	Purine transition	A to G
83	KP01 PR09 PR10 และ NU01	Transversion	A to T
84	KP04	Purine transition	G to A
85	PR07 PR11 PR02 และ KP04	Indel	Inserted G
86	PR07 PR11 PR02 และ KP04	Indel	Inserted A
87	PR07 PR11 PR02 และ KP04	Indel	Inserted G
93	KP01 PR09 PR10 และ NU01	Transversion	T to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
94	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Pyrimidine transition	C to T
95	KP04	Indel	Inserted A
96	KP04	Indel	Inserted G
97	KP04	Indel	Inserted A
98	PR09 PR10 และ KP04	Pyrimidine transition	C to T
99	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
100	PR07 PR11 PR02 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
101	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
102	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
103	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
104	NU01	Indel	Inserted G
105	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
107	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
108	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
110	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
111	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
112	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
113	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
114	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
115	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
116	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
117	KP04	Purine transition	G to A
118	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
127	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
130	KP01	Transversion	G to T
147	NU01	Purine transition	G to A
148	KP01 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
151	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	C to T
154	KP04	Purine transition	G to A
157	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
158	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
159	KP01 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
160	KP04	Transversion	A to T
161	NU01	Purine transition	A to G
163	KP01 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
164	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
175	KP01 PR09 PR10 และ KP04	Pyrimidine transition	T to C

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
176	KP01	Pyrimidine transition	T to C
185	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP04	Purine transition	G to A
186	KP01 PR07 PR11 PR02 และ NU01	Purine transition	G to A
198	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
201	PR02 และ PR09	Transversion	A to C
203	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ NU01	Transversion	C to A
204	PR02 และ PR09	Transversion	A to C
205	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	A to C
206	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
207	PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
208	KP01 PR09 และ PR10	หลายแบบ	หลายแบบ
209	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
210	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
211	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Transversion	A to T
212	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
214	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Purine transition	G to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
219	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Purine transition	G to A
221	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
222	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
223	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
224	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
225	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
226	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	G to C
227	PR09 และ PR10	Transversion	T to G
228	PR09 และ PR10	Transversion	T to G
229	PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
234	NU01	Purine transition	A to G
235	PR09 PR10 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
237	NU01	Transversion	G to C
238	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
239	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
240	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
241	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
242	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
243	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	Indel	Inserted G
244	NU01	Indel	Deleted G
245	NU01	Pyrimidine transition	T to C
246	PR09 PR10 และ NU01	Purine transition	A to G
249	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
251	NU01	Pyrimidine transition	T to C
252	KP04	Transversion	T to A
253	KP04 และ NU01	Transversion	T to A
254	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
255	KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
260	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
261	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
262	NU01	Pyrimidine transition	C to T
269	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
271	PR07 PR11 PR02 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
276	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
277	PR07 PR11 PR02 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
281	KP01	Transversion	T to A
286	PR09 PR10 และ KP04	Purine transition	G to A
287	KP01 และ NU01	Purine transition	A to G

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
293	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
294	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Purine transition	G to A
297	NU01	Pyrimidine transition	T to C
298	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
303	KP01	Transversion	A to T
305	PR07 PR11 PR02 และ NU01	Purine transition	G to A
306	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	C to T
307	PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	หลายแบบ	หลายแบบ
308	PR07 PR11 และ PR02	Purine transition	A to G
313	PR07 PR11 PR02 และ NU01	Purine transition	A to G
315	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
323	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
324	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
331	KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
332	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
334	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Purine transition	A to G
345	PR07 PR11 PR02 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
366	PR07 PR11 PR02 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
382	NU01	Transversion	A to T
395	PR07	Transversion	C to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
407	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Purine transition	G to A
410	PR09 และ PR10	Transversion	A to C
414	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
427	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	C to T
436	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Transversion	A to T
437	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
441	KP04 และ NU01	Transversion	A to T
447	KP01 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
448	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
451	NU01	Transversion	C to A
454	KP01 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
462	NU01	Purine transition	A to G
463	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	C to T
464	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Transversion	T to A
470	KP01	Transversion	G to T
471	KP01	Transversion	T to G
472	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
473	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
474	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Purine transition	G to A
475	NU01	Purine transition	A to G

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
482	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
483	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
484	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
485	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
486	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
487	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
488	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
489	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
491	PR07 PR11 PR02 และ NU01	Transversion	G to T
494	NU01	Transversion	T to G
495	NU01	Purine transition	A to G
497	NU01	Purine transition	C to A
500	PR07 PR11 PR02 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
502	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
503	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
504	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
505	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
506	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
507	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
508	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
509	NU01	Pyrimidine transition	T to C
517	NU01	Pyrimidine transition	C to T
518	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Pyrimidine transition	C to T
519	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
520	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
526	PR09 และ PR10	Transversion	A to C
530	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
531	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
540	KP04 และ NU01	Transversion	C to A
569	KP04 และ NU01	Transversion	G to T
572	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
573	KP04 และ NU01	Transversion	G to C
575	NU01	Purine transition	A to G
582	KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
605	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 PR09 และ PR10	หลายแบบ	หลายแบบ
608	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Purine transition	A to G
609	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	C to T

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
611	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	C to T
614	KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
619	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
620	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
621	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
623	PR14	Indel	Deleted T
628	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	C to T
629	KP04	Pyrimidine transition	T to C
632	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP04	Transversion	T to A
642	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
643	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
644	NU01	Transversion	C to G
645	KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
649	PR09 PR10 และ KP04	Pyrimidine transition	C to T
653	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
654	NU01	Transversion	G to C
655	PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
656	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	Purine transition	G to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
660	NU01	Transversion	G to T
661	NU01	Transversion	T to G
664	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP04	Transversion	T to A
666	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
668	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Purine transition	G to A
676	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
677	KP04 และ NU01	Transversion	A to T
678	PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
688	NU01	Pyrimidine transition	C to T
689	NU01	Transversion	A to T
691	KP04 และ NU01	Transversion	A to T
697	NU01	Transversion	A to T
698	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
723	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Purine transition	A to G
759	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
766	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
767	NU01	Transversion	T to A
772	KP04 และ NU01	Transversion	T to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
774	NU01	Transversion	T to A
775	NU01	Purine transition	G to A
776	NU01	Pyrimidine transition	T to C
785	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
790	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Purine transition	G to A
791	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
799	KP01 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
800	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Purine transition	A to G
805	PR09 และ PR10	Transversion	T to G
809	PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
837	PR09 PR10 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
838	KP01 KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
840	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
852	KP01 PR09 PR10 และ NU01	Purine transition	G to A
854	NU01	Purine transition	G to A
858	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Purine transition	G to A
859	KP04	Purine transition	G to A
864	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
866	NU01	Purine transition	A to G
867	NU01	Purine transition	G to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
878	NU01	Pyrimidine transition	C to T
879	NU01	Pyrimidine transition	T to C
881	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
882	PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
886	KP04	Pyrimidine transition	C to T
887	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Pyrimidine transition	T to C
889	NU01	Transversion	C to A
900	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
905	NU01	Pyrimidine transition	C to T
907	KP01 PR09 PR10 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
925	KP01	Purine transition	A to G
926	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
933	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
934	KP01	Pyrimidine transition	T to C
959	KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
998	KP01	Transversion	A to T
1028	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	A to C
1029	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	C to T
1030	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	T to C

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1031	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	A to T
1034	KP01	Transversion	A to C
1035	KJ04 KP01 และ NU01	Transversion	C to A
1036	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1037	NU01	Transversion	A to C
1038	KJ04 KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1039	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
1040	PR07 PR11 PR02 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
1041	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1048	NU01	Indel	Inserted A
1049	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1050	PR07 PR11 และ PR02	Purine transition	A to G
1051	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
1052	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1053	PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1054	KP01 PR10 และ NU01	Transversion	T to G
1058	NU01	Pyrimidine transition	C to T
1065	NU01	Purine transition	G to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1070	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	A to T
1071	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Purine transition	A to G
1072	PR09 และ PR10	Purine transition	G to A
1073	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	T to A
1074	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Transversion	G to T
1090	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
1091	NU01	Pyrimidine transition	T to C
1151	PR09 PR10 และ NU01	Purine transition	A to G
1152	PR07 PR11 PR02 และ KP04	Pyrimidine transition	T to C
1153	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
1167	KP01 PR07 PR11 และ PR02	หลายแบบ	หลายแบบ
1181	PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	Purine transition	G to A
1183	PR09 PR10 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
1213	NU01	Pyrimidine transition	T to C
1219	KP01 PR09 PR10 และ KP04	Pyrimidine transition	C to T
1227	NU01	Purine transition	A to G
1228	PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
1273	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1274	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1275	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1276	PR09 PR10 และ NU01	Purine transition	G to A
1284	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Transversion	A to T
1286	KP04	Pyrimidine transition	T to C
1287	PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
1290	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1292	PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
1293	PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	Transversion	A to C
1294	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Pyrimidine transition	C to T
1301	KP01	Purine transition	G to A
1302	PR07 PR11 PR02 PR09 และ PR10	Transversion	G to T
1303	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	T to C
1304	PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1305	KP04	Transversion	A to C
1308	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
1313	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Transversion	T to A

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1316	PR09 และ PR10	Transversion	G to T
1320	KP01 PR09 PR10 และ NU01	Purine transition	A to G
1321	PR09 PR10 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
1322	KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1323	KP01 PR07 PR11 PR02 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1324	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1337	NU01	Pyrimidine transition	T to C
1338	PR09 และ PR10	Pyrimidine transition	T to C
1340	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
1343	NU01	Transversion	G to T
1354	NU01	Transversion	C to A
1357	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 KP04 และ NU01	Purine transition	A to G
1359	PR09 และ PR10	Purine transition	A to G
1360	NU01	Pyrimidine transition	T to C
1365	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T
1366	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 และ KJ04	Pyrimidine transition	C to T
1394	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	T to C
1418	KP04 และ NU01	Pyrimidine transition	C to T

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1446	NU01	Purine transition	A to G
1457	NU01	Pyrimidine transition	C to T
1458	NU01	Purine transition	A to G
1466	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	Pyrimidine transition	C to T
1469	KP01	Indel	Deleted G
1470	KP01	Indel	Deleted T
1471	KP01	Indel	Deleted G
1472	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
1473	KP01 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1474	KP01 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1475	KP01	Indel	Deleted T
1476	KP01	Indel	Deleted A
1477	KP01	Indel	Deleted A
1478	KP01	Indel	Deleted C
1479	KP01	Indel	Deleted C
1480	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1481	KP01	Indel	Deleted T
1482	KP01 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1483	KP01 PR09 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1484	KP01 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
1485	KP01	Indel	Deleted G

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

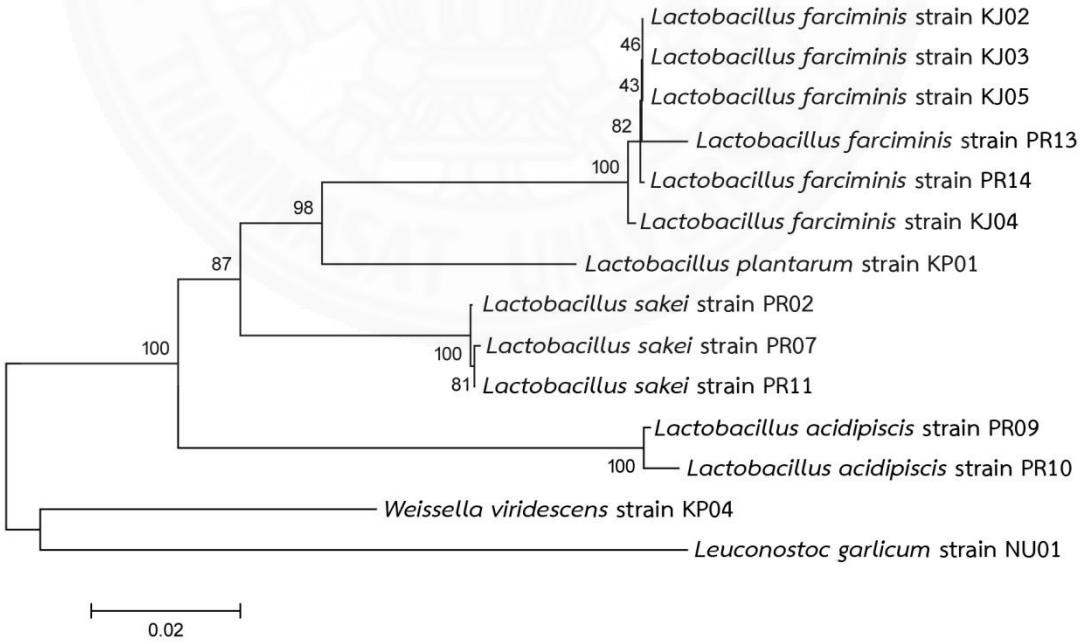
ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1486	KP01 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1487	KP01 PR09 PR10 และ KP04	Indel	Deleted G
1488	KP01 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1489	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	หลายแบบ	หลายแบบ
1490	KP01 และ NU01	Indel	Deleted C
1491	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 KP01 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1492	KP01	Indel	Deleted A
1493	KP01 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
1494	KP01	Indel	Deleted C
1495	KP01	Indel	Deleted C
1496	KP01	Indel	Deleted G
1497	KJ02 PR13 KJ03 KJ05 PR14 KJ04 และ KP01	หลายแบบ	หลายแบบ
1498	KP01	Indel	Deleted C
1499	KP01	Indel	Deleted ธ
1500	KP01	Indel	Deleted A
1501	KP01	Indel	Deleted A
1502	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1503	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1504	KP01 PR10 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1505	KP01 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
1506	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1507	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1508	KP01 และ KP04	Indel	Deleted A
1509	KP01 และ KP04	Indel	Deleted C
1510	KP01 และ KP04	Indel	Deleted A
1511	KP01 PR07 PR11 PR02 PR09 KP04 และ NU01	Indel	Deleted A
1512	KP01 และ KP04	Indel	Deleted A
1513	KP01 และ KP04	Indel	Deleted T
1514	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1515	KP01 และ KP04	Indel	Deleted A
1516	KP01 KP04 และ NU01	หลายแบบ	หลายแบบ
1517	KP01 และ KP04	Indel	Deleted T
1518	KP01 PR09 PR10 และ KP04	หลายแบบ	หลายแบบ
1519	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1520	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1521	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G
1522	KP01 และ KP04	Indel	Deleted T
1523	KP01 และ KP04	Indel	Deleted G

4.3.3 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด 14 ไอโซเลต ของยีน *16S rRNA* โดยใช้แบบจำลองแผนภูมิของ neighbor-joining และการวิเคราะห์คำนวณแผนภูมิทางสถิติด้วยวิธี maximum composite likelihood พบว่าที่ระยะห่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.02 มีสกุล *Lactobacillus* spp. ที่มีชนิดที่แตกต่างกัน สามารถแบ่งแยกความแตกต่างกันของลำดับพันธุกรรมได้อย่างชัดเจน รวมถึง *Weissella viridescens* และ *Leuconostoc garlicum* ซึ่งเกิดความแตกต่างของลำดับทางพันธุกรรมได้เช่นกัน แต่บางสายพันธุ์อาจแบ่งแยกได้ไม่ชัดเจน เนื่องจากลำดับพันธุกรรมที่เหมือนหรือใกล้เคียงกันมากส่งผลให้โครงสร้างของต้นไม้จึงมีลักษณะทับซ้อนกัน ตัวอย่าง เช่น *Lactobacillus farciminis* strain KJ02 KJ03 KJ05 และ KJ04 รวมถึงบริเวณ KJ02 KJ03 KJ05 ที่มีค่า bootstrap เพียง 43-46 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของแผนภูมิที่เกิดขึ้นยังไม่ถูกต้องสมบูรณ์ จึงมีความเป็นไปได้ว่ามีรูปแบบจำลองอื่น ๆ ที่เป็นไปได้อีก ดังภาพที่ 4.5 ส่วนตารางค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมพบว่ามีค่าตั้งแต่ 0.00-1.00 ซึ่งยิ่งมีค่าน้อยแสดงว่าสายพันธุ์ที่เปรียบเทียบกันยิ่งมีความเหมือนกันมากยิ่งขึ้น เช่น *Lactobacillus farciminis* strain KJ05 กับ *Lactobacillus farciminis* strain PR14 ที่มีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.00 แสดงว่าลำดับทางพันธุกรรมของทั้ง 2 สายพันธุ์ นี้อาจมีความแตกต่างกันน้อยมากหรือไม่แตกต่างกันเลย ดังตารางที่ 4.6



