



วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย
Phylogeny of Dung Beetles (genus *Onthophagus*) in peninsular Thailand

อรทิพย์ วรานุศิษฐ์
Oratip Waranusit

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Zoology
Prince of Songkla University

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย
Phylogeny of Dung Beetles (genus *Onthophagus*) in peninsular Thailand

อรทิพย์ วรานุศิษฐ์
Oratip Waranusit

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Zoology
Prince of Songkla University

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย
 ผู้เขียน นางสาวอรทิพย์ วรานุศิษฏ์
 สาขาวิชา สัตววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

(ดร.สิงโต บุญโรจน์พงศ์)

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แต่งอ่อน พรหมมิ)

.....กรรมการ

(ดร.สิงโต บุญโรจน์พงศ์)

.....กรรมการ

(ดร. โสภาค จันทฤทธิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณ
บุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ดร.สิงโต บุญโรจน์พงศ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวอรทิพย์ วรรณศิษฐ์)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน
และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวอรทิพย์ วรรณศิษฐ์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล <i>Onthophagus</i> ในคาบสมุทรไทย
ผู้เขียน	นางสาวอรทิพย์ วรานุศิษฐ์
สาขาวิชา	สัตววิทยา
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

ศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* Latreille, 1802 ในคาบสมุทรไทย โดยเก็บตัวอย่างบริเวณ 7 พื้นที่ศึกษา ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2557 ถึงเดือนมกราคม 2559 เก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์โดยใช้กับดักหลุมและใช้มูลสุกรเป็นเหยื่อล่อ วัตถุประสงค์การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษารูปแบบวงศ์วานวิวัฒนาการและความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระดับโมเลกุลโดยใช้ยีนไมโทคอนเดรีย ประกอบด้วย Cytochrome oxidase I (COI), 16S ribosomal DNA (16S rDNA) และ Cytochrome *b* (Cyt *b*) และยีนในนิวเคลียส ได้แก่ 28S ribosomal DNA domain3 (28S rDNA domain3) และการรวมยีน (combined genes)

จากการศึกษา พบด้วงมูลสัตว์จำนวน 969 ตัว จำแนกได้ 33 ชนิด ใน 3 สกุล (*Onthophagus*, *Copris* และ *Liatongus*) ภายในคาบสมุทรไทย โดยพบด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* จำนวน 19 ชนิด การศึกษาครั้งนี้ยีนที่มีบทบาทในการอธิบายวงศ์วานวิวัฒนาการได้ดีที่สุด ประกอบด้วย ยีน COI, 16S rDNA, Cyt *b* และการรวมยีนจากไมโทคอนเดรียทั้ง 3 ยีน (combined genes) เป็นข้อมูลหลักในการอธิบายความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย พบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย มีวงศ์วานวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษเดียวกัน (monophyly) และมีด้วงมูลสัตว์หลายชนิด ได้แก่ *Onthophagus orientalis*, *O. maniti*, *O. rugicollis* และ *O. vulpes* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน (sister group) ส่วนยีน 28S rDNA ไม่สามารถใช้อธิบายความสัมพันธ์ในการศึกษาครั้งนี้ได้อย่างชัดเจน สำหรับการศึกษาระยะเวลาการเกิดสปีชีส์ใหม่ (divergence time) ของยีน COI แสดงให้เห็นว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีจุดกำเนิดในช่วงเวลา 33.06 ล้านปีก่อน และพบด้วงมูลสัตว์ที่เก่าแก่ที่สุดในคาบสมุทรไทยคือ *O. uenoi* และ *O. laevis* และด้วงมูลสัตว์ที่ใหม่ที่สุดในคาบสมุทรไทยคือ *O. babirusa* (0.69 ล้านปีก่อน)

จากการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์ในสกุล *Onthophagus* ทั้งหมดที่พบบริเวณคาบสมุทรมุไทย พบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรม เช่น ด้วงมูลสัตว์ *O. babirussa* พบจำนวนตัวมากที่สุดและมีการแพร่กระจายเกือบทุกพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณคาบสมุทรมุไทย ผลการศึกษา haplotype network ของด้วงมูลสัตว์ *O. babirussa* พบว่า มีจุดกำเนิดอยู่ที่จังหวัดพังงาและแพร่กระจายไปยังจังหวัดอื่นๆ ในคาบสมุทรมุไทย แสดงให้เห็นว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมเกิดขึ้นในประชากรและมีความแปรผันโดยตรงกับระยะทาง ผลการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมุไทย มีจุดกำเนิดอยู่บริเวณเทือกเขาภูเก็ตและมีการอพยพมายังเทือกเขาสันกาลาคีรี

Thesis Title	Phylogenetic relationships of Dung beetles genus <i>Onthophagus</i> in peninsular Thailand
Author	Miss Oratip Waranusit
Major Program	Zoology
Academic Year	2016

ABSTRACT

The study of phylogenetic relationships of dung beetles genus *Onthophagus* Latreille, 1802 in peninsular Thailand were collected during May, 2014 to January, 2016 at seven sampling sites in the forests using fresh's pig dung in baited pitfall traps. The objectives of this study were to investigate the phylogenetic relationships and genetic variation of *Onthophagus* in peninsular Thailand. The molecular phylogeny was analyzed using three genes from mitochondrial (*COI*, 16S rDNA and *Cyt b*), one gene of nucleus (28S rDNA domain3) and the combination of the three genes (*COI*, 16S rDNA and *Cyt b*).

The result showed that 969 individuals of 33 species in 3 genus (*Onthophagus*, *Copris* and *Liatongus*) in peninsular Thailand were collected and 19 *Onthophagus* species were identified. In this study, the effective genes to investigate the phylogeny were *COI*, 16S rDNA, *Cyt b* and combined three genes. The results strongly support a monophyly of *Onthophagus* species in peninsular Thailand. Moreover, several species (*O. orientalis*, *O. maniti*, *O. rugicollis* and *O. vulpes*) are closely related species (sister groups). However, the 28S rDNA domain3 did not clearly explain the genetic relationships in this study. The result of phylogenetic tree of *COI* based on the divergence time of speciation suggested that the origin of *Onthophagus* species in peninsular Thailand is approximately about 33.06 million years ago (MYA), and *O. uenoi* and *O. laevis* is the oldest (33.06 MYA) and *O. babirusa* (0.69 MYA) is the youngest population in peninsular Thailand.

Additionally, the genetic variation in population of *Onthophagus* species in peninsular Thailand was detected, for example *O. babirusa* the dominant species in peninsular Thailand. The haplotype network suggested that *O. babirusa* was originated in the Phuket mountain range in Phang-Nga Province and also expanded to the San Kala Khiri mountain range. In addition, genetic differentiation was supported by the correlation between genetic distance with geographic distance.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยมีผู้ให้คำแนะนำและให้การช่วยเหลือในหลายๆ ด้าน ทางผู้เขียนขอขอบพระคุณ ดร.สิงโต บุญโรจน์พงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ สำหรับคำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ และความช่วยเหลือตลอดการทำวิจัย รวมทั้งเสียสละเวลาในการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แดงอ่อน พรหมมิ อาจารย์ประจำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน ที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ โดยได้เสียสละเวลามาเป็นประธานกรรมการ สอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ดร.โสภาค จันทฤทธิ์ อาจารย์ประจำสถานวิจัยความเป็นเลิศ ความหลากหลายทางชีวภาพแห่งคาบสมุทรมไทย (CBIPT) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่เสียสละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำปรึกษา คำแนะนำ ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ Dr.Johannes Huijbretgs และ Mr.Thijmen Breeschoten นักวิจัยของพิพิธภัณฑธรรมชาติวิทยา Leiden ประเทศเนเธอร์แลนด์ ที่ช่วยให้คำแนะนำในการ จำแนกตัวอย่างตัวมดสัตว์ ตลอดจนช่วยจำแนกและยืนยันชนิดตัวอย่างตัวมดสัตว์

ขอขอบพระคุณ ดร.ปฐมฤกษ์ อิงสันเทียะ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับคำปรึกษา คำแนะนำ ในการใช้ โปรแกรมการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

ขอขอบคุณ คุณณัฐรดา มิตรปวงชน และ คุณนัฐชา แก้วกระจ่าง สำหรับความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างภาคสนาม มิตรภาพ และกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา รวมทั้งผู้ช่วยเหลือท่านอื่นๆ ที่ไม่ได้ออกนามทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยในทุกๆ ด้าน

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนบัณฑิตศึกษาภายใต้โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (NRU-SCI540531M/2013) ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย (2558) และ ทุนสนับสนุนบัณฑิตศึกษา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ท้ายที่สุด คุณค่าของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอมอบความสำเร็จทั้งหมดแต่ ครอบครัวยุของข้าพเจ้า ผู้ซึ่งสนับสนุนทุนในการเรียนและให้โอกาสในการศึกษา ทั้งคอยให้ คำปรึกษา และเป็นกำลังใจที่สำคัญที่สุดของข้าพเจ้าตลอดมา

อรทิพย์ วรานุศิษฏ์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(10)
สารบัญตาราง	(11)
สารบัญรูป	(12)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(14)
บทที่	
1. บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	7
2. วิธีการวิจัย	28
3. ผลการศึกษา	45
4. วิจารณ์ผล	109
5. สรุปผลการศึกษา	116
เอกสารอ้างอิง	118
ภาคผนวก	129
ประวัติผู้เขียน	188

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. ชื่อไพรเมอร์และลำดับเบสของแต่ละยีน	40
2. รายชื่อชนิดและจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์ที่พบบริเวณพื้นที่ศึกษาในแต่ละจังหวัด	51
3. จำนวนชนิด จำนวนตัว พื้นที่ศึกษาของด้วงมูลสัตว์สกุล <i>Onthophagus</i> และยีนที่ศึกษาโดยวิธีซีวโมเลกุล	57
4. ค่า Nucleotide composition ของยีน <i>COI</i>	62
5. ค่า Nucleotide composition ของยีน 16S rDNA	64
6. ค่า Nucleotide composition ของยีน <i>Cyt b</i>	66
7. ค่า Nucleotide composition ของยีน 28S rDNA domain3	68
8. ค่า Nucleotide diversity	72
9. ค่า Uncorrected pairwise genetic distance ของยีน <i>COI</i>	76
10. ค่า Uncorrected pairwise genetic distance ของยีน 16S rDNA	77
11. ค่า Uncorrected pairwise genetic distance ของยีน <i>Cyt b</i>	78
12. ค่า Uncorrected pairwise genetic distance ของยีน 28S rDNA domain3	79
13. ค่า F_{ST} ของด้วงมูลสัตว์สกุล <i>Onthophagus</i> แต่ละชนิด ของยีน <i>COI</i> (Mantel's test)	81

สารบัญรูป

รูป		หน้า
1.	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั่วไปของตัวงมุลสัตว์ (ด้านบน: dorsal view)	8
2.	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั่วไปของตัวงมุลสัตว์ (ด้านล่าง: ventral view)	9
3.	วงจรชีวิตของตัวงมุลสัตว์	10
4.	ชีวภูมิศาสตร์ทั้ง 6 เขต ของประเทศไทย	18
5.	จีโนมไมโทคอนเดรีย	21
6.	แผนที่พื้นที่ศึกษาทั้ง 7 จังหวัด	32
7.	ลักษณะพื้นที่ศึกษาทั้ง 7 จังหวัด	33
8.	วิธีการเก็บตัวอย่างแบบ Line transect	35
9.	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ COI	37
10.	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA	38
11.	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Cyt b	38
12.	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 28S rDNA domain3	39
13.	การแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์แต่ละชนิด	46
14.	การแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์แต่ละชนิด	47
15.	การแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์แต่ละชนิด	48
16.	การแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์แต่ละชนิด	49
17.	การแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์แต่ละชนิด	50
18.	ค่าการสะสมจำนวนชนิดเข้าสู่ sigmoid curve	55
19.	ค่า F_{ST} ของระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากร ของตัวงมุลสัตว์สกุล <i>Onthophagus</i> ของยีน COI	83
20.	ค่า F_{ST} ของระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากร ของตัวงมุลสัตว์สกุล <i>Onthophagus</i> ของยีน 28S	83
21.	ค่า F_{ST} ของระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากร ของตัวงมุลสัตว์สกุล <i>O. babirusa</i> ของยีน COI	84
22.	Haplotype network ของตัวงมุลสัตว์สกุล <i>Onthophagus</i>	86

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
23. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน <i>COI</i> ด้วยวิธี Maximum Likelihood	88
24. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน 16S rDNA ด้วยวิธี Maximum Likelihood	90
25. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน <i>Cyt b</i> ด้วยวิธี Maximum Likelihood	92
26. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน 28S rDNA ด้วยวิธี Maximum Likelihood	94
27. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ Combined genes ด้วยวิธี Maximum Likelihood	96
28. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน <i>COI</i> ด้วยวิธี Bayesian analysis	98
29. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน 16S rDNA ด้วยวิธี Bayesian analysis	100
30. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน <i>Cyt b</i> ด้วยวิธี Bayesian analysis	102
31. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน 28S rDNA ด้วยวิธี Bayesian analysis	104
32. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ Combined genes ด้วยวิธี Bayesian analysis	106
33. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน <i>COI</i> ด้วยวิธี Neighbor-joining	108

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

bp	=	base pair(s)
°C	=	degree celsius
DNA	=	deoxyribonucleic acid
EDTA	=	Ethylene diamine tetraacetic acid
EtOH	=	ethyl alcohol
mM	=	millimolar
MYA	=	million year ago
NaOH	=	sodium hydroxide
rpm	=	round per minute
Tris-HCl	=	Tris-(hydroxymethyl)-aminoethane hydrochloric acid
µg	=	microgram
µl	=	microliter
µM	=	micromolar
CPN	=	Chumphon Province
RNG	=	Ranong Province
PNA	=	Phang-Nga Province
SNI	=	Surat Thani Province
TRG	=	Trang Province
NRT	=	Nakhon Sri Thammarat Province
SKA	=	Songkhla Province

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ด้วงมูลสัตว์ (dung beetles) เป็นแมลงที่จัดอยู่ในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae ด้วงมูลสัตว์ทั่วโลกส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae พบประมาณ 6,000 ชนิด ใน 257 สกุล (Simmons และ James Ridsdill-Smith, 2011) นอกจากนี้วงศ์ย่อย Scarabaeinae เป็นหนึ่งในกลุ่มที่มีความหลากหลายและน่าสนใจที่สุดของวงศ์ Scarabaeoidea ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่โดดเด่น สีสันทัน และความซับซ้อนของพฤติกรรมการกินอาหาร (feeding behavior) รวมทั้งพฤติกรรมการสืบพันธุ์ (reproductive behavior) และการคัดเลือกเพศ (sexual selection) (Halffter และ Matthews, 1966; Halffter และ Edmonds 1982; Emlen และคณะ, 2007) โดยความหลากหลายของด้วงมูลสัตว์มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับความหลากหลายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม เนื่องจากด้วงมูลสัตว์ใช้มูลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมสำหรับวางไข่ เป็นแหล่งที่อยู่อาศัย และเป็นอาหาร (Halffter และ Edmonds, 1982) จึงสามารถใช้ด้วงมูลสัตว์เป็นตัวบ่งชี้ความหลากหลายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมได้ นอกจากนี้ด้วงมูลสัตว์มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ เช่น ช่วยหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศ ช่วยย่อยสลายมูลของสัตว์ในระบบนิเวศ ช่วยควบคุมการเพาะและขยายพันธุ์ของแมลงวัน และบทบาทในการกระจายเมล็ดพันธุ์พืช เป็นต้น (Bornemissza, 1960; Mittal, 1993; Andresen, 2001; Davis และคณะ, 2001) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าด้วงมูลสัตว์มีความหลากหลายและสามารถพบได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม ได้แก่ ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีการแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง (Sole และ Scholtz, 2010) โดยมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น จะพบมากบริเวณป่าดิบชื้น (Janzen, 1983)

ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* เป็นด้วงมูลสัตว์ที่มีความมากชนิดมากที่สุดในโลก (Roskov และคณะ, 2013) พบประมาณ 2,300 ชนิด (Schoolmeesters, 2016) จากหลายการศึกษา คาดการณ์ว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความหลากหลายชนิดมากที่สุด พบประมาณ 1,000 ถึง 2,000 ชนิด (Howden และ Cartwright, 1963; Matthews, 1972; Howden และ Nealis, 1975; Hanski, 1991) และจัดเป็นกลุ่มของ “modern dung beetles” ที่มีความหลากหลายสูงในช่วง Cenozoic พร้อมกับการเกิดทุ่งหญ้าและการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Darlington, 1957 และ Cambefort, 1991) ด้วงมูลสัตว์สกุลนี้มีต้นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา (Matthews, 1972; Hanski และ Cambefort, 1991;

Sole และ Scholtz, 2010) และแพร่กระจายมายังเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันสามารถพบด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ได้เกือบทุกทวีป ยกเว้นทวีปแอนตาร์กติกา และเชื่อว่าด้วงมูลสัตว์สกุลนี้มีจุดกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกาและสามารถแพร่กระจายตามการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมออกจากแอฟริกาในช่วง Eocene (40 MYA) (Davis, และคณะ, 2002; Emlen, และคณะ, 2005; Sole และ Scholtz, 2010)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าด้วงมูลสัตว์จะมีความหลากหลายมาก แต่จากการศึกษาอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ของด้วงมูลสัตว์ที่ผ่านมาของ Balthasar ในปี ค.ศ. 1963 โดยแบ่งตามพฤติกรรมการสร้างรัง สามารถแบ่งด้วงมูลสัตว์ออกเป็น 2 วงศ์ย่อย ประกอบด้วย วงศ์ย่อยที่ 1 คือ Scarabaeinae ประกอบด้วยด้วงมูลสัตว์ 6 เผ่าพันธุ์ (tribe) ของพวก rollers ดังนี้ เผ่าพันธุ์ Canthonini เผ่าพันธุ์ Eucraniini เผ่าพันธุ์ Eurysternini เผ่าพันธุ์ Gymnopleurini เผ่าพันธุ์ Scarabaeini และเผ่าพันธุ์ Sisyphini วงศ์ย่อยที่ 2 คือ Coprinae ประกอบด้วยด้วงมูลสัตว์ 6 เผ่าพันธุ์ ของพวก tunnellers ได้แก่ เผ่าพันธุ์ Coprini เผ่าพันธุ์ Dichotomiini เผ่าพันธุ์ Oniticellini เผ่าพันธุ์ Onitini เผ่าพันธุ์ Onthophagini และเผ่าพันธุ์ Phanaeini ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hanski และ Cambefort ในปี ค.ศ. 1991 ที่แบ่งด้วงมูลสัตว์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม tunnellers เป็นกลุ่มที่ปั้นมูลและขุดโพรงฝังก้อนมูลใต้กองมูลที่เป็นแหล่งอาหาร และกลุ่ม rollers เป็นกลุ่มที่ปั้นก้อนมูลแล้วกลิ้งมูลออกจากกองมูลเดิม ในแต่ละกลุ่มประกอบไปด้วยด้วงมูลสัตว์ 6 เผ่าพันธุ์เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Lawrence และ Newton ในปี ค.ศ. 1995 ได้แบ่งด้วงมูลสัตว์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถแบ่งด้วงมูลสัตว์ทั้ง 12 เผ่าพันธุ์ ไว้ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Monaghan และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 ศึกษาโดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุลแบ่งด้วงมูลสัตว์ทั้ง 12 เผ่าพันธุ์ ไว้ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae นอกจากนี้ การศึกษาของ Davis ในปี ค.ศ. 1997 ได้จัดกลุ่มของด้วงมูลสัตว์จากพฤติกรรมกรวางไข่และการใช้มูลเป็นอาหาร พบว่า สามารถแบ่งด้วงมูลสัตว์ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ด้วงมูลสัตว์กลุ่ม tunnellers เป็นด้วงมูลสัตว์ที่มีพฤติกรรมขุดโพรงใต้กองมูล, ด้วงมูลสัตว์กลุ่ม rollers เป็นด้วงมูลสัตว์ที่มีพฤติกรรมตัดมูลให้เป็นก้อนกลมแล้วกลิ้งออกจากกองมูล และด้วงมูลสัตว์กลุ่ม dwellers เป็นด้วงมูลสัตว์ที่มีพฤติกรรมการสร้างรัง สืบพันธุ์ และวางไข่ภายในกองมูล ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน โดยด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* จัดอยู่ในกลุ่ม tunnellers ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการแก่งแย่งสูง แพร่กระจายได้รวดเร็วเมื่อเทียบกับด้วงมูลสัตว์กลุ่มอื่นๆ จึงมีวิวัฒนาการเร็วกว่า ดังนั้นเมื่อจัดลำดับอนุกรมวิธานของด้วงมูลสัตว์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพฤติกรรมการสร้างรังจึงไม่สามารถจัดกลุ่มได้อย่างชัดเจน ปัจจุบันจึงมีการศึกษาอนุกรมวิธานโดยใช้ช่วงควานวิวัฒนาการด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลควบคู่ไปกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อการจัดลำดับอนุกรมวิธานให้มีความน่าเชื่อถือมากขึ้น

การศึกษาก่อนหน้านี้ทั่วโลกเกี่ยวกับวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของ Montreuil ในปี ค.ศ. 1998 ศึกษาด้วงมูลสัตว์ในเผ่าพันธุ์ Coprini และเผ่าพันธุ์ Dichotomiini พบว่า ด้วงมูลสัตว์ทั้งสองเผ่าพันธุ์เกือบจะมีบรรพบุรุษเดียวกัน (paraphyletic group) ต่อมาในปี ค.ศ. 2004 Philips และคณะ ศึกษาความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae พบว่า ด้วงมูลสัตว์มีบรรพบุรุษร่วมกัน (monophyletic group) และมีการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุล ของ Monaghan และคณะในปี ค.ศ. 2007 พบว่า ด้วงมูลสัตว์ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae มีบรรพบุรุษร่วมกัน นอกจากนี้ การศึกษาที่มีอยู่ในปัจจุบันพยายามพิสูจน์ให้เห็นว่าวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์เผ่าพันธุ์ Onthophagini มีบรรพบุรุษร่วมกันกับเผ่าพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันอย่างเผ่าพันธุ์ Oniticellini และเผ่าพันธุ์ Onitini และพบว่าด้วงมูลสัตว์ทั้งสามเผ่าพันธุ์นี้เกือบจะมีบรรพบุรุษร่วมกัน แต่ยังมีการศึกษาบางเรื่องพบว่าภายในเผ่าพันธุ์ Onthophagini มีบรรพบุรุษแตกต่างกัน (polyphyletic group) ในขณะที่เผ่าพันธุ์ Oniticellini และเผ่าพันธุ์ Onitini มีบรรพบุรุษร่วมกัน (Ocampo และ Hawks, 2006; Monaghan และคณะ, 2007; Wirta และคณะ, 2008; Mlambo และคณะ, 2015) นอกจากนี้ยังมีการพิสูจน์การมีบรรพบุรุษร่วมกันระหว่างเผ่าพันธุ์ Oniticellini และเผ่าพันธุ์ Onthophagini โดยการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์ โดยใช้หลักฐานทางสัณฐานวิทยาของ Philips ในปี ค.ศ. 2016 สนับสนุนว่า ด้วงมูลสัตว์เผ่าพันธุ์ Oniticellini และเผ่าพันธุ์ Onthophagini มีบรรพบุรุษร่วมกัน แต่มีเฉพาะข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเท่านั้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาในอดีตที่ผ่านมามุ่งเน้นแก้ไขความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์เฉพาะวงศ์ย่อย Scarabaeinae เท่านั้น แต่การศึกษาในระดับเผ่าพันธุ์ Onthophagini ยังขาดข้อมูลความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Tarasov และ Genier, 2015)

ต่อมาในปี ค.ศ. 2016 Breeschoten และคณะ ศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการและชีวภูมิศาสตร์ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* โดยใช้ข้อมูลจีโนมของยีนไมโทคอนเดรียในการอธิบายความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์จากทุกภูมิภาคทั่วโลก พบว่า สามารถแบ่งได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่มเขตร้อนของแอฟริกา (Afrotropical) กลุ่มโอเรียนตัล (Oriental) กลุ่มโลกใหม่ (Neotropical) และ กลุ่มพาลีอาร์กติก (Palearctic) โดยด้วงมูลสัตว์เผ่าพันธุ์ Onthophagini มีบรรพบุรุษร่วมกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเผ่าพันธุ์ Onthophagini กับเผ่าพันธุ์ Oniticellini และ Onitini พบว่าเกือบจะมีบรรพบุรุษเดียวกัน และจากการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ทุกชนิดที่พบในกลุ่มพาลีอาร์กติก มีบรรพบุรุษร่วมกัน นอกจากนี้ ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในกลุ่มออสเตรเลีย สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มความสัมพันธ์ย่อยคือ กลุ่มย่อยที่ 1 ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มออสเตรเลีย เป็น sister group กับด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มโลกใหม่ อย่างไรก็ตามกลุ่มย่อยที่ 2 ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มออสเตรเลียเป็น sister group กับด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มโอเรียนตัล จากผลการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูล

สัตว์สกุล *Onthophagus* ของ Breeschoten และคณะ ในปี ค.ศ. 2016 พบว่าจำนวนชนิดของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มโอเรียนตัล มีจำนวนตัวอย่างด้วงมูลสัตว์สกุลนี้ น้อยเมื่อเทียบกับเขตภูมิศาสตร์กลุ่มโอเรียนตัล จึงไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนว่าด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีบรรพบุรุษร่วมกันหรือไม่ภายในกลุ่มโอเรียนตัล

นอกจากนี้ ในประเทศไทยมีการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการตามเขตภูมิศาสตร์ (phylogeography) ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* Latreille, 1802 ในคาบสมุทรไทยและเขตอนุภูมิภาคย่อยอินโดจีน (Boonrotpong, 2009) โดยการวิเคราะห์วงศ์วานวิวัฒนาการระดับโมเลกุล ศึกษาโดยใช้ยีน 2 ยีน คือ COI, 28S rDNA และรวมยีนทั้งสองยีน (combined gene) ผลการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* แบ่งออกเป็น 2 เคลด (clade) และมีจุดกำเนิดจากเขตอนุภูมิภาคย่อยอินโดจีน ต่อมา มีบางชนิดแพร่กระจายมาสู่คาบสมุทรไทยในช่วง Plio-Pleistocene พร้อมกับการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม โดยปัจจัยในอดีตที่มีผลต่อการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ ได้แก่ ระดับน้ำทะเล และภูมิอากาศ รวมทั้งปัจจัยเชิงนิเวศที่มีบทบาทสำคัญต่อรูปแบบการแพร่กระจายและวิวัฒนาการในอดีตของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในสองเขตอนุภูมิภาค แต่ยังไม่มีความชัดเจนว่าด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีบรรพบุรุษเดียวกันก่อนหน้านี้นี้มีการศึกษาเกี่ยวกับเส้นทางการอพยพของสัตว์ในคาบสมุทรไทยและเขตอนุภูมิภาคย่อยอินโดจีน โดยมี 2 แนวความคิดเกี่ยวกับเส้นทางการอพยพ ดังนี้ แนวคิดที่ 1 คือ การอพยพจากแผ่นดินใหญ่ (mainland) ไปยังหมู่เกาะ (island) และแนวคิดที่ 2 คือ การอพยพจากหมู่เกาะมายังแผ่นดินใหญ่ (MacArthur และ Wilson, 1967) ประเทศไทยตั้งอยู่ใน 2 อนุภูมิภาคย่อย คือ Indochinese sub-region และ Sundaic sub-region ทั้ง 2 อนุภูมิภาคย่อยมีรอยต่ออยู่บริเวณคอคอคอดกระ (Isthmus of Kra) ของคาบสมุทรไทย คาดการณ์ว่าน่าจะเป็นอุปสรรคทางธรรมชาติสำหรับการกระจายของสัตว์ (Collins และคณะ, 1991; Lekagul และ Round, 1991) งานวิจัยก่อนหน้านี้หลายชิ้นศึกษาเกี่ยวกับการกระจายของสิ่งมีชีวิตในเขตอนุภูมิภาคย่อยอินโดจีนและคาบสมุทรไทยที่แสดงให้เห็นว่า ภาคใต้ของไทยอาจเป็นเส้นทางอพยพของสิ่งมีชีวิตจากแผ่นดินใหญ่ไปยังหมู่เกาะต่างๆ (Hughes และคณะ, 2003; Woodruff และ Turner, 2009; Woodruff, 2010)

การศึกษาคั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีบรรพบุรุษร่วมกันหรือไม่ โดยใช้เครื่องหมายทางชีวโมเลกุลของยีน 4 ชนิด ได้แก่ ยีนไมโทคอนเดรีย ประกอบด้วย Cytochrome oxidase I (COI), 16S ribosomal DNA (16S rDNA) และ Cytochrome b (Cyt b) และยีนในนิวเคลียส ได้แก่ 28S ribosomal DNA domain3 (28S rDNA domain3) ในการอธิบายวงศ์วานวิวัฒนาการและความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย และสามารถอธิบายได้ว่าเส้นทางการอพยพของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

ภายในคาบสมุทรไทยเป็นอย่างไร จึงเป็นที่มาของคำถามหลักของงานวิจัยนี้มี 2 ประเด็น คือ
 1) วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีบรรพบุรุษเดียวกันหรือไม่และมีเส้นทางการอพยพอย่างไร 2) ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีความแปรผันทางพันธุกรรมอย่างไร

สมมติฐาน

H_0 : ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีวงศ์วานวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษเดียวกัน (monophyletic group)

H_1 : ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยบางชนิดมีวงศ์วานวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษเดียวกัน (monophyletic group) แต่บางชนิดเกือบจะมีบรรพบุรุษเดียวกัน (paraphyletic group)

H_0 : ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีความแปรผันทางพันธุกรรม

H_1 : ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยไม่มีความแปรผันทางพันธุกรรม

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษารูปแบบวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย
2. ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถอธิบายรูปแบบวงศ์วานวิวัฒนาการ (phylogenetic) และจุดกำเนิด (origin) ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย
2. ทราบปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ในกลุ่มประชากรของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย
3. สามารถอธิบายเส้นทางการอพยพของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย

4. สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อทางด้านวงศ์วานวิวัฒนาการเชิงภูมิศาสตร์ (phylogeography) ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
5. เพิ่มข้อมูลความหลากหลายและตัวอย่างอ้างอิงแก่พิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยา 50 พรรษา สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

1.2 การตรวจเอกสาร

ลำดับอนุกรมวิธานของด้วงมูลสัตว์

ด้วงมูลสัตว์เป็นแมลงปีกแข็งจัดอยู่ใน superfamily Scarabaeoidea family Scarabaeidae ด้วงมูลสัตว์ที่พบทั่วโลกส่วนใหญ่จัดอยู่ใน subfamily Scarabaeinae มีประมาณ 6,000 ชนิด ใน 257 สกุล (Simmons และ James Ridsdill-Smith, 2011) นอกจากนี้ Scarabaeinae เป็นหนึ่งในกลุ่มที่มีความหลากหลายและน่าสนใจที่สุดใน Scarabaeoidea เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่โดดเด่น สีสัณ และความซับซ้อนของพฤติกรรมการกินอาหาร (feeding behavior) พฤติกรรมการสร้างรัง (nesting behavior) พฤติกรรมการสืบพันธุ์ (reproductive behavior) และการเลือกเพศ (sexual selection) เป็นต้น (Halffter และ Matthews, 1966; Halffter และ Edmonds, 1982; Emlen และคณะ, 2007) การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* แพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง (Sole และ Scholtz, 2010) โดยจัดอยู่ในลำดับอนุกรมวิธานตามลำดับ ดังนี้ (Chandra และ Gupta, 2012)

Order Coleoptera Linnaeus, 1758

Suborder Polyphaga Emery, 1886

Superfamily Scarabaeoidea Latreille, 1802

Family Scarabaeidae Latreille, 1802

Subfamily Scarabaeinae Latreille, 1802

Tribe Onthophagini Burmeister, 1846

Genus *Onthophagus* Latreille, 1802

Subgenus *Onthophagus* Latreille, 1807

Subgenus *Onthophagiellus* Balthasar, 1935

Subgenus *Serrophorus* Balthasar, 1935

Subgenus *Phanaeomorphus* Balthasar, 1935

Subgenus *Parentius* Zunino, 1979

Subgenus *Palaeonthophagus* Zunino, 1979

Subgenus *Eremonthophagus* Zunino, 1979

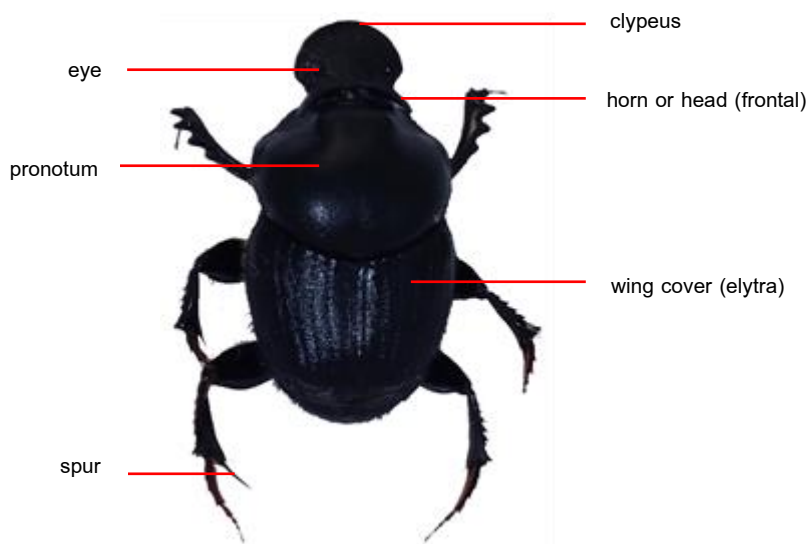
Subgenus *Trionthophagus* Zunino, 1979

Subgenus *Amphionthophagus* Martin-Piera & Zunino, 1979

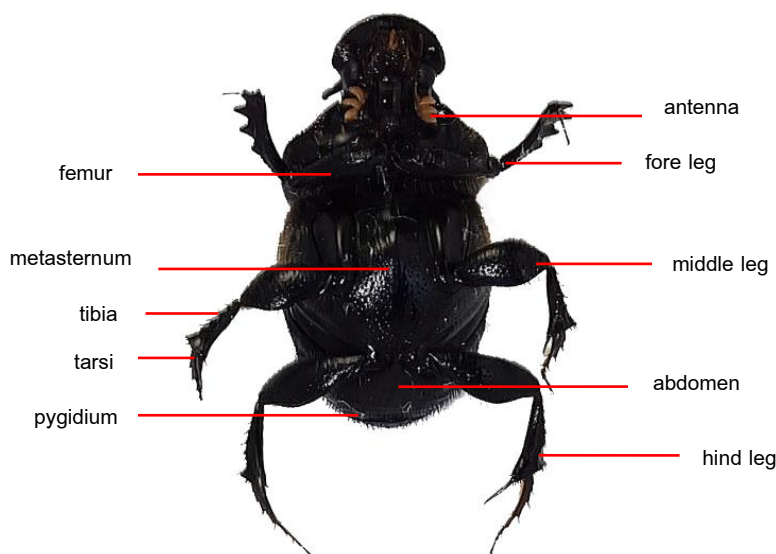
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของด้วงมูลสัตว์

ด้วงมูลสัตว์เป็นแมลงปีกแข็ง ลำตัวแบ่งเป็น 3 ส่วนชัดเจน ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ด้วงมูลสัตว์วงศ์ Aphodiidae มีพฤติกรรมแบบไม่สร้างก้อนมูล อาศัยเฉพาะใต้ผิวมูล มีรูปร่างลำตัวยาวและมีขนาดค่อนข้างเล็ก ส่วนด้วงมูลสัตว์วงศ์ Geotrupidae และวงศ์ Scarabaeidae มีพฤติกรรมในการปั้นก้อนมูลสำหรับเลี้ยงตัวอ่อน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญของด้วงมูลสัตว์ ได้แก่ clypeus แผ่ขยายกว้างปกคลุมส่วนของปาก มีลักษณะของ mandible คล้ายรูปใบไม้ มีหนวด 8 หรือ 9 ปล้อง มีหนวด 3 ปล้องที่มีขนาดใหญ่คล้ายลูกตุ้ม ส่วนของ coxa บริเวณขาคู่กลางแยกจากกันชัดเจน tibia ของขาคู่หลังมีหนาม (spur) 1 อัน ปีกคู่หน้าเป็นแบบปีกแข็ง (elytra) ไม่ปกคลุมถึงส่วนของ pygidium ปีกคู่หลังเนื้ออ่อนบางใสหรือขาว (membrane) มี abdomen 6 ปล้อง ส่วนของ pronotum และ scutellum มีขนาดใหญ่ นอกจากนี้ ด้วงมูลสัตว์เกือบทุกชนิดวงศ์ Scarabaeidae ส่วนหัวและขาคู่หน้ามีรูปร่างคล้ายคราดมีไว้เพื่อทำหน้าที่ในการขุด (Borner และคณะ, 1992; Davis, 1993; Gillott, 1995) แสดงลักษณะให้เห็น ตามรูปที่ 1 และ 2



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั่วไปของด้วงมูลสัตว์ (ด้านบน: dorsal view)
(ถ่ายภาพโดย อรทิพย์ วรานุศิษฏ์ เมื่อวันที่ 15 ธันวาคม พ.ศ. 2559)

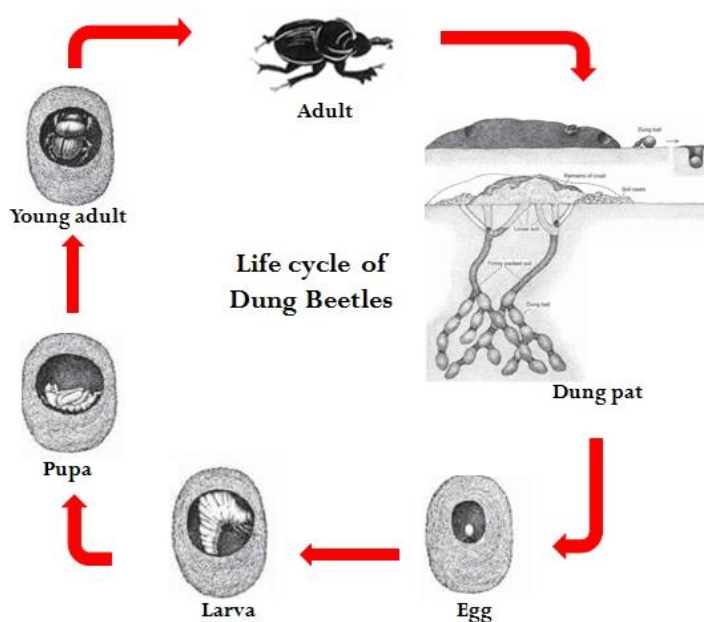


รูปที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั่วไปของด้วงมูลสัตว์ (ด้านล่าง: ventral view)
(ถ่ายภาพโดย อรทิพย์ วรานุศิษฐ์ เมื่อวันที่ 15 ธันวาคม พ.ศ. 2559)

ชีววิทยาของด้วงมูลสัตว์

ด้วงมูลสัตว์มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) หลังจากผสมพันธุ์ด้วงมูลสัตว์เพศผู้และเพศเมียจะขุดดินสร้างรังเพื่อวางไข่ โดยปั้นก้อนมูลเป็นก้อนกลมๆ ก้อนวางไข่แล้วฝังไว้ใต้ดิน หลังจากที่ไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอนจะเจริญเติบโตด้วยอาหารจากก้อนมูลนั้นและเจริญเป็นตัวเต็มวัยและกัดก้อนมูลออกมาด้านนอก มีการเจริญเติบโต 4 ระยะดังนี้ (Arrow, 1931)

1. ไข่ มีขนาดเล็ก รูปร่างรียาวคล้ายเมล็ดข้าวสาร มีสีใสจนถึงสีขาวขุ่นขึ้นอยู่กับชนิด ด้วงมูลสัตว์จะวางไข่ไว้ในก้อนมูลที่ปั้นเตรียมไว้เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับตัวอ่อน
2. ตัวหนอน เป็นแบบ scarabaeiform คือมีการขดเป็นรูปตัว "C" อยู่ในก้อนมูล ในระยะตัวหนอนสามารถย่อยอาหารที่มีกากใย (fiber) ได้ ในขณะที่ตัวเต็มวัยไม่สามารถย่อยสลายกากใยได้ ตัวอ่อนจะกัดกินก้อนมูลจนถึงวัยที่ 3 หลังจากนั้นจะหยุดกินอาหารและไม่ทำกิจกรรมใดๆ จนกลายเป็นดักแด้
3. ดักแด้ มีสีขาวครีม ลักษณะเป็นแบบ exarate มีรยางค์โผล่ออกมาและไม่มีปลอกห่อหุ้ม ระยะนี้เป็นระยะที่หยุดนิ่งไม่กินอาหารและมีการพัฒนาของเพศอย่างสมบูรณ์
4. ตัวเต็มวัย เมื่อเจริญเต็มที่จะกัดก้อนมูลเพื่อดันตัวออกจากก้อนมูล ตัวเต็มวัยมีอายุแตกต่างกันไปตามชนิดของด้วงมูลสัตว์ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 วงจรชีวิตของด้วงมูลสัตว์ (ดัดแปลงจาก Daeda และคณะ, 2012)

ด้วงมูลสัตว์สามารถแพร่กระจายได้ในสภาพแวดล้อมหลายลักษณะ (Janzen, 1983) พบมากทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น แต่มีความหลากหลายและความชุกชุมมากที่สุดใป่าดิบชื้น เนื่องจากป่าดิบชื้นมีความหลากหลายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ส่งผลให้ประชากรของด้วงมูลสัตว์มีจำนวนเพิ่มขึ้นด้วย (Hanski, 1991) เนื่องจากด้วงมูลสัตว์ใช้มูลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเป็นอาหาร ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ถือเป็นด้วงมูลสัตว์ที่มีความมากชนิดมากที่สุดในโลก (Roskov และคณะ, 2013) พบประมาณ 2,300 ชนิด (Schoolmeesters, 2016) จากการคาดการณ์ชนิดด้วงมูลสัตว์ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีประมาณ 1,000 ถึง 2,000 ชนิด (Hanski, 1991) และหลายปีที่ผ่านมา พบด้วงมูลสัตว์เพิ่มอีกประมาณ 450 ชนิด ในวงศ์ Scarabaeidae ส่วนใหญ่เป็นสกุล *Onthophagus* (324 ชนิด) นอกจากนี้มีรายงานในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีความหลากหลายมากที่สุด (Howden และ Cartwright, 1963; Matthews, 1972; Howden และ Nealis, 1975)

นิเวศวิทยาของด้วงมูลสัตว์

อาหาร ปริมาณอาหาร และชนิดของอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์และเป็นตัวกำหนดพฤติกรรม ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการพัฒนาของตัวอ่อน ส่งผลให้ด้วงมูลสัตว์มีความหลากหลายแตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งด้วงมูลสัตว์ออกเป็นกลุ่มตามลักษณะความสัมพันธ์ของอาหารที่ด้วงมูลสัตว์ใช้ประโยชน์ ดังนี้ (ยุพา, 2554)

1. Coprophagous ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้กินมูลของสัตว์ที่กินพืชเป็นอาหาร โดยเฉพาะมูลของสัตว์กินพืชขนาดใหญ่ (bovine) และอุจจาระคน ซึ่งในมูลสัตว์หรืออุจจาระคนมีสารอาหารที่จำเป็นสำหรับด้วงมูลสัตว์ ความหลากหลายของด้วงมูลสัตว์ในกลุ่มนี้มีแตกต่างกันไปตามลักษณะของที่อยู่อาศัย โดยจะมีความหลากหลายมากในพื้นที่ป่าเขตร้อน

2. Necrophagous เป็นด้วงมูลสัตว์ที่กินซากสัตว์ (carrion feeder) หรือกินมูลของสัตว์กินเนื้อ (carnivorous) เป็นอาหาร และสามารถกินมูลสัตว์กินพืชได้อีกด้วย (copro-necrophagus) พบด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้ได้มากในบริเวณป่าที่บอบและมีแสงน้อย ด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้มีพฤติกรรมออกหากินในเวลากลางคืน (nocturnal) จะพบมากในพื้นที่ป่าเขตร้อน

3. Saprophagous เป็นด้วงมูลสัตว์ที่กินซากพืช เห็ด รา หรือผลไม้ที่เน่าเปื่อยเป็นอาหาร เป็นกลุ่มที่มีวิวัฒนาการค่อนข้างต่ำ และมีวิวัฒนาการใกล้ชิดกับ Coprophagous พบในพื้นที่ป่าเป็นส่วนใหญ่

พฤติกรรมการสร้างรังของด้วงมูลสัตว์

ด้วงมูลสัตว์แต่ละชนิดมีพฤติกรรมการสร้างรังที่แตกต่างกัน สามารถจัดกลุ่มของด้วงมูลสัตว์จากพฤติกรรมการวางไข่และการใช้มูลเป็นอาหาร ออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้ (Davis, 1997)

1. กลุ่มที่ขุดโพรงใต้กองมูล (tunneller dung beetles) มีพฤติกรรมการสร้างรังโดยด้วงมูลสัตว์ตัวผู้และตัวเมียจะขุดทำรังใต้พื้นดินซึ่งอยู่ใต้กองมูล อาจจะขุดทำรังเป็นท่อหรือปล่องและป็นมูลเป็นก้อนกลมหลายๆ ก้อนนำลงไปฝังใต้ดิน กระจายกระจายออกหรือวางต่อเนื่องกัน เพื่อใช้เป็นที่วางไข่และเป็นอาหารของตัวอ่อน ด้วงมูลสัตว์ที่มีพฤติกรรมการขุดรังแบบนี้ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มที่หากินได้ทั้งกลางวันและกลางคืน เช่น พวกวงศ์ย่อย Geotrupinae และ Coprinae โดยด้วงมูลสัตว์พวกที่มีพฤติกรรมดังกล่าวจะมีขาคู่หน้าสั้นและแข็งแรง มีซีกพื้นใหญ่แข็งแรงเพื่อขุดดิน

2. กลุ่มที่ตัดมูลเป็นก้อนกลมแล้วกลิ้งออกจากกองมูล (roller dung beetles) ตัวมูลสัตว์กลุ่มนี้หลังจากปั้นมูลเป็นก้อนกลมๆแล้ว จะกลิ้งก้อนมูลออกจากกองมูลเดิม เพื่อหาที่ที่เหมาะสมแล้วนำก้อนมูลนั้นฝังลงดินหรือบริเวณที่มีพืชปกคลุม เพื่อใช้เป็นที่อยู่อาศัยของตัวอ่อน ตัวมูลสัตว์กลุ่มนี้มีลักษณะพิเศษ คือขาหลังจะยาวกว่าขาคู่กลางและคู่หน้ามาก ตัวมูลสัตว์ทั้งเพศผู้และเพศเมียจะช่วยกันปั้นก้อนมูลจนกลมและกลิ้งก้อนมูลออกไปจากกองมูล

3. กลุ่มที่สร้างรัง สืบพันธุ์ และวางไข่ภายในกองมูล (dweller dung beetles) ตัวมูลสัตว์กลุ่มนี้มีขนาดเล็ก เป็นตัวมูลสัตว์ที่จัดอยู่ในวงศ์ Aphodiidae และพวกสกุล *Oniticellus* ของวงศ์ Scarabaeidae ซึ่งตัวมูลสัตว์กลุ่มนี้จะกินมูลสัตว์โดยตรงจากกองมูลเป็นอาหาร แล้ววางไข่ไว้ในกองมูลนั้นโดยไม่สร้างรัง

บทบาทและความสำคัญของตัวมูลสัตว์

ตัวมูลสัตว์ (dung beetles) มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางนิเวศวิทยาหลายประการ ได้แก่

1. Primary decomposer เป็นผู้ย่อยสลายขั้นต้น เนื่องจากมูลสัตว์เป็นแหล่งของทรัพยากรที่สามารถใช้ประโยชน์ได้เพียงชั่วคราวในขณะที่มูลยังสดอยู่เท่านั้น (ephemeral resource) (Nichols และคณะ, 2008) ในการทำฟาร์มปศุสัตว์และการทำแปลงหญ้าเลี้ยงสัตว์พบว่าตัวมูลสัตว์เป็นแมลงที่มีศักยภาพในการย่อยสลายสูง โดยอาศัยกองมูลเป็นแหล่งอาหาร แหล่งที่อยู่อาศัย และแหล่งเลี้ยงดูตัวอ่อน และตัวมูลสัตว์สามารถตัดก้อนมูลให้เป็นชิ้นเล็กได้อย่างรวดเร็ว จึงช่วยลดการทับถมของกองมูลลงบนแปลงหญ้าเลี้ยงสัตว์ได้ (Lastro, 2006) นอกจากนี้ยังลดมลพิษทางกลิ่นที่เกิดจากมูลสัตว์ได้อีกด้วย

2. Nutrient cycling ตัวมูลสัตว์มีบทบาทในการช่วยหมุนเวียนสารอาหาร โดยพฤติกรรมการปั้นก้อนมูล การฝังก้อนมูล หรือการกลิ้งก้อนมูล จะช่วยหมุนเวียนสารอาหารที่อยู่ในดิน และช่วยกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีต่างๆ และพวกจุลินทรีย์ในดิน เช่น จุลินทรีย์ต่างๆ ในดินจะช่วยเร่งอัตราการระเหยของสารประกอบไนโตรเจน ช่วยให้สารประกอบไนโตรเจนกลับสู่ระบบนิเวศได้เร็วขึ้น เป็นต้น (Nichols และคณะ, 2008; Boonrotpong, 2009)

3. Biological indicator ตัวมูลสัตว์สามารถใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสภาพนิเวศป่าไม้และสัตว์ป่าได้ เนื่องจากตัวมูลสัตว์กินมูลสัตว์เป็นอาหารจึงมีความสัมพันธ์กับสัตว์และป่าโดยตรง สิ่งมีชีวิตที่จะนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ความหลากหลายทางชีวภาพต้องมีคุณสมบัติหลายประการ เช่น ไวต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพของแหล่งที่อยู่อาศัย และสามารถบ่งบอกแนวโน้มความแตกต่างของโครงสร้างระหว่างถิ่นที่อยู่ มีความหลากหลายทางอนุกรมวิธานและนิเวศวิทยา และแพร่กระจายได้กว้างตามเขตภูมิศาสตร์

เป็นต้น (Davis, 1993) จึงมีการใช้ความหลากหลายของตัวมุลสัตว์เป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงของสภาพนิเวศป่าไม้หรือเป็นดัชนีบ่งชี้ความหลากหลายทางชีวภาพ

4. Bioturbation ตัวมุลสัตว์โดยเฉพาะกลุ่ม tunnellers ที่มีการขุดโพรงเพื่อสร้างรังใต้กองมุล ในระหว่างการขุดโพรงนี้สันนิษฐานว่าจะช่วยในการกวนตะกอนดิน (bioturbation) ช่วยให้ออกซิเจนสามารถกลับลงสู่ดินได้มากและลึกขึ้น ลดการเน่าเสียของดินตะกอน และเพิ่มความพรุนให้ดินชั้นบนเพื่อให้น้ำและธาตุอาหารซึมผ่านดินได้ดีขึ้น (Nichols และคณะ, 2008) แต่ยังไม่พบการศึกษาที่แน่ชัดเกี่ยวกับการช่วยเติมอากาศในดินของตัวมุลสัตว์จะเพียงพอที่จะชดเชยการบดอัดดินจากการทำปุศุสัตว์หรือไม่ (Fincher, 1981) สิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น พวกปลวกและไส้เดือนก็มีการสร้างโพรงใต้ดินเช่นกัน และมุลของมุลสัตว์ที่ฝังอยู่ในดินอาจถูกทำลายโดยปลวก (Herrick และ Lal, 1996)

5. Plant growth enhancement การกลิ้งมุลของตัวมุลสัตว์นั้นเป็นการเคลื่อนย้ายก้อนมุลที่มีส่วนประกอบของไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารที่สำคัญของพืช และการที่ตัวมุลสัตว์ขุดรูเป็นโพรงเพื่อฝังก้อนมุลที่ปลงไปในดินเป็นการลดความแน่นของชั้นดินช่วยให้รากพืชหาอาหารได้ดีขึ้นจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช (Nichols และคณะ, 2008)

6. Secondary seed dispersal ตัวมุลสัตว์มีบทบาทในการช่วยกระจายเมล็ดพันธุ์พืช โดยการกลิ้งมุลและการฝังมุล บางครั้งมุลของสัตว์บางชนิดมีเมล็ดพืชที่สัตว์กินเข้าไป การที่ตัวมุลสัตว์กลิ้งก้อนมุลและฝังก้อนมุลที่มีเมล็ดพืชติดไปจึงเป็นการช่วยในการกระจายพันธุ์พืช (Nichols และคณะ, 2008) แต่จากการศึกษาพบว่า ความสำเร็จในการเกิดของเมล็ดพันธุ์ที่ฝังไปนั้นส่วนใหญ่จะลดลงอย่างมากที่ความลึกต่ำกว่า 3 เซนติเมตร (Feer, 1999; Hingrat และ Feer, 2002; Pearson และคณะ, 2002)

7. Parasite suppression และ Enteric parasites ตัวมุลสัตว์มีบทบาทช่วยควบคุมและลดไข่พยาธิที่อยู่ในกองมุลที่สัตว์ขับถ่ายออกมา จากการศึกษาพบว่า ตัวมุลสัตว์ในสกุล *Onitis* และ *Onthophagus* สามารถควบคุมพยาธิตัวกลมที่มาจากกระเพาะและลำไส้ของวัวได้ถึง 90-97 เปอร์เซ็นต์ (นพพร, 2540) และช่วยกำจัดปรสิตในตัวสัตว์ที่ปนมากับมุลที่สัตว์ถ่ายออกมา (Strong, 1992)

8. Pollination ตัวมุลสัตว์บางชนิดมีบทบาทในการถ่ายละอองเรณูของพืช ซึ่งพบตัวมุลสัตว์ไม่กี่ชนิดที่มีความสำคัญในการถ่ายละอองเรณูในดอกไม้ วงศ์ Araceae และ วงศ์ Lowiaceae (Nichols และคณะ, 2008)

จะเห็นว่าในธรรมชาติตัวมุลสัตว์มีบทบาทสำคัญในการรักษาความสมบูรณ์ของระบบนิเวศเป็นอย่างมาก ดังนั้นความเข้าใจเกี่ยวกับความสำคัญของตัวมุลสัตว์ที่ส่งผลต่อความหลากหลายในระบบนิเวศจึงเป็นสิ่งสำคัญ

ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์

ปัจจัยที่สำคัญในการดำรงชีวิตและส่งผลต่อการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ ประกอบด้วยหลายปัจจัย ดังนี้

1. อาหาร เป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดความหลากหลายของชนิดและปริมาณของด้วงมูลสัตว์ (Halffter และ Mathews, 1996) ซึ่งด้วงมูลสัตว์มีความจำเพาะต่อมูลสัตว์ที่แตกต่างกัน
2. อุณหภูมิ เป็นปัจจัยสำคัญต่อการแพร่กระจายและกระตุ้นกิจกรรมการดำรงชีวิต โดยเฉพาะอุณหภูมิที่อยู่ระหว่าง 11-25 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนด้วงมูลสัตว์และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ดินแห้งเร็ว แข็ง ทำให้ยากต่อการวางไข่
3. ความชื้นและปริมาณน้ำฝน เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เป็นอาหารสัตว์ เช่น หญ้า ถ้าอาหารอุดมสมบูรณ์สัตว์ก็จะเพิ่มมากขึ้น ด้วงมูลสัตว์ก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย นอกจากนี้ความชื้นและปริมาณน้ำฝนยังทำให้ดินอ่อนนุ่ม ด้วงมูลสัตว์ที่เจริญเติบโตเต็มที่สามารถออกจากก้อนมูลได้ง่าย ส่งผลต่อการรอดชีวิตของด้วงมูลสัตว์

