วิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์เพื่อการจัดจำแนกมดสกุล *Pheidole* โดยอ้างอิงจาก
สัณฐานภายนอกและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2

CLADISTIC ANALYSIS OF ANTS FROM GENUS *Pheidole*
INFERRING FROM MORPHOLOGICAL AND
ITS2 SEQUENCE VARIATIONS

นายชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์)

ปริญญา

พันธุศาสตร์ พันธุศาสตร์

สาขา **ภาควิชา**

เรื่อง การวิเคราะห์เพื่อการจัดจำแนกมดสกุล *Pheidole* โดยอ้างอิงจากสัณฐานภายนอกและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2

Cladistic Analysis of Ants from Genus *Pheidole* Inferring from Morphological and ITS2 Sequence Variations

นามผู้วิจัย นายชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์พรรณนภา ศักดิ์สูง, Ph.D.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์เดชา วิวัฒน์วิทยา, D.Agr.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์เฉลียว กุวังคะดิลก, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลิศลักษณ์ เงินศิริ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... **เดือน**..... **พ.ศ.**.....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การวิเคราะห์เพื่อการจัดจำแนกมดสกุล *Pheidole* โดยอ้างอิงจากสัณฐานภายนอกและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2

Cladistic Analysis of Ants from Genus *Pheidole* Inferring from Morphological and ITS2 Sequence Variations

โดย

นายชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์)
พ.ศ. 2550

ชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ 2550: การวิเคราะห์เพื่อการจัดจำแนกมดสกุล *Pheidole* โดยอ้างอิงจากสัณฐานภายนอกและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์พรรณนภา ศักดิ์สูง, Ph.D. 118 หน้า

สกุล *Pheidole* เป็นมดกลุ่มใหญ่เป็นอันดับสองในตระกูล Formicidae มีบทบาทที่สำคัญในห่วงโซ่อาหาร เพราะเป็นทั้งผู้ล่าและผู้ทำลาย โครงการวิจัยนี้ได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของมดที่มีถิ่นอาศัยในบริเวณป่าสะแกราช โดยศึกษาความแตกต่างในด้านสัณฐานภายนอกและความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วน ITS2 ของยีนที่สร้าง rRNA และจัดจำแนกกลุ่มโดยสร้างความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

ผลการการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาของลักษณะเด่นสามารถนำมาสร้างเป็นคีย์เพื่อการจัดจำแนกชนิดของมดได้ปรากฏว่ามดสกุล *Pheidol*e ที่สำรวจในรอบปี 2548 ณ ป่าสะแกราชมีทั้งสิ้น 13 ชนิดเป็นชนิดที่เคยมีการพบกันมาแล้ว 7 ชนิดและเป็นชนิดใหม่อีก 6 ชนิด เมื่อนำความแตกต่างทางสัณฐานมาสร้างเป็นความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในรูปต้นไม้พันธุกรรมโดยโปรแกรม Pcord version 4 สามารถแยกชนิดมดได้เป็น 12 ชนิดเพราะไม่อาจแยกสปีชีส์ E และ F ออกจากกัน อย่างไรก็ดีทุกสปีชีส์มีวิวัฒนาการในส่วนของ ITS2 แตกต่างกันในด้านความยาวซึ่งแปรผันอยู่ระหว่าง 764 คู่เบสในมด *P.* sp.C จนถึง 1,117 คู่เบสในมด *P.* sp.Aจากการเปรียบเทียบชนิดของนิวคลีโอไทด์พบว่ามีปริมาณเปอร์เซ็นต์ GC แปรผันน้อยคืออยู่ระหว่าง 64.8 % - 67.6 % และมีการเปลี่ยนแปลงของนิว คลีโอไทด์ทั้งในรูปของ transversion, transition และ insertion/deletion ในสัดส่วนแตกต่างกัน เมื่อนำข้อแตกต่างนี้มาประมวลเป็นความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้โปรแกรม Mega version 3.1 ด้วยวิธีการ maximum parsimony และวิธีของ neighbour - joining ปรากฏให้ต้นไม้พันธุกรรมเหมือนกันทั้งสองวิธีกล่าวคือ จำแนกมดออกได้เป็น 10 ชนิด และมีรูปแบบความสัมพันธ์ภายในกลุ่มคล้ายกันมาก แต่เมื่อเปรียบเทียบต้นไม้พันธุกรรมระหว่างของฟีโนไทป์กับของลำดับนิวคลีโอไทด์ปรากฏว่าไม่สอดคล้องกัน แสดงว่าอัตราวิวัฒนาการในระดับโมเลกุลส่วนของ ITS2 ช้ากว่าอัตราวิวัฒนาการด้านสัณฐานวิทยา

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Chairest Chaladthanyakij 2007: Cladistic Analysis of Ants from Genus *Pheidole* Inferring from Morphological and ITS2 Sequence Variations. Master of Science (Genetics), Major Field: Genetics, Department of Genetics. Thesis Advisor: Associate Professor Panapa Saksoong, Ph.D. 118 pages.

Genus *Pheidole* is a second large ant group of the Family Formicidae, playing an important role in the food chain as consumers and decomposers. This research surveyed the species diversity of ants living in Sakaerat Forest area, baseing species identification on morphological and nucleotide of ITS2 differences.

The results of morphological study of dominant characters of ant sample, collected during the year 2005 were used to build a species key for genus *Pheidole*. Accordingly 13 species were identified, seven of which have been previously reported and six were potentially new species. However, the phenogram, drawn from morphological similarity by the Pcord version 4 program, produced one cluster less than that of the morphological differences. In regarding the ITS2 nucleotides analysis, the length variation, ranging from 764 basepairs in *Pheidole* sp.C to 1,117 basepairs in *Pheidole* sp.A, was noted. From pairwise nucleotide comparisons among 13 species, it appeared that the percent of GC content varied very little i.e., 64.8 - 67.6 %. Nevertheless, the nucleotide changes occurred differently in the forms of transversion, transition and insertion/deletion. These differences were used to build genetic distant values, then being transformed into the species phylogenetic relationships by the Mega version 3.1 program employing maximum parsimony and neighbour - joining methods. Both yielded similar phylogenetic trees with ten clusters. Hence, the rate of molecular evolutions of ITS2 was surprisingly slower than the rate of that of the morphology generally expected by evolutionists.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.พรรณนภา ศักดิ์สูง ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์เดชา วิวัฒน์วิทยา กรรมการวิชาเอก รองศาสตราจารย์เฉลียว กุวังคะดิลก กรรมการวิชาเอก และดร.เกียรติทวี ชูวงศ์โกมล ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณอาจารย์มิ่งขวัญ นิพิฐวัธนะผล อาจารย์ประดิษฐ์ แสงทองและพี่วียะวัฒน์ ใจตรง ที่ให้ความรู้และให้คำปรึกษาต่าง ๆ ที่ช่วยให้วิทยานิพนธ์นี้ลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณโครงการ GE Project Guiding Light (GE-PGL) จาก GE Foundation โดยสถาบันการศึกษานานาชาติ (IIE) ร่วมกับสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการให้ทุนสนับสนุนการศึกษา

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ได้สนับสนุนเงินทุนในการวิจัยบางส่วน

สุดท้ายขอขอบคุณ ผู้ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จด้วยดี และทุก ๆ คนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนเสมอมา

ชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ

พฤษภาคม 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการ	16
ผลและวิจารณ์	25
สรุปและข้อเสนอแนะ	84
สรุป	84
ข้อเสนอแนะ	85
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	86
ภาคผนวก	93

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 ความยาวของนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ที่ได้และเปรียบเทียบข้อมูลลำดับเบส ปริมาณของเบสอะดีนีน(Adenine) เบสไธมีน(Thymine)เบสกัวนีน (Guanine) และเบสไซโตซีน(Cytosine) ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด 63

2 ค่าเฉลี่ยของ Transitions ภายในมดสกุล *Pheidole* โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ใช้ Model : Nucleotide: Kimura 2-parameter 66

3 ค่าเฉลี่ยของTransversions ภายในมดสกุล *Pheidole* โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ใช้ Model : Nucleotide: Kimura 2-parameter 67

4 ค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ภายในมดสกุล *Pheidole* โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ใช้ Model : Nucleotide: Kimura 2-parameter 77

5 แสดงผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ ITS2 ภายในมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด โดยใช้โปรแกรม CLUSTAL W 1.83 79

ตารางผนวกที่

1 สรุปข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของมดสกุล *Pheidole* ที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิด 96

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ความแตกต่างทางสัณฐานและขนาดเปรียบเทียบของมดทหารและมดงานเล็ก (*Pheidole planifronts* ,Santschi, 1920)	5
2	ส่วนต่าง ๆ ของมดคันกระโดด (*Pheidole inornata*)	6
3	ไดอะแกรมโอปอรอน (operon) rDNA แสดงตำแหน่งของ ITS1 และ ITS2	11
4	แสดงตำแหน่งเชื่อมต่อกับพลาสมิด pGEM® –T Easy Vector	20
5	พื้นที่ป่าสะแกราช จ.นครราชสีมา ซึ่งได้จัดจำแนกตามประเภทของป่า	23
6	สภาพพื้นป่าดิบแล้งในป่าสะแกราช เดือนสิงหาคม พ.ศ.2548	24
7	สภาพพื้นป่าเต็งรังในป่าสะแกราช เดือนสิงหาคม พ.ศ.2548	24
8	ขนาดความยาวลำตัวของมดสกุล *Pheidole*	26
9	ขนาดความยาวของส่วนหัวต่อความกว้างมดสกุล *Pheidole*	26
10	ลักษณะสันร่องและแนวร่องบริเวณกลางหน้าผาก	27
11	หน้าผากบริเวณส่วนหัวเมื่อมองทางด้านข้าง	27
12	ด้านบน(dorsal)ของสันอกปล้องที่ 2	28
13	ลักษณะหนาม propodeal spine	28
14	ลักษณะ hypostoma	29
15	รยางค์รูปใบพายหรือครีบ	29
16	ลักษณะผิวบริเวณส่วนท้อง	30
17	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันบ้าน	36
18	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันกระโดด	37
19	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันครีบขน	38
20	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันหัวแบน	39
21	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันร่องโค้ง	40
22	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันหน้าแบน	41
23	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันจีน	42
24	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมด *Pheidole* sp.A	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมด *Pheidole* sp.B	46
26	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมด *Pheidole* sp.C	47
27	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมด *Pheidole* sp.D	48
28	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมด *Pheidole* sp.E	49
29	สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมด *Pheidole* sp.F	50
30	Phenogram ที่สร้างจากข้อมูลสัณฐานภายนอกจำนวน 9 ลักษณะของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด(ข้อมูลจากตารางผนวกที่ 1) ในป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	52
31	ลักษณะรูปแบบของรังในดินในป่าดิบแล้ง	55
32	ลักษณะรังในขอนไม้ผุ	56
33	ลักษณะรังใต้ก้อนหินของมด *Pheidole* sp.E	56
34	การล่าเหยื่อของมดสกุล *Pheidole*	58
35	การหาอาหารของมดสกุล *Pheidole*	60
36	ผลการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS 2 ของมด 13 ชนิด ในสกุล *Pheidole* เปรียบเทียบกับสายมาตรฐาน (standard sequence) ของมดคันหน้าแบน	69
37	Phylogenetic tree ที่สร้างจากข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 โดยวิธี Neighbour-joining ทดสอบ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำระหว่างมดสกุล *Pheidole* จำนวน13 ชนิด โดยใช้มดสกุล *Strumigenys* จำนวน 4 ชนิด คือAY124711,AY124712, AY124713 และAY124714 จาก database ของ GenBank เป็นoutgroup	82
38	Phylogenetic tree ที่สร้างจากข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 โดยวิธี Maximum parsimony ทดสอบ Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำระหว่างมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด โดยใช้มดสกุล *Strumigenys* จำนวน 4 ชนิด คือAY124711,AY124712, AY124713 และAY124714 จาก database ของ GenBank เป็น outgroup	83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
1	แสดง Sequence alignment ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิดนำมาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 5.8S ของมด *Myrmecia croslandi* (AB052895) ขนาด 50 bp ใน database ของ GenBank โดยโปรแกรม ClustalW 1.83	99
2	แสดง Sequence alignment ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิดนำมาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 28S ของมด *Myrmecia croslandi* (AB052895) ขนาด 50 bp ใน database ของ GenBank โดยโปรแกรม ClustalW 1.83	106
3	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันบ้าน (*Pheidole bugi*) ความยาว 981 bp	113
4	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันกระโดด (*Pheidole inornata*) ความยาว 975 bp	113
5	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันครีบขน (*Pheidole nodifera*) ความยาว 954 bp	114
6	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันหัวแบน (*Pheidole pieli*) ความยาว 945 bp	114
7	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันร่องโค้ง (*Pheidole plagiaria*) ความยาว 954 bp	115
8	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันหน้าแบน(*Pheidole planifrons*) ความยาว 1,073 bp	115
9	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันจีน(*Pheidole yeensis*)ความยาว 964 bp	116
10	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.A ความยาว 1,117 bp	116
11	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.B ความยาว 775 bp	116
12	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.C ความยาว 764 bp	117
13	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.D ความยาว 1,116 bp	117
14	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.E ความยาว 959 bp	117
15	ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.F ความยาว 968 bp	118

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

bp	base pairs
^{0}C	degree celsius
cm	centimeter
DNA	deoxyribonucleic acid
et al.	et alii
g	gram
IPTG	isopropyl-D-thiogalactopyranoside
ITS2	internal transcribed spacer II
Kb	kilobase
LB	Luria Bertani
M	molarity
Mg	milligram
Ml	milliliter
mM	millimolar
mm	millimeter
PCR	Polymerare Chain Reaction
RNase A	ribonuclease A
rpm	revolution per minute
X-Gal	5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-galactopyranoside
ug	microgram
µl	microlitre
%	percent

การวิเคราะห์เพื่อการจัดจำแนกมดสกุล *Pheidole* โดยอ้างอิงจากสัณฐานภายนอกและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2

Cladistic Analysis of Ants from Genus *Pheidole* Inferring from Morphological and ITS2 Sequence Variations

คำนำ

มดเป็นแมลงสังคมชั้นสูง (eusocial insect) ที่พบได้บนบกทุกแห่งหน ชนิดของมดที่จัดจำแนกแล้วในโลกมีประมาณ 15,000 ชนิด มีบทบาทสำคัญต่อนิเวศวิทยาป่าไม้ทั้งทางด้านกายภาพและชีวภาพ จากนิสัยการกินอาหารและมีถิ่นที่อยู่อาศัยแตกต่างกัน จึงมีความสำคัญในห่วงโซ่อาหาร (food chain) และสายใยอาหาร (food web) ในบทบาทเป็นผู้บริโภค (consumer) ซึ่งถือเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้ระบบนิเวศสามารถดำเนินไปได้อย่างต่อเนื่องและยั่งยืน เพราะมดมีหน้าที่หลายประการ คือ เป็นผู้ควบคุมความสมดุล เป็นแหล่งอาหารของสัตว์ชนิดอื่น และทำการย่อยสลายซากต่าง ๆ จากบทบาทเป็นผู้ควบคุมนี้ จึงอาจนำมดบางชนิดมาใช้ประโยชน์เชิงประยุกต์ คือ เป็นผู้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ ช่วยลดการใช้สารเคมีและลดปัญหาสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ มดยังช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดินด้านกายภาพและเคมี โดยมดที่อาศัยอยู่ใต้ดินจะมีการขุดรูเป็นทางเดิน ทำให้ดินมีการถ่ายเทอากาศและระบายน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีการนำซากพืชและซากสัตว์ไปเก็บไว้สะสม เป็นการช่วยเพิ่มธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสให้ดิน โดยเฉพาะดินในระดับลึกเกิน 10 เซนติเมตรที่ทราบกันดีว่าจะมีธาตุอาหารต่ำมาก นอกจากนี้ยังมีการใช้มดเป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์ของระบบนิเวศ มดยังมีหน้าที่เป็นเหยื่อในระบบนิเวศโดยเป็นอาหารของมนุษย์หรือสัตว์อื่น ๆ โดยเฉพาะนก และสัตว์เลื้อยคลาน อย่างไรก็ตามบางครั้งมดบางชนิดก็ทำให้เกิดโทษต่อมนุษย์ได้ เช่น ก่อความรำคาญ ทำลายหรือทำความเสียหายให้สิ่งของบางอย่าง และทำให้คนและสัตว์ได้รับบาดเจ็บ

จากความหลากหลายของชนิดของมดและประโยชน์หรือโทษนานาประการ จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาชีววิทยาและความสัมพันธ์ระหว่างมดชนิดต่างๆ หรือระหว่างมดในกลุ่มต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมดที่มีบทบาทที่หลากหลายและมีความสำคัญในระบบนิเวศ เช่น มดใน

สกุล *Pheidole* ที่พบกระจายทั่วไปในระบบนิเวศป่าเขตร้อน ทั้งที่เป็นป่าธรรมชาติ (natural forest) และในพื้นที่เกษตรกรรมหรือบ้านเรือนที่ปลูกใกล้บริเวณป่า

ป่าสะแกราชเป็นหนึ่งในสามของผืนป่าของประเทศไทยที่ได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติ ให้เป็นเขตสงวนชีวมณฑล (Sakaerat Biosphere Reserve) เมื่อปี พ.ศ. 2519 ภายใต้โครงการมนุษย์และชีวมณฑลขององค์การยูเนสโก ป่าสะแกราชจึงเป็นพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับใช้ศึกษาวิจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศวิทยาป่าเขตร้อน เนื่องจากมีป่าดิบแล้งและป่าเต็งรังที่มีความสมบูรณ์ คงความเป็นธรรมชาติ โดยมีความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) ทั้งพรรณพืชและป่าไม้ (flora) รวมทั้งมีสัตว์ป่า (fauna) ทั้งที่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์ปีก สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลาน ในกลุ่มสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังพบว่ากลุ่มแมลงมีความหลากหลายในด้านของชนิดพันธุ์ (species diversity) สูงกว่าสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่น จึงถือได้ว่าแมลงเป็นสิ่งมีชีวิตที่สำคัญระบบนิเวศของผืนป่าแห่งนี้

พันธุศาสตร์โมเลกุลเป็นศาสตร์หนึ่งที่ได้พัฒนาขึ้นมาอย่างรวดเร็วตั้งแต่ปลายทศวรรษที่ 1970 ประกอบกับการพัฒนาเทคนิคทางชีวเคมีในระดับโมเลกุลทำให้มีการประยุกต์ศาสตร์ข้างต้นในสาขาต่าง ๆทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพอย่างหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาความหลายหลายทางพันธุกรรม(Buckler *et al*., 2006; Bajracharya *et al*., 2006) และการหาความสัมพันธ์ภายในกลุ่มหรือระหว่างกลุ่มสิ่งมีชีวิตต่างๆ (Harris and Crandall, 2000; Vidigal *et al*., 2004; Sharna *et al*., 1996) รวมถึงการสร้างต้นไม้พันธุกรรม อย่างไรก็ดีการศึกษาพันธุศาสตร์โมเลกุลของมดยังมีไม่มากนัก เช่น มีการศึกษาวิวัฒนาการโดยใช้ส่วนของยีนในไมโทคอนเดรีย เช่น *CO II* , *CO III* และ *cytochrome b* ของมดในวงศ์ย่อย Dolichoderinae (Chiotis *et al*., 2000) ในส่วนการศึกษายีนในยีโนมที่มีรายงานได้แก่การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 2 ตำแหน่ง คือ *abdominal-A* และ *ultrabithorax* ของมดจำนวน 11 วงศ์ย่อย (Astruc *et al*., 2004) นอกจากนี้มีการศึกษายีนและส่วนของยีนไรโบโซม เช่น มีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 28S rDNA ของมดในวงศ์ย่อย Amblyoponinae (Sauxa *et al*., 2004) การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์จาก internal transcribed spacer2 (ITS2) ของมดสกุล *Strumigenys* ในไต้หวัน (Hung *et al*., 2004) สำหรับในประเทศไทยได้มีการศึกษาลำดับ นิวคลีโอไทด์จากไรโบโซมของมด *Camponotus rufoglaucus* และมด *Diacamma* sp.พร้อมกับได้ศึกษาเกี่ยวกับวิวัฒนาการของมดร่วมด้วย (Nipitwattanaphon *et al*., 2003)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะเด่นทางสัณฐานวิทยาและนิเวศวิทยามดสปีชีส์ต่าง ๆ ในสกุล *Pheidole* ที่มีถิ่นอาศัยอยู่ในป่าบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช

2. เพื่อศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของมดในสกุล *Pheidole* โดยวิเคราะห์จากความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 (internal transcribed spacer 2) ของยีน rDNA

3. เพื่อสร้างความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของมดสกุล *Pheidole* โดยใช้ความแตกต่างของสัณฐานและนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2

การตรวจเอกสาร

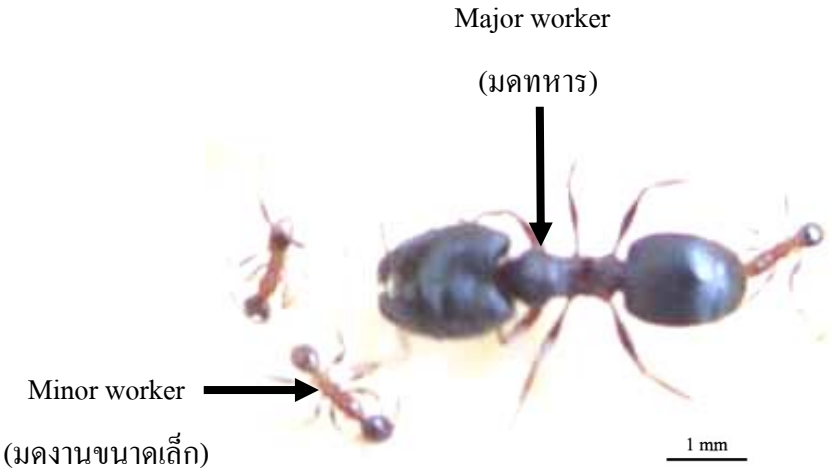
1.ชีววิทยาของมดสกุล *Pheidole*

มดสกุล *Pheidole* นี้ได้รับการตั้งชื่อครั้งแรกในประเทศอินเดียโดย Westwood ในปี ค.ศ. 1839 ในชื่อของ *Atta providens* จัดอยู่ในวงศ์ Formicidae วงศ์ย่อย Myrmicinae เผ่า (tribe) Pheidolini มีการจัดระบบหมวดหมู่ของมดสกุล *Pheidole* (Bolton, 2003) ไว้ดังนี้

Kingdom: Animalia
Phylum: Arthropoda
Class: Insecta
Order: Hymenoptera
Family: Formicidae
Subfamily: Myrmicinae
Tribe: Pheidolini
Genus: *Pheidole*

ลักษณะทั่วไปของมดสกุล *Pheidole*

สกุล *Pheidole* เป็นมดที่มีขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มดงานส่วนใหญ่มีรูปร่าง 2 รูปแบบ (dimorphic type) ได้แก่ มดทหาร (major worker) และมดงานขนาดเล็ก (minor worker) (ภาพที่ 1) มีส่วนน้อยมากที่มีหลายรูปร่างหลายแบบ (polymorphic type) ได้แก่ *Pheidole smythiesii* Forel มีรายงานพบในประเทศเวียดนาม(Eguchi *et al*., 2005) แต่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย โดยทั่วไปมดทหารมีขนาดใหญ่ระหว่าง 1.7-8.3 มม. เทียบความยาวเป็นประมาณ 1.8-2 เท่า (Eguchi, 2001)มีลักษณะเด่นคือ มีหัวและกรามขนาดใหญ่มากกว่าเมื่อเทียบกับมดงานขนาดเล็ก ดังนั้นในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานจึงนิยมใช้มดทหารเป็นหลัก เนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างชนิด (species) ชัดเจนกว่าการใช้มดงานเล็กในการจัดจำแนก แม้รายงานจากประเทศนิวซีแลนด์ (Berry *et al*., 1997) และ Mississippi Entomology Museum (http://www.msstate.edu/org/mississippientmuseum/Researchtaxapages/Formicidaepages/Myrmicinaekeys/Pheidole.key.html) จะมีการจัดจำแนกชนิดโดยสร้างคีย์ที่ใช้ลักษณะของมดทหารและมดงานทั่วไป



ภาพที่ 1 ความแตกต่างทางสัณฐานและขนาดเปรียบเทียบของมดทหารและมดงานเล็ก (*Pheidole planifrons* ,Santschi, 1920)

สัณฐานภายนอกของมดทหารโดยอ้างตาม Bolton (1995), Shattuck (1999)และ Eguchi (2001) แบ่งลำตัวออกเป็น 3 ส่วนได้แก่ ส่วนหัว (head) ส่วนอกรวมกับท้องปล้องแรก (alitrunk หรือ mesosoma) ส่วนเอว (waist) ซึ่งเป็นส่วนท้องปล้องที่ 2 และ 3 และส่วนท้อง(gaster) นับตั้งแต่ปล้องที่ 4 ของส่วนท้อง นิยมใช้ความแตกต่างของส่วนลำตัวทั้ง 3 ส่วนเพื่อจัดจำแนกสกุลและชนิด ดังรายละเอียดข้างล่างนี้ (ภาพที่ 2)

หัว มีขนาดแตกต่างกันตามรูปแบบของมดงานโดยมดทหาร มีหัวและกรามขนาดใหญ่ มีส่วนประกอบที่สำคัญ ซึ่งใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มและชนิด ได้แก่

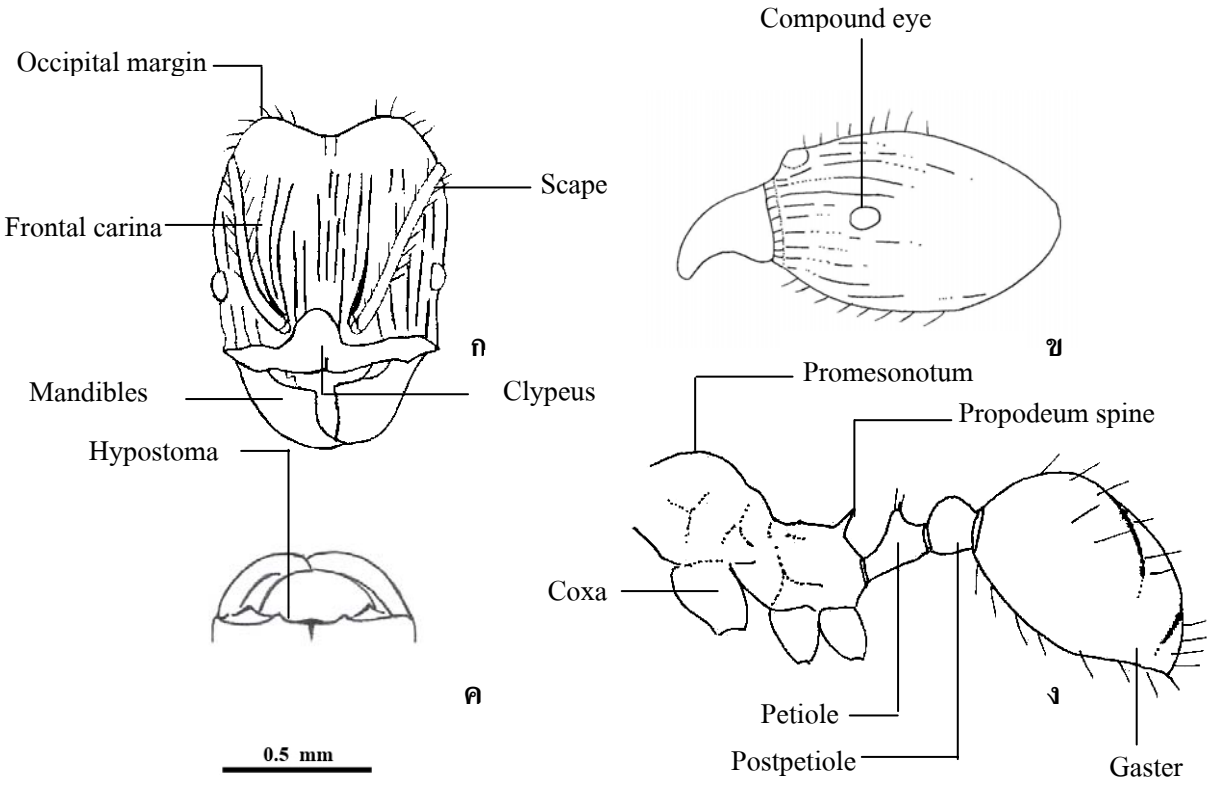
- หนวด (antenna) มีจำนวน 12 ปล้อง ส่วนใหญ่ปลายหนวด 3 ปล้องสุดท้ายจะขยายใหญ่เห็นได้ชัดเจน บางชนิดอาจมีปลายหนวด 4-5 ปล้องสุดท้ายขยายใหญ่ได้ (Bolton, 1994) เช่น *Pheidole sabahna* และ *Pheidole quinata* ในประเทศไทยพบเฉพาะแบบแรกที่ปลายหนวด 3 ปล้องขยายใหญ่

- ตาเป็นแบบตารวม (compound eye) มีขนาดใหญ่สามารถมองเห็นได้ชัดเจน ส่วนน้อยที่พบมีตารวมขนาดเล็กหรือไม่มี

- ขอบฐานกะโหลก (occipital margin) เป็นขอบขวางด้านท้ายของส่วนหัว มีลักษณะเว้าเป็นพู แตกต่างกันไปตามชนิด

- สันหน้า (frontal carina) มีลักษณะกว้างอยู่เหนือปลายฐานของหนวดจะขยายไปยังด้านบนของส่วนหัวซึ่งเห็นได้ชัดเจน มีลักษณะเรียบหรือเป็นร่องตามชนิดของมด

- ขอบล่างของฐานริมฝีปากบน (hypostoma) มีลักษณะยื่นออกมาเป็นตุ่มคล้ายฟันเลื่อย



ภาพที่ 2 ส่วนต่าง ๆ ของมดคันกระโดด(*Pheidole inornata*) ก) ส่วนหัวด้านหน้าของมดทหาร ข) ส่วนหัวด้านข้าง ค) ขอบล่างของฐานริมฝีปากบน ง) ส่วนอก เอวและท้อง

อก แบ่งเป็น 3 ปล้อง คือ ปล้องที่ 1 และปล้องที่ 2 จะเชื่อมเป็นแผ่นเดียวเรียกว่า promesonotum มีลักษณะนูนโค้งเมื่อมองทางด้านข้าง และมีส่วนของ propodeum ซึ่งเป็นแผ่นแข็งที่เชื่อมต่อระหว่างอกปล้องที่ 3 และส่วนท้องปล้องแรก อยู่ในระดับที่ต่ำกว่า promesonotum ในส่วนนี้จะพบหนามแหลม (propodeal spine) จำนวน 1 คู่ มีขนาดและความยาวแปรผันไปตามชนิดของมด ใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มของมดสกุลนี้ได้

เอว ประกอบด้วย 2 ปล้อง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของมดสกุลนี้ มีลักษณะขอดกิ่วเป็นปุ่ม ปล้องที่ 1 มีลักษณะเรียวยาวเรียกว่า petiole ปล้องที่ 2 เรียก postpetiole ซึ่งมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของมด บางชนิด petiole มีลักษณะเป็นตุ่มหนามหรือครีบอยู่บริเวณด้านล่าง

ท้อง เป็นส่วนที่อยู่ท้ายสุดของลำตัวสามารถเห็นได้ชัดเจนมีจำนวน 4 ปล้อง ในส่วนของปล้องที่ 1 (หรือปล้องท้องที่ 4) มีขนาดใหญ่กว่าปล้องอื่น ๆ โดยทั่วไปมีลักษณะค่อนข้างกลมตามภาคตัดขวางและมีรูปทรงเป็นรูปไข่หรือยาวรีเมื่อมองดูด้านข้าง

ถิ่นอาศัย

ส่วนใหญ่มดสกุล *Pheidole* อยู่แยกตัวจากชุมชนมีการกระจายตัวในระบบนิเวศป่าเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน แหล่งที่อาศัยส่วนใหญ่จะเป็นพื้นที่ป่าธรรมชาติ (natural forest)หรือป่าขั้นทดแทน (secondary forest) มีบางชนิดทำรังอาศัยในพื้นที่เกษตรกรรมหรือใกล้บ้านเรือน เช่น *Pheidole yeensis* (Eguchi, 2001) สถานที่ทำรังมีหลากรูปแบบ ได้แก่ ใต้พื้นดิน ใต้ใบไม้ผุ กิ่งไม้ผุ ขอนไม้ผุ ใต้ก้อนหิน กระจายบริเวณผืนป่าทั่วไปรวมทั้งพื้นเปิดโล่ง นอกจากนี้ยังมีการสร้างรังในรูปแบบที่หลากหลาย เช่น สร้างรังในขอนไม้ผุช่วยทำให้ขอนไม้ผุเร็วขึ้น สร้างรังในดินมีส่วนช่วยปรับปรุงคุณภาพดิน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลในการส่งเสริมการหมุนเวียนของธาตุอาหารได้ดีขึ้น มดสกุลนี้จึงมีความสำคัญในระบบนิเวศมากเนื่องจากพฤติกรรมการที่กินอาหารหลากหลาย คือ เป็นผู้ล่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก กินน้ำหวาน กินซากสัตว์และเมล็ดพืชเป็นอาหาร (Brown, 2000; Eguchi, 2001)

2. พฤติกรรมของมดสกุล *Pheidole*

สังคมมด

มดเป็นแมลงที่มีวิวัฒนาการสูงสุดในเชิงโครงสร้างของร่างกายและความเป็นอยู่ เช่น โครงสร้างของเส้นปีกที่มีการลดรูป และการมีความเป็นอยู่แบบสังคมแท้จริง (eusocial insect) สังคมของมดสกุล *Pheidole* มีรูปแบบเช่นเดียวกับมดสกุลอื่น ๆ คือ มีการช่วยกันเลี้ยงดูตัวอ่อน (cooperative brood care) มีการอยู่ร่วมกันของประชากรเหลื่อมกันอย่างน้อยสองรุ่น และมีการแบ่งเป็นวรรณะต่าง ๆ ตามหน้าที่ภายในรัง (Holldobler and Wilson, 1990) ประกอบด้วย

- มดราชินี (queen) มีหน้าที่ในการผสมพันธุ์ วางไข่ รวมถึงการควบคุมกิจกรรมต่าง ๆที่เกิดขึ้นภายในรัง

- มดงาน (worker) เป็นมดเพศเมียที่เป็นหมัน ทำหน้าที่แตกต่างกัน เช่น พวกที่อายุน้อย ๆมีหน้าที่เป็นพยาบาล คอยดูแลเลี้ยงดูและขนย้ายตัวอ่อน พวกที่แข็งแรงทำหน้าที่เป็นทหารปกป้องรัง

เช่น มดทหาร และมดงานส่วนที่เหลือมีหน้าที่ทำงานทุกอย่าง เช่น ออกล่าเหยื่อ และการเคลื่อนย้ายรัง

- มดเพศผู้ (male) เป็นมดที่มีปีก มีหน้าที่ในการผสมพันธุ์เท่านั้นและจะตายหรือมีอายุได้ประมาณ 1 สัปดาห์หลังการผสมพันธุ์เสร็จสิ้นลง

การสร้างรัง

การสร้างรังของมดสกุล *Pheidole* มีรูปแบบเช่นเดียวกับมดสกุลอื่น ๆ คือ หลังจากมดราชินีผ่านการผสมพันธุ์เรียบร้อยแล้วจะเก็บน้ำเชื้อไว้ในอวัยวะเก็บน้ำเชื้อที่อยู่ภายในส่วนท้อง (spermatheca) และเลือกพื้นที่สำหรับการสร้างรังบริเวณที่เหมาะสม ไข่รุ่นแรกที่มดราชินีวางออกมาทั้งหมดเป็นวรรณะมดงาน ในระยะแรกได้รับอาหารจากการสลายไขมันและกินไข่ที่ไม่ได้รับการผสม หลังจากมดงานชุดแรกเจริญเป็นตัวเต็มวัยแล้วจะทำหน้าที่สร้างรังชั่วคราว และหาอาหารเพื่อเลี้ยงมดรุ่นถัดไปในระยะแรกฟัก ส่วนมดราชินีจะวางไข่รุ่นต่อ ๆ ไปจนกระทั่งประชากรในรังมีขนาดใหญ่ขึ้น หลังจากภายในรังมีประชากรมดงานมากพอสมควร มดราชินีจึงจะผลิตมดวรรณะสืบพันธุ์เพื่อออกไปสร้างรังต่อไป (Holldobler and Wilson, 1990)

3. ชนิดและการกระจายของมดสกุล *Pheidole*

มดเป็นแมลงสังคมแท้จริงพบได้บนบกทุกหนทุกแห่งยกเว้นบริเวณขั้วโลก ในโลกมีมดทั้งหมด 16 วงศ์ย่อย 296 สกุล 15,000 ชนิด เป็นมดที่ทราบชื่อแล้วประมาณ 10,000 ชนิด (Bolton , 1994) ในประเทศไทยประมาณการณ์ว่ามีมดมากถึง 800-1,000 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นมดที่อาศัยอยู่ในป่า (เดชาและคณะ, 2544)

สกุล *Pheidole* เป็นสกุลมดที่จัดได้ว่ามีขนาดใหญ่เป็นอันดับสองของวงศ์ Formicidae พบได้ทั่วโลก จากการรวบรวมข้อมูลจนถึงปี 1993 พบจำนวนทั้งหมด 545 ชนิด (Bolton, 1995) ในปี 2000 ได้ประมาณการณ์ว่ามีจำนวนถึง 910 ชนิด (Brown, 2000) จากการสำรวจในประเทศออสเตรเลียพบ 53 ชนิด(http://www.ento.csiro.au/science/ants/myrmicinae/pheidole/pheidole.htm) และเฉพาะบนเกาะบอร์เนียวพบถึง 52 ชนิด (Ecuchi, 2001) แต่มีเพียงแค่ 2 ชนิดเท่านั้นที่พบซ้ำกันกับในรายงานของทั้งสองสถานที่

สำหรับข้อมูลของมดสกุลนี้ในประเทศไทยมีอยู่จำกัด และเป็นข้อมูลในเชิงของอนุกรมวิธานเท่านั้น เช่น การสำรวจบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าฮาลา-บาลา พบจำนวน 25 ชนิด (นาวีและคณะ, 2003) อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่พบจำนวน 15 ชนิด (เดชาและวียะวัฒน์, 2001) ทั้งสองแห่งมีเพียงแค่หนึ่งชนิดเท่านั้นที่ซ้ำกันคือ มดคันร่องโค้ง (*Pheidole plagiaria*) นอกจากนี้ยังมีรายงานจากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤาไน จ.ฉะเชิงเทรา ที่พบ *Pheidole* ถึง16 ชนิดที่ซ้ำกันกับสถานที่ข้างต้นเพียงสองชนิดคือ มดคันร่องโค้ง และมดคันทานโจ(*Pheidole tandjongensis*) (พรนรินทร์และวียะวัฒน์, 2003) ปัจจุบันประเทศไทยโดยพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ(อพวช.) ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปุทมธานีได้มีการรวบรวมตัวอย่างมดและจัดทำบัญชีรายชื่อมดสกุล *Pheidole* ที่จำแนกชนิดแล้วทั้งสิ้นจำนวน 43 ชนิด (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) ทั้งนี้ยังมีมดสกุลนี้อีกหลายชนิดที่พบในประเทศไทยและยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (ข้อมูลโดยคุณวียะวัฒน์ ใจตรง)

มดสกุลนี้เป็นมดเขตร้อน และกึ่งเขตร้อน (Wilson, 1964; Bolton, 1995) มีการกระจายในบริเวณต่าง ๆ ทั่วโลกยกเว้นทวีปยุโรป ได้แก่ รายงานการกระจายหลายพื้นที่ในแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น (Ogata, 1982) จีน (Wheeler, 1928, 1930; Wu and Wang, 1995; Xu *et al*., 1998) ไต้หวัน (Forel, 1912; Wheeler, 1909) พม่า(Forel, 1905, 1913) ฟิลิปปินส์ (Baltazar, 1966) สิงคโปร์ (Viehmeyer, 1916) เกาะบอร์เนียว (Wheeler, 1919) เกาะสุมาตรา (Forel, 1902; Crawley, 1924) อินเดีย (Forel, 1902; Bingham, 1903) และไทย (เดชาและวียะวัฒน์, 2001; นาวีและคณะ, 2003; พรนรินทร์และวียะวัฒน์, 2003; Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) นอกจากนี้ยังพบกระจายทั่วไปในทวีปออสเตรเลีย (http://www.ento.csiro.au/science/ants/myrmicinae/pheidole/pheidole.html) และทวีปอเมริกา (http://www.hup.harvard.edu/catalog/WILPHE.html)