ภาพที่ 4.5 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 14 ไอโซเลต

	L. farciminis strain KJ0 2	*L. farciminis* strain KJ03	*L. farciminis* strain KJ04	*L. farciminis* strain KJ05	*L. plantarum* strain KP01	*W. viridescens* strain KP04	*Leu. garlicum* strain NU01	*L. sakei* strain PR02	*L. sakei* strain PR07	*L. acidipiscis* strain PR09	*L. acidipiscis* strain PR10	*L. sakei* strain PR11	*L. farciminis* strain PR13	*L. farciminis* strain PR14
L. farciminis strain KJ02	0.00													
L. farciminis strain KJ03	0.00	0.00												
L. farciminis strain KJ04	0.00	0.00	0.00											
L. farciminis strain KJ05	0.00	0.00	0.00	0.00										
L. plantarum strain KP01	0.08	0.08	0.08	0.08	0.00									
W. viridescens strain KP04	0.14	0.14	0.14	0.14	0.12	0.00								
Leu. garlicum strain NU01	0.18	0.18	0.17	0.18	0.17	0.13	0.00							
L. sakei strain PR02	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.11	0.15	0.00						
L. sakei strain PR07	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.11	0.15	0.00	0.00					
L. acidipiscis strain PR09	0.13	0.13	0.13	0.13	0.11	0.13	0.18	0.11	0.11	0.00				
L. acidipiscis strain PR10	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.14	0.18	0.11	0.11	0.01	0.00			
L. sakei strain PR11	0.09	0.09	0.08	0.09	0.08	0.11	0.15	0.00	0.00	0.11	0.11	0.00		
L. farciminis strain PR13	0.01	0.01	0.01	0.01	0.08	0.14	0.18	0.09	0.09	0.13	0.13	0.09	0.00	
L. farciminis strain PR14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.14	0.18	0.09	0.09	0.12	0.13	0.08	0.01	0.00

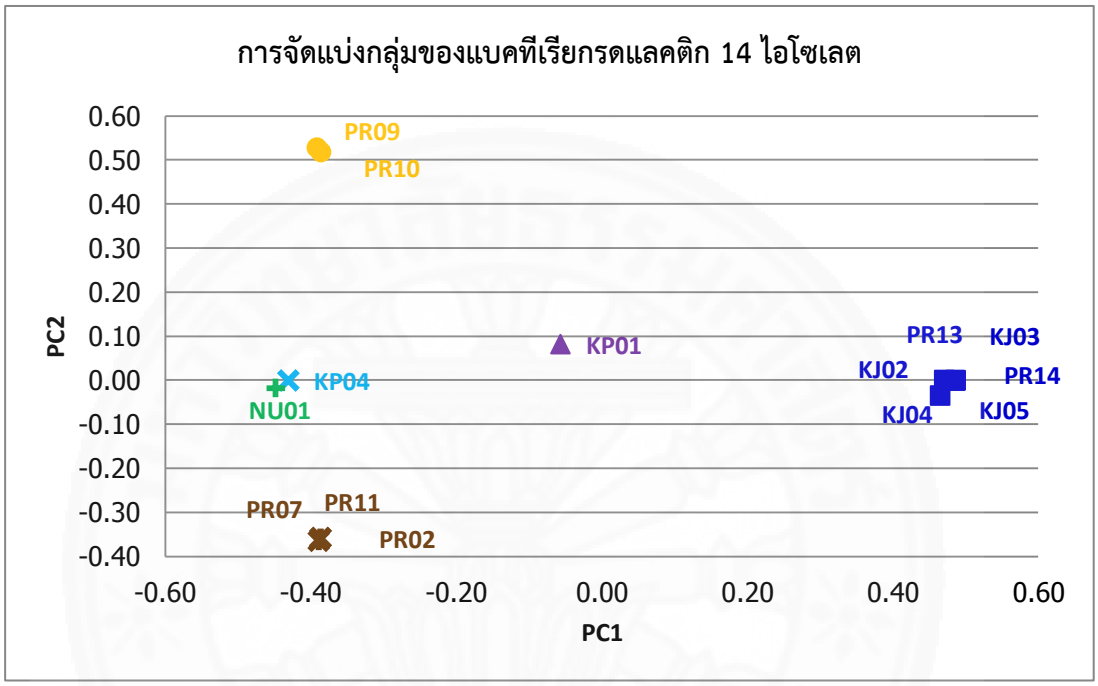
ตารางที่ 4.6 ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 14 ไอโซเลต

4.3.4 กราฟสำหรับการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม

จากการใช้ข้อมูลเครื่องหมายโมเลกุลในการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกด้วยยีน *16S rRNA* พบว่าทุกสายพันธุ์สามารถจัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะชนิดของแบคทีเรียได้อย่างชัดเจน ซึ่งสามารถพล็อตข้อมูลได้โดยใช้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่อยู่ในรูป 2 มิติ (PC) โดยกำหนดให้ PC1 คือ ระยะห่างทางพันธุกรรมในแนวแกน X และ PC2 คือ ระยะห่างทางพันธุกรรมในแนวแกน Y จึงทำให้เกิดการกระจายของข้อมูลต่าง ๆ ออกไป และทำให้เห็นข้อมูลที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันอยู่ติดกันเป็นกลุ่ม ๆ ซึ่งผลที่ได้จากการจัดแบ่งกลุ่มมีความใกล้เคียงกันเช่นเดียวกับแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

จากรูปที่เกิดขึ้นแบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดเกิดการกระจายเพียงเล็กน้อยเนื่องจากมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันมาก ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนลำดับเบสของลำดับ

นิวคลีโอไทด์ที่ใช้สำหรับทำเครื่องหมายโมเลกุลได้เลือกเฉพาะตำแหน่งที่มีการกลายเพียงแค่ 2 เบสเท่านั้น จึงทำให้เกิดความละเอียดของข้อมูลไม่มากพอสำหรับการพล็อตกราฟ เช่น *Leuconostoc galicum* และ *Weissella viridescens* ดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 กราฟการกระจายแบบ 2 มิติ สำหรับการจัดกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 14 ไอโซเลต

โดย ■ *Lactobacillus farciminis*, ▲ *Lactobacillus plantarum*, ● *Lactobacillus acidipiscis*, ✱ *Lactobacillus sakei*, ✚ *Leuconostoc galicum*, ✖ *Weissella viridescens*

จะเห็นได้ว่าวิธีทางชีวโมเลกุลให้รายละเอียดได้ถึงระดับสายพันธุ์ จึงมีความเหมาะสมต่อการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียโดยปัจจุบันนิยมใช้ยีน *16S rRNA* ดังตัวอย่างงานวิจัย เช่น การตรวจสอบแบคทีเรียแลคติกจากไส้กรอกแห้งหมักด้วยวิธีเทคนิคพีซีอาร์แบบรวดเร็ว (RAPD-PCR) โดยใช้ไพร์เมอร์สายเดียว 1 สาย และไพร์เมอร์ที่จำเพาะอีก 1 คู่ ในการตรวจสอบยีน *16S rRNA* เพื่อตรวจสอบแบคทีเรียกรดแลคติกสกุล *Lactobacillus* spp. และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่ามีสามารถตรวจสอบสูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ (Fleck *et al.*, 2012) บางงานวิจัยใช้ยีนอื่น ๆ ร่วมกับยีน

16S rRNA เพื่อระบุสายพันธุ์ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น เช่น การตรวจหาแบคทีเรียกรดแลคติกของคิมฉิที่อยู่ในขั้นตอนของการหมักด้วยวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ (Multiplex PCR) โดยการเพิ่มจำนวนยีนเป้าหมายที่แตกต่างกัน เพื่อใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ให้มีความละเอียดและจำเพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น ซึ่งเทคนิคนี้มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลิโอไทด์กับฐานข้อมูลสูงถึง 86.5-100 เปอร์เซ็นต์ (Cho, 2009)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลจากการคัดกรองน้ำพริกทั้งหมด 5 ชนิด เพื่อหาแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่ามีจำนวนไอโซเลตทั้งหมด 29 ไอโซเลต คือ น้ำพริกปลาร้า 13 ไอโซเลต น้ำพริกหนุ่ม 5 ไอโซเลต น้ำพริกกุ้งจ่อม 5 ไอโซเลต และน้ำพริกมะม่วง 3 ไอโซเลต โดยทั้ง 29 ไอโซเลตน่าจะเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก เนื่องจากมีการสร้างวงใสบนอาหารแข็ง MRS ที่มีการเติม $CaCO_3$ โดยลักษณะวงใสที่เกิดขึ้นสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับการคัดเลือกเพื่อนำไปทดสอบด้วยวิธีอื่น ๆ ต่อไปได้

การระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีทางสัณฐานและการทดสอบทางชีวเคมีส่วนใหญ่โอกาสแบ่งแยกความต่างกันได้อย่างชัดเจนมากที่สุดและง่ายที่สุด คือ ระดับสกุล โดยนำข้อมูลของการทดลองทั้งการย้อมสีแกรมและวิธีทางชีวเคมีทุกวิธีมารวมกันเพื่อวิเคราะห์ผลออกมา ซึ่งในงานวิจัยนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 สกุล คือ *Lactobacillus* spp. *Weisella* spp. และ *Leuconostoc* spp. เป็นต้น

การระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลพบว่าสามารถระบุได้ถึงระดับชนิดและสายพันธุ์ที่สามารถพบแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด คือ น้ำพริกกะปิ น้ำพริกหนุ่ม น้ำพริกปลาร้าและน้ำพริกกุ้งจ่อม ได้ทั้งหมดเท่ากับ 6 ชนิด และ 10 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 14 ไอโซเลต โดยการใช้ยีน *16S rRNA* ในการศึกษาและเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลแล้วสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มออกมา ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกัน สามารถเห็นความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ได้อย่างชัดเจน ซึ่งการใช้ยีน *16S rRNA* จึงมีความถูกต้องน่าเชื่อถือ และมีความแม่นยำสูง

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งสำหรับผู้ที่สนใจและสามารถนำไปใช้ในการศึกษาต่อได้ โดยเฉพาะน้ำพริกที่สามารถพบแบคทีเรียกรดแลคติกได้เช่นเดียวกับอาหารอื่น ๆ ที่เกิดจากการหมักหรือไม่ก็ตาม ซึ่งเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์อุตสาหกรรมอาหาร สิ่งแวดล้อม หรือด้านอื่น ๆ ในเพื่อเกิดความก้าวหน้าต่อไปในอนาคต นอกจากนี้ยังสามารถนำงานไปต่อยอดเพื่อศึกษาการทำงานของยีนต่าง ๆ ของแบคทีเรียได้ด้วยการศึกษาและประยุกต์ใช้วิชาชีววิทยาระบบ (system biology) เข้ามาช่วยเพื่อให้ผลการทดลองมีความชัดเจนและน่าเชื่อถือมายิ่งขึ้น โดยการใช้คอมพิวเตอร์วิเคราะห์

ลักษณะของยีน เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนว่ามีการเหนี่ยวนำหรือยับยั้ง เช่น ยีนที่มีสามารถในการสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรีย เป็นต้น (de Vos, 1999) จนสุดท้ายนำไปใช้ประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมโดยการปรับปรุงสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก เพื่อใช้ประโยชน์สำหรับการปรับปรุงคุณภาพของอาหาร เช่น ไวน์ โดยการตัดต่อยีนของแบคทีเรียแลคติกเพื่อผลิตกรดแลคติกให้มีปริมาณที่เหมาะสมต่อคุณภาพของไวน์ (Nisiotou *et al.*, 2015) หรือโคลนยีนลงในสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ให้มีการสร้างกรดแลคติกได้ เช่น การโคลนยีนแบคทีเรียกรดแลคติกเข้าสู่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Synechocystis* sp. เพื่อเพิ่มปริมาณของกรดแลคติกโดยเริ่มจากการศึกษาวิถีเมตาบอริซึม (Metabolic pathway) ของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการโคลน จากนั้นหายีนที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติก เช่น ยีน *ldh* ที่ทำหน้าที่สังเคราห์เอนไซม์ lactate dehydrogenase ที่สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นจากไพรูเวท (pyruvate) ไปเป็นแลคเตด (lactate) หรือกรดแลคติกได้ แล้วทำการโคลนยีนเข้าสู่สาหร่าย จากนั้นนำยีนไปศึกษาการแสดงออกของยีนโดยการทำพีซีอาร์แบบย้อนกลับ (RT-PCR) แล้วเพิ่มปริมาณเซลล์ของสาหร่ายและสกัดแยกเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำ (supernatant) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของกรดแลคติกด้วยเครื่อง high-performance liquid chromatography (HPLC) เป็นลำดับสุดท้าย (Joseph *et al.*, 2013)

รายการอ้างอิง

หนังสือและบทความในหนังสือ

กวี สุจิปุลิ, 2547, พันธุศาสตร์โมเลกุลเบื้องต้น, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ดนัย ปัตตพงศ์, 2548, Cluster analysis, เอกสารวิชาการด้านศาสตร์การวิจัยและสถิติประยุกต์, มหาวิทยาลัยเนชั่น, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและปรีชา สุวรรณพินิจ, 2550, จุลชีววิทยาทั่วไป, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นิรมล ยุวนบุณย์, 2550, น้ำพริก: ฐานทรัพยากรอาหาร วิถีชุมชน ภายใต้กระแสโลกาภิวัฒน์, สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ.

บุษกร อุตรภิชาติ, 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. สงขลา: บริษัท นำศิลป์โฆษณา จำกัด.

ยงยุทธ ยุทธวงศ์ และพินทิพ รื่นวงษา, 2544, ชีวสารสนเทศศาสตร์, กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548, จุลชีววิทยาของอาหารและอาหารสัตว์วิธีตรวจนับมีโซฟิลิกแลคติกแอซิดแบคทีเรียโดยเทคนิคการนับโคโลนีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส, มอก, 2239-2548 น.

Breed, R.S., Murray, E.G.D., Smith, N.R., 1957, Bergey's manual of determinative bacteriology, 7th Ed., The Williams & Wilkins, Co.,ltd, United States of America.

Draft International Standard, 2014, Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions, Draft Önorm EN ISO 6887-1.

East African Community, 2006, Milk and milk products - Methods of microbiological examination Part 1: Total plate count, EAS 68-1.

Moorehead, A.W., Shumway, W.W., 2008, Methods and compositions relating to the control of the rates of acid-generating compounds in acidizing operations, U.S. Patent. 1-24.

Sharma, V.K., 1992, The Lactic Acid Bacteria in Health & Disease, B. J. B. Wood(ed.). 1: 431-446.

Whittenbury, R., 1960, Two Types of Catalase-like Activity in Lactic Acid Bacteria, Nature, 187: 433-434.

วิทยานิพนธ์

ประเวช อรรจวัฒนวงศ์, 2544, การวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมตลอดยีโนม และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของเชื้อไวรัส ตับอักเสบ จี สายพันธุ์ไทย, มหาวิทยาลัยมหิดล.

Bulut, C., 2003. Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria from cheese, Master of Science Thesis at Izmir Institute of Technology.

บทความวารสาร

นฤมล ธนานันต์ และธีระชัย ธนานันต์, 2553, การใช้เทคนิคดูเพล็กซ์พีซีอาร์ตรวจสอบแบคทีเรียแลคติกบางชนิดในโยเกิร์ต, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, ปีที่ 18 ฉบับที่ 2, 19-24 น.