การศึกษาเกี่ยวกับด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* เป็นสกุลที่มีความหลากหลายมากที่สุด (Howden และ Cartwright, 1963; Mathews, 1972; Howden และ Nealis, 1975) พบมากทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น มีการกระจายอย่างกว้างขวางในป่าฝนเขตร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Hanski และ Krikken, 1991) และสามารถพบด้วงมูลสัตว์จำนวนมากในป่าดิบชื้น (Janzen, 1983) โดยรูปแบบการกระจายและโครงสร้างชุมชนของด้วงมูลสัตว์สกุลนี้ได้รับอิทธิพลจากการเกิดการเปลี่ยนแปลงของที่อยู่อาศัยและโครงสร้างป่า (Davis และคณะ, 2001) ดังนั้น ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* จึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ทางชีวภาพได้ในการศึกษาการกระจายตัวของที่อยู่อาศัยและการรบกวนที่อยู่อาศัย (Davis และคณะ, 2001) มีรายงานว่าด้วงมูลสัตว์สกุลนี้กระจายตัวอย่างกว้างขวางจากภาคเหนือไปยังตอนใต้ของประเทศไทย โดยครอบคลุมกว้างขวางในแหล่งที่อยู่อาศัยบริเวณป่าฝนเขตร้อนและกระจายอย่างชุกชุมในป่าที่ราบต่ำบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนาซาข้างของคาบสมุทรมไทย (Boonrotpong และคณะ, 2004) นอกจากนี้ ยังเชื่อว่าด้วงมูลสัตว์ที่พบในปัจจุบันมีต้นกำเนิดอยู่ในแอฟริกา (Africa) และมีการแพร่กระจายตามสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมมาจากแอฟริกา เมื่อคำนวณอายุของฟอสซิล (fossil) ด้วงมูลสัตว์ที่พบในแอฟริกา (Janis, 1993) พบว่าตรงกับช่วงเวลาที่มีการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม เนื่องจากด้วงมูลสัตว์อาศัยมูลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเป็นแหล่งอาหาร แหล่งที่อยู่อาศัย และเลี้ยงดูตัวอ่อน จากการศึกษาที่ผ่านมา

เกี่ยวกับด้วงมูลสัตว์ทั้งด้านอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยา พฤติกรรม และสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าด้วงมูลสัตว์มีความซับซ้อนทางด้านสัณฐานวิทยา นิเวศวิทยา และพฤติกรรม ส่วนใหญ่พบว่าด้วงมูลสัตว์มีความสัมพันธ์กับมูลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Hanski และ Cambefort, 1991)

ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับด้วงมูลสัตว์ เช่น ศึกษาอนุกรมวิธานและนิเวศวิทยาของด้วงมูลสัตว์บนเรือนยอดเกาะบอร์เนียว (Davis และคณะ, 1997) ศึกษาการปรับตัวในการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ในป่าบนเกาะมาดากัสการ์ (Wirta และคณะ, 2008) การศึกษาเกี่ยวกับอนุกรมวิธานของด้วงมูลสัตว์ โดยแบ่งตามพฤติกรรมการสร้างรัง สามารถแบ่งด้วงมูลสัตว์ออกเป็น 2 วงศ์ย่อย ประกอบด้วย วงศ์ย่อย 1 คือ Scarabaeinae ประกอบด้วยด้วงมูลสัตว์ 6 เผ่าพันธุ์ (tribe) ของพวก rollers ดังนี้ เผ่าพันธุ์ Canthonini เผ่าพันธุ์ Eucraniini เผ่าพันธุ์ Eurysternini เผ่าพันธุ์ Gymnopleurini เผ่าพันธุ์ Scarabaeini และเผ่าพันธุ์ Sisyphini วงศ์ย่อย 2 คือ Coprinae ประกอบด้วยด้วงมูลสัตว์ 6 เผ่าพันธุ์ ของพวก tunnellers ได้แก่ เผ่าพันธุ์ Coprini เผ่าพันธุ์ Dichotomiini เผ่าพันธุ์ Oniticellini เผ่าพันธุ์ Onitini เผ่าพันธุ์ Onthophagini และเผ่าพันธุ์ Phanaeini (Balthasar, 1963) นอกจากนี้การศึกษาของ Hanski และ Cambefort (1991) แบ่งด้วงมูลสัตว์ตามพฤติกรรมการสร้างรัง ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม tunnellers เป็นกลุ่มที่ปั้นมูลและขุดโพรงฝังก้อนมูลใต้กองมูลที่เป็นแหล่งอาหาร และ กลุ่ม rollers เป็นกลุ่มที่ปั้นก้อนมูลแล้วกลิ้งมูลออกจากกองมูลเดิม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยด้วงมูลสัตว์ 6 เผ่าพันธุ์ เช่นเดียวกัน ในทางตรงกันข้ามจากการศึกษาของ Lawrence และ Newton (1995) แบ่งโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยแบ่งด้วงมูลสัตว์ทั้ง 12 เผ่าพันธุ์ ไว้ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Monaghan และคณะ (2007) ศึกษาโดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุลแบ่งด้วงมูลสัตว์ทั้ง 12 เผ่าพันธุ์ ไว้ในวงศ์ย่อย Scarabaeinae และจากการศึกษาของ Davis และคณะ (2002) ศึกษาการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ พบว่า ด้วงมูลสัตว์สามารถแพร่กระจายได้ทั่วโลก แบ่งด้วงมูลสัตว์ออกเป็น 4 cluster คือ 1. Americas cluster 2. Madagascar cluster 3. Gondwanaland cluster และ 4. Afro-Eurasian cluster ซึ่งจากการศึกษาเชื่อว่าแอฟริกาเป็นจุดกำเนิดของด้วงมูลสัตว์และเริ่มมีการแพร่กระจายออกไปยังทวีปอื่นๆ ทั่วโลก ตัวอย่างการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ที่ดีที่สุดคือ ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่สามารถแพร่กระจายได้กว้าง และพบว่ามีต้นกำเนิดอยู่ในแอฟริกา แต่ปัจจุบันสามารถพบได้เกือบทุกทวีป ยกเว้นทวีปแอนตาร์กติกา ที่ผ่านมามีการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของ Montreuil (1998) ศึกษาด้วงมูลสัตว์ในเผ่าพันธุ์ Coprini และ Dichotomiini พบว่า มีบรรพบุรุษต่างกัน (paraphyletic) ต่อมา Philips และคณะ (2004) ศึกษาความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์ ในกลุ่ม Scarabaeinae พบว่า ด้วงมูลสัตว์ในกลุ่ม Scarabaeinae มีบรรพบุรุษร่วมกัน (monophyletic) ต่อมาได้มีการศึกษาความสัมพันธ์เชิง

วิวัฒนาการโดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุล จากการศึกษาของ Monaghan และคณะ (2007) พบว่าด้วงมูลสัตว์ในกลุ่ม Scarabaeinae มีบรรพบุรุษร่วมกัน

ประเทศไทยมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับด้วงมูลสัตว์ทางด้านอนุกรมวิธานในเขตทุ่งหญ้า (Hanboonsong, 1998) การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของด้วงมูลสัตว์ในระบบนิเวศในพื้นที่เขื่อนสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี (ยุพา, 2554) การศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายของชนิดและความชุกชุมของด้วงมูลสัตว์ (Coleoptera: Scarabaeidae) ระหว่างป่าที่สมบูรณ์และป่าที่ถูกรบกวนบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตงนาช้าง จังหวัดสงขลา (สิงโต, 2545) นอกจากนี้ มีการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการตามเขตภูมิศาสตร์ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* Latreille ในคาบสมุทรไทยและเขตอนุภูมิภาคที่ย่อยอินโดจีน (Boonrotpong, 2009) ผลการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุลนี้มีจุดกำเนิดจากเขตอนุภูมิภาคย่อยอินโดจีนและมีบางชนิดแพร่กระจายมาสู่คาบสมุทรไทยโดยผ่านทาง การเชื่อมกันของผืนดินในช่วง Plio-Pleistocene พร้อมกับการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม โดยปัจจัยในอดีตที่มีผลต่อการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ ได้แก่ ระดับน้ำทะเล ภูมิอากาศ รวมทั้งปัจจัยเชิงนิเวศที่มีบทบาทสำคัญต่อรูปแบบการแพร่กระจายและวิวัฒนาการในอดีตของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ใน 2 เขตอนุภูมิภาค (Boonrotpong, 2009) นอกจากนี้ Breeschoten และคณะ (2016) ศึกษาวิวัฒนาการและชีวภูมิศาสตร์ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* โดยใช้ข้อมูลจีโนมของยีนไมโทคอนเดรียในการอธิบายความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์จากทุกภูมิภาคทั่วโลก พบว่า สามารถแบ่งได้ 4 กลุ่ม คือ กลุ่มเขตร้อนของแอฟริกา (Afrotropical) กลุ่มโอเรียนตัล (Oriental) กลุ่มโลกใหม่ (Neotropical) และ กลุ่มพาลีอาร์กติก (Palearctic) โดยด้วงมูลสัตว์เผ่าพันธุ์ *Onthophagini* มีบรรพบุรุษร่วมกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเผ่าพันธุ์ *Onthophagini* กับเผ่าพันธุ์ *Oniticellini* และ *Onitini* พบว่าเกือบจะมีบรรพบุรุษเดียวกัน และจากการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ทุกชนิดที่พบในกลุ่มพาลีอาร์กติก มีบรรพบุรุษร่วมกัน นอกจากนี้ ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในกลุ่มออสเตรเลีย สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มความสัมพันธ์ย่อย คือ กลุ่มย่อยที่ 1 ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มออสเตรเลีย เป็น sister group กับด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มโลกใหม่ อย่างไรก็ตาม ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มออสเตรเลีย เป็น sister group กับด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มโอเรียนตัล จากผลการศึกษาวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของ Breeschoten และคณะ ในปี ค.ศ. 2016 พบว่าจำนวนชนิดของด้วงมูลสัตว์ในสกุล *Onthophagus* ที่พบภายในกลุ่มโอเรียนตัล มีจำนวนตัวอย่างด้วงมูลสัตว์สกุลนี้น้อยเมื่อเทียบกับเขตภูมิศาสตร์กลุ่มโอเรียนตัล จึงไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนว่าด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีบรรพบุรุษร่วมกันหรือไม่ภายในกลุ่มโอเรียนตัล

คาบสมุทรไทย (peninsular Thailand)

ประเทศไทยตั้งอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งการก่อดำของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีบทบาทสำคัญทางชีวภูมิศาสตร์ของสิ่งมีชีวิตในภูมิภาคนี้ ดังนั้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้บางส่วนมีความซับซ้อนของความหลากหลายทางชีวภาพสูง นอกจากนี้พบว่าหมู่เกาะในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีจำนวนของพืชและสัตว์เฉพาะถิ่นสูงกว่าในภูมิภาคอื่น ๆ (Whitmore, 1975; Turner และคณะ, 2001) ตามเขตชีวภูมิศาสตร์สัตว์เอเชียตะวันออกเฉียงใต้สามารถแบ่งออกเป็น 4 ภูมิภาคย่อย ดังนี้ 1) Indochinese sub-region, 2) Sundaic sub-region, 3) Philippine sub-region และ 4) Wallacean sub-region (Woodruff, 2010) และประเทศไทยตั้งอยู่ภายใน 2 อนุภูมิภาคย่อย คือ Indochinese sub-region และ Sundaic sub-region ทั้ง 2 อนุภูมิภาคย่อยถูกแยกออกโดยคอคอดกระ (Isthmus of Kra) ที่คาดว่าเป็นอุปสรรคทางธรรมชาติสำหรับการกระจายของสัตว์ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าประเทศไทยประกอบด้วย 2 ภูมิภาคย่อย แต่ชีวภูมิศาสตร์ท้องถิ่นของประเทศไทยสามารถแบ่งออกเป็น 6 เขตทางชีวภูมิศาสตร์ โดยช่วงจำกัดของสายพันธุ์ท้องถิ่นและเฉพาะถิ่น (Collins และคณะ, 1991; Lekagul และ Round, 1991) ดังนี้ 1) ที่ราบสูงภาคเหนือ 2) ที่ราบสูงโคราช 3) ที่ราบภาคกลางบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา 4) ที่สูงตะวันออกเฉียงใต้ 5) เทือกเขาตะนาวศรี และ 6) คาบสมุทรไทย (รูปที่ 4)

1. ที่ราบสูงภาคเหนือ ล้อมรอบด้วยภูเขา สันเขา และหุบเขากว้างที่ขยายไปทางทิศใต้จากชายแดนของพม่าและลาวประมาณ 18 องศาเหนือ ภูเขามีสภาพสูงกว่า 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล พบป่าเบญจพรรณและป่าเต็งรัง พื้นที่สูงได้รับผลกระทบจากการรบกวนของมนุษย์ที่เปลี่ยนพื้นที่ป่าเป็นพื้นที่เกษตร รวมทั้งมีการตัดไม้ทำลายป่าที่เพิ่มมากขึ้น
2. ที่ราบสูงโคราชรวมถึงพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ระหว่างช่วงเพชรบูรณ์ในทางทิศตะวันตกและช่วงดงรักตอนใต้ ตามแนวชายแดนกัมพูชา ป่าบริเวณที่ราบสูงถูกทำลายมาก มีป่าฝนเขตร้อน ป่าดิบแล้ง และป่าเต็งรัง
3. ที่ราบภาคกลางบริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา เกือบทั้งหมดปลูกเป็นนาข้าวซึ่งทำลายบริเวณพื้นที่น้ำจืดที่มีอยู่ก่อนหน้านี้
4. ที่สูงตะวันออกเฉียงใต้ แถบเทือกเขาบรรทัดต่อเนื่องเทือกเขาพนมกระจานในกัมพูชาไปทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทยเป็นสังคมป่ากึ่งดิบชื้นเขตร้อน
5. เทือกเขาตะนาวศรีขยายไปทางทิศใต้ตามแนวชายแดนไทย-พม่า บริเวณกาญจนบุรี-ประจวบคีรีขันธ์ ลักษณะป่าเป็นป่ากึ่งดิบชื้นเขตร้อน ที่สูงชันเป็นป่าผลัดใบ ป่าถูกทำลายกลายเป็นทุ่งหญ้าหรือป่าไผ่

6. คาบสมุทรไทย รวมถึงพื้นที่ของประเทศไทยทางทิศใต้ของคอคอดกระถึงชายแดนไทย-มาเลเซีย มีขอบเขตแตกต่างกันของพืชและสัตว์ที่คอคอดกระ ระหว่างสายพันธุ์อินโดจีนและมาเลเซีย มีฝนตกชุกและปริมาณฝนสูงในคาบสมุทรทำให้มีป่าฝนหนาแน่นในพื้นที่เนินเขาถูกบุกรุกทำไร่ สวนยางพารา นอกจากนี้บริเวณคาบสมุทรไทยเป็นแหล่งรวมจำนวนชนิดพันธุ์นกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม



รูปที่ 4 ชีวภูมิศาสตร์ทั้ง 6 เขต ของประเทศไทย
(Collins และคณะ, 1991; Lekagul และ Round, 1991)

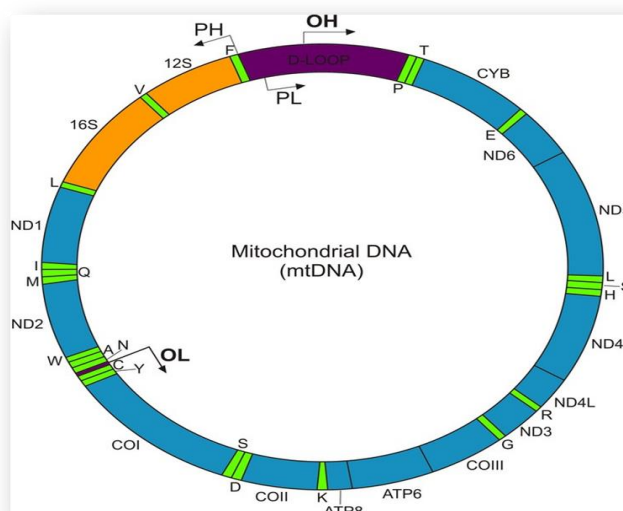
เหล่านั้นน่าจะมีระยะห่างทางวิวัฒนาการมากขึ้นตามไปด้วย (เจษฎา, 2556) การศึกษาด้านวงศวานวิวัฒนาการและพันธุกรรมโดยส่วนใหญ่นิยมตรวจสอบทั้งในนิวเคลียสดีเอ็นเอ (nuclear DNA) ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA) และไรโบโซมอล อาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA) (ยุพา, 2546) ซึ่งถือเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ดี

ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ เป็นออร์แกเนลล์ที่มีดีเอ็นเอเป็นของตัวเอง มีการจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอและสังเคราะห์โปรตีนได้เอง ไม่มีการเกิดกระบวนการ genetic recombination จึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมและมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ maternally-inherited คือถ่ายทอดจากแม่ไปสู่ลูกโดยตรงทำให้ลำดับนิวคลีโอไทด์คงเดิมทุกประการ ยกเว้นเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ซึ่งไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอมีอัตราการกลายพันธุ์โดยรวมค่อนข้างสูงและสูงกว่าอัตราการกลายพันธุ์ของยีนในนิวเคลียสถึง 10 เท่า (สุรินทร์, 2552) เนื่องจากมีความผิดพลาดในระหว่างกระบวนการจำลองตัวเองมากกว่า จึงนิยมใช้ยีนในไมโทคอนเดรียศึกษาอนุกรมวิธานและวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในระดับสกุล ชนิดพันธุ์ หรือแม้แต่ชนิดพันธุ์ย่อย ประกอบกับส่วนของยีนที่ค่อนข้างคงที่ มีความแปรปรวนน้อย และมีขนาดเล็กกว่าเมื่อเทียบกับนิวเคลียสดีเอ็นเอ โครงสร้างของจีโนมในไมโทคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นดีเอ็นเอเกลียวคู่แบบวงแหวน (double stranded circular DNA) รูปที่ 5 ซึ่งไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของแมลงเป็นแบบสายเดี่ยวลักษณะกลม ที่มีขนาดระหว่าง 16-20 kb ประกอบด้วยยีนหลัก 37 ยีนที่เป็นตัวส่งรหัส (coding) ของ tRNAs จำนวน 22 ยีน rRNAs จำนวน 2 ยีน และ mRNAs จำนวน 13 ยีน ในแมลงหลายชนิดมีการศึกษาในส่วนของยีนใน tRNA อย่างกว้างขวาง เช่น ตำแหน่งของยีน COI, COII, COIII, ND1-6 ที่ tRNA ในผึ้ง *Apis mellifera* และในยุง *Anopheles* (ยุพา, 2546) ซึ่งความแตกต่างในระดับนิวคลีโอไทด์ที่เกิดขึ้นจะสะท้อนให้เห็นถึงความแตกต่างของวิวัฒนาการในแต่ละกลุ่มจึงมีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการศึกษาสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการและสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเชิงภูมิศาสตร์

สำหรับยีนในนิวเคลียส จะมีอัตราการเกิดวิวัฒนาการสูงกว่าในออร์แกเนลล์อื่นๆ แต่ช้ากว่าไมโทคอนเดรีย จากการสำรวจพบว่าการอัตราการเกิด synonymous substitution ของยีนในนิวเคลียสสูงกว่ายีนในคลอโรพลาสต์ 5 เท่า และสูงกว่ายีนในไมโทคอนเดรียถึง 20 เท่า นิวเคลียสดีเอ็นเอจึงนิยมใช้ศึกษาสิ่งมีชีวิตในระดับวงศ์ย่อยขึ้นไป (ยุพา, 2546 และ เจษฎา, 2556) เนื่องจากยีนมีการเรียงตัวแบบอนุรักษ์ มีการเปลี่ยนแปลงน้อยจึงสามารถใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการและหาจุดกำเนิดของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งการเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จะใช้ในการศึกษาต้องคำนึงถึงความเหมาะสมและประสิทธิภาพของเครื่องหมายแต่ละชนิดในการแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา เช่น ในกรณีที่ศึกษาในสิ่งมีชีวิตในแง่ของวิวัฒนาการหรือเปรียบเทียบความสัมพันธ์ควรตรวจสอบจากยีนที่มีลักษณะอนุรักษ์ (conserved gene) เพื่อบอกความสัมพันธ์และดูความแปรผันทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตนั้นๆ โดย

อาจเปรียบเทียบลำดับเบสโดยตรงหรือเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีนโดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งยีนที่ตรวจสอบเป็นได้ทั้งยีนที่อยู่ในนิวเคลียสและออร์แกเนลล์อื่นๆ

โดยส่วนใหญ่การศึกษาความสัมพันธ์ในระดับสกุล (genus) ลงไปนิยมศึกษา ยีนในไมโทคอนเดรีย เนื่องจากสารพันธุกรรม (DNA) ในไมโทคอนเดรียจะได้รับจากแม่โดยตรง ความแปรผันที่เกิดขึ้นจึงเป็นผลมาจากการกลายพันธุ์ อย่างเดียว ดังนั้น ยีนในไมโทคอนเดรีย จึงมีอัตราการเกิดการกลายพันธุ์ ค่อนข้างสูง ทำให้เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนในสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันมาก จึงนิยมนำมาศึกษาความแตกต่างและความแปรผันที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต ส่วนยีนในนิวเคลียสนิยมใช้ศึกษาในระดับที่สูงขึ้นไป เช่น ระดับ family, subfamily เป็นต้น เพราะยีนมีการอนุรักษ์สูง เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อย จึงเหมาะกับการศึกษาวิวัฒนาการและจุดกำเนิดของสิ่งมีชีวิต ในการศึกษาจึงควรวิเคราะห์ควบคู่กันทั้งยีนในนิวเคลียสและยีนในไมโทคอนเดรียเพื่อความถูกต้องและแม่นยำ นอกจากนี้ยีนในไมโทคอนเดรียที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการ รวมทั้งการศึกษาโครงสร้างประชากรและการไหลของยีน ชีวภูมิศาสตร์ และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Avice และคณะ, 1987; Lang และคณะ, 1999) เช่น ยีน COI นำมาแก้ไขความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกัน (Jacobs และ Grimes, 1986; Lunt และคณะ, 1996 และ Harasewych และคณะ, 1997) และยีนในนิวเคลียส เป็นหนึ่งในเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมนำมาศึกษาวิวัฒนาการของสัตว์เช่นเดียวกัน เช่น 28S rDNA เป็นไรโบโซมอลดีเอ็นเอขนาดใหญ่ที่มีหลาย subunit มักจะนำมาใช้ประเมินวิวัฒนาการ ความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตในชนิดเดียวกัน (Hedin และ Bond, 2006; O'Donnell และ Jockusch, 2008) สำหรับตัวมุลสัตว์นิยมใช้ COI, 16S rDNA, 28S rDNA ในการประมาณการ ประวัติศาสตร์เชิงวิวัฒนาการ (Bell และคณะ, 2004; Sole และคณะ, 2005; Hunt และคณะ, 2007)



รูปที่ 5 จีโนมในไมโทคอนเดรีย (ยุพา, 2546)

ความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) เกิดจากการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดและต้องการสืบพันธุ์ เพื่อดำรงเผ่าพันธุ์ โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีนภายในสายดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงนี้จะถูกสะสมจากรุ่นสู่รุ่นไปเรื่อยๆ ซึ่งในขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงทางจีโนไทป์ก็จะมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทป์เช่นกัน เมื่อเวลาผ่านไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสิ่งมีชีวิตและอาจทำให้เกิดชนิดใหม่ นอกจากนี้ความแปรผันทางพันธุกรรมอาจมีผลมาจากการเกิดการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันได้ (Futuyma, 2005) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดความแปรผันทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต แต่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีนโดยตรง เนื่องจากมีปัจจัยอื่นที่เข้ามามีบทบาทสำคัญ ได้แก่ การเกิดการกลายพันธุ์ การคัดเลือกตามธรรมชาติ การอพยพ ระบบการสืบพันธุ์ และการขาดช่วงทางกรรมพันธุ์ (genetic drift) ปัจจัยเหล่านี้ส่งผลให้ยีนเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ละเล็กละน้อยและส่งผลกระทบไปยังการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร การเกิดความแปรผันทางพันธุกรรมจึงทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพ

ปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดความแปรผันทางพันธุกรรมและมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆทางวิวัฒนาการที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลดีเอ็นเอซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของฟีโนไทป์ เป็นลักษณะกรรมพันธุ์ใหม่ๆ (mutant) แตกต่างไปจากลักษณะดั้งเดิมนั้น เรียกว่า การกลายพันธุ์หรือมิวเทชัน โดยมิวเทชันเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรือเกิดจากการชักนำจากหลายๆ ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยทางฟิสิกส์ เช่น รังสี ปัจจัยทางเคมี เช่น สารเคมี การเกิดการกลายพันธุ์ส่วนใหญ่จะส่งผลไม่ดีต่อเจ้าของพันธุกรรม แต่อย่างไรก็ตามผลของมิวเทชันที่เกิดขึ้นจะดีหรือไม่ดีนั้นขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมที่สิ่งมีชีวิตนั้นอาศัยอยู่ด้วย หากสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปผลมิวเทชันอาจเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ตามหลักการการคัดเลือกตามธรรมชาติที่ต้องการให้สิ่งมีชีวิตปรับตัวให้มีลักษณะที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ภายในสภาพแวดล้อมนั้นๆ และสามารถถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปยังรุ่นถัดไปได้ ลักษณะใดที่ประสบความสำเร็จในการสืบพันธุ์และอยู่รอดแสดงว่าลักษณะนั้นมี fitness สูง ซึ่งกระบวนการสืบพันธุ์มีความสำคัญอย่างยิ่งในการแลกเปลี่ยนยีนส่งผลให้มีลักษณะใหม่ๆ เกิดขึ้น การคัดเลือกทางธรรมชาติอาจเป็นการแก้ไขปรับเปลี่ยน โดยการลดความถี่อัลลีลใดๆ ที่มาจากกระบวนการอื่นและกำหนดให้เกิดความไม่เหมาะสม ดังนั้นการคัดเลือกทางธรรมชาติจึงช่วยให้เกิดรูปแบบของวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตด้วย สิ่งมีชีวิตบางชนิดอาจอยู่รวมกันเป็นกลุ่มใหญ่หรือบางชนิดแยกกันอยู่เป็นกลุ่มย่อยและมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างประชากรกลุ่มย่อย ทำให้เกิดการถ่ายเทยีน (gene flow) การถ่ายเทยีนเกิดขึ้นเนื่องจากการมีอุปสรรคมาขวางกันระหว่างประชากรกลุ่มย่อย เช่น ภูเขา แม่น้ำ ปัจจัยที่มนุษย์สร้างขึ้น เมื่อประชากรอพยพเข้าไปยังอีกกลุ่มประชากรย่อยหนึ่งในชนิดเดียวกันจะส่งผลให้มียีนใหม่เกิดขึ้นในยีนพูลในทางตรงกันข้ามหากมีการอพยพออกจะส่งผลให้ยีนนั้นลดน้อยลงไม่ว่ากลุ่มประชากรจะขนาดใดก็ตาม นอกจากนี้

จะเกิดการถ่างเตียนแล้ว ยังสามารถเกิด genetic drift ขึ้นได้ โดยปรากฏการณ์นี้จะเกิดในประชากรที่เดิมมีขนาดใหญ่แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดประชากรลดลงอย่างรวดเร็วอาจเกิดจากความบังเอิญหรือสาเหตุใดก็ตามในช่วงเวลาหนึ่ง แต่เมื่อผ่านช่วงเวลานั้นไป ประชากรกลับมาเพิ่มขนาดใหม่อีกครั้ง เรียกว่า bottleneck ซึ่งมีผลกระทบต่อโครงสร้างทางพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงผกผันไปจากประชากรเดิม และส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมลดลงด้วย ดังนั้น ความแปรผันทางพันธุกรรมจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่เอื้อให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพ (สุรินทร์ 2552, ประดิษฐ์, 2554, และเจษฎา, 2555)

ปัจจุบันมีหลายเทคนิคที่ใช้ตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรม เช่น การตรวจดูความแปรผันระดับโครโมโซมทั้งในรูปแบบของไมโททิกคาริโอไทป์ และรูปแบบของโพลีทินโครโมโซม แต่วิธีที่นิยมมากในปัจจุบันคือ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) เพื่อให้ได้ความรู้และความเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางพันธุกรรมอย่างละเอียด นอกจากนี้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสยังมีอีกหลายเทคนิคที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมได้ เช่น เทคนิค AFLP, RFLPs, RAPD, microsatellite, SNPs และ PCR เป็นต้น เทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่ช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจำนวนเล็กน้อยหรือดีเอ็นเอที่มีสภาพไม่สมบูรณ์ให้ได้จำนวนดีเอ็นเอมากขึ้นในช่วงเวลาสั้นๆ เทคนิคนี้มีประโยชน์ในหลายๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นด้านทางการแพทย์ ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอระหว่างพ่อแม่ลูก ด้านอาชญากรรม ตรวจสอบหาคนร้ายตัวจริงจากดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อยได้ และด้านชีววิทยา ช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในชิ้นส่วนงานที่ต้องการวิเคราะห์ รวมทั้งเพื่อศึกษาหาความแปรผันทางพันธุกรรมระดับโมเลกุลของดีเอ็นเอ ไม่ว่าจะเป็นดีเอ็นเอที่ได้จากไมโทคอนเดรียหรือโครโมโซมในนิวเคลียส เป็นต้น โดยหลักการของเทคนิค PCR ต้องการสองส่วนที่สำคัญ คือ ดีเอ็นเอต้นแบบและไพรเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นให้สามารถเข้าคู่กับดีเอ็นเอต้นแบบได้ สายดีเอ็นเอจะถูกแยกออกจากกันเป็น 2 สายโพลินิวคลีโอไทด์ด้วยความร้อน หลังจากนั้นไพรเมอร์ตัวหนึ่งจะเข้าเกาะที่ตำแหน่งหัวบนสายโพลินิวคลีโอไทด์ และไพรเมอร์อีกตัวหนึ่งจะเข้าเกาะที่ตำแหน่งหางบนสายโพลินิวคลีโอไทด์อีกสาย เพื่อทำหน้าที่เป็นจุดเริ่มต้นให้มีการสังเคราะห์โพลินิวคลีโอไทด์สายใหม่ได้ต่อไป เทคนิคต่างๆ เหล่านี้มีประโยชน์ช่วยให้นักพันธุศาสตร์สามารถวิเคราะห์หาข้อมูลต่างๆ เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในระดับโมเลกุลได้อย่างละเอียดและแม่นยำ (วิสุทธิ, 2538 และสุรินทร์, 2552)

พื้นที่ศึกษา

การศึกษาครั้งนี้กำหนดขอบเขตพื้นที่เก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในภาคสนามทั้งหมด 7 จังหวัด ตามแนวเทือกเขาสำคัญในคาบสมุทรไทย ได้แก่ แนวเทือกเขาตะนาวศรี (จังหวัดชุมพร) แนวเทือกเขาภูเก็ต (จังหวัดระนองและจังหวัดพังงา) แนวเทือกเขานครศรีธรรมราช (จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราชและจังหวัดตรัง) และแนวเทือกเขาสันกาลาคีรี (จังหวัดสงขลา)

แนวเทือกเขาตะนาวศรี

แนวเทือกเขาตะนาวศรี เป็นเขตกั้นพรมแดนระหว่างไทยกับพม่า แนวเทือกเขา มีความยาวประมาณ 834 กิโลเมตร มีภูเขาที่สูงที่สุด คือ เขางะงันนิกยวตอง จังหวัดเพชรบุรี มีความสูงประมาณ 1,412 เมตร

จังหวัดชุมพร ตั้งอยู่ในแนวเทือกเขาตะนาวศรี บริเวณตอนบนสุดของภาคใต้ฝั่งอ่าวไทย ระหว่างเส้นละติจูดที่ 10 องศา 29 ลิปดาเหนือ และเส้นลองติจูดที่ 99 องศา 11 ลิปดาตะวันออก พื้นที่ทอดตามแนวเหนือ-ใต้ ยาวประมาณ 222 กิโลเมตร สภาพภูมิประเทศของจังหวัดชุมพร แบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ คือ พื้นที่ราบตอนกลาง พื้นที่ราบชายฝั่งทะเล และพื้นที่ทางทิศตะวันตก เป็นที่สูงและภูเขา มีทิวเขาตะนาวศรีเป็นทิวเขาสำคัญ ซึ่งปกคลุมไปด้วยป่าไม้เป็นบริเวณกว้างและเป็นที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตจำนวนมาก รวมถึงสิ่งมีชีวิตที่ใกล้สูญพันธุ์หลายชนิด สภาพภูมิอากาศจะได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้มีฤดูกาลเพียง 2 ฤดู คือ ฤดูร้อน เริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงกลางเดือนพฤษภาคม และฤดูฝน เริ่มตั้งแต่กลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนธันวาคม มีพื้นที่ป่าครอบคลุมทุกอำเภอ แต่จะหนาแน่นบริเวณทางด้านทิศตะวันตกของพื้นที่จังหวัด สำหรับประเภทป่าในจังหวัดชุมพร จัดเป็นประเภทไม้ผลัดใบ จำแนกเป็น 3 ชนิด ประกอบด้วย ป่าดิบชื้น ป่าชายเลน และป่าพรุ ในเขตพื้นที่ป่ามีความชุกชุมของสัตว์ป่าและพืชพันธุ์จำนวนมาก ทั้งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น เลียงผา สมเสร็จ ช้างป่า กวาง ลิง นกชนิดต่างๆ เช่น นกเงือก นกเป็ดน้ำ สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ปลาน้ำจืด และพวกแมลงต่างๆ และพรรณพืชจำนวนมาก เช่น วงศ์ Dipterocarpaceae วงศ์ Fabaceae หรือ Leguminosae และวงศ์ Lythraceae เป็นต้น (ศุภชัยวิชัยและพัฒนาโครงการสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

แนวเทือกเขาภูเก็ต

แนวเทือกเขาภูเก็ต เป็นแนวเทือกเขาต่อเนื่องมาจากเทือกเขาตะนาวศรี เริ่มจากจังหวัดชุมพรขนานไปกับชายฝั่งทะเลของชุมพร พังงา กระบี่ จนถึงจังหวัดนครศรีธรรมราช ยาวประมาณ 517 กิโลเมตร ยอดเขาที่สูงที่สุด คือ เขาพนมเบญจา จังหวัดกระบี่ มีความสูงประมาณ 1,397 เมตร จังหวัดระนองและจังหวัดพังงาตั้งอยู่ในบริเวณเทือกเขาภูเก็ต

จังหวัดระนอง ตั้งอยู่ทางด้านทิศตะวันตกของภาคใต้ ประมาณละติจูดที่ 10 องศาเหนือ และลองติจูดที่ 99 องศาตะวันออก สภาพภูมิประเทศประกอบด้วยภูเขาและทิวเขาประมาณร้อยละ 86 ของพื้นที่ มีที่ราบประมาณร้อยละ 14 ของพื้นที่ แบ่งออกเป็น 2 เขต ดังนี้ 1. เขตภูเขาและที่สูง อยู่ทางด้านตะวันออกของจังหวัด เป็นเทือกเขาที่ต่อเนื่องจากเทือกเขาตะนาวศรีวางตัวในทิศทางจากเหนือไปใต้ และลาดเอียงสู่ทะเลอันดามัน 2. เขตที่ราบชายฝั่งพื้นที่ด้านตะวันตกของจังหวัด เป็นบริเวณที่ถูกทับถมเป็นที่ราบ ซึ่งเป็นที่ราบแคบๆ กว้างประมาณ 5-20 กิโลเมตร สภาพภูมิอากาศอยู่ภายใต้อิทธิพลของลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ทำให้มีฝนตกชุกเกือบตลอดปี จังหวัดระนองเป็นจังหวัดที่มีความหลากหลายของพรรณพืชที่สำคัญ ได้แก่ วงศ์ Acanthaceae วงศ์ Dipterocarpaceae วงศ์ Fabaceae และวงศ์ Meliaceae เป็นต้น นอกจากนี้พบสัตว์เลื้อยคลานด้วยน้ำนม ได้แก่ กระแตธรรมดา บ่าง ลิงลม ลิงแสม ค่างแว่นถิ่นใต้ อีเห็นธรรมดา หมูป่า และพญากระรอกดำ รวมทั้งเหี้ยและนกชนิดต่างๆ เป็นต้น (ศุภชัยวิชัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

จังหวัดพังงา ตั้งอยู่ในภาคใต้ชายฝั่งทะเลด้านตะวันตก อยู่ระหว่างเส้นละติจูดที่ 8 องศา 27 ลิปดา 52.3 ฟลิปดาเหนือกับเส้นลองติจูด ที่ 98 องศา 32 ลิปดา มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 4,170.897 ตารางกิโลเมตร สภาพภูมิประเทศ เป็นภูเขาสลับซับซ้อนทอดเป็นแนวยาวจากทิศเหนือไปทิศใต้ มีชายฝั่งทะเลยาวประมาณ 239.25 กิโลเมตร มีพื้นที่ป่าไม้ เป็นป่าไม้ประเภทไม้ผลัดใบ มีทั้งป่าดิบเขา ป่าดิบชื้น และป่าชายเลน สำหรับบริเวณที่เป็นที่ราบจะลาดลงจากทิศตะวันออกไปยังทิศตะวันตกลงสู่ทะเลอันดามัน ตามชายฝั่งทะเลจะมีป่าชายเลนเกือบตลอด เนื่องจากจังหวัดพังงาเป็นจังหวัดที่อยู่ใกล้ทะเลและมีฝนตกชุกในฤดูฝน พื้นที่ป่าของจังหวัดพังงา พบสัตว์ป่าและพันธุ์พืชจำนวนมาก เช่น ช้าง เลียงผา เก้ง สมเสร็จ หมู ค่าง ฯลฯ นกชนิดต่างๆ กว่า 135 ชนิด เช่น นกเงือก นกแก้วแล้วลาย เหี้ย สัตว์น้ำ เป็นต้น ส่วนพรรณพืชที่พบ เช่น พืชวงศ์ Arecaceae วงศ์ Dipterocarpaceae วงศ์ Magnoliaceae และพืชวงศ์ Orchidaceae หลายชนิด เป็นต้น (ศุภชัยวิชัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

แนวเทือกเขานครศรีธรรมราช

แนวเทือกเขานครศรีธรรมราช เริ่มจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง ไปสิ้นสุดที่จังหวัดสตูล มีความยาวประมาณ 319 กิโลเมตร เทือกเขานครศรีธรรมราช มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เทือกเขาบรรทัด มียอดเขาที่สูงที่สุด คือ เขาหลวงสูง 1,835 เมตร ตั้งอยู่ในเขตจังหวัดนครศรีธรรมราช และเป็นภูเขาที่สูงที่สุดของภาคใต้

จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตั้งอยู่ฝั่งตะวันออกของภาคใต้ มีสภาพภูมิประเทศหลากหลาย ประกอบด้วย ภูมิประเทศแบบที่ราบชายฝั่งทะเล ที่ราบสูง รวมทั้งภูมิประเทศแบบภูเขาซึ่งกินพื้นที่ของจังหวัดถึงร้อยละ 40 ของพื้นที่ทั้งหมด ด้านตะวันออกเป็นฝั่งทะเลอ่าวไทย ส่วนด้านตะวันตกมีลักษณะเป็นภูเขาสูง และได้รับอิทธิพลจากมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือที่พัดผ่านอ่าวไทย ทำให้มีช่วงฤดูฝนยาวนานตั้งแต่เดือนกันยายนถึงมกราคม และมีพื้นที่ป่าที่เป็นแหล่งที่อยู่ของสัตว์ป่าและพรรณพืชจำนวนมาก เช่นวงศ์ *Arecaceae* วงศ์ *Clusiaceae* วงศ์ *Dipterocarpaceae* วงศ์ *Lecythidaceae* และวงศ์ *Orchidaceae* เป็นต้น และยังเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยของสัตว์ป่าสัตว์ป่าสงวน เช่น สมเสร็จ เลียงผา และแมวลายหินอ่อน นอกจากนี้มีสัตว์อื่นๆ เช่น ช้างป่า กระทิง วัวแดง เสือโคร่ง นกเขาหลวง นกหัวขวานสามนิ้วหลังทอง นกแซงแซวหางป๋วงใหญ่ นกกระติ๊ดตะโพกขาว งูสิงธรรมชาติ อึ่งลายแต้ม เป็นต้น (ศูนย์วิจัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

จังหวัดนครศรีธรรมราช ตั้งอยู่ทางตอนกลางของภาคใต้ที่ละติจูด 9 องศาเหนือ และลองจิจูด 100 องศาตะวันออก มีเนื้อที่ประมาณ 9,942,502 ตารางกิโลเมตร ลักษณะภูมิประเทศแตกต่างกันไปตามลักษณะของเทือกเขานครศรีธรรมราช ซึ่งเป็นเทือกเขาที่มีความยาวตามแนวยาวของคาบสมุทร ส่งผลให้ลักษณะภูมิประเทศของจังหวัดนครศรีธรรมราช แบ่งได้เป็น 3 ส่วน คือ บริเวณเทือกเขาตอนกลาง บริเวณที่ราบชายฝั่งด้านตะวันออก และบริเวณที่ราบด้านตะวันตก เนื่องจากสภาพที่ตั้งใกล้เส้นศูนย์สูตร มีภูเขาและเป็นคาบสมุทรทั้งสองด้าน ส่งผลให้ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมจากมหาสมุทรอินเดียและพายุหมุนเขตร้อนจากทะเลจีนใต้สลับกัน นอกจากนี้ จังหวัดนครศรีธรรมราชมีพื้นที่ป่ามีทรัพยากรทางธรรมชาติพวกสัตว์ป่าและพรรณพืชจำนวนมาก เช่น บัวแฉกใบใหญ่ วงศ์ *Arecaceae* วงศ์ *Dipterocarpaceae* วงศ์ *Fagaceae* และวงศ์ *Orchidaceae* เป็นต้น และยังมีสัตว์ป่าสัตว์จำนวนมาก เช่น สมเสร็จ เลียงผา ลิงกัง ลิงเสน ค่างดำ ชะนีธรรมชาติ เสือลายเมฆ เสือดำ เสือโคร่ง หมูหมา นกอินทรีดำ นกหัว นกเงือกหัวหงอก นกเงือกปากดำ นกกินปลี งูหลามปากเป็ด ตุ๊กแกป่าโค่นนิ้วติด จึงเหลนเรียวปากก็ได้ งูเขี้ยวดวงลาย เป็นต้น (ศูนย์วิจัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

จังหวัดตรัง ตั้งอยู่ทางภาคใต้ฝั่งตะวันตกติดทะเลอันดามัน มีเนื้อที่ประมาณ 4,941.439 ตารางกิโลเมตร สภาพภูมิประเทศโดยทั่วไปพื้นที่ส่วนใหญ่ของจังหวัดตรังเป็นเนินสูง ๆ ต่ำ ๆ สลับด้วยภูเขาใหญ่เล็กกระจายอยู่ทั่วไป พื้นที่ราบมีจำนวนน้อย มีพื้นที่ป่าประมาณร้อยละ 20 ของพื้นที่จังหวัด สภาพป่าเป็นป่าดิบชื้น สำหรับพื้นที่ที่อยู่ติดกับทะเลมีป่าชายหาดที่ยังคงมีความอุดมสมบูรณ์ มีทรัพยากรทางธรรมชาติพวกสัตว์ป่าและพรรณพืชจำนวนมาก เช่นวงศ์ Arecaceae วงศ์ Caesalpiniaceae และวงศ์ Dipterocarpaceae เป็นต้น สัตว์ป่า เช่น กวาง เนื้อทราย เม่น หมู ลิง ชะนี เก้ง กระรอกชนิดต่างๆ นกยูง นกหว้า กระรอก สมเสร็จ เสือโคร่ง เสือดำหรือเสือดาว เสือลายเมฆ เป็นต้น (ศุภชัยวิชัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

แนวเทือกเขาสันกาลาคีรี

แนวเทือกเขาสันกาลาคีรี เป็นภูเขาสลับซับซ้อน เป็นเส้นกั้นพรมแดนระหว่างไทยกับมาเลเซีย พื้นที่ป่ามีความอุดมสมบูรณ์ทั้งสัตว์ป่าและพรรณพืช แนวเทือกเขามีความยาวประมาณ 428 กิโลเมตร ภูเขาที่สูงที่สุดของเทือกเขาสันกาลาคีรี คือ ยอดเขาภูลูติติ บาซาร์ มีความสูง 1,533 เมตร ในเขตพื้นที่จังหวัดยะลา สูงประมาณ 1,535 เมตร จังหวัดสงขลาตั้งอยู่ในแนวเทือกเขาสันกาลาคีรี

จังหวัดสงขลา ตั้งอยู่ฝั่งตะวันออกของภาคใต้ตอนล่าง สูงจากระดับน้ำทะเลเฉลี่ย 4 เมตร พื้นที่ทางตอนเหนือเป็นคาบสมุทรแคบและยาวยื่นลงมาทางใต้กับส่วนที่เป็นแผ่นดินรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าทางตอนใต้ แผ่นดินทั้งสองส่วนเชื่อมต่อกันโดยสะพานติณสูลานนท์ พื้นที่ทางทิศเหนือส่วนใหญ่เป็นที่ราบลุ่ม ทิศตะวันออกเป็นที่ราบริมทะเล ทิศใต้และทิศตะวันตกเป็นภูเขาและที่ราบสูงซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดต้นน้ำลำธารที่สำคัญ จังหวัดสงขลาตั้งอยู่ในเขตอิทธิพลของลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ จากอิทธิพลของลมมรสุม ส่งผลให้มีฤดูกาลเพียง 2 ฤดู คือ ฤดูร้อนและฤดูฝน นอกจากนี้ จังหวัดสงขลายังมีพื้นที่ป่าที่เป็นแหล่งที่อยู่ของสัตว์ป่าและพืชพรรณจำนวนมาก เช่น วงศ์ Annonaceae วงศ์ Araceae วงศ์ Dipterocarpaceae และวงศ์ Zingiberaceae เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสัตว์ป่า เช่น ช้างป่า สมเสร็จ เสือผา เสือโคร่ง เสือด่า เก้ง กระซัง หมู ชะมด ค้างคาว กระรอกชนิดต่างๆ ชะนี ลิง ค่าง นกหว้า ไก่จุก นกเงือก และนกอื่นๆ เป็นต้น (หัทธยา, 2543 และศุภชัยวิชัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2557)

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

1. วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในภาคสนาม
 - 1.1 สมุดจดบันทึกข้อมูล และดินสอ
 - 1.2 ขวดสำหรับใส่ตัวอย่าง
 - 1.3 กระดาษบันทึก
 - 1.4 แอลกอฮอล์ 95%
 - 1.5 ปากคีบ (forceps)
 - 1.6 พลั่ว เสียม
 - 1.7 มุลสุกรสด
 - 1.8 อุปกรณ์สำหรับวางกับดัก เช่น ภาชนะสำหรับใส่มูลสุกร
 - 1.9 GPS สำหรับวัดพิกัด
 - 1.10 กล้องถ่ายรูป

2. วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและตรวจหาเชื้อวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ
 - 2.1 กล้องจุลทรรศน์
 - 2.2 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
 - 2.3 ปากคีบ (forceps)
 - 2.4 พู่กัน แปรงสีฟัน
 - 2.5 แอลกอฮอล์ 95%
 - 2.6 เอกสารทางอนุกรมวิธานที่เกี่ยวข้องของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

3. วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการศึกษาทางชีวโมเลกุล
 - 3.1 ขั้นตอนการเตรียมสารเคมี
 - 3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย lysis buffer ประกอบด้วย สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ (M), สารละลาย EDTA ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์, สารละลาย SDS ความเข้มข้น 0.5%, สารละลาย Tris-HCl ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์, สารละลาย sucrose ความเข้มข้น 0.16 โมลาร์

- 3.1.2 สารละลาย potassium acetate ความเข้มข้น 8 โมลาร์
- 3.1.3 แอลกอฮอล์ 70%, 95%
- 3.1.4 DI water
- 3.1.5 ปีกเกอร์
- 3.1.6 กระจกบอทวง
- 3.1.7 ขวด Duran
- 3.1.8 ขวดรูปหมฟู่
- 3.1.9 ซ้อนตักสาร
- 3.1.10 กระจกชั่งสาร
- 3.1.11 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 3.1.12 เครื่อง Autoclave
- 3.1.13 ตู้อบ Hot air oven
- 3.1.14 กระจกชั่ง

3.2 ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ประกอบด้วย สารละลาย lysis buffer, proteinase K, สารละลาย potassium acetate ความเข้มข้น 8 โมลาร์, เอทานอล (ethanol) 70%, เอทานอล 95%, สารละลาย TE buffer

- 3.2.2 ปากคีบ (forceps)
- 3.2.3 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
- 3.2.4 microcentrifuge tube 1.5 มิลลิลิตร (ml)
- 3.2.5 ก้านบดตัวอย่าง (pestle)
- 3.2.6 micropipette ขนาดต่างๆ
- 3.2.7 tip ขนาดต่างๆ
- 3.2.8 rack
- 3.2.9 ตู้อบ Hot air oven
- 3.2.10 เครื่อง vortex
- 3.2.11 เครื่องหมุนเหวี่ยง
- 3.2.12 ตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส

3.3 ขั้นตอนการวัดปริมาณดีเอ็นเอ

3.3.1 เครื่องวัดปริมาณดีเอ็นเอ (nano drop)

3.3.2 กระจกเช็ดเลนส์

3.3.3 DI water

3.3.4 สารละลาย TE buffer

3.3.5 DNA template

3.4 ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR)

3.4.1 สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ประกอบด้วย DI water, master mix, DNA template, primer

3.4.2 เครื่องพีซีอาร์

3.4.3 หลอดพีซีอาร์

3.4.4 micropipette ขนาดต่างๆ

3.4.5 tip ขนาดต่างๆ

3.4.6 rack

3.4.7 เครื่อง vortex

3.4.8 เครื่องหมุนเหวี่ยง

3.5 ขั้นตอนอิเล็กโทรโฟรีซิส

3.5.1 agarose gel ความเข้มข้น 1.5%

3.5.2 Maestro safe

3.5.3 TBE buffer 1X

3.5.4 DNA ladder

3.5.5 DNA template

3.5.6 กระจกซังสาร

3.5.7 ซ้อนตักสาร

3.5.8 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.5.9 ไมโครเวฟ

3.4.10 เครื่องเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

3.5.11 เครื่องถ่ายภาพเจล (gel documentation)

วิธีการดำเนินการการศึกษาวิจัย

1. ตรวจสอบเอกสารและศึกษาข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

1.1 ศึกษาและรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาดังมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และประเทศไทยที่ผ่านมา

1.2 ศึกษาและรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการสำรวจด้วงมูลสัตว์บริเวณภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อทราบข้อมูลพื้นที่วิจัยและพื้นที่ใกล้เคียงที่มีการศึกษาดังมูลสัตว์ชนิดใดมาก่อนหน้านี้ โดยเฉพาะการศึกษาดังมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

1.3 ศึกษาและรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการและความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* บริเวณคาบสมุทรมุไทย

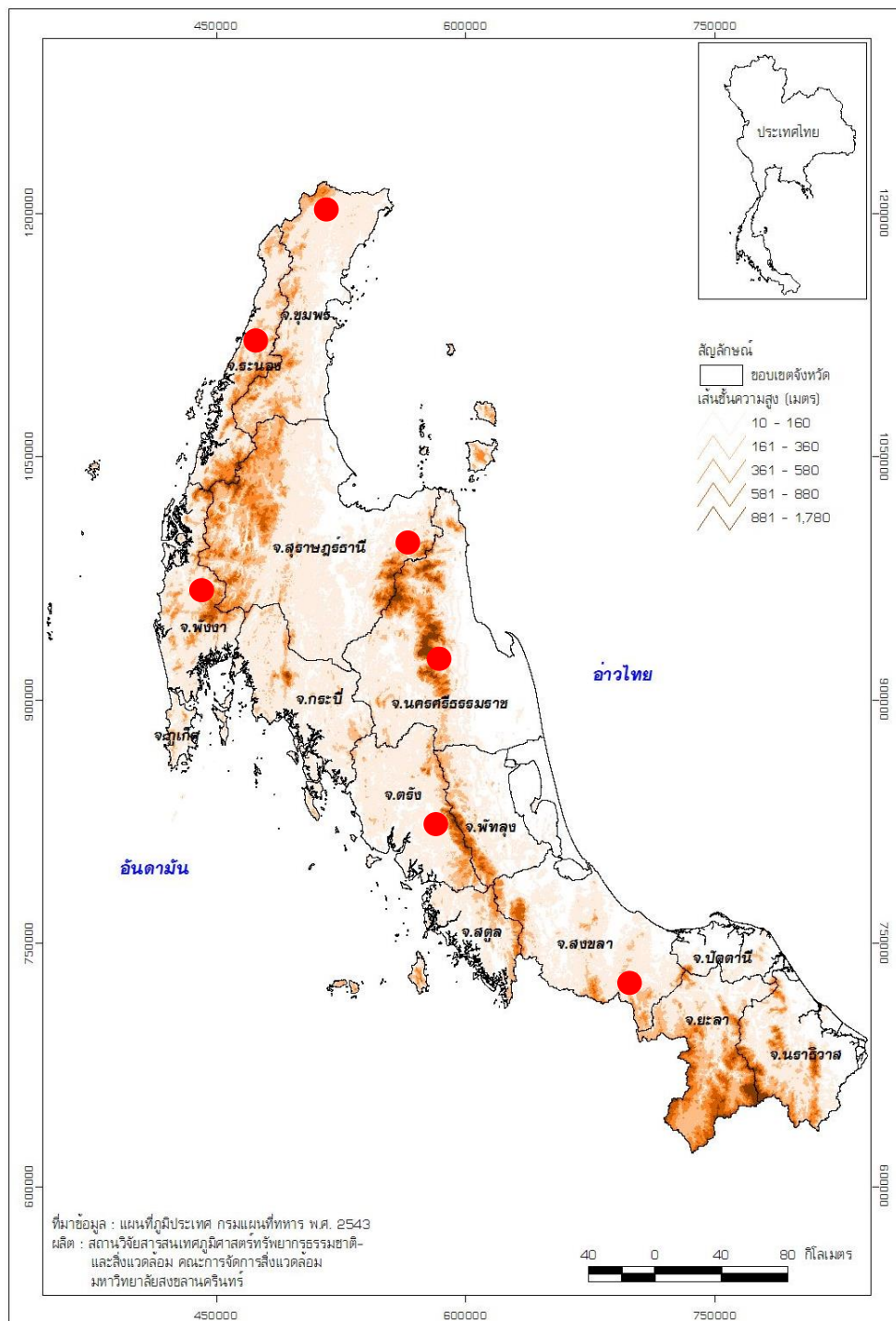
1.4 ศึกษาและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะทางชีวภูมิศาสตร์บริเวณคาบสมุทรมุไทย ได้แก่ สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม เป็นต้น

1.5 ศึกษาและรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับวิธีการทางชีวโมเลกุลในการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการและความแปรผันทางพันธุกรรม

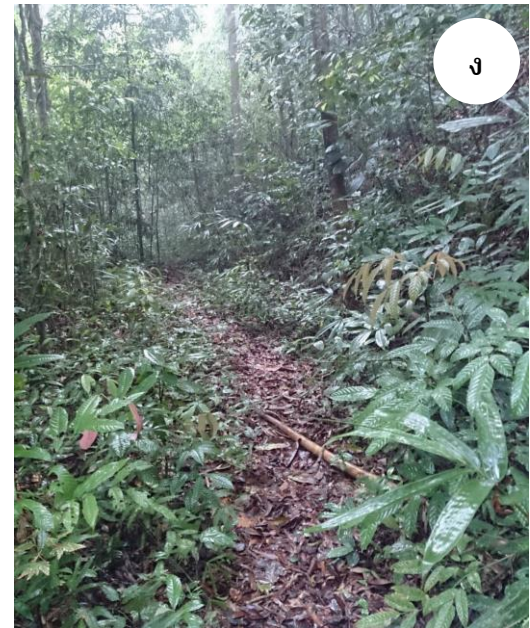
2. สำรวจ ศึกษา และเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในภาคสนาม

2.1 กำหนดขอบเขตพื้นที่ศึกษา

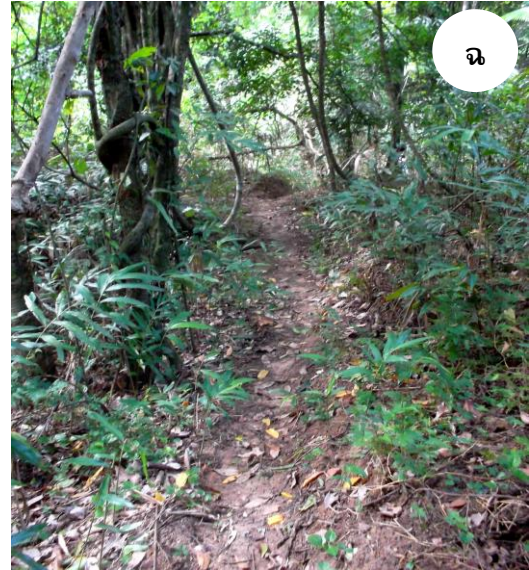
กำหนดขอบเขตพื้นที่เก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในภาคสนามทั้งหมด 7 จังหวัด บริเวณคาบสมุทรมุไทย โดยการศึกษาครั้งนี้ศึกษาตามแนวเทือกเขาสำคัญในคาบสมุทรมุไทย ได้แก่ แนวเทือกเขาตะนาวศรี (จังหวัดชุมพร) แนวเทือกเขาภูเก็ต (จังหวัดระนองและจังหวัดพังงา) แนวเทือกเขานครศรีธรรมราช (จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราชและจังหวัดตรัง) และแนวเทือกเขาสันกาลาคีรี (จังหวัดสงขลา) นอกจากนี้มีการบันทึกข้อมูล พิกัดตำแหน่ง ความสูงจากระดับน้ำทะเล และสภาพพื้นที่โดยรวม รายละเอียดเกี่ยวกับพื้นที่ศึกษาดังนี้ (รูปที่ 6-7)



รูปที่ 6 แผนที่พื้นที่ศึกษาทั้ง 7 จังหวัด



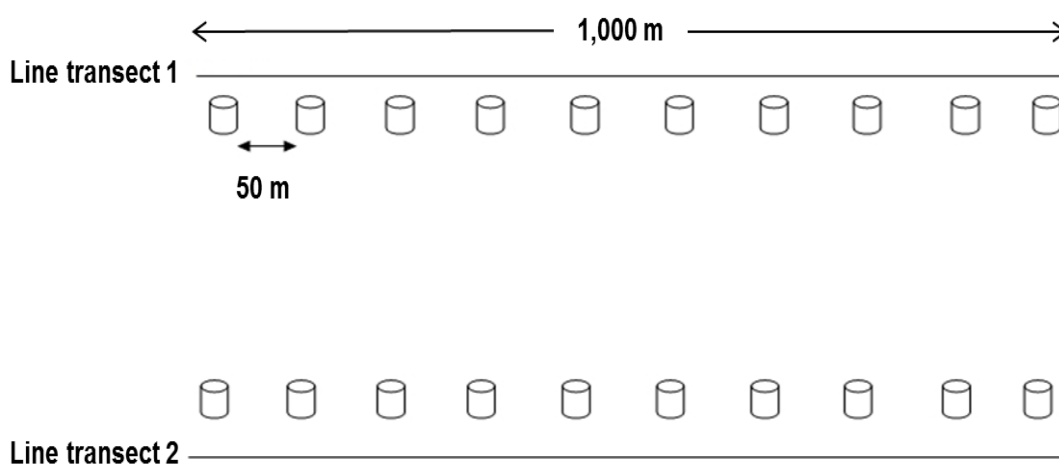
รูปที่ 7 พื้นที่ศึกษาแต่ละจังหวัด 7ก) จังหวัดชุมพร, 7ข) จังหวัดระนอง, 7ค) จังหวัดพังงา,
7ง) จังหวัดสุราษฎร์ธานี



รูปที่ 7 พื้นที่ศึกษาแต่ละจังหวัด 7จ) จังหวัดนครศรีธรรมราช, 7ฉ) จังหวัดตรัง และ 7ช) จังหวัดสงขลา

2.2 วิธีการเก็บรวบรวมตัวอย่าง

วิธีการเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในภาคสนาม โดยใช้กับดักหลุมที่มีมูลสุกรเป็นเหยื่อล่อ (baited-pitfall trap) โดยวางแนวเส้น (line transect) 2 แนว โดยในแต่ละแนวมีระยะทางประมาณ 1,000 เมตร โดยใช้มูลสุกรสดเป็นเหยื่อล่อในภาชนะ โดยวางกับดักต่อเนื่องตลอดแนวความยาว แต่ละกับดักห่างกันประมาณ 50 เมตรเพื่อลดอิทธิพลของกลิ่น (รูปที่ 8) วางมูลทิ้งไว้ 1 คืน โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2557 ถึงเดือนมกราคม 2559



รูปที่ 8 การเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในวิธี Line transect ในแต่ละพื้นที่ศึกษา

3. การศึกษาอนุกรมวิธานและการจัดจำแนกชนิดตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในห้องปฏิบัติการ

3.1 นำตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ที่เก็บรวบรวมได้จากภาคสนามล้างทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 95% เพื่อกำจัดมูลสัตว์และปรสิตที่ติดด้วงมูลสัตว์

3.2 นำตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ที่ได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกชนิดที่ถูกต้องของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* โดยใช้หนังสือและเอกสารทางอนุกรมวิธานของด้วงมูลสัตว์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ หนังสืออนุกรมวิธานของ, Paulian (1945), Balthazar (1963), Zunino (1975, 1979a, 1979b, 1981), Jessop (1986) และ Fernando และคณะ (2011) รวมทั้งจัดจำแนกและยืนยันชนิดโดยผู้เชี่ยวชาญทางด้านอนุกรมวิธานด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* คือ Johannes Huijbretgs และ Thijmen Breeschoten จากพิพิธภัณฑสถานชาติวิทยา Leiden ประเทศเนเธอร์แลนด์ ก่อนทำการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุลต่อไป

3.3 นับจำนวนตัวอย่างด้วงมูลสัตว์แต่ละชนิดแล้วเก็บรักษาไว้ใน แอลกอฮอล์ 95% ที่อุณหภูมิ -20°C

4. การศึกษาตัวมุลสัตว์ทางด้านชีวโมเลกุล

4.1 ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ (ดัดแปลงมาจาก Boonrotpong, 2009)

4.1.1 นำเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (tissue muscle) บริเวณอกปล้องแรก (pronotum) ของตัวอย่างตัวมุลสัตว์ประมาณ 15-25 ไมโครลิตร (μl) ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ไมโครลิตร

4.1.2 เติมสารละลาย lysis buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และบดตัวอย่างให้ละเอียด

4.1.3 เติม Proteinase K ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง

4.1.4 เติมสารละลาย Potassium acetate ความเข้มข้น 8 โมลาร์ ปริมาตร 7 ไมโครลิตร นำไป vortex และนำไปบ่มที่ -20 °C เป็นเวลา 30 นาที

4.1.5 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 13,400 รอบต่อวินาที (rpm) เป็นเวลา 15 นาที และเก็บส่วนใสให้หมดใหม่

4.1.6 นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปเติม สารละลายเอทานอล 95% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 13,400 rpm เป็นเวลา 15 นาที และเทส่วนใสทิ้ง

4.1.7 เติมสารละลายเอทานอล 70% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 13,400 rpm เป็นเวลา 15 นาที และเทส่วนใสทิ้ง

4.1.8 ตัง้หลอดทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมง หรือจนกว่าตะกอนจะแห้ง

4.1.9 เมื่อตะกอนแห้งแล้วละลายตะกอนเก็บใน สารละลาย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

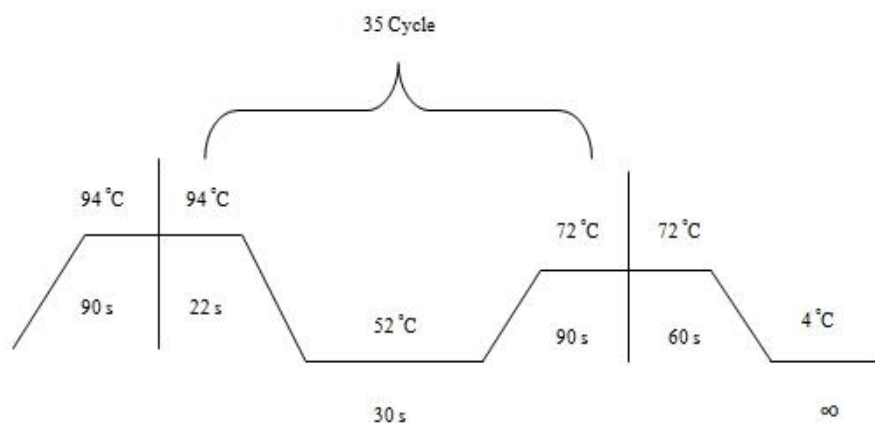
4.1.10 นำดีเอ็นเอที่ละลายเก็บไว้ที่ -20 °C

4.2 ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR)

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction หรือ PCR ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอทั้งยีนไมโทคอนเดรียประกอบด้วย Cytochrome oxidase I (COI) (ดัดแปลงมาจาก Boonrotpong, 2009), 16S ribosomal DNA (16S rDNA) (ดัดแปลงมาจาก Sole และ Scholtz, 2010) และ Cytochrome *b* (Cyt *b*) (ดัดแปลงมาจาก Orsini และคณะ, 2007) และยีนในนิวเคลียสโดย ได้แก่ 28S ribosomal DNA domain3 (28S rDNA domain3) (ดัดแปลงมาจาก Boonrotpong, 2009) โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 4 คู่ (ตารางที่ 1) และมีขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของแต่ละไพรเมอร์ ดังนี้

4.2.1 Cytochrome oxidase I (COI) (ดัดแปลงมาจาก Boonrotpong, 2009)

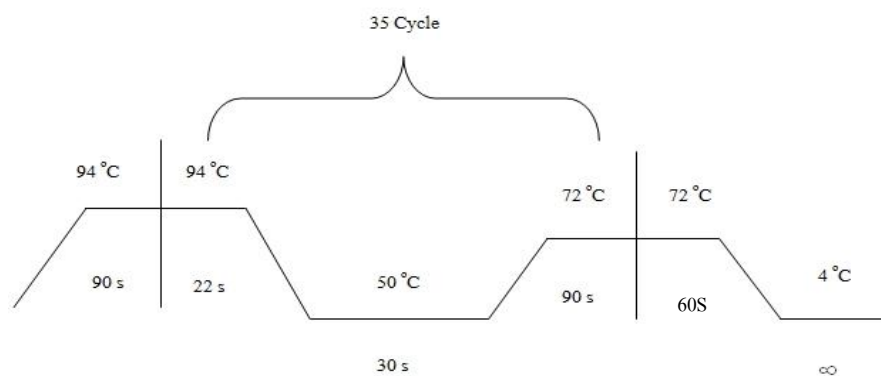
ขั้นที่ 1	pre denaturation	อุณหภูมิ 94 °C	90 วินาที
ขั้นที่ 2	denaturation	อุณหภูมิ 94 °C	22 วินาที
	annealing	อุณหภูมิ 52 °C	30 วินาที
	extension	อุณหภูมิ 72 °C	90 วินาที
โดยขั้นตอนที่ 2 ทำ 35 รอบ			
ขั้นที่ 3	final extension	อุณหภูมิ 72 °C	60 วินาที



รูปที่ 9 PCR condition ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ COI

4.2.2 16S rDNA (ดัดแปลงมาจาก Sole และ Scholtz, 2010)

ขั้นที่ 1	pre denaturation	อุณหภูมิ 94 °C	90 วินาที
ขั้นที่ 2	denaturation	อุณหภูมิ 94 °C	22 วินาที
	annealing	อุณหภูมิ 50 °C	30 วินาที
	extension	อุณหภูมิ 72 °C	90 วินาที
โดยขั้นตอนที่ 2 ทำ 35 รอบ			
ขั้นที่ 3	final extension	อุณหภูมิ 72 °C	60 วินาที



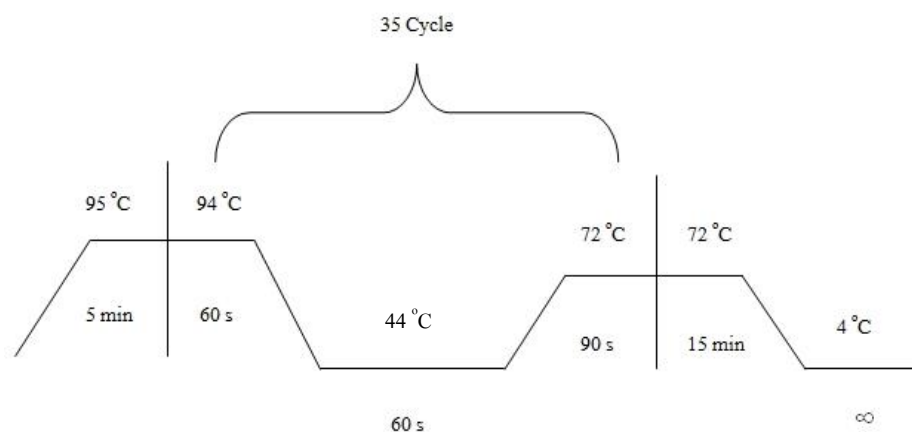
รูปที่ 10 PCR condition ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA

4.1.3 Cytochrome *b* (Cyt *b*) (ดัดแปลงมาจาก Orsini และคณะ, 2007)

ขั้นที่ 1	pre denaturation	อุณหภูมิ 95 °C	5 นาที
ขั้นที่ 2	denaturation	อุณหภูมิ 94 °C	60 วินาที
	annealing	อุณหภูมิ 44 °C	60 วินาที
	extension	อุณหภูมิ 72 °C	90 วินาที

โดยขั้นตอนที่ 2 ทำ 35 รอบ

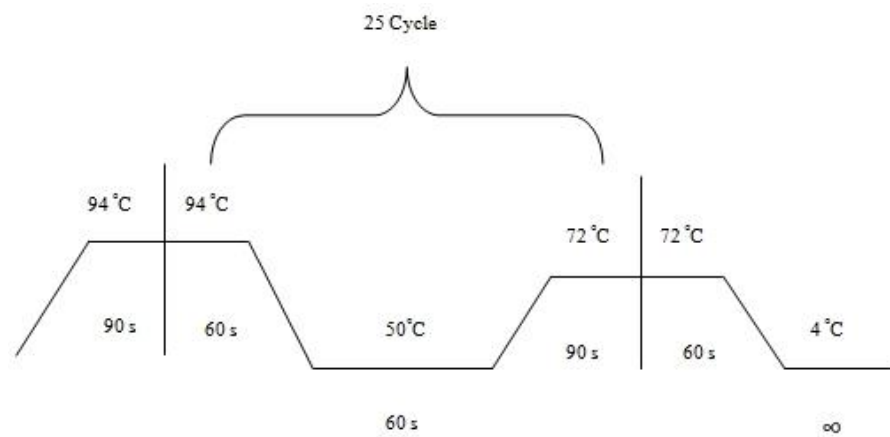
ขั้นที่ 3	final extension	อุณหภูมิ 72 °C	15 นาที
-----------	-----------------	----------------	---------



รูปที่ 11 PCR condition ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Cyt *b*

4.2.4 28S rDNA domain3 (ดัดแปลงมาจาก Boonrotpong, 2009)

ขั้นที่ 1	predenaturation	อุณหภูมิ 94 °C	90 วินาที
ขั้นที่ 2	denaturation	อุณหภูมิ 94 °C	60 วินาที
	annealing	อุณหภูมิ 50 °C	60 วินาที
	extension	อุณหภูมิ 72 °C	90 วินาที
โดยขั้นตอนที่ 2 ทำ 25 รอบ			
ขั้นที่ 3	final extension	อุณหภูมิ 72 °C	60 วินาที



รูปที่ 12 PCR condition ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 28S rDNA domain3

ตารางที่ 1 ชื่อไพรเมอร์ และลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละยีน

Locus	Primer name	Sequences (5'-3')	References
<i>COI</i> (831 bp)	C1-J-2183	(5'- CAACATTTATTTTGATTTTTTGG -3') Forward	Simon และคณะ, 1994
	TL2-N-3014	(5' -TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA -3') Reverse	Simon และคณะ, 1994
16S rDNA (362 bp)	16Sf (luisa)	(5'-ATGTCTTTTTGAKWATAATWTAAAG-3') Forward	Orsini และคณะ, 2007
	16Sr (luisa)	(5'-ACGCTGTTATCCCTAAGGTAATTT-3') Reverse	Orsini และคณะ, 2007
<i>Cyt b</i> (333 bp)	CB3	(5'-GAGGAGCAACTGTAATTAATAA-3') Forward	Balke และคณะ, 2004
	CB4	(5'-AAAAGAAA(AG)TATCATTCAGGTTGAAT-3') Reverse	Balke และคณะ, 2004
28S rDNA domain3 (332 bp)	28Sa	(5'-GACCCGTCTTGAAACACGGA -3') Forward	Whiting และคณะ, 1997
	28Sb	(5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA- 3') Reverse	Whiting และคณะ, 1997

4.3 ขั้นตอนอิเล็กโตรโฟรีซิส (Gel electrophoresis)

4.3.1 เตรียม Agarose gel ความเข้มข้น 1.5 % และการย้อม Gel

- 1) ชั่ง Agarose gel 0.45 กรัม (g) ใส่ขวด
- 2) เติม 0.5X TBE buffer ปริมาตร 30 มิลลิลิตร
- 3) อุณหภูมิให้ Agarose gel ให้ละลายใน microwave
- 4) รอจนเจลอุ่นพอประมาณเทใส่ลงในถาดสำหรับ run gel ที่ประกอบหิวไว้ แล้วรอจนเจลแข็งตัวดีประมาณ 30 นาที แล้วดึงหิวออก

4.3.2 การ run gel electrophoresis

- 1) เติม 0.5X TBE buffer ลงใน chamber ที่วางเจลแล้วโดยเติมให้ท่วม gel
- 2) Load ดีเอ็นเอที่ทำ PCR และ Ladder ลงใน well โดยจะใช้ Maestro safe ในการย้อมดีเอ็นเอ โดยใช้ Maestro safe 1 ไมโครลิตร ผสมกับดีเอ็นเอ ตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ส่วน Ladder ใช้ Maestro safe 2 ไมโครลิตรผสมกับ Ladder 2 ไมโครลิตร
- 3) ใช้เวลา run 30 นาที ที่ 100 โวลต์ ด้วยเครื่อง electrophoresis

4.3.3 การถ่ายภาพ Gel

ถ่ายภาพเจลภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel Documentation

4.4 ขั้นตอนการหาลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing)

ส่งตัวอย่างดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณจากปฏิกิริยา PCR ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ First BASE Laboratories, Selangor ประเทศมาเลเซีย และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

4.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล

4.5.1 ศึกษาค่าการสะสมจำนวนชนิด (Species accumulation curve)

จัดจำแนกชนิดและนับจำนวนชนิดของตัวมุลสัตว์ที่ได้โดยแยกตามพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้ง 7 จังหวัด นำมาหาค่าการสะสมจำนวนชนิด (Species accumulation curve) ด้วยโปรแกรม Diversity เวอร์ชัน 2.62 (Henderson และ Seaby, 1998) โดยการสร้างกราฟ เพื่อต้องการศึกษาจำนวนชนิดของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบในการศึกษาครั้งนี้กับจำนวนชนิดทั้งหมดจากค่าคาดหวังในพื้นที่ศึกษา

4.5.2 ศึกษาองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide composition)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละยีน (*COI*, 16S rDNA, *Cyt b* และ 28S rDNA domain3) มาจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (alignment) โดยตัดปลาย 5' และ 3' ของลำดับนิวคลีโอไทด์ออก ด้วยโปรแกรม BioEdit เวอร์ชัน 7.0.5. (Hall, 1999) จากนั้นนำมาคำนวณค่าสถิติ

ทางพันธุศาสตร์ด้วย MEGA เวอร์ชัน 6.06 (Tamura และคณะ, 2013) ของยีนทั้ง 4 ยีน เพื่อหาค่าองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ ในสายดีเอ็นเอ

4.5.3 ศึกษาความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide diversity)

คำนวณค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ของยีนทั้ง 4 ยีน โดยใช้โปรแกรม DnaSP เวอร์ชัน 5.10.01 (Rozas และคณะ, 2010) เพื่อคำนวณค่าต่างๆ โดยใช้สมการรูปแบบ GTR+I+G ในการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ประกอบด้วย ค่า Invariable sites, ค่า Singleton variable sites, ค่า Parsimony informative sites, ค่าจำนวนของ pairwise comparisons, ค่า average number of differences, ค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Pi), ค่าความถี่ของเบส A, ค่าความถี่ของเบส C, ค่าความถี่ของเบส G, ค่าความถี่ของเบส T, ค่าจำนวนของ polymorphic sites (S), ค่า average number of differences, ค่า Theta-W, per sequence, ค่า Theta-W, per site, ค่าจำนวนของ haplotype (h), ค่า haplotype diversity (Hd), ค่า Total number of InDels events analysed (I) และค่า Tajima's Test

4.5.4 ศึกษาค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise Genetic Distance)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จัดเรียงลำดับแล้วของแต่ละยีนมาคำนวณหาค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise Genetic Distance) ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* โดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 เพื่อศึกษาระยะห่างทางพันธุกรรมและความแปรผันทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในประชากรของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* แต่ละชนิด

4.5.5 ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของ *Onthophagus babirusa*

วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) กับระยะทางทางภูมิศาสตร์ (geographic distance) ระหว่างประชากร โดยตรวจสอบจากค่าสถิติของค่า F (F -statistics, F_{ST}) ระหว่างค่า genetic distance กับระยะทางของแต่ละประชากรด้วยวิธีการ Mantel's Test โดยโปรแกรม R และ RStudio เวอร์ชัน 1.0.136 และศึกษาความสัมพันธ์ของความแปรผันทางพันธุกรรมและ molecular clock ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทไทย โดยศึกษาจาก divergence time ด้วยวิธี Neighbor-joining (NJ) โดยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 และศึกษาความสัมพันธ์ในรูปแบบของ Haplotype network โดยโปรแกรม TCS เวอร์ชัน 1.21 (Clement และคณะ, 2000)

4.5.6 ศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการ (Phylogenetic relationships)

ศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* และใช้ตัวมุลสัตว์ชนิด *Copris punctulatus* และ *Copris reflexus* จากจังหวัดตรังเป็น out-group ในการวิเคราะห์วงศ์วานวิวัฒนาการของตัวมุลสัตว์ทั้ง 4 ยีน โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จัดเรียงลำดับและวิเคราะห์วงศ์วานวิวัฒนาการ ด้วยโปรแกรมดังนี้

1) โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 (Tamura และคณะ, 2013)

วิเคราะห์ห้วงศ์วานวิวัฒนาการของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ทั้งยีน *COI*, *16S rDNA*, *Cyt b*, *28S rDNA domain3* และ *combined genes (COI, 16S rDNA และ Cyt b)* โดยการนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บันทึกข้อมูลเป็น .text เปิดด้วยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 เพื่อเปลี่ยนข้อมูลไปเป็น .fasta และบันทึกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น .meg จากนั้นเริ่มวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการสร้างแผนภูมิต้นไม้แบบ Maximum Likelihood (ML) วิเคราะห์ค่าการจับกลุ่มของชนิดจำนวน 10,000 รอบ ด้วยสมการแบบ General Time Reversible model (GTR) และ Gamma distributed กับ Invariant site (G+I) ข้อมูลเป็นแบบ Partial deletion นอกจากนี้คำนวณค่า molecular clock จากค่า divergence time ของยีน *COI* เพื่อศึกษาการต้นกำเนิดของชนิดตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ตามระยะเวลาด้วยวิธีการสร้างแผนภูมิต้นไม้แบบ Neighbor-joining (NJ) โดยวิเคราะห์ค่าการจับกลุ่มของชนิดจำนวน 10,000 รอบ ด้วยสมการวิธี Kimura2-parameter model และ Gamma distributed (G)

2) โปรแกรม MrBayes เวอร์ชัน 3.1.2 (Ronquist และคณะ, 2012)

วิเคราะห์ห้วงศ์วานวิวัฒนาการของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ทั้งยีน *COI*, *16S rDNA*, *Cyt b*, *28S rDNA domain3* และ *combined genes (COI, 16S rDNA และ Cyt b)* โดยวิธีการสร้างแผนภูมิต้นไม้แบบ Bayesian analysis โดยวิเคราะห์ค่าการจับกลุ่มของชนิดจำนวน 3,000,000 รอบ และเก็บแผนภูมิต้นไม้ในทุกๆ 100 รอบ โดยใช้สมการแบบ General Time Reversible model (GTR) วิเคราะห์โดยการนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บันทึกข้อมูลเป็น .text เปลี่ยนเป็น .nex ผ่านเว็บไซต์ <http://sing.ei.uvigo.es/ALTER/> จากนั้นนำข้อมูล .nex ที่ได้เก็บไว้ในโฟลเดอร์ MrBayes และวิเคราะห์ข้อมูลผ่านโปรแกรม Command Prompt (CMD) โดยกรอกข้อมูล ดังนี้ พิมพ์ <type> cd desktop กด enter พิมพ์ <type> cd MrBayes กด enter พิมพ์ <type> execute ชื่อไฟล์.nex กด enter พิมพ์ <type> lset nst = 6 rates = invgamma กด enter พิมพ์ <type> mcmc ngen = 3000000 samplefreq = 100 กด enter จากนั้นข้อมูลจะทำการวิเคราะห์ไปจนครบจำนวนรอบที่ตั้งไว้ เมื่อครบจำนวนรอบโปรแกรมจะให้เลือกว่าวิเคราะห์ต่อหรือหยุดวิเคราะห์โดยดูจากค่า average standard deviation of split frequencies ต่ำว่า 0.05 หรือ 0.01 ถ้าต้องการวิเคราะห์ต่อพิมพ์ yes กด enter โปรแกรมจะวิเคราะห์ต่อ และสามารถหยุดการวิเคราะห์ได้โดยพิมพ์ no กด enter จากนั้นพิมพ์ <type> sump burnin = 750000 กด enter พิมพ์ <type> sumt burnin = 750000 กด enter เสร็จการวิเคราะห์ข้อมูล ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้อยู่ในรูปแบบ TRE file ในโฟลเดอร์ MrBayes สามารถดูผลการวิเคราะห์แผนภูมิต้นไม้แบบวิธีการ Bayesian analysis โดยนำข้อมูลที่ได้ในรูปแบบ TRE file เปิดใน FigTree เวอร์ชัน 1.4.2

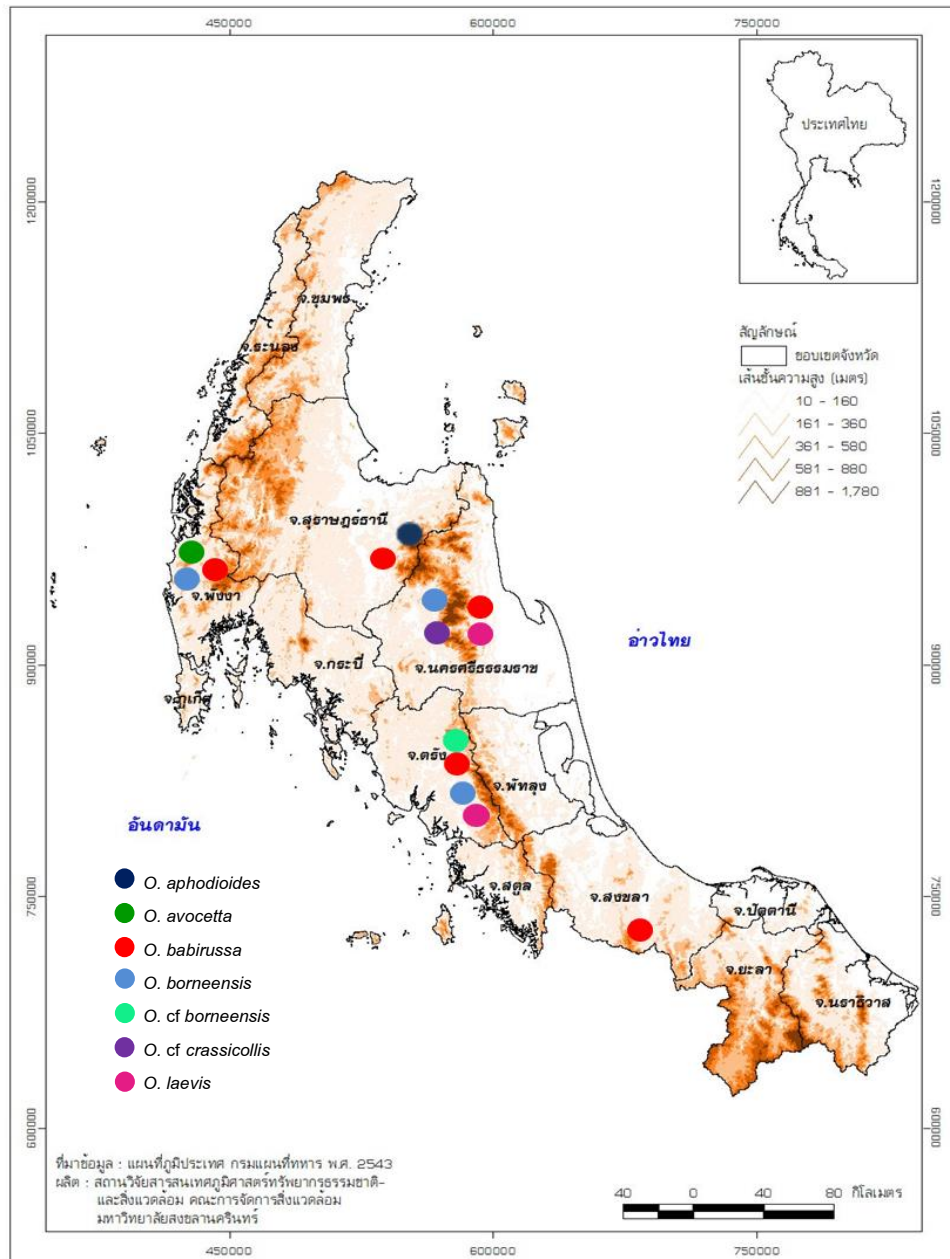
5. ตัวอย่างด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่ได้จากการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างและลงฐานข้อมูลไว้ที่พิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยา 50 พรรษา สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเทศไทย และบางชนิดถูกเก็บเป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา Leiden ประเทศเนเธอร์แลนด์ โดย Dr.Johannes Huijbretgs และ Mr.Thijmen Breeschoten

บทที่ 3

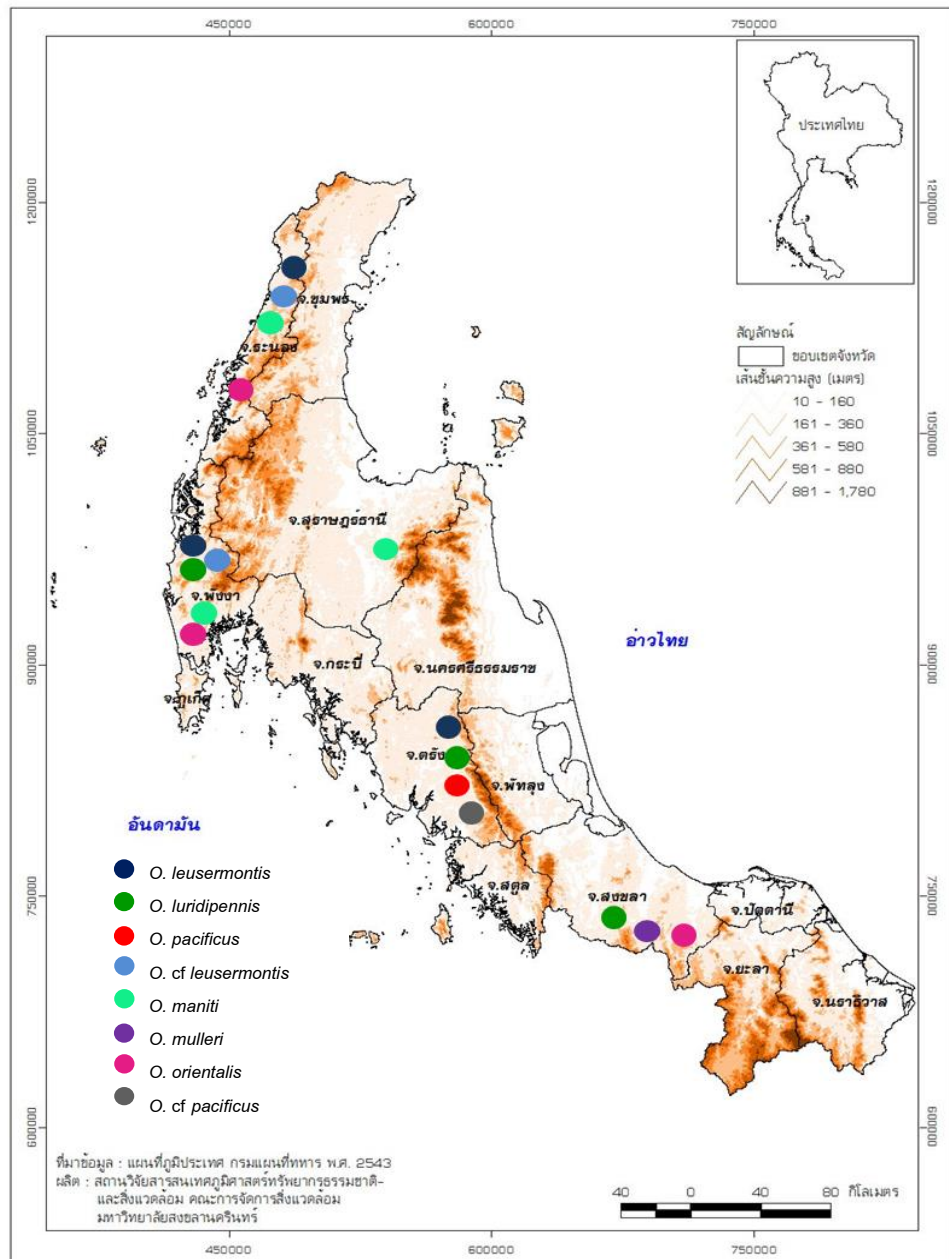
ผลการศึกษา

3.1 องค์ประกอบและการแพร่กระจายของชนิดด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

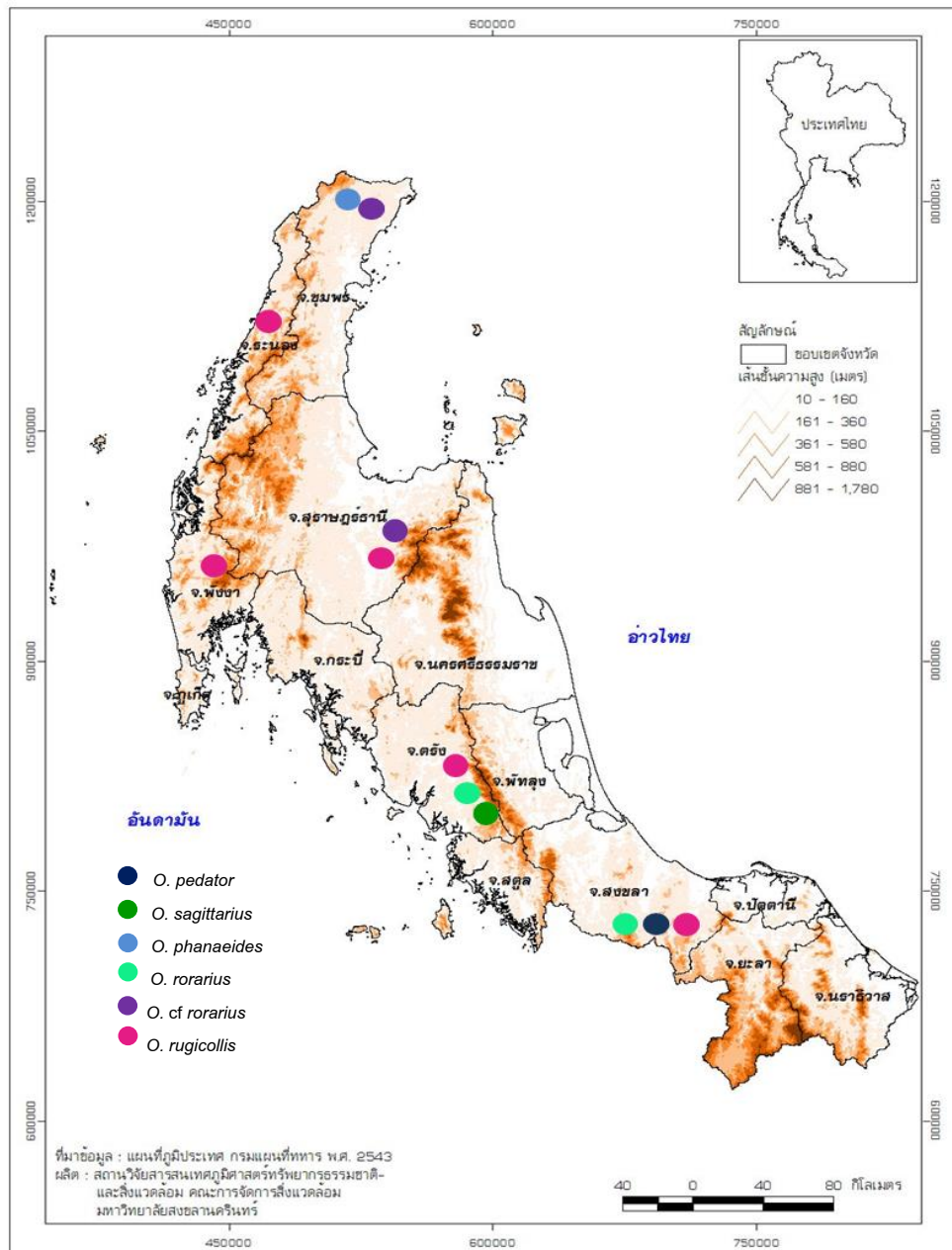
จากการสุ่มเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ในภาคสนามตามพื้นที่ศึกษาทั้งหมด 7 จังหวัด บริเวณคาบสมุทรมุไทย โดยการศึกษาครั้งนี้ศึกษาตามแนวเทือกเขาสำคัญในคาบสมุทรมุไทย ได้แก่ แนวเทือกเขาตะนาวศรี (จังหวัดชุมพร) แนวเทือกเขาภูเก็ต (จังหวัดระนองและจังหวัดพังงา) แนวเทือกเขานครศรีธรรมราช (จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดตรัง) และแนวเทือกเขาสันกาลาคีรี (จังหวัดสงขลา) โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนพฤษภาคม 2557 ถึงเดือนมกราคม 2559 พบด้วงมูลสัตว์จำนวน 969 ตัว จัดจำแนกได้ 33 ชนิด ใน 3 สกุล (ตารางที่ 2) การแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์ในแต่ละจังหวัด ประกอบด้วย (รูปที่ 13-17) จังหวัดชุมพร พบด้วงมูลสัตว์ 3 ชนิด ได้แก่ *Onthophagus phanaeides*, *O. cf rorarius* และ *O. taurinus* จังหวัดระนอง พบด้วงมูลสัตว์ 8 ชนิด ได้แก่ *O. leusermontis*, *O. cf leusermontis*, *O. maniti*, *O. orientalis*, *O. rugicollis*, *O. sp.1*, *O. sp.2* และ *O. sp.7* จังหวัดพังงา พบด้วงมูลสัตว์ 15 ชนิด ได้แก่ *O. avocetta*, *O. babirusa*, *O. borneensis*, *O. leusermontis*, *O. cf leusermontis*, *O. luridipennis*, *O. maniti*, *O. orientalis*, *O. rugicollis*, *O. taurus*, *O. uenoi*, *O. sp.2*, *O.sp.4*, *O. sp.5* และ *O. sp.7* จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบด้วงมูลสัตว์ 15 ชนิด ได้แก่ *O. aphodioides*, *O. babirusa*, *O. maniti*, *O. cf rorarius*, *O. rugicollis*, *O. taurinus*, *O. uenoi*, *O. vulpes*, *O. sp.2*, *O. sp.3*, *O.s sp.4*, *O. sp.7*, *Copris reflexus*, *C. punctulatus* และ *Liatongus femoratus* จังหวัดนครศรีธรรมราช พบด้วงมูลสัตว์ 9 ชนิด ได้แก่ *O. babirusa*, *O. borneensis*, *O. cf crassicollis*, *O. laevis*, *O. phanaeides*, *O. taeniatus*, *O. taurinus*, *O. sp.4* และ *O. sp.6*, จังหวัดตรัง พบด้วงมูลสัตว์ 18 ชนิด ได้แก่ *O. babirusa*, *O. borneensis*, *O. cf borneensis*, *O. laevis*, *O. leusermontis*, *O. luridipennis*, *O. pacificus*, *O. cf pacificus*, *O. rorarius*, *O. rugicollis*, *O. sagittarius*, *O. seniculus*, *O. uenoi*, *O. sp.2*, *O. sp.4*, *C. reflexus*, *C. punctulatus* และ *L. femoratus* และจังหวัดสงขลา พบด้วงมูลสัตว์ 11 ชนิด ได้แก่ *O. babirusa*, *O. luridipennis*, *O. mulleri*, *O. orientalis*, *O. pedator*, *O. rorarius*, *O. rugicollis*, *O. uenoi*, *O. sp.2*, *O. sp.4* และ *C. punctulatus*



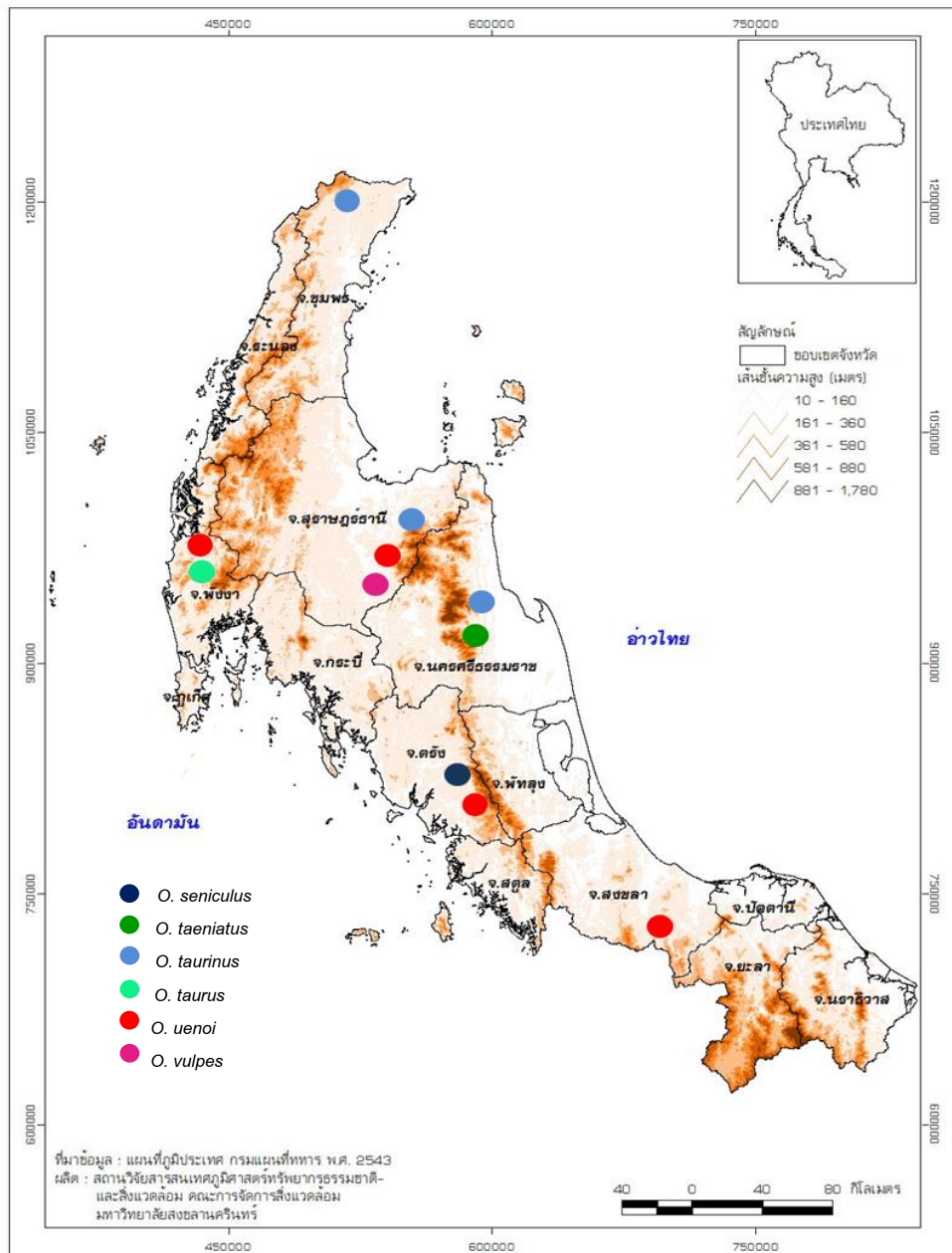
รูปที่ 13 การแพร่กระจายของตัวงมูลสัตว์แต่ละชนิดในพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดต่าง ๆ



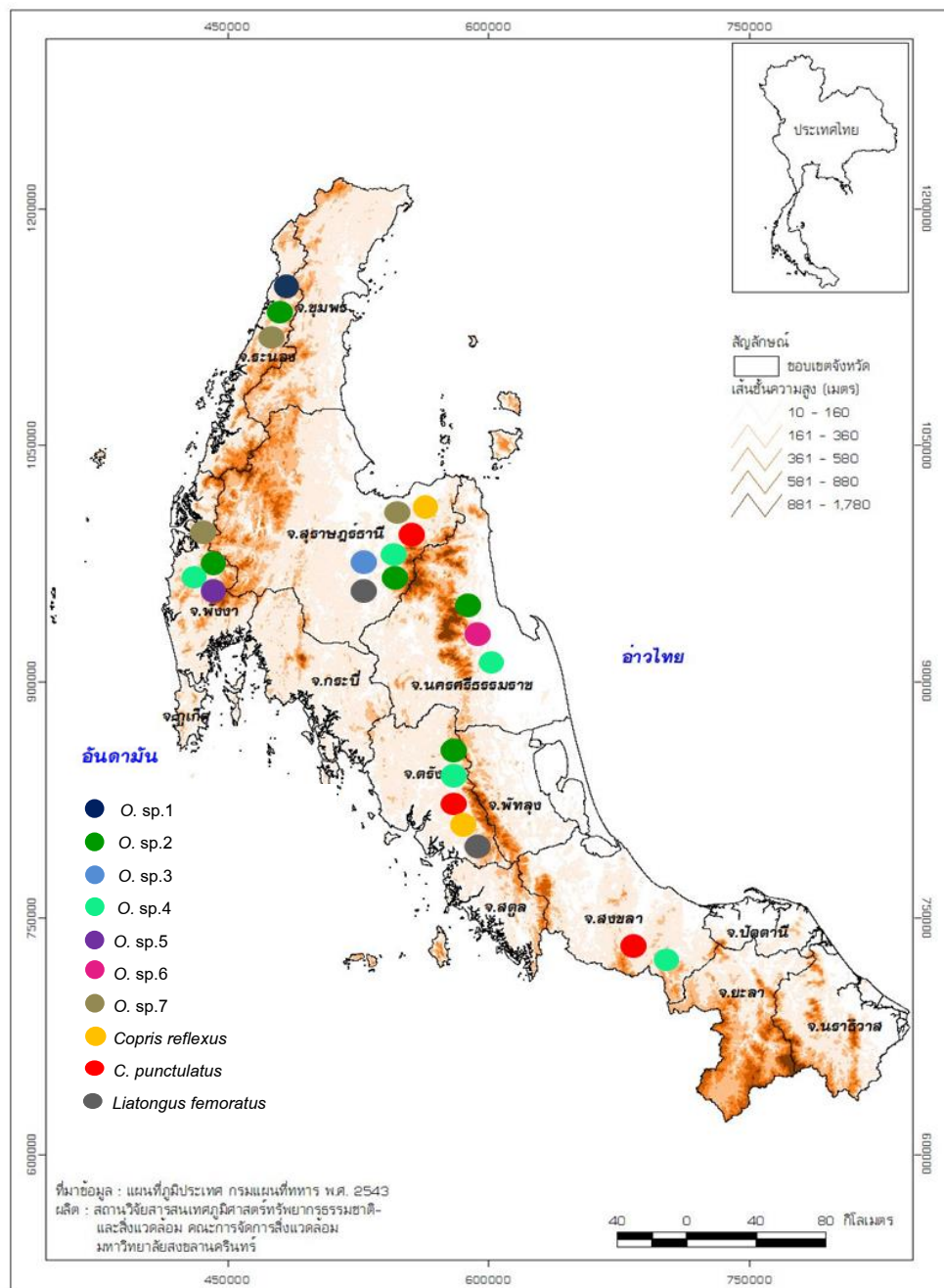
รูปที่ 14 การแพร่กระจายของตัวงมูลสัตว์แต่ละชนิดในพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดต่าง ๆ



รูปที่ 15 การแพร่กระจายของตัวงมูลสัตว์แต่ละชนิดในพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดต่าง ๆ



รูปที่ 16 การแพร่กระจายของตัวมุลสัตว์แต่ละชนิดในพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดต่าง ๆ



รูปที่ 17 การแพร่กระจายของตัวมูลสัตว์แต่ละชนิดในพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดต่าง ๆ

ตารางที่ 2 รายชื่อชนิดและจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์ที่พบบริเวณพื้นที่ศึกษาในแต่ละจังหวัดตามแนวเทือกเขาในคาบสมุทไทย

สกุล	ชนิด	จำนวนตัว						
		ชุมพร	ระนอง	พังงา	สุราษฎร์ธานี	ตรัง	นครศรีธรรมราช	สงขลา
<i>Onthophagus</i>								
	<i>Onthophagus aphodioides</i> Lansberge				2			
	<i>O. avocetta</i> Arrow			1				
	<i>O. babirussa</i> Eschscholtz			35	31	24	4	59
	<i>O. borneensis</i> Harold			4		6	1	
	<i>O. cf borneensis</i> Harold					1		
	<i>O. cf crassicollis</i> Boucomont						2	
	<i>O. laevis</i> Harold					2	1	
	<i>O. leusermontis</i> Huijbregts & Krikken		8	28		6		
	<i>O. cf leusermontis</i> Huijbregts & Krikken		1	1				
	<i>O. luridipennis</i> Boheman			1		4		1
	<i>O. maniti</i> Masumoto		15	20	140			
	<i>O. mulleri</i> Lansberge							1

ตารางที่ 2 (ต่อ) รายชื่อชนิดและจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์ที่พบบริเวณพื้นที่ศึกษาในแต่ละจังหวัดตามแนวเทือกเขาในคาบสมุทรไทย

สกุล	ชนิด	จำนวนตัว						
		ชุมพร	ระนอง	พังงา	สุราษฎร์ธานี	ตรัง	นครศรีธรรมราช	สงขลา
<i>Onthophagus</i>	<i>O. orientalis</i> Harold		1	2				8
	<i>O. pacificus</i> Lansberge					1		
	<i>O. cf pacificus</i> Lansberge					51		
	<i>O. pedator</i> Sharp							1
	<i>O. phanaeides</i> Frey	4					24	
	<i>O. rorarius</i> Harold					2		2
	<i>O. cf rorarius</i> Harold	1			17			
	<i>O. rugicollis</i> Harold		1	26	4	9		53
	<i>O. sagittarius</i> Fabricius					2		
	<i>O. seniculus</i> Fabricius					12		
	<i>O. taeniatus</i> Boucomont						5	
	<i>O. taurinus</i> White	44			2		53	
	<i>O. taurus</i> Schreber			1				

ตารางที่ 2 (ต่อ) รายชื่อชนิดและจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์ที่พบบริเวณพื้นที่ศึกษาในแต่ละจังหวัดตามแนวเทือกเขาในคาบสมุทรไทย

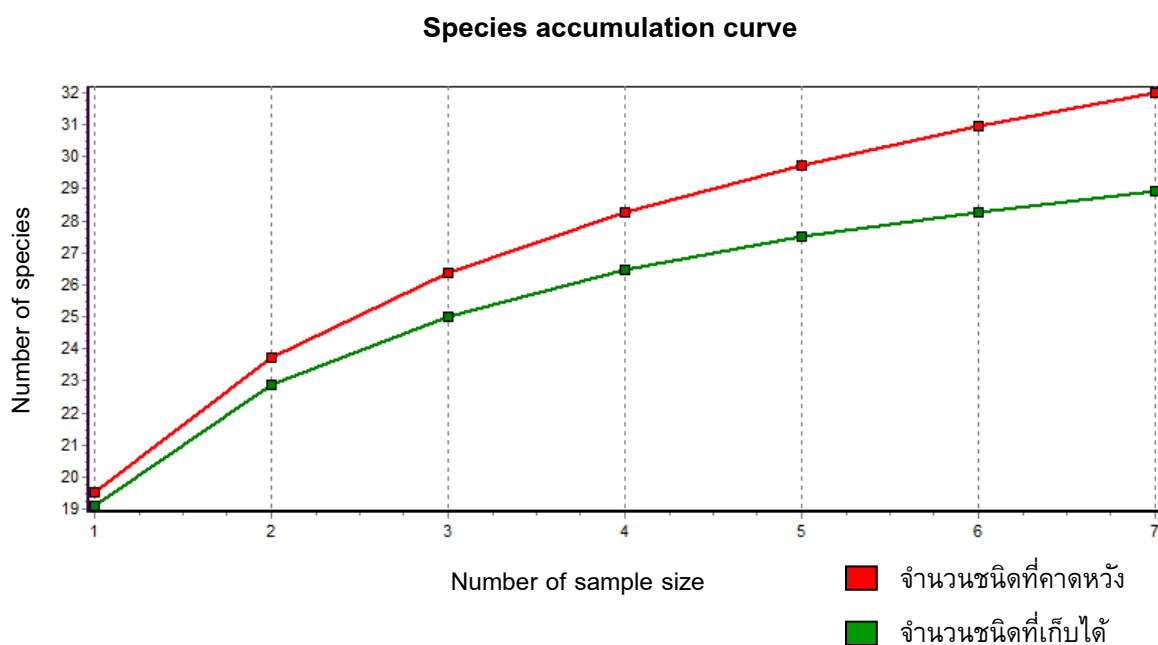
สกุล	ชนิด	จำนวนตัว						
		ชุมพร	ระนอง	พังงา	สุราษฎร์ธานี	ตรัง	นครศรีธรรมราช	สงขลา
<i>Onthophagus</i>	<i>O. uenoi</i> Ochi			3	5	5		1
	<i>O. vulpes</i> Harold				12			
	<i>O. sp.1</i>		4					
	<i>O. sp.2</i>		5	7	24	1		17
	<i>O. sp.3</i>				1			
	<i>O. sp.4</i>			1	1	13	1	47
	<i>O. sp.5</i>			1				
	<i>O. sp.6</i>						1	
	<i>O. sp.7</i>		2	1	1			
<i>Copris</i>	<i>Copris reflexus</i> Fabricius				2	3		
	<i>C. punctulatus</i> Wiedemann				11	55		1