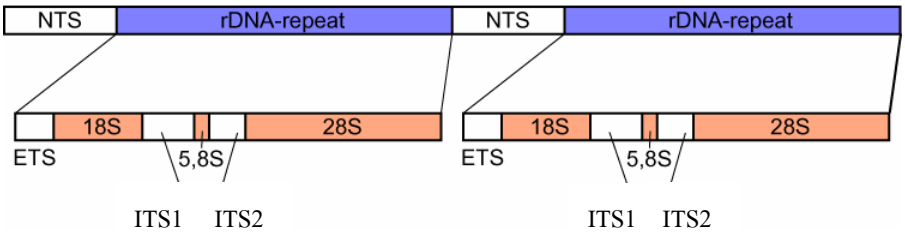
4. การศึกษาวิวัฒนาการของมดสกุล *Pheidole*

การศึกษาวิวัฒนาการของมดใช้ข้อมูลจากการศึกษาทางพันธุศาสตร์เซลล์ เช่น ความแตกต่างของจำนวนและรูปร่างโครโมโซมของมดในหลายสกุล เช่น ในประเทศสเปนได้ศึกษาถึงความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมมด 7 ชนิดจาก 2 วงศ์ย่อย คือ วงศ์ย่อย Formicinae มีความแปรผันของจำนวนโครโมโซมแฮพลอยด์จาก 15-52 แท่ง ได้แก่ มด *Camponotus cruentatus* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม n = 20 , *Formica frontalis* 2n = 52 , *Formica gerardi* n = 27 , *Formica subrufa*

n = 26 , *Lasius brunneus* n = 15 และใน Subfamily Myrmicinae ได้แก่มด *Messor barbarus* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม n = 21 , *Monomorium subopacam* 2n = 34 (Lorite *et al*., 2002)

ส่วนมดในสกุล *Pheidole* ได้มีการตรวจสอบรูปแบบโครโมโซมของมด *Pheidole nodus* ในประเทศญี่ปุ่นโดยศึกษาจากมดเพศผู้จำนวน 1,666 ตัว มีรูปแบบคาริโอไทป์ที่แปรผันถึง 4 รูปแบบด้วยกัน คือ n = 17 , n = 18 , n = 19 และ n = 20 ความแตกต่างของรูปแบบและจำนวนโครโมโซมเกิดจากการแยกของเซ็นโตเมียร์ต่างโครโมโซม (centric fission) และการเชื่อมร่วมกันของโครโมโซมต่างแท่ง centric fusion (Imai *et al*., 1975) จากข้อมูลข้างต้นชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างของรูปร่างและจำนวนโครโมโซมภายในมดชนิดเดียวกันเอง ทำการใช้ข้อมูลข้างต้นเพื่อการจัดจำแนกชนิดมดสกุลนี้ประสบปัญหายุ่งยาก

เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลได้เริ่มมีบทบาทช่วยในการจำแนกสิ่งมีชีวิตและศึกษาวิวัฒนาการในแง่การประเมินความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการอย่างมีประสิทธิภาพ ข้อมูลเหล่านี้มีหลายระดับ คือ ระดับโปรตีน และระดับดีเอ็นเอ สามารถนำความแตกต่างของโมเลกุลเหล่านี้มาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล เช่น การวิเคราะห์ความแตกต่างของnuclear DNA และ mitochondrial DNA เป็นต้น ต่อจากนั้นจึงนำข้อมูลในระดับโมเลกุลนี้มาคำนวณหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตต่อไปดังรายงานความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระดับโมเลกุลดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิดด้วยกัน เช่น จากดีเอ็นเอส่วนของไมโตคอนเดรีย ได้แก่ ลำดับเบสของยีน *CO I CO II* และ *tRNA* ของกรดอะมิโน Leucine ของผึ้งสกุล *Andrena* จากทวีปอเมริกาเหนือ จำนวน 54 ชนิด แล้วนำข้อมูลจากยีนทั้งหมดมาจัดทำต้นไม้วิวัฒนาการ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษายีนทั้ง 3 ตำแหน่งซึ่งแสดงความสัมพันธ์แบบไม่สอดคล้องกันในผึ้งสกุลนี้ซึ่งแสดงว่ายีนตำแหน่งเดียวกันในไมโตคอนเดรียมีการเปลี่ยนแปลงไม่เท่ากัน (Larkin *et al*., 2005) ศึกษายีน *cytochrome b* และยีน *ND4* จากตัวอย่างปลาน้ำจืดในสกุล *Sinocyclocheilus* จำนวน 31 ชนิดที่พบกระจายในประเทศจีน พบว่าข้อมูลจากลำดับนิวคลีโอไทด์สามารถแบ่งปลาในสกุลนี้ออกเป็น 5 กลุ่มด้วยกัน(Xiao *et al*., 2005)การศึกษาความสัมพันธ์ของกิ้งก่า(*Pogana vitticepes*) ในประเทศออสเตรเลีย โดยใช้ยีน *CO I* และยีน *ND1* พบว่ามีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ไม่สอดคล้องกับกิ้งก่าในทวีปเอเชีย (Amer and Kumazawa, 2005) ต่อมามีผู้ศึกษาเกี่ยวกับวัฒนาการในสัตว์ที่ใกล้เคียงกับมนุษย์โดยศึกษาในลิงลีเมอร์จำนวน 4 สกุล คือ *Eulemur Hapalemur Lemur* และ *Varecia* โดยพื้นฐานจากความแตกต่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *ND3 ND4* และ *tRNA* $^{(Gly, Arg, His, Ser \text{ และ} Leu)}$ พบว่ามีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการสอด คล้องกันภายในสกุลเดียวกันและมีความแตกต่างระหว่างลิงต่างสกุลชัดเจน (Pastorini *et al*., 2002)



ภาพที่ 3 ไดอะแกรมโอปอรอน (operon) rDNA แสดงตำแหน่งของ ITS1 และ ITS2

ในส่วนของจีโนมยีน rDNA เป็นบริเวณที่ได้รับความนิยมใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตมากกว่าบริเวณอื่น ๆ ยีนนี้ประกอบด้วยส่วนที่เป็น coding region คือส่วนของ 18S rDNA 5.8S rDNA และ28S rDNA ที่จะถูกถอดรหัสแต่ละส่วนถูกคั่นด้วยบริเวณที่เรียกว่า non coding region คือ ส่วนของ ITS1 คั่นระหว่าง18S rDNA กับ 5.8S rDNA และ ITS2 คั่นระหว่าง 5.8S rDNA กับ 28S rDNA (ภาพที่ 3) ITS เป็นส่วนที่ไม่ได้ถูกถอดรหัสดีเอ็นเอ และจะถูกตัดออกไปเมื่อกระบวนการถอดรหัสสิ้นสุดลง โดยเฉพาะตำแหน่ง ITS นิยมอย่างมากในการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งระหว่างสิ่งมีชีวิตคนละชนิด และภายในชนิดเดียวกัน เพราะตำแหน่ง ITS มีความแปรปรวน (variation) สูงมากกว่าตำแหน่งของ coding region เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีการสะสมการกลายที่เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาของวิวัฒนาการของชนิด โดยทั่วไปมักเกิดเป็นแบบการแทนที่เบสมากกว่า (base substitution) และการเพิ่มหรือขาดหายไป (insert - deletion) กล่าวอีกนัยหนึ่งการกลายที่บริเวณ ITS นั้นเหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในระดับสกุล และระดับชนิดลงมาได้ (Hillis and Dixon., 1991)

ตัวอย่างเช่น การใช้ ITS ของ rDNA ในการศึกษาวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เริ่มในสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เช่น ยีสต์ (Baere *et al*., 2005) พบว่าสามารถแยกสายพันธุ์ยีสต์ได้ถูกต้องแม่นยำขึ้น และสิ่งมีชีวิตที่มีระบบโครงร่างไม่ซับซ้อนพวกเชื้อรา (Turenne *et al*., 1999; Henry *et al*., 2000; Baere *et al*., 2001; Samai *et al*., 2002; Lord *et al*., 2002; Martin and Rygiewicz, 2005) ผลการศึกษาพบว่าส่วนของ ITS ใช้จำแนกความแตกต่างของเชื้อราแต่ละชนิดได้ถูกต้องขึ้น เช่นเดียว กับการศึกษาในสัตว์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS สามารถใช้จำแนกชนิดของยุงลาย (Bhargavi *et al*., 2005) และยุงก้นปล่อง (Li *et al*., 2005; Marrelli *et al*., 2005) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกันได้ว่าเป็นคนละชนิดกัน (sibling species) และมีปัญหาในการจำแนกชนิดโดยใช้สัณฐานวิทยา ITS มีส่วนช่วยในการจัดอนุกรมวิธานของยุงได้ถูกต้องขึ้น ยังมีการศึกษาในสิ่งมี

ชีวิตที่มีโครงร่างซับซ้อนมากขึ้น เช่น กั้งน้ำจืด (Harris and Crandall, 2000) หอยทากน้ำจืด (Vidigal *et al*., 2004) การใช้ ITS ไม่ได้จำกัดเฉพาะจุลชีพและสัตว์ แต่ยังมีการใช้ในการจำแนกชนิดของพืช เช่น เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระว่างข้าวสาลี 6 ชนิดและข้าวบาร์เล่ย์ป่า 10 ชนิด พบว่าความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของ ITS1 และ ITS2 ใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มสิ่งมีชีวิตได้ (Sharma *et al*., 1996)

ปัจจุบันข้อมูลทางพันธุศาสตร์โมเลกุลในแมลงกลุ่มมดมีเพิ่มมากขึ้น มีการศึกษาลำดับเบสในส่วนพันธุกรรมที่มีความแปรผัน และส่วนที่ไม่มีความแปรผัน จากยีนใน mitochondrial DNA หลายยีน ได้แก่ ยีน *cytochrome b* (Chiotis *et al*., 2000; Johnson *et al*., 2003; Goropashnaya *et al*., 2004; Azuma *et al*., 2006;) ยีน *CO I* (Ayala *et al*., 1996; Azuma *et al*., 2006), ยีน *CO II* (Chiotis *et al*., 2000) ยีน *CO III* (Ayala *et al*., 1996; Chiotis *et al*., 2000; Johnson *et al*., 2003) ยีน *ND1* และยีน*tRNA* ^{Ser} (Goropashnaya *et al*., 2004) ยีนใน nuclear DNA ได้แก่ ยีน*abdominal-A* และ *Ultrabithorax* (Astruc *et al*., 2004) satellite DNA (Lorite *et al*., 2004) microsatellite DNA (Fournier *et al*., 2002; Viginier *et al*., 2004) นอกเหนือจากการศึกษายีนในส่วนบริเวณข้างต้น แล้วยังมีการศึกษา ยีนใน ribosomal DNA ได้แก่ 5.8S rDNA (Ohnishi and Yamamoto, 2004) 18S rDNA (Ohnishi *et al*., 2003; Ohnishi and Yamamoto, 2004;) และ 28S rDNA (Saux *et al*., 2003; Ohnishi and Yamamoto, 2004) ในประเทศไทยได้มีผู้เริ่มทำการศึกษาเกี่ยวกับด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลโดยศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดจาก rDNA ของมด *Camponotus rufoglaucus* และมด *Diacamma* sp. พร้อมกันนี้ยังได้ศึกษาเกี่ยวกับวิวัฒนาการของมดดังกล่าวร่วมด้วย (Nipitwattanaphon *et al*., 2003) และมีการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จาก ITS2 จากมด *Strumigenys* ในประเทศไต้หวัน (Hung *et al*., 2004) พบว่ามีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 สูงมาก สามารถใช้เป็นเครื่องมือขั้นต้นในการวิเคราะห์ด้าน molecular phylogeny และ biogeography ของมดได้ดี ซึ่ง ITS2 สามารถใช้ตรวจสอบหาความสัมพันธ์และจำแนกความแตกต่างของชนิดมดในระดับสกุลได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การศึกษานี้จึงได้เลือกใช้บริเวณ ITS2 เพื่อศึกษาความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ และสร้างความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของมดสปีชีส์ต่าง ๆ ในสกุล *Pheidole* ซึ่งบริเวณ ITS2 ของยีน rDNA เป็นบริเวณ noncoding region ทำให้สามารถสะสมความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนนี้สูงมาก ซึ่ง ITS2 มีข้อดีคือ มีขนาดสั้นกว่า ITS1 มีความยาวเพียงพอแก่การศึกษาและบริเวณนี้อัตรามิวเทชั่นเกิดขึ้นและสะสมไว้มากจึงเหมาะกับการใช้ศึกษาจำแนกสิ่งมีชีวิตในระดับชนิด(species)

หรือต่ำกว่าระดับชนิดลงมาเช่นในระดับสายพันธุ์ (Hillis and Dixon., 1991) เพื่อนำความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ในบริเวณดังกล่าวมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระดับโมเลกุล (Phylogenetic relationships) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ด้านสัณฐานวิทยาประกอบกัน เนื่องจากมดในสกุลนี้มีความคล้ายคลึงกันในด้านสัณฐานวิทยาเป็นอย่างมาก จนยากต่อการจัดจำแนกแม้แต่ผู้เชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธานยังไม่สามารถจำแนกมดในสกุลนี้ได้อย่างชัดเจน ซึ่งเมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 มาวิเคราะห์รวมกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยามดสกุล *Pheidole* แล้วจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของมดสกุลนี้อย่างยิ่ง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

1.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างในภาคสนาม ได้แก่ ปากคีบ, ตะแกรงร่อน, พลั่วตักดิน, ถาดพลาสติกและถุงพลาสติก

1.2 อุปกรณ์รักษาตัวอย่างในภาคสนาม ได้แก่ แอลกอฮอล์ 95 % และ eppendrop tube ขนาด 1.5 ml

1.3 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับบันทึกภาพ

2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2

2.1 สารเคมีสำหรับสกัดดีเอ็นเอได้แก่ CTAB buffer, phenol, chloroform, isoamyl alcohol, isopropanol, ethanol 70%, TE buffer, RNaseA, 2.5M sodium acetate และ absolute ethanol

2.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ได้แก่ 10xPCR Buffer, $MgCl_2$(50mM), 2mM dNTP (dATP, dCTP, dGTP และ dTTP), *Taq* DNA polymerase (Invitrogen, Brasil), Primer และน้ำกลั่น (Distilled water)

2.3 สารเคมีที่ใช้สำหรับการแยก และตรวจสอบดีเอ็นเอ ได้แก่ agarose gel, 1xTAE buffer และเอธิเดียมโบรไมด์

2.4 เครื่อง UV transilluminator สำหรับการตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

2.5 ไมโครปิเปต (Micropipette) และไมโครปิเปตทิพ (Micropipette tip)

2.6 เครื่องแก้วขนาดต่างๆ ได้แก่ กระบอกตวง (Cylinder), ถ้วยตวง (Beaker) และขวดรูปชมพู่ (Flask)

2.7 เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (Ultracentrifuge)

2.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow cabinet)

2.9 ตู้เขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker)

2.10 เครื่องพีซีอาร์ (Thermal cycler)

2.11 เครื่องอิเล็กโทรโฟริซีส (Electrophoresis)

2.12 ตู้แช่แข็ง (Freezer)

2.13 ชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin ® Extract II Gel Extraction Kit (MACHEREY-NAGEL,Germany)

2.14 ชุดโคลน pGEM® –T Easy Vector (Promega,USA)

2.15 ชุดน้ำยาสำเร็จรูป Wizard® Plus SV minipreps DNA Purification System (Promega, USA)

2.16 อุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ประจำในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ถุงมือ เครื่องชั่ง (Balance), นาฬิกาตั้งเวลา (Laboratory timer), เครื่องคิดเลข (Calculator) และเครื่องผสมสาร (Vortex mixers)

2.17 สมุดบันทึก (Lab notebook)

3. โปรแกรมสำหรับวิเคราะห์ข้อมูลและผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ

3.1 โปรแกรม CAP3 (Huang and Madan, 1999) ใช้เพื่อเชื่อมลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละครั้งจากดีเอ็นเอชิ้นเดียวกับ (Sequence Assembly)

3.2 โปรแกรม Clustal W (Chenna *et al*., 2003) ใช้เพื่อการทำ Alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ ITS2 (internal transcribed spacer 2) ของมดสกุล *Pheidole*

3.3 โปรแกรม MEGA version 3.1 (Kumar *et al*., 2004) ใช้ในการสร้าง phylogenetic trees เพื่อหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการมี 2 วิธีการ ดังนี้

3.3.1 Neighbour - joining (NJ)

3.3.2 Maximum parsimony (MP)

โดยแต่ละวิธีการทำการตรวจสอบทางสถิติโดย bootstrap ที่ 1,000 ซ้ำ (replicates)

3.4 โปรแกรม TREEVIEW version 1.6.6 (Page, 1996) ใช้เพื่อแสดงผลที่ได้จากการสร้างด้วยโปรแกรม MEGA ซึ่งไม่สามารถแสดงผลได้ด้วยตัวเอง

วิธีการ

การศึกษาอนุกรมวิธาน พฤติกรรมและลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ของตัวอย่างมดสกุล *Pheidole* ที่เก็บจากป่าสะแกราช จ.นครราชสีมา ประกอบด้วย

1. การรวบรวมข้อมูลมดในภาคสนาม

1.1 การเก็บตัวอย่างมด

สำรวจและเก็บตัวอย่างโดยตรงจากพื้นที่ป่าบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราชในระยะเวลา 1 ปี เวลาประมาณ 7.00-17.00 น. เก็บตัวอย่างมดสกุล *Pheidole* จากรังโดยใช้วิธีการจับด้วยมือ (hand collection: HC) เนื่องจากมดสกุลนี้ทำรังเป็นโพรงอยู่ใต้ดินหรืออาศัยตามขอนไม้ผุจึง

จำเป็นต้องใช้เหยื่อล่อ(เนยผง)ให้มดงานขนาดเล็กขนอาหารไปที่รัง หลังจากนั้นจะมีมดทหารออกมาที่เหยื่อและใช้ปากคีบคีบมดงานขนาดใหญ่ใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างที่บรรจุเอธานอล 95 % จำนวนหลอดละ 10 ตัว (มดมีการกระจายแบบกลุ่มเลือกเก็บเฉพาะบริเวณที่มดสร้างรังเพื่อให้ได้ความหลากหลายของกลุ่มตัวอย่างมากที่สุด)

1.2 การศึกษาพฤติกรรมบางประการของมด

ศึกษาพฤติกรรมในขณะที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างโดยตรงจากภาคสนาม โดยนำข้อมูลการสังเกตและบันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับมดที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ รูปแบบการสร้างรัง อาหารและพฤติกรรมการหาอาหาร เป็นต้น มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ร่วมกับข้อมูลด้านอนุกรมวิธานและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 โดยบันทึกข้อมูล ถ่ายภาพ และถ่ายภาพเคลื่อนไหวประกอบ

2. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

2.1 การศึกษาอนุกรมวิธาน

การศึกษาอนุกรมวิธานประกอบด้วยการจัดทำตัวอย่างแห้งและจัดรูปแบบมาตรฐานโดยใช้วิธีการของ (Eguchi, 2001)

2.1.1 การทำตัวอย่างแห้ง

ตัวอย่างที่เก็บได้จากภาคสนามจะถูกนำมาทำตัวอย่างแห้ง โดยจัดรูปร่างตามแบบมาตรฐานสากลในการจัดจำแนกชนิด แบ่งตัวอย่างแห้งของมดสกุล *Pheidole* เป็น 2 ชุด เก็บรักษาไว้ ณ พิพิธภัณฑ์มด ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ(อพวช.) ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปุทมธานี เพื่อเป็นหลักฐานในการอ้างอิง

2.1.2 การจำแนกชนิดของมด

นำตัวอย่างแห้งที่ได้เปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimens) หรือเอกสารวิชาการทางด้านอนุกรมวิธานของมดสกุลนี้จากพิพิธภัณฑ์มด (คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)และพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา(อพวช.) และประยุกต์ใช้ key ของ (Eguchi ,2001) และ (Berry *et al*., 2004) นำข้อมูลที่ได้จัดทำรูปวิธานจำแนกชนิด ใช้วิธีการบรรยายลักษณะทางสัณฐานภายนอกของมดทหารแต่ละชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป

2.2 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2

2.2.1 สกัดดีเอ็นเอ โดยนำมดทหารตัวอย่างละ 1 ตัวที่เก็บรักษาในเอธานอล 95 % จากแต่ละรังหลังจากการจำแนกชนิดมดแล้ว มาสกัดดีเอ็นเอ ณ ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยการประยุกต์วิธีการของ Agrawal *et al*.(1992) ดังรายละเอียดของวิธีการดังนี้

นำตัวอย่างมดใส่ในโกร่งแล้วเติมไนโตรเจนเหลวบดให้ละเอียด หลังจากนั้นเติม 2X CTAB buffer และผสมให้เข้ากัน ดูดตัวอย่างใส่หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml อุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 65 ^{o}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที) ตกตะกอนโปรตีนด้วยการเติมสารละลาย chloroform: isoamyl alcohol(อัตราส่วน 24:1 โดยปริมาตร) ปริมาตรที่เท่ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ดูดสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่เติมสารผสมของ phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1) ในปริมาตรที่เท่ากันเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ (กลับหลอดไปมา) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ดูดสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่เติม isopropanol หลังจากนั้นกลับหลอดไปมา 2 – 3 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -20 ^{o}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ต่อจากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง ล้างดีเอ็นเอให้สะอาดด้วยเอทานอล 70% ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ต่อจากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง ทำตะกอนดีเอ็นให้แห้งที่อุณหภูมิห้องต่อจานั้นละลายดีเอ็นเอใน TE buffer จำนวน 200 µl (เติม RNaseA 2-3 µg) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงหรือทิ้งไว้ข้ามคืน ต่อจากนั้นสกัดแยกโปรตีนที่เหลืออยู่ออกให้หมดโดยเติมสารผสมของ phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1) ในปริมาตรที่เท่ากัน (กลับหลอดไปมา) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ดูดสารละลาย

ส่วนบนใส่หลอดใหม่แล้วเติมสารละลาย chloroform: isoamyl alcohol ปริมาตรที่เท่ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ดูดสารละลายส่วนบนใส่หลอดใหม่เติม 2.5 M sodium acetate ในปริมาตร 1/10 และเติม absolute ethanol ให้เป็น 2 เท่าของปริมาตรทั้งหมดเพื่อทำความสะอาดตะกอนดีเอ็นเอ กลับหลอดไปมา 2-3 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -20 ^{o}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ต่อจากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง ล้างดีเอ็นเอให้สะอาดด้วยเอทานอล 70 % ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm นาน 15 นาที ต่อจากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้ง ทำตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และละลายดีเอ็นเอใน TE buffer จำนวน 50 µl เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 ^{o}C จนกว่าจะใช้

2.2.2 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ

นำสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณในส่วนของ internal transcribed spacer 2 (ITS2) โดยวิธีพีซีอาร์ (PCR) โดยใช้ primer 1 คู่ คือ 5.8S forward primer มีลำดับเบสยาว 22 bp (5′ GGTGGATCACTTGGCTCGTGGG 3′) (Nipitwattanaphon *et al*., 2003) และออกแบบ primer เพิ่มเติมคือ 28S reverse primer มีลำดับเบสยาว 21 bp (5′ GGCACCCTCTGCGGGTAA GTG 3′) โดยใช้ส่วนต้นของ28S มด *Myrmecia croslandi* (AB052895) เป็นสายมาตรฐานใน database ของ GenBank โดยโปรแกรม ClustalW 1.83

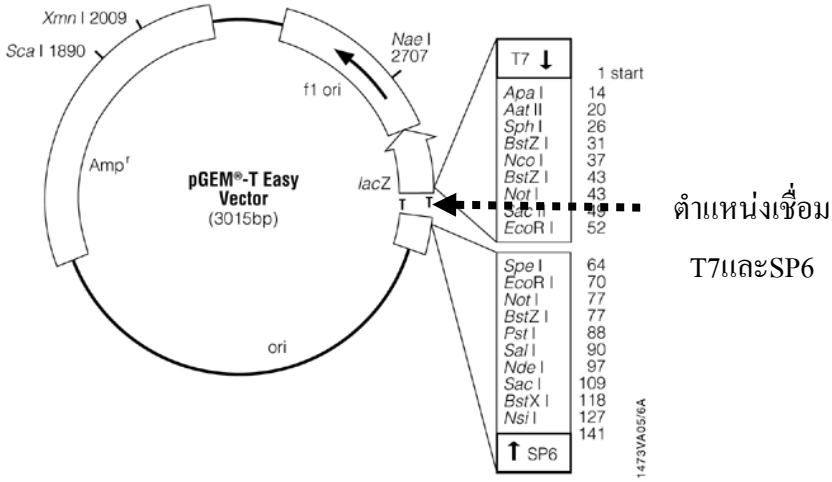
โดยแต่ละหลอดของปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วยดีเอ็นเอที่ได้จากข้อ 2.1 ปริมาตร 1 µl ใส่5.8S forward primer (5 pmol) 0.8 µl 28S reverse primer (5 pmol) 0.8 µl 2mM dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 2.0 µl 10x PCR buffer 2.0 µl $MgCl_2$(50mM) 1.0 µl *Tag* polymerase 5U/µl (Invitrogen, Brasil) 0.1 µl และน้ำ 12.3 µl ปริมาตรรวม 20 µl และตั้งโปรแกรมพีซีอาร์ 3 ขั้นตอน คือ (1) heated ที่ 94 ^{o}C 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) denaturation ที่ 95 ^{o}C 40 วินาที primer annealing ที่ 57.5 ^{o}C 30 วินาที และ primer extension ที่ 72 ^{o}C 1 นาที จำนวน 35 รอบ และปล่อยให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์โดยบ่มที่ 72 ^{o}C 5 นาที จำนวน 1 รอบ เมื่อจบปฏิกิริยาแล้วนำผลผลิตไปตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟริซีสในเจลอาการ์โรส 0.8 % ย้อมดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV transilluminator

2.2.3 การทำผลผลิต PCR ให้บริสุทธิ์

ตัดแถบดีเอ็นเอจากเจลอะกาโรสในข้อ 2.2 มาสกัดแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป NucleoSpin® Extract II Gel Extraction Kit (MACHEREY-NAGEL,Germany)

2.2.4 การเชื่อมต่อชิ้นส่วนดีเอ็นเอเข้ากับพลาสมิด (ภาพที่ 4)

นำผลผลิต PCR ที่ได้จาก 2.3 มาเชื่อมต่อกับพลาสมิด pGEM® –T Easy Vector (Promega, USA) โดยใส่ผลผลิตพีซีอาร์ 1 µl พลาสมิด 0.5 µl 2x ligase buffer 2.5 µl DNA ligase 0.5 µl และน้ำกลั่น 0.5 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 16 ^{o}C ทิ้งไว้ข้ามคืน



ภาพที่ 4 แสดงตำแหน่งเชื่อมต่อกับพลาสมิด pGEM® –T Easy Vector

2.2.5 การถ่ายพลาสมิดสายผสมเข้าสู่เซลล์คอมพิเทนต์ด้วยวิธีวิธีทรานสฟอร์เมชัน

นำแบคทีเรีย *E coli* สายพันธุ์ XL-1-Blue มาทำเป็นเซลล์คอมพีเทนต์ และถ่ายพลาสมิดเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียด้วยวิธีทรานสฟอร์เมชัน (ดูวิธีทำในภาคผนวก)

2.2.6 การตรวจสอบโคลนที่ต้องการอย่างง่าย

เขี่ยโคโลนีสีขาวด้วยปลายไม้จิ้มฟัน จุ่มลงใน TE buffer ปริมาตร50 µl เติม phenol : chloroform (1:1) 50 µl และ vortex เป็นเวลา 20 วินาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm นาน 1 นาที ดูดน้ำใสส่วนบน 10 µl ผสมกับ loading dye 2 µl นำไปตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีสโดยเจลอะกาโรส 1.5 % นำมาย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และตรวจสอบผลด้วยเครื่อง UV transilluminator

2.2.7 การตรวจสอบโคลนที่ต้องการซ้ำด้วยการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

นำโคโลนีสีขาวที่คาดว่าจะมีชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการเลี้ยงใน LB broth (ที่มีแอมพิซิลิน 100 µl /ml) ปริมาตร 3 ml เขย่าใน incubator shaker อุณหภูมิ 37 ^{o}C ความเร็ว 250 รอบ/นาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมงหรือข้ามคืน แล้วดูดอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย 1 ml นำมาสกัดพลาสมิดด้วยวิธี Alkaline lysis (Sambrook *et.al*.1989) ทำปฏิกิริยา PCR เหมือนข้อ 2.2

2.2.8 การทำผลผลิต Plasmid ให้บริสุทธิ์

ดูดอาหารเลี้ยงแบคทีเรียปริมาตร 1 ml ในข้อ 2.6 ที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการหลังทำการตรวจสอบแล้ว ทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Wizard® Plus SV minipreps DNA Purification System (Promega, USA)

2.2.9 การหาลำดับนิวคลีโอไทด์

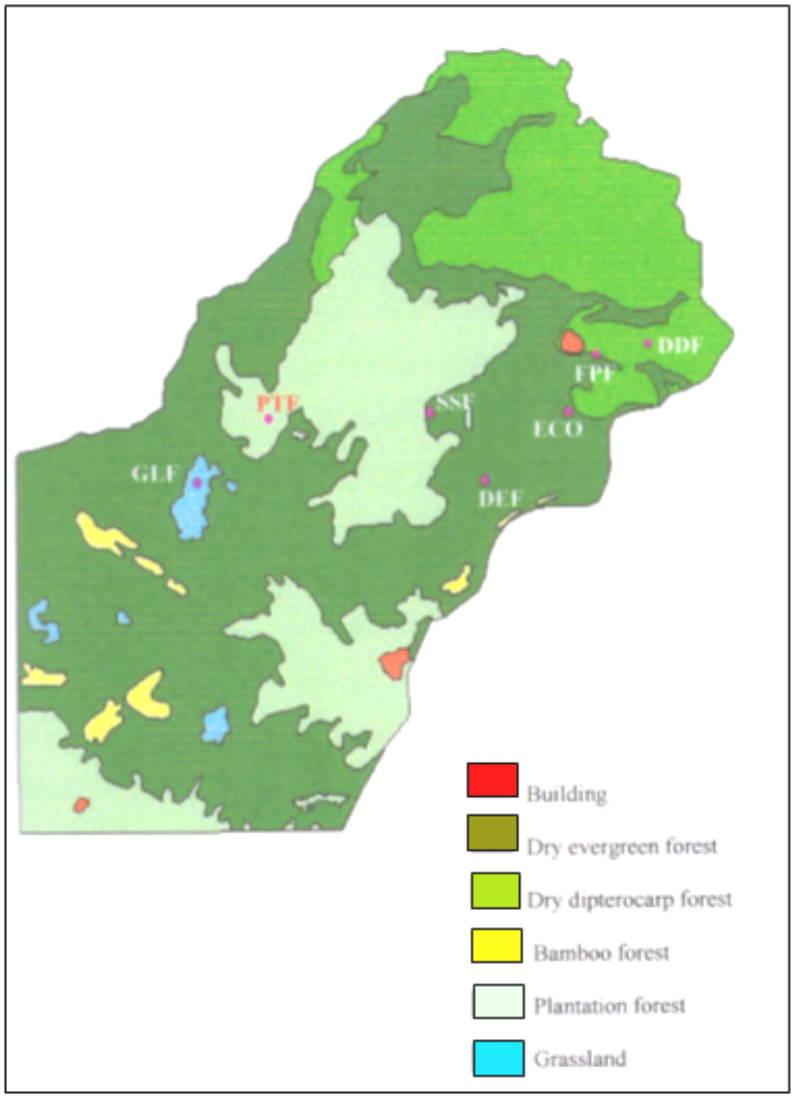
ส่งผลผลิต Plasmid ที่บริสุทธิ์เพื่อการ sequencing ที่หน่วยบริการชีวภาพ Bio Service Unit (BSU) เพื่อหาลำดับเบสของดีเอ็นเอด้วยเครื่องดีเอ็นเอซีเคว็นเซอร์ (DNA Sequencer) รุ่น ABI PRISM MODEL 377 และ เครื่อง automated DNA sequence โดยบริษัท PE Applied Biosystem

2.2.10 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ หลังจากได้รับข้อมูลมาแล้วและตรวจสอบความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ดังนี้

นำข้อมูลลำดับเบสของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ primer T7 (forward primer) และ primer SP6 (reverse primer) นำข้อมูลลำดับเบสจากชิ้นดีเอ็นเอทั้ง 2 ชิ้นทำ sequence assembly ให้เป็นข้อมูลเดียว (contig)โดยใช้โปรแกรม CAP 3 นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน 5.8S และ 28S ใน database ใน Genbank เพื่อตรวจสอบความถูกต้องและตัดเฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 เท่านั้นโดยใช้โปรแกรม ClustalW (ภาพผนวกที่ 1 และ 2) นำสายนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 มาตรวจสอบความยาวและเปรียบเทียบปริมาณเบสกัวนีนและเบสไซโตซีน (ตารางที่ 1) นำข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) โดยใช้โปรแกรม MEGA version 3.1

สถานที่เก็บตัวอย่างมด

ป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา (ภาพที่5) ซึ่งเป็นหนึ่งในสามของผืนป่าของประเทศไทยที่ได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติให้เป็นเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biosphere Reserve) เมื่อปี พ.ศ. 2519 ภายใต้โครงการมนุษย์และชีวมณฑลขององค์การยูเนสโก มีเนื้อที่ประมาณ 48,800 ไร่ หรือ 78.08 ตร.กม. เป็นขอบด้านใต้ของที่ราบสูงโคราช มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง ปกคลุมด้วยป่าไม้สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ ป่าดิบแล้ง (Dry Evergreen forest) พันธุ์ไม้ที่สำคัญของป่าดิบแล้งชนิดนี้ประกอบด้วย ตะเคียนหิน (*Hopea ferrea*) ตะเคียนทอง (*Hopea adorata*) กระเบากลัก (*Hydnocarpus ilicifolius*) เป็นต้น มีเศษใบไม้ทับถมกระจายทั่วไปตามพื้นป่า และป่าเต็งรัง (Deciduous Dipterocarp forest) (ภาพที่ 7) ประกอบด้วยพันธุ์ไม้ที่สำคัญได้แก่ เต็ง(*Shorea obtusa*) รัง (*Shorea Siamensis*) และพะยอม (*Shorea floribunda*) เป็นต้น พื้นป่ามีหญ้าเพ็กขึ้นกระจายอยู่ทั่วไป (ภาพที่6) ป่าทั้งสองชนิดครอบคลุมเนื้อที่ประมาณร้อยละ 70 ของพื้นที่ นอกนั้นเป็นป่าชนิดอื่น เช่น ป่าไผ่ ป่าปลูก เป็นต้น (http://www.tistr.or.th/ sakaerat/information/ information. htm) ป่าสะแกราชจึงนับได้ว่าเป็นพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับใช้ศึกษาวิจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศวิทยาป่าเขตร้อน เนื่องจากมีป่าที่มีความสมบูรณ์และยังคงความเป็นธรรมชาติไว้



ภาพที่ 5 พื้นที่ป่าสะแกราช จ.นครราชสีมา ซึ่งได้จัดจำแนกตามประเภทของป่า

ภาพที่ 6 สภาพพื้นป่าดิบแล้งในป่าสะแกราช เดือนสิงหาคม พ.ศ.2548

ภาพที่ 7 สภาพพื้นป่าเต็งรังในป่าสะแกราช เดือนสิงหาคม พ.ศ.2548

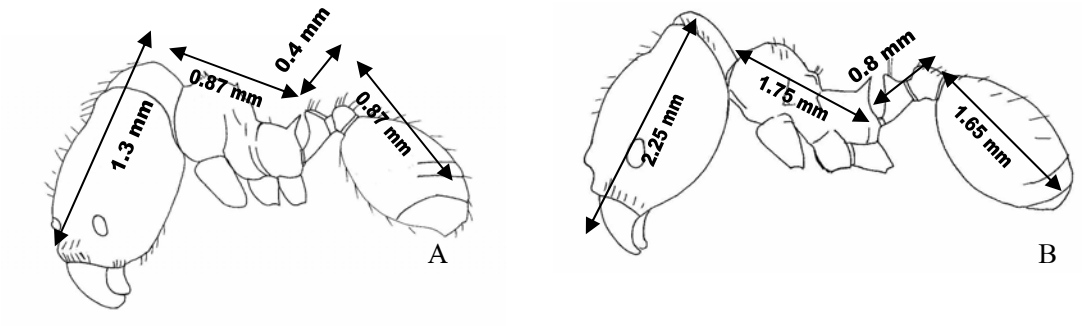
ผลและวิจารณ์

1. อนุกรมวิธาน

การศึกษาอนุกรมวิธานและการกระจายของมดสกุล *Pheidole* จากตัวอย่างในพื้นที่ป่าสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช โดยการเดินสำรวจภาคสนามทุกเดือนตลอดปี พ.ศ.2548 จำแนกมดสกุลนี้ออกได้เป็นจำนวนทั้งสิ้น 13 ชนิดตามคีย์ของ (Eguchi ,2001) ในจำนวนนี้มี 7 ชนิดที่สามารถจำแนกได้แล้ว คือ มดคันบ้าน(*Pheidole bugi*) ,มดคันกระโดด(*P. inornata*) , มดคันครีบขน(*P. nodifera*) , มดคันหัวแบน(*P. pieli*) , มดคันร่องโค้ง(*P. plagiaria*) ,มดคันหน้าแบน (*P. planifrons*) และมดคันจีน (*P. yeensis*) และมีอีก 6 ชนิดที่คาดว่าน่าจะเป็นชนิดใหม่ คือ มด *P.* sp.A , มด *P.* sp.B , มด *P.* sp.C , มด *P.* sp.D , มด *P.* sp.E และมด *P.* sp.F

สัณฐานภายนอกของมดที่กล่าวในหัวข้อวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ใช้ลักษณะของมดทหารเป็นหลักเนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างชนิดเด่นชัด และตัวมดมีขนาดใหญ่ ประกอบด้วยลักษณะเด่นจำนวน 9 รูปแบบ ดังนี้

(1) ความยาวลำตัว *Pheidole* ทั้ง 13 ชนิด มีความยาวลำตัวขนาดแตกต่างกันจากขนาดเล็กมากเพียง 2.78 mm ในมดคันหัวแบนถึงขนาดใหญ่ 7.43 mm ในมดคันหน้าแบน อาจนำมาใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธานโดยจัดจำแนกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ มดที่มีขนาดความยาวลำตัวมากกว่า/น้อยกว่า 5 mm

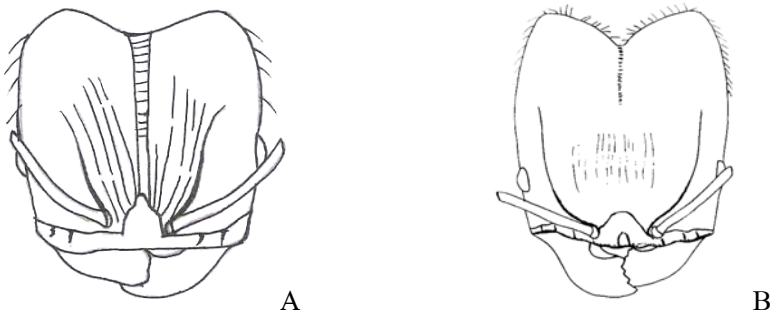


ภาพที่ 8 ขนาดความยาวลำตัวของมดสกุล *Pheidole*

A มดคันบ้านมีขนาดความยาวลำตัวน้อยรวมน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร

B มดคันจีนมีขนาดความยาวลำตัวรวมมากกว่า 5 มิลลิเมตร

(2) สัดส่วนความยาวส่วนหัวต่อความกว้าง สามารถนำมาใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธานประกอบด้วย 2 รูปแบบ คือ สัดส่วนของความยาวส่วนหัวใกล้เคียงกับความกว้างหรือมีรูปของหัวเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส และส่วนหัวที่มีขนาดความยาวมากกว่าความกว้างหรือเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าในแนวตั้ง (ภาพที่ 9)