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2550, แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก, วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, ปีที่ 23 ฉบับที่ 2, 145-160 น.

Bendahan, D., Mattei J.P., Ghattas B., Confort-Gouny S., Le Guern M.E., Cozzone P.J., 2002. Citrulline/malate promotes aerobic energy production in human exercising muscle. Br. J. Sports Med. 36 (4): 282–9.

Cal, Y., Kumal, S., Ogawa, M., Benno, Y., Nakase, T., 2013, Characterization and Identification of *Pediococcus* Species Isolated from Forage Crops and Their Application for Silage Preparation, Appl. Environ. Microbiol. 65(7): 2901-2906.

Cho, K.M., Math, R.K., Islam, S.M.A., Lim, W.J., Hong, S.Y., Kim, J.M., Yun, M.G., Cho, J.J., Yun, H.D., 2009, Novel multiplex PCR for the detection of lactic acid bacteria during *kimchi* fermentation, Mol. Cell Probes. 23: 90-94.

Choi, M.H., Park, Y.H., 2000, Selective Control of Lactobacilli in Kimichi with Nisin, Lett. Appl. Microbiol. 30: 173-177.

De Vos, W.M., 1999, Gene expression systems for lactic acid bacteria, Ecol. Ind. Microbiol. 2: 289-295.

Dimic, G.R., 2006, Characteristics of the *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* strains from fresh vegetables. BIBLID 37: 3-11.

Dušková, M., Kameník, J., Karpíšková, R., 2013, *Weissella viridescens* in meat products – a review. Acta. Vet. Brno. 82: 237-241.

Fleck, Z.C., Savic, V., Kozacinski, L., Njari, B., Zdolec N., Filipovic, I., 2012, Identification of lactic acid bacteria isolated from dry fermented sausages, Vet. Arhiv. 82(3): 265-272.

Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., Wellington, E.M.H., 1997, Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding *16S rRNA* and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients, Appl. Environ. Microbiol. 63(8): 3233-3241.

Horn, K.V., Toth, C., Kariyama, R., Mitsuhata, R., Kumon, H., 2002, Evaluation of 15 Motility Media and a Direct Microscopic Method for Detection of Motility in Enterococci. Journal of clinical microbiology, 40(7), 2476-2479.

Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., Tani, A., Maneerat, S., 2011, Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (*Plasom*) and production of *Plasom* from selected strains, Food Control. 22: 401-407.

Jack, R.W., Tagg, J.R., Ray, B., 1995, Bacteriocins of Gram-positive bacteria, Microbiological Reviews, 59(2): 171-200.

Jang, S., Lee, J., Jung, U., Choi, H.S., Suh, H.J., 2014, Identification of an anti-listerial domain from *Pediococcus pentosaceus* T1 derived from Kimchi, a traditional fermented vegetable, Food Control. 43: 42-48.

Joseph, A., Aikawa, S., Sasaki K., Tsuge Y., Matsuda, F., Tanaka, T., Kondo, A., 2013, Utilization of Lactic Acid Bacterial Genes in *Synechocystis* sp. PCC 6803 in the Production of Lactic Acid, Biosci. Biotechnol. Biochem., 77(5): 966-970.

Lee 1986 A rapid method

Leiner, J.J., Pot, B., Christensen, H., Rusul, G., Olsen, J.E., Wee, B.W., Muhamad, K., Ghazali, H.M., 1999, Identification of Lactic Acid Bacteria from Chili Bo, a Malaysian Food Ingredient, Appl. Environ. Microbiol. 65(2): 599-605.

Liu, J., Shi, S., Chang, E., Yang, W., Jiang, Z., 2013, Genetic Diversity of the Critically Endangered *Thuja sutchuenensis* Revealed by ISSP Markers and the Implications for Conservation, Int. J. Mol. Sci. 14: 14860-14871.

Nie, X., Lin, S., Zhang, Q., 2014, Proteolytic characterisation in grass carp sausage inoculated with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*, Food Chem. 145: 840–844.

Nielsen, D.S., Schillinger, U., Franz, C.M.A.P., Bresciani, J., Amoa-Awua, W., Holzapfel, W.H., Jakobsen, M., 2007, *Lactobacillus ghanensis* sp. nov., a motile lactic acid bacterium isolated from Ghanaian cocoa fermentations, Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 57: 1468–1472.

Nikita, C., Hemangi, D., 2012, Isolation, Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Dairy Sludge Sample, J. Environ. Res. Develop. 7(1A): 234-244.

Nisiotou, A.A., Dourou, D., Filippousi, M.E., Diamantia, E., Fragkoulis, P., Tassou C., Banilas G., 2015, Genetic and Technological Characterisation of Vineyard - and Winery - Associated Lactic Acid Bacteria. Biomed. Res. Int.

Noonpakdee, W., Jumriangrit, P., Wittayakom, K., Zendo, J., Nakayama, J., Sonomoto, K., Panyim, S., 2009, Two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* PMU 33 strain isolated from som-fak, a Thai low salt fermented fish product, Asia Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol. 7(1): 19-25.

Okereke, A., Montville, T.J., 1991, Bacteriocin-Mediated Inhibition of *Clostridium botulinum* Spores by Lactic Acid Bacteria at Refrigeration and Abuse Temperatures, Appl. Environ. Microbiol. 57(12): 3423-3428.

Papagianni, M., Anastasiadou, S., 2009, Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications, Microbiol. Cell Fact. 8: 1-16.

Plengvidhya, V., Breidt, F., Lu, Z., Fleming, H.P., 2007, DNA Fingerprinting of Lactic Acid Bacteria in Sauerkraut Fermentations, Appl. Environ. Microbiol. 73(23): 7697-7702.

Pucci, M.J., Vedamuthu, E.R., Kunka, B.S., Vandenbergh, P.A., 1988, Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Using Bacteriocin PA-1 Produced by *Pediococcus acidilactici* PAC 1.0, Appl. Environ. Microbiol. 54(10): 2349-2353.

Shukla, R. & Goyal, A., 2013, Novel dextran from Pediococcus pentosaceus CRAG3 isolated from fermented cucumber with anti-cancer properties, Int. J. Biol. Macromol. 62: 352-357.

Tanasupawat, S., Shida, O., Okada, S., Komagata, K., 2000, *Lactobacillus acidipiscis* sp. nov. and *Weissella thailandensis* sp. nov., isolated from fermented fish in Thailand, Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 1479-1485.

Tserovska, L., Stefanova, S., Yordanova, T., 2002, Identification of lactic acid bacteria isolated from Katyk, goat's milk and cheese, J. Cult. Collect. 3(1): 48-52.

Whittenbury, R., 1964, Hydrogen Peroxide Formation and Catalase Activity in the Lactic Acid Bacteria, J. gen. Microbiol. 35: 13-26.

Williams, G.A., Blazevic, D.J., Ederer, G.M., 1971, Detection of Arginine Dihydrolase in Nonfermentative Gram-Negative Bacteria by Use of Thin-Layer Chromatography, Appl. Microbiol. 22(6): 1135-1137.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. สูตรอาหารแข็ง Lactobacilli deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) agar

Dextrose	20.00 กรัม
Meat peptone	10.00 กรัม
Beef extract	10.00 กรัม
Yeast extract	5.00 กรัม
Sodium acetate	5.00 กรัม
Disodium phosphate	2.00 กรัม
Ammonium citrate	2.00 กรัม
Tween®80	1.00 กรัม
Magnesium Sulfate	0.10 กรัม
Manganese Sulfate	0.05 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำอาหารมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 6.5 ± 0.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. สารละลาย Phosphate buffer solution (PBS)

$Na_2HPO_4.12H_2O$	9.00 กรัม
KH_2HPO_4	1.50 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำสารต่าง ๆมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.0 ± 0.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. สูตรอาหารเหลว Phenol red carbohydrate broth

Tryptone	10.00 กรัม
NaCl	5.00 กรัม
Phenol red	0.018 กรัม
น้ำตาล	5.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำอาหารแต่ละหลอดใส่น้ำตาลแต่ละชนิดมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.4 ± 0.2 ยกเว้น น้ำตาลแลคโตสกับแมนนิทอลที่ปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.3 ± 0.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

4. สูตรอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว Motility medium

Tryptone	10.00 กรัม
NaCl	5.00 กรัม
Beef extract	3.00 กรัม
Agar	4.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำอาหารมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.3 ± 0.3 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเอาออกจากเครื่องแล้วตั้งหลอดให้ตรงจนว่าอาหารจะแข็งตัว

5. สูตรอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว Arginine dihydrolase medium

Beef extract	1.00 กรัม
NaCl	5.00 กรัม
K_2HPO_4	0.30 กรัม
L-arginine	10.00 กรัม
Bromocresol purple	0.016 กรัม

Agar	4.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำอาหารมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 6.0 ± 0.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเอาออกจากเครื่องแล้วตั้งหลอดให้ตรงจนว่าอาหารจะแข็งตัว

6. สูตรอาหารแข็ง Nutrient agar (NA)

Beef extract	3.00 กรัม
Peptone	5.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำอาหารมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 6.8 ± 0.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. สูตรอาหารแข็ง Plate count agar (PCA)

Pancreatic Digest of Casein	3.00 กรัม
Yeast extract	2.50 กรัม
Dextrose	1.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นำอาหารมาละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับค่าพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.0 ± 0.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

8. สายละลาย Glycerol 30 เปอร์เซ็นต์

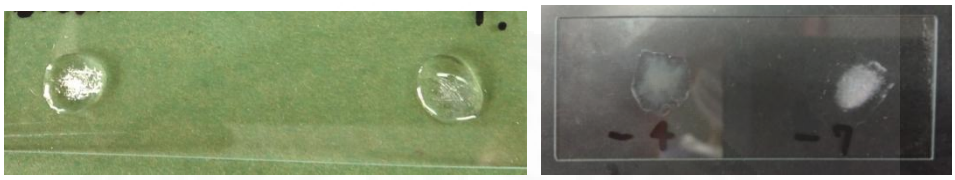
Glycerol เข้มข้น	30 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	70 มิลลิลิตร

นำสารต่าง ๆมาละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ไว้ใช้สำหรับเก็บเชื้อแบคทีเรีย

ภาคผนวก ข

ภาพการทดสอบเอนไซม์แคตาเลส การเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย และการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน

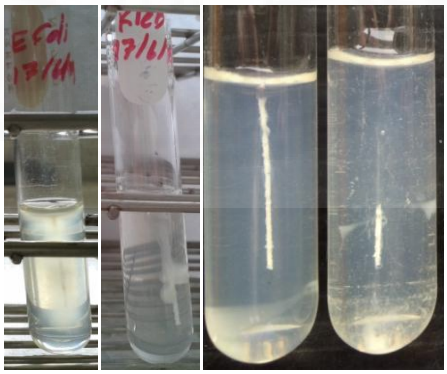
1. การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส



+ - NU01 (-) PR04 (+)

ภาพที่ ข.1 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตาเลส (Gelman *et al.*, 2001)
โดย *Escherichia coli* ATCC 25922 ให้ผลบวก (+)
Enterococcus faecalis ATCC 29212 ให้ผลลบ (-)
NU01 คือ ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่มไอโซเลตที่ 1 ให้ผลลบ
PR04 คือ ตัวอย่างน้ำพริกปลาร้าไอโซเลตที่ 4 ให้ผลบวก

2. การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย

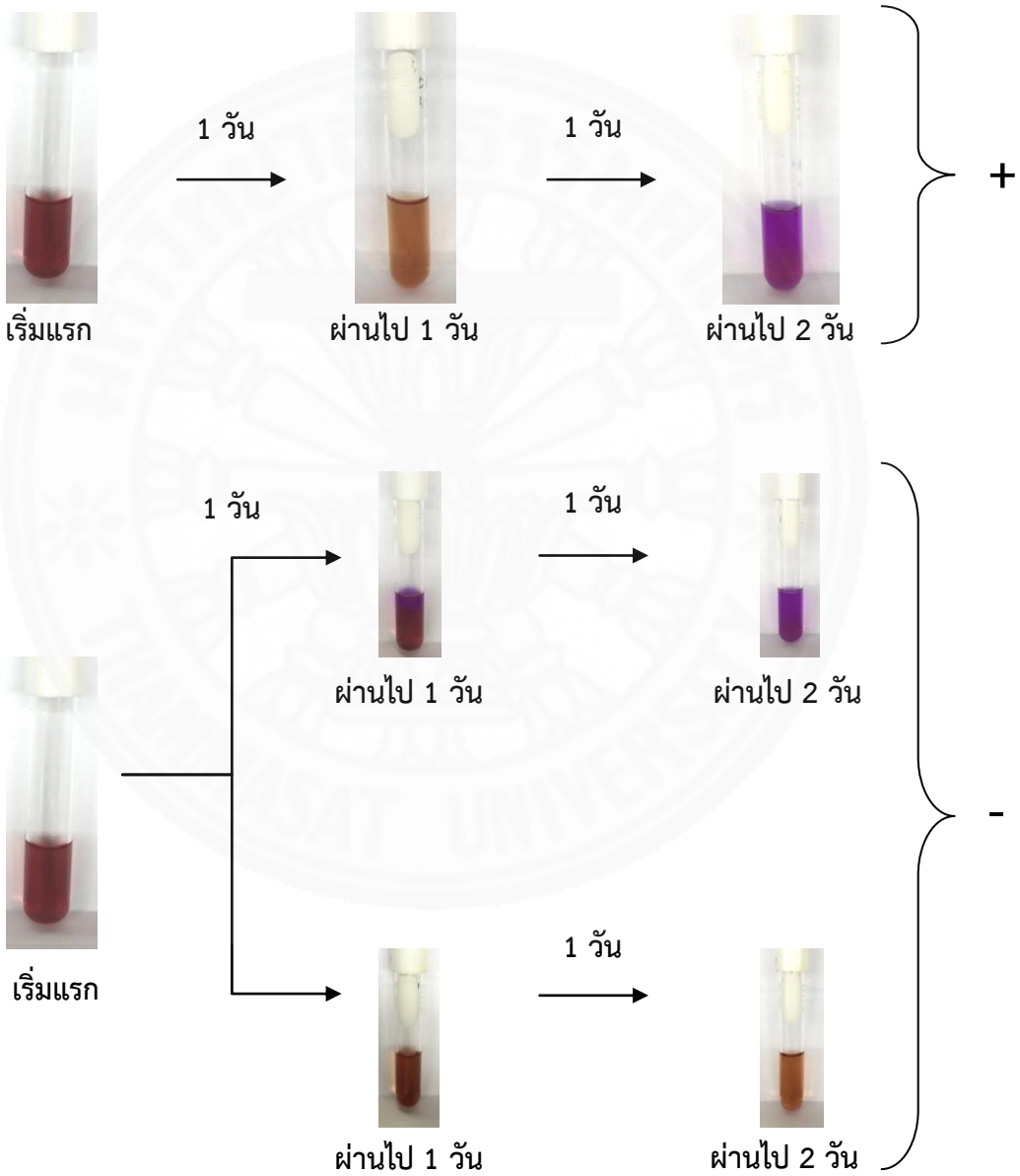


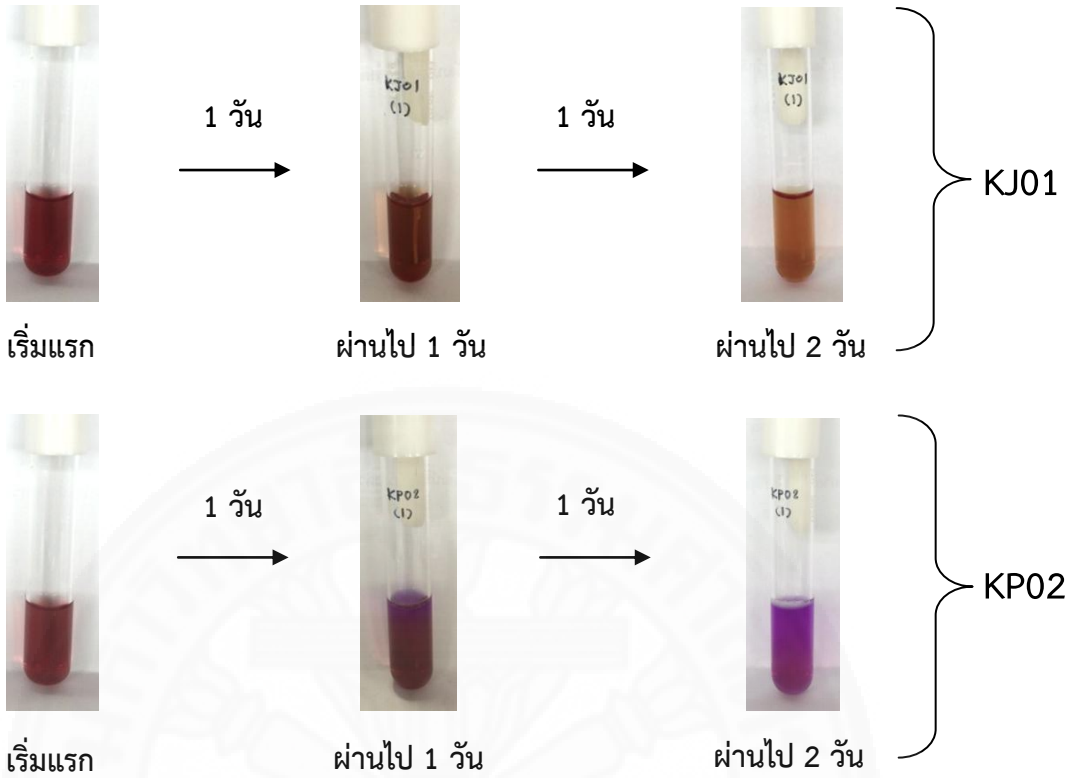
+ - MG02 (-) KP04 (-)