ตารางที่ 2 (ต่อ) รายชื่อชนิดและจำนวนตัวของตัวมุลสัตว์ที่พบบริเวณพื้นที่ศึกษาในแต่ละจังหวัดตามแนวเทือกเขาในคาบสมุทรไทย

สกุล	ชนิด	จำนวนตัว						
		ชุมพร	ระนอง	พังงา	สุราษฎร์ธานี	ตรัง	นครศรีธรรมราช	สงขลา
<i>Liatongus</i>								
	<i>Liatongus femoratus</i> Illiger				2	18		
	จำนวนชนิด = 33	3	8	15	15	18	9	11
	จำนวนตัวทั้งหมด = 969	49	37	132	253	215	92	191

3.2 ค่าการสะสมจำนวนชนิด (Species accumulation curve)

จากการสำรวจตัวอย่างตัวมุลสัตว์ทั้ง 7 พื้นที่ศึกษา พบตัวมุลสัตว์ทั้งหมด 969 ตัว จำแนกได้ 33 ชนิด ใน 3 สกุล เพื่อต้องการศึกษาจำนวนพื้นที่เก็บตัวอย่างต่อจำนวนชนิดที่พบครอบคลุมค่าที่คาดหวัง ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้จำเป็นต้องศึกษาค่าการสะสมจำนวนชนิด พบว่า ตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบครอบคลุมจำนวนพื้นที่ศึกษา โดยแสดงให้เห็นจากกราฟที่เข้าสู่ sigmoid curve แสดงให้เห็นว่าจำนวนชนิดที่พบในการศึกษาคั้งนี้ใกล้เคียงกับจำนวนชนิดทั้งหมดจากค่าคาดหวังในพื้นที่ศึกษา และผลมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน (รูปที่ 18)



รูปที่ 18 ค่าการสะสมจำนวนชนิดเข้าสู่ sigmoid curve

3.3 วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ จำนวน 969 ตัว จำแนกได้ 33 ชนิด ใน 3 สกุล โดยเลือกด้วงมูลสัตว์มาศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการในพื้นที่ศึกษา รวมทั้งหมด 35 ตัวอย่าง จำแนกได้ 21 ชนิด โดยเป็นสกุล *Onthophagus* จำนวน 19 ชนิด และด้วงมูลสัตว์ 2 ชนิด ในสกุล *Copris* ใช้เป็น out-group (ตารางที่ 3) ได้แก่ ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิด *Onthophagus babirusa* จำนวน 6 ตัว จากจังหวัดพังงา (1 ตัว) จังหวัดสุราษฎร์ธานี (2 ตัว) จังหวัดตรัง (1 ตัว) จังหวัดนครศรีธรรมราช (1 ตัว) และจังหวัดสงขลา (1 ตัว) ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. borneensis* จำนวน 3 ตัว จากจังหวัดพังงา (1 ตัว) และจังหวัดตรัง (2 ตัว) ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. laevis* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดตรัง ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. maniti* จำนวน 2 ตัว จากจังหวัดระนอง (1 ตัว) และจังหวัดสุราษฎร์ธานี (1 ตัว) ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. orientalis* จำนวน 2 ตัว จากจังหวัดสงขลา ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. pedator* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดสงขลา ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. phanaeides* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดนครศรีธรรมราช ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. rugicollis* จำนวน 4 ตัว จากจังหวัดระนอง (2 ตัว) จังหวัดตรัง (1 ตัว) และจังหวัดสงขลา (1 ตัว) ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. seniculus* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดตรัง ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. taurinus* จำนวน 3 ตัว จากจังหวัดชุมพร (2 ตัว) และจังหวัดนครศรีธรรมราช (1 ตัว) ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. uenoi* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. vulpes* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และด้วงมูลสัตว์ที่ไม่ทราบชนิด ได้แก่ *O. sp.1* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.3* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดพังงา *O. sp.6* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. sp.7* จำนวน 1 ตัว จากจังหวัดระนอง และด้วงมูลสัตว์สกุล *Copris* ที่ใช้เป็น out-group มี 2 ชนิด จำนวน 2 ตัว คือ *C. reflexus* (1 ตัว) และ *C. punctulatus* (1 ตัว) จากจังหวัดตรัง โดยใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล Polymerase chain reaction (PCR) ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนไมโทคอนเดรีย ได้แก่ Cytochrome oxidase subunit I (COI), 16S ribosomal DNA (16S rDNA) และ Cytochrome b (Cyt b) และศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในนิวเคลียส ได้แก่ 28S ribosomal DNA domain3 (28S rDNA domain3) ยีน COI มีความยาว 792 bp ยีน 16S rDNA มีความยาว 350 bp ยีน Cyt b มีความยาว 350 bp และยีน 28S rDNA domain3 มีความยาว 299 bp เพื่อใช้อธิบายวงศ์วานวิวัฒนาการและความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

ตารางที่ 3 จำนวนชนิด จำนวนตัว พื้นที่ศึกษาของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* และยีนที่ศึกษาโดยวิธีชีวโมเลกุล

ชนิด	สถานที่พบ (จังหวัด)	พิกัด GPS	จำนวนตัว	COI	16S rDNA	Cyt b	28S rDNA domain3	Combine
<i>Onthophagus</i>								
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz	พังงา	9°02'55.5"N 98°26'51.2"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz	สุราษฎร์ธานี	8°55'00.1"N 98°31'36.1"E	2	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz	นครศรีธรรมราช	8°22'07.7"N 99°44'05.7"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz	สงขลา	6°56'54.4"N 100°14'03.5"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. borneensis</i> Harold	พังงา	9°02'55.5"N 98°26'51.2"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. borneensis</i> Harold	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	2	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. laevis</i> Harold	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. maniti</i> Masumoto	ระนอง	9°56'45.0"N 98°42'02.8"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. maniti</i> Masumoto	สุราษฎร์ธานี	8°55'00.1"N 98°31'36.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. orientalis</i> Harold	สงขลา	6°56'54.4"N 100°14'03.5"E	2	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. pedator</i> Sharp	สงขลา	6°56'54.4"N 100°14'03.5"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. phanaeides</i> Frey	นครศรีธรรมราช	8°22'07.7"N 99°44'05.7"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. rugicollis</i> Harold	ระนอง	9°56'45.0"N 98°42'02.8"E	1	✓	✓	✓	✓	✓

ตารางที่ 3 (ต่อ) จำนวนชนิด จำนวนตัว พื้นที่ศึกษาของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* และพื้นที่ศึกษาโดยวิธีชีวโมเลกุล

ชนิด	สถานที่พบ (จังหวัด)	พิกัด GPS	จำนวนตัว	COI	16S rDNA	Cyt b	28S rDNA domain3	Combine
<i>Onthophagus</i>								
<i>O. rugicollis</i> Harold	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. rugicollis</i> Harold	สงขลา	6°56'54.4"N 100°14'03.5"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. seniculus</i> Fabricius	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. taurinus</i> White	ชุมพร	10°38'39.8"N 99°10'08.6"E	2	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. taurinus</i> White	นครศรีธรรมราช	8°22'07.7"N 99°44'05.7"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. uenoi</i> Ochi	สุราษฎร์ธานี	8°55'00.1"N 98°31'36.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. vulpes</i> Harold	สุราษฎร์ธานี	8°55'00.1"N 98°31'36.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.1</i>	ระนอง	9°56'45.0"N 98°42'02.8"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.2</i>	สุราษฎร์ธานี	8°55'00.1"N 98°31'36.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.3</i>	สุราษฎร์ธานี	8°55'00.1"N 98°31'36.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.4</i>	สงขลา	6°56'54.4"N 100°14'03.5"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.5</i>	พังงา	9°02'55.5"N 98°26'51.2"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.6</i>	นครศรีธรรมราช	8°22'07.7"N 99°44'05.7"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>O. sp.7</i>	ระนอง	9°56'45.0"N 98°42'02.8"E	1	✓	✓	✓	✓	✓

ตารางที่ 3 (ต่อ) จำนวนชนิด จำนวนตัว พื้นที่ศึกษาของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* และยีนที่ศึกษาโดยวิธีชีวโมเลกุล

ชนิด	สถานที่พบ (จังหวัด)	พิกัด GPS	จำนวนตัว	COI	16S rDNA	Cyt b	28S rDNA domain3	Combine
<i>Copris</i> (Out-group)								
<i>C. reflexus</i> Fabricius	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓
<i>C. punctulatus</i> Wiedemann	ตรัง	7°32'55.2"N 99°47'13.1"E	1	✓	✓	✓	✓	✓

3.3.1 องค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide composition)

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละยีน เมื่อนำมาจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (Alignment) โดยตัดปลาย 5' และ 3' ของลำดับนิวคลีโอไทด์ออก โดยใช้โปรแกรม BioEdit เวอร์ชัน 7.0.5.2 พบว่า ความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์แต่ละยีนมีดังนี้ ยีน *COI* มีความยาว 792 bp ส่วนของยีน 16S rDNA มีความยาว 350 bp ส่วนของยีน *Cyt b* มีความยาว 350 bp และส่วนของยีน 28S rDNA domain3 มีความยาว 299 bp จากนั้นนำมาคำนวณสถิติทางพันธุศาสตร์ด้วย MEGA เวอร์ชัน 6.06 ของยีนทั้ง 4 ยีน มีค่าองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ ในสายดีเอ็นเอ พบว่า ยีน *COI* มีองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยรวม ดังนี้ เบส T(U) 39.4% เบส C 14.2% เบส A 32.9% และ เบส G 13.5% (ตารางที่ 4) ตัวอย่างเช่น *O. babirusa* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 39.0% เบส C 14.5% เบส A 32.7% และ เบส G 13.9% *O. borneensis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 40.7% เบส C 13.4% เบส A 32.6% และ เบส G 13.2% *O. orientalis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 37.5% เบส C 13.8% เบส A 33.4% และ เบส G 13.5% *O. rugicollis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 38.1% เบส C 13.5% เบส A 33.3% และ เบส G 13.4% และ *O. taurinus* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 38.7% เบส C 14.5% เบส A 33.3% และ เบส G 13.5% เป็นต้น นอกจากนี้ ยีน 16S rDNA มีองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยรวม ดังนี้ เบส T(U) 39.4% เบส C 7.1% เบส A 38.6% และ เบส G 15.0% (ตารางที่ 5) ตัวอย่างเช่น *O. babirusa* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 39.8% เบส C 6.7% เบส A 38.1% และ เบส G 15.4% *O. borneensis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 40.5% เบส C 7.6% เบส A 36.5% และ เบส G 15.5% *O. orientalis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 39.0% เบส C 7.6% เบส A 38.9% และ เบส G 14.6% *O. rugicollis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 38.9% เบส C 7.4% เบส A 39.4% และ เบส G 14.4% และ *O. taurinus* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 40.1% เบส C 6.8% เบส A 38.0% และ เบส G 15.2% เป็นต้น สำหรับยีน *Cyt b* มีองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยรวม ดังนี้ เบส T(U) 40.1% เบส C 17.5% เบส A 31.7% และ เบส G 10.6% (ตารางที่ 6) ตัวอย่างเช่น *O. babirusa* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 39.1% เบส C 17.4% เบส A 33.5% และ เบส G 10.2% *O. borneensis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 42.1% เบส C 16.3% เบส A 30.7% และ เบส G 10.9% *O. orientalis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 40.6% เบส C 16.6% เบส A 32.4% และ เบส G 10.4% *O. rugicollis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 41.0% เบส C 16.0% เบส A 32.4% และ เบส G 10.6% และ *O. taurinus* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 38.9% เบส C 19.1% เบส A 31.6% และ เบส G 10.4% เป็นต้น และยีน 28S rDNA domain3 มีองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยรวม ดังนี้ เบส T(U) 18.6% เบส C 24.7% เบส A 24.1% และ เบส G 32.5% (ตารางที่ 7) ตัวอย่างเช่น *O. babirusa* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 18.9% เบส C 24.6% เบส A 24.0% และ เบส G 32.4% *O. borneensis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 18.9% เบส C 24.3% เบส A 24.1%

และ เบส G 32.6% *O. orientalis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 19.1% เบส C 24.6% เบส A 24.2%
และ เบส G 32.2% *O. rugicollis* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 18.9% เบส C 24.5% เบส A 24.5%
และ เบส G 32.2% และ *O. taurinus* มีค่าเฉลี่ยของเบส T(U) 18.9% เบส C 24.6% เบส A
24.0% และ เบส G 32.4% เป็นต้น

ตารางที่ 4 ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน COI

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%) ยีน COI				
	T (U)	C	A	G	รวม
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (PNA)	39.0	14.5	32.7	13.9	792
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	39.0	14.5	32.7	13.9	792
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	38.9	14.6	32.7	13.9	792
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (TRG)	39.0	14.5	32.8	13.7	792
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SKA)	39.0	14.5	32.9	13.6	792
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (NRT)	39.0	14.5	32.7	13.9	792
<i>O. borneensis</i> Harold (PNA)	40.6	13.5	33.0	12.9	792
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	40.8	13.3	32.0	13.9	792
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	40.7	13.5	33.0	12.8	792
<i>O. laevis</i> Harold (TRG)	35.5	18.3	32.5	13.7	792
<i>O. maniti</i> Masumoto (RNG)	40.2	13.6	33.3	13.0	792
<i>O. maniti</i> Masumoto (SNI)	40.2	13.6	33.2	13.1	792
<i>O. orientalis</i> Harold (RNG)	38.8	14.2	33.4	13.6	792
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	39.4	13.7	33.4	13.5	792
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	39.4	13.7	33.4	13.5	792
<i>O. pedator</i> Sharp (SKA)	39.6	13.7	33.4	13.3	792
<i>O. phanaeides</i> Frey (NRT)	39.8	15.0	32.0	13.2	792
<i>O. rugicollis</i> Harold (RNG)	33.8	14.2	33.4	13.6	792
<i>O. rugicollis</i> Harold (TRG)	40.4	13.1	33.3	13.2	792
<i>O. rugicollis</i> Harold (SKA)	40.2	13.3	33.2	13.3	792
<i>O. seniculus</i> Fabricius (TRG)	40.6	14.6	31.0	13.8	792
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	38.8	14.5	33.2	13.6	792
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	38.8	14.5	33.2	13.6	792
<i>O. taurinus</i> White (NRT)	38.6	14.5	33.5	13.3	792
<i>O. uenoi</i> Ochi (SNI)	37.7	17.1	32.0	13.2	792
<i>O. vulpes</i> Harold (SNI)	40.0	13.7	33.0	13.2	792

ตารางที่ 4 (ต่อ) ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน COI

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%) ยีน COI				
	T (U)	C	A	G	รวม
O. sp.1 (RNG)	39.3	13.9	33.2	13.7	792
O. sp.2 (SNI)	39.4	13.7	33.2	13.7	792
O. sp.3 (SNI)	39.3	13.9	32.9	14.0	792
O. sp.4 (SKA)	40.0	13.0	33.5	13.5	792
O. sp.5 (PNA)	40.2	12.8	33.4	13.6	792
O. sp.6 (NRT)	39.9	13.1	33.5	13.5	792
O. sp.7 (RNG)	39.4	15.5	31.8	13.2	792
ค่าเฉลี่ย	39.4	14.2	32.9	13.5	792

หมายเหตุ ตัวอย่างแต่ละจังหวัด มีดังนี้ ชุมพร (CPN) ระนอง (RNG) พังงา (PNA) สุราษฎร์ธานี (SNI) ตรัง (TRG) นครศรีธรรมราช (NRT) สงขลา (SKA)

ตารางที่ 5 ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน 16S rDNA

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%) ยีน 16S rDNA				
	T (U)	C	A	G	รวม
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (PNA)	39.8	6.7	38.1	15.4	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	39.8	6.7	38.1	15.4	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	40.1	6.7	37.8	15.4	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (TRG)	39.8	6.7	38.1	15.4	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SKA)	39.8	6.7	38.1	15.4	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (NRT)	39.8	6.7	38.1	15.4	350
<i>O. borneensis</i> Harold (PNA)	40.4	7.9	36.3	15.5	350
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	40.2	7.0	37.3	15.5	350
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	40.8	7.9	35.8	15.5	350
<i>O. laevis</i> Harold (TRG)	40.4	8.2	35.7	15.8	350
<i>O. maniti</i> Masumoto (RNG)	38.5	7.3	38.8	15.5	350
<i>O. maniti</i> Masumoto (SNI)	38.5	7.3	38.8	15.5	350
<i>O. orientalis</i> Harold (RNG)	38.7	7.6	39.5	14.2	350
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	39.0	7.6	38.7	14.8	350
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	39.2	7.6	38.4	14.8	350
<i>O. pedator</i> Sharp (SKA)	39.4	7.0	39.4	14.3	350
<i>O. phanaeides</i> Frey (NRT)	38.9	7.3	40.4	13.5	350
<i>O. rugicollis</i> Harold (RNG)	38.7	7.6	39.5	14.2	350
<i>O. rugicollis</i> Harold (TRG)	38.8	7.3	39.7	14.3	350
<i>O. rugicollis</i> Harold (SKA)	39.1	7.3	39.1	14.6	350
<i>O. seniculus</i> Fabricius (TRG)	39.2	7.3	38.1	15.4	350
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	40.0	6.7	38.0	15.4	350
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	40.0	6.7	38.0	15.4	350
<i>O. taurinus</i> White (NRT)	40.3	7.0	38.0	14.8	350
<i>O. uenoi</i> Ochi (SNI)	39.0	7.3	37.2	16.4	350
<i>O. vulpes</i> Harold (SNI)	40.1	6.7	37.4	15.8	350

ตารางที่ 5 (ต่อ) ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน 16S rDNA

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%) ยีน 16S rDNA				
	T (U)	C	A	G	รวม
O. sp.1 (RNG)	39.1	6.4	40.8	13.7	350
O. sp.2 (SNI)	39.1	6.4	40.8	13.7	350
O. sp.3 (SNI)	39.1	6.4	40.8	13.7	350
O. sp.4 (SKA)	38.1	6.4	40.4	15.1	350
O. sp.5 (PNA)	38.1	6.4	40.1	15.4	350
O. sp.6 (NRT)	38.1	6.7	40.4	14.8	350
O. sp.7 (RNG)	39.5	7.9	38.0	14.6	350
ค่าเฉลี่ย	39.4	7.1	38.6	15.0	350

หมายเหตุ ตัวอย่างแต่ละจังหวัด มีดังนี้ ชุมพร (CPN) ระนอง (RNG) พังงา (PNA) สุราษฎร์ธานี (SNI) ตรัง (TRG) นครศรีธรรมราช (NRT) สงขลา (SKA)

ตารางที่ 6 ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน Cyt b

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%) ยีน Cyt b				
	T (U)	C	A	G	รวม
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (PNA)	38.6	17.7	33.7	10.0	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	39.1	17.4	33.4	10.0	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	38.6	17.7	33.1	10.6	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (TRG)	38.9	17.4	33.7	10.0	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SKA)	40.9	16.3	32.3	10.6	350
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (NRT)	38.6	17.7	33.7	10.0	350
<i>O. borneensis</i> Harold (PNA)	41.5	16.9	30.7	10.9	350
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	43.7	14.6	31.1	10.6	350
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	41.0	17.5	30.4	11.2	350
<i>O. laevis</i> Harold (TRG)	37.1	22.9	29.1	10.9	350
<i>O. maniti</i> Masumoto (RNG)	39.4	16.3	33.7	10.6	350
<i>O. maniti</i> Masumoto (SNI)	39.4	16.3	33.4	10.9	350
<i>O. orientalis</i> Harold (RNG)	41.8	16.3	31.2	10.6	350
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	38.9	17.4	33.7	10.0	350
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	41.1	16.0	32.3	10.6	350
<i>O. pedator</i> Sharp (SKA)	39.1	18.9	31.1	10.9	350
<i>O. phanaeides</i> Frey (NRT)	40.3	17.7	31.1	10.9	350
<i>O. rugicollis</i> Harold (RNG)	41.8	16.3	31.2	10.6	350
<i>O. rugicollis</i> Harold (TRG)	40.6	16.0	32.9	10.6	350
<i>O. rugicollis</i> Harold (SKA)	40.6	15.7	33.1	10.6	350
<i>O. seniculus</i> Fabricius (TRG)	38.9	18.3	31.4	11.4	350
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	38.3	20.0	32.0	9.7	350
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	38.0	20.3	32.0	9.7	350
<i>O. taurinus</i> White (NRT)	40.3	17.1	30.9	11.7	350
<i>O. uenoi</i> Ochi (SNI)	40.3	19.4	30.0	10.3	350
<i>O. vulpes</i> Harold (SNI)	40.3	16.9	32.3	10.6	350

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน Cyt *b*

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%) ยีน Cyt <i>b</i>				
	T (U)	C	A	G	รวม
O. sp.1 (RNG)	42.0	16.9	30.6	10.6	350
O. sp.2 (SNI)	40.1	17.4	32.0	10.6	350
O. sp.3 (SNI)	40.0	17.2	32.3	10.5	350
O. sp.4 (SKA)	40.9	18.0	30.6	10.6	350
O. sp.5 (PNA)	41.5	17.2	29.8	11.5	350
O. sp.6 (NRT)	41.1	17.7	30.3	10.9	350
O. sp.7 (RNG)	41.7	19.4	28.0	10.9	350
ค่าเฉลี่ย	40.1	17.5	31.7	10.6	350

หมายเหตุ ตัวอย่างแต่ละจังหวัด มีดังนี้ ชุมพร (CPN) ระนอง (RNG) พังงา (PNA) สุราษฎร์ธานี (SNI) ตรัง (TRG) นครศรีธรรมราช (NRT) สงขลา (SKA)

ตารางที่ 7 ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน 28S rDNA domain3

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%)				
	ยีน 28S rDNA domain3				
	T (U)	C	A	G	รวม
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (PNA)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SNI)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (TRG)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (SKA)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. babirusa</i> Eschscholtz (NRT)	19.0	24.4	24.1	32.5	299
<i>O. borneensis</i> Harold (PNA)	18.7	24.5	24.1	32.7	299
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	19.0	24.1	24.1	32.7	299
<i>O. borneensis</i> Harold (TRG)	18.7	24.5	24.1	32.7	299
<i>O. laevis</i> Harold (TRG)	18.9	24.7	25.3	31.1	299
<i>O. maniti</i> Masumoto (RNG)	18.6	24.7	24.0	32.8	299
<i>O. maniti</i> Masumoto (SNI)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. orientalis</i> Harold (RNG)	19.3	24.7	23.4	32.5	299
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	18.9	24.3	24.7	32.1	299
<i>O. orientalis</i> Harold (SKA)	19.0	24.7	24.4	31.9	299
<i>O. pedator</i> Sharp (SKA)	18.2	24.7	24.3	32.8	299
<i>O. phanaeides</i> Frey (NRT)	18.6	25.0	23.3	33.1	299
<i>O. rugicollis</i> Harold (RNG)	19.7	24.1	23.7	32.5	299
<i>O. rugicollis</i> Harold (TRG)	18.6	24.7	25.0	31.8	299
<i>O. rugicollis</i> Harold (SKA)	18.3	24.7	24.7	32.2	299
<i>O. seniculus</i> Fabricius (TRG)	17.9	25.0	25.3	31.8	299
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. taurinus</i> White (CPN)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
<i>O. taurinus</i> White (NRT)	19.0	24.4	24.1	32.5	299
<i>O. uenoi</i> Ochi (SNI)	18.6	24.7	25.7	31.1	299
<i>O. vulpes</i> Harold (SNI)	18.6	24.7	24.0	32.8	299

ตารางที่ 7 (ต่อ) ผลการคำนวณค่า Nucleotide composition ของยีน 28S rDNA domain3

ชนิด	ค่า Nucleotide composition (%)				
	ยีน 28S rDNA domain3				
	T (U)	C	A	G	รวม
O. sp.1 (RNG)	18.2	25.0	24.0	32.8	299
O. sp.2 (SNI)	18.2	25.0	24.0	32.8	299
O. sp.3 (SNI)	18.0	25.2	23.8	33.0	299
O. sp.4 (SKA)	17.9	25.3	24.0	32.8	299
O. sp.5 (PNA)	18.9	24.7	24.0	32.4	299
O. sp.6 (NRT)	17.9	25.3	24.0	32.8	299
O. sp.7 (RNG)	18.0	25.4	22.7	33.9	299
ค่าเฉลี่ย	18.6	24.7	24.1	32.5	299

หมายเหตุ ตัวอย่างแต่ละจังหวัด มีดังนี้ ชุมพร (CPN) ระนอง (RNG) พังงา (PNA) สุราษฎร์ธานี (SNI) ตรัง (TRG) นครศรีธรรมราช (NRT) สงขลา (SKA)

3.3.2 ความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide diversity)

จากการคำนวณค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ ของยีนทั้ง 4 ยีน โดยใช้โปรแกรม DnaSP เวอร์ชัน 5.10.01 (Rozas และคณะ, 2010) เพื่อคำนวณค่าต่างๆ ของแต่ละยีน ได้ผล ดังนี้ ยีน COI มีจำนวนตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ทั้งหมด 33 ชนิด มีความยาวของนิวคลีโอไทด์ จำนวน 792 bp โดยใช้สมการรูปแบบ GTR+I+G ในการวิเคราะห์ ได้ค่าต่างๆ ดังนี้ (ตารางที่ 8) ได้แก่ ค่า Invariable sites มีค่าเท่ากับ 501, ค่า Singleton variable sites มีค่าเท่ากับ 48, Parsimony informative sites มีค่าเท่ากับ 237, ค่า average number of differences มีค่าเท่ากับ 89.278, ค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Pi) มีค่าเท่ากับ 0.11345, ค่าความถี่ของเบส A มีค่าเท่ากับ 0.329, ค่าความถี่ของเบส C มีค่าเท่ากับ 0.142, ค่าความถี่ของเบส G มีค่าเท่ากับ 0.135, ค่าความถี่ของเบส T มีค่าเท่ากับ 0.394, ค่าจำนวนของ polymorphic sites (S) มีค่าเท่ากับ 286, ค่า Theta-W, per sequence มีค่าเท่ากับ 70.47138, ค่า Theta-W, per site มีค่าเท่ากับ 0.08943, ค่าจำนวนของ haplotype (h) มีค่าเท่ากับ 28, ค่า Haplotype diversity (Hd) มีค่าเท่ากับ 0.9886, ค่า Total number of InDels events analysed (I) มีค่าเท่ากับ 4 และค่า Tajima's Test มีค่าเท่ากับ -0.36286

ยีน 16S rDNA มีจำนวนตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ทั้งหมด 33 ชนิด มีความยาวของนิวคลีโอไทด์ จำนวน 350 bp โดยใช้สมการรูปแบบ GTR+I+G ในการวิเคราะห์ ได้ค่าต่างๆ ดังนี้ (ตารางที่ 8) ได้แก่ ค่า Invariable sites มีค่าเท่ากับ 232, ค่า Singleton variable sites มีค่าเท่ากับ 17, Parsimony informative sites มีค่าเท่ากับ 80, ค่า average number of differences มีค่าเท่ากับ 31.155, ค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Pi) มีค่าเท่ากับ 0.09128, ค่าความถี่ของเบส A มีค่าเท่ากับ 0.386, ค่าความถี่ของเบส C มีค่าเท่ากับ 0.071, ค่าความถี่ของเบส G มีค่าเท่ากับ 0.150, ค่าความถี่ของเบส T มีค่าเท่ากับ 0.394, ค่าจำนวน polymorphic sites (S) มีค่าเท่ากับ 113, ค่า Theta-W, per sequence มีค่าเท่ากับ 29.41300, ค่า Theta-W, per site มีค่าเท่ากับ 0.08428, ค่าจำนวนของ haplotype (h) เท่ากับ 24, ค่า Haplotype diversity (Hd) มีค่าเท่ากับ 0.9679, ค่า Total number of InDels events analysed (I) มีค่าเท่ากับ 20 และค่า Tajima's Test มีค่าเท่ากับ -0.39945

ยีน Cyt *b* มีจำนวนตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ทั้งหมด 33 ชนิด มีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 350 bp โดยใช้สมการรูปแบบ GTR+I+G ในการวิเคราะห์ ได้ค่าต่างๆ ดังนี้ (ตารางที่ 8) ได้แก่ ค่า Invariable sites มีค่าเท่ากับ 179, ค่า Singleton variable sites มีค่าเท่ากับ 16, Parsimony informative sites มีค่าเท่ากับ 125, ค่า average number of differences มีค่าเท่ากับ 48.157, ความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Pi) มีค่าเท่ากับ 0.13938, ค่าความถี่ของเบส A มีค่าเท่ากับ 0.317, ค่าความถี่ของเบส C มีค่าเท่ากับ 0.175, ค่าความถี่ของเบส G มีค่าเท่ากับ 0.106, ค่าความถี่ของเบส T มีค่าเท่ากับ 0.401, ค่าจำนวนของ

polymorphic sites (*S*) มีค่าเท่ากับ 156, ค่า Theta-W, per sequence มีค่าเท่ากับ 38.49264, ค่า Theta-W, per site มีค่าเท่ากับ 0.10998, ค่าจำนวนของ haplotype (*h*) มีค่าเท่ากับ 30, ค่า Haplotype diversity (*Hd*) มีค่าเท่ากับ 0.9943, ค่า Total number of InDels events analysed (*I*) มีค่าเท่ากับ 30 และค่า Tajima's Test มีค่าเท่ากับ -0.32526

และยีน 28S rDNA domain3 มีจำนวนตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ทั้งหมด 33 ชนิด มีความยาวของนิวคลีโอไทด์จำนวน 299 bp โดยใช้สมการรูปแบบ GTR+I+G ในการวิเคราะห์ ได้ค่าต่าง ๆ ดังนี้ (ตารางที่ 8) ได้แก่ ค่า Invariable sites มีค่าเท่ากับ 269, ค่า Singleton variable sites มีค่าเท่ากับ 8, Parsimony informative sites มีค่าเท่ากับ 16, ค่า average number of differences มีค่าเท่ากับ 5.890, ค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (*Pi*) มีค่าเท่ากับ 0.01997, ค่าความถี่ของเบส A มีค่าเท่ากับ 0.241, ค่าความถี่ของเบส C มีค่าเท่ากับ 0.247, ค่าความถี่ของเบส G มีค่าเท่ากับ 0.325, ค่าความถี่ของเบส T มีค่าเท่ากับ 0.186, ค่าจำนวนของ polymorphic sites (*S*) มีค่าเท่ากับ 24, ค่า Theta-W, per sequence มีค่าเท่ากับ 5.91352, ค่า Theta-W, per site มีค่าเท่ากับ 0.01991, ค่าจำนวนของ haplotype (*h*) มีค่าเท่ากับ 20, ค่า Haplotype diversity (*Hd*) มีค่าเท่ากับ 0.9186, ค่า Total number of InDels events analysed (*I*) มีค่าเท่ากับ 5 และค่า Tajima's Test มีค่าเท่ากับ -0.62256

ตารางที่ 8 ผลการคำนวณค่า Nucleotide diversity

Parameters	COI	16S rDNA	Cyt b	28S rDNA domain3
Number of samples	33	33	33	33
Aligned positions	792	350	350	299
Best-fit model	GTR+I+G	GTR+I+G	GTR+I+G	GTR+I+G
Polymorphic sites				
- Invariable sites	501	232	179	269
- Singleton variable sites	48	17	16	8
- Parsimony informative sites	237	80	125	16
DNA polymorphism				
- Average number of differences	89.278	31.155	48.157	5.890
- Nucleotide diversity (<i>Pi</i>)	0.11345	0.09128	0.13938	0.01997
- A Frequency	0.329	0.386	0.317	0.241
- C Frequency	0.142	0.071	0.175	0.247
- G Frequency	0.135	0.150	0.106	0.325
- T Frequency	0.394	0.394	0.401	0.186
- Number of polymorphic sites (<i>S</i>)	286	113	156	24
- Theta-W, per sequence	70.47138	29.41300	38.49264	5.91352
- Theta-W, per site	0.08943	0.08428	0.10998	0.01991
Haplotype diversity				
- Number of haplotype (<i>h</i>)	28	24	30	20
- Haplotype diversity (<i>Hd</i>)	0.9886	0.9697	0.9943	0.9186
InDels (Insertion-Deletion)				
- Total number of InDels events analysed (<i>I</i>)	4	20	30	5
Tajima's Test				
- Tajima's D	-0.36286 ns	-0.39945 ns	-0.32526 ns	-0.62256 ns

หมายเหตุ ns = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$), * = $p \leq 0.05$, ** = $p \leq 0.01$, *** = $p \leq 0.001$

3.3.3 ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise Genetic Distance)

เมื่อคำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรม ของดั่งมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในแต่ละยีน โดยใช้โปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 พบว่า ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน COI (ตารางที่ 9) ของดั่งมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่มีค่าน้อยที่สุดคือ 0.000 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน COI มากที่สุดคือ 0.224 ซึ่งปรากฏในตัวอย่างของ *O. borneensis* (TRG) กับ *O. laevis* (TRG) และค่าช่วงระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละชนิดมีค่า ดังต่อไปนี้ *O. babirusa* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.004, *O. borneensis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.008 – 0.153, *O. laevis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.206 – 0.224, *O. maniti* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.001 – 0.215, *O. orientalis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.199, *O. predator* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.130 – 0.202, *O. phanaeides* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.124 – 0.201, *O. rugicollis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.211, *O. seniculus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.134 – 0.189, *O. taurinus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.215, *O. uenoi* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.184 – 0.208, *O. vulpes* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.079 – 0.209, *O. sp.1* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.100 – 0.211, *O. sp.2* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.001 – 0.211, *O. sp.3* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.216, *O. sp.4* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.075 – 0.197, *O. sp.5* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.005 – 0.197, *O. sp.6* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.001 – 0.199 และ *O. sp.7* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.108 – 0.195

ยีน 16S rDNA (ตารางที่ 10) พบว่า ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของดั่งมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่มีค่าน้อยที่สุดคือ 0.000 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน 16S rDNA มากที่สุด คือ 0.182 ปรากฏในตัวอย่าง *O. laevis* (TRG) กับ *O. phanaeidea* (NRT) และค่าช่วงระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละชนิดมีค่า ดังต่อไปนี้ *O. babirusa* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 - 0.003, *O. borneensis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.094, *O. laevis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.098 – 0.163, *O. maniti* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.146, *O. orientalis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.121, *O. predator* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.075 – 0.137, *O. phanaeides* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.130 – 0.182, *O. rugicollis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.150, *O. seniculus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.087 – 0.201, *O. taurinus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่

ระหว่าง 0.000 – 0.168, *O. uenoi* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.076 – 0.178, *O. vulpes* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.065 – 0.178, *O. sp.1* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.065 – 0.154, *O. sp.2* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.154, *O. sp.3* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.154, *O. sp.4* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.031 – 0.163, *O. sp.5* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.163, *O. sp.6* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.168 และ *O. sp.7* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.098 – 0.173

ยีน *Cyt b* (ตารางที่ 11) มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของดั่งมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่มีค่าน้อยที่สุดคือ 0.000 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน *Cyt b* มากที่สุดคือ 0.468 ปรากฏในตัวอย่าง *O. laevis* (TRG) กับ *O. sp.2* (SNI) และค่าช่วงระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละชนิดมีค่า ดังต่อไปนี้ *O. babirusa* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.127, *O. borneensis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.009 – 0.192, *O. laevis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.233 – 0.289, *O. maniti* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.237, *O. orientalis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.289, *O. predator* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.140 – 0.259, *O. phanaeides* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.140 – 0.286, *O. rugicollis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.275, *O. seniculus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.158 – 0.263, *O. taurinus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.256, *O. uenoi* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.155 – 0.264, *O. vulpes* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.099 – 0.223, *O. sp.1* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.098 – 0.254, *O. sp.2* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.216 – 0.468, *O. sp.3* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.460, *O. sp.4* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.099 – 0.255, *O. sp.5* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.016 – 0.256, *O. sp.6* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.249 และ *O. sp.7* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.012 – 0.274

และค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน 28S rDNA domain3 (ตารางที่ 12) ของดั่งมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่มีค่าน้อยที่สุดคือ 0.000 ส่วนค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน 28S rDNA มากที่สุดคือ 0.043 ปรากฏในตัวอย่าง *O. pedator* (SKA) กับ *O. laevis* (TRG) และ *O. seniculus* (TRG) กับ *O. pedator* (SKA) และค่าช่วงระยะห่างทางพันธุกรรมของแต่ละชนิดมีค่า ดังต่อไปนี้ *O. babirusa* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.000, *O. borneensis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.021, *O. laevis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.032 – 0.036, *O. maniti* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.028, *O. orientalis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.007 – 0.032,

O. predator มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.025 – 0.043, *O. phanaeides* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.007 – 0.025, *O. rugicollis* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.039, *O. seniculus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.017 – 0.043, *O. taurinus* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.306, *O. uenoi* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.007 – 0.039, *O. vulpes* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.014 – 0.039, *O. sp.1* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.010 – 0.036, *O. sp.2* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.036, *O. sp.3* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.036, *O. sp.4* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.003 – 0.039, *O. sp.5* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.039, *O. sp.6* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.000 – 0.039 และ *O. sp.7* มีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.010 – 0.040

ตารางที่ 10 ผลการคำนวณค่า Uncorrected pairwise genetic distance ของยีน 16S rDNA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33					
1 <i>O. babirusa</i> (PNA)																																						
2 <i>O. babirusa</i> (SNI)	0.000																																					
3 <i>O. babirusa</i> (SNI)	0.003	0.003																																				
4 <i>O. babirusa</i> (TRG)	0.000	0.000	0.003																																			
5 <i>O. babirusa</i> (NRT)	0.000	0.000	0.003	0.000																																		
6 <i>O. babirusa</i> (SKA)	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000																																	
7 <i>O. bomeensis</i> (PNA)	0.090	0.090	0.094	0.090	0.090	0.090																																
8 <i>O. bomeensis</i> (TRG)	0.076	0.076	0.080	0.076	0.076	0.076	0.051																															
9 <i>O. bomeensis</i> (TRG)	0.087	0.087	0.090	0.087	0.087	0.087	0.003	0.048																														
10 <i>O. laevis</i> (TRG)	0.098	0.098	0.101	0.098	0.098	0.098	0.163	0.146	0.159																													
11 <i>O. maniti</i> (RNG)	0.094	0.094	0.090	0.094	0.094	0.094	0.109	0.094	0.113	0.146																												
12 <i>O. maniti</i> (SNI)	0.094	0.094	0.090	0.094	0.094	0.094	0.109	0.094	0.113	0.146	0.000																											
13 <i>O. rugicollis</i> (RNG)	0.086	0.086	0.090	0.086	0.086	0.086	0.113	0.094	0.110	0.117	0.048	0.048																										
14 <i>O. orientalis</i> (SKA)	0.075	0.075	0.079	0.075	0.075	0.075	0.113	0.072	0.109	0.117	0.062	0.062	0.047																									
15 <i>O. orientalis</i> (SKA)	0.079	0.079	0.075	0.079	0.079	0.079	0.117	0.076	0.113	0.121	0.058	0.058	0.051	0.003																								
16 <i>O. pedator</i> (SKA)	0.098	0.098	0.101	0.098	0.098	0.098	0.137	0.106	0.134	0.129	0.102	0.102	0.090	0.075	0.079																							
17 <i>O. phanaeides</i> (NRT)	0.155	0.155	0.151	0.155	0.155	0.155	0.138	0.130	0.143	0.182	0.138	0.138	0.138	0.151	0.146	0.155																						
18 <i>O. rugicollis</i> (RNG)	0.086	0.086	0.090	0.086	0.086	0.086	0.113	0.094	0.110	0.117	0.048	0.048	0.000	0.047	0.051	0.090	0.138																					
19 <i>O. rugicollis</i> (TRG)	0.113	0.113	0.117	0.113	0.113	0.113	0.105	0.094	0.110	0.150	0.061	0.061	0.061	0.054	0.058	0.083	0.121	0.061																				
20 <i>O. rugicollis</i> (SKA)	0.105	0.105	0.109	0.105	0.105	0.105	0.105	0.087	0.102	0.142	0.061	0.061	0.054	0.047	0.051	0.076	0.130	0.054	0.006																			
21 <i>O. seniculus</i> (TRG)	0.087	0.087	0.090	0.087	0.087	0.087	0.160	0.147	0.156	0.087	0.126	0.126	0.118	0.134	0.138	0.159	0.201	0.118	0.173	0.165																		
22 <i>O. taurinus</i> (CPN)	0.058	0.058	0.061	0.058	0.058	0.058	0.109	0.102	0.106	0.129	0.094	0.094	0.102	0.105	0.109	0.113	0.168	0.102	0.129	0.121	0.113																	
23 <i>O. taurinus</i> (CPN)	0.058	0.058	0.061	0.058	0.058	0.058	0.109	0.102	0.106	0.129	0.094	0.094	0.102	0.105	0.109	0.113	0.168	0.102	0.129	0.121	0.113	0.000																
24 <i>O. taurinus</i> (NRT)	0.054	0.054	0.058	0.054	0.054	0.054	0.105	0.102	0.102	0.142	0.109	0.109	0.101	0.105	0.109	0.129	0.159	0.101	0.129	0.121	0.130	0.031	0.031															
25 <i>O. uenoi</i> (SNI)	0.076	0.076	0.080	0.076	0.076	0.076	0.134	0.122	0.130	0.090	0.134	0.134	0.122	0.110	0.114	0.130	0.178	0.122	0.142	0.134	0.106	0.106	0.106	0.118														
26 <i>O. vulpes</i> (SNI)	0.079	0.079	0.083	0.079	0.079	0.079	0.117	0.091	0.114	0.138	0.102	0.102	0.087	0.065	0.068	0.087	0.178	0.087	0.094	0.087	0.156	0.110	0.110	0.106	0.126													
27 <i>O. sp.1</i> (RNG)	0.098	0.098	0.101	0.098	0.098	0.098	0.154	0.113	0.151	0.133	0.105	0.105	0.098	0.094	0.098	0.065	0.142	0.098	0.101	0.094	0.138	0.129	0.129	0.125	0.146	0.102												
28 <i>O. sp.2</i> (SNI)	0.098	0.098	0.101	0.098	0.098	0.098	0.154	0.113	0.151	0.133	0.105	0.105	0.098	0.094	0.098	0.065	0.142	0.098	0.101	0.094	0.138	0.129	0.129	0.125	0.146	0.102	0.000											
29 <i>O. sp.3</i> (SNI)	0.098	0.098	0.101	0.098	0.098	0.098	0.154	0.113	0.151	0.133	0.105	0.105	0.098	0.094	0.098	0.065	0.142	0.098	0.101	0.094	0.138	0.129	0.129	0.125	0.146	0.102	0.000	0.000										
30 <i>O. sp.4</i> (SKA)	0.105	0.105	0.109	0.105	0.105	0.105	0.163	0.121	0.159	0.125	0.109	0.109	0.098	0.098	0.101	0.062	0.138	0.098	0.101	0.094	0.142	0.137	0.137	0.133	0.134	0.110	0.031	0.031	0.031									
31 <i>O. sp.5</i> (PNA)	0.109	0.109	0.113	0.109	0.109	0.109	0.163	0.126	0.159	0.129	0.113	0.113	0.101	0.102	0.105	0.065	0.142	0.101	0.105	0.098	0.146	0.142	0.142	0.138	0.138	0.114	0.034	0.034	0.034	0.003								
32 <i>O. sp.6</i> (NRT)	0.109	0.109	0.113	0.109	0.109	0.109	0.168	0.125	0.164	0.129	0.113	0.113	0.101	0.101	0.105	0.065	0.142	0.101	0.105	0.098	0.146	0.142	0.142	0.138	0.138	0.114	0.034	0.034	0.034	0.003	0.006							
33 <i>O. sp.7</i> (RNG)	0.151	0.151	0.155	0.151	0.151	0.151	0.155	0.134	0.151	0.168	0.134	0.134	0.138	0.130	0.134	0.159	0.098	0.138	0.142	0.134	0.173	0.146	0.146	0.155	0.147	0.147	0.155	0.155	0.147	0.151	0.151							

หมายเหตุ ตัวอย่างแต่ละจังหวัด มีดังนี้ ชุมพร (CPN) ระนอง (RNG) พังงา (PNA) สุราษฎร์ธานี (SNI) ตรัง (TRG) นครศรีธรรมราช (NRT) สงขลา (SKA)

ตารางที่ 12 ผลการคำนวณค่า Uncorrected pairwise genetic distance ของยีน 28S rDNA domain3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33				
1 <i>O. babirussa</i> (PNA)																																					
2 <i>O. babirussa</i> (SNI)	0.000																																				
3 <i>O. babirussa</i> (SNI)	0.000	0.000																																			
4 <i>O. babirussa</i> (TRG)	0.000	0.000	0.000																																		
5 <i>O. babirussa</i> (NRT)	0.000	0.000	0.000	0.000																																	
6 <i>O. babirussa</i> (SKA)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000																																
7 <i>O. borneensis</i> (PNA)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018																															
8 <i>O. borneensis</i> (TRG)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.003																														
9 <i>O. borneensis</i> (TRG)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.000	0.003																													
10 <i>O. laevis</i> (TRG)	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.032	0.036	0.032																												
11 <i>O. maniti</i> (RNG)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.014	0.017	0.014	0.032																											
12 <i>O. maniti</i> (SNI)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.017	0.021	0.017	0.028	0.003																										
13 <i>O. rugicollis</i> (RNG)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.025	0.021	0.025	0.014	0.017																									
14 <i>O. orientalis</i> (SKA)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.017	0.021	0.017	0.032	0.017	0.021	0.017																								
15 <i>O. orientalis</i> (SKA)	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.021	0.017	0.032	0.017	0.021	0.018	0.007																							
16 <i>O. pedator</i> (SKA)	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.032	0.036	0.032	0.043	0.028	0.032	0.025	0.039	0.039																						
17 <i>O. phanaeides</i> (NRT)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.014	0.018	0.014	0.028	0.014	0.017	0.007	0.025	0.025	0.021																					
18 <i>O. rugicollis</i> (RNG)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.025	0.021	0.028	0.014	0.017	0.007	0.017	0.017	0.032	0.014																				
19 <i>O. rugicollis</i> (TRG)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.021	0.025	0.021	0.032	0.017	0.014	0.028	0.025	0.017	0.039	0.028	0.028																			
20 <i>O. rugicollis</i> (SKA)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.017	0.021	0.017	0.036	0.014	0.017	0.025	0.021	0.014	0.036	0.025	0.025	0.003																		
21 <i>O. seniculus</i> (TRG)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.021	0.025	0.021	0.017	0.021	0.025	0.025	0.025	0.017	0.043	0.025	0.028	0.021	0.017																	
22 <i>O. taurinus</i> (CPN)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.021	0.018	0.036	0.018	0.021	0.021	0.025	0.017	0.028	0.018	0.021	0.025	0.021	0.025																
23 <i>O. taurinus</i> (CPN)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.021	0.018	0.036	0.018	0.021	0.021	0.025	0.017	0.028	0.018	0.021	0.025	0.021	0.025	0.000															
24 <i>O. taurinus</i> (NRT)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.021	0.018	0.036	0.018	0.021	0.021	0.025	0.017	0.028	0.018	0.021	0.025	0.021	0.025	0.000	0.000														
25 <i>O. uenoi</i> (SNI)	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.025	0.028	0.025	0.007	0.025	0.021	0.025	0.025	0.025	0.039	0.028	0.028	0.025	0.028	0.010	0.028	0.028	0.028													
26 <i>O. vulpes</i> (SNI)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.021	0.025	0.021	0.039	0.014	0.017	0.021	0.025	0.025	0.039	0.021	0.021	0.021	0.018	0.028	0.025	0.025	0.025	0.032												
27 <i>O. sp.1</i> (RNG)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.021	0.025	0.021	0.036	0.018	0.021	0.017	0.028	0.028	0.010	0.014	0.025	0.028	0.025	0.032	0.018	0.018	0.018	0.028	0.028											
28 <i>O. sp.2</i> (SNI)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.021	0.025	0.021	0.036	0.018	0.021	0.017	0.028	0.028	0.010	0.014	0.025	0.028	0.025	0.032	0.018	0.018	0.018	0.028	0.028	0.000										
29 <i>O. sp.3</i> (SNI)	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.018	0.021	0.025	0.021	0.036	0.018	0.021	0.017	0.028	0.028	0.010	0.014	0.025	0.029	0.025	0.032	0.018	0.018	0.018	0.028	0.029	0.000	0.000									
30 <i>O. sp.4</i> (SKA)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.025	0.028	0.025	0.039	0.021	0.025	0.021	0.032	0.032	0.014	0.018	0.028	0.032	0.029	0.036	0.021	0.021	0.021	0.032	0.032	0.003	0.003	0.003								
31 <i>O. sp.5</i> (PNA)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.025	0.028	0.025	0.039	0.021	0.025	0.021	0.032	0.032	0.014	0.018	0.028	0.032	0.029	0.036	0.021	0.021	0.021	0.032	0.032	0.003	0.003	0.003	0.000							
32 <i>O. sp.6</i> (NRT)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.025	0.028	0.025	0.039	0.021	0.025	0.021	0.032	0.032	0.014	0.018	0.028	0.032	0.029	0.036	0.021	0.021	0.021	0.032	0.032	0.003	0.003	0.003	0.000	0.000						
33 <i>O. sp.7</i> (RNG)	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.025	0.029	0.025	0.040	0.025	0.028	0.018	0.036	0.028	0.021	0.010	0.025	0.032	0.028	0.028	0.021	0.021	0.021	0.040	0.032	0.018	0.018	0.018	0.021	0.021	0.021					

หมายเหตุ ตัวอย่างแต่ละจังหวัด มีดังนี้ ชุมพร (CPN) ระนอง (RNG) พังงา (PNA) สุราษฎร์ธานี (SNI) ตรัง (TRG) นครศรีธรรมราช (NRT) สงขลา (SKA)

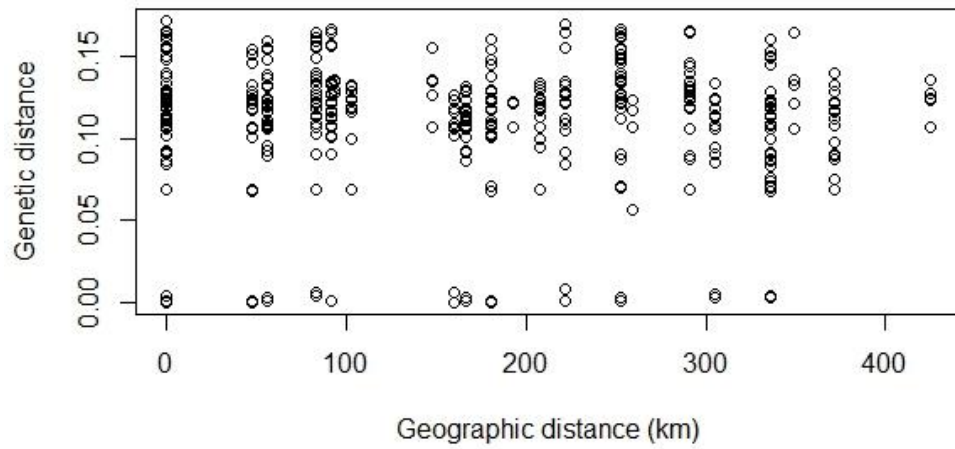
3.3.4 ความแปรผันทางพันธุกรรม (Genetic variation)

จากการศึกษาความแตกต่างระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) กับระยะทางทางภูมิศาสตร์ (geographic distance) ของประชากรตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย โดยตรวจสอบจากค่า F -statistics (F_{ST}) ด้วยโปรแกรม RStudio เวอร์ชัน 1.0.136 พบว่า ค่าความแตกต่างระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางทางภูมิศาสตร์ ในยีน COI (ตารางที่ 13) ของตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่มีค่าน้อยที่สุดคือ 0.0012 ซึ่งปรากฏในตัวอย่างของ *O. sp.2* (SNI) ส่วนค่าความแตกต่างระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางทางภูมิศาสตร์ที่มีค่ามากที่สุดคือ 0.1689 ซึ่งปรากฏในตัวอย่างของ *O. laevis* (TRG) และความสัมพันธ์ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางทางภูมิศาสตร์ของตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* แต่ละชนิดมีค่าดังต่อไปนี้ เช่น ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง *O. babirusa* (PNA) กับ *O. borneensis* (PNA) มีค่าเท่ากับ 0.1258, *O. babirusa* (PNA) กับ *O. orientalis* (SKA) มีค่าเท่ากับ 0.1143, *O. babirusa* (PNA) กับ *O. rugicollis* (TRG) มีค่าเท่ากับ 0.1118, *O. babirusa* (PNA) กับ *O. taurus* (CPN) มีค่าเท่ากับ 0.1067, *O. borneensis* (PNA) กับ *O. orientalis* (SKA) มีค่าเท่ากับ 0.1245, *O. borneensis* (PNA) กับ *O. rugicollis* (TRG) มีค่าเท่ากับ 0.1118, *O. borneensis* (PNA) กับ *O. taurus* (CPN) มีค่าเท่ากับ 0.1207, *O. orientalis* (SKA) กับ *O. rugicollis* (TRG) มีค่าเท่ากับ 0.0876, *O. orientalis* (SKA) กับ *O. taurus* (CPN) มีค่าเท่ากับ 0.1296, *O. rugicollis* (TRG) กับ *O. taurus* (CPN) มีค่าเท่ากับ 0.1207, *O. taurus* (CPN) กับ *O. uenoi* (SNI) มีค่าเท่ากับ 0.1550, *O. taurus* (CPN) กับ *O. vulpes* (SNI) มีค่าเท่ากับ 0.1359, *O. sp.2* (SNI) กับ *O. sp.3* (SNI) มีค่าเท่ากับ 0.0038, *O. sp.2* (SNI) กับ *O. sp.4* (SKA) มีค่าเท่ากับ 0.0673, *O. sp.4* (SKA) กับ *O. sp.5* (PNA) มีค่าเท่ากับ 0.0051 และ *O. sp.5* (PNA) กับ *O. sp.6* (NRT) มีค่าเท่ากับ 0.0063 เป็นต้น

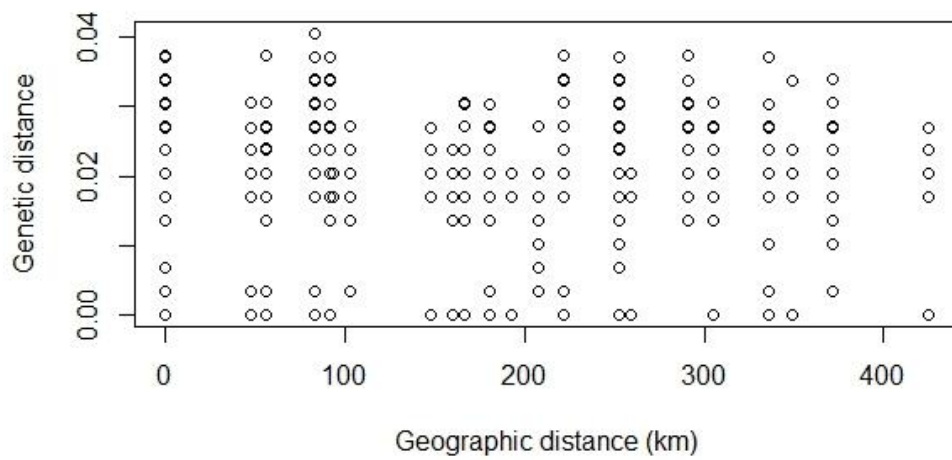
ตารางที่ 13 ค่า F_{ST} ของ genetic distance และ geographic distance ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* แต่ละชนิด ของยีน COI (Mantel's test)

Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1. <i>O. babirusa</i>																		
2. <i>O. borneensis</i>	0.1258																	
3. <i>O. laevis</i>	0.1639	0.1689																
4. <i>O. maniti</i>	0.1232	0.1181	0.1652															
5. <i>O. orientalis</i>	0.1143	0.1245	0.1563	0.0749														
6. <i>O. pedator</i>	0.1181	0.1334	0.1588	0.1118	0.1156													
7. <i>O. phanaeides</i>	0.1181	0.1067	0.1575	0.1067	0.1067	0.1283												
8. <i>O. rugicollis</i>	0.1118	0.1118	0.1639	0.0686	0.0876	0.1029	0.1016											
9. <i>O. seniculus</i>	0.1346	0.1283	0.1497	0.1347	0.1309	0.1321	0.1131	0.1207										
10. <i>O. taurinus</i>	0.1067	0.1207	0.1639	0.1270	0.1296	0.1271	0.1169	0.1207	0.1359									
11. <i>O. uenoi</i>	0.1537	0.1512	0.1548	0.1474	0.1588	0.1601	0.1474	0.1487	0.1612	0.1550								
12. <i>O. vulpes</i>	0.1283	0.1321	0.1626	0.0889	0.0953	0.1131	0.1219	0.0711	0.1372	0.1359	0.1601							
13. <i>O. sp.1</i>	0.1245	0.1194	0.1639	0.1054	0.1093	0.0877	0.1169	0.0889	0.1258	0.1359	0.1550	0.1156						
14. <i>O. sp.2</i>	0.1232	0.1181	0.1639	0.1054	0.1093	0.0864	0.1169	0.0877	0.1258	0.1347	0.1550	0.1143	0.0012					
15. <i>O. sp.3</i>	0.1232	0.1204	0.1664	0.1080	0.1105	0.0877	0.1182	0.0902	0.1258	0.1347	0.1563	0.1143	0.0025	0.0038				
16. <i>O. sp.4</i>	0.1080	0.1232	0.1550	0.0978	0.1118	0.0864	0.1169	0.0902	0.1131	0.1232	0.1448	0.1055	0.0686	0.0673	0.0711			
17. <i>O. sp.5</i>	0.1054	0.1232	0.1550	0.0991	0.1156	0.0851	0.1182	0.0915	0.1093	0.1219	0.1461	0.1055	0.0686	0.0673	0.0686	0.0051		
18. <i>O. sp.6</i>	0.1092	0.1232	0.1563	0.0991	0.1131	0.0864	0.1182	0.0902	0.1131	0.1232	0.1448	0.1067	0.0686	0.0673	0.0711	0.0013	0.0063	

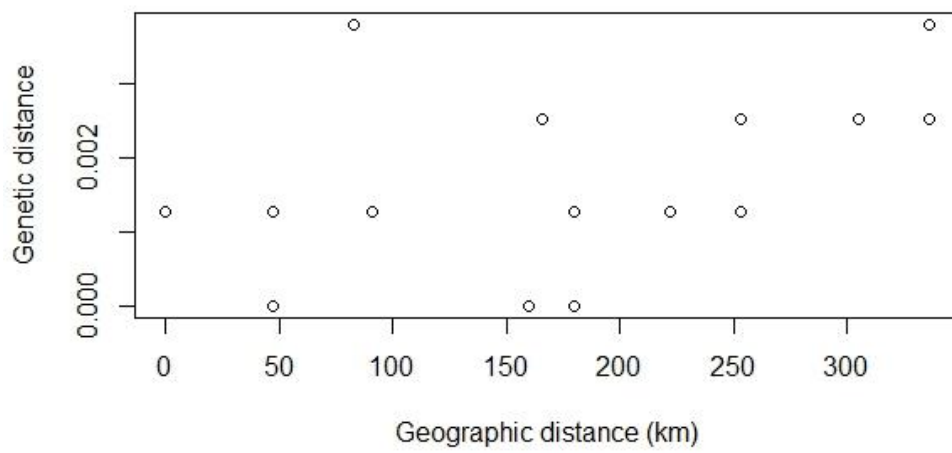
จากการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย โดยตรวจสอบจากค่า F_{ST} ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) กับระยะทางแต่ละประชากร (geographic distance) ของตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในยีน COI และ 28S และตัวงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* ของยีน COI ด้วยโปรแกรม R Program และ RStudio เวอร์ชัน 1.0.136 (รูปที่ 19-21) จากการศึกษาค่า F_{ST} ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากรของตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน COI (รูปที่ 19) พบว่า ตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน COI ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า r เท่ากับ -0.00621 และค่า p เท่ากับ 0.525 ($p > 0.05$) สำหรับค่า F_{ST} ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากรของตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน 28S (รูปที่ 20) พบว่า ตัวงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน 28S ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า r เท่ากับ 0.01379 และค่า p เท่ากับ 0.376 ($p > 0.05$) และค่า F_{ST} ระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากรของตัวงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* ของยีน COI (รูปที่ 21) พบว่า ตัวงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* ของยีน COI มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า r เท่ากับ 0.4246 และค่า p เท่ากับ 0.033* ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 19 ค่า F_{ST} ของระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากรของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน COI ($r = -0.00621$, $p = 0.525$)



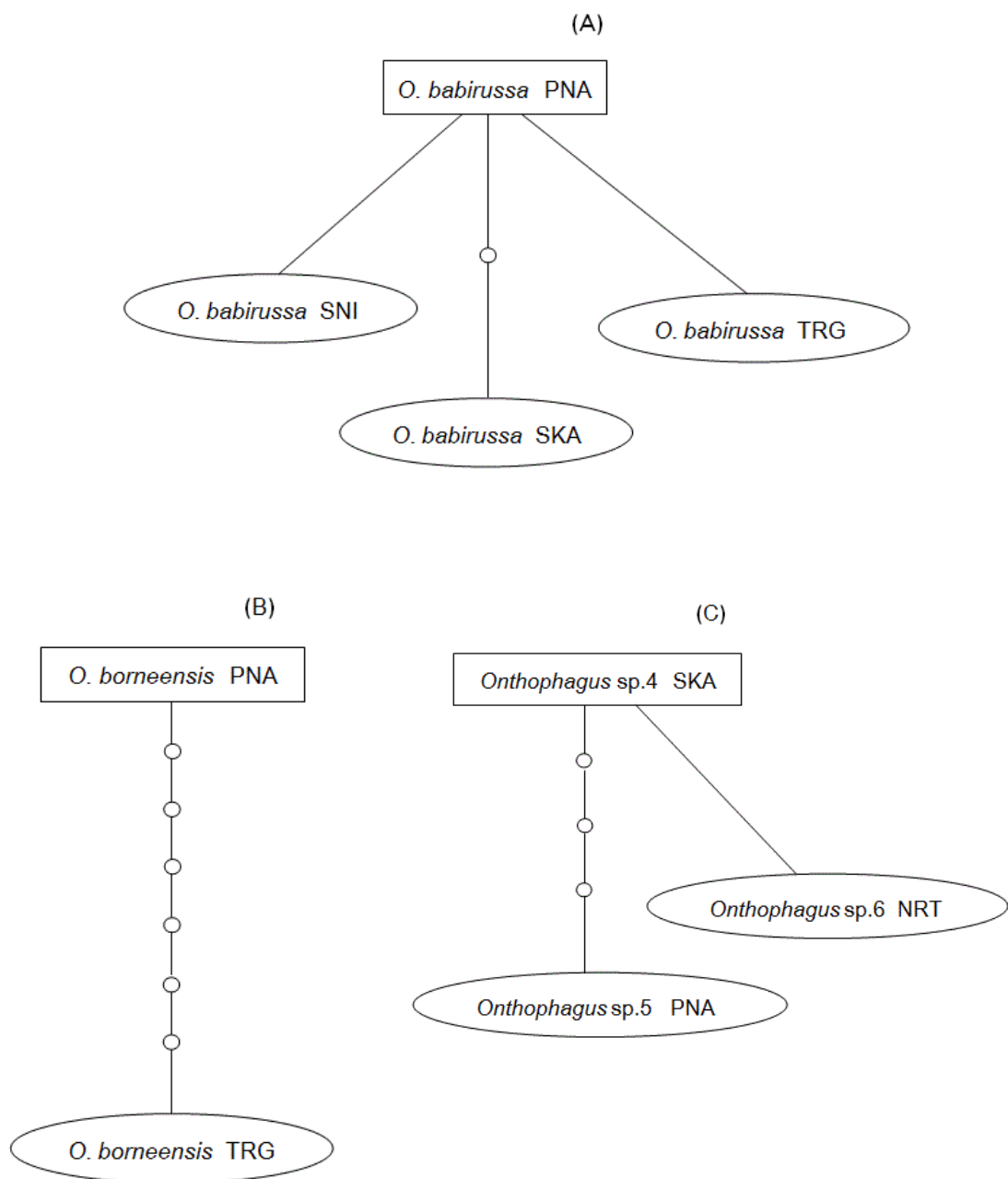
รูปที่ 20 ค่า F_{ST} ของระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากรของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน 28S ($r = 0.01379$, $p = 0.376$)



รูปที่ 21 ค่า F_{ST} ของระยะห่างทางพันธุกรรมกับระยะทางแต่ละประชากรของตัวมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* ของยีน COI ($r = 0.4246$, $p = 0.033$)

หมายเหตุ ns = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$), * = $p \leq 0.05$,
 ** = $p \leq 0.01$, *** = $p \leq 0.001$

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของความแปรผันทางพันธุกรรมและจุดกำเนิดของ
 ตัวงูมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย โดยเลือกศึกษาในตัวงูมูลสัตว์สกุล
Onthophagus บางชนิดเท่านั้น ได้แก่ *O. babirusa*, *O. borneensis* และ *O. sp.4*, *O. sp.5*
 และ *O. sp.6* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ของยีน *COI* โดยการสร้างความสัมพันธ์ในรูปแบบของ
 haplotype network ด้วยโปรแกรม TCS เวอร์ชัน 1.21 (รูปที่ 22) ผลการศึกษา พบว่า รูปแบบ
 ของ haplotype network ของตัวงูมูลสัตว์สกุล *O. babirusa* จังหวัดพังงา (PNA) คาดว่าเป็นจุด
 กำเนิดของ *O. babirusa* ของจังหวัดอื่นในคาบสมุทรมไทย ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี (SNI),
 จังหวัดตรัง (TRG) และจังหวัดสงขลา (SKA) นอกจากนี้ พบว่า *O. babirusa* ของจังหวัดพังงา
 (PNA) เกิด substitution step 1 ขั้นตอน ของการแทนที่ในนิวคลีโอไทด์ 1 ตำแหน่ง แยกเป็น
O. babirusa ของจังหวัดสงขลา (SKA) (รูปที่ 22A) สำหรับรูปแบบของ haplotype network
 ของตัวงูมูลสัตว์สกุล *O. borneensis* จังหวัดพังงา (PNA) คาดว่าเป็นจุดกำเนิดของ
O. borneensis จังหวัดตรัง (TRG) โดยเกิด substitution step 6 ขั้นตอน ของการแทนที่ในนิวคลีโอ
 ไทด์ 6 ตำแหน่ง แยกมาจาก *O. borneensis* ของจังหวัดตรัง (TRG) (รูปที่ 22B) และรูปแบบ
 ของ haplotype network ของ *O. sp.4*, *O. sp.5* และ *O. sp.6* พบว่า ตัวงูมูลสัตว์สกุล *O. sp.4*
 ของจังหวัดสงขลา (SKA) คาดว่าเป็นจุดกำเนิดของ *O. sp.5* ของจังหวัดพังงา (PNA) และ
O. sp.6 ของจังหวัดนครศรีธรรมราช (NRT) ผลการศึกษาพบว่า *O. sp.5* ของจังหวัดพังงา
 (PNA) เกิด substitution step 3 ขั้นตอน ของการแทนที่ในนิวคลีโอไทด์ 3 ตำแหน่ง แยกมาจาก
O. sp.4 ของจังหวัดสงขลา (SKA) (รูปที่ 22C)

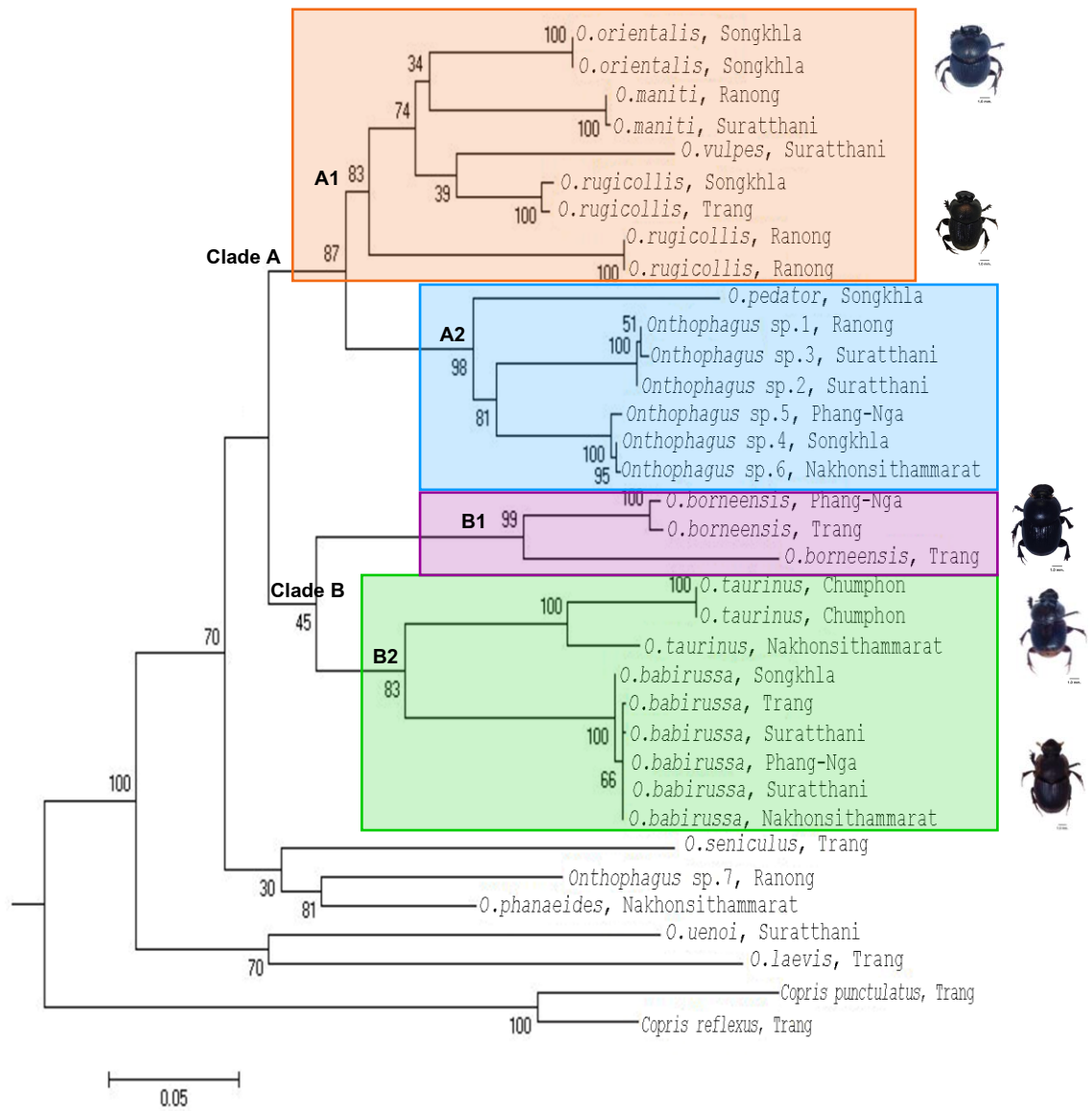


รูปที่ 22 รูปแบบ haplotype network ของตัวมดมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในยีน *COI*

3.3.5 แผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus*

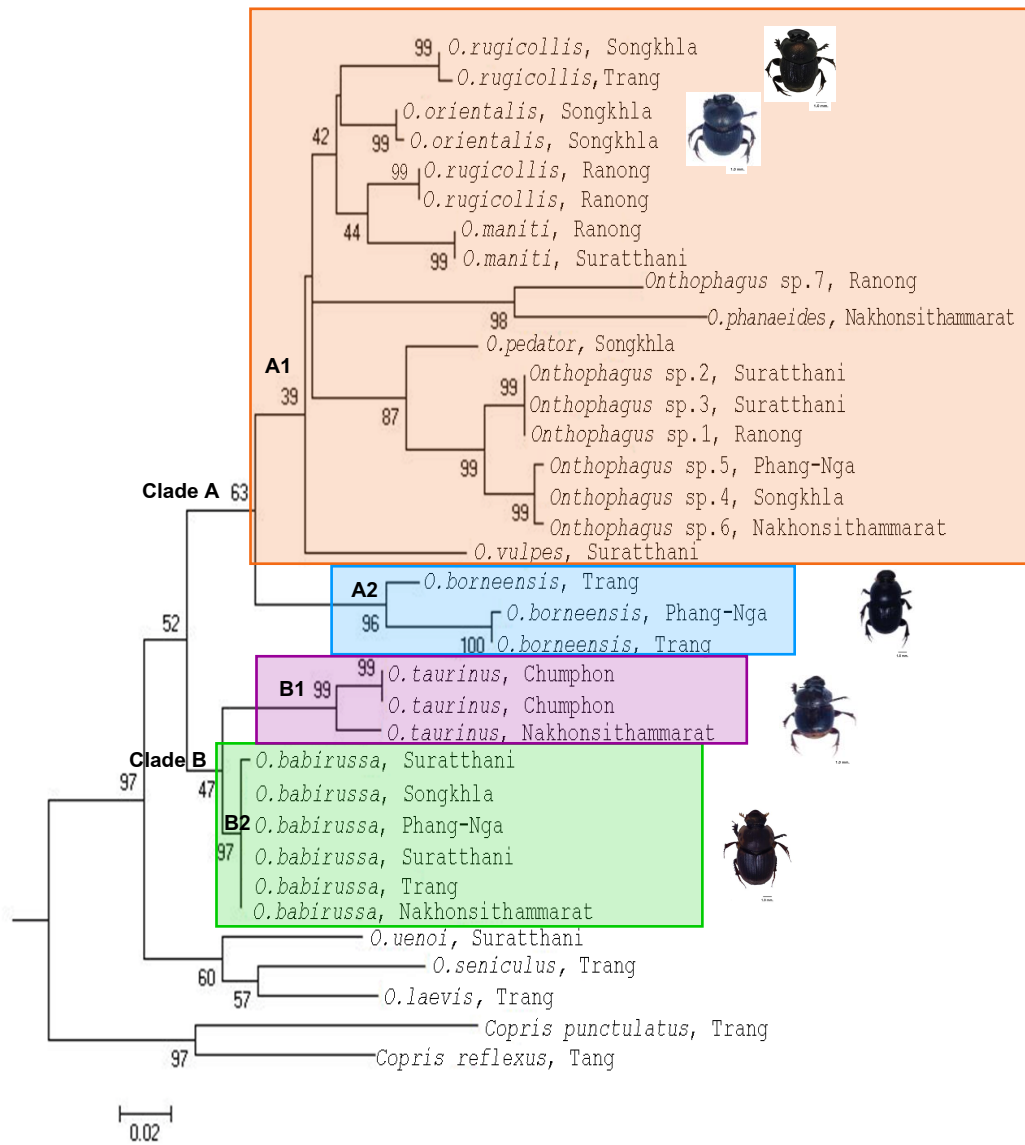
จากการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* โดยนำมาวิเคราะห์วงศ์วานวิวัฒนาการ ด้วยวิธีการสร้างแผนภูมิต้นไม้ 2 สมการ ได้แก่ Maximum Likelihood โดยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 (รูปที่ 23-27) และ Bayesian analysis โดยโปรแกรม MrBayes เวอร์ชัน 3.1.2 (รูปที่ 28-32) ของยีน *COI*, 16S rDNA, *Cyt b*, 28S rDNA domain3 และ combined genes (*COI*, 16S rDNA และ *Cyt b*) ตามลำดับ และใช้ด้วงมูลสัตว์ *Copris punctulatus* และ *Copris reflexus* จากจังหวัดตรังเป็น out-group นอกจากนี้จากการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ยังสามารถศึกษาการเกิดขึ้นของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ตามระยะเวลา โดยการคำนวณค่า molecular clock จาก divergent time ของยีน *COI* ด้วยวิธี Neighbor-joining โดยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 (รูปที่ 33)

จากการศึกษาพบว่า แผนภูมิต้นไม้แสดงวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของ 4 ยีน รวมทั้งการนำยีนทั้ง 4 ยีนมาสร้าง matrix โดยการเชื่อมต่อกัน (combined genes) ด้วยวิธี Maximum Likelihood โดยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 ผลการศึกษาพบว่า วงศ์วานวิวัฒนาการของยีน *COI* (รูปที่ 23) สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย (subclade) (Bootstrap value (BS) มีค่าเท่ากับ 87%) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 (BS มีค่าเท่ากับ 83%) ด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง และ *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี สำหรับกลุ่มย่อย A2 (BS มีค่าเท่ากับ 98%) ด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ (sister group) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช สำหรับ clade B (BS มีค่าเท่ากับ 45%) ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย โดยด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BS มีค่าเท่ากับ 99%) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง และกลุ่มย่อย B2 (BS มีค่าเท่ากับ 83%) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และ *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา นอกจากนี้พบด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับด้วงมูลสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง



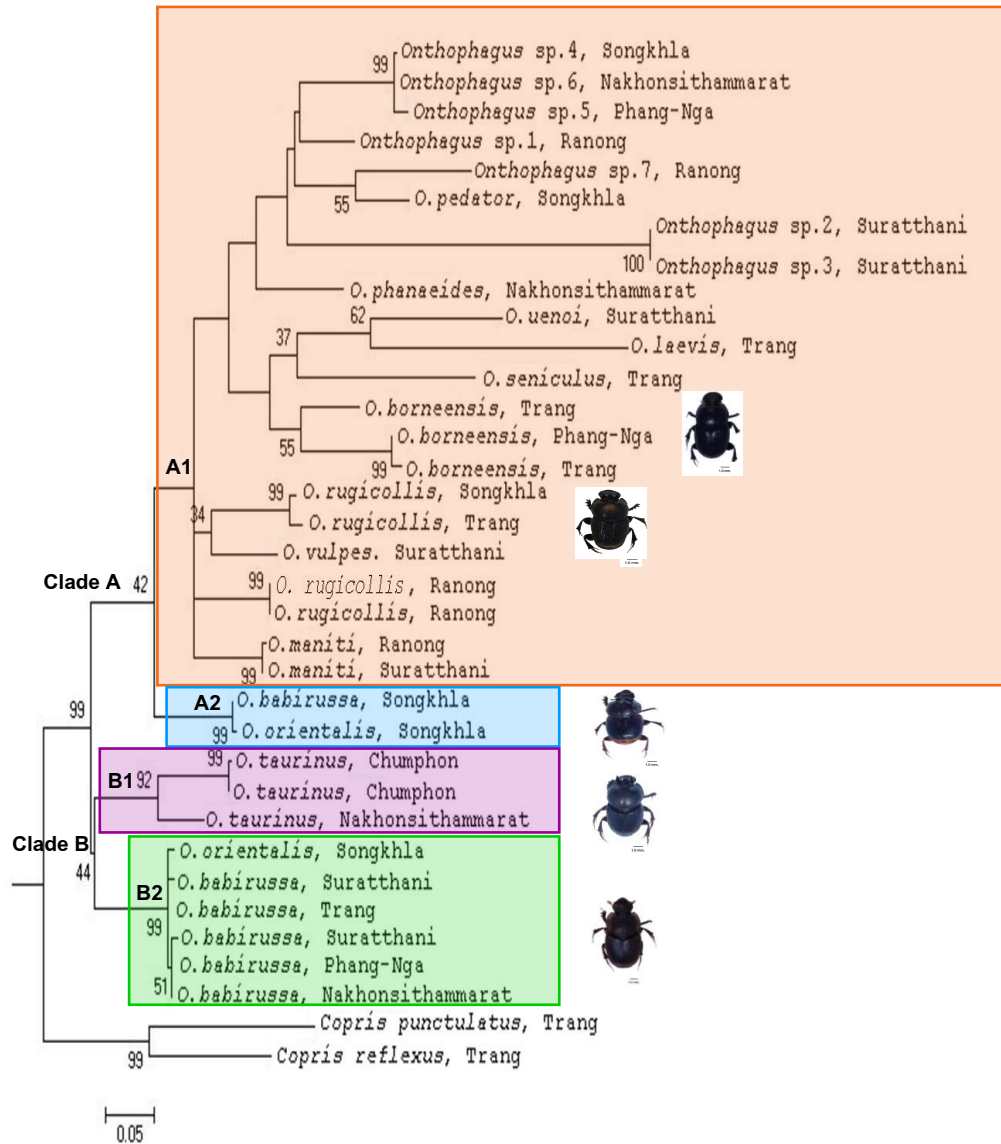
รูปที่ 23 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood โดย MEGA 6.06 ของยีน COI

วงค์วานวิวัฒนาการของยีน 16S rDNA (รูปที่ 24) สามารถจัดกลุ่มวงค์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย (subclade) (BS มีค่าเท่ากับ 63%) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 (BS มีค่าเท่ากับ 39%) ตัวอย่างสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ประกอบด้วย ตัวอย่างสัตว์ชนิด *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย A2 (BS มีค่าเท่ากับ 96%) ตัวอย่างสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ประกอบด้วย ตัวอย่างสัตว์ชนิด *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง สำหรับ clade B (BS มีค่าเท่ากับ 47%) ตัวอย่างสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BS มีค่าเท่ากับ 99%) ประกอบด้วย ตัวอย่างสัตว์ชนิด *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช กลุ่มย่อย B2 (BS มีค่าเท่ากับ 97%) ประกอบด้วยตัวอย่างสัตว์ชนิด *O. babirussa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรังนครศรีธรรมราช และสงขลา นอกจากนี้พบตัวอย่างสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับตัวอย่างสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ตัวอย่างสัตว์ชนิด *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง



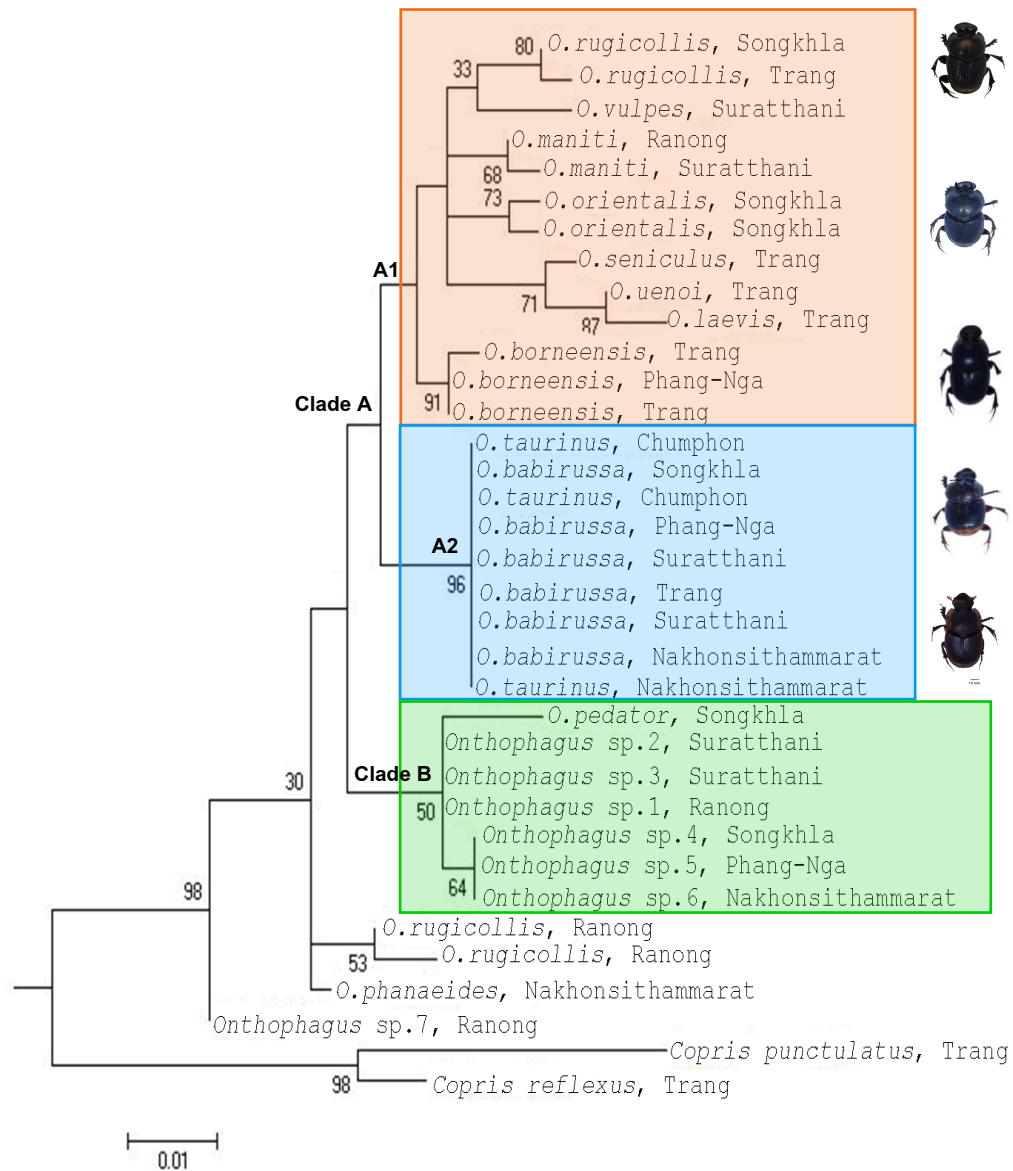
รูปที่ 24 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood โดย MEGA 6.06 ของยีน 16S rDNA

วงค์วานวิวัฒนาการของยีน Cyt *b* (รูปที่ 25) สามารถจัดกลุ่มวงค์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (BS มีค่าเท่ากับ 42%) ด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็นมีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. laevis* จากจังหวัดตรัง *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง, *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง, *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี, และ *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี และกลุ่มย่อย A2 (BS มีค่าเท่ากับ 99%) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* และ *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา สำหรับ clade B (BS มีค่าเท่ากับ 44%) ด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BS มีค่าเท่ากับ 92%) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. taurus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช กลุ่มย่อย B2 (BS มีค่าเท่ากับ 99%) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และ *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา



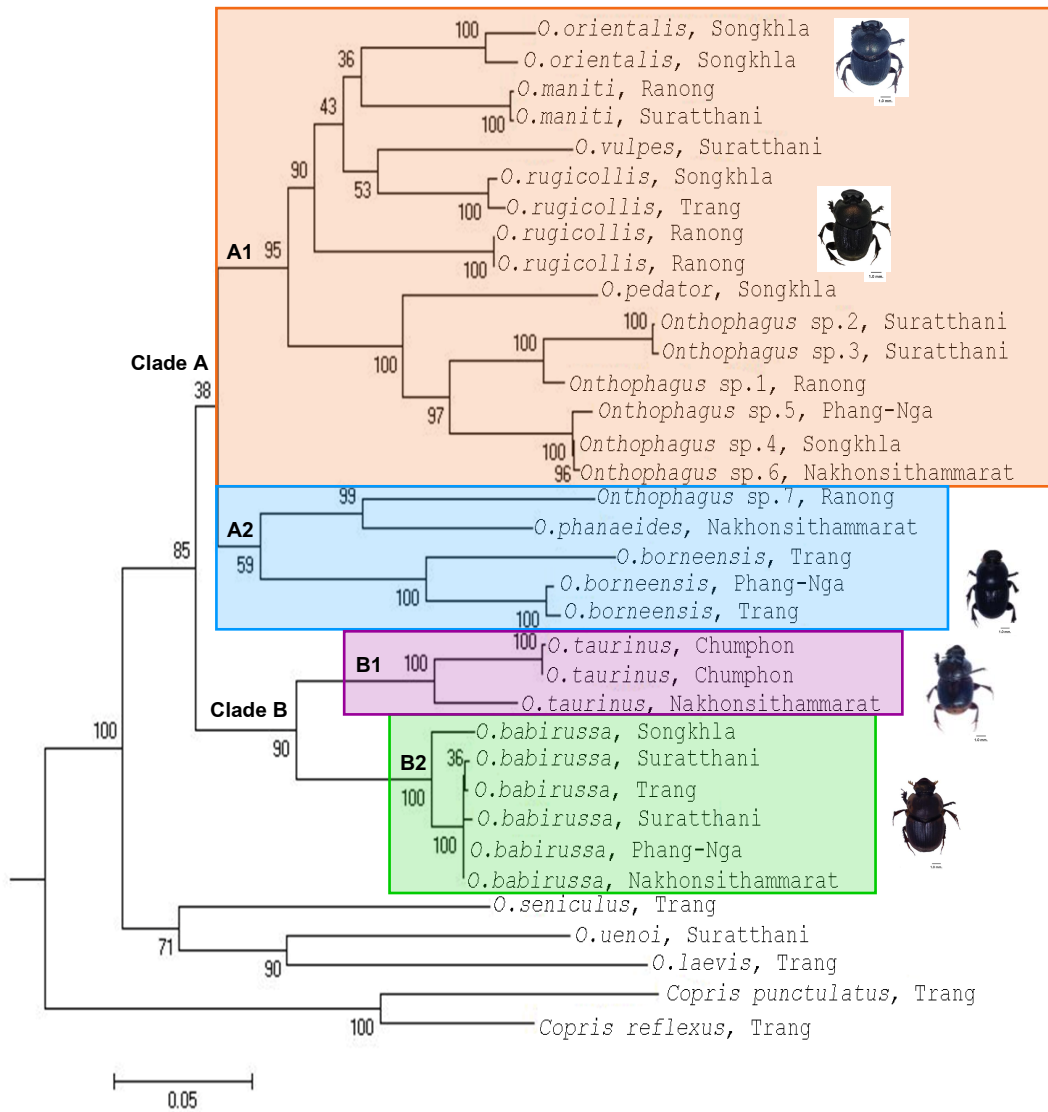
รูปที่ 25 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood โดย MEGA 6.06 ของยีน Cyt b

วงศ์วานวิวัฒนาการของยีน 28S rDNA domain3 (รูปที่ 26) สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A ตัวมุลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลาและตรัง *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง และ *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง และกลุ่มย่อย A2 (BS มีค่าเท่ากับ 96%) ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และ *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา ใน clade B (BS มีค่าเท่ากับ 50%) ตัวมุลสัตว์กลุ่มนี้เป็น มีความใกล้เคียงกันทางวิวัฒนาการ ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และ *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา นอกจากนี้พบตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับตัวมุลสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. rugicollis* จากจังหวัดระนอง แม้ว่าวงศ์วานวิวัฒนาการของยีน 28S rDNA domain3 สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ออกเป็น 2 กลุ่มหลัก แต่จากผลการศึกษาไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีวงศ์วานวิวัฒนาการเป็นแบบ monophyletic group



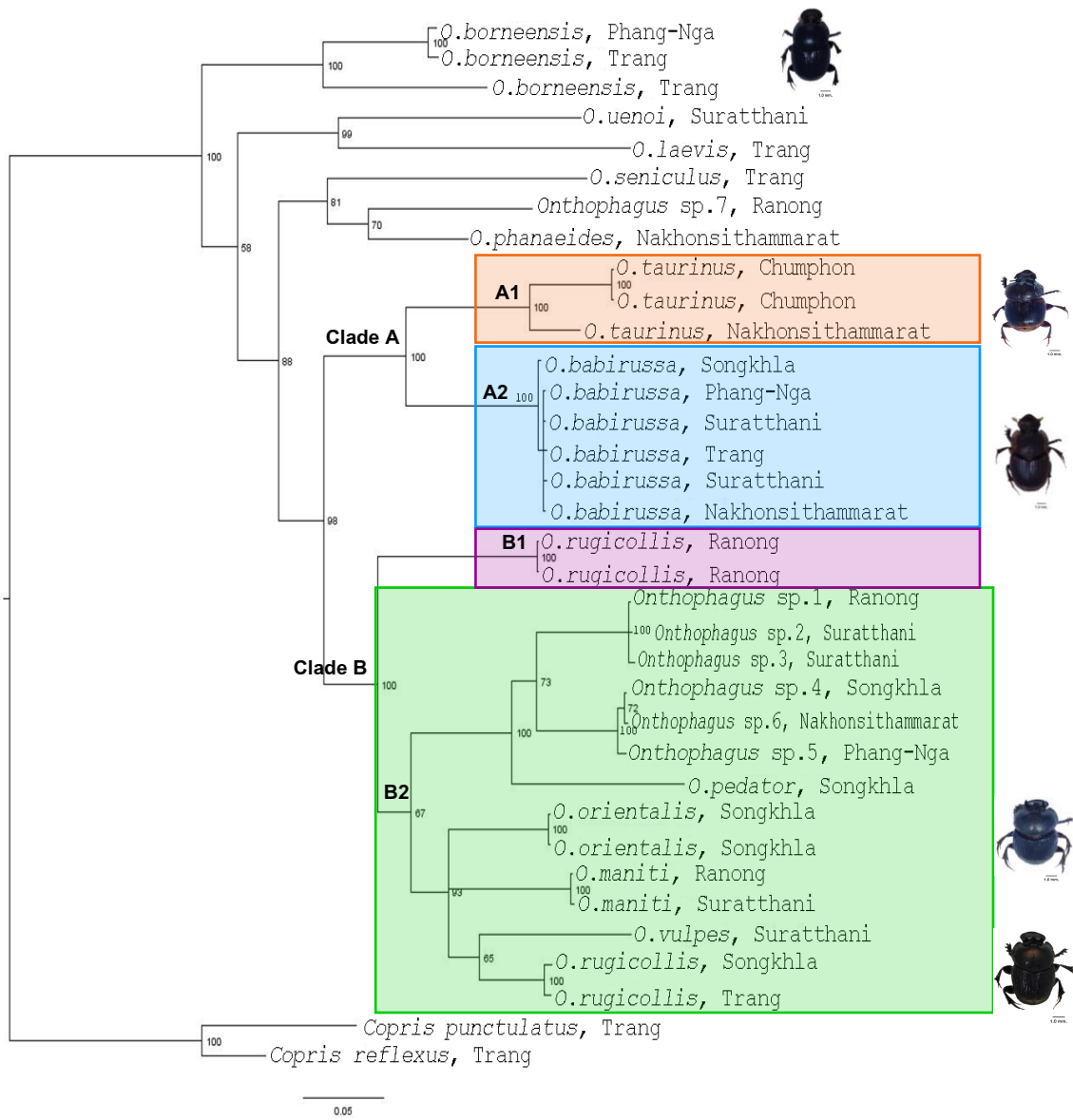
รูปที่ 26 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood โดย MEGA 6.06 ของยีน 28S rDNA

เนื่องจากแผนภูมิต้นไม้ของยีน 28S rDNA domain3 ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีวงศัวานวิวัฒนาการเป็นแบบ monophyletic group หรือ paraphyletic group ดังนั้น การศึกษาวงศัวานวิวัฒนาการของ combined genes จึงเลือกเฉพาะยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรียทั้งหมด 3 ยีน ได้แก่ *COI*, 16S rDNA และ *Cyt b* จากแผนภูมิต้นไม้ พบว่า (รูปที่ 27) สามารถจัดกลุ่มวงศัวานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (BS มีค่าเท่ากับ 38%) ด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 (BS มีค่าเท่ากับ 95%) ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย A2 (BS มีค่าเท่ากับ 59%) ประกอบด้วย *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง และ *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช สำหรับ clade B (BS มีค่าเท่ากับ 90%) ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย โดยด้วงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BS มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย B2 (BS มีค่าเท่ากับ 83%) ประกอบด้วย *O. babirussa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา นอกจากนี้พบด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับด้วงมูลสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง



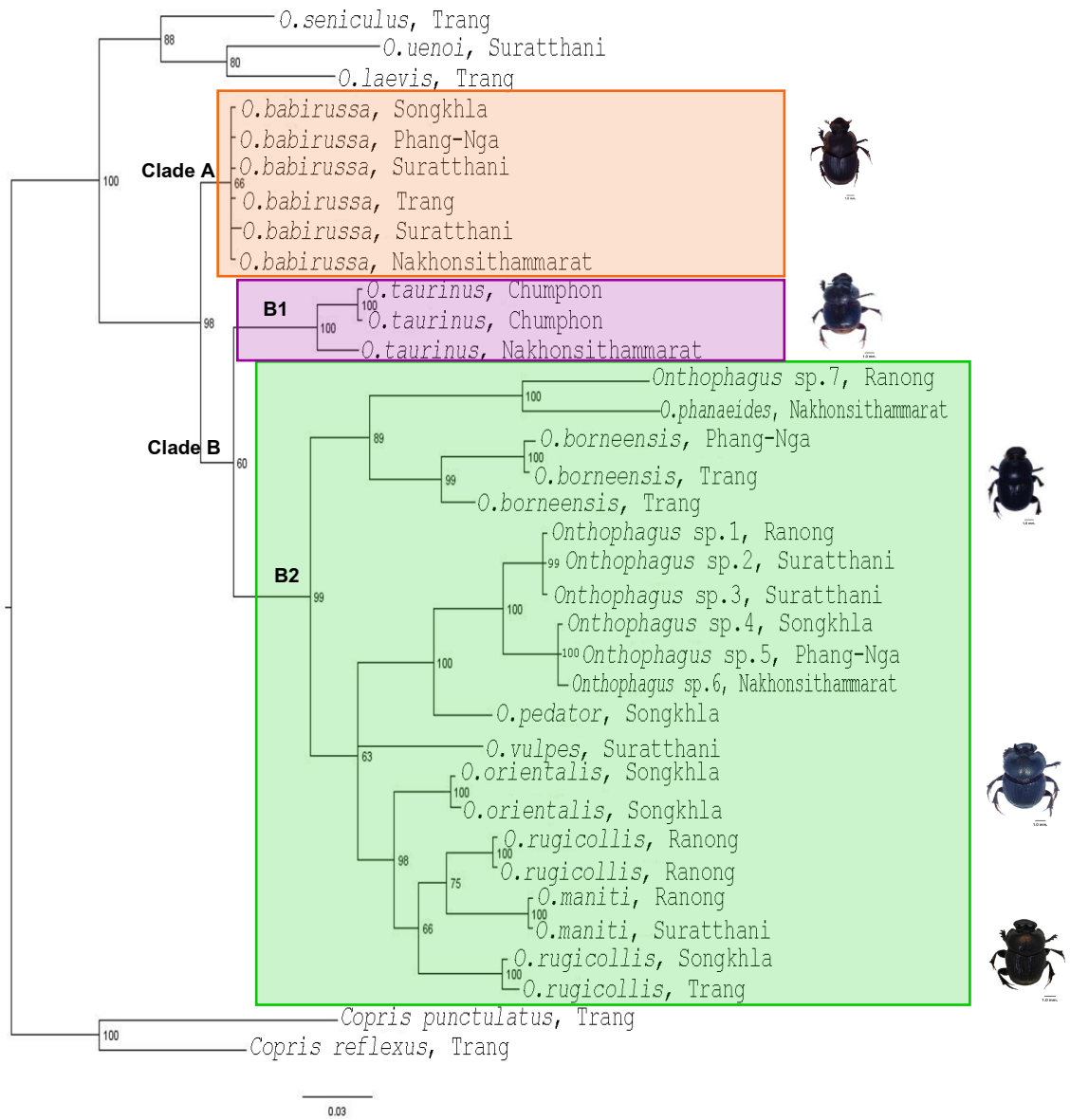
รูปที่ 27 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum Likelihood โดย MEGA 6.06 ของ Combined genes (*COI*, 16S rDNA และ *Cyt b*)

จากการศึกษาแผนภูมิต้นไม้แสดงวงศ์วานวิวัฒนาการของดั่งมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของทั้ง 4 ยีน รวมทั้งการนำยีนทั้ง 4 ยีน มาสร้าง matrix โดยการเชื่อมต่อกัน (combined genes) ด้วยโปรแกรม Bayesian analysis โดย MrBayes เวอร์ชัน 3.1.2 (รูปที่ 28-32) พบว่า วงศ์วานวิวัฒนาการของยีน COI (รูปที่ 28) สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (posterior probability, BI มีค่าเท่ากับ 100%) ดั่งมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย A2 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา สำหรับ clade B (BI มีค่าเท่ากับ 100%) โดยดั่งมูลสัตว์กลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ ทั้ง 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. rugicollis* จากจังหวัดระนอง และกลุ่มย่อย B2 (BI มีค่าเท่ากับ 67%) ประกอบด้วย *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และ *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี นอกจากนี้พบว่า ดั่งมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆ ที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับดั่งมูลสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ดั่งมูลสัตว์ชนิด *O. borneensis* (BI มีค่าเท่ากับ 100%) จากจังหวัดพังงาและตรัง *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O.sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง



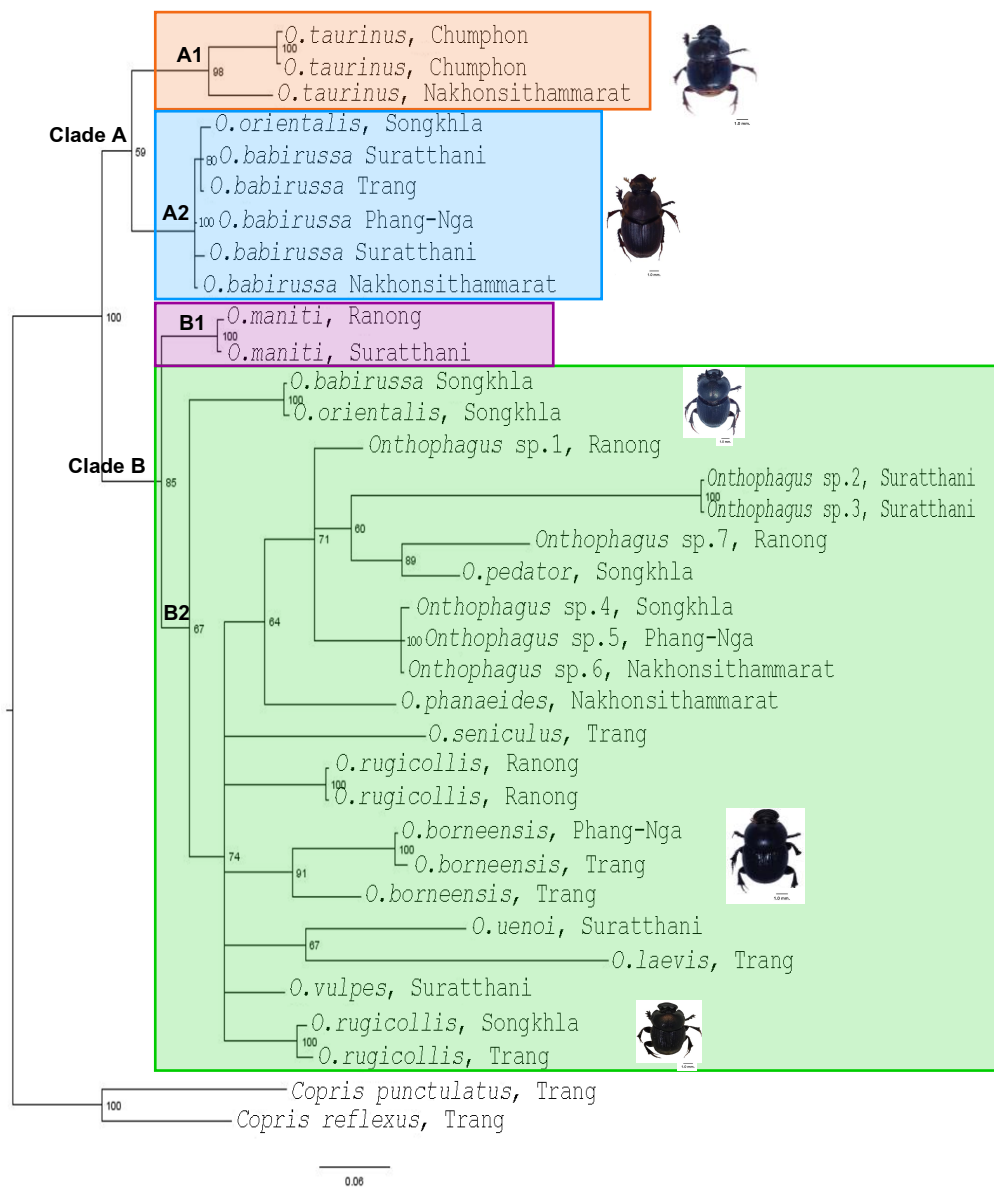
รูปที่ 28 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Bayesian analysis โดย Mrbayes 3.1.2 ของยีน COI

วงศ์วานวิวัฒนาการของยีน 16S rDNA (รูปที่ 29) สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (BI มีค่าเท่ากับ 66%) ตั๊กมูกสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ประกอบด้วย *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา สำหรับ clade B (BI มีค่าเท่ากับ 60%) ตั๊กมูกสัตว์กลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ ทั้ง 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. taurus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย B2 (BI มีค่าเท่ากับ 99%) ประกอบด้วย *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี และ *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง นอกจากนี้พบว่า ตั๊กมูกสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆ ที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับตั๊กมูกสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ตั๊กมูกสัตว์ชนิด *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง



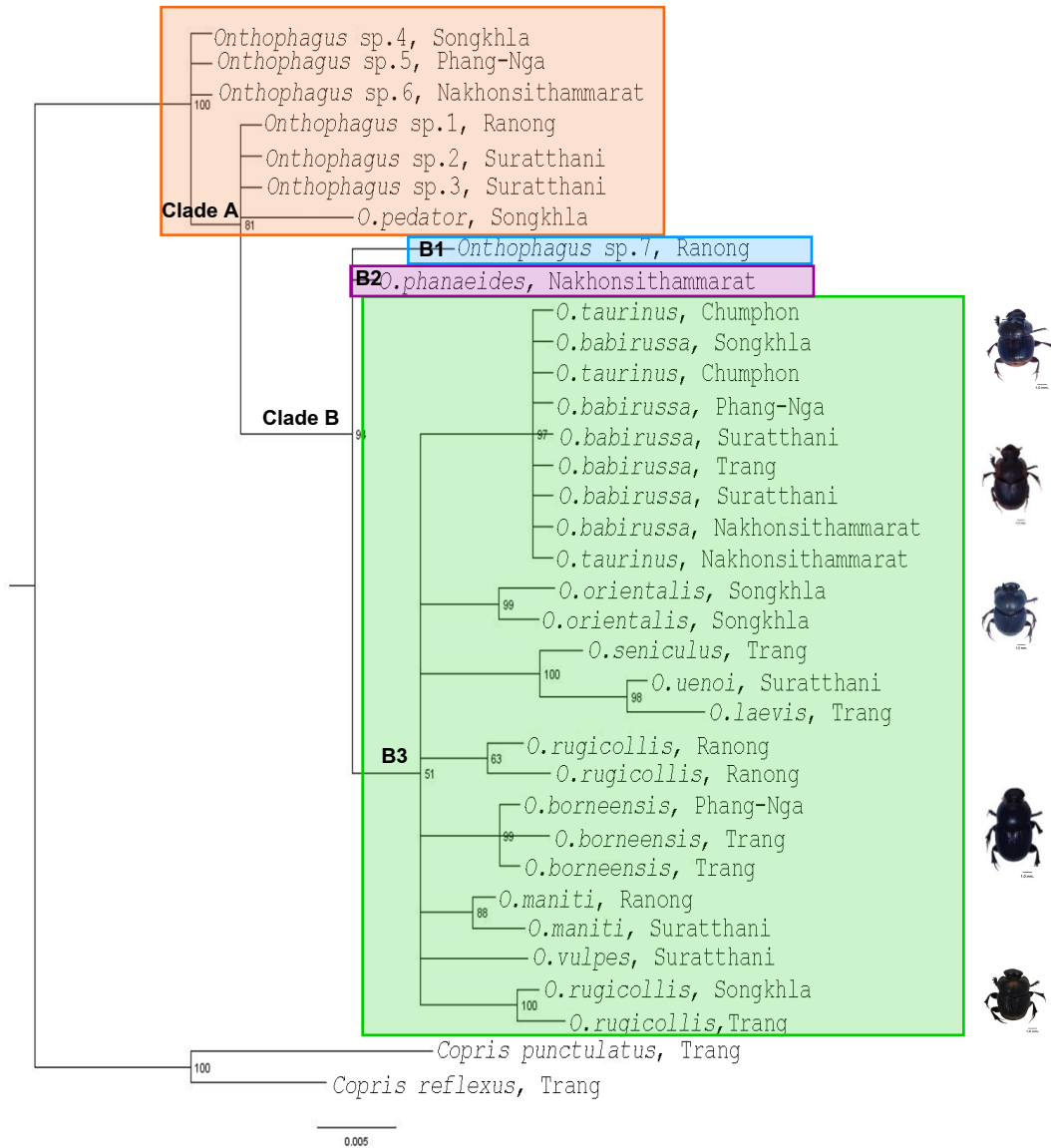
รูปที่ 29 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Bayesian analysis โดย Mrbayes 3.1.2 ของยีน 16S rDNA

วงค์วานวิวัฒนาการของยีน Cyt *b* (รูปที่ 30) สามารถจัดกลุ่มวงค์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (BI มีค่าเท่ากับ 59%) โดยดั่งวงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 (BI มีค่าเท่ากับ 98%) ประกอบด้วย *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย A2 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง และนครศรีธรรมราช และ *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา สำหรับ clade B (BI มีค่าเท่ากับ 85%) โดยดั่งวงมูลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี กลุ่มย่อย B2 (BI มีค่าเท่ากับ 67%) ประกอบด้วย *O. babirusa* และ *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. rugicollis* จากจังหวัดระนอง ตรัง และสงขลา *O. borneensis* (BI มีค่าเท่ากับ 91%) จากจังหวัดพังงาและตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. laevis* จากจังหวัดตรัง และ *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี



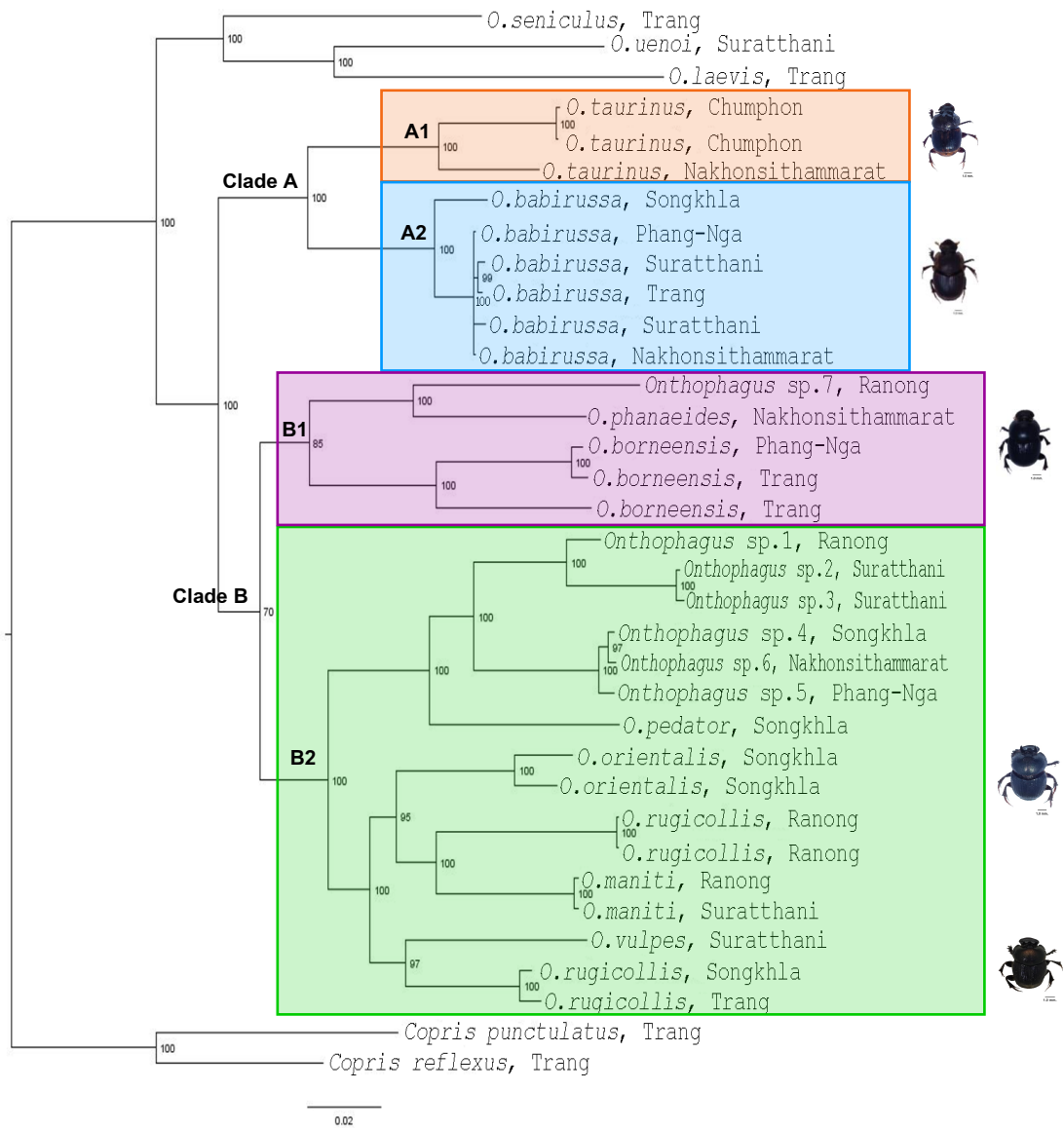
รูปที่ 30 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Bayesian analysis โดย Mrbayes 3.1.2 ของยีน Cyt b