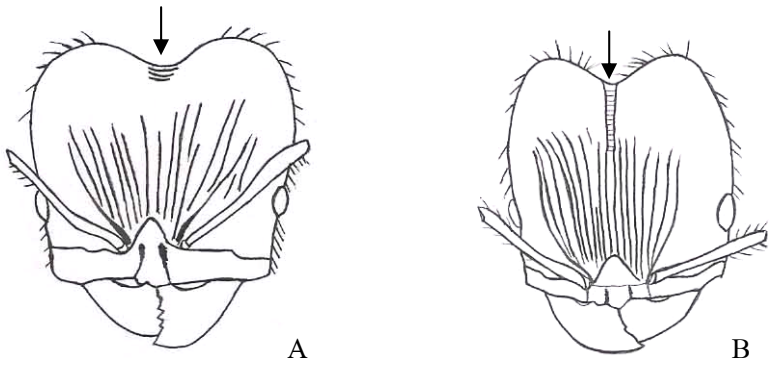
ภาพที่ 9 ขนาดความยาวของส่วนหัวต่อความกว้างมดสกุล *Pheidole*

A ส่วนหัวมีความยาวใกล้เคียงหรือเท่ากับความกว้าง

B ส่วนหัวมีความยาวมากกว่าความกว้าง

(3) ลักษณะความลึกสันร่องและการจัดแนวของร่องบริเวณหน้าผาก มีลักษณะแตกต่างกันสามารถนำมาใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธานประกอบด้วยรูปแบบต่าง ๆ 2 รูปแบบ คือ รูป A ร่องตื้นและแนวร่องขนานกันตามความยาวส่วนหัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้ง

ฐานกะโหลกและรูป B ร่องลึกขนานกันตามความยาวส่วนหัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้งฐานกะโหลกจำแนกมดได้ออกเป็น 2 กลุ่มตามลำดับดังนี้ กลุ่มแรกได้แก่ มดคันครีบขนและมด *P.* sp.Cและกลุ่มที่สองได้แก่ มดคันบ้าน , มดคันกระโดด, มดคันหัวแบน, มดคันร่องโค้ง, มดคันหน้าแบน, มดคันจีน , มด *P.* sp.A , มด *P.* sp.B , มด *P.* sp.D , มด *P.* sp.E และมด *P.* sp.F (ภาพที่ 10)

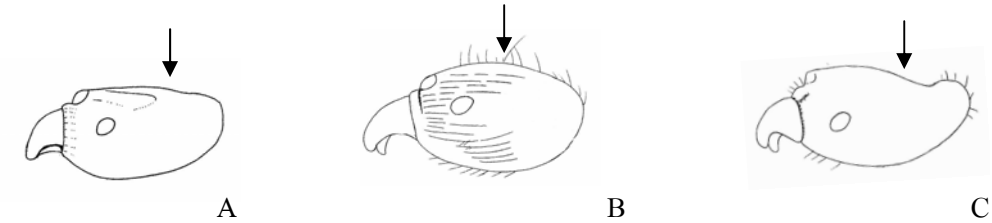


ภาพที่ 10 ลักษณะสันร่องและแนวร่องบริเวณกลางหน้าผาก (ลูกศร)

A ร่องตื้นขนานกันตามความยาวส่วนหัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้งฐานกะโหลก

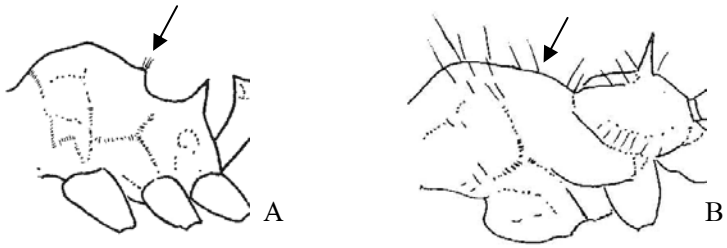
B ร่องลึกขนานกันตามความยาวส่วนหัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้งฐานกะโหลก

(4) ลักษณะความโค้งหน้าผาก เมื่อมองจากด้านข้าง (lateral view)ความโค้งของหน้าผากมีความแตกต่างกัน 3 รูปแบบ คือ รูปแบนราบ รูปนูน และรูปเว้า (ภาพที่ 11)



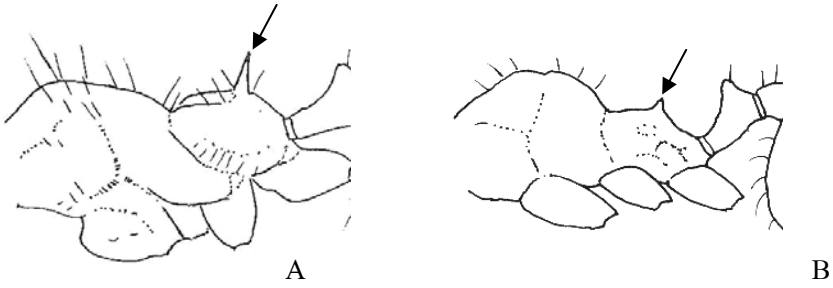
ภาพที่ 11 หน้าผากบริเวณส่วนหัวเมื่อมองทางด้านข้าง จะมีลักษณะแบนราบ (A) หรือนูน (B) หรือเว้า (C)

(5) สันอกปล้องที่ 2 มีลักษณะแตกต่างกันซึ่งใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธาน ประกอบด้วย 2 รูปแบบดังนี้ (ภาพที่ 12)



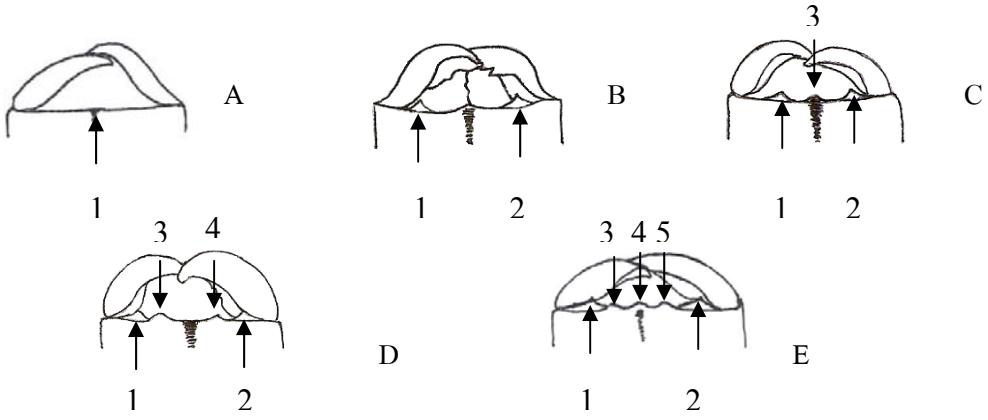
ภาพที่ 12 ด้านบน(dorsal)ของสันอกปล้องที่ 2 ซึ่งมีลักษณะเป็นตุ่มนูน (A) หรือลักษณะเรียบ (B)เมื่อมองจากด้านข้าง

(6) ลักษณะหนามแหลม (propodeal spine) จำนวน 1 คู่ ตั้งอยู่บนอกปล้องที่ 3 มีลักษณะแตกต่างกันอาจมีขนาดใหญ่ยาวแหลมหรือมีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ (ภาพที่ 13)ใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธาน



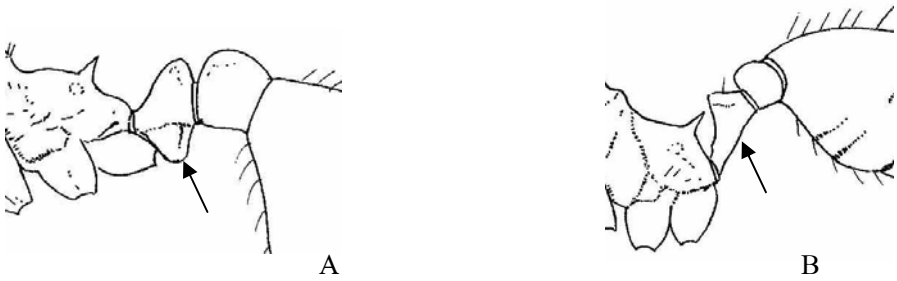
ภาพที่ 13 ลักษณะหนาม propodeal spine เมื่อมองจากด้านข้างอาจมีขนาดใหญ่ยาวปลายแหลม (A) หรือมีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ (B)

(7) ขอบล่างของฐานริมฝีปากบน (hypostoma) มีลักษณะยื่นออกมาเป็นตุ่มคล้ายฟันเลื่อยแปรผันไปตั้งแต่ไม่มีตุ่มนูนเลยหรือเรียกว่าเรียบ หรือมีจำนวนตุ่มนูนที่แปรผันตั้งแต่มีจำนวน 1 ตุ่มจนถึง 5 ตุ่มดังแสดงในภาพที่ 14 สามารถใช้ลักษณะนี้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธานในสกุล *Pheidole* ได้



ภาพที่ 14 ลักษณะ hypostoma ที่มีตุ่มนูนหรือไม่มี(A) และหากมีตุ่มนูน ยังมีความแปรผันในจำนวน 1-5 (B-E)

(8) รูปทรงของรยางค์บริเวณใต้เอวปล้องที่ 1 มีลักษณะแตกต่างกันซึ่งใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธานประกอบด้วย 2 รูปแบบดังนี้ (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 รยางค์รูปใบพายหรือครีบ (A)และรูปทรงเรียบ (B)

(9) ลักษณะผิวส่วนท้อง มีลักษณะแตกต่างกันอาจจะเป็นผิวหยาบขรุขระหรือผิวเรียบเป็นมันวาว (ภาพที่ 16) ซึ่งใช้ในการจำแนกทางอนุกรมวิธานประกอบด้วย 2 รูปแบบดังนี้

A B

ภาพที่ 16 ลักษณะผิวบริเวณส่วนท้องหยาบหรือขรุขระ(A) หรือท้องเรียบเป็นมันวาว (B)

ข้อมูลจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของมดทหารทั้ง 13 ชนิด โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 9 ลักษณะ(ดูรายละเอียดประกอบจากภาพที่ 8-16) แล้วนำมาสร้างเป็น key เพื่อการจัดจำแนกและบรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปีชีส์ทั้ง 13 ชนิดได้ดังนี้

1.1 การสร้าง key มดสกุล *Pheidole* จากป่าสะแกราช

จากข้อมูลความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมดสกุลนี้ ได้สร้างไดโคโตมัสคีย์ (dichotomous key) เพื่อแยกความแตกต่างของมดสกุล *Pheidole* ทั้งหมดให้ชัดเจนขึ้น โดยประยุกต์วิธีการของ Berry *et al.*(1996) และ Eguchi (2001) รายละเอียดดังนี้

การจำแนกมดสกุล *Pheidole* ในป่าสะแกราช

1. a มีขนาดความยาวลำตัวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร…..…… 2
   b ขนาดความยาวลำตัว 5 มิลลิเมตรหรือมากกว่า …….. 6
2. a มี hypostoma จำนวน 5 อัน ……..…….. 3
   b มี hypostoma น้อยกว่า 5 อัน …….. 5
3. a มองจากทางด้านหน้า ส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องลึกขนานกับความยาวลำตัว ..4
   b มองจากทางด้านหน้า ส่วนหัวมีลักษณะเป็นหลุมขรุขระทั่วทั้งหน้า…….. *Pheidole* sp.B
4. a ส่วนหัวมีความยาวมากกว่าความกว้าง..... *Pheidole pieli*
   b ส่วนหัวมีความยาวใกล้เคียงหรือเท่ากับความกว้าง..... *Pheidole bugi*

5. a อกปล้องที่ 2 มีลักษณะเป็นสันหรือตุ่มนูนขึ้น ……... *Pheidole* sp.C
   b อกปล้องที่ 2 ไม่มีลักษณะเป็นสันหรือตุ่มนูนขึ้น …… *Pheidole inornata*
6. a มี hypostoma จำนวน 5 อัน ……..……. 7
   b มี hypostoma น้อยกว่า 5 อัน ……..……. 8
7. a ท้องปล้องที่ 1 มีผิวหยาบหรือขรุขระ ……..……..…… *Pheidole* sp.D
   b ท้องปล้องที่ 1 มีผิวเรียบเป็นมัน ……..... *Pheidole* sp.E
8. a ด้านล่างของ petiole มีรยางค์รูปคล้ายใบพายหรือครีบ..... *Pheidole nodifera*
   b ด้านล่างของ petiole ไม่มีรยางค์..... 9
9. a หน้าผากเรียบเมื่อมองจากด้านข้าง..... *Pheidole planifrons*
   b หน้าผากไม่เรียบเมื่อมองจากด้านข้าง…….……..…… 10
10. a ท้องปล้องที่ 1 มีผิวเป็นร่องเล็กหรือขรุขระ ……..……...… 11
    b ท้องปล้องที่ 1 มีผิวเรียบเป็นมัน ……...……..…… 12
11. a ไม่มี hypostoma ……..…… *Pheidole yeensis*
    b มี hypostoma จำนวน 2 อัน ……..……... *Pheidole* sp.A
12. a ส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องลึกขนานกันตามความยาวลำตัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้งฐานกะโหลก..... *Pheidole plagiaria*
    b ส่วนหัวเรียบหรือเป็นร่องตื้นไม่ตลอดความยาวส่วนหัว..... *Pheidole* sp.F

รายละเอียดทางสัณฐานและการกระจายของมดแต่ละชนิด

มดสกุลนี้ที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ป่าสะแกราช นำมาทำตัวอย่างแห้งแล้วเปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimens)หรือเอกสารวิชาการทางด้านอนุกรมวิธานจากพิพิธภัณฑ์มดและพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา ตรวจสอบแล้วพบว่าสามารถจำแนกชนิดได้ทั้งหมด 7 ชนิด คือ มดคันบ้าน(*Pheidole bugi*) ,มดคันกระโดด(*P. inornata*) ,มดคันครีบขน (*P. nodifera*) ,มดคันหัวแบน (*P. pieli*) ,มดคันร่องโค้ง (*P. plagiaria*) ,มดคันหน้าแบน(*P. planifrons*) และมดคันจีน (*P. yeensis*) โดยอ้างชื่อสามัญตามรายงานของ (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) บรรยายลักษณะเด่นทางสัณฐานภายนอกของมดทหาร รูปแบบรังและการกระจายดังรายละเอียดต่อไปนี้

Pheidole bugi **Wheeler, W.M. 1919** **มดคันบ้าน**

Pheidole bugi Wheeler, W.M. 1919: *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 63: 66 (s.w.) Type locality: Borneo

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 3.45 mm ลำตัวสีน้ำตาลแดง หัวค่อนข้างแบน ตรงกลางหัวมีร่องเล็กๆ ขนานกับความยาวส่วนหัว บริเวณสันขอบกะโหลกศีรษะเป็นลายตาข่ายขนาดใหญ่ ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเว้าเมื่อมองทางด้านข้าง ตารวมมีขนาดใหญ่ hypostoma มี 5 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูน และไม่พบขนบริเวณอก propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ ท้องปล้องที่ 1 ไม่เรียบ สร้างรังในดิน พบได้ทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 17)

มีรายงานพบมดชนิดนี้ในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ และภาคใต้ (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) ประเทศพม่า มาเลเซีย อินโดนีเซียและจีน (Eguchi, 2001)

Pheidole inornata **Eguchi, 2001** **มดคันกระโดด**

Pheidole inornata Eguchi, 2001: TROPICS *Monograph Series* No. 2: 66, Fig.22 (w.) Type locality: Borneo

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 4.63 mm ลำตัวสีน้ำตาลอมแดง บริเวณตรงกลางส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องลึกขนานไปกับความยาวลำตัวเห็นได้ชัดเจน ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเรียบเมื่อมองทางด้านข้าง ตารวมเจริญดี hypostoma มี 4 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูนหรือนูนน้อยมาก propodeal spine มีขนาดเล็กปลายแหลมยาว ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว สร้างรังในดิน ขอนไม้ผุ หรือในกองใบไม้ที่ทับถมบนพื้นป่า พบมดชนิดนี้กระจายทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 18) จากการเก็บตัวอย่างพบบางรังอาศัยอยู่ร่วมกับมดกระโดดเหลือง (*Odontomachus rixosus*) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Eguchi (2001) และของพรนรินทร์และวียะวัฒน์ (2003)

ประเทศไทยมีรายงานเฉพาะในภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคตะวันตกเฉียงใต้ และภาคใต้ (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) เกาะบอร์เนียว ประเทศอินโดนีเซีย Eguchi (2001)

Pheidole nodifera **(F. Smith, 1858)** **มดคันครีบขน**

Pheidole nodifera (F. Smith, 1858): *Atta nodifer* F. Smith, 1858: *Catalogue of Hymenopterous Insects in the Collection of the British Museum* 6: 165 (w.) Type locality: Chaina

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 7.38 mm ลำตัวสีน้ำตาลดำ ส่วนหัวและกรามมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจ ส่วนหัวบริเวณหน้าผากนูนขึ้นมาเมื่อมองทางด้านข้างเมื่อมองทางด้านข้างตารวมขนาดใหญ่ บริเวณส่วนหัวและอกปล้องที่ 1 มีลักษณะขรุขระเป็นหลุมขนาดใหญ่ hypostoma มีลักษณะเรียบ ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดเล็กแหลมยาวปลายโค้งเข้าหากัน ลักษณะเด่นคือมีรยางค์รูปใบพายหรือครีบอยู่ใต้เอวปล้องที่ 1 มีขนยาวจำนวนมากปกคลุมทั่วลำตัว ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว สร้างรังในขอนไม้ผุ ในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 19)

ประเทศไทยมีรายงานพบเฉพาะในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้เท่านั้น (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005)

Pheidole pieli **Santschi, 1925** **มดคันหัวแบน**

Pheidole pieli Santschi, 1925: *Bulletin de la Societe Vaudoise des Science Naturelles* 56: 83 (w.s.) Type locality: Chaina

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 2.78 mm ลำตัวสีน้ำตาลเหลือง หัวค่อนข้างแบน ตรงกลางหัวเป็นร่องเล็กๆ ขนานกับความยาวลำตัว ตารวมขนาดใหญ่ ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะเว้าลงไปเมื่อมองทางด้านข้าง hypostoma มี 5 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูน propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว สร้างรังในกิ่งไม้ผุขนาดเล็ก พบได้ทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 20)

ประเทศไทยมีรายงานพบในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤาไน (พรนรินทร์และวียะวัฒน์, 2003) ประเทศจีน ญี่ปุ่นและคาบสมุทรเกาหลี (http://ant.edb.miyakyo-u.ac.jp/E/Taxo/F40606.html) ประเทศเวียดนาม (http://pick4.pick.uga.edu/mp/20q?act=x_checklist&guide= Ants_Vietnam)

***Pheidole plagiaria* F. Smith, 1860** **มดคันร่องโค้ง**

Pheidole plagiaria F. Smith, 1860: *Journal of the Proceedings of the Linnean Society,Zoology* 5: 112 (s.w.) Type locality: Indonesia

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 6.15 mm ลำตัวสีน้ำตาลออกดำ บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก รูปร่างขอบศีรษะด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่างชัดเจน มีตารวมขนาดใหญ่ ส่วนหัวบริเวณหน้าผากนูนขึ้นเมื่อมองทางด้านข้าง hypostoma มี 2 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเล็กน้อย propodeal spine มีขนาดเล็กปลายแหลมยาว มีขนยาวจำนวนมากปกคลุมทั่วใบหน้าและลำตัว ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว สร้างรังในดินและขอนไม้ผุ พบทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 21)

รายงานพบมดชนิดนี้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) ประเทศเวียดนาม (http://pick4.pick.uga.edu/mp/20q?act=x_checklist&guide= Ants _Vietnam) เกาะบอร์เนียว ประเทศอินโดนีเซีย Eguchi (2001) ประเทศอินเดีย (http://www.answers.com/topic/list-of-ants-of-india)

***Pheidole planifrons* Santschi, 1920** **มดคันหน้าแบน**

Pheidole planifrons Santschi, 1920: *Annales de la Societe Entomologique de Belbibue* 60: 166, fig.1 (s.w.) Type locality: Viet nam