ภาพที่ ข.2 การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย (Horn *et al*, 2002)
โดย *Escherichia coli* ATCC 25922 ให้ผลบวก (+)
Klebsiella pseumoniae TISTR 1383 ให้ผลลบ (-)

MG02 คือ ตัวอย่างน้ำพริกมะม่วงไอโซเลตที่ 2 ให้ผลลบ
KP04 คือ ตัวอย่างน้ำพริกกะปิไอโซเลตที่ 4 ให้ผลลบ

3. การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน





ภาพที่ ข.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อาร์จินีนไดไฮโดรเลสในอาหารที่มีการเติมอาร์จินีน (Williams *et al*, 1971)

โดย *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ให้ผลบวก (+)

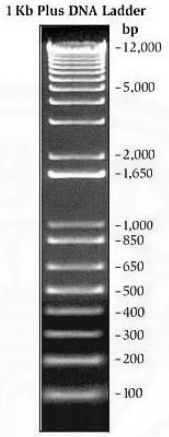
Klebsiella pseumoniae TISTR 1383 ให้ผลลบ (-)

KJ01 คือ ตัวอย่างน้ำพริกกุ้งจ่อมไอโซเลตที่ 1 ให้ผลลบ

KP02 คือ ตัวอย่างน้ำพริกกะปิไอโซเลตที่ 2 ให้ผลลบ

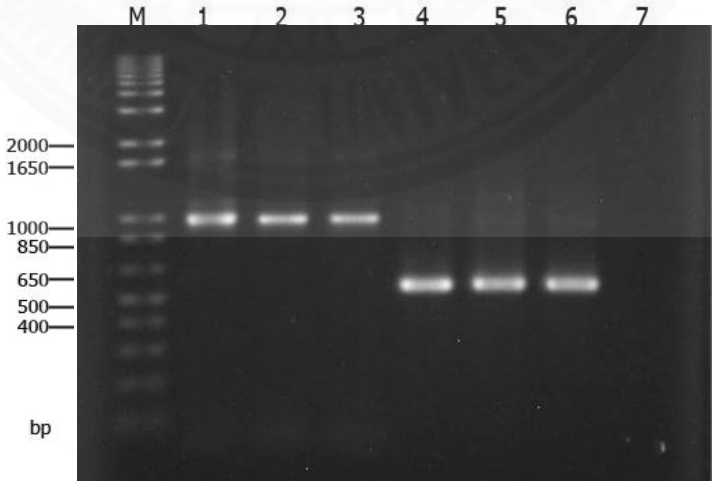
ภาคผนวก ค
การแยกขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

1. เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้สำหรับการทำวิจัย



ภาพที่ ค.1 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™ Life Technology, USA) ที่ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์และมีความเข้มข้นของเจล 0.9 เปอร์เซ็นต์

2. ภาพถ่ายของเจลอะกาโรสของตัวอย่างที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 500 และ 1,000 คู่เบส



ภาพที่ ค.2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียบริเวณยีน *16S rRNA*

กำหนดให้ M คือ 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™ Life Technology, USA)

1 คือ MG01 ที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 1,000 คู่เบส

2 คือ KJ05 ที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 1,000 คู่เบส

3 คือ PR09 ที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 1,000 คู่เบส

4 คือ MG01 ที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 500 คู่เบส

5 คือ KJ05 ที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 500 คู่เบส

6 คือ PR09 ที่มีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 500 คู่เบส

7 คือ ช่องเปล่า

ภาคผนวก ง
การระบุสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* spp.

1. จำนวนสายพันธุ์ *Pseudomonas* spp. ที่ระบุได้

ตารางที่ ง.1 ผลที่ได้จากการระบุสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* spp. ที่เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล

สกุล (genus)	ชนิด (species)	สายพันธุ์ (strain)	ไอโซเลต (isolate)
Pseudomonas	*fluorescens*	LMG 5938	NU02 NU04 NU05 MG01 MG02 PR01 PR03 PR04 และ PR06
		LMG 14674	KJ01
	panacis	HX-C01	NU03 KP02
	brenneri	BD97-00094	PR05
		BD97-00095	MG03
		BD09-00135	PR08

ภาคผนวก จ

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Pseudomonas* spp.

1. การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Pseudomonas* spp. ที่ระบุได้ด้วยยีน *16S rRNA*

```
CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

                 ไพร์เมอร์ส่วนหน้า (Forward primer)
KP02             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
NU03             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
NU04             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
PR08             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
PR05             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
KJ01             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
MG02             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
MG03             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
NU02             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
PR06             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
MG01             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCCGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
PR04             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
NU05             AGAGTTTGATCCTGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
PR01             AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGC
PR03             AGAGTTTGATCATGGCTCAGCATGTACACTGGCGGCAGTCATA-CACATGCAAGTCGAGC
                                     **  ** ** ***** **** * ** ***************

KP02             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
NU03             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
NU04             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
PR08             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
PR05             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
KJ01             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
MG02             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
MG03             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
NU02             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
PR06             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
MG01             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
PR04             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
NU05             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
PR01             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
PR03             GGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCT
                 ************************************************************

KP02             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
NU03             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
NU04             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
PR08             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
PR05             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
KJ01             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
MG02             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
MG03             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
NU02             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
PR06             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
MG01             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
PR04             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
NU05             GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
```

```
PR01            GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
PR03            GCCTGGTAGTGGGGGATAACGTTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
                ************************************************************

KP02            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
NU03            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
NU04            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
PR08            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
PR05            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
KJ01            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
MG02            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
MG03            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
NU02            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
PR06            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
MG01            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
PR04            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
NU05            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
PR01            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
PR03            GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTT
                ************************************************************

KP02            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
NU03            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
NU04            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
PR08            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
PR05            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
KJ01            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
MG02            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
MG03            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
NU02            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
PR06            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
MG01            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
PR04            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
NU05            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
PR01            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
PR03            GGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCA
                ************************************************************

KP02            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
NU03            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
NU04            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
PR08            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
PR05            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
KJ01            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
MG02            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
MG03            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
NU02            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
PR06            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
MG01            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
PR04            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
NU05            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
PR01            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
PR03            CACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACA
                ************************************************************

KP02            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
NU03            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
NU04            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
PR08            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
PR05            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
KJ01            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
MG02            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
MG03            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
NU02            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
```

```
PR06            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
MG01            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
PR04            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
NU05            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
PR01            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
PR03            ATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAG
                ************************************************************

KP02            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
NU03            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
NU04            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
PR08            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
PR05            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
KJ01            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
MG02            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
MG03            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
NU02            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
PR06            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
MG01            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
PR04            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
NU05            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
PR01            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
PR03            CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACA
                ************************************************************

KP02            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
NU03            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
NU04            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
PR08            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
PR05            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
KJ01            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
MG02            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
MG03            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
NU02            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
PR06            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
MG01            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
PR04            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
NU05            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
PR01            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
PR03            GAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
                ************************************************************

KP02            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
NU03            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
NU04            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
PR08            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
PR05            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
KJ01            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
MG02            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
MG03            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
NU02            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
PR06            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
MG01            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
PR04            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
NU05            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
PR01            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
PR03            ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTAGTTAAGTTGGATGTGAAATCCC
                ************************************************************

KP02            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
NU03            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
NU04            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
PR08            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
PR05            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
```

```
KJ01            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
MG02            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
MG03            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
NU02            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
PR06            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
MG01            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
PR04            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
NU05            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
PR01            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
PR03            CGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTCAAAACTGACTGACTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
                ************************************************************

KP02            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
NU03            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
NU04            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
PR08            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
PR05            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
KJ01            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
MG02            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
MG03            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
NU02            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
PR06            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
MG01            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
PR04            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
NU05            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
PR01            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
PR03            GAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
                ************************************************************

KP02            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
NU03            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
NU04            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
PR08            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
PR05            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
KJ01            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
MG02            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
MG03            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
NU02            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
PR06            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
MG01            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
PR04            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
NU05            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
PR01            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
PR03            ACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT
                ************************************************************

KP02            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
NU03            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
NU04            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
PR08            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
PR05            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
KJ01            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
MG02            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
MG03            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
NU02            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
PR06            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
MG01            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
PR04            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
NU05            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTTAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
PR01            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
PR03            ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAG
                ***************************** ******************************
```

```
KP02        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
NU03        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
NU04        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
PR08        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
PR05        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
KJ01        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
MG02        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
MG03        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTC-
NU02        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
PR06        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
MG01        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
PR04        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
NU05        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
PR01        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAATACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
PR03        TGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCA
            ************************************ **********************

KP02        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
NU03        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
NU04        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
PR08        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
PR05        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
KJ01        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
MG02        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
MG03        ------------------------------------------------GAAGCAACGCG
NU02        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
PR06        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
MG01        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
PR04        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
NU05        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
PR01        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
PR03        AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
                                                            ***********

KP02        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
NU03        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
NU04        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
PR08        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
PR05        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
KJ01        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGCACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
MG02        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
MG03        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
NU02        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
PR06        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
MG01        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
PR04        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
NU05        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
PR01        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
PR03        AAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCGG
            ****************************** ****************************

KP02        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
NU03        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
NU04        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
PR08        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
PR05        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
KJ01        GAACATTGAGACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
MG02        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
MG03        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
NU02        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
PR06        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
MG01        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
PR04        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
NU05        GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
```

```
PR01            GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
PR03            GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAA
                ***************** ****************************************

KP02            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
NU03            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
NU04            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
PR08            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
PR05            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
KJ01            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAA
MG02            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
MG03            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
NU02            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
PR06            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
MG01            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
PR04            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
NU05            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
PR01            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
PR03            GTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAA
                ****************************************** ****************

KP02            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
NU03            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
NU04            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
PR08            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
PR05            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
KJ01            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
MG02            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
MG03            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
NU02            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
PR06            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
MG01            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
PR04            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
NU05            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
PR01            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
PR03            GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTT
                ************************************************************

KP02            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
NU03            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
NU04            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
PR08            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
PR05            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
KJ01            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
MG02            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
MG03            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
NU02            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
PR06            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
MG01            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
PR04            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
NU05            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
PR01            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
PR03            ACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGT
                ************************************************************

KP02            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
NU03            GGAGCTAATCCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
NU04            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
PR08            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
PR05            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
KJ01            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
MG02            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
MG03            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
NU02            GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
```

```
PR06        GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
MG01        GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
PR04        GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
NU05        GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
PR01        GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
PR03        GGAGCTAATCCCACAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
            ************ *******************************************

KP02        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
NU03        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
NU04        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
PR08        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
PR05        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
KJ01        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
MG02        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
MG03        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
NU02        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
PR06        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
MG01        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
PR04        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
NU05        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
PR01        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
PR03        AGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
            ************************************************************

KP02        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
NU03        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
NU04        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
PR08        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
PR05        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
KJ01        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
MG02        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
MG03        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
NU02        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
PR06        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
MG01        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
PR04        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
NU05        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
PR01        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
PR03        TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTC
            ************************************************************

KP02        GGGGGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
NU03        GGGGGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
NU04        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
PR08        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
PR05        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGTA
KJ01        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
MG02        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
MG03        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
NU02        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR06        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
MG01        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR04        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
NU05        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR01        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
PR03        GGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
            *** *************************** ****************************
```

ไพร์เมอร์ส่วนหลัง (Reverse primer)

ภาพที่ จ.1 ผลจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* ของ *Pseudomonas* spp. ทั้งหมด 15 ไอโซเลต ด้วยโปรแกรม ClustalW โดยกำหนดให้แถบสีต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบการแทรกเพิ่มหรือขาดหาย (Indel)

แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบทรานสเวอร์ชัน (Transverion)

แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบไพริมิดีนทรานสิชัน (Pyrimidine transition)

แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายแบบพิวรีนทรานสิชัน (Purine transition)

แสดงถึง ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการกลายหลายแบบ

ตารางที่ จ.1 ตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *16S rRNA* ของ *Pseudomonas* spp.