วงศ์วานวิวัฒนาการของยีน 28S rDNA domain3 (รูปที่ 31) สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ต้นวงศ์วานวิวัฒนาการกลุ่มนี้เป็น monophyly ประกอบด้วย *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ 3 จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และ *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา สำหรับ clade B (BI มีค่าเท่ากับ 94%) ต้นวงศ์วานวิวัฒนาการกลุ่มนี้มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ (sister group) ประกอบด้วย 3 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 ประกอบด้วย *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง กลุ่มย่อย B2 ประกอบด้วย *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย B3 ประกอบด้วย *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช, *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา, *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา, *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง, *O. rugicollis* จากจังหวัดระนอง ตรัง และสงขลา, *O. borneensis* จากจังหวัดพังงา และตรัง, *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี และ *O. vulpes* จากสุราษฎร์ธานี แม้ว่าวงศ์วานวิวัฒนาการของยีน 28S rDNA domain3 สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการของต้นวงศ์วานวิวัฒนาการของยีน *Onthophagus* ออกเป็น 2 กลุ่มหลัก แต่จากผลการศึกษาไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนของต้นวงศ์วานวิวัฒนาการของยีน *Onthophagus* มีวงศ์วานวิวัฒนาการเป็นแบบ monophyletic group



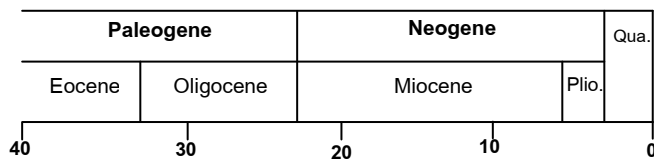
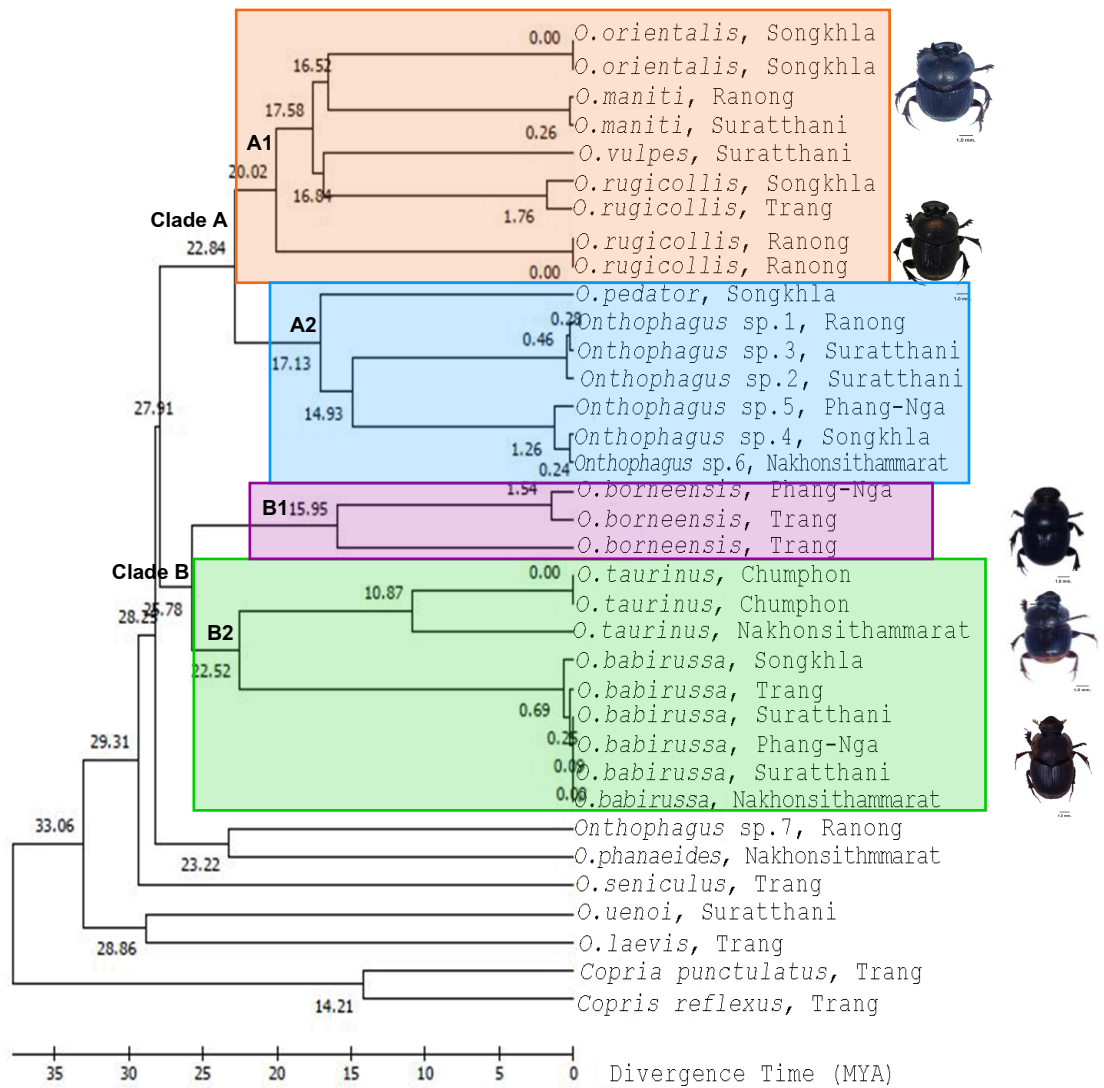
รูปที่ 31 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Bayesian analysis โดย Mrbayes 3.1.2 ของยีน 28S rDNA

เนื่องจากแผนภูมิต้นไม้ของยีน 28S rDNA domain3 ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีวงศืวานวิวัฒนาการเป็นแบบ monophyletic group หรือ paraphyletic group ดังนั้น การศึกษาวงศืวานวิวัฒนาการของ combined genes จึงเลือกเฉพาะยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรียทั้งหมด 3 ยีน ได้แก่ *COI*, 16S rDNA และ *Cyt b* จากแผนภูมิต้นไม้ (รูปที่ 32) พบว่า สามารถจัดกลุ่มวงศืวานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B สำหรับ clade A (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ตัวมุลสัตว์กลุ่มนี้เป็น monophyly ทั้ง 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช กลุ่มย่อย A2 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา สำหรับ clade B (BI มีค่าเท่ากับ 70%) ตัวมุลสัตว์กลุ่มนี้มีความใกล้เคียงกันทางวิวัฒนาการ ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 (BI มีค่าเท่ากับ 85%) ประกอบด้วย *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง และ *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช และกลุ่มย่อย B2 (BI มีค่าเท่ากับ 100%) ประกอบด้วย *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา, *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดระนองและสุราษฎร์ธานี *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง และ *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี นอกจากนี้พบว่า ตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับตัวมุลสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ *O. laevis* จากจังหวัดตรัง



รูปที่ 32 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Bayesian analysis โดย MrBayes 3.1.2 ของ Combined genes (*COI*, 16S rDNA และ *Cyt b*)

นอกจากนี้ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยการหาค่า divergence time โดยใช้ยีน COI ด้วยวิธี Neighbor-joining โดยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 6.06 (รูปที่ 33) พบว่าความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยการหาค่า divergence time จากแผนภูมิต้นไม้ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* เกิดขึ้นเมื่อประมาณ 33.06 ล้านปีก่อน (MYA) ซึ่งตรงกับยุค Oligocene (33-23 ล้านปีก่อน) และตัวมุลสัตว์กลุ่มที่ใหม่สุดคือตัวมุลสัตว์ชนิด *O. babirussa* เกิดเมื่อประมาณ 0.69 ล้านปีก่อน ซึ่งตรงกับยุค Quaternary (3 ล้านปีก่อน) ดังนั้น ผลการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการในรูปแบบของ divergence time พบว่า สามารถจัดกลุ่มวงศ์วานวิวัฒนาการออกเป็น 2 กลุ่มหลัก (clade) ประกอบด้วย clade A และ clade B โดยทั้ง 2 clade แยกออกจากกันช่วงประมาณ 27.91 ล้านปีก่อน สำหรับ ใน clade A ตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* แยกออกจากกันประมาณ 22.84 ล้านปีก่อน ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย (subclade) ได้แก่ กลุ่มย่อย A1 ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. orientalis* จากจังหวัดสงขลา *O. maniti* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. vulpes* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. rugicollis* จากจังหวัดสงขลา ตรัง และระนอง และกลุ่มย่อย A2 ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. pedator* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.1* จากจังหวัดระนอง *O. sp.2* และ *O. sp.3* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี *O. sp.4* จากจังหวัดสงขลา *O. sp.5* จากจังหวัดพังงา และ *O. sp.6* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช สำหรับ clade B ตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* แยกออกจากกันประมาณ 25.78 ล้านปีก่อน ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อย B1 ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและตรัง สำหรับ clade B2 ประกอบด้วยตัวมุลสัตว์ชนิด *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและนครศรีธรรมราช และ *O. babirussa* จากจังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และสงขลา นอกจากนี้พบว่า ตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ชนิดอื่นๆที่ไม่สามารถจัดกลุ่มกับตัวมุลสัตว์ใน 2 clade หลักได้ ประกอบด้วย ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. seniculus* จากจังหวัดตรัง (29.31 ล้านปีก่อน) ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. sp.7* จากจังหวัดระนอง (23.22 ล้านปีก่อน) ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. phanaeides* จากจังหวัดนครศรีธรรมราช (23.22 ล้านปีก่อน) ตัวมุลสัตว์ชนิด *O. uenoi* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (28.86 ล้านปีก่อน) และตัวมุลสัตว์ชนิด *O. laevis* จากจังหวัดตรัง (28.86 ล้านปีก่อน)



รูปที่ 33 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Neighbor-joining โดย MEGA 6.06 ของยีน COI

บทที่ 4 วิจารณ์ผลการศึกษา

องค์ประกอบของชนิดและการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ทั้ง 7 จังหวัด ตามแนวเทือกเขาสำคัญในคาบสมุทรมไทย ระหว่างเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2557 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2559 พบด้วงมูลสัตว์จำนวน 969 ตัว จำแนกได้ 33 ชนิด ใน 3 สกุล โดยเมื่อนำมาศึกษาค่าการสะสมจำนวนชนิด พบว่า จำนวนพื้นที่เก็บตัวอย่างต่อจำนวนชนิดที่พบครอบคลุมค่าที่คาดหวัง แสดงให้เห็นว่าจำนวนชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้ใกล้เคียงกับจำนวนชนิดทั้งหมดจากค่าคาดหวังในพื้นที่ศึกษา และผลมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน

การศึกษานี้ พบจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มากที่สุดในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และพบจำนวนชนิดมากสุดในจังหวัดตรัง จากการศึกษพบว่า จังหวัดสุราษฎร์ธานีและจังหวัดจังหวัดตรัง พบจำนวนตัวและจำนวนชนิดของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาสภาพพื้นที่ป่าของทั้ง 2 จังหวัด พบว่า เป็นพื้นที่ป่าขนาดใหญ่และไม่ถูกรบกวน ทำให้พบความหลากหลายของชนิดพรรณพืชและแหล่งที่อยู่ อาจส่งผลให้ความหลากหลายของชนิดสัตว์เลี้ยวลูกด้วยน้ำนมและมูลของสัตว์เลี้ยวลูกด้วยน้ำนม (Boonrotpong และคณะ, 2012) โดยปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลโดยตรงต่อความหลากหลายชนิดและจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์ (Halffter และ Edmonds, 1982) นอกจากนี้ ในช่วงระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างทั้ง 2 จังหวัด สภาพอากาศมีความเหมาะสม ซึ่งอาจจะส่งผลต่อการแพร่กระจายและความชุกชุมของด้วงมูลสัตว์ จึงอาจส่งผลต่อการพบจำนวนชนิดและจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์ในการศึกษานี้ โดยก่อนหน้านี้มีรายงานเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และลักษณะของดิน มีผลโดยตรงต่อด้วงมูลสัตว์ (Hanski และ Cambefort, 1991; Davis และ Scholtz, 2001) โดยในการศึกษานี้ พบด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* มีจำนวนตัวมาก และมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง สามารถพบได้เกือบทุกพื้นที่ศึกษา โดยพบจำนวนตัวรองลงมาคือ ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. rugicollis* ที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางเช่นกัน นอกจากนี้ พบด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. maniti* มีความชุกชุมมากที่สุดที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ดังนั้น ความหลากหลายชนิดและความชุกชุม รวมทั้งการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบในแต่ละจังหวัดของพื้นที่ศึกษาจึงมีความแตกต่างกัน โดยเป็นผลมาจากปัจจัยที่ส่งผลโดยตรงต่อด้วงมูลสัตว์คือความหลากหลายชนิดของมูลสัตว์เลี้ยวลูกด้วยน้ำนม รวมทั้งปัจจัยอื่นๆ ทางกายภาพ เช่น ชนิดของดิน พีชปกคลุมดิน เป็นต้น (Boonrotpong, 2009)

วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย

จากผลการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* โดยการวิเคราะห์ยีนทั้งหมด 4 ยีน ประกอบด้วย ยีนไมโทคอนเดรีย 3 ยีน ได้แก่ COI, 16S rDNA และ Cyt *b* และยีนในนิวเคลียส 1 ยีน คือ 28S rDNA domain3 รวมทั้งการนำยีนจากไมโทคอนเดรียทั้ง 3 ยีน มารวมกัน (combined genes) พบว่า การวิเคราะห์ยีน COI, 16S rDNA, Cyt *b* และการรวมยีนจากไมโทคอนเดรียทั้ง 3 ยีน มีความสอดคล้องกันและสามารถอธิบายความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย เป็น monophyly แต่ยีน 28S rDNA ไม่สามารถใช้อธิบายความสัมพันธ์ในวงศ์วานวิวัฒนาการได้อย่างชัดเจน จำเป็นที่จะต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างในแต่ละพื้นที่ศึกษามากขึ้น จากการศึกษาของ Boonrotpong (2009) เสนอว่าผลการวิเคราะห์ของยีน 28S rDNA ใช้ในการอธิบายวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ได้ไม่ชัดเจน มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของยีนไมโทคอนเดรียและยีนในนิวเคลียส พบว่ายีนไมโทคอนเดรียมีอัตราการเกิดการกลายพันธุ์ สูงกว่ายีนในนิวเคลียส นอกจากนี้ยีนในนิวเคลียสมีการเรียงตัวแบบอนุรักษ์ (conserved gene) และเกิดการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อย ทำให้มีอัตราการเกิดวิวัฒนาการช้ากว่ายีนไมโทคอนเดรีย (Wolfe และคณะ 1987) จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งส่งผลให้การใช้ยีน 28S rDNA domain 3 ซึ่งเป็นยีนในนิวเคลียสในการศึกษาครั้งนี้ ไม่สามารถใช้อธิบายความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ได้อย่างชัดเจน จากการศึกษาครั้งนี้พบด้วงมูลสัตว์แต่ละชนิดในบางพื้นที่ เช่น ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. borneensis*, *O. taurinus* และ *O. babirusa* เป็น monophyly จากพื้นที่เก็บตัวอย่างตามแนวเทือกเขาทั้งหมด อย่างไรก็ตามพบด้วงมูลสัตว์บางชนิด เช่น *O. orientalis*, *O. maniti*, *O. rugicollis* และ *O. vulpes* มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ และจากการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* สามารถจัดจำแนกเป็น 2 กลุ่มหลัก ตามความแปรผันทางพันธุกรรม

วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน COI สอดคล้องกันทั้ง 2 วิธีการวิเคราะห์ คือ Maximum Likelihood (รูปที่ 23) และ Bayesian analysis (รูปที่ 28) โดยผลการวิเคราะห์แบบ Maximum Likelihood แสดงให้เห็นว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ใน clade A แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อย A1 ประกอบด้วย *O. orientalis*, *O. maniti*, *O. rugicollis* และ *O. vulpes* เป็น sister group กัน โดยมีค่า bootstrap เท่ากับ 0.83 ในขณะที่กลุ่มย่อย A2 ประกอบด้วย *O. sp.1*, *O. sp.2*, *O. sp.3*, *O. sp.4*, *O. sp.5*, *O. sp.6* และ *O. pedater* ถูกจัดอยู่ในวงศ์วานวิวัฒนาการที่คล้ายคลึงกัน แต่ยังไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ได้อย่างชัดเจน (bootstrap มีค่าเท่ากับ 0.98) ผลจากการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ใน clade A ทั้ง 11 ชนิด และด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ใน clade B ทุกชนิดมีบรรพบุรุษร่วมกัน โดยใน clade B สามารถ

แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อย B1 ประกอบด้วย *O. borneensis* จากจังหวัดพังงาและจังหวัดตรัง มีค่า bootstrap เท่ากับ 0.99 และกลุ่มย่อย B2 ประกอบด้วย *O. taurinus* จากจังหวัดชุมพรและจังหวัดนครศรีธรรมราช และ *O. babirusa* จากจังหวัดพังงา, จังหวัดสุราษฎร์ธานี, จังหวัดตรัง, จังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดสงขลา มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ มีค่า bootstrap เท่ากับ 0.83 จากการศึกษาครั้งนี้อธิบายได้ว่าด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทยมีบรรพบุรุษร่วมกัน จากการศึกษาของ Boonrotpong (2009) เสนอสมมติฐานเกี่ยวกับ ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในประเทศไทยมีจุดกำเนิดและเส้นทางการอพยพ (migration route) มาจากเขตอนุภูมิภาคย่อยอินโดจีน (Indochinese sub-region) และบางชนิดสามารถแพร่กระจายสู่คาบสมุทรมไทยที่อยู่ในเขตอนุภูมิภาคย่อย Sundaic โดยมีบรรพบุรุษร่วมกัน จากการศึกษาครั้งนี้พบด้วงมูลสัตว์สกุล *O. babirusa*, *O. borneensis* และ *O. taurinus* มีวงศ์วานวิวัฒนาการที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน เนื่องจากเมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของด้วงมูลสัตว์ทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะแตกต่างกันอย่างชัดเจน (ภาคผนวกที่ 1 รูปที่ 3, 4 และ 20 ตามลำดับ) และผลการศึกษาทางชีวโมเลกุล พบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมแตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Boonrotpong (2009) ได้เสนอสมมติฐานเกี่ยวกับ ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. taurinus* ในภาคใต้ของประเทศไทยมีความสัมพันธ์แบบ monophyletic group และเป็นด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบจำนวนมากและสามารถแพร่กระจายอย่างกว้างขวางตามแนวเทือกเขาในภาคใต้ของประเทศไทย

ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ถูกจัดเป็นกลุ่ม “modern dung beetles” (Hanski และ Cambefort, 1991) มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง แพร่กระจายได้กว้างทุกแหล่งที่อยู่ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่โดดเด่น เช่น เขา สีตัว และมีความสามารถในการแก่งแย่งกับด้วงมูลสัตว์ชนิดอื่นได้ดี ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ ด้วงมูลสัตว์สกุล *O. maniti*, *O. orientalis*, *O. rugicollis* และ *O. vulpes* (ภาคผนวกที่ 1 รูปที่ 9, 11, 16 และ 23 ตามลำดับ) ที่มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกัน เนื่องจากมีบางลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกันและมีลักษณะบางลักษณะร่วมกันของบรรพบุรุษ (symplesiomorphic character) เช่น ลักษณะของเขา ขนาดตัว และสีตัว เป็นต้น เมื่อพิจารณาข้อมูลทางชีวโมเลกุลพบว่าความแปรผันทางพันธุกรรมมีความคล้ายคลึงกันจึงทำให้ด้วงมูลสัตว์ทั้ง 4 ชนิด (*O. maniti*, *O. orientalis*, *O. rugicollis* และ *O. vulpes*) จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เป็นลักษณะที่เรียกว่า “most recent common ancestor”

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของความแปรผันทางพันธุกรรม และจุดกำเนิดในรูปแบบของ haplotype network ในยีน COI ของด้วงมูลสัตว์สกุล *O. babirusa* ซึ่งเป็นตัวแทนในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม เนื่องจาก *O. babirusa* มีความสามารถในการปรับตัวที่ดี ส่งผลให้มีความหลากหลายและมีการแพร่กระจายได้อย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ยังพบจำนวนมากที่สุดที่สูงสุดในคาบสมุทรมไทย รวมทั้งผลการศึกษาพบว่ามีวงศ์วานวิวัฒนาการมา

จากบรรพบุรุษเดียวกัน จากผลการศึกษาพบ ตัวงมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* (รูปที่ 22A) มีจุดกำเนิดอยู่ที่จังหวัดพังงา (PNA) และมีการแพร่กระจายไปยังพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดอื่นๆ ในคาบสมุทรมุไทย เมื่อศึกษาความแตกต่างระหว่างระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) กับระยะทางทางภูมิศาสตร์ (geographic distance) จากค่า F_{ST} พบว่า ตัวงมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($r = 0.4246$, $p = 0.033$) ซึ่งจากค่าทางสถิติและแบบจำลอง (รูปที่ 21) สามารถอธิบายได้ว่า genetic drift กับ gene flow ส่งผลต่อประชากรของ *O. babirusa* ไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า gene flow ที่เกิดขึ้นมีผลมาจากการอพยพของตัวงมุลสัตว์ตามการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Hanski และ Cambefort, 1991) และจากการปรับตัวของตัวงมุลสัตว์เพื่อความอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในระหว่างการอพยพ ส่งผลให้เกิด genetic drift ในประชากรของตัวงมุลสัตว์ แสดงว่าลักษณะที่ปรากฏของตัวงมุลสัตว์มีความจำเพาะต่อแหล่งที่อยู่ แม้ว่าการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของ *O. babirusa* จะจัดอยู่ในสายวิวัฒนาการเดียวกันและอาจจะบรรพบุรุษร่วมกัน แต่ยังคงมีความแปรผันทางพันธุกรรมเกิดขึ้นภายในชนิดเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าระยะทางมีผลกับความถี่ของยีนในประชากรและส่งผลกระทบต่อความแปรผันทางพันธุกรรม อาจเป็นผลมาจาก gene flow เกิดขึ้นน้อยมากหรือไม่มี gene flow เกิดขึ้นในประชากร นอกจากนี้ อาจเกิด allopatric speciation ส่งผลให้ตัวงมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* มีการปรับตัวต่อกันที่อยู่ใหม่ๆ และค่อยๆเปลี่ยนแปลงจนเป็นประชากรใหม่ต่อไป

จากผลการวิเคราะห์นาฬิกาโมเลกุล (molecular clock) โดยการคำนวณค่าระยะเวลาการแยกกันของชนิด (divergence time) ของยีน COI (รูปที่ 33) ของการศึกษารังนี้ สามารถอธิบายการแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* บริเวณคาบสมุทรมุไทย ได้ว่าตัวงมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* บริเวณคาบสมุทรมุไทยเกิดขึ้นเมื่อประมาณ 33.06 ล้านปีก่อน (MYA) และมีการแพร่กระจายไปยังบริเวณต่างๆ ของคาบสมุทรมุไทยในเวลาต่อมา ตัวงมุลสัตว์ที่เก่าแก่ที่สุดในภาคใต้ของประเทศไทย คือ *O. uenoi* และ *O. laevis* เกิดเมื่อประมาณ 33.06 ล้านปีก่อน ในการศึกษารังนี้ พบว่าตัวงมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* เป็นตัวงมุลสัตว์กลุ่มใหม่ที่สุด เกิดเมื่อประมาณ 0.69 ล้านปีก่อน และคาดว่าตัวงมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* บริเวณคาบสมุทรมุไทย มีจุดกำเนิดอยู่ที่จังหวัดพังงา (PNA) และต่อมามีการแพร่กระจายมายังจังหวัดสุราษฎร์ธานี (SNI), จังหวัดตรัง (TRG) และจังหวัดสงขลา (SKA) แสดงให้เห็นว่าตัวงมุลสัตว์สกุล *O. babirusa* มีจุดกำเนิดอยู่บริเวณเทือกเขาภูเก็ตและมีการอพยพมายังเทือกเขาสันกาลาคีรี จึงสันนิษฐานได้ว่าตัวงมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมุไทย มีเส้นทางการอพยพมาจากบริเวณคอคอดกระ ผลการศึกษารังนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Boonrotpong (2009) เกี่ยวกับการแพร่กระจายของตัวงมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในประเทศไทยว่ามีจุดกำเนิดมาจากเขตอนุภูมิภาคอินโดจีน และมีบางชนิดแพร่กระจายมาสู่คาบสมุทรมุไทยในช่วง Plio-Pleistocene พร้อมกับการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ประเทศไทยตั้งอยู่ภายใน

2 อนุภูมิภาคย่อย คือ Indochinese sub-region เป็นส่วนของทิศตะวันออก และ Sundaic sub-region เป็นส่วนของทิศตะวันตก รวมถึงคาบสมุทรภาคใต้ที่ถูกเรียกว่า ฉานไทย (Shan-Thai หรือ Sibumasu) (Corbet และ Hill, 1992; Metcalfe, 1996) โดยทั้ง 2 อนุภูมิภาคย่อยถูกแยกออกโดยคอคอดกระ ที่คาดว่าเป็นอุปสรรคทางธรรมชาติสำหรับการกระจายของสัตว์ (Collins และคณะ, 1991; Lekagul และ Round, 1991) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับหลายๆ การศึกษาที่พบว่า ในยุค Pleistocene เป็นช่วงที่สำคัญที่สุดสำหรับการอพยพย้ายถิ่นของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และมีรายงานว่าผลจากการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลที่ลดลงในช่วงนั้น ส่งผลให้สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบางชนิดแพร่กระจายทั่วคาบสมุทรไทย (Voris, 2000; Tougard, 2001; Winkler, 2002 และ Hughes และคณะ 2003) ส่งผลให้ตัวมูลสัตว์มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง เนื่องจากตัวมูลสัตว์ใช้มูลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเป็นแหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัย วางไข่ และเลี้ยงดูตัวอ่อน เป็นต้น (Halffter และ Edmonds, 1982) การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศส่งผลกระทบต่อโดยตรงกับชนิดของป่าซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการผสมพันธุ์และการทำรังของตัวมูลสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสกุล *Onthophagus* (Winkler, 2002) โดยในการศึกษาครั้งนี้ ตัวมูลสัตว์บางชนิดมีความสามารถในการปรับตัวที่ดีในแหล่งที่อยู่อาศัยที่เปลี่ยนแปลงไปจึงมีความหลากหลายและมีการแพร่กระจายได้อย่างกว้างขวาง คือ *O. babirussa* ตัวมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทยมีจุดกำเนิดอยู่บริเวณเทือกเขาภูเก็ทและมีการอพยพผ่านสิ่งกีดขวางทางธรรมชาติ เช่น ภูเขา แม่น้ำ มายังเทือกเขานครศรีธรรมราชและเทือกเขาสันกาลาคีรี จึงสามารถสันนิษฐานได้ว่า ตัวมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรไทย มีเส้นทางการอพยพมาจากบริเวณคอคอดกระ

จากผลการศึกษาก่อนหน้านี้ได้เสนอสมมติฐานเกี่ยวกับการกระจายของสิ่งมีชีวิตไว้ว่า คาบสมุทรไทย เป็นรอยต่อของการแพร่กระจายของสิ่งมีชีวิตในอดีต (biological crossroads) และอาจเป็นเส้นทางการอพยพสำคัญของสิ่งมีชีวิตจากแผ่นดินใหญ่ไปยังหมู่เกาะต่างๆ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ดังนั้นคาบสมุทรไทยจึงมีความสำคัญต่อการแพร่กระจายของสิ่งมีชีวิต ซึ่งการแพร่กระจายอาจมีอิทธิพลมาจากปัจจัยในอดีตที่ส่งผลต่อการแพร่กระจายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม โดยพบว่าตัวมูลสัตว์อาศัยเส้นทางเดียวกันในการอพยพ ปัจจัยดังกล่าว ได้แก่ ระดับน้ำทะเล ภูมิอากาศ และปัจจัยเชิงนิเวศ (Voris, 2000; Hughes และคณะ, 2003; Woodruff และ Turner, 2009; Woodruff, 2010; Lohman และคณะ, 2011) นอกจากนี้การแพร่กระจายของตัวมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในภาคใต้ของประเทศไทย ยังได้รับอิทธิพลมาจากปัจจัยทางกายภาพที่มีบทบาทสำคัญต่อรูปแบบการแพร่กระจายและวิวัฒนาการในอดีตของตัวมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* เช่น ความหลากหลายของชนิดของมูลสัตว์ ลักษณะโครงสร้างสังคมพืชและลักษณะของดิน เป็นต้น (Hanski และ Cambefort, 1991; Davis และ Scholtz, 2001)

จากการศึกษารูปแบบการแพร่กระจายของตัวมุลสัตว์ที่ผ่านมา สรุปได้ว่าตัวมุลสัตว์ที่แพร่กระจายไปยังที่ต่างๆ ในปัจจุบัน เกิดหลังจากมีการแยกออกจากกันของแผ่นทวีปในช่วง Eocene ทำให้ตัวมุลสัตว์ถูกแยกออกจากกันและแพร่กระจายไปยังบริเวณอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีความสามารถในการกระจายตัวได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวางในระยะทางไกลๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sole และ Scholtz (2010) เสนอรูปแบบการแพร่กระจายของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีต้นกำเนิดอยู่ในแอฟริกาและแพร่กระจายไปยังทวีปอื่นๆ นอกจากนี้ Woodruff และ Turner (2009) สันนิษฐานว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลในช่วง Neogene ส่งผลให้เกิดความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตระหว่าง Indochinese sub-region และ Sundaic sub-region และสันนิษฐานว่า เกิดจาก allopatric speciation เนื่องจากสิ่งมีชีวิตถูกแยกออกจากกันโดยตัวกันทางภูมิศาสตร์ เช่น เทือกเขา แม่น้ำ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเล ทำให้ประชากรของสิ่งมีชีวิตถูกแยกออกจากกันและไม่สามารถติดต่อกันได้ ส่งผลให้ไม่มีการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างประชากร ทำให้ประชากรสามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจนเกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมและมีวิวัฒนาการที่แตกต่างกันจนไม่สามารถกลับมาผสมพันธุ์กันได้อีก เมื่อระยะเวลาผ่านไปนานอาจกลายเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ นอกจากนี้ผลการศึกษารั้วนี้ พบว่าความแปรผันทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในตัวมุลสัตว์ *O. babirusa* ที่มีจุดกำเนิดจากเทือกเขาภูเก็ท จังหวัดพังงา (PNA) โดยเกิดกระบวนการกลายพันธุ์โดยการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ 1 ตำแหน่ง ของยีน COI ก่อนแพร่กระจายมายังเทือกเขาสันกาลาคีรี จังหวัดสงขลา (รูปที่ 22A) ผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่า การเกิดการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์จะค่อยๆ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาหนึ่งจนกลายเป็นชนิดใหม่ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chenoweth และ Hughes (2003) เสนอเกี่ยวกับการเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide substitution) ในช่วงระยะเวลาหนึ่งอาจส่งผลให้เกิดสิ่งมีชีวิตสปีชีส์ใหม่ (speciation) ในอนาคตได้

ข้อคิดเห็นเกี่ยวกับอนุกรมวิธานของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย

จากการศึกษาแผนภูมิต้นไม้แสดงวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมไทย ของยีน COI, 16S rDNA, Cyt *b* และการรวมยีนทั้ง 3 ยีน ให้ผลสอดคล้องกันทั้งการวิเคราะห์แบบ Maximum Likelihood และการวิเคราะห์แบบ Bayesian ผลการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. rugicollis* จากจังหวัดระนอง ถูกแยกออกจาก *O. rugicollis* จากจังหวัดตรังและจังหวัดสงขลา เมื่อพิจารณาค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน COI, 16S rDNA และ Cyt *b* ของ *O. rugicollis* จากจังหวัดระนองทั้ง 2 ตัว ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.000 และเมื่อพิจารณาค่าระยะห่างทางพันธุกรรมในยีน COI, 16S rDNA และ Cyt *b* ระหว่าง *O. rugicollis* จากจังหวัดระนองกับ *O. rugicollis* จากจังหวัดตรังและจังหวัดสงขลา พบว่ามีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง 0.006 – 0.119 ซึ่งจากการจัดจำแนกตัวอย่างโดยผู้เชี่ยวชาญทางด้านอนุกรมวิธานของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* คือ Dr.Johannes Huijbretgs และ Mr.Thijmen Breeschoten นักวิจัยของพิพิธภัณฑธรรมชาติวิทยา Leiden ประเทศเนเธอร์แลนด์ ยังคงยืนยันเป็นด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. rugicollis* ทั้ง 4 ตัว เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของด้วงมูลสัตว์ทั้ง 4 ตัว มีลักษณะเหมือนกัน แม้ว่าหลักฐานทางวงศ์วานวิวัฒนาการจะแยกออกจากกัน แต่ยังคงจัดอยู่ใน clade เดียวกัน นอกจากนี้ ด้วงมูลสัตว์สกุล *O. sp.1*, *O. sp.2* และ *O. sp.3* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันทางสายวิวัฒนาการ และ *O. sp.4*, *O. sp.5* และ *O. sp.6* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เมื่อพิจารณาจากแผนภูมิต้นไม้แสดงวงศ์วานวิวัฒนาการผู้เชี่ยวชาญสันนิษฐานว่าเป็นด้วงมูลสัตว์ชนิดเดียวกัน แม้ว่าจะยังมีบางลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน แต่ยังไม่ได้รับการยืนยันชนิดอย่างชัดเจน เนื่องจากเป็นด้วงมูลสัตว์ชนิดใหม่จึงจำเป็นต้องตรวจสอบและตั้งชื่อชนิดของด้วงมูลสัตว์ และด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. sp.7* ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *O. phanaeides* อย่างไรก็ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงคาดว่าเป็นด้วงมูลสัตว์ต่างชนิดกัน และสันนิษฐานว่า *O. sp.7* เป็นด้วงมูลสัตว์ชนิดใหม่ และยังคงอยู่ระหว่างการตรวจสอบและการตั้งชื่อชนิด

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมุทไทย โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างด้วงมูลสัตว์ทั้ง 7 จังหวัด ตามแนวเทือกเขาสำคัญในคาบสมุทรมุทไทย ระหว่างเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2557 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2559 พบด้วงมูลสัตว์จำนวน 969 ตัว จำแนกได้ 33 ชนิด ใน 3 สกุล โดยเมื่อนำมาศึกษาค่าการสะสมจำนวนชนิด พบว่า จำนวนชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้ใกล้เคียงกับจำนวนชนิดทั้งหมดจากค่าคาดหวังในพื้นที่ศึกษา โดยในการศึกษาครั้งนี้ พบจำนวนตัวของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มากที่สุด ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี และพบจำนวนชนิดมากที่สุด ที่จังหวัดตรัง และพบด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. babirusa* มีจำนวนตัวมาก และมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง สามารถพบได้เกือบทุกพื้นที่ศึกษา พบจำนวนตัวรองลงมาคือ ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. rugicollis* ที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางเช่นกัน โดยความหลากหลายและความชุกชุม รวมทั้งการแพร่กระจายของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ที่พบในแต่ละจังหวัดมีความแตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยที่ส่งผลโดยตรงต่อด้วงมูลสัตว์คือความหลากหลายของมูลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม รวมทั้งปัจจัยอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น พรรณพืช และลักษณะของดิน เป็นต้น

วงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมุทไทย จากผลการศึกษาพบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* มีบรรพบุรุษร่วมกัน (monophyly) แต่ยังมีด้วงมูลสัตว์บางชนิดที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเกิดขึ้น แม้ว่าข้อมูลที่สามารถอธิบายวงศ์วานวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมุทไทยได้จะมีเฉพาะยีน *COI*, *16S rDNA*, *Cyt b* และ combined genes (*COI*, *16S rDNA* และ *Cyt b*) แต่ยีน *28S rDNA* ไม่สามารถใช้อธิบายความสัมพันธ์ในวงศ์วานวิวัฒนาการได้อย่างชัดเจน จำเป็นที่จะต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างในแต่ละพื้นที่ศึกษามากขึ้น การศึกษาครั้งนี้ยีนที่มีบทบาทสำคัญในการอธิบายวงศ์วานวิวัฒนาการได้ดีที่สุด ประกอบด้วย ยีน *COI*, *16S rDNA*, *Cyt b* และการรวมยีนในไมโทคอนเดรียทั้ง 3 ยีน (combined genes) เป็นข้อมูลหลักในการอธิบายความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ในคาบสมุทรมุทไทย

ความแปรผันทางพันธุกรรมของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* ทั้งหมดที่พบบริเวณคาบสมุทรมุทไทย พบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมเกิดขึ้น จากการเลือก *O. babirusa* เป็นตัวแทนในการอธิบายความแปรผันทางพันธุกรรม เนื่องจากมีการแพร่กระจายกว้างและพบจำนวนตัวมากที่สุดในคาบสมุทรมุทไทย พบว่า ด้วงมูลสัตว์สกุล *O. babirusa* มีจุดกำเนิดอยู่ที่จังหวัดพังงาและแพร่กระจายไปยังจังหวัดอื่นๆ ตามแนวเทือกเขาในคาบสมุทรมุทไทย และผลการ

เกิดการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide substitution) ในช่วงระยะเวลาหนึ่งส่งผลต่อความถี่ของยีนและแปรผันทางพันธุกรรม โดยผลการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวก่อให้เกิดสปีชีส์ใหม่ในอนาคต

จากการคำนวณค่าระยะเวลาการแยกกันของชนิด (divergence time) ของยีน COI พบด้วงมูลสัตว์ที่เก่าแก่ที่สุดในภาคใต้ของประเทศไทย คือ ด้วงมูลสัตว์สกุล *O. uenoi* และ *O. laevis* (33.06 ล้านปีก่อน) ซึ่งตรงกับยุค Oligocene และมีการแพร่กระจายจนถึงยุคปัจจุบัน (Quaternary) และด้วงมูลสัตว์ที่ใหม่ที่สุดในภาคใต้ของประเทศไทย คือ *O. babirusa* (0.69 ล้านปีก่อน) ตรงกับยุค Quaternary

นอกจากนี้ การศึกษาแผนภูมิต้นไม้แสดงวงศาวนวิวัฒนาการของด้วงมูลสัตว์สกุล *Onthophagus* แสดงให้เห็นว่าด้วงมูลสัตว์ สกุล *Onthophagus* บางชนิดยังคงมีความคลุมเครือทางด้านความสัมพันธ์ เนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกันมาก แต่ยังคงพบความแตกต่างในบางลักษณะ จึงทำให้ผลการศึกษาวงศาวนวิวัฒนาการกับการจัดจำแนกชนิดจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาในบางชนิดไม่สอดคล้องกัน และด้วงมูลสัตว์บางชนิดยังไม่ได้รับการระบุชนิดที่ชัดเจน ดังนั้นจึงไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ของด้วงมูลสัตว์ในกลุ่มเหล่านั้นได้ เช่น ด้วงมูลสัตว์ชนิด *O. rugicollis*, *O. sp.1*, *O. sp.2*, *O. sp.3*, *O. sp.4*, *O. sp.5*, *O. sp.6* และ *O. sp.7* ที่ผู้เชี่ยวชาญสันนิษฐานว่าเป็นด้วงมูลสัตว์ชนิดใหม่ และยังคงอยู่ระหว่างการตรวจสอบและการตั้งชื่อชนิด

เอกสารอ้างอิง

- เจษฎา เต็นดวงบริพันธ์. 2555. วิวัฒนาการ (Evolution). พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.
- เจษฎา เต็นดวงบริพันธ์. 2556. เอกสารการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง Phylogenetic Tree Reconstruction and Systematics and Ecology ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นพพร ศราทพันธ์. 2540. การใช้ตัวชี้ควายเป็นตัวควบคุมพยาธิตัวกลมในกระเพาะลำไส้ของโคโดยชีววิธีในประเทศไทย. กลุ่มงานปรสิตวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง: กรุงเทพฯ.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2554. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ.
- ยุพา หาญบุญทรง. 2546. หลักอนุกรมวิธานแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ยุพา หาญบุญทรง. 2554. โครงการความหลากหลายทางชีวภาพของด้วงมูลสัตว์ในพื้นที่เขื่อนสิรินธร. สาขาวิชากีฏวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วิสุทธิ ไบไม้. 2538. พันธุศาสตร์ ฉบับปรับปรุงใหม่. พิมพ์ครั้งที่ 3. เอ็นพีซีมพลายพรินต์ติ้ง: กรุงเทพฯ.
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2557. ลักษณะและสภาพภูมิอากาศ (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก:
http://traffregion.otp.go.th/mis/Geography/geo_location.aspx?rid=06&pid=84&zid=0&tab=0. (วันที่สืบค้น 9 มีนาคม 2559)
- สิงโต บุญโรจน์พงศ์. 2545. การศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายของชนิดและความชุกชุมของด้วงมูลสัตว์ (Coleoptera: Scarabaeidae) ระหว่างป่าที่สมบูรณ์และป่าที่ถูกรบกวนบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตนาช้าง จังหวัดสงขลา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา.
- สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอจากพื้นฐานสู่การประยุกต์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ.

- หัตถยา มีเมือง. 2543. “การเปรียบเทียบโครงสร้างสังคมพืชระหว่างป่าที่ไม่ถูกรบกวนกับป่าที่ถูกรบกวน” บริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโตงาซ้าง และป่าสงวนใกล้เคียง. (A Comparison of Plant Community Structure between Undisturbed and Disturbed Forest at Ton Nga Chang Wildlife Sanctuary and National Reserved Forests). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา.
- Andresen, E. 2001. Effects of dung presence, dung amount, and secondary dispersal by dung beetles on the fate of *Micropholis guyanensis* (Sapotaceae) seeds in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology*. 17: 61–78.
- Arrow, G.J. 1931. The fauna of the British India, Ceylon and Burma: colropteran, Lamellicornia Part III (Coprinae). Taylor and Francis Red lion court Fleet Street, London. 428 pp.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. and Saunders, N.C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecological Systematics*. 18: 489–552.
- Balke, M., Ribera, I. and Vogler, A.P. 2004. MtDNA phylogeny and biogeography of Copelatinae, a highly diverse group of tropical diving beetles (Dytiscidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 32: 866–880.
- Balthasar, V. 1963. Monographie der Scarabaeidae und Aphodiidae der Palaearktischen und Orientalischen region (Coleoptera: Lamellicornia). Verlag, Tschechoslovakia Akademie Wissenschaft Prague.
- Bell, K., Moritz, C. and Yeates, D. 2004. Comparative phylogeography and speciation of dung beetles from the Australian Wet Tropics rainforest. *Molecular Ecology*. 16: 4984–4998.
- Bornemissza, G.F. 1960. Could dung eating insects improve our pastures? *Journal of Australian Insect Agriculture Science*. 26: 54–56.
- Borror, D.J., Triplehorn, C.A. and Johnson, N.F. 1992. An Introduction to study of Insect. 6th edition. Saunder College Publiahing. New York.

- Boonrotpong, S. 2009. Phylogeographical Relationship of Dung Beetles, Genus *Onthophagus* Latreille, in peninsular Thailand and the Indochinese Sub-Region. Ph.D. Thesis, Science. Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand.
- Boonrotpong S., Sotthibandha S. and Pholpunthin C. 2004. Species composition of dung beetles in the primary and secondary forests at Ton Nga Chang Wildlife Sanctuary. *ScienceAsia*. 30: 59–65.
- Boonrotpong S., Sotthibandha S., Pholpunthin C. 2012. Species turnover and diel flight activity of species of dung beetles, *Onthophagus*, in the tropical lowland forest of peninsular Thailand. *Journal of Insect Science*. 12: 77.
- Breeschoten, T., Doorenweerd, C., Tarasov, S. and Vogler, A.P. 2016. Phylogenetics and biogeography of the dung beetle genus *Onthophagus* inferred from mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 105: 86–95.
- Cambefort, Y. 1991. Biogeography and evolution. In: Hanski, I. and Cambefort, Y. (eds.). *Dung Beetle Ecology*. Princeton University Press. NJ, USA. pp .51–67.
- Chandra, K. and Gupta, D. 2012. First report on five species of genus *Onthophagus* Latreille, 1802 (Coleoptera, Scarabaeidae) from Madhya Pradesh, India, and their description of external male genitalia. *Biodiversity*. 3: 99–106.
- Chenoweth, S.F. and Hughes, J. M. 2003. Speciation and phylogeography in *Caridina indistincta*, a complex of freshwater shrimps from Australian heathland streams. *Marine and Freshwater Research*. 54: 807–812.
- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*. 9: 1657–1660.
- Collins, N.M., Sayer, J.A. and Whitmore, T.C. 1991. *The Conservation Atlas of Tropical Forests: Asia and the Pacific*. IUCN. Gland: Switzerland.
- Corbet, G.B. and Hill, J.E. 1992. *The Mammals of the Indomalayan Region: a Systematic Review*. Oxford University Press: Oxford. UK.
- Daeda, M., Schaefer, D. and Young, D. 2012. Investigating the Dung Beetle Population at the Beef Grazing Farm, Department of UW Arlington Research Station. B.S. Biology and UW-Madison Animal and Entomology Sciences. University of Wisconsin-Madison.

- Darlington, P.J. 1957. Zoogeography: the geographical distribution of animal. John Wiley & Sons, Inc: New York.
- Davis, A.J. 1993. The ecology and behaviour of dung beetles in Northern Borneo. Ph.D. Thesis, University of Leeds, Leeds.
- Davis, A.L.V. 1997. Climatic and biogeographical associations of southern African dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae s. str.). *African Journal of Ecology*. 35: 10–38.
- Davis, A.J., Holloway, J.D., Huijbregts, H., Kirk-Spriggs, A.H. and Sutton, S.L. 2001. Dung beetles as indicators of change in the forests of northern Borneo. *Journal of Applied Ecology*. 38: 593–616.
- Davis, A.L.V. and Scholtz, C.H. 2001. Historical *versus* ecological factors influencing global patterns of scarabaeine dung beetle diversity. *Diversity and Distributions*. 29: 1217–1256.
- Davis, A.L.V., Scholtz C.H. and Philips, T.K. 2002. Historical biogeography of scarabaeine dung beetles. *Journal of Biogeography*. 29: 1217–1256.
- Emlen, D.J., Hunt, J. and Simmons, L.W. 2005. Evolution of sexual dimorphism and male dimorphism in the expression of beetle horns: phylogenetic evidence for modularity, evolutionary lability, and constraint. *American Naturalist*. 166: 42–68.
- Emlen, D., Lavine, L.C. and Ewen-Campen, B. 2007. On the origin and evolutionary diversification of beetle horns. *Proceeding of the National Academy of Sciences*. USA, May 15, 2007. pp. 8661–8668.
- Fernando, Z.V.D.M., Edmonds, W.D., Ocampo, F.C. and Schoolmeesters, P. 2011. A multilingual key to the genera and subgenera of the subfamily Scarabaeinae of the New World (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zootaxa*. 2854: 1–73.
- Fincher, G.T. 1981. The potential value of dung beetles in pasture ecosystems. *Journal of the Georgia Entomological Society*. 16, 316–333.
- Feer, F. 1999. Effects of dung beetles (Scarabaeidae) on seeds dispersed by howler monkeys (*Alouatta seniculus*) in the French Guianan rain forest. *Journal of Tropical Ecology*. 15, 129–142.

- Futuyma, D.J. 2005. *Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Gillott, C. 1995. *Entomology*. 2nd edition. Plenum Press. New York.
- Halffter, G. and Edmonds, W.D. 1982. *The nesting behavior of dung beetles (Scarabaeinae): An ecological and evolutive approach*. Instituto de Ecología. Mexico City. pp. 176.
- Halffter, G. and Matthews, E.G. 1966. The natural history of dung beetles of the subfamily Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Folia Entomologica Mexicana*. 12: 1–312.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Window 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95–98.
- Hanboonsong, Y. 1998. A study of dung beetles diversity in Sakaerat biosphere, Northeast Thailand. MAB Young Scientists Award 2000. Available: (<http://www.unesco.org/mabdb/br/brdir/directory/contact.asp?code=THA>). (accessed 09/03/16)
- Hanski, I. 1991. The dung insect community. *In*: Hanski, I. and Cambefort, Y. (eds.). *Dung Beetle Ecology*. Princeton University Press. Cambridge. pp. 5–21.
- Hanski, I. and Cambefort, Y. 1991. *Dung Beetle Ecology*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Hanski, I. and Krikken. 1991. Dung beetles in tropical forests in South-East Asia. *In*: Hanski, I. and Cambefort, Y. (eds.). *Dung Beetle Ecology*. Princeton University Press. NJ, USA. pp. 179–197.
- Harasewych, M.G., Adamkewicz, S.L., Blake, J.A., Saudek, D. Spriggs, T. and Bult, C.J. 1997. Neogastropod phylogeny: A molecular perspective. *Journal of Molluscan Studies*. 63: 327–351.
- Hedin, M. and Bond, J.E. 2006. Molecular phylogenetics of the spider infraorder Mygalomorphae using nuclear rRNA genes (18S and 28S): conflict and agreement with the current system of classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 41: 454–471.
- Henderson, P.A. and Seaby, R.M.H. 1998. Species diversity and richness, Version 2.62. Pennington, Lymington, UK: Pisces Conservation.

- Herrick, J.E. and Lal, R. 1996. Dung decomposition and pedoturbation in a seasonally dry tropical pasture. *Biology and Fertility of Soils*. 23: 177–181.
- Hingrat, Y. and Feer, F. 2002. Effets de la fragmentation forestiere sur l'activite' des coleopteres coprophages: dispersion secondaire des graines en Guyane Francaise. *Revue d'Ecologie - La Terre et la Vie*. 57: 165–179.
- Howden, H.F. and Cartwright, O.L. 1963. Scarab beetles of the genus *Onthophagus* Latreille North of Mexico (Coleoptera: Scarabaeidae). Proceedings of the United States National Museum. Smithsonian Institution: Washington, D.C. 3467:1–135.
- Howden, H.F. and Nealis, V.G. 1975. Effects of clearing in a tropical rain forest on the composition of the coprophagous scarab beetle fauna (Coleoptera). *Biotropica*. 7: 77–83.
- Hughes, J., Round, P. and Woodruff, D.S. 2003. The Indochinese-Sundaic faunal transition at the Isthmus of Kra: an analysis of resident forest bird species distributions. *Journal of Biogeography*. 30: 569–580.
- Hunt, T., Bergster J., Levkanicova, Z., Papadopoulou, A., St. John, O., Wild, R., Hammond, P.A., Ahrens, D., Balke, M., Ceterino. M.S., Gomez-Zurita, J., Ribera, I., Barraclough. T.G., Bocakova, M., Bocak, L. and Vogler, A.P. 2007. A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a Superradiation. *Science*. 318: 1913–1916.
- Jacobs, H.T. and Grimes, B. 1986. Complete nucleotide sequences of the nuclear pseudogenes for cytochrome oxidase subunit I and the large mitochondrial ribosomal RNA in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Journal of Molecular Biology*. 187: 509–527.
- Janzen, D.H. 1983. Insect at carrion and dung. *In*: Janzen, D.H. (ed.). Coata Rican Natural History. University of Chicago Press: Chicago. IL. pp. 640–42.
- Jessop, L. 1986. Dung beetles and Chafers Coleoptera: Scarabaeoidea. vols 5, Part 11. Department of Entomology British Museun (Natural History): London.
- Lang, B.F., Gray, M.W. and Burger, G. 1999. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual Review of Genetics*. 33:351–397.

- Lastro, E., 2006. Dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae) in North Carolina Pasture Ecosystems, In Entomology. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- Lawrence, J.F. and Newton Jr., A.F. 1995. Families and subfamilies of Coleoptera (with selective genera, notes, reference and data on family-group names). In: Pakaluk, A.F.J. and Lipiski, S.A. (eds.). *Biology, Phylogeny and Classification of Coleoptera*. Muzeum i Instytut Zoologii. PAN, Warsaw, Poland. pp. 779–1006.
- Lekagul, B. and Round, P.D. 1991. *A Guide to the Birds of Thailand*, 1st edition. Saha Karn Bhaet Co: Bangkok, Thailand.
- Lohman, D.J., Bruyn, M.D., Page, T., Rintelen, K.V., Hall, R., Ng, P.K.L., Shih, H.T., Carvalho, G.R. and Rintelen, T.V. 2011. Biogeography of the Indo-Australian Archipelago. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 42: 205–225.
- Lunt, D.H., Zhang, D.X., Szymura, J.M. and Hewitt, G.M. 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primer for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology*. 5: 153–165.
- MacArthur, R.H. and Wilson, E.O. 1967. *The Theory of Island Biogeography*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Matthews, E.G. 1972. A revision of the scarabaeine dung beetles of Australia, I. Tribe Onthophagini. *Australian Journal of Zoology Supplementary Series*. 9: 1–330.
- Metcalfe, I. 1996. Pre-cretaceous evolution of SE Asian terranes. In: Hall, R. and Blundell, D.J. (eds). *Tectonic Evolution of Southeast Asia*, Special Publication, Geological Society: London. pp. 97–122.
- Mittal, I.C. 1993. Natural manuring and soil conditioning by dung beetles. *Tropical Ecology*. 34: 150–159.
- Mlambo, S., Sole, C L. and Scholtz, C.H. 2015. A molecular phylogeny of the African Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Arthropod Systematics & Phylogeny*. 73: 303–32.
- Monaghan, M.T., Inward, D.J.G., Hunt, T. and Vogler, A.P. 2007. A molecular phylogenetic analysis of the Scarabaeinae (dung beetles). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 45: 674–692.