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 7.43 mm ลำตัวสีน้ำตาลดำ ตรงกลางส่วนหัวบริเวณเหนือขอบริมฝีปากบนแบนราบ ผิวหยาบ ตารวมขนาดใหญ่ บริเวณสันขอบกะโหลกศีรษะเป็นลายตาข่ายขนาดใหญ่ ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเรียบเมื่อมองทางด้านข้าง hypostoma มี 2 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดใหญ่ปลายแหลมยาว มีขนสั้นปกคลุมทั่วลำตัว ส่วนท้องหยาบมีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆสลับกับร่องเล็ก ๆ ตามความยาวลำตัว สร้างรังในดิน พบได้ทั่วไปตามพื้นที่เปิดโล่งในป่าดิบแล้ง ไม่พบในป่าทดแทนหรือป่าที่โดนทำลาย (ภาพที่ 22)

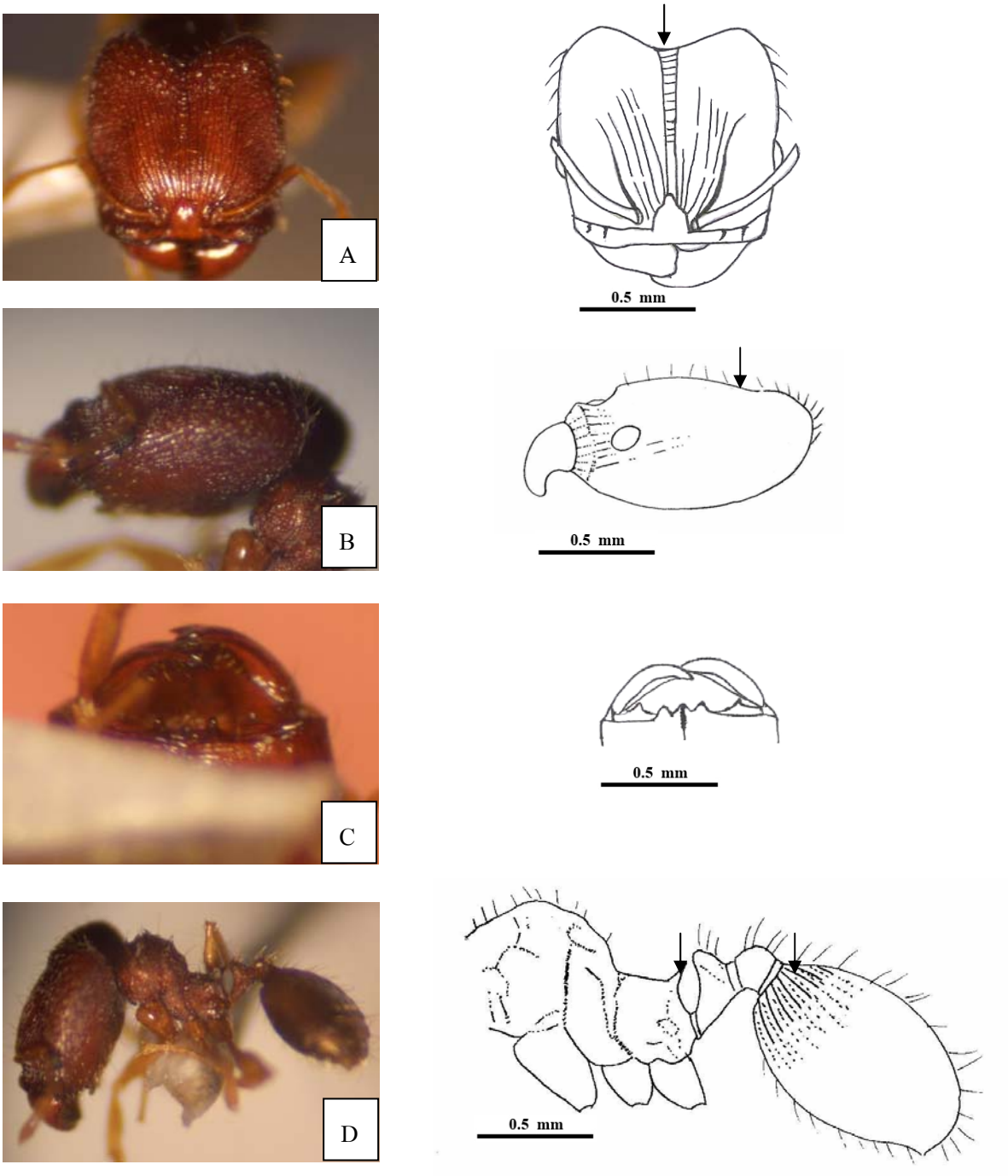
ประเทศไทยมีรายงานพบในภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) ประเทศเวียดนาม (http://pick4.pick.uga.edu/mp/20q?act=x_checklist&guide= Ants _Vietnam)

***Pheidole yeensis* Forel, 1902** **มดคันจีน**

Pheidole yeensis Forel, 1902: *Pheidole sulcaticeps* r.*yeensis* Forel, 1902: *Revue Suisse de Zoologie* 10: 179 (s.), 187 (s.) Type locality: Myanmar

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 6.45 mm ลำตัวสีน้ำตาลอมดำ มีลักษณะรูปร่างคล้ายกับมดคันหน้าแบนมาก ต่างกันตรงกลางส่วนหัวบริเวณด้านหลังของริมฝีปากโค้งนูนขึ้น รูปร่างขอบศีรษะด้านบนจะแคบกว่าด้านล่างชัดเจน ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะเว้าลงไปเมื่อมองทางด้านข้าง hypostoma มี 2 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดใหญ่ปลายแหลม ขนสั้นปกคลุมทั่วลำตัว ท้องปล้องที่ 1 ไม่เรียบ สร้างรังในดิน พบทั่วไปในพื้นที่เปิดโล่ง ป่าเต็งรัง (ภาพที่23)

ประเทศไทยมีรายงานพบในภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงใต้ (Jaitrong and Nabhitabhata, 2005) ประเทศเวียดนาม (http://pick4.pick.uga.edu/mp/20q?act= x_checklist&guide= Ants _Vietnam)



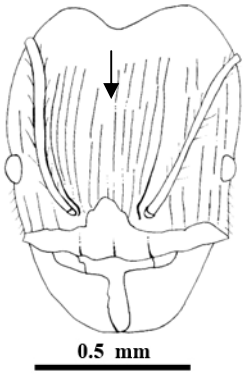
ภาพที่ 17 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ มดคันบ้าน

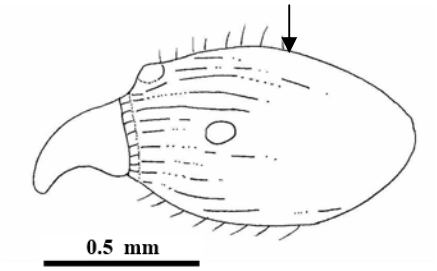
A) ส่วนหัวค่อนข้างแบน ตรงกลางหัวมีร่องเล็ก ๆ ขนานกับความยาวหัว (ลูกศร)

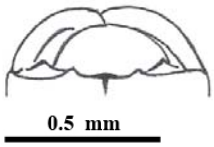
B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเว้าเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

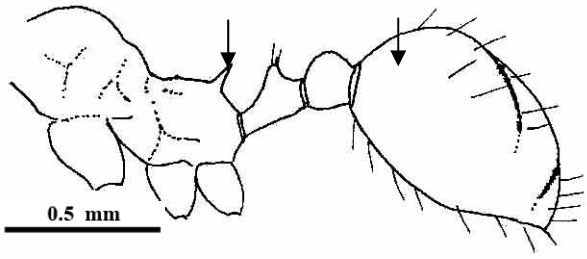
C) hypostoma มี 5 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูน propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ ท้องปล้องที่ 1 ไม่เรียบ(ลูกศร)









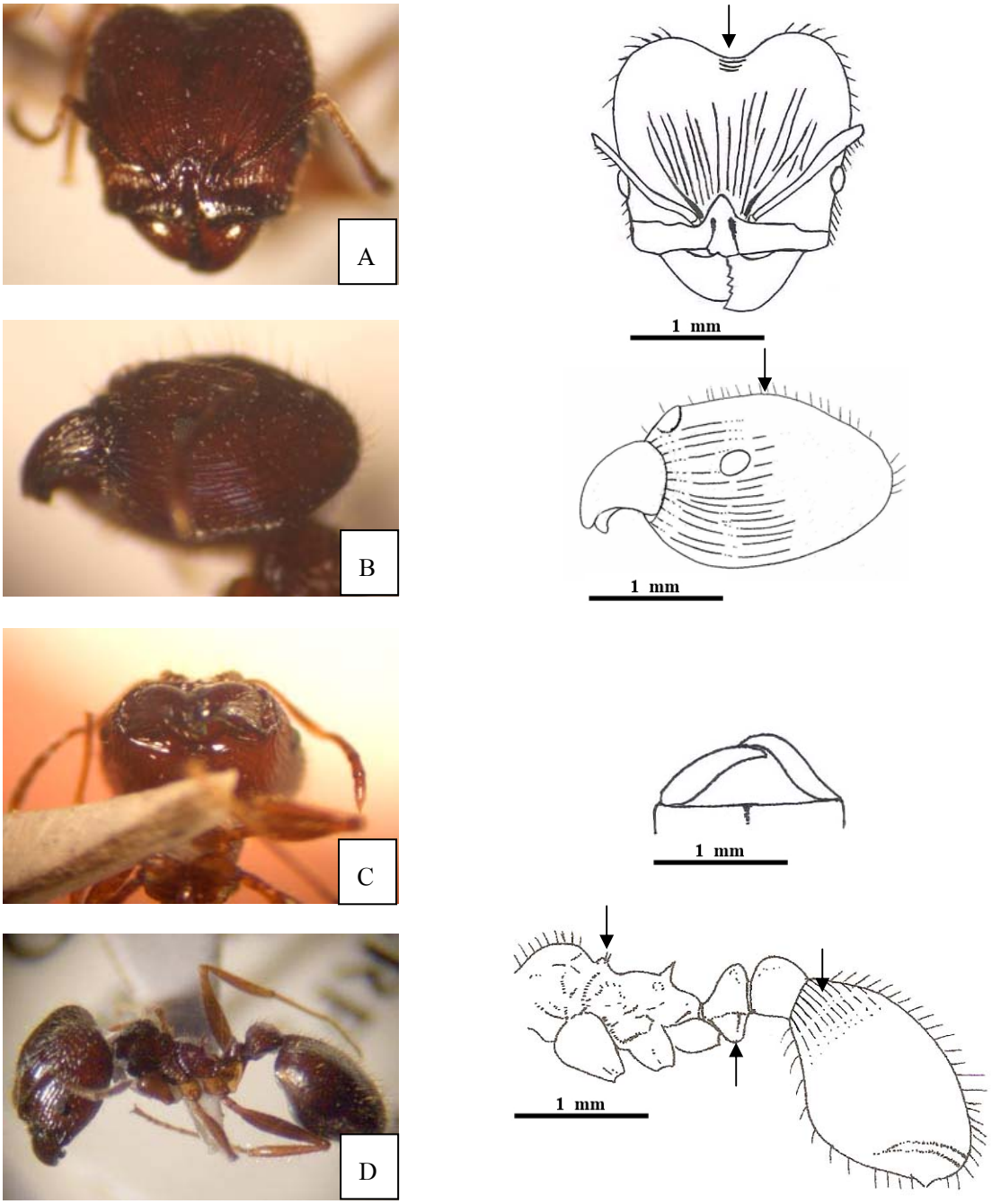
ภาพที่ 18 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมดคันกระโดด

A) บริเวณตรงกลางส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องลึกขนานไปกับความยาวหัว(ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเรียบเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 4 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูนหรือนูนน้อยมาก propodeal spine มีขนาดเล็กปลายแหลมยาว ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว(ลูกศร)



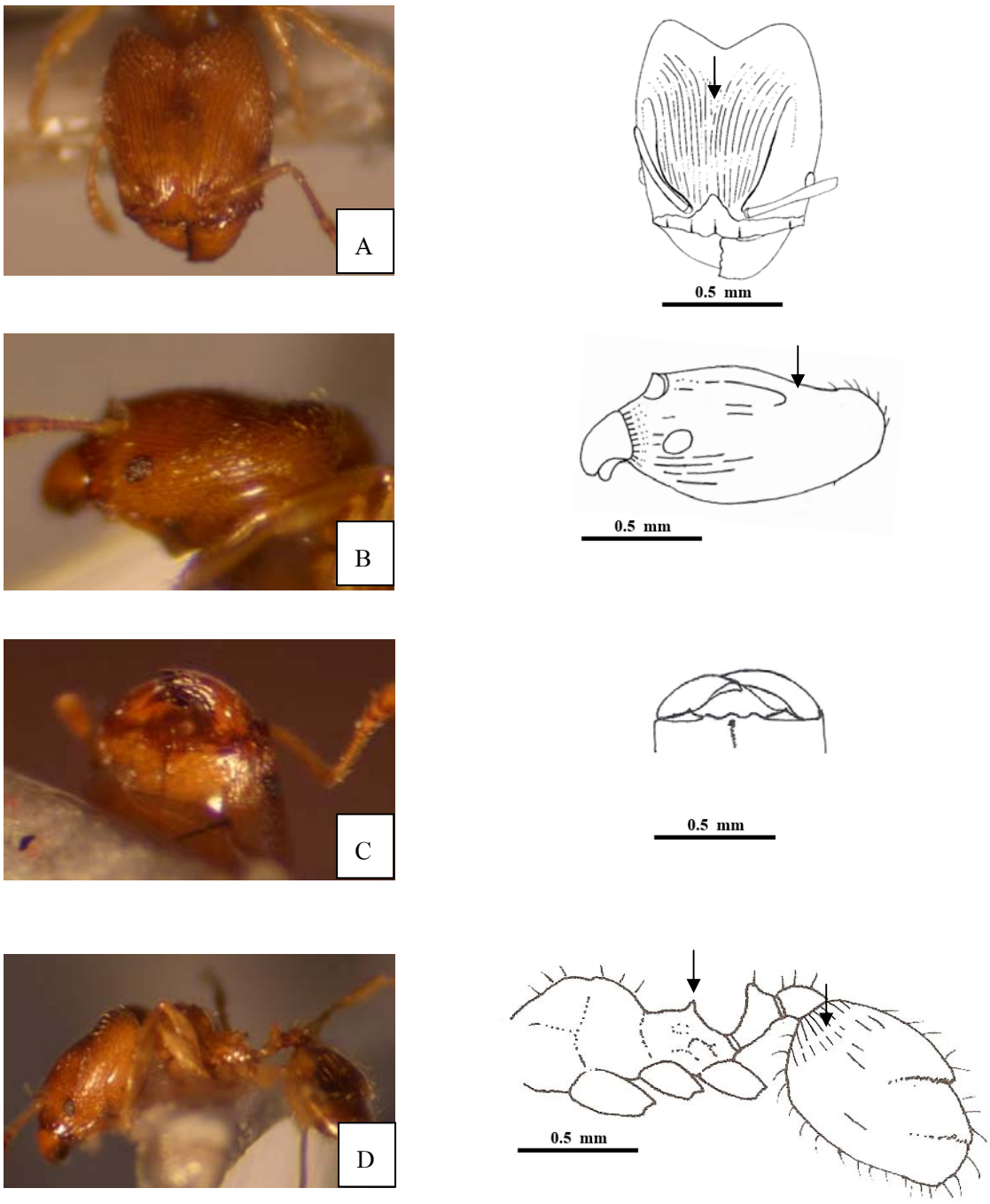
ภาพที่ 19 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆของมดคันครีบขน

A) ส่วนหัวมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจ(ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากนูนขึ้นเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มีลักษณะเรียบ

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดเล็กแหลมยาวปลายโค้งเข้าหากัน ลักษณะเด่นคือมีรยางค์รูปใบพายหรือครีบอยู่ใต้เอวปล้องที่ 1 มีขนยาวจำนวนมากปกคลุมทั่วลำตัว ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว (ลูกศร)



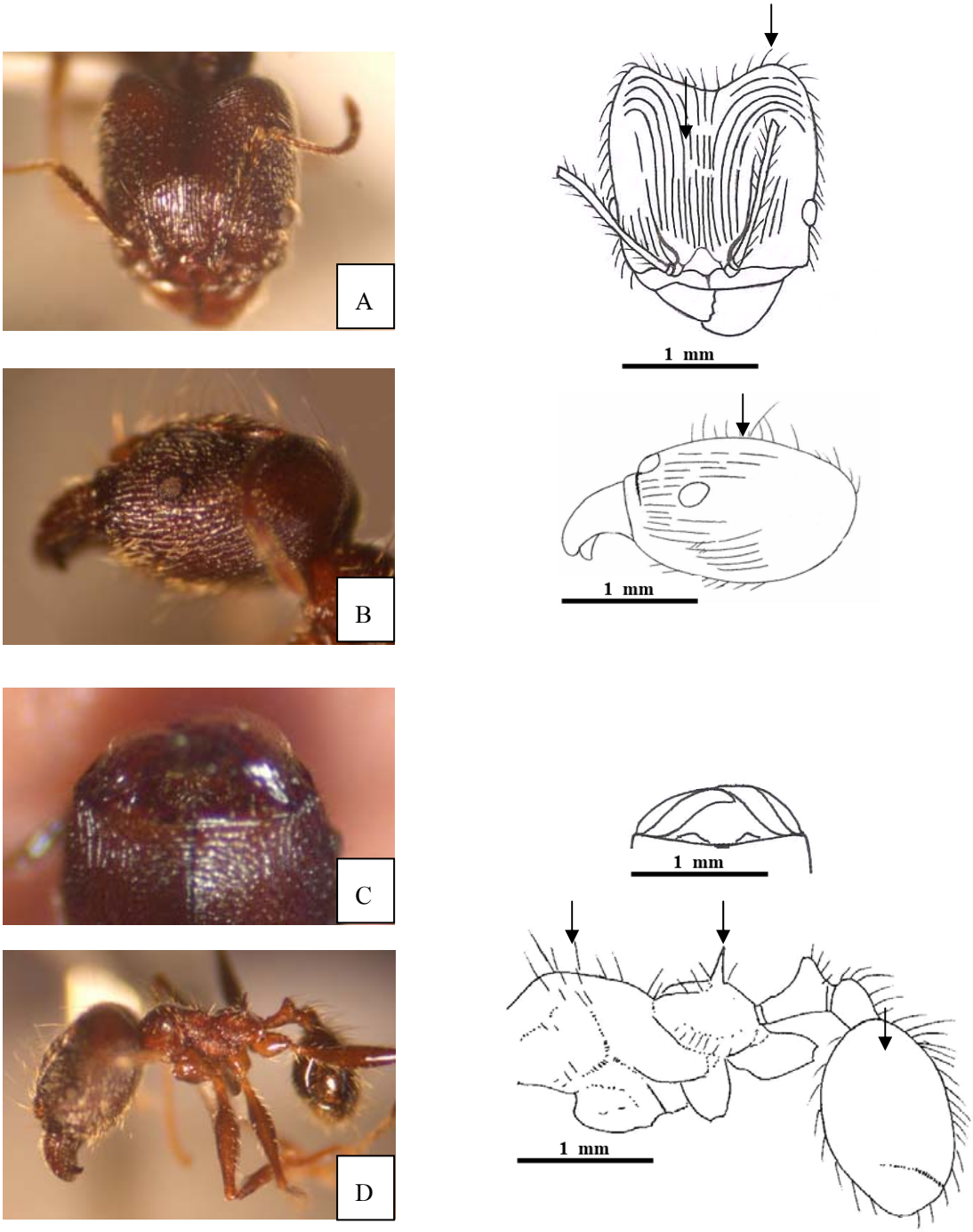
ภาพที่ 20 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมดคันหัวแบน

A) หัวค่อนข้างแบน ตรงกลางหัวเป็นร่องเล็กๆ ขนานกับความยาวลำตัว (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเว้าเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 5 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูน propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว (ลูกศร)