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
21	PR03	Transversion	A to C
22	PR03	Transversion	T to A
25	PR03	Transversion	A to T
28	PR03	Purine transition	G to A
34	MG01	Transversion	C to G
39	PR03	Transversion	G to T
41	PR03	Transversion	C to A
44	PR03	Indel	Deleted A
810	NU05	Pyrimidine transition	C to T
877	PR01	Purine transition	G to A
900	MG03	Indel	Deleted A
901	MG03	Indel	Deleted A
902	MG03	Indel	Deleted A
903	MG03	Indel	Deleted T
904	MG03	Indel	Deleted G
905	MG03	Indel	Deleted A
906	MG03	Indel	Deleted A
907	MG03	Indel	Deleted T
908	MG03	Indel	Deleted T
909	MG03	Indel	Deleted G

ตารางที่ จ.1 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
910	MG03	Indel	Deleted A
911	MG03	Indel	Deleted C
912	MG03	Indel	Deleted G
913	MG03	Indel	Deleted G
914	MG03	Indel	Deleted G
915	MG03	Indel	Deleted G
916	MG03	Indel	Deleted G
917	MG03	Indel	Deleted C
918	MG03	Indel	Deleted C
919	MG03	Indel	Deleted C
920	MG03	Indel	Deleted G
921	MG03	Indel	Deleted C
922	MG03	Indel	Deleted A
923	MG03	Indel	Deleted C
924	MG03	Indel	Deleted A
925	MG03	Indel	Deleted A
926	MG03	Indel	Deleted G
927	MG03	Indel	Deleted C
928	MG03	Indel	Deleted G
929	MG03	Indel	Deleted G

ตารางที่ จ.1 (ต่อ)

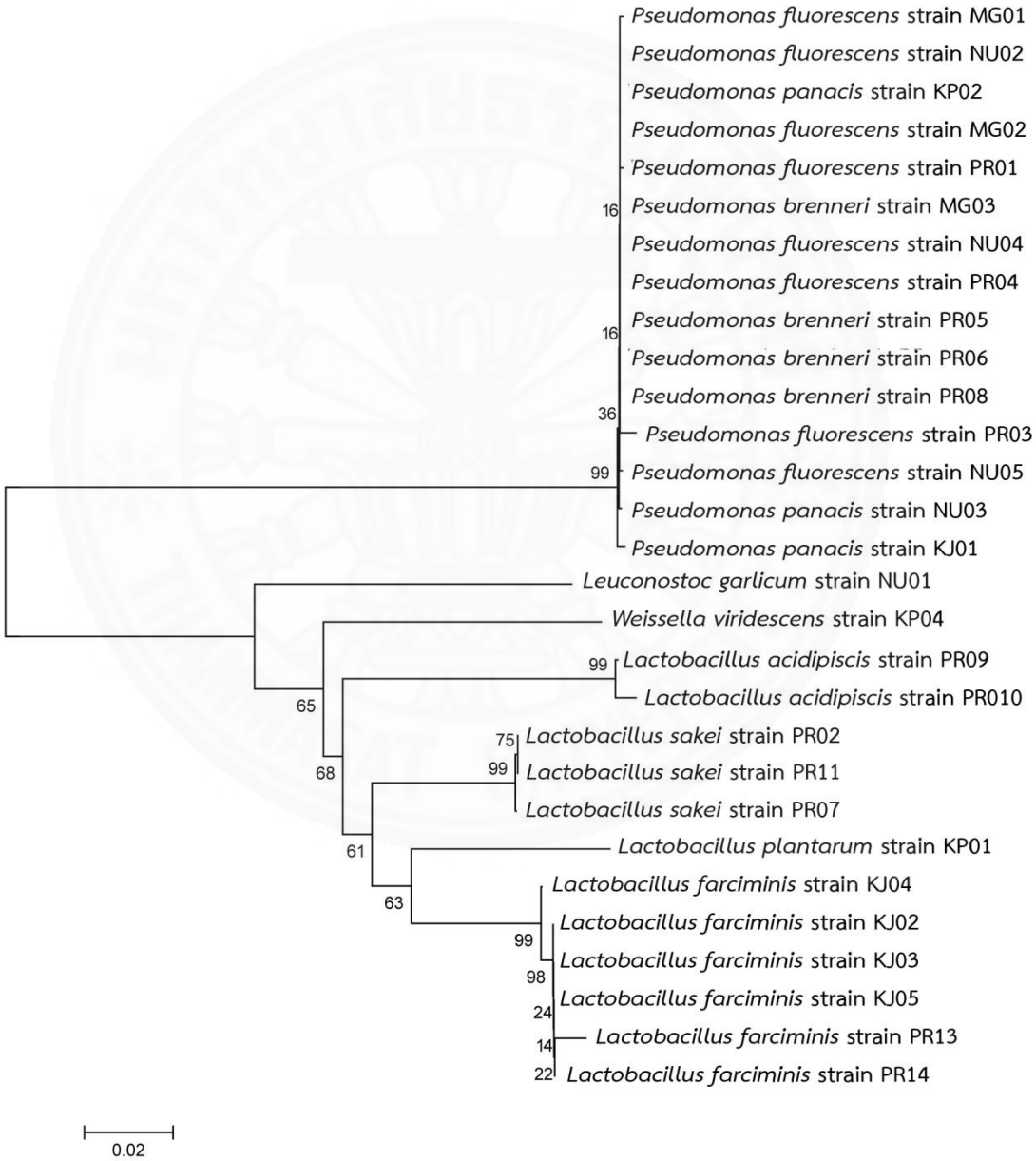
ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
930	MG03	Indel	Deleted T
931	MG03	Indel	Deleted G
932	MG03	Indel	Deleted G
933	MG03	Indel	Deleted A
934	MG03	Indel	Deleted G
935	MG03	Indel	Deleted C
936	MG03	Indel	Deleted A
937	MG03	Indel	Deleted T
938	MG03	Indel	Deleted G
939	MG03	Indel	Deleted T
940	MG03	Indel	Deleted G
941	MG03	Indel	Deleted G
942	MG03	Indel	Deleted T
943	MG03	Indel	Deleted T
944	MG03	Indel	Deleted T
945	MG03	Indel	Deleted A
946	MG03	Indel	Deleted A
947	MG03	Indel	Deleted T
948	MG03	Indel	Deleted T
949	MG03	Indel	Deleted C

ตารางที่ จ.1 (ต่อ)

ตำแหน่ง	สายพันธุ์	ประเภทการเปลี่ยนแปลง	รูปแบบการเปลี่ยนแปลง
991	KJ01	Transversion	A to C
1038	KJ01	Transversion	C to G
1124	KJ01	Transversion	A to T
1274	NU03	Transversion	C to G
1444	KP02 และ NU03	Purine transition	A to G
1472	NU03	Pyrimidine transition	C to T

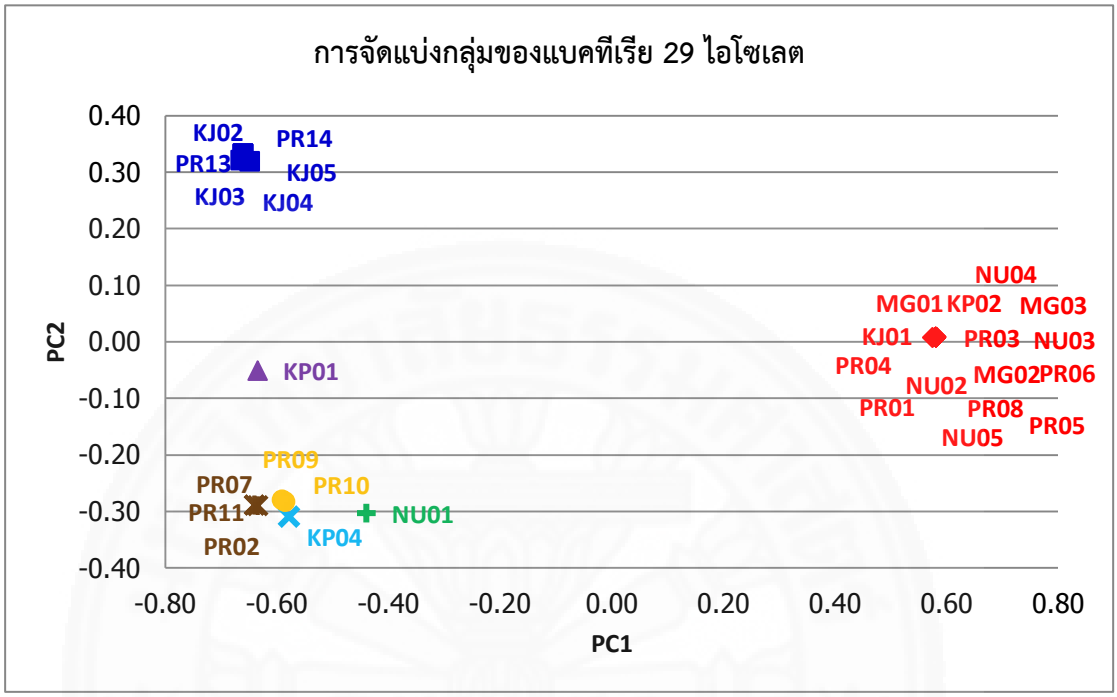
ภาคผนวก ฉ
แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและกราฟการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่ม ทั้งหมด 29 ไอโซเลต

1. แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต



ภาพที่ ฉ.1 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต

2. กราฟการวิเคราะห์การจัดแบ่งกลุ่มทั้งหมด 29 ไอโซเลต



ภาพที่ ฉ.2 กราฟการกระจายแบบ 2 มิติสำหรับการจัดกลุ่มของแบคทีเรียทั้งหมด 29 ไอโซเลต โดย ■ *Lactobacillus farciminis*, ▲ *Lactobacillus plantarum*, ● *Lactobacillus acidipiscis*, ✱ *Lactobacillus sakei*, ✚ *Leuconostoc galicum*, ✖ *Weissella viridescens*, ◆ *Pseudomonas* spp.

ภาคผนวก ช

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย 29 ไอโซเลตจากฐานข้อมูล

```
LOCUS       KJ01                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   KJ01
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain KJ01
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain KJ01
            Unclassified.
REFERENCE   5  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain KJ01 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.
            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain KJ01"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      381 a    330 c    471 g    319 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg cactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtggtg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgttatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KJ01 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KJ02                    1531 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   KJ02
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus farciminis strain KJ02
  ORGANISM  Lactobacillus farciminis strain KJ02
            Unclassified.
REFERENCE   3  (bases 1 to 1531)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus farciminis strain KJ02 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1531)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1531
                     /organism="Lactobacillus farciminis strain KJ02"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1531
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      413 a    337 c    445 g    336 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag gacgaacgct ggcggcatgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gaaccatcct gaagattgaa gcttgcttca tgattcagac cttggtgagt ggcggacggg
      121 tgagtaacac gtgggtaacc tgcccaaaag tgggggataa catttggaaa caagtgctaa
      181 taccgcataa caactacttt cacatgatcg tagcttgaaa gatggctctg ctatcgcttt
      241 tggatggacc cgcggcgtat tagctagttg gtgaggtaat agctcaccaa ggcaatgata
      301 cgtagccgac ctgagagggt aatcggccac attgggactg agacacggcc caaactccta
      361 cgggaggcag cagtagggaa tcttccacaa tgggcgaaag cctgatggag caatgccgcg
      421 tgagtgaaga aggttttcgg atcgtaaaac tctgttgttg aagaagaaca tgcgtgagag
      481 taactgttca cgtactgacg gtattcaacc agaaagccac ggctaactac gtgccagcag
      541 ccgcggtaat acgtaggtgg caagcgttgt ccggatttat tgggcgtaaa gagaatgtag
      601 gcggtttatt aagtttgaag tgaaagccct cggctcaacc gaggaagtgc ttcgaaaact
      661 ggtaaacttg agtgcagaag aggaaagtgg aactccatgt gtagcggtgg aatgcgtaga
      721 tatatggaag aacaccagtg gcgaaggcgg ctttctggtc tgtaactgac gctgagattc
      781 gaaagcatgg gtagcaaaca ggattagata ccctggtagt ccatgccgta aacgatgagt
      841 gctaagtgtt ggagggtttc cgcccttcag tgctgcagct aacgcattaa gcactccgcc
      901 tggggagtac gatcgcaaga ttgaaactca aaggaattga cgggggcccg cacaagcggt
      961 ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta ccaggtcttg acataccatg
     1021 acaaactaag agattagtct ttcccttcgg ggacatggat acaggtggtg catggttgtc
     1081 gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgcaac gagcgcaacc cttattatca
     1141 gttgccagca ttcagttggg cactctggtg agactgccgg tgacaaaccg gaggaaggtg
     1201 gggacgacgt caaatcatca tgccccttat gacctgggct acacacgtgc tacaatggtc
     1261 ggtacaacgt gttgcgaact cgcgagggca agcaaatcac ttaaaaccga tctcagttcg
     1321 gattgcaggc tgcaactcgc ctgcatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcat
     1381 gccgcggtga atacgttccc gggccttgta cacaccgccc gtcacaccat gagagtttgt
     1441 aacacccaaa gtcggtgggg taacccttcg gggaactagc cgcctaaggt gggacaaatg
     1501 attagggtga agtcgtaaca aggtagccgt a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KJ02 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KJ03                    1531 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   KJ03
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus farciminis strain KJ03
  ORGANISM  Lactobacillus farciminis strain KJ03
            Unclassified.
REFERENCE   4  (bases 1 to 1531)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus farciminis strain KJ03 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1531)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1531
                     /organism="Lactobacillus farciminis strain KJ03"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1531
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      413 a    337 c    445 g    336 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag gacgaacgct ggcggcatgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gaaccatcct gaagattgaa gcttgcttca tgattcagac cttggtgagt ggcggacggg
      121 tgagtaacac gtgggtaacc tgcccaaaag tgggggataa catttggaaa caagtgctaa
      181 taccgcataa caactacttt cacatgatcg tagcttgaaa gatggctctg ctatcgcttt
      241 tggatggacc cgcggcgtat tagctagttg gtgaggtaat agctcaccaa ggcaatgata
      301 cgtagccgac ctgagagggt aatcggccac attgggactg agacacggcc caaactccta
      361 cgggaggcag cagtagggaa tcttccacaa tgggcgaaag cctgatggag caatgccgcg
      421 tgagtgaaga aggttttcgg atcgtaaaac tctgttgttg aagaagaaca tgcgtgagag
      481 taactgttca cgtactgacg gtattcaacc agaaagccac ggctaactac gtgccagcag
      541 ccgcggtaat acgtaggtgg caagcgttgt ccggatttat tgggcgtaaa gagaatgtag
      601 gcggtttatt aagtttgaag tgaaagccct cggctcaacc gaggaagtgc ttcgaaaact
      661 ggtaaacttg agtgcagaag aggaaagtgg aactccatgt gtagcggtgg aatgcgtaga
      721 tatatggaag aacaccagtg gcgaaggcgg ctttctggtc tgtaactgac gctgagattc
      781 gaaagcatgg gtagcaaaca ggattagata ccctggtagt ccatgccgta aacgatgagt
      841 gctaagtgtt ggagggtttc cgcccttcag tgctgcagct aacgcattaa gcactccgcc
      901 tggggagtac gatcgcaaga ttgaaactca aaggaattga cgggggcccg cacaagcggt
      961 ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta ccaggtcttg acataccatg
     1021 acaaactaag agattagtct ttcccttcgg ggacatggat acaggtggtg catggttgtc
     1081 gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgcaac gagcgcaacc cttattatca
     1141 gttgccagca ttcagttggg cactctggtg agactgccgg tgacaaaccg gaggaaggtg
     1201 gggacgacgt caaatcatca tgccccttat gacctgggct acacacgtgc tacaatggtc
     1261 ggtacaacgt gttgcgaact cgcgagggca agcaaatcac ttaaaaccga tctcagttcg
     1321 gattgcaggc tgcaactcgc ctgcatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcat
     1381 gccgcggtga atacgttccc gggccttgta cacaccgccc gtcacaccat gagagtttgt
     1441 aacacccaaa gtcggtgggg taacccttcg gggaactagc cgcctaaggt gggacaaatg
     1501 attagggtga agtcgtaaca aggtagccgt a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KJ03 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KJ04                    1530 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   KJ04
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus farciminis strain KJ04
  ORGANISM  Lactobacillus farciminis strain KJ04
            Unclassified.
REFERENCE   5  (bases 1 to 1530)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus farciminis strain KJ04 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1530)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1530
                     /organism="Lactobacillus farciminis strain KJ04"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1530
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      412 a    336 c    446 g    336 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag acgaacgctg gcggcatgcc taatacatgc aagtcgaacg
       61 aaccatcctg aagattgaag cttgcttcat gattcagact ttggtgagtg gcggacgggt
      121 gagtaacacg tgggtaacct gcccaaaagt gggggataac atttggaaac aagtgctaat
      181 accgcataac aactactttc acatgatcgt agcttgaaag atggctctgc tatcgctttt
      241 ggatggaccc gcggcgtatt agctagttgg tgaggtaata gctcaccaag gcaatgatac
      301 gtagccgacc tgagagggta atcggccaca ttgggactga gacacggccc aaactcctac
      361 gggaggcagc agtagggaat cttccacaat gggcgaaagc ctgatggagc aatgccgcgt
      421 gagtgaagaa ggttttcgga tcgtaaaact ctgttgttga agaagaacat gcgtgagagt
      481 aactgttcac gtactgacgg tattcaacca gaaagccacg gctaactacg tgccagcagc
      541 cgcggtaata cgtaggtggc aagcgttgtc cggatttatt gggcgtaaag agaatgtagg
      601 cggtttatta agtttgaagt gaaagccctc ggctcaaccg aggaagtgct tcgaaaactg
      661 gtaaacttga gtgcagaaga ggaaagtgga actccatgtg tagcggtgga atgcgtagat
      721 atatggaaga acaccagtgg cgaaggcggc tttctggtct gtaactgacg ctgagattcg
      781 aaagcatggg tagcaaacag gattagatac cctggtagtc catgccgtaa acgatgagtg
      841 ctaagtgttg gagggtttcc gcccttcagt gctgcagcta acgcattaag cactccgcct
      901 ggggagtacg accgcaaggt tgaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggtg
      961 gagcatgtgg tttaattcga agcaacgcga agaaccttac caggtcttga cataccatga
     1021 aaagctaaga gattagtctt tcccttcggg gacatggata caggtggtgc atggttgtcg
     1081 tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcaaccc ttattatcag
     1141 ttgccagcat tcagttgggc actctggtga gactgccggt gacaaaccgg aggaaggtgg
     1201 ggacgacgtc aaatcatcat gccccttatg acctgggcta cacacgtgct acaatggtcg
     1261 gtacaacgtg ttgcgaactc gcgagggcaa gcaaatcact taaaaccgat ctcagttcgg
     1321 attgcaggct gcaactcgcc tgcatgaagc tggaatcgct agtaatcgcg gatcagcatg
     1381 ccgcggtgaa tacgttcccg ggccttgtac acaccgcccg tcacaccatg agagtttgta
     1441 acacccaaag tcggtggggt aacccttcgg ggaactagcc gcctaaggtg ggacaaatga
     1501 ttagggtgaa gtcgtaacaa ggtagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KJ04 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KJ05                    1531 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   KJ05
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus farciminis strain KJ05
  ORGANISM  Lactobacillus farciminis strain KJ05
            Unclassified.
REFERENCE   6  (bases 1 to 1531)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus farciminis strain KJ05 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1531)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1531
                     /organism="Lactobacillus farciminis strain KJ05"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1531
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      413 a    337 c    445 g    336 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag gacgaacgct ggcggcatgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gaaccatcct gaagattgaa gcttgcttca tgattcagac cttggtgagt ggcggacggg
      121 tgagtaacac gtgggtaacc tgcccaaaag tgggggataa catttggaaa caagtgctaa
      181 taccgcataa caactacttt cacatgatcg tagcttgaaa gatggctctg ctatcgcttt
      241 tggatggacc cgcggcgtat tagctagttg gtgaggtaat agctcaccaa ggcaatgata
      301 cgtagccgac ctgagagggt aatcggccac attgggactg agacacggcc caaactccta
      361 cgggaggcag cagtagggaa tcttccacaa tgggcgaaag cctgatggag caatgccgcg
      421 tgagtgaaga aggttttcgg atcgtaaaac tctgttgttg aagaagaaca tgcgtgagag
      481 taactgttca cgtactgacg gtattcaacc agaaagccac ggctaactac gtgccagcag
      541 ccgcggtaat acgtaggtgg caagcgttgt ccggatttat tgggcgtaaa gagaatgtag
      601 gcggtttatt aagtttgaag tgaaagccct cggctcaacc gaggaagtgc ttcgaaaact
      661 ggtaaacttg agtgcagaag aggaaagtgg aactccatgt gtagcggtgg aatgcgtaga
      721 tatatggaag aacaccagtg gcgaaggcgg ctttctggtc tgtaactgac gctgagattc
      781 gaaagcatgg gtagcaaaca ggattagata ccctggtagt ccatgccgta aacgatgagt
      841 gctaagtgtt ggagggtttc cgcccttcag tgctgcagct aacgcattaa gcactccgcc
      901 tggggagtac gatcgcaaga ttgaaactca aaggaattga cgggggcccg cacaagcggt
      961 ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta ccaggtcttg acataccatg
     1021 acaaactaag agattagtct ttcccttcgg ggacatggat acaggtggtg catggttgtc
     1081 gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgcaac gagcgcaacc cttattatca
     1141 gttgccagca ttcagttggg cactctggtg agactgccgg tgacaaaccg gaggaaggtg
     1201 gggacgacgt caaatcatca tgccccttat gacctgggct acacacgtgc tacaatggtc
     1261 ggtacaacgt gttgcgaact cgcgagggca agcaaatcac ttaaaaccga tctcagttcg
     1321 gattgcaggc tgcaactcgc ctgcatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcat
     1381 gccgcggtga atacgttccc gggccttgta cacaccgccc gtcacaccat gagagtttgt
     1441 aacacccaaa gtcggtgggg taacccttcg gggaactagc cgcctaaggt gggacaaatg
     1501 attagggtga agtcgtaaca aggtagccgt a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KJ05 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KP01                    1471 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   KP01
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus plantarum strain KP01
  ORGANISM  Lactobacillus plantarum strain KP01
            Unclassified.
REFERENCE   10 (bases 1 to 1471)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus plantarum strain KP01 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1471)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1471
                     /organism="Lactobacillus plantarum strain KP01"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1471
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      390 a    325 c    429 g    327 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gaactctggt attgattggt gcttgcatca tgatttacat ttgagtgagt ggcgaactgg
      121 tgagtaacac gtgggaaacc tgcccagaag cgggggataa cacctggaaa cagatgctaa
      181 taccgcataa caacttggac cgcatggtcc gagcttgaaa gatggcttcg gctatcactt
      241 ttggatggtc ccgcggcgta ttagctagat ggtggggtaa cggctcacca tggcaatgat
      301 acgtagccga cctgagaggg taatcggcca cattgggact gagacacggc ccaaactcct
      361 acgggaggca gcagtaggga atcttccaca atggacgaaa gtctgatgga gcaacgccgc
      421 gtgagtgaag aagggtttcg gctcgtaaaa ctctgtttgt aaagaagaac atatctgaga
      481 gtaactgttc aggtattgac ggtatttaac cagaaagcca cggctaacta cgtgccagca
      541 gccgcggtaa tacgtaggtg gcaagcgttg tccggattta ttgggcgtaa agcgagcgca
      601 ggcggttttt taagtctgat gtgaaagcct tcggctcaac cgaagaagtg catcggaaac
      661 tgggaaactt gagtgcagaa gaggacagtg gaactccatg tgtagcggtg aaatgcgtag
      721 atatatggaa gaacaccagt ggcgaaggcg gctgtctggt ctgtaactga cgctgaggct
      781 cgaaagtatg ggtagcaaac aggattagat accctggtag tccataccgt aaacgatgaa
      841 tgctaagtgt tggagggttt ccgcccttca gtgctgcagc taacgcatta agcattccgc
      901 ctggggagta cggccgcaag gctgaaactc aaaggaattg acgggggccc gcacaagcgg
      961 tggagcatgt ggtttaattc gaagctacgc gaagaacctt accaggtctt gacatactat
     1021 gcaaatctaa gagattagac gttcccttcg gggacatgga tacaggtggt gcatggttgt
     1081 cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgcaa cgagcgcaac ccttattatc
     1141 agttgccagc attaagttgg gcactctggt gagactgccg gtgacaaacc ggaggaaggt
     1201 ggggatgacg tcaaatcatc atgcccctta tgacctgggc tacacacgtg ctacaatgga
     1261 tggtacaacg agttgcgaac tcgcgagagt aagctaatct cttaaagcca ttctcagttc
     1321 ggattgtagg ctgcaactcg cctacatgaa gtcggaatcg ctagtaatcg cggatcagca
     1381 tgccgcggtg aatacgttcc cgggccttgt acacaccgcc cgtcacacca tgagagtttg
     1441 taacacccaa agtcgtaaca aggtagccgt a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KP01 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KP02                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   KP02
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas panacis strain KP02
  ORGANISM  Pseudomonas panacis strain KP02
            Unclassified.
REFERENCE   14 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas panacis Strain KP02 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas panacis strain KP02"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    330 c    470 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 ggggggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtaaccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KP02 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       KP04                    1520 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   KP04
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Weissella viridescens strain KP04
  ORGANISM  Weissella viridescens strain KP04
            Unclassified.
REFERENCE   14 (bases 1 to 1520)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Weisella viridescens strain KP04 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1520)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1520
                     /organism="Weissella viridescens strain KP04"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1520
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      418 a    330 c    429 g    343 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag gatgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gctttgtggt ccaactgatt tgaagagctt gctcagatat gacgatggac attgcaaaga
      121 gtggcgaacg ggtgagtaac acgtgggaaa cctacctctt agcaggggat aacacttgga
      181 aacaagtgct aataccgtat aacactaata accgcatggt tattagttaa aagatggtct
      241 tgctatcact aagagatggt cccgcggtgt attagctagt tggtaaggta atggcttacc
      301 aaggcaatga tacatagccg agttgagaga ctgatcggcc acaatgggac tgagacacgg
      361 cccatactcc tacgggaggc agcagtaggg aatcttccac aatggacgaa agtctgatgg
      421 agcaacgccg cgtgtgtgat gaagggtttc ggctcgtaaa acactgttgt aagagaagaa
      481 tgacattgag agtaactgtt cagtgtgtga cggtatctta ccagaaagga acggctaaat
      541 acgtgccagc agccgcggta atacgtatgt tccaagcgtt atccggattt attgggcgta
      601 aagcgagcgc agacggttat ttaagtccga agtgaaagcc cacagcttaa ctgtggaagt
      661 gctttggaaa ctggataact tgagtgcagt agaggagagt ggaactccat gtgtagcggt
      721 gaaatgcgta gatatatgga agaacaccag tggcgaaggc ggctctctgg actgtaactg
      781 acgttgaggc tcgaaagtgt gggtagcaaa caggattaga taccctggta gtccacaccg
      841 taaacgatga gtgctagatg tttgagggtt tccgccctta agtgtcgcag ctaacgcatt
      901 aagcactccg cctggggagt acgaccgcaa ggttgaaact caaaggaatt gacggggacc
      961 cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct
     1021 tgacatcctt tgaccacttc agagatgaag ctttcccttc ggggacaaag tgacaggtgg
     1081 tgcatggttg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcccgca acgagcgcaa
     1141 cccttattac tagttgccag cattcagttg ggcactctag tgagactgcc ggtgacaaac
     1201 cggaggaagg tggggatgac gtcaaatcat catgcccctt atgacctggg ctacacacgt
     1261 gctacaatgg caagtacaac gagcagctaa cccgcgaggg tacgcgaatc tcttaaaact
     1321 tgtctcagtt cggattgtag gctgcaactc gcctacatga agtcggaatc gctagtaatc
     1381 gcggatcagc acgccgcggt gaatacgttc ccgggtcttg tacacaccgc ccgtcacacc
     1441 atgagagttt gtaacaccca aagccggtga ggtaaccttt taggagccaa ccgtctaaaa
     1501 gtcgtaacaa ggtagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ KP04 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       MG01                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   MG01
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain MG01
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain MG01
            Unclassified.
REFERENCE   6  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain MG01 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain MG01"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    331 c    469 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggccgcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ MG01 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       MG02                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   MG02
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain MG02
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain MG02
            Unclassified.
REFERENCE   7  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain MG02 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain MG02"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    330 c    470 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ MG02 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       MG03                    1451 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   MG03
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas brenneri strain MG03
  ORGANISM  Pseudomonas brenneri strain MG03
            Unclassified.
REFERENCE   1  (bases 1 to 1451)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas brenneri Strain MG03 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1451)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1451
                     /organism="Pseudomonas brenneri strain MG03"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1451
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      370 a    321 c    453 g    307 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactcg
      901 aagcaacgcg aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg
      961 gtgccttcgg gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat
     1021 gttgggttaa gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg
     1081 ggcactctaa ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat
     1141 catggccctt acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa
     1201 gccgcgaggt ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc
     1261 gactgcgtga agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc
     1321 ccgggccttg tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag
     1381 tctaaccttc gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca
     1441 aggtagccgt a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ MG03 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       NU01                    1514 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   NU01
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Leuconostoc garlicum strain NU01
  ORGANISM  Leuconostoc garlicum strain NU01
            Unclassified.
REFERENCE   9  (bases 1 to 1514)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Leuconostoc garlicum strain NU01 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1514)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1514
                     /organism="Leuconostoc garlicum strain NU01"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1514
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      406 a    331 c    452 g    325 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag gatgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gcgcagcgaa aggtgcttgc acctttcaag cgagtggcga acgggtgagt aacacgtgga
      121 taacctgcct caaggctggg gataacattt ggaaacagat gctaataccg aataaaactt
      181 agtatcgcat gatacaaagt tgaaaggcgc tacggcgtca cctagagatg ggtccgcggt
      241 gcattagtta gttggtgggg taaaggccta ccaagacaat gatgcatagc cgagttgaga
      301 gactgatcgg ccacattggg actgagacac ggcccaaact cctacgggag gctgcagtag
      361 ggaatcttcc acaatgggcg aaagcctgat ggagcaacgc cgcgtgtgtg atgaaggctt
      421 tagggtcgta aagcactgtt gtatgggaag aaatgctaga atagggaatg attctagttc
      481 gacggtacca taccagaaag ggacggctaa atacgtgcca gcagccgcgg taatacgtat
      541 gtcccgagcg ttatccggat ttattgggcg taaagcgagc gcagacggtt gattaagtct
      601 gatgtgaaag cccggagctc aactccggaa tggcattgga aactggttaa cttgagtgtt
      661 gtagaggtaa gtggaactcc atgtgtagcg gtggaatgcg tagatatatg gaagaacacc
      721 agtggcgaag gcggcttact ggacaacaac tgacgttgag gctcgaaagt gtgggtagca
      781 aacaggatta gataccctgg tagtccacac cgtaaacgat gaatactagg tgttaggagg
      841 tttccgcctc ttagtgccga agctaacgca ttaagtattc cgcctgggga gtacgaccgc
      901 aaggttgaaa ctcaaaggaa ttgacgggga cccgcacaag cggtggagca tgtggtttaa
      961 ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggt cttgacatcc tttgaagctt ctagagatag
     1021 aagtgttctc ttcggagaca aagtgacagg tggtgcatgg tcgtcgtcag ctcgtgtcgt
     1081 gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caacccttat tgttagttgc cagcattcag
     1141 ttgggcactc tagcgagact gccggtgaca aaccggagga aggcggggac gacgtcagat
     1201 catcatgccc cttatgacct gggctacaca cgtgctacaa tggcgtatac aacgagttgc
     1261 caacccgcga gggtgagcta atctcttaaa gtacgtctca gttcggactg cagtctgcaa
     1321 ctcgactgca cgaagtcgga atcgctagta atcgcggatc agcacgccgc ggtgaatacg
     1381 ttcccgggtc ttgtacacac cgcccgtcac accatgggag tttgtaatgc ccaaagccgg
     1441 tggcctaacc ttatggaggg agccgtctaa ggcaggacag atgactaggg tgaagtcgta
     1501 acaaggtagc cgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ NU01 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       NU02                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   NU02
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain NU02
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain NU02
            Unclassified.
REFERENCE   8  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain NU02 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain NU02"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    330 c    470 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ NU02 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       NU03                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   NU03
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas panacis strain NU03
  ORGANISM  Pseudomonas panacis strain NU03
            Unclassified.
REFERENCE   15 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas panacis Strain NU03 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas panacis strain NU03"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    328 c    471 g    319 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccagaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 ggggggacgg ttaccacggt gtgattcatg attggggtga agtcgtaaca aggtaaccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ NU03 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       NU04                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   NU04
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain NU04
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain NU04
            Unclassified.
REFERENCE   9  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain NU04 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain NU04"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      384 a    330 c    469 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtaaccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ NU04 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       NU05                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   NU05
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain NU05
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain NU05
            Unclassified.
REFERENCE   10 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain NU05 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain NU05"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      382 a    330 c    470 g    319 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtt aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ NU05 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR01                    1483 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   PR01
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain PR01
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain PR01
            Unclassified.
REFERENCE   11 (bases 1 to 1483)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain PR01 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1483)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1483
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain PR01"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1483
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      380 a    327 c    464 g    312 t
ORIGIN
        1 agattgaacg ctggcggcag gcctaacaca tgcaagtcga gcggtagaga gaagcttgct
       61 tctcttgaga gcggcggacg ggtgagtaat gcctaggaat ctgcctggta gtgggggata
      121 acgttcggaa acggacgcta ataccgcata cgtcctacgg gagaaagcag gggaccttcg
      181 ggccttgcgc tatcagatga gcctaggtcg gattagctag ttggtggggt aatggctcac
      241 caaggcgacg atccgtaact ggtctgagag gatgatcagt cacactggaa ctgagacacg
      301 gtccagactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgga caatgggcga aagcctgatc
      361 cagccatgcc gcgtgtgtga agaaggtctt cggattgtaa agcactttaa gttgggagga
      421 agggcagtaa attaatactt tgctgttttg acgttaccga cagaataagc accggctaac
      481 tctgtgccag cagccgcggt aatacagagg gtgcaagcgt taatcggaat tactgggcgt
      541 aaagcgcgcg taggtggtta gttaagttgg atgtgaaatc cccgggctca acctgggaac
      601 tgcattcaaa actgactgac tagagtatgg tagagggtgg tggaatttcc tgtgtagcgg
      661 tgaaatgcgt agatatagga aggaacacca gtggcgaagg cgaccacctg gactgatact
      721 gacactgagg tgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag ataccctggt agtccacgcc
      781 gtaaacgatg tcaactagcc gttgggagcc ttgagctctt agtggcgcag ctaacgcatt
      841 aagttgaccg cctggggaat acggccgcaa ggttaaaact caaatgaatt gacgggggcc
      901 cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggcct
      961 tgacatccaa tgaactttct agagatagat tggtgccttc gggaacattg agacaggtgc
     1021 tgcatggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcccgta acgagcgcaa
     1081 cccttgtcct tagttaccag cacgtaatgg tgggcactct aaggagactg ccggtgacaa
     1141 accggaggaa ggtggggatg acgtcaagtc atcatggccc ttacggcctg ggctacacac
     1201 gtgctacaat ggtcggtaca gagggttgcc aagccgcgag gtggagctaa tcccacaaaa
     1261 ccgatcgtag tccggatcgc agtctgcaac tcgactgcgt gaagtcggaa tcgctagtaa
     1321 tcgcgaatca gaatgtcgcg gtgaatacgt tcccgggcct tgtacacacc gcccgtcaca
     1381 ccatgggagt gggttgcacc agaagtagct agtctaacct tcgggaggac ggttaccacg
     1441 gtgtgattca tgactggggt gaagtcgtaa caaggtagcc gta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR01 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR02                    1538 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR02
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus sakei strain PR02
  ORGANISM  Lactobacillus sakei strain PR02
            Unclassified.
REFERENCE   11 (bases 1 to 1538)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus sakei strain PR02 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1538)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1538
                     /organism="Lactobacillus sakei strain PR02"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1538
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      404 a    341 c    458 g    335 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gcactctcgt ttagattgaa ggagcttgct cctgattgat aaacatttga gtgagtggcg
      121 gacgggtgag taacacgtgg gtaacctgcc ctaaagtggg ggataacatt tggaaacaga
      181 tgctaatacc gcataaaacc taacaccgca tggtgtaggg ttgaaagatg gtttcggcta
      241 tcactttagg atggacccgc ggtgcattag ttagttggtg aggtaaaggc tcaccaagac
      301 cgtgatgcat agccgacctg agagggtaat cggccacact gggactgaga cacggcccag
      361 actcctacgg gaggcagcag tagggaatct tccacaatgg acgaaagtct gatggagcaa
      421 cgccgcgtga gtgaagaagg ttttcggatc gtaaaactct gttgttggag aagaatgtat
      481 ctgatagtaa ctgatcaggt agtgacggta tccaaccaga aagccacggc taactacgtg
      541 ccagcagccg cggtaatacg taggtggcaa gcgttgtccg gatttattgg gcgtaaagcg
      601 agcgcaggcg gtttcttaag tctgatgtga aagccttcgg ctcaaccgaa gaagtgcatc
      661 ggaaactggg aaacttgagt gcagaagagg acagtggaac tccatgtgta gcggtgaaat
      721 gcgtagatat atggaagaac accagtggcg aaggcggctg tctggtctgt aactgacgct
      781 gaggctcgaa agcatgggta gcaaacagga ttagataccc tggtagtcca tgccgtaaac
      841 gatgagtgct aggtgttgga gggtttccgc ccttcagtgc cgcagctaac gcattaagca
      901 ctccgcctgg ggagtacgac cgcaaggttg aaactcaaag gaattgacgg gggcccgcac
      961 aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag aaccttacca ggtcttgaca
     1021 tcctttgacc actctagaga tagagctttc ccttcgggga caaagtgaca ggtggtgcat
     1081 ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt
     1141 attactagtt gccagcattt agttgggcac tctagtgaga ctgccggtga caaaccggag
     1201 gaaggtgggg acgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtgctac
     1261 aatggatggt acaacgagtt gcgagaccgc gaggtttagc taatctctta aaaccattct
     1321 cagttcggat tgtaggctgc aactcgccta catgaagccg gaatcgctag taatcgcgga
     1381 tcagcatgcc gcggtgaata cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccatgag
     1441 agtttgtaac acccaaagcc ggtgaggtaa cccttcgggg agccagccgt ctaaggtggg
     1501 acagatgatt agggtgaagt cgtaacaagg tagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR02 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR03                    1500 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   PR03
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain PR03
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain PR03
            Unclassified.
REFERENCE   12 (bases 1 to 1500)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain PR03 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1500)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1500
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain PR03"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1500
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    330 c    468 g    319 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag catgtacact ggcggcagtc atacacatgc aagtcgagcg
       61 gtagagagaa gcttgcttct cttgagagcg gcggacgggt gagtaatgcc taggaatctg
      121 cctggtagtg ggggataacg ttcggaaacg gacgctaata ccgcatacgt cctacgggag
      181 aaagcagggg accttcgggc cttgcgctat cagatgagcc taggtcggat tagctagttg
      241 gtggggtaat ggctcaccaa ggcgacgatc cgtaactggt ctgagaggat gatcagtcac
      301 actggaactg agacacggtc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa tattggacaa
      361 tgggcgaaag cctgatccag ccatgccgcg tgtgtgaaga aggtcttcgg attgtaaagc
      421 actttaagtt gggaggaagg gcagtaaatt aatactttgc tgttttgacg ttaccgacag
      481 aataagcacc ggctaactct gtgccagcag ccgcggtaat acagagggtg caagcgttaa
      541 tcggaattac tgggcgtaaa gcgcgcgtag gtggttagtt aagttggatg tgaaatcccc
      601 gggctcaacc tgggaactgc attcaaaact gactgactag agtatggtag agggtggtgg
      661 aatttcctgt gtagcggtga aatgcgtaga tataggaagg aacaccagtg gcgaaggcga
      721 ccacctggac tgatactgac actgaggtgc gaaagcgtgg ggagcaaaca ggattagata
      781 ccctggtagt ccacgccgta aacgatgtca actagccgtt gggagccttg agctcttagt
      841 ggcgcagcta acgcattaag ttgaccgcct ggggagtacg gccgcaaggt taaaactcaa
      901 atgaattgac gggggcccgc acaagcggtg gagcatgtgg tttaattcga agcaacgcga
      961 agaaccttac caggccttga catccaatga actttctaga gatagattgg tgccttcggg
     1021 aacattgaga caggtgctgc atggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag
     1081 tcccgtaacg agcgcaaccc ttgtccttag ttaccagcac gtaatggtgg gcactctaag
     1141 gagactgccg gtgacaaacc ggaggaaggt ggggatgacg tcaagtcatc atggccctta
     1201 cggcctgggc tacacacgtg ctacaatggt cggtacagag ggttgccaag ccgcgaggtg
     1261 gagctaatcc cacaaaaccg atcgtagtcc ggatcgcagt ctgcaactcg actgcgtgaa
     1321 gtcggaatcg ctagtaatcg cgaatcagaa tgtcgcggtg aatacgttcc cgggccttgt
     1381 acacaccgcc cgtcacacca tgggagtggg ttgcaccaga agtagctagt ctaaccttcg
     1441 ggaggacggt taccacggtg tgattcatga ctggggtgaa gtcgtaacaa ggtagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR03 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR04                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   PR04
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas fluorescens strain PR04
  ORGANISM  Pseudomonas fluorescens strain PR04
            Unclassified.
REFERENCE   13 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas fluorescens Strain PR04 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas fluorescens strain PR04"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    330 c    470 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR04 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR05                    1495 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   PR05
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas brenneri strain PR05
  ORGANISM  Pseudomonas brenneri strain PR05
            Unclassified.
REFERENCE   2  (bases 1 to 1495)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas brenneri Strain PR05 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1495)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1495
                     /organism="Pseudomonas brenneri strain PR05"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1495
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      382 a    328 c    468 g    317 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR05 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR06                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   PR06
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas brenneri strain PR06
  ORGANISM  Pseudomonas brenneri strain PR06
            Unclassified.
REFERENCE   3  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas brenneri Strain PR06 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas brenneri strain PR06"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      383 a    330 c    470 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtagccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR06 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR07                    1538 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR07
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus sakei strain PR07
  ORGANISM  Lactobacillus sakei strain PR07
            Unclassified.
REFERENCE   12 (bases 1 to 1538)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus sakei strain PR07 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1538)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1538
                     /organism="Lactobacillus sakei strain PR07"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1538
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      404 a    341 c    458 g    335 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gcactctcgt ttagattgaa ggagcttgct cctgattgat aaacatttga gtgagtggcg
      121 gacgggtgag taacacgtgg gtaacctgcc ctaaagtggg ggataacatt tggaaacaga
      181 tgctaataCC gcataaaacc taacaccgca tggtgtaggg ttgaaagatg gtttcggcta
      241 tcactttagg atggacccgc ggtgcattag ttagttggtg aggtaaaggc tcaccaagac
      301 cgtgatgcat agccgacctg agagggtaat cggccacact gggactgaga cacggcccag
      361 actcctacgg gaggcagcag tagggaatat tccacaatgg acgaaagtct gatggagcaa
      421 cgccgcgtga gtgaagaagg ttttcggatc gtaaaactct gttgttggag aagaatgtat
      481 ctgatagtaa ctgatcaggt agtgacggta tccaaccaga aagccacggc taactacgtg
      541 ccagcagccg cggtaatacg taggtggcaa gcgttgtccg gatttattgg gcgtaaagcg
      601 agcgcaggcg gtttcttaag tctgatgtga aagccttcgg ctcaaccgaa gaagtgcatc
      661 ggaaactggg aaacttgagt gcagaagagg acagtggaac tccatgtgta gcggtgaaat
      721 gcgtagatat atggaagaac accagtggcg aaggcggctg tctggtctgt aactgacgct
      781 gaggctcgaa agcatgggta gcaaacagga ttagataccc tggtagtcca tgccgtaaac
      841 gatgagtgct aggtgttgga gggtttccgc ccttcagtgc cgcagctaac gcattaagca
      901 ctccgcctgg ggagtacgac cgcaaggttg aaactcaaag gaattgacgg gggcccgcac
      961 aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag aaccttacca ggtcttgaca
     1021 tcctttgacc actctagaga tagagctttc ccttcgggga caaagtgaca ggtggtgcat
     1081 ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt
     1141 attactagtt gccagcattt agttgggcac tctagtgaga ctgccggtga caaaccggag
     1201 gaaggtgggg acgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtgctac
     1261 aatggatggt acaacgagtt gcgagaccgc gaggtttagc taatctctta aaaccattct
     1321 cagttcggat tgtaggctgc aactcgccta catgaagccg gaatcgctag taatcgcgga
     1381 tcagcatgcc gcggtgaata cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccatgag
     1441 agtttgtaac acccaaagcc ggtgaggtaa cccttcgggg agccagccgt ctaaggtggg
     1501 acagatgatt agggtgaagt cgtaacaagg tagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR07 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR08                    1501 bp    DNA     linear       04-MAY-2016
DEFINITION  16S rRNA gene, complete sequence.
ACCESSION   PR08
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Pseudomonas brenneri strain PR08
  ORGANISM  Pseudomonas brenneri strain PR08
            Unclassified.
REFERENCE   4  (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Pseudomonas brenneri Strain PR08 16S rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   16 (bases 1 to 1501)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-MAY-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:15.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:15.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1501
                     /organism="Pseudomonas brenneri strain PR08"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli Paste"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1501
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      384 a    330 c    469 g    318 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgagc
       61 ggtagagaga agcttgcttc tcttgagagc ggcggacggg tgagtaatgc ctaggaatct
      121 gcctggtagt gggggataac gttcggaaac ggacgctaat accgcatacg tcctacggga
      181 gaaagcaggg gaccttcggg ccttgcgcta tcagatgagc ctaggtcgga ttagctagtt
      241 ggtggggtaa tggctcacca aggcgacgat ccgtaactgg tctgagagga tgatcagtca
      301 cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga atattggaca
      361 atgggcgaaa gcctgatcca gccatgccgc gtgtgtgaag aaggtcttcg gattgtaaag
      421 cactttaagt tgggaggaag ggcagtaaat taatactttg ctgttttgac gttaccgaca
      481 gaataagcac cggctaactc tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgtta
      541 atcggaatta ctgggcgtaa agcgcgcgta ggtggttagt taagttggat gtgaaatccc
      601 cgggctcaac ctgggaactg cattcaaaac tgactgacta gagtatggta gagggtggtg
      661 gaatttcctg tgtagcggtg aaatgcgtag atataggaag gaacaccagt ggcgaaggcg
      721 accacctgga ctgatactga cactgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat
      781 accctggtag tccacgccgt aaacgatgtc aactagccgt tgggagcctt gagctcttag
      841 tggcgcagct aacgcattaa gttgaccgcc tggggagtac ggccgcaagg ttaaaactca
      901 aatgaattga cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg
      961 aagaacctta ccaggccttg acatccaatg aactttctag agatagattg gtgccttcgg
     1021 gaacattgag acaggtgctg catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa
     1081 gtcccgtaac gagcgcaacc cttgtcctta gttaccagca cgtaatggtg ggcactctaa
     1141 ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaagtcat catggccctt
     1201 acggcctggg ctacacacgt gctacaatgg tcggtacaga gggttgccaa gccgcgaggt
     1261 ggagctaatc ccacaaaacc gatcgtagtc cggatcgcag tctgcaactc gactgcgtga
     1321 agtcggaatc gctagtaatc gcgaatcaga atgtcgcggt gaatacgttc ccgggccttg
     1381 tacacaccgc ccgtcacacc atgggagtgg gttgcaccag aagtagctag tctaaccttc
     1441 gggaggacgg ttaccacggt gtgattcatg actggggtga agtcgtaaca aggtaaccgt
     1501 a
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR08 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR09                    1529 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR09
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus acidipiscis strain PR09
  ORGANISM  Lactobacillus acidipiscis strain PR09
            Unclassified.
REFERENCE   2  (bases 1 to 1529)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus acidipiscis strain PR09 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1529)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1529
                     /organism="Lactobacillus acidipiscis strain PR09"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1529
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      391 a    347 c    466 g    325 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gcaatctttg accaatgagt gcttgcactc agcggtcaaa gtgcgagtgg cgaacgggtg
      121 agtaacacgt gggcaatctg cccaaaagtg ggggataaca cttggaaaca ggtgctaata
      181 ccgcatcaac cggctgaccg catggtcggc cgggcaaaga cggcgtcagc tgtcgctttt
      241 ggatgagccc gcggcgtatt aactagttgg taaggtaacg gcttaccaag gtgatgatac
      301 gtagccgaac tgagaggttg atcggccaca ttgggactga gacacggccc aaactcctac
      361 gggaggcagc agtagggaat cttccacaat ggacgcaagt ctgatggagc aacgccgcgt
      421 gtatgaagaa ggtcttcgga tcgtaaaata ctgttgtcag agaagaacac gtgatagagt
      481 aactgttatg gcgctgacgg tatctgacca gcaagtcacg gctaactacg tgccagcagc
      541 cgcggtaata cgtaggtggc aagcgttgtc cggatttatt gggcgtaaag ggaacgcagg
      601 cggtctttta agtctgatgt gaaagccttc ggcttaaccg gagaagtgca ttggaaactg
      661 gaagacttga gtgcagaaga ggagagtgga actccatgtg tagcggtgaa atgcgtagat
      721 atatggaaga acaccagtgg cgaaagcggc tctctggtct gtaactgacg ctgaggttcg
      781 aaagcgtggg gagcgaacag gattagatac cctggtagtc cacgctgtaa acgatgaatg
      841 ctaggtgttg gagggtttcc gcccttcggt gccgcagcta acgcactaag cattccgcct
      901 ggggagtacg atcgcaagat tgaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggtg
      961 gagcatgtgg tttaattcga agcaacgcga agaaccttac caggtcttga catcttttga
     1021 ccatctgaga gatcagaatt tcccttcggg gacaaaatga caggtggtgc atggctgtcg
     1081 tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcaaccc ttattgtcag
     1141 ttgccagcat tcagttgggc actctggcga gactgccggt gacaaaccgg aggaaggtgg
     1201 ggatgacgtc aagtcatcat gccccttatg acctgggcta cacacgtgct acaatggacg
     1261 atacaacgag tcgcgagacc gcgaggttta gctaatctct gaaagtcgtt ctcagttcgg
     1321 atcgtaggct gcaactcgcc tacgtgaagt cggaatcgct agtaatcgcg gatcagcatg
     1381 ccgcggtgaa tacgttcccg ggccttgtac acaccgcccg tcacaccatg agagtttgta
     1441 acacccaaag ccggtgcggt aaccattttg gagccagccg tctaaggtgg gacagatgat
     1501 tggggtgaag tcgtaacaag gtagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR09 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR10                    1529 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR10
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus acidipiscis strain PR10
  ORGANISM  Lactobacillus acidipiscis strain PR10
            Unclassified.
REFERENCE   1  (bases 1 to 1529)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus acidipiscis strain PR10 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1529)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1529
                     /organism="Lactobacillus acidipiscis strain PR10"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1529
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      395 a    342 c    467 g    325 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag gacgaacgtt ggaggggtgt ctaatacatg caagtcgaac
       61 gcaatctttg actaatgagt gcttgcactc agcggtcaaa gtgcgagtgg cgaacgggtg
      121 agtaacacgt gggcaatctg cccaaaagtg ggggataaca cttggaaaca ggtgctaata
      181 ccgcatcaac cggctgaccg catggtcggc cgggcaaaga cggcgtcagc tgtcgctttt
      241 ggatgagccc gcggcgtatt aactagttgg taaggtaacg gcttaccaag gtgatgatac
      301 gtagccgaac tgagaggttg atcggccaca ttgggactga gacacggccc aaactcctac
      361 gggaggcagc agtagggaat cttccacaat ggacgcaagt ctgatggagc aacgccgcgt
      421 gtatgaagaa ggtcttcgga tcgtaaaata ctgttgtcag agaagaacac gtgatagagt
      481 aactgctatg gcgctgacgg tatctgacca gcaagtcacg gctaactacg tgccagcagc
      541 cgcggtaata cgtaggtggc aagcgttgtc cggatttatt gggcgtaaag ggaacgcagg
      601 cggtctttta agtctgatgt gaaagccttc ggcttaaccg gagaagtgca ttggaaactg
      661 gaagacttga gtgcagaaga ggagagtgga actccatgtg tagcggtgaa atgcgtagat
      721 atatggaaga acaccagtgg cgaaagcggc tctctggtct gtaactgacg ctgaggttcg
      781 aaagcgtggg gagcgaacag gattagatac cctggtagtc cacgctgtaa acgatgaatg
      841 ctaggtgttg gagggtttcc gcccttcggt gccgcagcta acgcactaag cattccgcct
      901 ggggagtacg atcgcaagat tgaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggtg
      961 gagcatgtgg tttaattcga agcaacgcga agaaccttac caggtcttga catcttttga
     1021 ccatctgaga gatcagaagt tcccttcggg gacaaaatga caggtggtgc atggctgtcg
     1081 tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcaaccc ttattgtcag
     1141 ttgccagcat tcagttgggc actctggcga gactgccggt gacaaaccgg aggaaggtgg
     1201 ggatgacgtc aagtcatcat gccccttatg acctgggcta cacacgtgct acaatggacg
     1261 atacaacgag tcgcgagacc gcgaggttta gctaatctct gaaagtcgtt ctcagttcgg
     1321 atcgtaggct gcaactcgcc tacgtgaagt cggaatcgct agtaatcgcg gatcagcatg
     1381 ccgcggtgaa tacgttcccg ggccttgtac acaccgcccg tcacaccatg agagtttgta
     1441 acacccaaag ccggtgcggt aaccattttg gagccagccg tctaaggggg gacaaatgat
     1501 tggggtgaag tcgtaacaag gtaaccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR10 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR11                    1538 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR11
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus sakei strain PR11
  ORGANISM  Lactobacillus sakei strain PR11
            Unclassified.
REFERENCE   13 (bases 1 to 1538)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus sakei strain PR11 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1538)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1538
                     /organism="Lactobacillus sakei strain PR11"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1538
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      404 a    342 c    457 g    335 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gcactctcgt ttagattgaa ggagcttgct cctgattgat aaacatttga gtgagtggcg
      121 gacgggtgag taacacgtgg gtaacctgcc ctaaagtggg ggataacatt tggaaacaga
      181 tgctaatacc gcataaaacc taacaccgca tggtgtaggg ttgaaagatg gtttcggcta
      241 tcactttagg atggacccgc ggtgcattag ttagttggtg aggtaaaggc tcaccaagac
      301 cgtgatgcat agccgacctg agagggtaat cggccacact gggactgaga cacggcccag
      361 actcctacgg gaggcagcag tagggaatct tccacaatgg acgaaagtct gatggagcaa
      421 cgccgcgtga gtgaagaagg ttttcggatc gtaaaactct gttgttggag aagaatgtat
      481 ctgatagtaa ctgatcaggt agtgacggta tccaaccaga aagccacggc taactacgtg
      541 ccagcagccg cggtaatacg taggtggcaa gcgttgtccg gatttattgg gcgtaaagcg
      601 agcgcaggcg gtttcttaag tctgatgtga aagccttcgg ctcaaccgaa gaagtgcatc
      661 ggaaactggg aaacttgagt gcagaagagg acagtggaac tccatgtgta gcggtgaaat
      721 gcgtagatat atggaagaac accagtggcg aaggcggctg tctggtctgt aactgacgct
      781 gaggctcgaa agcatgggta gcaaacagga ttagataccc tggtagtcca tgccgtaaac
      841 gatgagtgct aggtgttgga gggtttccgc ccttcagtgc cgcagctaac gcattaagca
      901 ctccgcctgg ggagtacgac cgcaaggttg aaactcaaag gaattgacgg gggcccgcac
      961 aagcggtgga gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag aaccttacca ggtcttgaca
     1021 tcctttgacc actctagaga tagagctttc ccttcgggga caaagtgaca ggtggtgcat
     1081 ggttgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt
     1141 attactagtt gccagcattt agttgggcac tctagtgaga ctgccggtga caaaccggag
     1201 gaaggtgggg acgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtgctac
     1261 aatggatggt acaacgagtt gcgagaccgc gaggtttagc taatctctta aaaccattct
     1321 cagttcggat tgtaggctgc aactcgccta catgaagccg gaatcgctag taatcgcgga
     1381 tcagcatgcc gcggtgaata cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccatgag
     1441 agtttgtaac acccaaagcc ggtgaggtaa cccttcgggg agccagccgt ctaaggtggg
     1501 acagatgatt agggtgaagt cgtaacaagg taaccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR11 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR13                    1528 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR13
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus farciminis strain PR13
  ORGANISM  Lactobacillus farciminis strain PR13
            Unclassified.
REFERENCE   7  (bases 1 to 1528)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus farciminis strain PR13 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1528)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1528
                     /organism="Lactobacillus farciminis strain PR13"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1528
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      411 a    336 c    442 g    339 t
ORIGIN
        1 agagtttgat catggctcag acgaacgttt tggcgcatcc tatacatgca gtcgaacgaa
       61 ccatcctgaa gattgaagct tgcttcatga ttcagacctt ggtgagtggc ggacgggtga
      121 gtaacacgtg ggtaacctgc ccaaaagtgg gggataacat ttggaaacaa gtgctaatac
      181 cgcataacaa ctactttcac atgatcgtag cttgaaagat ggctctgcta tcgcttttgg
      241 atggacccgc ggcgtattag ctagttggtg aggtaatagc tcaccaaggc aatgatacgt
      301 agccgacctg agagggtaat cggccacatt gggactgaga cacggcccaa actcctacgg
      361 gaggcagcag tagggaatct tccacaatgg gcgaaagcct gatggagcaa tgccgcgtga
      421 gtgaagaagg ttttcggatc gtaaaactct gttgttgaag aagaacatgc gtgagagtaa
      481 ctgttcacgt actgacggta ttcaaccaga aagccacggc taactacgtg ccagcagccg
      541 cggtaatacg taggtggcaa gcgttgtccg gatttattgg gcgtaaagag aatgtaggcg
      601 gtttattaag tttgaagtga aagccctcgg ctcaaccgag gaagtgcttc gaaaactggt
      661 aaacttgagt gcagaagagg aaagtggaac tccatgtgta gcggtggaat gcgtagatat
      721 atggaagaac accagtggcg aaggcggctt tctggtctgt aactgacgct gagattcgaa
      781 agcatgggta gcaaacagga ttagataccc tggtagtcca tgccgtaaac gatgagtgct
      841 aagtgttgga gggtttccgc ccttcagtgc tgcagctaac gcattaagca ctccgcctgg
      901 ggagtacgat cgcaagattg aaactcaaag gaattgacgg gggcccgcac aagcggtgga
      961 gcatgtggtt taattcgaag caacgcgaag aaccttacca ggtcttgaca taccatgaca
     1021 aactaagaga ttagtctttc ccttcgggga catggataca ggtggtgcat ggttgtcgtc
     1081 agctcgtgtc gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt attatcagtt
     1141 gccagcattc agttgggcac tctggtgaga ctgccggtga caaaccggag gaaggtgggg
     1201 acgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtgctac aatggtcggt
     1261 acaacgtgtt gcgaactcgc gagggcaagc aaatcactta aaaccgatct cagttcggat
     1321 tgcaggctgc aactcgcctg catgaagctg gaatcgctag taatcgcgga tcagcatgcc
     1381 gcggtgaata cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccatgag agtttgtaac
     1441 acccaaagtc ggtggggtaa cccttcgggg aactagccgc ctaaggtggg acaaatgatt
     1501 agggtgaagt cgtaacaagg tagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR13 (รอเผยแพร่)

```
LOCUS       PR14                    1530 bp    DNA     linear       24-APR-2016
DEFINITION  16S rRNA gene,complete sequence.
ACCESSION   PR14
VERSION
KEYWORDS    .
SOURCE      Lactobacillus farciminis strain PR14
  ORGANISM  Lactobacillus farciminis strain PR14
            Unclassified.
REFERENCE   8  (bases 1 to 1530)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Lactobacillus farciminis strain PR14 16s rRNA gene
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   15 (bases 1 to 1530)
  AUTHORS   Ketsawasdiwong,N., Thanananta,T. and Thanananta,N.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (24-APR-2016) Biotechnology, Thammasat University,
            Department of Biotechnology Lab (Room B407) 4th floor Lecture Class
            Building 5 (LC 5), Faculty of Science and Technology, Thammasat
            University 99 Moo 18, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120,
            Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand
COMMENT     Bankit Comment: TAX: No, not new species/combinations.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..1530
                     /organism="Lactobacillus farciminis strain PR14"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolation_source="Chilli paste"
                     /PCR_primers="fwd_name: f27, fwd_seq:
                     agagtttgatcmtggctcag, rev_name: r1492, rev_seq:
                     tacggytaccttgttacgactt"
                     /note="extrachromosomal
                     [cultured bacterial source]"
     rRNA            <1..>1530
                     /product="16S ribosomal RNA"
BASE COUNT      412 a    338 c    445 g    335 t
ORIGIN
        1 agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcatgc ctaatacatg caagtcgaac
       61 gaaccatcct gaagattgaa gcttgcttca tgattcagac cttggtgagt ggcggacggg
      121 tgagtaacac gtgggtaacc tgcccaaaag tgggggataa catttggaaa caagtgctaa
      181 taccgcataa caactacttt cacatgatcg tagcttgaaa gatggctctg ctatcgcttt
      241 tggatggacc cgcggcgtat tagctagttg gtgaggtaat agctcaccaa ggcaatgata
      301 cgtagccgac ctgagagggt aatcggccac attgggactg agacacggcc caaactccta
      361 cgggaggcag cagtagggaa tcttccacaa tgggcgaaag cctgatggag caatgccgcg
      421 tgagtgaaga aggttttcgg atcgtaaaac tctgttgttg aagaagaaca tgcgtgagag
      481 taactgttca cgtactgacg gtattcaacc agaaagccac ggctaactac gtgccagcag
      541 ccgcggtaat acgtaggtgg caagcgttgt ccggatttat tgggcgtaaa gagaatgtag
      601 gcggtttata agtttgaagt gaaagccctc ggctcaaccg aggaagtgct tcgaaaactg
      661 gtaaacttga gtgcagaaga ggaaagtgga actccatgtg tagcggtgga atgcgtagat
      721 atatggaaga acaccagtgg cgaaggcggc tttctggtct gtaactgacg ctgagattcg
      781 aaagcatggg tagcaaacag gattagatac cctggtagtc catgccgtaa acgatgagtg
      841 ctaagtgttg gagggtttcc gcccttcagt gctgcagcta acgcattaag cactccgcct
      901 ggggagtacg atcgcaagat tgaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggtg
      961 gagcatgtgg tttaattcga agcaacgcga agaaccttac caggtcttga cataccatga
     1021 caaactaaga gattagtctt tcccttcggg gacatggata caggtggtgc atggttgtcg
     1081 tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcaaccc ttattatcag
     1141 ttgccagcat tcagttgggc actctggtga gactgccggt gacaaaccgg aggaaggtgg
     1201 ggacgacgtc aaatcatcat gccccttatg acctgggcta cacacgtgct acaatggtcg
     1261 gtacaacgtg ttgcgaactc gcgagggcaa gcaaatcact taaaaccgat ctcagttcgg
     1321 attgcaggct gcaactcgcc tgcatgaagc tggaatcgct agtaatcgcg gatcagcatg
     1381 ccgcggtgaa tacgttcccg ggccttgtac acaccgcccg tcacaccatg agagtttgta
     1441 acacccaaag tcggtggggt aacccttcgg ggaactagcc gcctaaggtg ggacaaatga
     1501 ttagggtgaa gtcgtaacaa ggtagccgta
```

ภาพที่ ช.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PR14 (รอเผยแพร่)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายนวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์
วันเดือนปีเกิด	22 พฤษภาคม 2532
ตำแหน่ง	-
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีการศึกษา 2553
ทุนการศึกษา	ทุนวิจัยทั่วไปสำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษากองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ประจำปีงบประมาณ 2558 ตามสัญญาเลขที่ ทน 28/2558
ผลงานทางวิชาการ	วารสาร Thai Journal of Science and Technology เรื่อง การคัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก (Screening of lactic acid bacteria from Thai's chilli pastes) ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2559 วารสาร Thai Journal of Science and Technology เรื่อง การระบุชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดกรองได้จากน้ำพริกโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *16S rRNA* (Identification of lactic acid bacteria from Thai's chilli pastes using *16S rRNA* gene) ปีที่ 5 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2559
ประสบการณ์ทำงาน	-