- Montreuil, O. 1998. Phylogenetic analysis and paraphyly of Coprini and Dichotomiini (Coleoptera, Scarabaeidae): biogeographic scenario. *Annales de la Société Entomologique de France*. 34: 135–148.
- Nichols, E., Spector S., Louzada, J., Larsen, T., Amezcuita, S. and Favilad, M.E. 2008. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological conservation*. 141:1461–1474.
- Ocampo, F.C. and Hawks, D.C. 2006. Molecular phylogenetics and evolution of the food relocation behaviour of the dung beetle tribe Eucraniini (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae). *Invertebrate Systematics*. 20: 557–570.
- Orsini, L., Koivulehto, H. and Hanski, I. 2007. Molecular evolution and radiation of dung beetles in Madagascar. *Cladistics*. 23: 145–168.
- O'Donnell, B.C. and Jockusch, E. 2008. Phylogenetic relationships of Leptophlebiid mayflies as inferred by histone H3 and 28S ribosomal DNA. *Systematic Entomology*. 33: 651–667.
- Paulian, R. 1945. Coléoptères Scarabéides de l'Indochine (Faune de l'empire français, 3). Larose: Paris, French.
- Pearson, T.R.H., Burslem, D., Mullins, C.E. and Dalling, J.W. 2002. Germination ecology of neotropical pioneers: Interacting effects of environmental conditions and seed size. *Ecology*. 83: 2798–2807.
- Philips, T.K., Pretorius, E. and Scholtz, C.H. 2004. A phylogenetic analysis of dung beetle (Scarabaeinae: Scarabaeidae): unrolling an evolutionary history. *Invertebrate Systematics*. 18: 53–88.
- Philips, T.K. 2016. Phylogeny of the Oniticellini and Onthophagini dung beetles (Scarabaeidae, Scarabaeinae) from morphological evidence. *ZooKeys*. 579: 9–57.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Mark, P.V.D., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A. and Huelsenbeck, J.P. 2012. Mr. Bayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice across a Large Model Space. *Systematic Biology*. 61: 539–542.

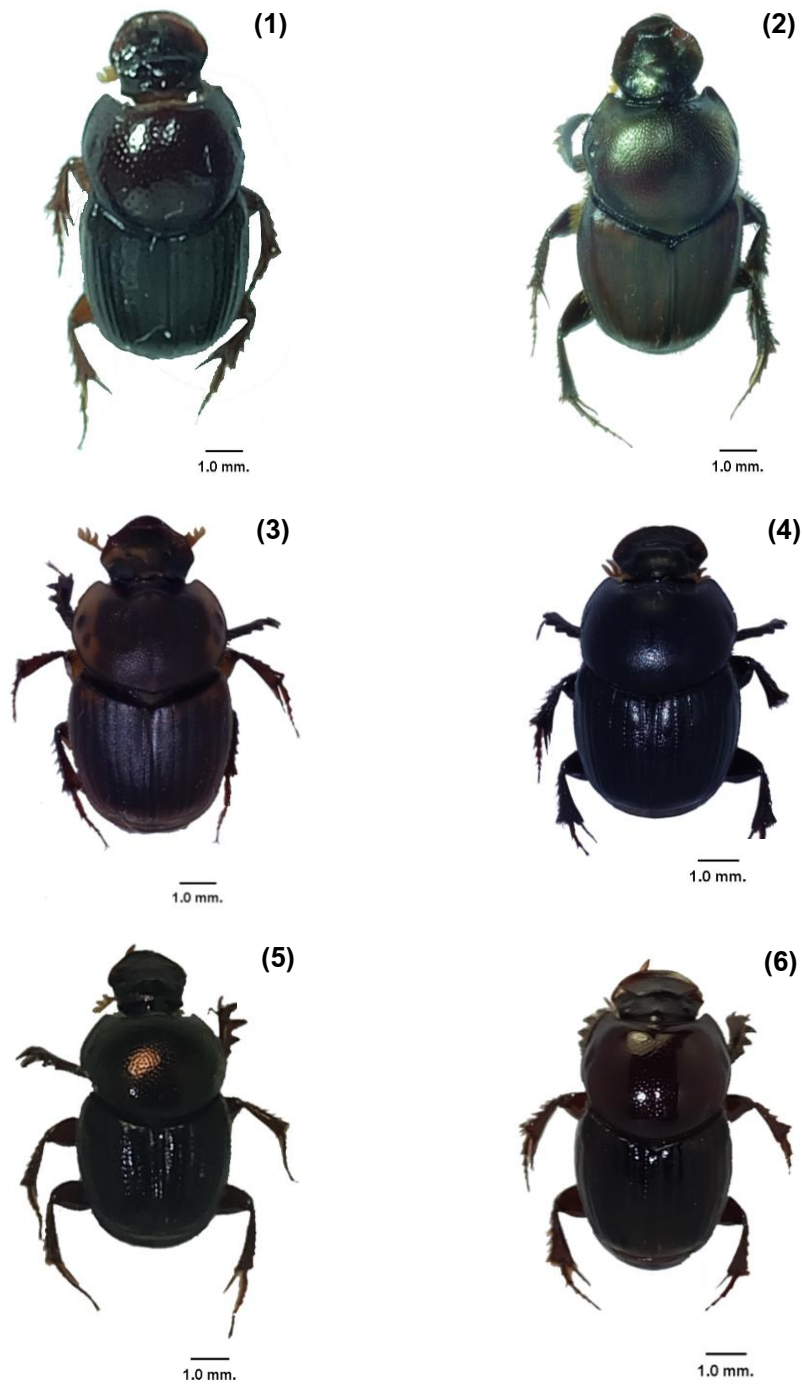
- Roskov, Y., Kunze, T., Paglinawan, L., Orrell, T., Nicolson, D., Culham, A., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., Baillargeon, G., Decock, W., De Wever, A. and Didziulis, V. 2013. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. Species 2000, Reading, United Kingdom.
- Rozas, J., Librado, P., Sánchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X. and Rozas, R. 2010. DnaSP Version 5 Help Contents [Help File]. Available with the program at <http://www.ub.edu/dnasp/>
- Schoolmeesters, P. 2016. Scarabs: World Scarabaeidae Database (version January 2016). In: Roskov, Y., Abucay, L., Orrell, T., Nicolson, D., Flann, C., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., DeWalt, R. E., Decock, W. and De Wever, A. (eds.). Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. Species 2000. Naturalis, Leiden, the Netherlands. Available: <http://www.catalogueoflife.org/col>. (accessed 12/08/16).
- Simon, C., Frati, F., Benckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. and Flook, P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*. 87: 652-701.
- Simmons, L.W. and James Ridsdill-Smith, T. 2011. Ecology and Evolution of Dung Beetles. First Edition. Blackwell Publishing Ltd, Perth, Western Australia.
- Sole, C.L. and Scholtz, C.H. 2010. Did dung beetles arise in Africa? A phylogenetic hypothesis based on five gene regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 56: 631–641.
- Sole, C.L., Scholtz, C.H. and Bastos, A.D.S. 2005. Phylogeography of the Namib desert dung beetles *Scarabaeus (Pachysoma)* MacLeay (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Biogeography*. 32: 75–84.
- Strong, L. 1992. Avermectin: a review of their impact on insect of cattle dung. *Bulletin of Entomological Research*. 82: 265–274.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30: 2725–2729.

- Tarasov, S. and Génier, F. 2015. Innovative Bayesian and parsimony phylogeny of dung beetles (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae) enhanced by ontology-based partitioning of morphological characters. *PLoS ONE* 10, e0116671.
- Tougaard, C. 2001. Biogeography and migration routes of large mammal faunas in South–East Asia during the Late Middle Pleistocene: focus on the fossil and extant faunas from Thailand. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 168: 337–358.
- Turner, H., Hovenkamp, P. and van Welsen, P.C. 2001. Biogeography of Southeast Asia and the West Pacific. *Journal of Biogeography.* 28: 217–230.
- Voris, H.K. 2000. Maps of Pleistocene sea levels in SouthEast Asia: shore lines, river systems, time durations. *Journal of Biogeography.* 27: 1153–1167.
- Whiting, M.F., Carpenter, J.C., Wheeler, Q.D. and Wheeler, W.C. 1997. The Strepsitera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. *Systematic Biology.* 46: 1–68.
- Whitmore, T.C. 1975. Tropical rainforest of the Far East. Clarendon Press. Oxford.
- Wikramanayake, E., Dinerstein, E., Loucks, C., Olson, D., Morrison, J., Lammoreux, J., McKnight, M. and Hedao, P. 2002. Terrestrial ecoregions of the Indo-Pacific: a conservation assessment. Island Press: U.S.A.
- Winkler, A.J. 2002. Plio-Pleistocene rodents of Thailand. Thai Studies Biodiversity No. 3. *Journal of Mammalogy.* 81(1): 277–278.
- Wirta, H., Orsini, L. and Hanski, I. 2008. An old adaptive radiation of forest dung beetles in Madagascar. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 47: 1076–1089.
- Wolfe K.H., Li, W-H. and Sharp P.M. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceeding of the National Academy of Sciences.* United States of America. 84: 9054–9058.
- Woodruff, D.S. and Turner, L.M. 2009. The Indochinese-Sundaic zoogeographic transition: a description and analysis of terrestrial mammal species distributions. *Journal of Biogeography.* 36: 803–821.

- Woodruff, D.S. 2010. Biogeography and conservation in Southeast Asia: how 2.7 million years of repeated environmental fluctuations affect today's patterns and the future of the remaining refugial-phase biodiversity. *Biodiversity Conservation*. 19: 919–941.
- Zunino, M. 1975. Revisione delle specie paleartiche del sottogenere *Onthophagus* (sensu stricto). *Bollettino del Museo di Zoologia dell'Università di Torino*. 7: 151–194.
- Zunino, M. 1979a. Gruppi artificiali e gruppi naturali negli *Onthophagus* (Coleoptera: Scarabaeoidea). *Bollettino del Museo di Zoologia dell'Università di Torino*. 7: 1–17.
- Zunino, M. 1979b. Insect of Saudi Arabia Coleoptera: Fam. Scarabaeidae, Tribus Onthophagini. *Fauna of Saudi Arabia*. 1: 289–292
- Zunino, M. 1981. Insect of Saudi Arabia Coleoptera: Fam. Scarabaeidae, Tribus Onthophagini. *Fauna of Saudi Arabia*. 3: 408–416.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 ผลการสำรวจชนิดของด้วงมูลสัตว์



รูปที่ 1-6. 1. *Onthophagus aphodioides*

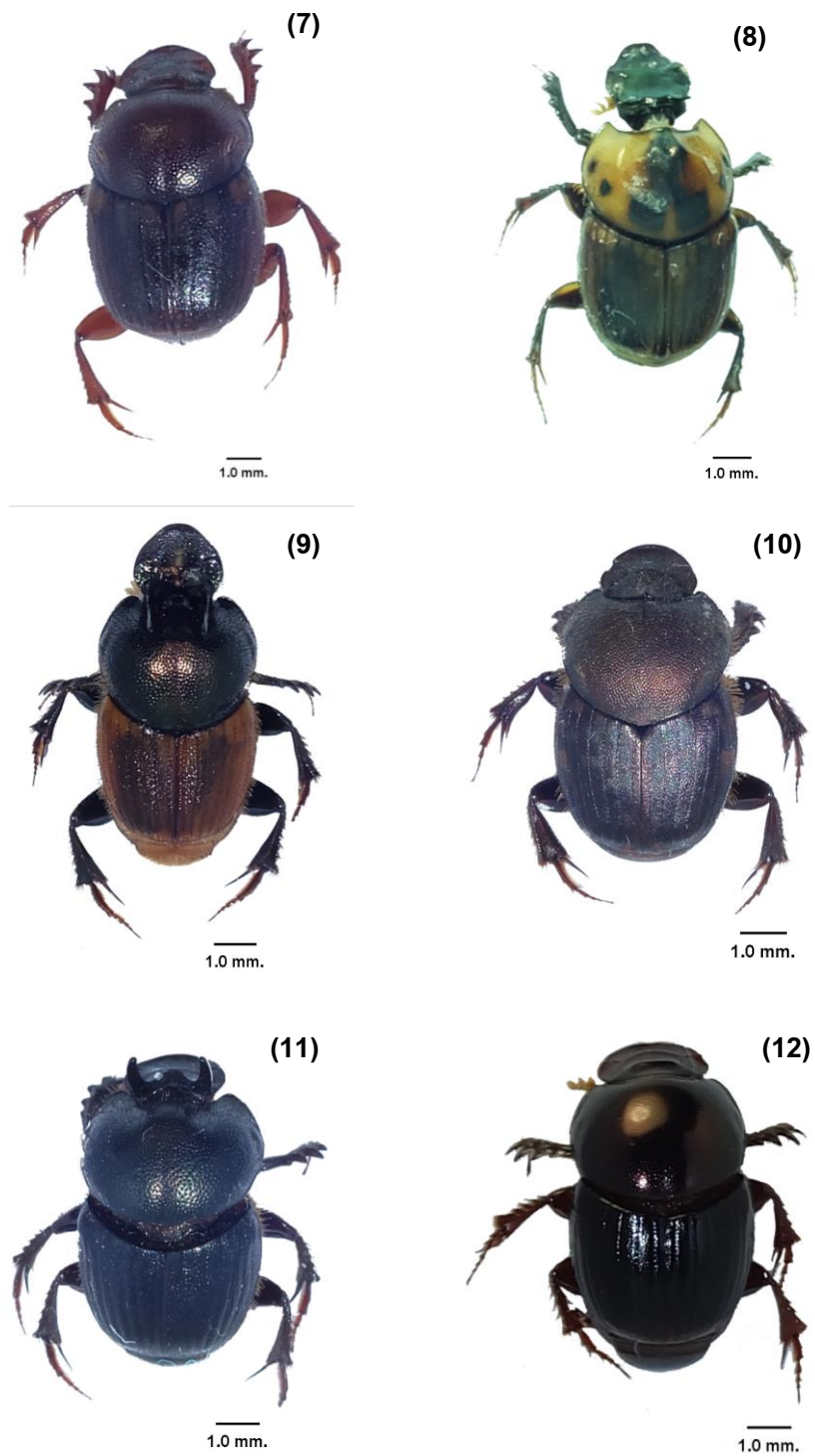
3. *Onthophagus babirusa*

5. *Onthophagus cf. crassicollis*

2. *Onthophagus avocetta*

4. *Onthophagus borneensis*

6. *Onthophagus laevis*



รูปที่ 7-12. 7. *Onthophagus leusermontis*

9. *Onthophagus maniti*

11. *Onthophagus orientalis*

8. *Onthophagus luridipennis*

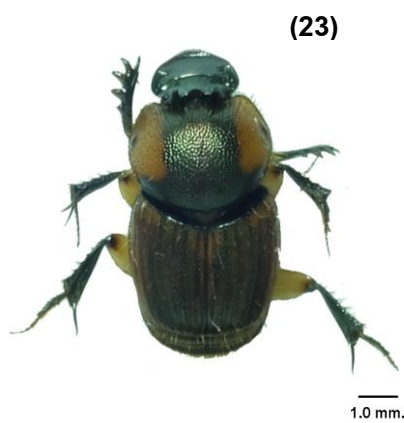
10. *Onthophagus mulleri*

12. *Onthophagus cf. pacificus*



รูปที่ 13-18. 13. *Onthophagus pedator*
15. *Onthophagus rorarius*
17. *Onthophagus sagittarius*

14. *Onthophagus phanaeides*
16. *Onthophagus rugicollis*
18. *Onthophagus seniculus*



รูปที่ 19-24. 19. *Onthophagus taeniatus*

21. *Onthophagus taurus*

23. *Onthophagus vulpes*

20. *Onthophagus taurinus*

22. *Onthophagus uenoi*

24. *Onthophagus sp.1*



รูปที่ 25-30. 25. *Onthophagus* sp.2
27. *Onthophagus* sp.4
29. *Onthophagus* sp.6

26. *Onthophagus* sp.3
28. *Onthophagus* sp.5
30. *Onthophagus* sp.7

(31)



1.0 mm.

(32)



1.0 mm.

(33)



1.0 mm.

รูปที่ 31-33. 31. *Copris punctulatus*

32. *Copris reflexus*

33. *Liatongus femoratus*

ภาคผนวก2 เตรียมสารที่ใช้ในการสกัด DNA ทำ PCR และ Gel electrophoresis

1. การเตรียมสารที่ใช้สำหรับการสกัด

1.1. Lysis buffer

1.1.1. 0.08 M NaCl จาก Stock 5.0 M NaCl

$$\begin{aligned} \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\ V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\ &= 0.08 \text{ M} \times 50 \text{ ml} / 5.0 \text{ M} \\ &= 0.8 \text{ ml} \end{aligned}$$

∴ ดูดสารจาก Stock 5.0 M NaCl มา 0.8 ml

1.1.2. 0.1 M Tris-Cl (pH 8.6) จาก Stock 0.5 M Tris-Cl (pH 8.6)

$$\begin{aligned} \text{จาก } M &= \text{mol} / \text{L} \\ M &= \text{g} / \text{MW} \times 1/\text{L} \\ 0.5 \text{ M} &= \text{g} / 121.14 \times 1/1\text{L} \\ \text{g} &= 0.5 \text{ M} \times 121.14 \\ &= 60.57 \text{ g} \end{aligned}$$

∴ หาก 1L ต้องใช้ Tris-Cl 60.57 g

$$\begin{aligned} \text{แต่เตรียม } 100 \text{ ml} &\text{ ต้องใช้ } 100 \text{ ml} \times 60.57 \text{ g} / 1,000 \text{ ml} \\ &= 60.57 \text{ g} \end{aligned}$$

ชั่ง Tris-Cl 60.57 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ แล้วปรับ pH ด้วย NaOH ให้ได้ pH 8.6
ปรับปริมาตร 100 ml ด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) เตรียม 0.1 M Tris-Cl
(pH 8.6) จาก Stock 0.5 M Tris-Cl (pH 8.6)

$$\begin{aligned} \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\ V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\ &= 0.1 \text{ M} \times 50 \text{ ml} / 0.5\text{M} \\ &= 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

∴ ดูดสารจาก Stock 0.5 M Tris-Cl (pH 8.6) มา 10 ml

1.1.3. 0.06 M EDTA (pH 8.0) จาก Stock 0.5 M EDTA (pH 8.0)

$$\begin{aligned} \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\ V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\ &= 0.06 \text{ M} \times 50 \text{ ml} / 0.5 \text{ M} \end{aligned}$$

$$= 6 \text{ ml}$$

∴ ดูดสารจาก Stock 0.5 M EDTA (pH 8.0) มา 6 ml

1.1.4. 0.5% SDS จาก Stock 20% SDS

$$\begin{aligned} \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\ V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\ &= 0.5 \% \text{SDS} \times 50 \text{ ml} / 20 \% \text{SDS} \\ &= 1.25 \text{ ml} \end{aligned}$$

∴ ดูดจาก Stock 20% SDS มา 1.25 ml

1.1.5. 0.16 M Sucrose จาก Stock 1.5 M Sucrose

$$\begin{aligned} \text{จาก } M &= \text{mol/ L} \\ M &= \text{g/ MW} \times 1/ \text{L} \\ 1.5 \text{ M} &= \text{g}/342.3 \times 1/1\text{L} \\ \text{g} &= 1.5 \text{ M} \times 342.3 \\ &= 513.45 \text{ g} \end{aligned}$$

∴ หาก 1L ต้องใช้ Sucrose 513.45 g

เตรียม 100 ml ต้องใช้ 100 ml x 513.45 g/1,000 ml

$$= 51.345 \text{ g}$$

ซึ่ง Sucrose 51.345 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ ปริมาตร 100 ml ด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) และเตรียม 0.2 M Sucrose จาก Stock 1.5 M Sucrose

$$\begin{aligned} \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\ V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\ &= 0.16 \text{ M} \times 50 \text{ ml} / 1.5 \text{ M} \\ &= 5.33 \text{ ml} \end{aligned}$$

∴ ดูดสารจาก Stock 0.5 M Sucrose มา 5.33 ml

ดูดสารละลายแต่ละสารตามที่ได้กำหนดไว้ ยกเว้น SDS ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ปริมาตรน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้ได้ 50 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ Lysis buffer นำ Lysis buffer ไป Autoclave และเติม SDS ตามที่กำหนด

1.2. 8.0 M Potassium acetate

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } M &= \text{mol/ L} \\
 M &= \text{g/ MW} \times 1/ \text{L} \\
 M &= 9/98.14 \times 1/1\text{L} \\
 \text{g} &= 0.8 \text{ M} \times 98.14 \\
 &= 785.12 \text{ g}
 \end{aligned}$$

∴ หาก 1L ต้องใช้ Potassium acetate 785.12 g

$$\begin{aligned}
 \text{ถ้าเตรียม 50 ml ต้องใช้ } 785.12 \text{ g} \times 50 \text{ ml} / 1,000 \text{ ml} \\
 = 39.256 \text{ g}
 \end{aligned}$$

ซึ่ง Potassium acetate 39.256 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ ปริมาตร 50 ml ด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

∴ ดูดจาก 8.0 M Potassium acetate มา 7 ml

1.3. TE buffer

1.3.1. 0.01 M Tris-Cl (pH 8.6) จาก Stock 0.5 M Tris-Cl (pH 8.6)

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_1 &= M_2 V_2 / M_1 \\
 &= 0.01 \text{ M} \times 50 \text{ ml} / 0.5 \text{ M} \\
 &= 1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

∴ ดูดสารจาก Stock 0.5 M Tris-Cl (pH 8.6) มา 1 ml

1.3.2. 0.001 M EDTA (pH 8.0) จาก Stock 0.5 M EDTA (pH 8.0)

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } M_1 V_1 &= M_2 V_2 \\
 V_1 &= M_2 V_2 / M_1 \\
 &= 0.001 \text{ M} \times 50 \text{ ml} / 0.5 \text{ M} \\
 &= 0.1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

∴ ดูดสารจาก Stock 0.5 M EDTA (pH 8.0) มา 0.1 ml

ดูสูตรละลายแต่ละสารตามที่ได้กำหนดไว้ ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ปริมาตรให้ได้ 50 ml น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ผสมให้เข้ากัน จะได้ TE buffer นำ TE buffer ไป Autoclave

2. การเตรียม Primer

2.1. Forward primer 10 pmol/ μ l.

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\
 V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\
 &= 10 \mu\text{M.} \times 100 \mu\text{l.} / 100 \text{ mM} \\
 &= 10 \mu\text{l.}
 \end{aligned}$$

∴ ตูด Forward primer จาก 100 pmol/ μ l. มา 10 μ l. และเติม DNase free deionized water 90 μ l.

2.2. Reverse primer 10 pmol/ μ l.

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } M_1V_1 &= M_2V_2 \\
 V_1 &= M_2V_2 / M_1 \\
 &= 10 \mu\text{M.} \times 100 \mu\text{l.} / 100 \text{ mM} \\
 &= 10 \mu\text{l.}
 \end{aligned}$$

∴ ตูด Reverse primer จาก 100 pmol/ μ l. มา 10 μ l. และเติม DNase free deionized water 90 μ l.

3. การเตรียม Mixture

PCR 1 Reaction ใช้ 50 μ l.

PCR 1/2 Reaction ใช้ 25 μ l.

$$\begin{aligned}
 \text{DI water } 9 \mu\text{l.} \times (\text{จำนวนตัวอย่าง} + 1) &= \text{A} \\
 \text{Master mix } 12.5 \mu\text{l.} \times (\text{จำนวนตัวอย่าง} + 1) &= \text{B} \\
 \text{Primer Forward } 0.5 \mu\text{l.} \times (\text{จำนวนตัวอย่าง} + 1) &= \text{C} \\
 \text{Primer Reverse } 0.5 \mu\text{l.} \times (\text{จำนวนตัวอย่าง} + 1) &= \text{D}
 \end{aligned}$$

A + B + C + D = Mixture แบ่งใส่หลอด PCR 22.5 μ l. + ดีเอ็นเอ template 2.5 μ l.

ต่อ 1 ตัวอย่าง

$$= 25 \mu\text{l.}$$

ภาคผนวก3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน COI ความยาว 792 คู่เบส

Onthophagus babirusa1_SKA

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACCTTTGGAACCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGGATAGACGTTGATACACGAGCATATTTACATCAGCAACTATGAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGTATTAATAATTTTTAGTTGACTAGCAACTCTTCATGGGGCA
 CAACTAACTATTCACCTTCTACAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 TGGGGGATTAAGTGGAGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATCATTCTCCATGATA
 CTTATTATGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCAGTATTTGCTATT
 ATAGCTGGATTTGTCCATTGATACCCATTATTTACTGGATTAACAATAAATCAAAAATA
 TTTAAAATTCAATTCTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAACA
 TTTCTTAGGATTAAGAGGAATGCCCCGACGTTATTCCGATTATCCAGATGCTTACAGA
 ACATGAAATATTATTTCTTCCATTGGATCATTAAATTTCAATTAATTAGAATTTTTTTATTTT
 TATTTATTATCTGAGAAAGATTTACATCTGTACGTAATCTATTGGAGCTTTAAATATA
 TCTACATCTATTGAATGAATACAAAAATACCTCCTGCAGAACATAGATATGATGAATT
 ACCTATTTTAACATCA-AATTT

Onthophagus babirusa2_PNA

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACCTTTGGAACCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGGATAGACGTTGATACACGAGCATATTTACATCAGCAACTATGAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGTATTAATAATTTTTAGTTGACTAGCAACTCTTCATGGGGCA
 CAACTAACTATTCACCTTCTACAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 TGGGGGATTAAGTGGGGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATCATTCTCCATGAT
 ACTTATTATGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATGGGAGCAGTATTTGCTAT
 TATAGCTGGATTTGTCCATTGATACCCATTATTTACTGGATTAACAATAAATCAAAAAT
 ATTTAAAATTCAATTCTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAAC
 ATTTCTTAGGATTAAGAGGAATGCCCCGACGTTATTCCGATTATCCAGATGCTTACAG
 AACATGAAATATTATTTCTTCCATTGGATCATTAAATTTCAATTAATTAGAATTTTTTTATTT

TTATTTATTATCTGAGAAAGATTTACATCTGTACGTAATCTATTGGAGCTTTAAATAT
 ATCTACATCTATTGAATGAATACAAAAAATACCTCCTGCAGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTTTAACATCA-AATTT

Onthophagus babirusa3_SNI

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACCTTTGGAACCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGGATAGACGTTGATACACGAGCATATTTACATCAGCAACTATGAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGTATTAATAATTTTTAGTTGACTAGCAACTCTTCATGGGGCA
 CAACTAACTATTCACCTTCTACAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 TGGGGGATTAACCTGGGGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATCATTCTCCATGAT
 ACTTATTATGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATGGGAGCAGTATTTGCTAT
 TATAGCTGGATTTGTCCATTGATACCCATTATTTACTGGATTAACAATAAATCAAAAAT
 ATTTAAAATTCAATTCTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAAC
 ATTTCTTAGGATTAAGAGGAATGCCCCGACGTTATTCCGATTATCCAGATGCTTACAG
 AACATGAAATATTATTTCTTCCATTGGATCATTAAATTCATTAATTAGAATTTTTTTATTT
 TTATTTATTATCTGAGAAAGATTTACATCTGTACGTAATCTATTGGAGCTTTAAATAT
 ATCTACATCTATTGAATGAATACAAAAAATACCTCCTGCAGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTTTAACATCA-AATTT

Onthophagus babirusa4_TRG

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACCTTTGGAACCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGAATAGACGTTGATACACGAGCATATTTACATCAGCAACTATGAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGTATTAATAATTTTTAGTTGACTAGCAACTCTTCATGGGGCA
 CAACTAACTATTCACCTTCTACAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 TGGGGGATTAACCTGGGGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATCATTCTCCATGAT
 ACTTATTATGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATGGGAGCAGTATTTGCTAT
 TATAGCTGGATTTGTCCATTGATACCCATTATTTACTGGATTAACAATAAATCAAAAAT
 ATTTAAAATTCAATTCTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAAC
 ATTTCTTAGGATTAAGAGGAATGCCCCGACGTTATTCCGATTATCCAGATGCTTACAG
 AACATGAAATATTATTTCTTCCATTGGATCATTAAATTCATTAATTAGAATTTTTTTATTT

TTATTTATTATCTGAGAAAGATTTACATCTGTACGTAATCTATTGGAGCTTTAAATAT
 ATCTACATCTATTGAATGAATACAAAAAATACCTCCTGCAGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTTTAACATCA-AATTT

Onthophagus babirusa5_SNI

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACCTTTGGAACCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGGATAGACGTTGATACACGAGCATATTTACATCAGCAACTATGAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGTATTAATAATTTTTAGTTGACTAGCAACTCTTCATGGGGCA
 CAACTAACTATTCACCTTCTACAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 TGGGGGATTAACCGGGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATCATTCTCCATGAT
 ACTTATTATGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATGGGAGCAGTATTTGCTAT
 TATAGCTGGATTTGTCCATTGATACCCATTATTTACTGGATTAACAATAAATCAAAAAT
 ATTTAAAAATTCAATTCTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAAC
 ATTTCTTAGGATTAAGAGGAATGCCCCGACGTTATTCCGATTATCCAGATGCTTACAG
 AACATGAAATATTATTTCTTCCATTGGATCATTAAATTCATTAATTAGAATTTTTTTATTT
 TTATTTATTATCTGAGAAAGATTTACATCTGTACGTAATCTATTGGAGCTTTAAATAT
 ATCTACATCTATTGAATGAATACAAAAAATACCTCCTGCAGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTTTAACATCA-AATTT

Onthophagus babirusa6_NRT

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACCTTTGGAACCTTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGGATAGACGTTGATACACGAGCATATTTACATCAGCAACTATGAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGTATTAATAATTTTTAGTTGACTAGCAACTCTTCATGGGGCA
 CAACTAACTATTCACCTTCTACAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 TGGGGGATTAACCTGGGGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATCATTCTCCATGAT
 ACTTATTATGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATGGGAGCAGTATTTGCTAT
 TATAGCTGGATTTGTCCATTGATACCCATTATTTACTGGATTAACAATAAATCAAAAAT
 ATTTAAAAATTCAATTCTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAAC
 ATTTCTTAGGATTAAGAGGAATGCCCCGACGTTATTCCGATTATCCAGATGCTTACAG
 AACATGAAATATTATTTCTTCCATTGGATCATTAAATTCATTAATTAGAATTTTTTTATTT

TTATTTATTATCTGAGAAAGATTTACATCTGTACGTAATCTATTGGAGCTTTAAATAT
 ATCTACATCTATTGAATGAATACAAAAAATACCTCCTGCAGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTTTAACATCA-AATTT

Onthophagus borneensis1_PNA

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAGCAAGAAAAAAGAACTTTTGGAACATTAGG
 AATAATTTATGCAATAATAGCTATTGGACT-TTTAGGATTTATTGTTT-
 GAGCCCATCATA-
 TATTTACAGTTGGTATAGATGTAGATACCCGAGCTTATTTTACCTCAGCAACAATAATT
 ATTGCTGTTCCCTACAGGAATTAATAATTTTATAGATGATTAGCTACTCTTCATGGTGCTCA
 ATTAAATTATTCACCTTCAACTCTTTGATCATTAGGATTTGTTTTCTTATTTACAATTGG
 GGGATTAACAGGAGTTATTTTAGCTAATTCATCAATTGATATTATTTTACATGATACAT
 ATTATGTAGTAGCCATTTTCATTATGTTTTATCTATAGGGGCAGTATTTGCAATTATA
 GCTGGATTTGTTTCATTGATTCCATTATTCACAGGTCTTATAATAAATCAAAAATTTTT
 AAAAATCCAATTTTTAATTATATTTATTGGTGTAATATAACTTTTTTCTCAACACTT
 TTTAGGTCTTAGAGGAATACCACGACGTTATTCTGATTATCCTGATGCTTATACAACA
 TGAAATATTATTTCTTCTATTGGGTCATTAATTTCAATAGTTAGAATTTTTTTATTTTTAT
 TTATTATTTGAGATAGATTTTTCTTCAATACGAAAATCTATTGGAACATTAATTTATCTA
 CTTCTATTGAATGAATACAAAAATTACCCCCAGCAGAACATAGATATGATGAATTACC
 TATTTTAACAGAA-AATTT

Onthophagus borneensis2_TRG

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAACTTTTGGAACTTAGGAATAATTTATGCAATAATAGCTATTGGT
 CT-TTTAGGTTTCATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAGTTGGAATAGATGTTGACACACGAGCTTATTTACTTCAGCTACAATAATT
 ATTGCTGTTCCCTACAGGAATTAATAATTTTATAGATGATTAGCTACTCTTCATGGGGCAC
 AATTAATACTCCCCTTCTACTATTTGATCTTTAGGGTTTGTTTTTTTATTTACTGTTG
 GGGGATTAACGGGAGTTGTATTAGCAAATCTTCTATTGATATTATTTTACATGATACA
 TATTATGTAGTAGCTCATTTTCACTATGTTTTATCAATAGGAGCTGTATTTGCAATTAT
 AGCAGGCTTTGTTTCATTGATTCCCTTTATTTACAGGATTAACAATAAATCAAAAATATT
 TAAAAATCCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACTTTTTTCTCAACACT
 TTTTAGGTTTAAGAGGAATGCCACGACGGTATTCTGATTATCCAGATGCTTATACAAC
 TTGAAATATTATTTCTTCTATTGGTTCTTTAATTTCTATGGTTAGAATTTTTTTATTTTTA

TTTATTATCTGAGATAGATTTGTTTCAATACGAAAATCTATTAGAACTTTAAATTTATCT
 ACATCTATTGAATGAATACAAAACTACCTCCTGCAGAACATAGATTTGATGAATTAC
 CTATCTTAACAGAA-AATTT

Onthophagus borneensis3_TRG

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTATGCAATAATAGCTATTGGA
 CT-TTTAGGATTTATTGTCT-GAGCCCATCATA-
 TATTACAGTTGGTATAGATGTAGATACCCGAGCTTATTTTACTTCAGCAACAATAATT
 ATTGCTGTTCCCTACAGGAATTAATTTTTAGATGATTAGCTACTCTTCATGGTGCTCA
 ATTAAATTATTCACCTTCAACTCTTTGATCATTAGGATTCGTTTTCTTATTTACAATTGG
 GGGATTAACAGGAGTTATTTTAGCTAATTCATCAATTGATATTATTTTACATGATACAT
 ATTATGTAGTAGCCATTTTCATTATGTTTTATCTATAGGAGCAGTATTTGCAATTATA
 GCTGGATTTGTTCAATTGATTCCCATTATTTACAGGTCTTATAATAAATCAAAAATTTTT
 AAAAATCCAATTTTTAATTATATTTATTGGTGTAATATAACTTTTTTCTCAACACTT
 TTTAGGTCTTAGAGGAATACCACGACGTTATTCTGATTATCCTGATGCTTATACAACA
 TGAAATATTATTTCTTCTATTGGGTCATTAATTTCAATAGTTAGAATTTTTTTATTTTTAT
 TTATTATTTGAGATAGATTTTCTTCAATACGAAAATCTATTGGCACATTAATTTATCTA
 CTTCTATTGAATGAATACAAAAATTACCCCGAGCAGAACATAGATATGATGAATTACC
 TATTTTAACAGAA-AATTT

Onthophagus taurinus1_CPN

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTCGGAACCTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGA
 TT-ATTAGGGTTTATTGTAT-GAGCACATCATA-
 TATTCACCATTGGAATAGATGTAGATACACGAGCATATTTTACTTCTGCAACTATAATC
 ATTGCTGTTCCCTACTGGAATTAATTTTTAGTTGATTAGCTACTCTTCATGGAGCTCA
 ATTAACTATTCTCCTTCAACAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTTG
 GTGGGTTAACAGGGGTAATTCTAGCAAATTCATCTATTGATATTATTCTTCATGATAC
 CTATTACGTAGTAGCCATTTTCATTATGTTTTATCTATAGGGGCAGTATTTGCAATTA
 TAGCAGGATTTGTCCACTGATATCCTTTATTTACAGGATTA ACTATAAATCAAAAATAT
 TTAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTCCCCCAACAT
 TTCTTAGGATTAAGAGGAATACCCCGACGTTACTCAGATTATCCTGATGCTTATAGAA
 CATGAAATATTATTTCTTCTATTGGATCATTAATTTCTTAATTAGAATTTTTTTATTTTT

ATTTATTATTTGAGAAAGATTAGTTTTAGTACGAAAATCTATTGGTACTTTAAATTTATC
 AACATCAATTGAATGAATACAAAAAATGCCCCCAGCAGAACATAGTTATGATGAACTT
 CCTATCTTAGTATCA-AACTT

Onthophagus taurus2_CPN

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTCGGAACCTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGA
 TT-ATTAGGGTTTATTGTAT-GAGCACATCATA-
 TATTCACCATTGGAATAGATGTAGATACACGAGCATATTTTACTTCTGCAACTATAATC
 ATTGCTGTTCCCTACTGGAATTAATTTTTAGTTGATTAGCTACTCTTCATGGAGCTCA
 ATTAACTATTCTCCTTCAACAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTTG
 GTGGGTTAACAGGGGTAATTCTAGCAAATTCATCTATTGATATTATTCTTCATGATAC
 CTATTACGTAGTAGCCCATTTTCATTATGTTTTATCTATAGGGGCAGTATTTGCAATTA
 TAGCAGGATTTGTCCACTGATATCCTTTATTTACAGGATTAACTATAAATCAAAAATAT
 TTAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTCCCCAACAT
 TTCTTAGGATTAAGAGGAATACCCCGACGTTACTCAGATTATCCTGATGCTTATAGAA
 CATGAAATATTATTTCTTCTATTGGATCATTAAATTCCTTAATTAGAATTTTTTTATTTTT
 ATTTATTATTTGAGAAAGATTAGTTTTAGTACGAAAATCTATTGGTACTTTAAATTTATC
 AACATCAATTGAATGAATACAAAAAATGCCCCCAGCAGAACATAGTTATGATGAACTT
 CCTATCTTAGTATCA-AACTT

Onthophagus taurus3_NRT

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACCTTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGGTTTATTGTAT-GAGCACATCATA-
 TATTTACTATCGGAATAGACGTAGATACACGAGCTTATTTTACTTCTGCAACTATAATT
 ATTGCTGTTCCCTACAGGAATTAATTTTTAGTTGATTAGCTACTCTACATGGGGCCC
 AATTAACCTATTCCCCTCAACAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTCCTATTTACTGTA
 GGTGGATTAACCTGGTGTAAATTTAGCAAATTCATCAATTGATATTATTCTTCATGATAC
 TTATTATGTAGTAGCCCATTTCCATTATGTATTATCTATAGGAGCTGTATTTGCAATCA
 TAGCAGGATTTGTTCAATTGATACCCTTTATTCACAGGATTAACTATAAATCAGAAATAT
 TTAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCCAACAT
 TTTTATAGTTTAAAGAGGAATGCCCCGACGTTACTCAGATTACCCAGATGCTTATAGAA
 CATGAAATATTATTTCTTCTATTGGATCATTAAATTCCTTAATTAGAATTTTTTTATTTTT

ATTTATTATTTGAGAAAGATTTGTTTCAGTACGAAAATCTATTGGTACTTTAAATTTATC
 AACATCAATTGAATGAATACAAAAAATACCCCCAGCAGAACATAGTTATGATGAACTT
 CCTATCTTAACATCA-AATTT

Onthophagus orientalis1_SKA

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGTACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCACCATA-
 TATTTACAGTTGGAATAGATGTTGATACGCGGGCTTATTTTACATCAGCAACTATAAT
 TATTGCTGTTCCCTACTGGTATTAATAATTTTATGATGACTAGCAACATTACATGGAGCC
 CAACTAAATTATTCACCTTCAACAATCTGAGCATTAGGGTTTGTATTTTATTTACAGT
 TGGGGGTTTAAACAGGAGTAATTTTAGCCAATTCATCTATTGATATTGTACTTCATGAT
 ACTTATTATGTTGTAGCTCATTTCATTATGTACTTTCAATAGGAGCAGTATTTGCTAT
 CATAGCTGGATTTGTTTCATTGATATCCTTTATTTACAGGATTAATTATAAATCAAAAAT
 TTTTAAAATTCAATTTTAAATCATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTTCCACAAC
 ATTTTTTAGGTTTAAAGAGGGATACCTCGTCGATATTCTGATTATCCAGATGCTTATAC
 AACATGAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAACTCATTAAATTAGAATTTTTGTATT
 CTTATTTATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGTAAATCAATTAGAACACTGAACTT
 ACCTACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCTGCTGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTCTTACATCA-AATTA

Onthophagus orientalis3_SKA

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGTACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCACCATA-
 TATTTACAGTTGGAATAGATGTTGATACGCGGGCTTATTTTACATCAGCAACTATAAT
 TATTGCTGTTCCCTACTGGTATTAATAATTTTATGATGACTAGCAACATTACATGGAGCC
 CAACTAAATTATTCACCTTCAACAATCTGAGCATTAGGGTTTGTATTTTATTTACAGT
 TGGGGGTTTAAACAGGAGTAATTTTAGCCAATTCATCTATTGATATTGTACTTCATGAT
 ACTTATTATGTTGTAGCTCATTTCATTATGTACTTTCAATAGGAGCAGTATTTGCTAT
 CATAGCTGGATTTGTTTCATTGATATCCTTTATTTACAGGATTAATTATAAATCAAAAAT
 TTTTAAAATTCAATTTTAAATCATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTTCCACAAC
 ATTTTTTAGGTTTAAAGAGGGATACCTCGTCGATATTCTGATTATCCAGATGCTTATAC
 AACATGAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAACTCATTAAATTAGAATTTTTGTATT

CTTATTTATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGTAAATCAATTAGAACACTGAACTT
 ACCTACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCTGCTGAACATAGATATGATGAA
 TTACCTATTCTTACATCA-AATTA

Onthophagus rugicollis1_SKA

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAACTTTTGGAACATTGGGAATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGA
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCACATCATA-
 TATTTACAGTTGGTATAGATGTTGATACACGAGCTTATTTTACATCAGCTACTATAATT
 ATTGCTGTTCCCTACTGGTATTAATAATTTTAGATGATTAGCAACATTACATGGAGCCC
 AATTAATTATTCACCATCAACAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTCCG
 GAGGATTAACGGGAGTAATTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGTCCTTCATGATAC
 ATATTATGTTGTAGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTAT
 AGCAGGTTTTGTTCAATTGATACCCCTTATTTACAGGATTAATTATAAATCAAAAATTTT
 TAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCCTCAACATT
 TTTTAGGTTTAAGAGGGATACCTCGTCGATATTCTGATTATCCTGATGCTTATACAAC
 ATGAAATATTATTTTATCTATTGGCTCATTAATTTTATTAATTAGAATTTTTGTATTTTTA
 TTTATTATTTGAGACAGATTTTCATCAATACGAAAATCAATTGGAACACTTAATCTACC
 AACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCTCCCGCTGAACATAGATATGATGAATTA
 CCTATTCTTATATCT-AATTA

Onthophagus rugicollis2_RNG

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAACTTTTGGTACTCTAGGTATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGA
 TT-ACTTGGATTTATTGTAT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACTGTTGGAATAGATGTAGACACTCGAGCTTATTTTACATCAGCTACTATAATT
 ATTGCTGTCCCAACAGGTATTAATAATTTTAGATGACTAGCAACTTTACATGGAGCTC
 AATTAACTATTCTCCCTCAACAATTTGAGCTCTAGGTTTTGTATTTTTATTTACAGTA
 GGAGGATTAACTGGAGTAATTTAGCTAATTCATCTATTGATATTGTTCTTCATGATAC
 ATATTATGTGGTAGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCAGTATTTGCAATTA
 TAGCCGGATTCGTTCAATTGATACCCATTATTTACAGGTTTAGTTATAAATCAAAAATTT
 TTAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTTTCCACAACAT
 TTTCTAGGGTTAAGAGGTATACCCCGTCGATATTCTGATTATCCAGATGCCTATACAA
 CATGAAATATTGTATCTTCTATTGGATCATTAAATTTCTCTAATTAGAATTTTTGTATTTT

TATTTATTATCTGAGATAGATTTACATCTGTACGAAAATCAATTGGAACATTA AATTTA
 TCAACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCAGCTGAACATAGATACGATGAAT
 TACCTATTTTAATATCA-AATTA

Onthophagus rugicollis3_TRG

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGA
 TT-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCACATCATA-
 TATTTACAGTTGGTATAGATGTTGATACACGAGCTTATTTTACATCAGCTACTATAATT
 ATTGCTGTTCCCTACTGGTATTA A A A A A T T T T T A G A T G A T T A G C A A C G T T A C A T G G A G C C C
 A A T T A A A T T A T T C A C C A T C A A C A A T T T G A G C T T T A G G A T T T G T A T T T T T A T T T A C T G T C G
 G A G G A T T A A C G G G A G T A A T T T T A G C T A A T T C A T C A A T T G A T A T T G T C C T T C A T G A T A C
 A T A T T A T G T T G T A G C T C A T T T T C A T T A T G T T C T T T C T A T A G G A G C T G T A T T T G C T A T T A T
 A G C A G G T T T T G T T C A T T G A T A T C C C T T A T T T A C A G G A T T A A T T A T A A A T C A A A A A T T T T T
 A A A A A T T C A A T T T T T A A T T A T A T T T A T T G G A G T A A A T A T A A C A T T T T T C C C T C A A C A T T T
 T T T A G G T T T A A G A G G A A T A C C T C G T C G A T A T T C T G A T T A T C C T G A T G C T T A T A C A A C A
 T G A A A T A T T A T T T C A T C T A T T G G T T C A T T A A T T T C A T T A A T T A G A A T T T T T G T A T T T T A T
 T T A T A T T T G A G A C A G A T T T T C A T C A A T A C G A A A A T C A A T T G G A A C A C T T A A T C T A C C A
 A C T T C A A T T G A A T G A T T A C A A A A A A T A C C T C C C G C T G A A C A T A G A T A T G A T G A A T T A C
 C T A T T C T T A T A T C T - A A T T A

Onthophagus rugicollis4_RNG

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAACTTTTGGTACTCTAGGTATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGA
 TT-ACTTGGATTTATTGTAT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACTGTTGGAATAGATGTAGACACTCGAGCTTATTTTACATCAGCTACTATAATT
 ATTGCTGTCCCAACAGGTATTA A A A A A T T T T A G A T G A C T A G C A A C T T T A C A T G G A G C T C
 A A T T A A A C T A T T C T C C C T C A A C A A T T T G A G C T C T A G G T T T T G T A T T T T A T T T A C A G T A
 G G A G A T T A A C T G G A G T A A T T T A G C T A A T T C A T C T A T T G A T A T T G T T C T T C A T G A T A C
 A T A T T A T G T G G T A G C T C A T T T T C A T T A T G T T C T T T C T A T A G G A G C A G T A T T T G C A A T T A
 T A G C C G G A T T C G T T C A T T G A T A C C C A T T A T T T A C A G G T T T A G T T A T A A A T C A A A A A T T T
 T T A A A A A T T C A A T T T T T A A T T A T A T T T A T T G G A G T A A A T A T A A C A T T T T T C C C A C A A C A T
 T T T C T A G G G T T A A G A G G T A T A C C C C G T C G A T A T T C T G A T T A T C C A G A T G C C T A T A C A A
 C A T G A A A T A T T G T A T C T T C A T T G G A T C A T T A A T T T C T C T A A T T A G A A T T T T T G T A T T T C

TATTTATTATCTGAGATAGATTTACATCTGTACGAAAATCAATTGGAACATTAAATTTA
TCAACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCAGCTGAACATAGATACGATGAAT
TACCTATTTTAATATCA-AATTA

Onthophagus maniti1_SNI

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
TAGAAAAAAGAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
TATTTACAGTTGGTATAGATGTTGACACTCGTGCTTATTTTACATCTGCTACTATAATT
ATTGCTGTACCTACAGGTATTAATAATTTTATAGATGACTGGCAACATTACATGGAGCTC
AATTAATTATTCACCTTCAACTATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTAG
GAGGATTAAGGAGTAATTTTAGCTAATTCATCCATTGATATTGTTCTTCATGATACA
TATTACGTTGTAGCTCATTTTCATTATGTTTTATCAATAGGGGCTGTATTTGCAATTAT
AGCAGGATTTGTACATTGATACCCATTATTTACAGGATTAATTATAAATCAAAAATTTT
TAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACTTTTTTCTCAACATTT
CTTAGGTTAAGAGGAATACCTCGTCGGTACTCTGATTATCCAGATGCTTACACAACA
TGAAATATTATCTCATCTATTGGGTCTTTAATTTCATTAAATTAGAATTTTTGTATTTTTA
TTTATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGAAAATCAATTAGAACCCTAAATTTACC
AACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCTGCTGAACATAGTTACAATGAATTA
CCTATTCTTACATCA-AATTA

Onthophagus maniti2_RNG

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
TAGAAAAAAGAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
TATTTACAGTTGGTATAGATGTTGACACTCGTGCTTATTTTACATCTGCTACTATAATT
ATTGCTGTACCTACAGGTATTAATAATTTTATAGATGACTGGCAACATTACATGGAGCTC
AATTAATTATTCACCTTCAACTATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTAG
GAGGATTAAGGAGTAATTTTAGCTAATTCATCCATTGATATTGTTCTTCATGATACA
TATTACGTTGTAGCTCATTTTCATTATGTTTTATCAATAGGAGCTGTATTTGCAATTAT
AGCAGGATTTGTACATTGATACCCATTATTTACAGGATTAATTATAAATCAAAAATTTT
TAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACTTTTTTCTCAACATTT
CTTAGGTTAAGAGGAATACCTCGTCGGTACTCTGATTATCCAGATGCTTACACAACA
TGAAATATTATCTCATCTATTGGGTCTTTAATTTCATTAAATTAGAATTTTTGTATTTTTA

TTTATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGAAAATCAATTAGAACCCTAAATTTACC
 AACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCTGCTGAACATAGTTACAATGAATTA
 CCTATTCTTACATCA-AATTA

***Onthophagus seniculus*_TRG**

TAATCTCTCACATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACTTTGGGGATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGT
 TT-ATTAGGATTTATTGTAT-GAGCACATCACA-
 TATTACAGTCGGAATAGATGTAGATACTCGAGCATATTTTACTTCAGCTACAATAATT
 ATTGCTGTTCCACAGGAATTAATTTTTCAGATGATTAGCAACCTTACATGGTACCC
 AATTAATTATCCCTTCAATAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTACAGTGG
 GGGGATTAAGTGGTGTCTTAGCTAATTCTTCAATTGATATTGTACTTCATGATACT
 TATTATGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTTTATCTATGGGGGCAGTATTTGCTATTAT
 AGCAGGATTTGTTCAATTGATTTCCCTTATTTACCGGTCTTACAATAAATCAAAAATTTT
 TAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACCTTTTTCCCTCAACATT
 TTCTAGGGTTAAGAGGTATACCCCGTCGTTACTCAGATTATCCTGATGCTTATACAAC
 TTGAAATATTATTTCTTCTATTGGATCTTTAATTTCTTTAATTAGTATTTTCTTATTTTA
 TTCATTGTTTGGAGATAGATTTTCATCAATACGAAAATCTATTGGAGCCTTAAATATATC
 TTCATCTATTGAATGATTACAAAAACTACCACCAGCTGAACATAGATATGATGAACTT
 CCAATTTTAACTTCTTAATTT

***Onthophagus uenoi*_SNI**

TAATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACTTTAGGAATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCACCATA-
 TATTACAGTAGGTATAGATGTTGATACACGGGCTTACTTTACCTCAGCAACTATAAT
 TATTGCAGTACCTACAGGAATTAATTTTATAGATGATTAGCCACTCTTACGGAACC
 CAACTTAACTACTCTCCTTCGATAATTTGAGCTCTTGGATTTGTATTTCTTTTTACTGT
 TGGGGGATTAACAGGCGTAATTCTTGCTAATTCCTCAATTGATATTGTTCTTCATGAT
 ACATACTATGTTGTAGCTCATTTCATTATGTTCTTTCAATAGGTGCAGTTTTTTGCAAT
 TATAGCAGGATTTACCCACTGATTCCCTTTATTTACTGGATTAATATAAATCAAAAAT
 TCCTAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTGTTGGTGTTAATATAACCTTTTTTCCCAAC
 ATTTCTTAGGATTAAGAGGAATACCCCGACGTTATTCTGATTACCCAGATGCCTATAC
 AACTTGAAATATTATTTCTTCTATTGGCTCCTTAATTTCTACAGTAAGAATTTTCATTTT

TTTATTTATTATATGAGATGGTCTAACTTCAATACGAAAAACCATTACAACCTTAAATA
 TACCCTCATCTATCGAATGATTACAAAAGCTCCCCCTGCAGAACATAGATATGATGA
 ATTACCTATTTTAACAGCTTAATAT

Onthophagus vulpes_SNI

TAATTTCTCACATTATTAGTCAAGAAAG-
 TAGAAAAAAGAAACATTTGGGACACTAGGTATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGA
 TT-ACTTGGTTTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAGTTGGAATAGATGTTGATACACGAGCTTATTTACATCAGCTACTATAATT
 ATTGCTATTCCTACAGGAATTAATTTTTAGATGATTAGCAACATTACACGGAGTTCA
 ATTAACCTATTCTCCTTCAACAATTTGAGCATTAGGATTTGTATTTTTATTACAGTAG
 GGGGATTAACAGGGGTAATTTTAGCTAATTCATCTCTTGATATTGTCTTGCATGATAC
 TTATTATGTTGTAGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTAT
 AGCAGGATTTGTTCAATTGATATCCTTTATTTACAGGATTAATTATAAACCAAAAATTT
 TAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACATTCTTTCTCAACATT
 TTCTAGGATTAAGAGGTATACCTCGACGATACTCTGATTATCCCGATGCTTATACAAC
 ATGAAATATTATTTCTCTATTGGTTCATTAATTTTATTAATTAGAATTTTTGTATTTTTA
 TTTATTATTTGAGACAGATTTTCATCTATACGAAAATCAATTAGAACAATAAATTTACCT
 ACTTCAATTGAATGGTTACAAAAAATACCTCCTGCTGAACATAGATACGATGAATTAC
 CTATTCTTATATCT-AATTA

Onthophagus laevis_TRG

AATTCTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAAACTTTTCGGAACATTAGGTATAATTTACGCTATAATAGCTATTGGA
 TT-ATTAGGGTTTATTGTCT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACTGTTGGAATAGATGTTGATACTCGAGCTTACTTTACATCAGCAACAATAATT
 ATTGCTGTACCCACAGGAATTAATTTTTAGTTGATTAGCAACTCTCCATGGAAGTCA
 AAATTAACCTATTCCCATCAATAATCTGGGCACTCGGATTTGTATTCTTATTTACAGTT
 GGGGGATTAACCGGAGTTATTCTGGCAAATTCTTCCATTGATATTGTTCTCCATGATA
 CTTATTACGTAGTAGCTCATTTCCTACTATGTTCTTTCAATAGGAGCAGTATTTGCTATT
 ATAGCCGGATTTGTGCATTGATTCCCCCTATTTACAGGATTAACAATAAACCAAAAAT
 TCTTAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTTTAGGTGTTAATATAACCTTTTTCCCCAAC
 ATTTCTTGGATTAAGAGGCATACCCCGCCGATACTCAGATTACCCGGATGCATACA
 CAACTTGAAACATCATTTCCTCAATTGGATCTCTAATCTCTTTAGTAAGAATTATATTA

TTCTTATTTATTATTTGAGACAGATTTTCCTCTATACGAAAATCTATTGGCACATTAAA
 CATAACTTCATCAATCGAATGATTACAAAACTTCCTCCGGCTGAACACAGATATGAT
 GAATTACCAATTTTAACAGCTTAAAAT

Onthophagus pedator_SKA

TAATTTCTCATATCATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGGACATTAGGTATAATCTATGCTATGATAGCAATTGGA
 CT-TTTAGGATTTATTGAAGAGAGCTCATCATG-
 TAGATACAGTTGGTATAGATGTTGATACCCGAGCTTATTTACTTCAGCTACTATAAAT
 ATTGCAGTACCAACAGGTATTAATTTTTAGATGATTAGCCACACTCCATGGTATTC
 AAATAAATTATTCTCCTTCTATAATCTGAGCATTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTTG
 GAGGATTAAGTGGGTAATTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTGTTCTTCACGATACT
 TATTACGTAGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATGGGAGCTGTATTTGCTATTAT
 AGCCGGATTTGTACATTGATACCCTTTATTTACAGGATTAATAAATCAAAAATTTT
 TAAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATAAACATTTTTCCCCAACATT
 TTTTAGGATTAAGAGGTATACCACGACGATATTCAGATTATCCTGATGCTTATATAAC
 TTGAAATATTATTTTCATCCATTGGATCATTATTTTCATTAATTAGAATTTTTATTTTTTA
 TTCATTATTTGAGATAGATTTTCATCAATACGTAAATCAATTGGAACCTTTAAATTTACC
 AACTTCAATTGAATGATTACAAAAATACCCCAACTGAACATAGATATGATGAATTA
 CCAATTTTAATATCA-AATTT