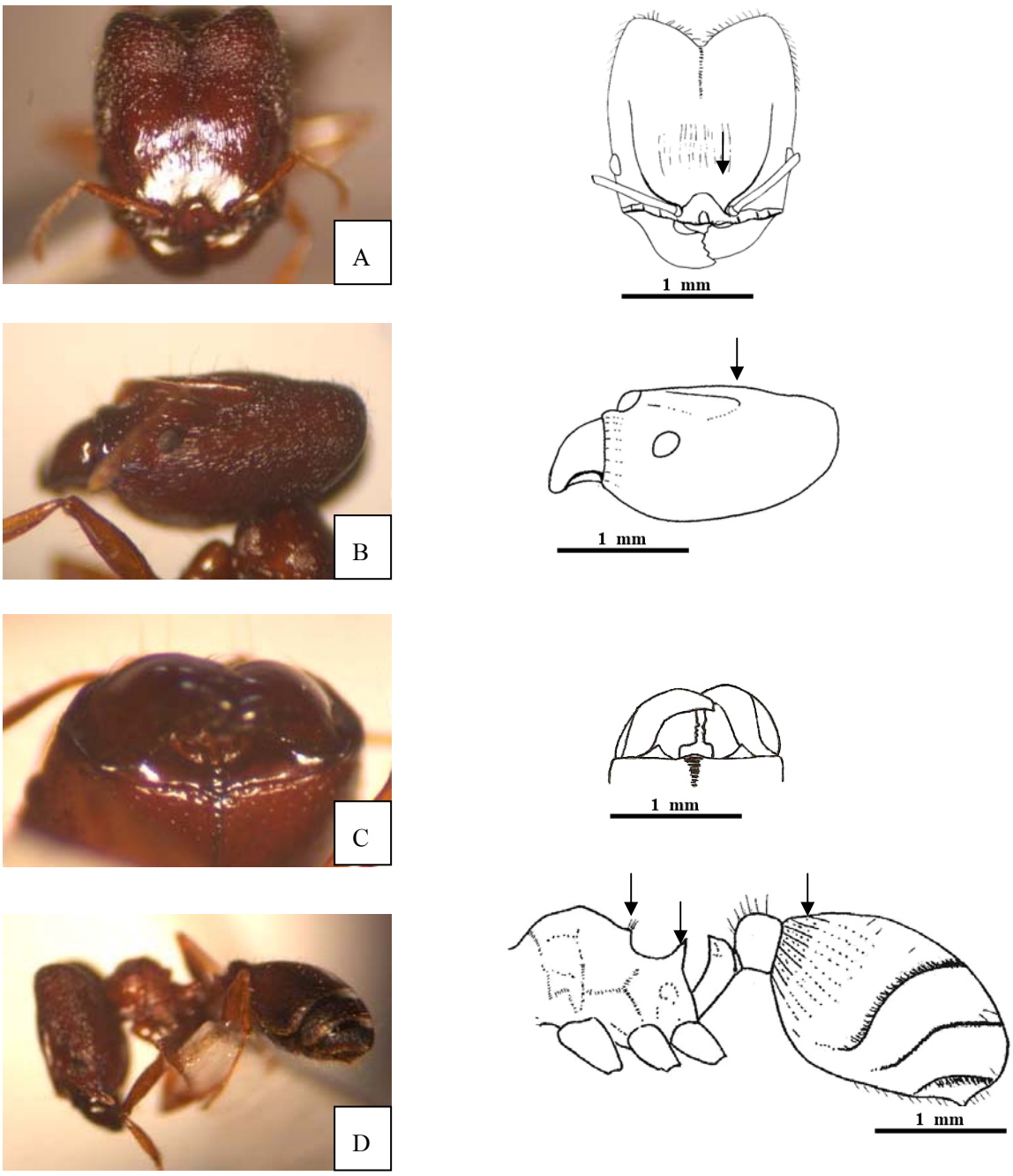
ภาพที่ 21 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมดคันร่องโค้ง

A) ส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก รูปร่างขอบศีรษะด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่างชัดเจน(ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากนูนเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 2 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเล็กน้อย propodeal spine มีขนาดเล็กปลายแหลม มีขนยาวจำนวนมากปกคลุมทั่วใบหน้าและลำตัว ท้องปล้องที่ 1 เรียบ



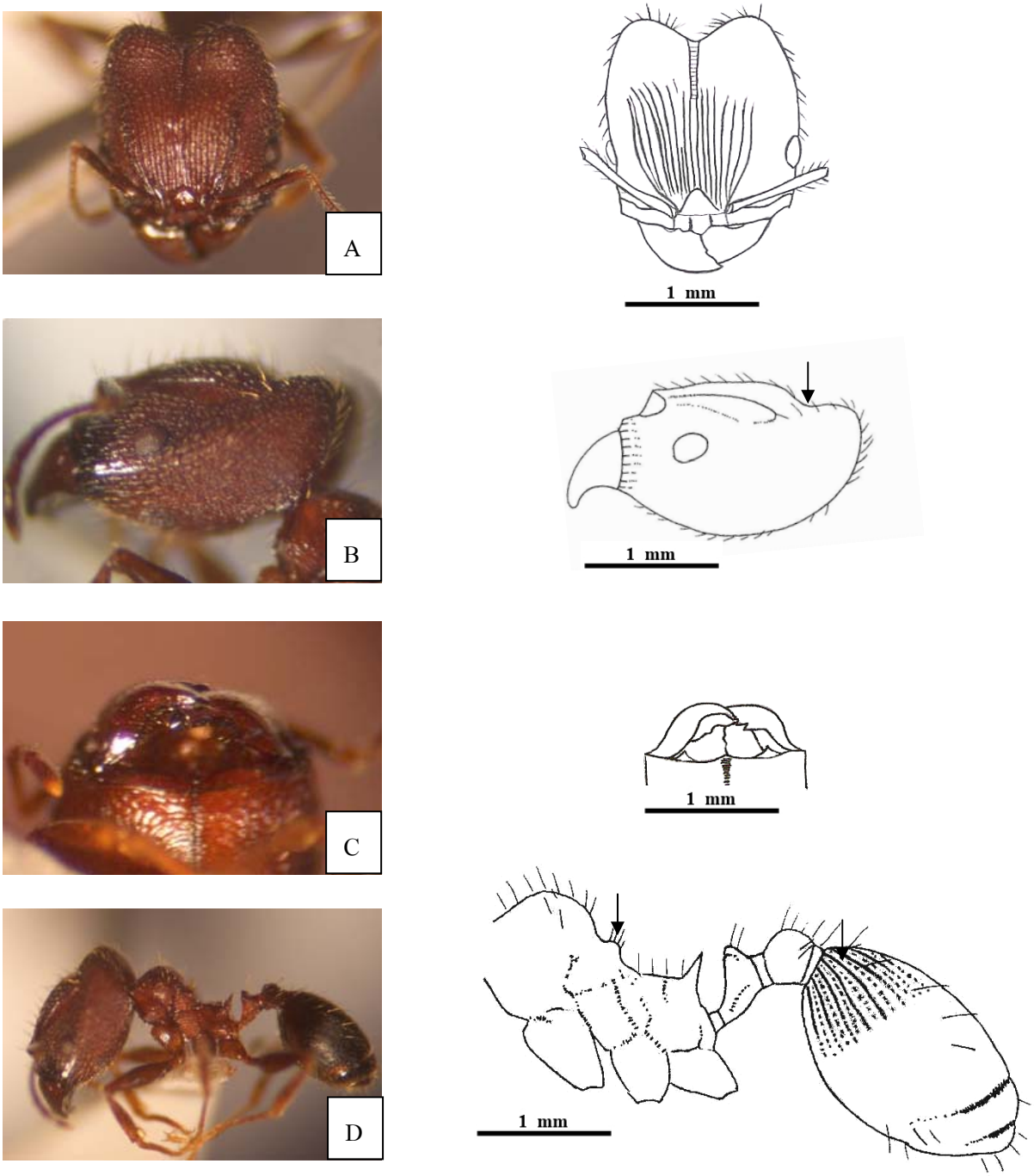
ภาพที่ 22 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมดคันหน้าแบน

A) ตรงกลางส่วนหัวบริเวณเหนือขอบริมฝีปากบนแบนราบ (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเรียบเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 2 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดใหญ่ ปลายแหลมยาว มีขนสั้นปกคลุมทั่วลำตัว ส่วนท้องหยาบมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ สลับกับร่องเล็ก ๆ ตามความยาวลำตัว (ลูกศร)



ภาพที่ 23 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมดคันจีน

A) ตรงกลางส่วนหัวบริเวณด้านหลังของริมฝีปากบนโค้งนูน รูปร่างขอบศีรษะด้านบนจะแคบกว่าด้านล่าง (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากเว้าเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 2 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดใหญ่ ปลายแหลมมีขนสั้นปกคลุมทั่วลำตัว ท้องปล้องที่ 1 ไม่เรียบ(ลูกศร)

การวิจัยครั้งนี้พบมดสกุล *Pheidole* จำนวนถึง 6 ชนิดในป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา ที่ยังไม่ปรากฏรายงานมาก่อนในประเทศไทย โดยผู้วิจัยได้บรรยายลักษณะเด่นทางสัณฐานภายนอกของมดทหาร รูปแบบรังและการกระจายรายละเอียดดังนี้

***Pheidole* sp.A**

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 6.25 mm ลำตัวสีน้ำตาลอมแดง บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก บริเวณหน้าผากจะแบนเมื่อมองทางด้านข้าง ตารวมมีขนาดใหญ่ ขอบล่างของฐานริมฝีปากบน (hypostoma) มี 3 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจนมีขนปกคลุม propodeal spine มีขนาดใหญ่ยาวปลายแหลมโค้งออกจากกัน ส่วนท้องปล้องที่ 1 มีผิวหยาบเป็นลายทางยาวขนานกับลำตัว มีขนปกคลุมทั่วไป สร้างรังในดิน พบทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 24)

***Pheidole* sp.B**

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 3.28 mm ลำตัวสีน้ำตาลออกดำ สามารถแยกจากมดชนิดอื่นได้ชัดเจนคือส่วนหัวมีลักษณะเป็นหลุมขรุขระขนาดใหญ่ทั่วใบหน้า บริเวณหน้าผากจะเว้าลงเมื่อมองทางด้านข้าง บริเวณอกและเอวมีหลุมขรุขระ ด้านบนของอกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันนูน hypostoma มี 5 ตุ่ม propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายแหลม ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว มีขนปกคลุมทั่วไป การสำรวจในงานวิจัยนี้พบในพื้นที่เปิดโล่งของป่าดิบแล้ง สร้างรังใต้ก้อนหิน (ภาพที่ 25)

***Pheidole* sp.C**

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 4.10 mm ลำตัวสีน้ำตาลอมแดง รูปร่างขอบศีรษะด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่างชัดเจน ส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก ตารวมมีขนาดใหญ่ บริเวณหน้าผากจะนูนขึ้นเมื่อมองทางด้านข้าง สันกะโหลกโค้งมน บริเวณอกปล้องที่ 1 มีหลุมขรุขระ ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นปุ่มนูนขึ้นมาคล้ายหนาม 2 หนาม

เห็นชัดเจน มีขนปกคลุม hypostoma มี 4 ตุ่ม propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ ส่วนท้องเรียบ มีผิวเป็นมันวาว มีขนปกคลุมทั่วลำตัว สร้างรังในขอนไม้ผุบริเวณป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 26)

***Pheidole* sp.D**

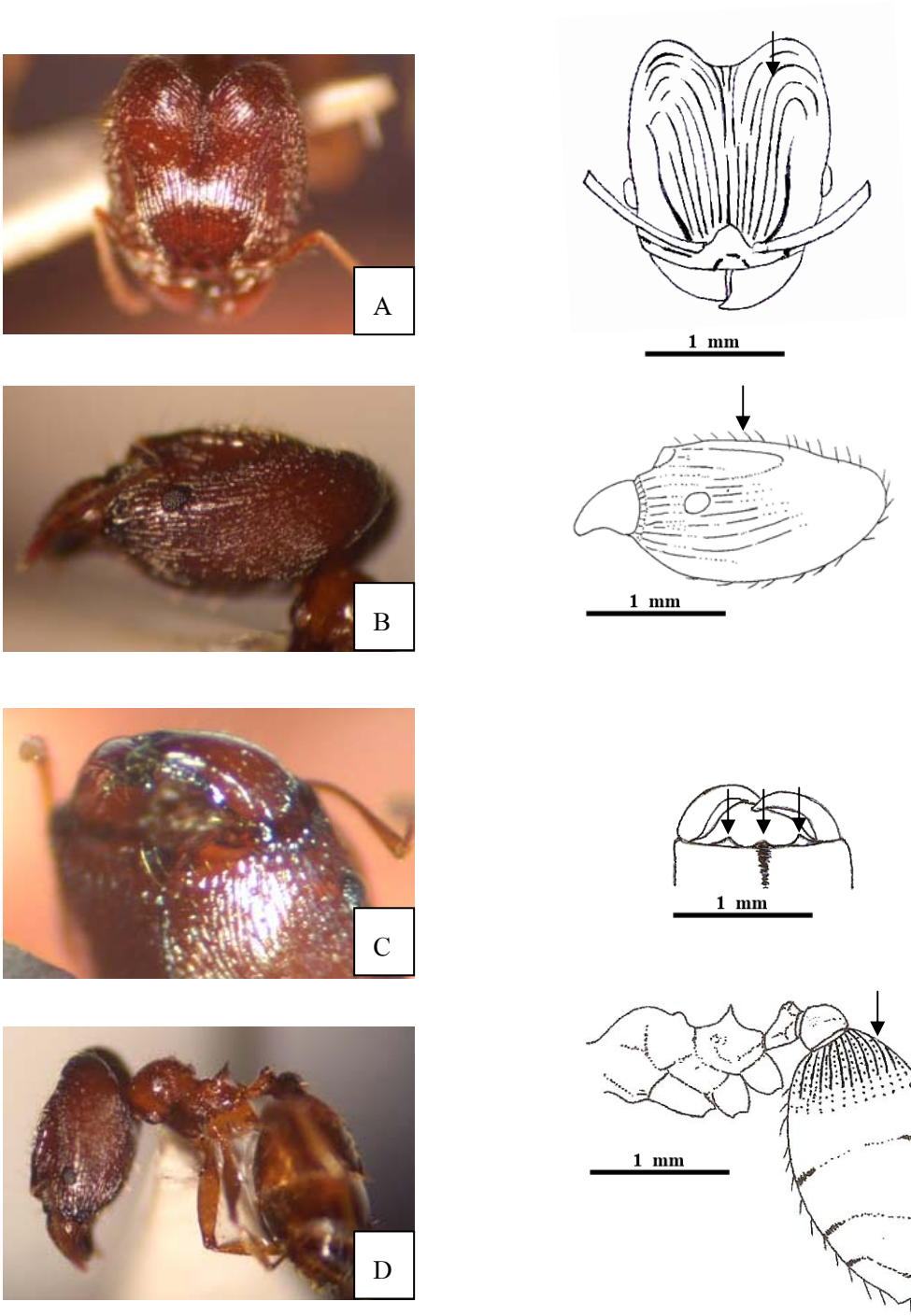
เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 5.68 mm ลำตัวสีน้ำตาลอมดำ บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก ตรงกลางบริเวณหน้าผากยุบเป็นแอ่งขนาดเล็ก บริเวณหน้าผากจะนูนเล็กน้อยเมื่อมองทางด้านข้าง ตารวมมีขนาดใหญ่ hypostoma มี 5 ตุ่ม ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจนมีขนปกคลุม propodeal spine มีขนาดใหญ่ยาว ปลายแหลม ส่วนท้องปล้องที่ 1 หยาบเป็นลายทางยาวขนานกับลำตัว มีขนปกคลุมทั่วลำตัว สร้างรังในดิน พบทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 27)

***Pheidole* sp.E**

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 5.03 มิลลิเมตร ลำตัวสีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะคล้ายมดคันกระโดด (*Pheidole inornata*) มากต่างกันตรง hypostoma มี 5 ตุ่มเท่านั้น บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนาดใหญ่ขนานกันทั้งใบหน้า บริเวณหน้าผากจะนูนเล็กน้อยเมื่อมองทางด้านข้าง ตารวมมีขนาดใหญ่ ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดเล็กยาวปลายแหลม ส่วนท้องปล้องที่ 1 ผิวเรียบเป็นมันวาว สร้างรังใต้ก้อนหิน พบทั่วไปในพื้นที่เปิดโล่งของป่าเต็งรัง (ภาพที่ 28)

***Pheidole* sp.F**

เป็นมดขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 5.00 mm ลำตัวสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายมดคันกระโดดมากต่างกันตรงมีขนาดความยาวลำตัวมากกว่าและด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน ตรงกลางส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องลึกเห็นได้ชัดเจน ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะนูนเมื่อมองทางด้านข้าง ตารวมมีขนาดใหญ่ hypostoma มี 4 ตุ่ม propodeal spine มีขนาดยาวโค้งปลายแหลม ผิวอกปล้องที่ 2 และ 3 มีลักษณะขรุขระเป็นหลุมกระจายทั่วไป ส่วนท้องเรียบเป็นมันวาว สร้างรังในดิน พบทั่วไปในป่าดิบแล้ง (ภาพที่ 29)



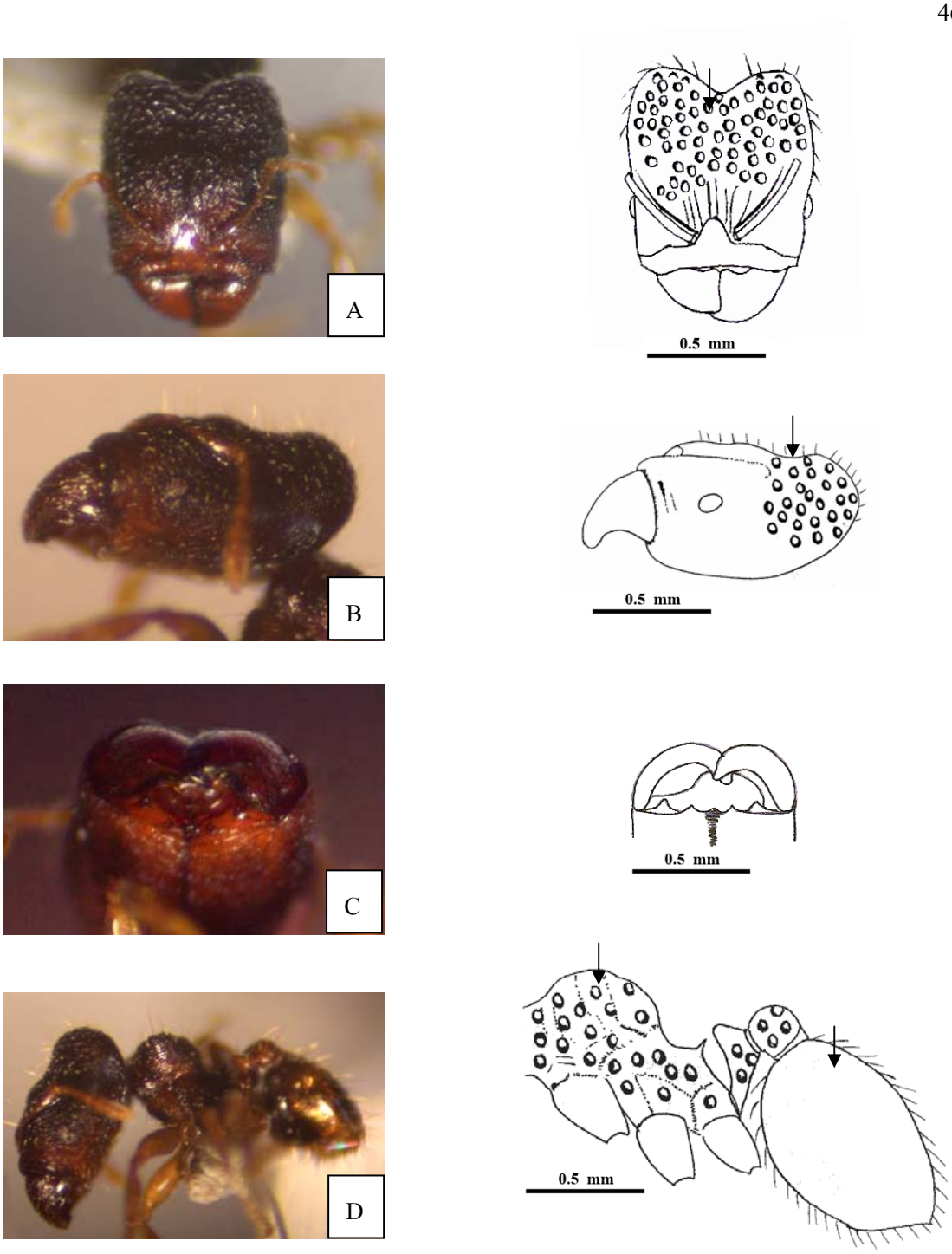
ภาพที่ 24 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมด *Pheidole* sp.A

A) บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก บริเวณหน้าผากจะแบนกว่าเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะแบนเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 3 ตุ่ม (ลูกศร)