Onthophagus phanaeides_NRT

TGATTTCTCATATTATTAGACAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACTTTAGGTATAATTTATGCAATAATAGCTATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAGTAGGAATAGACGTAGACACACGAGCTTACTTTACTTCTGCTACAATAAT
 TATTGCTGTTCCCTACCGGAATTAATTTTTAGATGATTAGCTACTCTACATGGAGCT
 CAATTAATTTATTCTCCATCAACAATTTGAGCTTTAGGTTTCGTATTTTTATTTACAGTT
 GGGGGATTAACAGGAGTTGTTTTAGCTAATTCCTCGATTGATATCGCTCTTCATGATA
 CCTACTATGTAGTAGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCAGTTTTTGCTATT
 ATAGCCGGATTTGTTCACTGATATCCATTATTCACAGGTCTTATTATAAATCAAAAATT
 TTTAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATAAACCTTTTTCCCTCAACA
 TTTCTTAGGATTAAGAGGAATACCTCGTCGTTATTCTGATTATCCTGATGCTTACACA
 ACATGAAATATCATCTCATCTATTGGATCCTTAATTTTCATTAATTAGAATTTTTTTATTT

TTATTTATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGTAAATCTATTGGAACATTAATTTA
 CCAACATCTATTGAATGAATACAAAAAATACCCCCAGCTGAACATAGATATGATGAAC
 TTCCTATTTTAACTTCA-AATTT

Onthophagus sp1_RNG

TAATTTACATATTATTAGCCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACATTAGGTATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCCCATCATA-
 TATTTACAGTCGGAATAGATGTAGATACCCGAGCTTATTTACTTCAGCAACTATAATT
 ATTGCTGTACCAACTGGTATTAATAATTTTAGATGATTAGCAACATTACATGGCATTCA
 AATAAATTAACCTTCTATAATTTGAGCATTAGGGTTTGTATTTTTATTTACAGTTG
 GAGGATTAACCGGAGTAATTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGTTCTTCACGATACT
 TACTATGTTGTTGCCATTTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCAGTATTTGCCATTAT
 AGCAGGATTCGTACATTGATATCCATTATTTACAGGGTAACTATAAATCAAAAATTCT
 TAAAAATTCAATTTTTAATTATATTCATTGGGGTAAATATAACATTTTTTCTCAGCATT
 TTTTAGGTTTAAGAGGGATACCTCGTCGATATTCTGATTATCCTGATGCTTATATAAC
 CTGAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAAATTTTCATTAGTTAGAATTTTTGTATTTTT
 ATTTATTATTTGAGATAGATTTGCATCAATGCGTAAATCAATTGGAACTTTAAATCTTC
 CTAATTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCAGCTGAACATAGATATGATGAATT
 ACCAATTTTAAACATCA-AATTT

Onthophagus sp2_SNI

TAATTTACATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAACTTTTGGAACATTAGGTATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCCCATCATA-
 TATTTACAGTCGGAATAGATGTAGATACCCGAGCTTATTTACTTCAGCAACTATAATT
 ATTGCTGTACCAACTGGTATTAATAATTTTAGATGATTAGCAACATTACATGGCATTCA
 AATAAATTAACCTTCTATAATTTGAGCATTAGGGTTTGTATTTTTATTTACAGTTG
 GAGGATTAACCGGAGTAATTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGTTCTTCACGATACT
 TACTATGTTGTTGCCATTTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCAGTATTTGCCATTAT
 AGCAGGATTCGTACATTGATATCCATTATTTACAGGGTAACTATAAATCAAAAATTCT
 TAAAAATTCAATTTTTAATTATATTCATTGGGGTAAATATAACATTTTTTCTCAGCATT
 TTTTAGGTTTAAGAGGGATACCTCGTCGATATTCTGATTATCCTGATGCTTATATAAC
 CTGAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAAATTTTCATTAGTTAGAATTTTTGTATTTTT

ATTTATTATTTGAGATAGATTTGCATCAATGCGTAAATCAATTGGAACTTTAAATCTTC
 CTACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCAGCTGAACATAGATATGATGAATT
 ACCAATTTTAAACATCA-AATTT

Onthophagus sp3_SNI

TAATTTACATATTATTAGCCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGAAACTTTTGAACATTAGGTATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGAT
 T-ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCCCATCATA-
 TATTTACAGTCGGAATAGATGTAGATACCCGAGCTTATTTACTTCAGCAACTATAATT
 ATTGCTGTGCCAACTGGTATTAATTTTTAGATGATTAGCAACATTACATGGCATT
 AAATAAATTACTCACCTTCTATAATTTGAGCATTAGGGTTTGTATTTTTATTACAGTT
 GGAGGATTAACCGGGGTAATTTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGTTCTTCACGATA
 CTTACTATGTTGTTGCCATTTTCATTATGTTCTTTCTATAGGAGCAGTATTTGCCATT
 ATAGCAGGATTCGTACATTGATATCCATTATTTACAGGGTTAACTATAAATCAAAAATT
 CTTAAAATTCAATTTTAAATTATATTCATTGGGGTAAATATAACATTTTTTCTCAGCA
 TTTTTTAGGTTTAAGAGGGATACCTCGTCGATATTCTGATTATCCTGATGCTTATATAA
 CCTGAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAAATTCATTAGTTAGAATTTTTGTATTTT
 TATTTATTATTTGAGATAGATTTGCATCAATGCGTAAATCAATTGGAACTTTAAATCTT
 CCTACTTCAATTGAATGATTACAAAAAATACCCCCAGCTGAACATAGATATGATGAAT
 TACCAATTTTAAACATCA-AATTT

Onthophagus sp4_SKA

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACTTTTGAACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGA
 TT-GCTAGGATTCATTGTAT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGAATAGATGTTGATACCCGAGCTTATTTACTTCAGCAACTATAATT
 ATTGCTGTACCAACTGGAATTAATTTTTAGATGATTGGCTACATTACATGGTATTCA
 AATAAATTATTCACCTTCTATAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTACAGTAGG
 GGGATTAACCTGGAGTAATCTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGACTCCATGATACTT
 ATTATGTTGTTGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCAGTATTTGCTATTATA
 GCAGGATTTGTACACTGATATCCTTTATTTACAGGATTAACAATAAATCAAAAATTTTT
 AAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTTCTCAACATTTT
 TTAGGATTAAGAGGAATACCCCGTCGTTATTCTGATTATCCAGATGCTTATGTAACCT
 GAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAAATTCATTAGTTAGAATTTTTGTATTTTTATT

TATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGTAATCAATTGGAACTTTAAATCTTCCCA
 CTTCAATTGAATGATTACAAAAAATGCCACCAGCCGAACATAGATATGATGAATTACC
 AATTTAACATCA-AATTT

Onthophagus sp5_PNA

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGA
 TT-GTTAGGATTCATTGTAT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGAATAGATGTTGATACCCGAGCTTATTTTACTTCAGCAACTATAATT
 ATTGCTGTACCAACTGGAATTAATTTTTCAGATGATTGGCTACATTACATGGTATTC
 AAATAAATTATTCACCTTCTATAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTACAGTAG
 GGGGATTAAGGTAATCTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGTACTCCATGATAC
 TTATTATGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCAGTATTTGCTATTAT
 AGCAGGATTTGTACACTGATATCCTTTATTTACAGGATTAACAATAAATCAAAAATTTT
 TAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTCTCAACATTT
 TTTAGGATTAAGAGGAATACCCCGTCGTTATTCTGATTATCCAGATGCTTATGTAECT
 TGAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAAATTTTCATTAGTTAGAATTTTTGTATTTTTAT
 TTATTATTTGAGATAGATTTTCATCTATACGTAATCAATTGGAACTTTAAATCTTCCCTA
 CTTCAATTGAATGATTACAAAAAATGCCACCAGCCGAACATAGATATGATGAATTACC
 AATTTAACATCA-AATTT

Onthophagus sp6_NRT

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-
 AAGAAAAAAGGAAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTATGCTATAATAGCAATTGGA
 TT-GCTAGGATTCATTGTAT-GAGCTCATCATA-
 TATTTACAATTGGAATAGATGTTGATACCCGAGCTTATTTTACTTCAGCAACTATAATT
 ATTGCTGTACCAACTGGAATTAATTTTTCAGATGATTGGCTACATTACATGGTATTCA
 AATAAATTATTCACCTTCTATAATTTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTACAGTAGG
 GGGATTAAGGTAATCTTAGCTAATTCATCAATTGATATTGTACTCCATGATACTT
 ATTATGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCAGTATTTGCTATTATA
 GCAGGATTTGTACACTGATATCCTTTATTTACAGGATTAACAATAAATCAAAAATTTT
 AAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATATAACATTTTTCTCAACATTTT
 TTAGGATTAAGAGGAATACCCCGTCGTTATTCTGATTATCCAGATGCTTATGTAECTT
 GAAATATTATTTTCATCTATTGGATCATTAAATTTTCATTAGTTAGAATTTTTGTATTTTTATT

TATTATTTGAGATAGATTTTCATCCATACGTAAATCAATTGGAACTTTAAATCTTCCCA
 CTTCAATTGAATGATTACAAAAAATGCCACCAGCCGAACATAGATATGATGAATTACC
 AATTTAACATCA-AATTT

***Onthophagus* sp7_RNG**

TAATTTCTCATATTATTAGTCAAGAAAG-AAGAAAAA-
 GAAACTTTTGGAACATTAGGAATAATTTACGCAATAATAGCTATTGGATT-
 ATTAGGATTTATTGTTT-GAGCTCATCACA-
 TATTTACTGTAGGAATGGATGTTGATACCCGAGCTTACTTCACATCTGCTACAATAAT
 TATTGCTGTCCCTACTGGAATTAATTTTTAGATGATTAGCTACTCTTCATGGAGCT
 CAATTAACACTATCCCATCAACTATTTGAGCATTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGT
 CGGAGGATTAACCTGGAGTAGTTTTAGCTAATTCTTCAATTGATATTGTTCTACATGAT
 ACATACTATGTAGTAGCACATTTCCACTATGTTCTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTAT
 TATAGCAGGATTTGTTTCATTGATACCCATTGTTTACTGGCCTTATTATAAACCAAAAAT
 TTTTAAAATTCAATTTTTAATTATATTTATTGGAGTTAATAACCTTTTTCCCTCAAC
 ATTTTCTAGGATTAAGAGGAATACCTCGACGTTATTCTGATTACCCAGACGCTTATAC
 TACATGAAATATTATTTTCATCAATTGGTCTTTAATTTCTCTAATCAGAATTTTTTTATT
 TTATTTATTATTTGAGATAGATTCTCTTCTATACGAAAATCTATTGGTGCATTAATTTA
 CCTACATCAATTGAATGAATACAAAAAATACCCCTGCTGAACACAGATATGATGAAC
 TTCCAATTTTAACTTCT-AATTT

Outgroups

***Copris punctulatus*_TRG**

TATTTTTCCATATTATTAGTCA-GAAAG-AAGAAAAAAGAA-
 CTTTTGGAACTTTAGGAATAATTTATGCAATATTAGCAATTGGGTTTATTAGGGATTAT
 TTGTTTGACCCCATCATAATTTACGGTAGGAATAGAGGTAGATACACGAGCATATT
 TTACTTCAGCAACATAAATTATGGCAGTCCCAACTGGAATTAATTTTTAGATGATTA
 GCTACTCTCCATGGAACACAACCTAAATTATTCTCCTTCTTTAATTTGAGCTTTAGGATT
 TGTATTTTTATTACAGTTGGGGGATTAACCTGGAGTAGTTTTAGCAAACCTCATCTATTG
 ATATTGTTTTACATGATACATATTATGTTGTAGCTCATTTCCATTATGTATTATCTATAG
 GAGCAGTATTTGCAATTATAGCAGGATTTATCCATTGATTCCCCCTATTTACTGGATT
 AACTATAAATAATAAATTATTAATAAATTCAATTCCTAATCATATTTATTGGAGT-
 AATATAACTTTTTTCCCC-AACATTTTT-AGGAT-AAGAGGA-

TACCTCGACGATATTCAGACTATCCTGATGCTTAC-TAACATGAAA-ATAATT-
CTTCTAT-GGATCCT-AATCTCATAG--TAGAATTTT---CTATTTTATTATTATT---
GAGAAGATTATCTCT-TACGAAATC--ATTAGT-CATTAA-TATACC-ACCTCAATCGA-
TGATTACA-TCAATACC-CCTGC-GAACAT-CATACGAGAA--TTCCTAT-CTAACAA-
TTAAATC

***Copris reflexus*_TRG**

TAATCTCCCATATTATTAGACAAGAAAG-
AAGAAAAAAGAAACATTTGGAACTTTAGGTATAATTTATGCAATAATAGCAATTGGAT
T-ACTAGGATTTATT-GTATGAGCACATCATA-
TATTTACAGTAGGTATAGATGTAGATACTCGGGCCTATTTTACTTCAGCTACAATAATT
ATTGCAGTTCCTACTGGAATTAATAATTTTTAGATGATTAGCTACTCTCCATGGAACAC
AATTTAATTATTCTCCTTCTTTAATCTGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTACAATTG
GGGGCTTAACTGGAGTTGTTTTAGCAAACCTCCTCTATTGACATTGTTTTACATGATAC
ATATTATGTTGTAGCTCATTTCATTATGTATTATCTATAGGAGCTGTATTTGCAATTA
TAGCAGGATTCATCCACTGATTCCCCCTATTTACTGGATTAGTTATAAATAATAAATTA
CTAAAAATTCAATTCCTAATCATATTTATTGGAGTTAATAAATTTTTTCCCCAACAT
TTTTTAGGATTAAGAGGAATACCTCGACGATATTCAGACTATCCTGATGCTTATGTAA
CATGAAATATAATTTCTTCTATCGGATCCTTAATCTCAATGGTTAGAATTTTTCTCTTTT
TATTTATTATTTGAGATAGATTTATCTCTATACGAAAATCAATTAGTTCACTAAATATAC
CTACCTCAATCGAATGATTACAATCTATACCACCTGCAGAACATTCATACCAAGAACT
TCCTATACTAACAAATTAAT

ภาคผนวก4 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน 16S ความยาว 350 คู่เบส

Onthophagus babirusa1_SKA

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAGTTTAATTAGAATTTTA
TTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
ATTTTAGTAATTTTTTATTTAG--TTTAAGAATTTAATTTTAGAATTAATT-
ATAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAAATTAATAAACTTTTTTTATTTA--
TTAAACATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTATT-
AATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus babirusa2_PNA

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAGTTTAATTAGAATTTTA
TTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
ATTTTAGTAATTTTTTATTTAG--TTTAAGAATTTAATTTTAGAATTAATT-
ATAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAAATTAATAAACTTTTTTTATTTA--
TTAAACATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTATT-
AATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus babirusa3_SNI

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAGTTTAATTAGAATTTTA
TTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
ATTTTAGTAATTTTTTATTTAG--TTTAAGAATTTAATTTTAGAATTAATT-
ATAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAAATTAATAAACTTTTTTTATTTA--
TTAAACATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTATT-
AATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus babirusa4_TRG

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAGTTTAATTAGAATTTTA
TTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT

ATTTTAGTAATTTTTATTTAG--TTAAGAATTTAATTTTAGAATTAATT-
 ATAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAAATTAATAAACTTTTTTATTTA--
 TTAAACATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTATT-
 AATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus babirussa5_SNI

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAGTTTAATTAGAATTTTA
 TTTTAAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTTTAGTAATTTTTATTTAG--TTAAGAATTTAATTTTAGAATTAATT-
 ATAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAAATTAATAAACTTTTTTATTTA--
 TTAAACATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTATT-
 AATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGTTAA

Onthophagus babirussa6_NRT

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAGTTTAATTAGAATTTTA
 TTTTAAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTTTAGTAATTTTTATTTAG--TTAAGAATTTAATTTTAGAATTAATT-
 ATAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAAATTAATAAACTTTTTTATTTA--
 TTAAACATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTATT-
 AATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus borneensis1_PNA

GCCGCGATAACCTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAATACTGTCTCAATTTTATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-GTTAATATATTTTTTAG--TTAAGAATTTAATTTTAGAATTTATT-
 AATTAGTATTTGGTTGGGGTGATTGGAAAATTTAATAAACTTTTTTTAATT--TAA-
 ACCATTGATATATGATTAATTGATCCATTTTT-
 TATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGAAAA

Onthophagus borneensis2_TRG

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAAAATACTGTCTCAATTTTATTT-
 AATTAGAATTTTATTTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAATTTTAAAAGACGAGAAGACCC
 TATAGAGTTTTATATTT-ATTAATGTATTTTTTAG--
 TTTTAGAATTTAATTTTAGAATATATT-
 AATAAATATTTGGTTGGGGTGATTGGAAAATTAATAAACTTTTTTTTATTA-TTG-
 AACATTGATATATGATTAATTGATCCATTTTTATATGATTATAAGATTAATTACCTTAG
 GGATAA

Onthophagus borneensis3_TRG

GCCGCGATAACCTGATCGTGCAA-
 GG TAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACTGGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAA
 AACTGTCTCAATTTTATTTAATTAGAATTTTATTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATT
 TTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATATTT-GTTAATATATTTTTTAG--
 TTTAAGAATTTAATTTTAGAATTTATT-
 AATTAGTATTTGGTTGGGGTGATTGGAAAATTAATAAACTTTTTTTAATT--TAA-
 ACCATTGATATATGATTAATTGATCCATTTTT-
 TATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus taurinus1_CPN

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAAAAAAATCTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTTTTATT-TTTATTTTTTAG--TTTAAGGATTTAATTTTGAGATTAATT-
 TAAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAATAAACTTTTTTTATTTAAGTAAAC
 ATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTAGT-
 TATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus taurinus2_CPN

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAAAAAAATCTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTTTTATT-TTTATTTTTTAG--TTTAAGGATTTAATTTTGAGATTAATT-

TAAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAAAAAATTAAAAAAAGCTTTTTTTATTTAAGTAAAC
 ATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTAGT-
 TATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus taurus3_NRT

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAAAAATCTGTCTCAATTTAAATTTGATTAGAATTTTA
 TTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTTTTATC-TTTATTTTTTAG--TTTAAGAATTTAATTTTTAAAATTAATT-
 TAAAAATATTTGGTTGGGGTGATTAAAAAATTAATAAAAGCTTTTTTTATTTAAAATATAC
 ATTGATTTATGATTAAGTGATCCATTAGT-
 TATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus orientalis1_SKA

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAGGGTGCACGAGAAAAGACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTA
 TTTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTT-ATTTATTTATTTTTTAG--TTTTAGAATTTAATTTTTAAAATTTATA-
 ATTAATATTTGGTTGGGGCGATTAAAAAATTGAATAAACTTTTTTTTATTT-
 ATTTAACATTAATATATGATTAAGTGATCCATAAAT-
 AATGATTAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus orientalis3_SKA

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAGGGTGCACGAGAAAAGACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTA
 TTTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTT-ATTTATTTATTTTTTAG--TTTTAGAATTTAATTTTTAAAATTTATA-
 ATTAATATTTGGTTGGGGCGATTAAAAAATTGAATAAACTTTTTTTTATTT-
 ATTTAACATTAATATATGATTAAGTGATCCATAAAT-
 AATGATTAAGATTAATTACCTTAGGGTTAA

Onthophagus rugicollis1_SKA

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGCACGAGAAAAAAGCTGTCTCAATTTAATTTAATTAGAATTTTAT

TTTTAAGTAAGAAAGCTTAAATAATTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-ATTTATATATTTTTTTAG--TTTTAGAATTTTATTTTAAAATTTATA-
 TTTAAGTATTTGGTTGGGGTGATTGAAAAATTTAATAAACTTTTTTTAAAAA-TTT-
 AACATTAATAAATGATTAATTGATCCATAAAT-
 AATGATTA AAAAGATTA AATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus rugicollis2_RNG

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTA
 TTTTTAAGTAAAAAAGCTTAAATAATTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTT-ATTTATTTATTTTTTTAG--TTTAAGAATTTAATTTTAAAATTTATA-
 AATAAGTATTTAGTTGGGGTGACTAAAAAATTGAATTAACCTTTTTTTATTAA-
 TTTAACATTAATTAATGATTA AATGATCCATAAAT-
 TATGATTA AAAAGATTA AATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus rugicollis3_TRG

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGACGAGAAAAAAACTGTCTCAATTTAATTTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAGAAAGCTTAAATAATTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-ATTTATATATTTTTTTAG--TTTTAGAATTTTATTTTAAAATTTATA-
 TTTAAGTATTTGGTTGGGGTGATTGAAAAATTTAATAAACTTTTTTTAAAAA-TTT-
 AACATTAATAAATGATTAATTGATCCATAAAT-
 AATGATTA AAAAGATTA AATTACCTTAGGAAAAA

Onthophagus rugicollis4_RNG

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTA
 TTTTTAAGTAAAAAAGCTTAAATAATTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTT-ATTTATTTATTTTTTTAG--TTTAAGAATTTAATTTTAAAATTTATA-
 AATAAGTATTTAGTTGGGGTGACTAAAAAATTGAATTAACCTTTTTTTATTAA-
 TTTAACATTAATTAATGATTA AATGATCCATAAAT-
 TATGATTA AAAAGATTA AATTACCTTAGGGATAA

TTTTTAAGTTAAAAAGCTTAAATATTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTT-ATATTTATATTTTT-AA--TTAAGAATT-
 TTATAAAAAAATTTTTATATAGATATTTAATTGGGGTGATTGGAAAATTAATAAACTTT
 TCTTAAATA-TTT-TACATTAATAAATGAATATATGATCCATATTT-
 TATGATTATAAGATTAATTACCTTAGGATAAA

Onthophagus sp1_RNG

GCTGCGATAGTTTGATCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAACTGTCTCAATTTAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAAATTTTAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-AATAATTTATTTTTTAG--TTTTAGAATTAATATTTAAAATTGATT-
 ATTATATATTTAATTGGGGTGATTAAAAAATTAATAAACTTTTTTTATAAA-TTT-
 AACATTAATAAATGATTAAGTGATCCATATTT-
 AATGATTAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus sp2_SNI

GCTGCGATAGTTTGATCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAACTGTCTCAATTTAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAAATTTTAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-AATAATTTATTTTTTAG--TTTTAGAATTAATATTTAAAATTGATT-
 ATTATATATTTAATTGGGGTGATTAAAAAATTAATAAACTTTTTTTATAAA-TTT-
 AACATTAATAAATGATTAAGTGATCCATATTT-
 AATGATTAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

Onthophagus sp3_SNI

GCTGCGATAGTTTGATCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGGAACGAGAAAAAACTGTCTCAATTTAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAAATTTTAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-AATAATTTATTTTTTAG--TTTTAGAATTAATATTTAAAATTGATT-
 ATTATATATTTAATTGGGGTGATTAAAAAATTAATAAACTTTTTTTATAAA-TTT-
 AACATTAATAAATGATTAAGTGATCCATATTT-
 AATGATTAAGATTAATTACCTTAGGGATAA

***Onthophagus* sp4_SKA**

GCTGCGATAGTTTGATCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAAAAACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAAAAAGCTTAAATAAATTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-ATGGGTTTATTTTTTAG--
 TTTTAGAATTAGTGTTTAAAATTAATTTATTAAATATTTAATTGGGGTGATTAAAAAATT
 AAATGAACTTTTTTTATAAA-TTT-AACATTAATAAATGAATAAGTGATCCATATTT-
 AATGATTA AAAAGATTAAATTACCTTAGGGATAA

***Onthophagus* sp5_PNA**

GCTGCGATAGTTTGATCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAAAAACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAAAAAGCTTAAATAAATTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-ATGGGTTTATTTTTTAG--
 TTTTAGAATTAGTGTTTAAAATTAATTTATTGAATATTTAATTGGGGTGATTAAAAAATT
 AAATGAACTTTTTTTATAAA-TTT-AACATTAATAAATGAATAAGTGATCCATATTT-
 AATGATTA AAAAGATTAAATTACCTTAGGGATAA

***Onthophagus* sp6_NRT**

CCTGCGATAGTTTGATCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAAAAACTGTCTCAATTTAAATTTAATTAGAATTTTAT
 TTTTAAGTAAAAAAGCTTAAATAAATTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTATA
 TTT-ATGGGTTTATTTTTTAG--
 TTTTAGAATTAGTGTTTAAAATTAATTTATTAAATATTTAATTGGGGTGATTAAAAAATT
 AAATGAACTTTTTTTATAAA-TTT-AACATTAATAAATGAATAAGTGATCCATATTT-
 AATGATTA AAAAGATTAAATTACCTTAGGGATAA

***Onthophagus* sp7_RNG**

GCCGCGATAATTTGATCGTGCAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTCCCAATTAGGAACT
 GGAATGAAAGGTGCGAACGAGAAAAAGACTGTCTCAATTTAATTTAATTAGAATTTTA
 TTTTAAGTTAAAAAAGCTTAAATTTTTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
 ATTT-ATTTTTTAATTTTT-AA--
 TTTTAGAATTATTTTTATAGAATTAATTTGTAATATTTGATTGGGGTGATTGGAAAATT

AAATAAACTTTTCTTTTTTA-TAA--ACATTAATAAATGAATTGATGATCCATAATT-
TATGATTA AAAAGATTA AATTACCTTAGGGATAA

Outgroups

*Copris punctulatus*_TRG

GCTGCGGTATTTTGACCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTAATTGAGA
ACT
GGAATGAATGGCTGAACGAGAAAAAGCTGTCTCAAATTAATTTAGATTTGAATTTAA
TTTTTAAGTAAAAAGCTTAAATAATTTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTTAT
ATTATTATTATTTATTA AAA-----TTAAAGTATTATATTTTATAATAAAA---
AAATAATATTTAATTGGGGTGATTA AAAAATTTAATTA ACTTTTTTTATAT---
TATTACATTGATATATGATTAATTGATCCATTTATTA-
TGATTATAAGATTA AATTACCTTAGGGATAA

*Copris reflexus*_TRG

GCTGCGGTATTTTGACCGTACAAAGGTAGCATAATAATTAGTTTTTTGATTGAGA
ACT
GGAATGAAGGGTTCGAACGAGAAAAATACTGTCTCAATTTAATTTAAAATTGAATTTA
TATTTAAGTAAAAAGCTTAAATAATCTTAAAAGACGAGAAGACCCTATAGAGTTTAAT
ATTAATTTTAATTTTAAAAA----TTTAGGAATTTAATTTTAAAATTAG---
AATTAGTATTTAGTTGGGGTGACTAAAAAATTGATTA ACTTTTTTTATAT---
TAAAACATTGATTTATGAATAATTGATCCATTATTA-
TGATTATAAGTTTAAATTACCTTAGGGATAA

ภาคผนวก5 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดั่งมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน Cyt b ความยาว 350 คู่เบส

Onthophagus babirusa1_SKA

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACTC
GATTTTTTACATTACACTTCTTACTACCTTTTATTGTAAGTACTGCTATAGTATTAATTCATT
TATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAATCCTTTAGGGACAAATAGAAATATTGAT
AAATCACCATTTTCATCCTTATTTTTTATTAAAAGACTCAGTAGGTTTTATTATTTAATA
ATAATTTTAATATTATTAGTTCTTATTAATCCTTATATACTTGGAGACCCAGATAATTTT
ACCCCAGCAAATCCCTTAGTTACACCAGTTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus babirusa2_PNA

AATATAATTGTACAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACAC
GATTTTTTACTCTTCATTTTCTTTTACCTTTTATTGTAAGTACTGCAATAATTCTAATTCATTT
ATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCATTAGGAACTAATAGAAATATTGATA
AATCCCATTTTCATCCTTATTTTTTATTAAAAGACTCAGTAGGATTTATTACTATAACA
ATAATTTTAATATTATTAGTACTAATTAACCCCTTATATACTAGGAGATCCAGATAATTTTC
ACCCCAGCTAACCCATTAGTTACACCTGTACATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus babirusa3_SNI

AATATAATTGTACAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACAC
GATTTTTTACTCTTCATTTTCTTTTACCTTTTATTGTAAGTACTGCAATAATTCTAATTCATTT
ATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCATTAGGAACTAATAGAAATATTGATA
AATCCCATTTTCATCCTTATTTTTTATTAAAAGACTCAGTAGGATTTATTACTATAACA
ATAATTTTAATATTATTAGTACTAATTAACCCCTTATATATTAGGAGATCCAGATAATTTTC
ACCCCAGCTAACCCATTAGTTACACCTGTACATATTCAACCTGAATGATCTTT

Onthophagus babirusa4_TRG

AATATAATTGTACAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACAC
GATTTTTTACTCTTCATTTTCTTTTACCTTTTATTGTAAGTACTGCAATAATTCTAATTCATTT
ATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCATTAGGAACTAATAGAAATATTGATA
AATCCCATTTTCATCCTTATTTTTTATTAAAAGACTCAGTAGGATTTATTACTATAACA
ATAATTTTAATATTATTAGTACTAATTAACCCCTTATATATTAGGAGATCCAGATAATTTTC
ACCCCAGCTAACCCATTAGTTACACCTGTACATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus babirussa5_SNI

AATGTAATTGTACAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACAC
 GATTTTTTACTCTTCATTTTCTTTTACCTTTTATTGTAAGTGAATAATTCTAATTCATTT
 ATTATTCCTTCATCAAACGGGATCTAATAACCCATTAGGAACTAATAGAAATATTGATA
 AATCCCCATTTTCATCCTTATTTTTTCATTAAGACTCAGTAGGATTTATTACTATAACA
 ATAATTTTAATATTATTAGTACTAATTAACCCTTATATACTAGGAGATCCAGATAATTTTC
 ACCCCAGCTAACCCATTAGTTACACCTGTACATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus babirussa6_NRT

AATATAATTGTACAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACAC
 GATTTTTTACTCTTCATTTTCTTTTACCTTTTATTGTAAGTGAATAATTCTAATTCATTT
 ATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCATTAGGAACTAATAGAAATATTGATA
 AATCCCCATTTTCATCCTTATTTTTTCATTAAGACTCAGTAGGATTTATTACTATAACA
 ATAATTTTAATATTATTAGTACTAATTAACCCTTATATACTAGGAGATCCAGATAATTTTC
 ACCCCAGCTAACCCATTAGTTACACCTGTACATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus borneensis1_PNA

CATATAATTGTTCA-
 TGACTTTGGGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCAACTTTAACCCGATTTTTTGCTCTTC
 ATTTTCTTTTACCTTTTATTATTGCAGCAATAGTTATAATTCATTTATTATTTCTTCATCA
 AACAGGATCAAATAATCCTTTAGGAACAAATAGAAATATTGATAAATCCCCTTTCCAT
 CCTATTTTTCTTTGAAAGACTCAGTAGGTTTTATTTTATTAATAATAATCCTAATATTT
 CTAGTTTTAATAAACCTTATATATTAGGTGATCCAGATAATTTTGTCCCAGCAAATCC
 CTTAGTAACTCCTATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus borneensis2_TRG

CATATAATTGTTCAATGACTTTGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCAACTTTAACAC
 GATTTTTTGCTTTACATTTTTTATTACATTTATTATTGCAGCAATAGTTATAATTCATT
 TATTATTTCTTCATCAAACGGATCAAATAATCCTTTAGGAACTAATAGAAATATTGAT
 AAATCCCCCTTTACCCATATTTTTCTTTAAAGATTCTGTTGGATTTATTATATTAATA
 ATAATTTTAATATTTTTAGTTTTAATAAATCCTTATATACTTGGAGATCCTGATAATTTT
 GTTCCAGCTAATCCTTTAGTAACTCCTATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus borneensis3_TRG

CATATAATTGTTCA-

TGACTTTGGGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCAACTTTAACCCGATTTTTTGCTCTTC
 ATTTTCTTTTACCTTTTATTATTGCAGCAATAGTTATGATTCATTTATTATTCTTCATC
 AAACAGGATCAAATAATCCTTTAGGAACAAATAGAAATATTGATAAATCCCCTTTCCAT
 CCTTATTTTTCTTTGAAAGACTCAGTAGGTTTTATTTACTAATAATAATCCTAATATTT
 CTAGTTTTAATAAACCTTATATATTAGGTGATCCAGACAATTTTGTCCCAGCAAATCC
 CTTAGTAACTCCTATTTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus taurus1_CPN

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCCACATTAACAC
 GATTTTTTGCTCTCCATTTTCTCCTACCTTTTATTGTAAGTCAATAATCCTTATCCAC
 TTATTATTCCTTCATCAAACCTGGATCAAATAATCCTTTAGGAACTAATAGTAATATTGA
 CAAATCCCCATTTACCCCTTATTTTTCCCTTAAAGATTCAGTAGGATTTATTACCATAA
 CAATAATTTTAATACTATTAGTATTAATTAATCCCTATATACTAGGAGATCCTGATAATT
 TTACCCAGCCAATCCTTTAGTTACTCCAATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus taurus2_CPN

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCCACATTAACAC
 GATTTTTTGCTCTCCATTTTCTCCTACCTTTTATTGTAAGTCAATAATCCTTATCCAC
 TTATTATTCCTTCATCAAACCTGGATCAAATAATCCTTTAGGAACTAATAGTAATATTGA
 CAAATCCCCATTTACCCCTTATTTTTCCCTTAAAGATTCAGTAGGATTTATTACCATAA
 CAATAATTTTAATACTATTAGTATTAATTAATCCCTATATACTAGGAGATCCTGATAATT
 TTACCCAGCCAATCCTTTAGTTACTCCAATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus taurus3_NRT

AATATAATTGTTCAATGACTATGGGGGGGATTTGCAGTTGATAATGCTACATTAACAC
 GATTTTTTGCTCTCCATTTTCTTCTACCTTTTATTGTAAGTCAATAATCCTTATCCACT
 TGTTATTTCTTCATCAAACAGGATCAAATAATCCATTAGGAACAAATAGTAATATTGAT
 AAATCTCCATTTTCATCCTTATTTTTCTTTAAAGGATTCTGTAGGATTTATTATTATAACA
 ATAATTTTAATAGTATTAGTATTAATTAATCCCTATATACTAGGGGACCCTGATAATTT
 TACTCCAGCTAATCCTTTAGTTACCCAGTTTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus orientalis1_SKA

AATATAATTGTACAATGATTATGAGGAGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACAC
 GATTTTTTACTCTTCATTTTTCTTTTACCTTTTATTGTAAGTGAATAATTCTAATTCATTT
 ATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCATTAGGAACTAATAGAAATATTGATA
 AATCCCATTTTCATCCTTATTTTTCGTTAAAAGACTCAGTAGGATTTATTACTATAACA
 ATAATTTTAATATTATTAGTACTAATTAACCCTTATATATTAGGAGATCCAGATAATTTT
 ACCCCAGCTAACCCATTAGTTACACCTGTACATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus orientalis3_SKA

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGGGGATTTGCTGTTGATAATGCTACTTTAACTC
 GATTTTTTACATTACACTTCTTACTACCTTTTATTGTAAGTGAATAATTCTAATTCATT
 TATTATTCCTTCATCAAACAGGATCTAATAATCCTTTAGGGACAAATAGAAATATTGAT
 AAATCACCATTTTCATCCTTATTTTTTATTAAAAGACTCAGTAGGTTTTATTATTTAATA
 ATAATTTTAATATTATTAGTTCTTATTAATCCTTATATACTTGGAGACCCAGATAATTTT
 ACCCCAGCAAATCCCTTAGTTACACCAGTTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus rugicollis1_SKA

AACATAATTGTTCAATGACTATGAGGAGGTTTTGCAGTAGATAATGCTACTTTAACTC
 GATTTTTTGCATTACATTTTTTATTACCTTTTATTGTTGCAGCAATAGTATTAATCCATT
 TACTATTTCTTCATCAAACAGGATCAAATAATCCTTTAGGAACAAATAGAAATATTGAT
 AAATCGCCATTTTCATCCTTATTTCTCATTAAAAGATTTCAGTAGGATTTATTATTTAATA
 ATAATTTTAATATTATTAGTCCTTATTAATCCTTATATATTAGGAGATCCTGATAATTTT
 ATTCCAGCTAATCCTTTAGTAACCCCAATTCACATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus rugicollis2_RNG

AATATAATTGTTCA-
 TGATTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCTACTTTAACTCGATTTTTTGCCTTAC
 ATTTTTTATTACCTTTTATTGTAGCAGCTATAGTTATAATTCACCTTTTATTTCTTCATC
 AAATGGATCTAATAACCCCTTAGGAACTAATAGAAATATTGATAAATCCCATTTTCAT
 CCTATTTTTTATTAAAAGATGCAATAGGATTTATTATTCTAATAATAATTTTAATATTT
 CTTGTATTAATTAATCCTTATATATTAGGAGATCCTGATAATTTTGCACCAGCCAATCC
 TTTAGTTACTCCAATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus rugicollis3_TRG

AACATAATTGTTCAATGACTATGAGGAGGTTTTGCAGTAGATAATGCTACTTTAACTC
 GATTTTTTGCATTACATTTTTTTATTACCTTTTATTGTTGCAGCAATAGTATTAATCCATT
 TACTATTTCTTCATCAAACAGGATCAAATAATCCTTTAGGAACAAATAGAAATATTGAT
 AAATCACCATTTTCATCCTTACTTCTCATTAAAAGATTTCAGTAGGATTTATTATTTAATA
 ATAATTTAATATTATTAGTCCTTATTAATCCTTATATATTAGGAGATCCTGATAATTTT
 GTTCCAGCTAATCCTTTAGTAACCCCAATTCACATTCAACCTGAATGATCTTT

Onthophagus rugicollis4_RNG

AATATAATTGTTCA-
 TGATTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCTACTTTAACTCGATTTTTTGCCTTAC
 ATTTTTTATTACCTTTTATTGTAGCAGCTATAGTTATAATTCACCTTTTTATTCTTCATC
 AAAGTGGATCTAATAACCCCTTAGGAACTAATAGAAATATTGATAAATCCCCATTTTCAT
 CCTATTTTTTCATTAAAAGATGCAATAGGATTTATTATTCTAATAATAATTTAATATTT
 CTTGTATTAATTAATCCTTATATATTAGGAGATCCTGATAATTTTGCCCCAGCCAATCC
 TTTAGTTACTCCAATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus maniti1_SNI

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGGGGATTTGCAGTAGATAATGCCACTTTAACCC
 GATTTTTTGCATTACATTTTTTTATTACCTTTTATTGTAGCTGCTATAGTTTTAATTCATT
 TATTGTTTCTTCACCAAACAGGATCAAATAACCCCTTAGGAACAAATAGAAATATTGA
 CAAATCCCCATTTTCATCCTTATTTTTTCATTAAAAGATTTCAGTAGGATTTATTATTATAAT
 AATAATTTAATATTATTAGTTCTAATAAATCCTTATATATTAGGAGATCCAGATAATTT
 TTCTCCAGCTAACCATTAGTCACACCAATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus maniti2_RNG

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGGGGATTTGCAGTAGATAATGCCACTTTAACCC
 GATTTTTTGCATTACATTTTTTTATTACCTTTTATTGTAAGTCTGCTATAGTTTTAATTCATT
 ATTGTTTCTTCACCAAACAGGATCAAATAACCCCTTAGGAACAAATAGAAATATTGAC
 AAATCCCCATTTTCATCCTTATTTTTTCATTAAAAGATTTCAGTAGGATTTATTATTATAATA
 ATAATTTAATATTATTAGTTCTAATAAATCCTTATATATTAGGAGATCCAGATAATTTT
 TCTCCAGCTAACCATTAGTCACACCAATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

***Onthophagus seniculus*_TRG**

TACATAATTGTTCAATGATTATGAGGGGGGATTTGCAGTTGATAATGCAACTCTTAATC
 GATTCTTTGCTTTACATTTTTTAATACCATTTCATTGTAGCAGCTTTAGTAATGATTAC
 TTAATAATTTCTTCATCAAACAGGATCTAATAATCCTTTAGGAACAAACAGAAATATCGA
 TAAATCTCCTTTCCATCCTTACTTTTTCCCTAAAAGATTCAGTAGGATTTATTATTTTAA
 GCATAATCTTAATATTACTTGTTCTTATCAATCCTTACATACTTGGGGATCCAGACAAT
 TTTATTCCAGCTAATCCTTTAGTAACACCAATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

***Onthophagus uenoi*_SNI**

TATATAATTGTTCAATGACTCTGAGGAGGATTTGCAGTTGACAATGCAACCTTAACTC
 GATTCTTTGCTCTTCATTTTTTAATACCATTTATTATTGCAGCAATAGTAATAATTCATC
 TCCTATTTCTCCACCAAACAGGATCTAATAACCCTCTTGGAATAAATAGTAATATTGA
 CAAATCCCCTTTTCATCCATATTTTTCTTTAAAAGATTCTGTCCGATTTATTATTTTAA
 TATAATTTTAAATTTTATTAGTTCTTATCAATCCTTATATACTTGGAGATCCTGATAATTT
 TTCTCCTGCAAATCCCCTAGTAACTCCAGTTCATATTCAACCTGAATGATACTT

***Onthophagus vulpes*_SNI**

AATATAATTGTTCAATGATTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCTACCTTAACTC
 GATTTTTTGCATTACATTTTTTATTACCTTTTTATTGTAGCAGCCATAGTCTTAATTCATC
 TTTTATTTCTCCATCAAACAGGATCAAACAACCCCTTAGGAACAAATAGAAATATTGAT
 AAATCCCATTTCATCCTTATTTTTTATTAAAAGATTCAGTAGGATTTATTATTTTAA
 ATAATTTTAAATATTATTAGTTCTTATTAATCCTTATATACTTAGAGACCCAGATAATTTT
 GTTCCTGCTAATCCTTTAGTAACCCAGTACACATTCAACCTGAATGATATTT

***Onthophagus laevis*_TRG**

AATATAATTGTTCAATGATTATGGGGGGGCTTTGCTGTTGACAATGCCACCTTAAACC
 GATTTTTTGGCCCTCCACTTTCTAATACCATTTATTGTAGCTGCAATAATTCTAATTCAT
 CTCCTTTTTCTCCATCAAACAGGATCTAACAATCCCCTAGGAACAAACAGAAACATTG
 ACAAACCTCCCTTCCATCCTTATTTTTCTCTAAAAGATTCAGTCCGATTTATTATTCTT
 TTAATAATCATTATACTATTAGTATTAATAAATCCCTACCTTCTTGGAGATCCCGATAA
 TTTTGTACCTGCAAATCCTCTTGCTACTCCTATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus pedator_SKA

AATTTAATTGTTCAATGATTATGAGGAGGATTTGCAGTAGATAATGCTACATTAACTC
 GATTTTTTGCCTACATTTTCTTACCTTTTATTGTCTCAGCAATAGTTATAATTCCT
 TACTATTTCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCCTTAGGAACAAACAGTAATATTGAT
 AAATCCCATTCCATCCTTACTTCTCATTCAAGGATTCTGTAGGATTTATTACTTTAAT
 AATGATTCTTATATTTCTTGTACTTATAAATCCCTATATATTAGGAGATCCTGATAATTT
 TGTACCAGCTAACCCATTAGTAACCCCTATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus phanaeides_NRT

AATATGATTGTCCAATGACTATGAGGGGGATTTGCAGTTGATAATGCAACTCTTACTC
 GATTTTTTGCTTTACATTTTCTTCTACCTTTTATTGTTTCAGCTATAGTAATAATTCATT
 TATTATTTCTACATCAAACAGGATCAAATAACCCCTTAGGAACAAATAGAAATATTGAT
 AAATCCCATTTCATCCTTATTTTTTATTCAAGACTCAATTGGATTTATTATTTAATA
 ATAATTATTATATTTTTAGTATTAATCAACCCCTATATACTTGGGGACCCAGATAATTT
 TGTCCAGCTAACCCCTTAGTTACTCCTATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus sp1_RNG

AATTTGATTGTTCAATGATTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAACGCTACTTTAACTC
 GATTTTTCGCATTACATTTTTTTATTACCTTTTATTGTTTCAGCAATAGTAATAATTCCT
 TACTTTTTCTTCATCAAACAGGATCTAATAACCCCTTAGGAACAAATAGAAATATTGAT
 AAATCCCATTTCATCCTTATTTTTCTTTAAAGATTGAGTTGGATTTATTACTTTAATA
 ATAATTCTTATATTTCTTGTCTTATTAATCCTTATATACTAGGAGATCCTGATAATTTT
 GTACCAGCAAATCCTTTAGTAACCCCTATCCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus sp2_SNI

AATCTTATGATTCAATGACTATGAGGGAGATATGCAGTTGATAATGCTACTTTAACTC
 ACTTCTTTACATTACATTTCTTTTTACCTTTTATTGTATCAGCAATAGTAATAATTCATT
 TATTATTCCTTCATCAAACGGGTTCTAATAATCTCCTAGGAACAAATAGTAATATTGAT
 AAATCCTATTTACACATATTTCTCATTTAAGGATTGAGTAGGATTTATTATTTAATA
 A-----
 GCCTCATGTATTAAGTAATCCTGATAATTTTTCCCAACTAACCTTTTAGTAGCACCTA
 TTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus sp3_SNI

AATCTTATGATTCAATGACTATGAGGGAGATATGCAGTTGATAATGCTACTTTAACTC
 ACTTCTTTACATTACATTTCTTTTTACCTTTTATTGTATCAGCAATAGTAATAATTCATT
 TATTATTCTTCATCAAACGGGTTCTAATAATCTCCTAGGAACAAATAGTAATATTGAT
 AAATTCCTATTTACACATATTTCTCATTTAAGGATTCAGTAGGATTTATTATTTAATA
 ATAA-----
 GCCTCATGTATTAAGTAATCCTGATAATTTTTCCCAACTAACCTTTTAGTAGCACCTA
 TTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus sp4_SKA

AGTCTAATTGTACAATGACTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCAACTTTAACTC
 GATTTTTGCATTACATTTCTTTTACCTTTTATTGTAGCAGCAATAGTAATAATTCATT
 TATTATTTCTTCATCAAACGGATCTAATAATCCTTTAGGAACAAATAGTAATATTGAC
 AAATCCCATTTCATCCTTATTTTTCTTTAAAGACTCAGTCGGATTTATCACTTTAATA
 ATAATCCTTATATTTCTTATTCTTATTAACCCATATATACTAGGAGATCCTGATAATTTT
 GTCCCTGCTAATCCTTTAGTAACTCCTATCCATATTCAACCTGAATGATACTT

Onthophagus sp5_PNA

AG-
 CTAATTGTACAATGACTATGAGGAGGATTTGCGGTTGATAATGCAACTTTAACTCGAT
 TTTTGCATTACATTTCTTTTACCTTTTATTGTAGCAGCAATAGTAATAATTCATTTAT
 TATTTCTTCATCAAACGGATCTAATAATCCTTTAGGGACAAATAGTAATATTGACAAA
 TCCCATTTCATCCTTATTTTTCTTTAAAGACTCAGTTGGATTTATCACTTTAATAATA
 ATCCTTATATTTCTTGTTCTTATTAACCCATATATACTAGGAGATCCTGATAATTTTGT
 CCCTGCTAATCCTTTAGTAACTCCTATTCATATTCAACCTGAATGATATTT

Onthophagus sp6_NRT

AGTCTAATTGTACAATGACTATGAGGAGGATTTGCAGTTGATAATGCAACTTTAACTC
 GATTTTTGCATTACATTTCTTTTACCTTTTATTGTAGCAGCAATAGTAATAATTCATT
 TATTATTTCTTCATCAAACGGATCTAATAATCCTTTAGGAACAAATAGTAATATTGAC
 AAATCCCATTTCATCCTTATTTTTCTTTAAAGACTCAGTCGGATTTATCACTTTAATA
 ATAATCCTTATATTTCTTGTTCTTATTAACCCATATATACTAGGAGATCCTGATAATTTT
 GTCCCTGCTAATCCTTTAGTAACTCCTATCCATATTCAACCTGAATGATATTT

***Onthophagus* sp7_RNG**

TATATAATTGTCCAATGATTATGGGGAGGATTTGCGGTAGATAATGCCACTTTAACCC
 GATTTTTTGCACCTTCACTTTCTTCTTCCTTTTATTATTTTCAGCAATAGTTATAATTCACT
 TATTATTTCTTCATCAAACCTGGATCTAATAACCCTTTAGGAACTAATAGCAATATTGAT
 AAATCCCCCTTCCATCCTTACTTTTCATTTAAGGATTCTGTTGGATTTATTATTTAATA
 ATAATTCTTATATTTCTTGTATTAATTAATCCTTATATACTTGGAGACCCTGATAATTTT
 GTCCCAGCTAACCCTTAGTTACCCCTATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

Outgroups***Copris punctulatus*_TRG**

TACACAATTGTTCA-
 TGGTTATGAGGGGGGTTTGCTATTAATAATGCTACCTTAACACGATTTTTCACTTTAC
 ATTTTCTTCTACCGTTTATTGTAGCCGCCATAATTATAATTCACTTATTATTTTACATC
 AACAGGGTTCGAATAATCCACTGGGAACAAATAGAAATATTGATAAATCCCCCTTTCA
 TCCATATTTTTCATTAAGATTCTGTAGGATTCATTATAATAACAATACTACTAATAAT
 ACTTGTCTTATCAAACCCCTATTTACTATCTGATCCAGATAATTTTATACCCGCTAACC
 CACTAGTCACACCAATCCACATTCAACCTGAATGATACTT

***Copris reflexus*_TRG**

TATACTATTGTTCA-
 TGATTATGAGGAGGATTTGCAATTAATAATGCAACACTAACACGATTTTTTACTTTACA
 TTTTCTTTTACCATTTATTGTAGCAGCTATAATTATAATTCACTTATTATTTCTTCATCA
 AACTGGATCTAATAACCCATTAGGAACAAATAGTAATATTGACAAATCATCATTTTCATC
 CATATTTTTCATTAAGATAGAGTAGGATTTATTATAAATACTATAATTAATATTTT
 TAGTATTATCAAATCCATATTTACTATCAGACCCAGATAATTTTATACCTGCAAACCCA
 TTAGTAACTCCAATTCATATTCAACCTGAATGATACTT

ภาคผนวก 6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวมุลสัตว์สกุล *Onthophagus* ของยีน 28S ความยาว 350 คู่เบส

Onthophagus babirusa1_SKA

TTGGGAC-
 TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGTCCGTTCTCG-
 AACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus babirusa2_PNA

TTGGGAC-
 TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGTCCGTTCTCG-
 AACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus babirusa3_SNI

TTGGGAC-
 TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGTCCGTTCTCG-
 AACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus babirusa4_TRG

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCTCG-AACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT***Onthophagus babirusa5_SNI***

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCTCG-AACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT***Onthophagus babirusa6_NRT***

TTGGGA--

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCTCG-AACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT***Onthophagus borneensis1_PNA***

TTGGGA--TCTGATAA-

CCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCRCGGACCGAGGGAGGATGGG
TCCGATCTCG-

AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus borneensis2_TRG

TTGGGA--TCTGATAA-

CCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGC GCGGACCGAGGGAGGATGGG
 TCCGATTTCTG-

AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus borneensis3_TRG

TTGGGA--TCTGATAA-

CCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGC GCGGACCGAGGGAGGATGGG
 TCCGATCTCG-

AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus taurinus1_CPN

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGTCCGTTCTCG-

AACGGGCCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus taurus2_CPN

TTGGGAC-
TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCTCG-
AACGGGCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-
AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus taurus3_NRT

TTGGGA--
TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCTCG-
AACGGGCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCT
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-
AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus orientalis1_SKA

TTGGGAC-
TCTTATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTTGCRCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCAGTTCTCG-
AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-
AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGGT

Onthophagus orientalis3_SKA

TTGGGAC-TCTTATAA-
 CCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGGAGGATGGG
 TCAGTTCTCG-
 AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGA ACTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGA ACTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus rugicollis1_SKA

TTGGGAC-TCTGATAA-
 CCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGGAGGATGGG
 TCCGTTCAAG-
 AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGA ACTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGA ACTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus rugicollis2_RNG

TTGGGA--TCTTATAA-
 CCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTTGC GCGGACCGAGGGAGGATGGG
 TCCGTTCTCGTGACGGGCCAGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATG
 AGGCGCACCCAGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGA ACTATGCCTGGT
 CAGGACGAAGTCAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGA ACTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus rugicollis3_TRG

TTGGGAC-
 TCTGATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGTCCGTTCAAG-
 AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC

AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGTTT

Onthophagus rugicollis4_RNG

TTGGGA--TCTTATAA-

CCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGGAGGATGGG
CCCGTTCTCGTGACGGGCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGAT
GAGGCGCACCCAGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGG
TCAGGACGAAGTCAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus maniti1_SNI

TTGGGAC-

TCTGATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCGCG-

AACGGGCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGTTT

Onthophagus maniti2_RNG

TTGGGAC-

TCTGATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCGCG-

AACGGGCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

***Onthophagus seniculus*_TRG**

TTGGGAC-

TCTGATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAAGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGACCGTTCTCG-AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGAAGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT***Onthophagus uenoi*_SNI**

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAAGTCCGCCTTGC GCGGACCGAGGG
AGGATGGGACCGTTCTCG-AACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGAAGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGTTT***Onthophagus vulpes*_SNI**

TTGGGAC-

TCTGATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGCCCGCCTTGC GCGGGCCGAGGG
AGGATGGGTCCGTTCTAG-AACGGGCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT***Onthophagus laevis*_TRG**

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAAGTCCGCCTTGC GCGGACCTAGGGA
GGATGGGACCGTTCTCG-

GACGGACCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGAAGAGGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGTTT

Onthophagus pedator_SKA

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGCCCCGTACACG-

TGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATAGCGAGATGAGGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus phanaeides_NRT

TTGGGAC-

TCTGATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGCCCCGTTCTCG-

GACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus sp1_RNG

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
 AGGATGGGCCCCGTTACAG-

AGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus sp2_SNI

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
AGGATGGGCCCGTTCACG-

AGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus sp3_SNI

-TGGGAC-TCTAATAA-

CCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGGAGGATGGG
CCCGTTCACG-

AGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Onthophagus sp4_SKA

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
AGGACGGGCCCGTTCACG-

AGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-

AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

***Onthophagus* sp5_PNA**

TTGGGA--

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
 AGGACGGGCCCCGTTACAG-
 AGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

***Onthophagus* sp6_NRT**

TTGGGAC-

TCTAATAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTTGCGCGGACCGAGGG
 AGGACGGGCCCCGTTACAG-
 AGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGG-
 AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGAACCTGG
 GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

***Onthophagus* sp7_RNG**

TTGGGA--TCTGATAA-

CCTAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTCCGCCTCGCGCGGACCGAGGGAGGATGGG
 CCCGTCCTCG-
 GGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTTCTCATCGCGAGATGAGGCGCACCC
 AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
 CAGGGGGAAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCG
 GAACTGGGTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

Outgroups***Copris punctulatus*_TRG**

TTGGGAT-AT-

ACTAAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCTGGCGCGGACCTAGGGAGG
 ACGGGCCCCGTTACAG-

GACGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGTCCTCATCGCGAGGAGAGGGCGCACCC
AGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGA ACTATGCCTGGTCAGGACGAAGT
CAGGGG-
AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGA ACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

***Copris reflexus*_TRG**

TTGGGAC-
TCGATTAACCTAAAGGCGCAATGAAAGTAAAGGTCCGCCGCGCGCGGACCGAGGG
AGGACGGGCCCCGTCTACG-
GGCGGGCCCCGCACTCCCGGGGCGTCTCGCCCTCATCGCGAGGAGAGGGCGCACCC
CAGAGCGTACACGCTGGGACCCGAAAGATGGTGA ACTATGCCTGGTCAGGACGAAG
TCAGGGG-
AAACCCTGATGGAGGTCCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCGGA ACTGG
GTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCTTCTAGTAGCTGGTT