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจนมีขนปกคลุม propodeal spine มีขนาดใหญ่ยาวปลายแหลมโค้งออกจากกัน ท้องปล้องที่ 1 มีผิวหยาบ



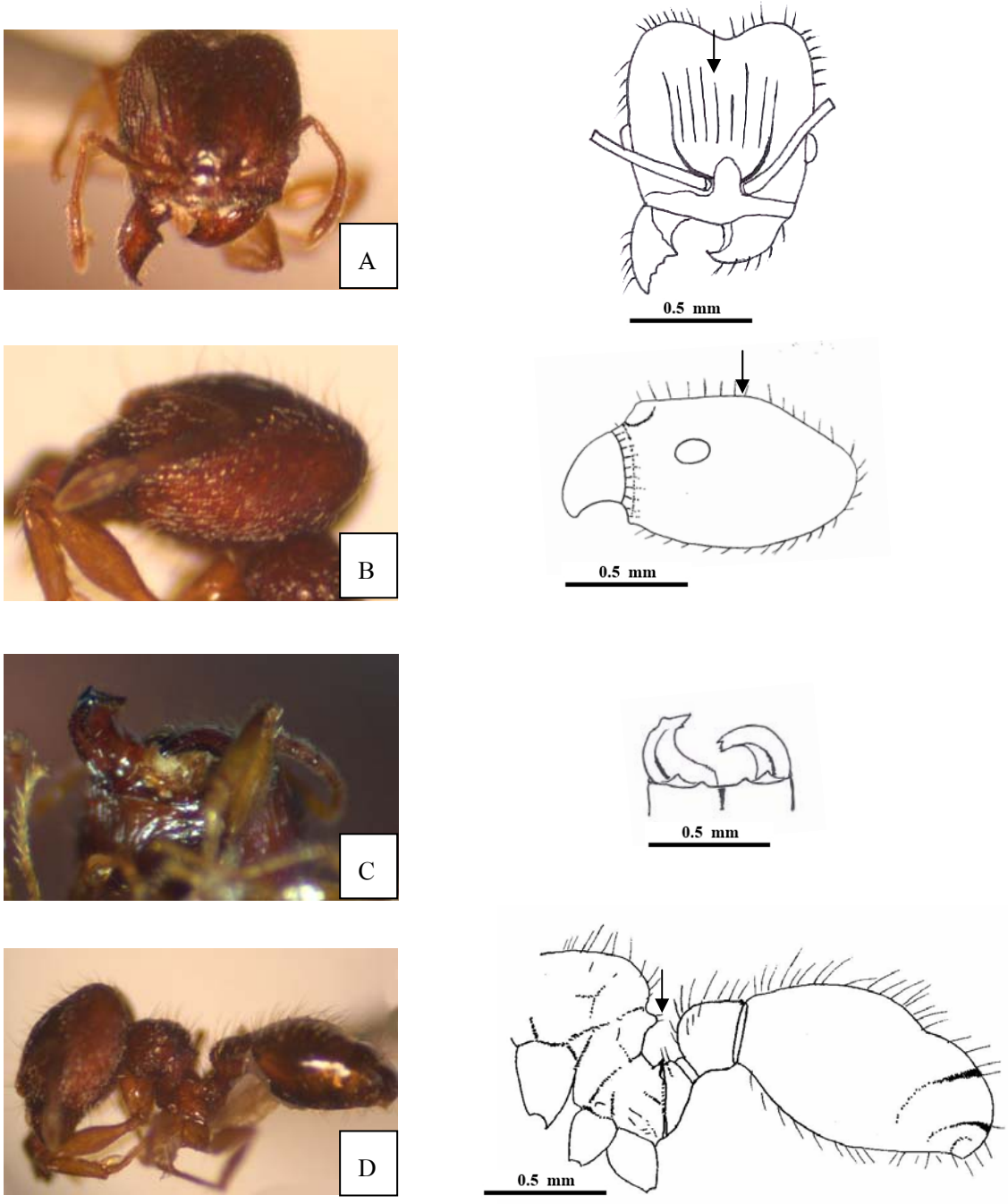
ภาพที่ 25 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมด *Pheidole* sp.B

A) บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นหลุมขรุขระขนาดใหญ่ทั่วใบหน้า(ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะเว้าเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 5 ตุ่ม

D) บริเวณอกและเอวมีหลุมขรุขระคล้ายส่วนใบหน้า ด้านบนของอกปล้องที่ 2ไม่เป็นสันนูน propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายแหลม ท้องปล้องที่ 1 เรียบเป็นมันวาว



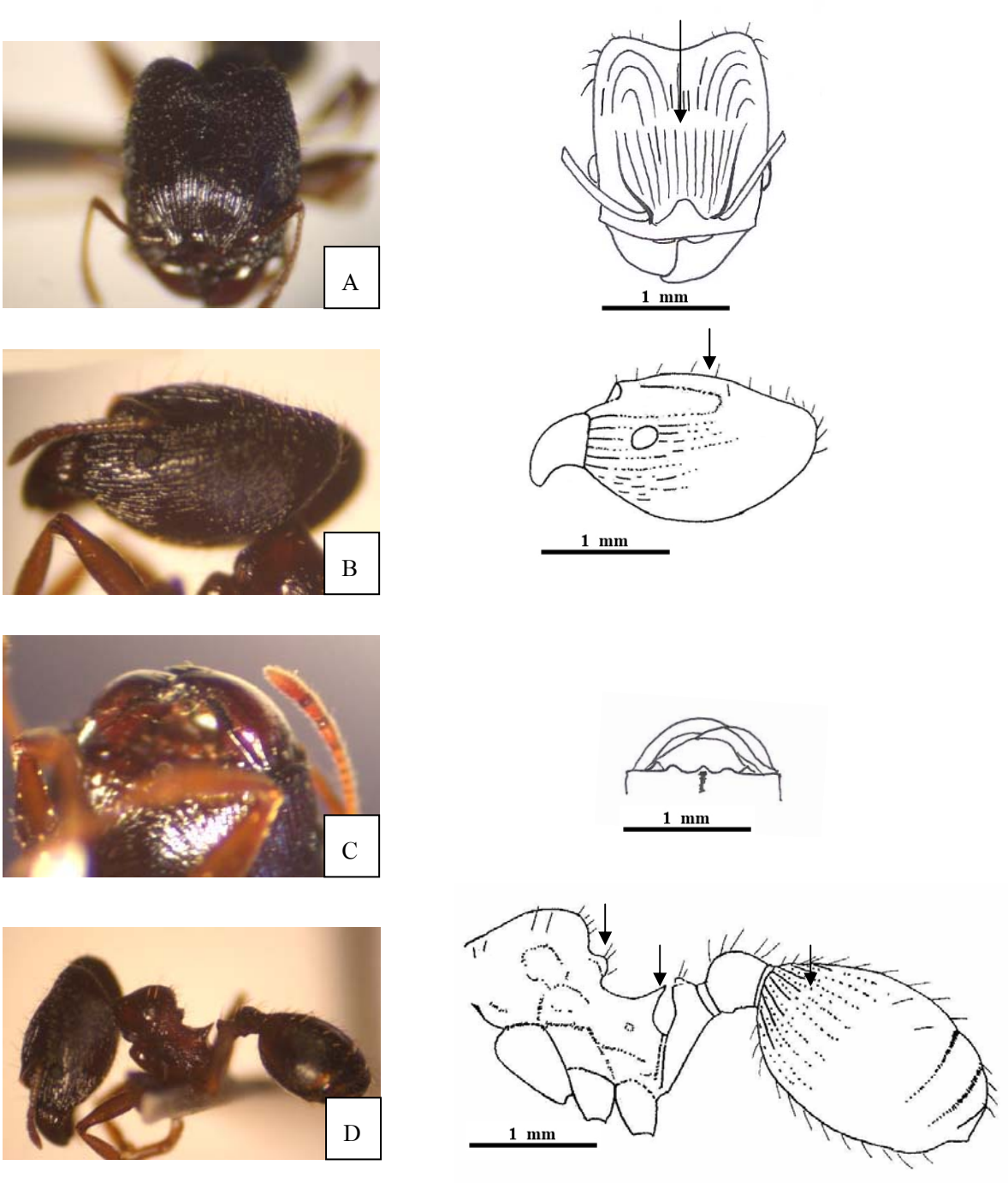
ภาพที่ 26 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมด *Pheidole* sp.C

A) รูปร่างขอบศีรษะด้านบนจะกว้างกว่าด้านล่างชัดเจน ส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะนูนเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 4 ตุ่ม

D) บริเวณด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นปุ่มนูนขึ้นมาคล้ายหนาม 2 อันเห็นชัดเจน มีขนปกคลุม propodeal spine มีขนาดเล็กสั้นปลายทู่ ส่วนท้องเรียบมีผิวเป็นมันวาว



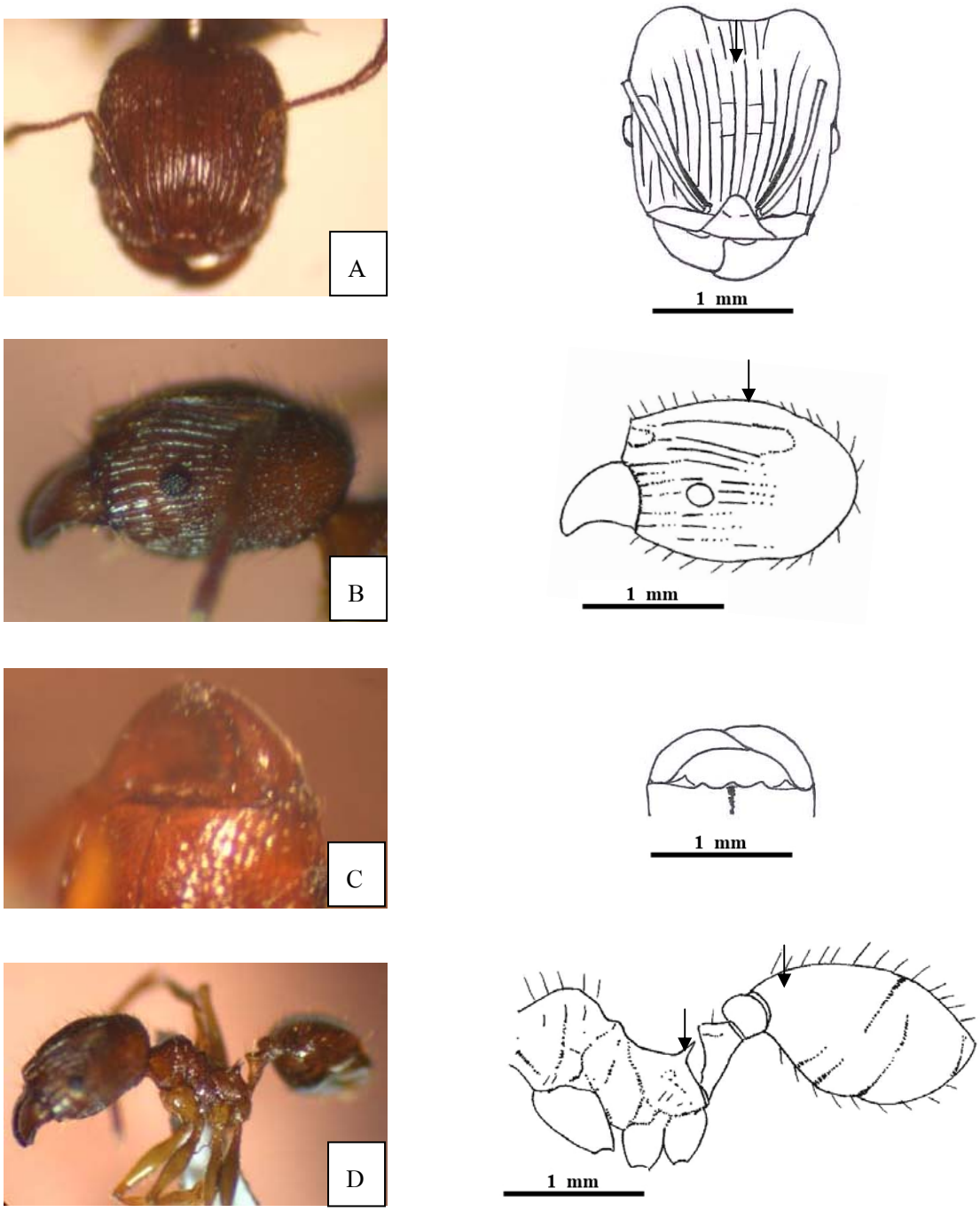
ภาพที่ 27 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมด *Pheidole* sp.D

A) บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนานกันตามส่วนโค้งของสันกะโหลก ตรงกลางบริเวณหน้าผากยุบเป็นแอ่งขนาดเล็ก (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะนูนเล็กน้อยเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 5 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจนมีขนปกคลุม propodeal spine มีขนาดใหญ่ยาวปลายแหลม ส่วนท้องปล้องที่ 1 หยาบเป็นลายทางยาวขนานกับลำตัว



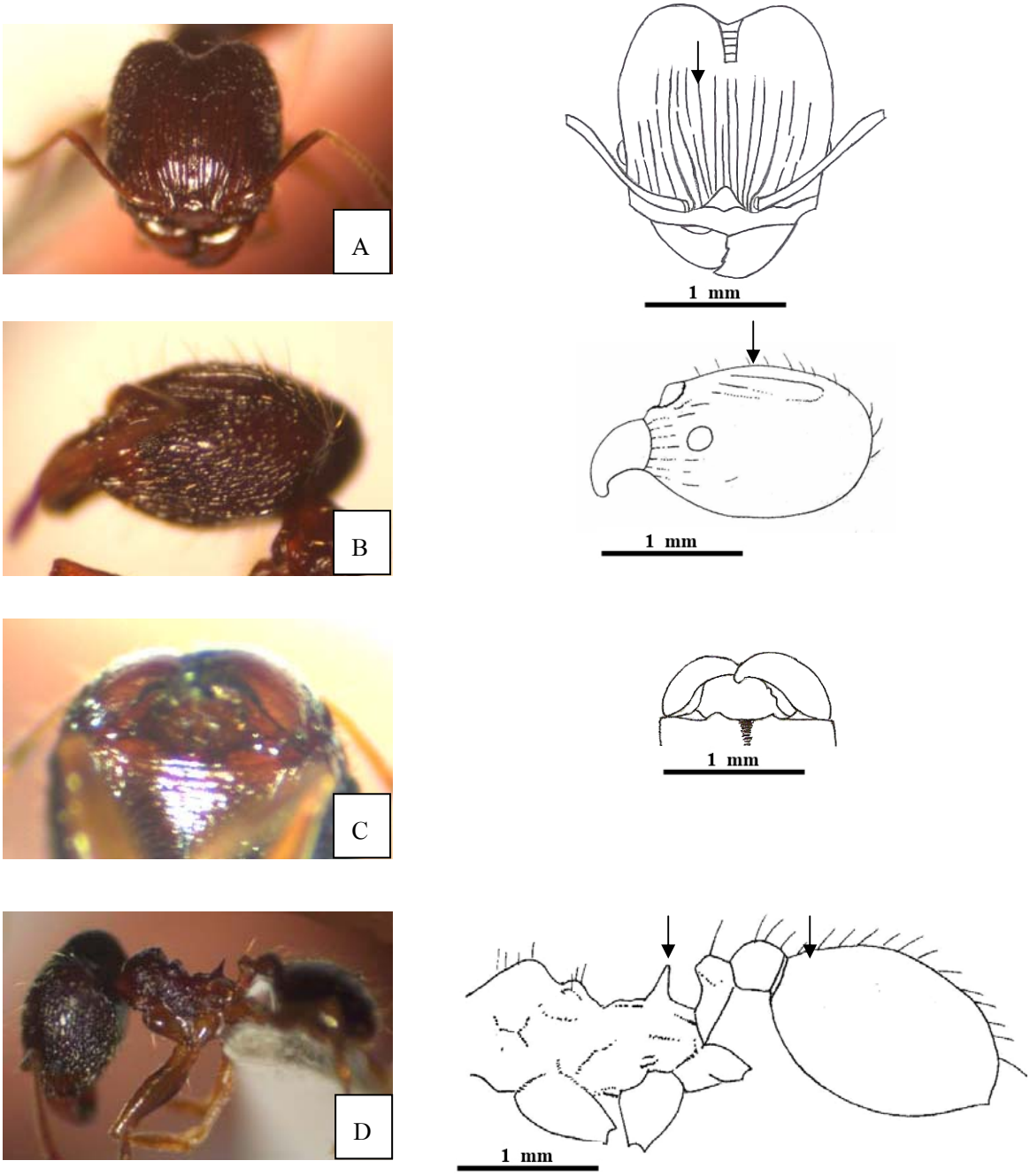
ภาพที่ 28 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมด *Pheidole* sp.E

A) บริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องขนาดใหญ่ขนานกันทั้งใบหน้า (ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะนูนเล็กน้อยเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

C) hypostoma มี 5 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน propodeal spine มีขนาดเล็กยาวปลายแหลม ส่วนท้องปล้องที่ 1 ผิวเรียบเป็นมันวาว (ลูกศร)



ภาพที่ 29 สัณฐานภายนอกและภาพลายเส้นของลักษณะต่าง ๆ ของมด *Pheidole* sp.F

A) บริเวณส่วนหัวบริเวณส่วนหัวมีลักษณะเป็นร่องลึกชัดเจน(ลูกศร)

B) ส่วนหัวบริเวณหน้าผากจะนูนเมื่อมองทางด้านข้าง (ลูกศร)

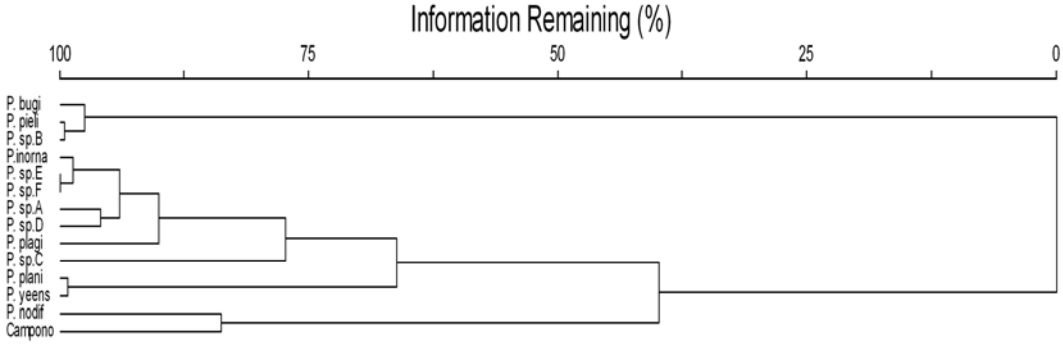
C) hypostoma มี 4 ตุ่ม

D) ด้านบนของอกปล้องที่ 2 เป็นสันนูนเห็นชัดเจน ผิวอกปล้องที่ 2 และ 3 มีลักษณะขรุขระเป็นหลุมกระจายทั่วไป propodeal spine มีขนาดยาวโค้งปลายแหลม ส่วนท้องเรียบเป็นมันวาว (ลูกศร)

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพบมดสกุลนี้มีความแปรผันของขนาดความยาวลำตัวสั้นสุด 2.78 มิลิลเมตรในมดคันหัวแบนจนถึงขนาดใหญ่สุด 7.43 เซนติเมตรในมดคันหน้าแบน ส่วนมดที่มีลักษณะเด่นแตกต่างจากมดชนิดอื่น ๆ ชัดเจน คือ มดคันครีบขนมีรยางค์รูปใบพายหรือครีบอยู่ใต้เอวปล้องที่ 1 (petiole) ต่างจากมดทุกชนิด และมด *Pheidole* sp.B สามารถแยกจากมดชนิดอื่นได้ชัดเจนคือส่วนหัวมีลักษณะเป็นหลุมขรุขระขนาดใหญ่ทั่วใบหน้า บริเวณหน้าผากจะเว้าลงเมื่อมองทางด้านข้าง บริเวณอกและเอวมีหลุมขรุขระเช่นเดียวกับใบหน้าชัดเจน กลุ่มมดที่มีสัณฐานวิทยาภายนอกใกล้เคียงกันแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มมดคันกระโดด มด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.F และกลุ่มมดคันจีนจะมีลักษณะรูปร่างคล้ายกับมดคันหน้าแบนมากเพียงแต่ต่างกันตรงส่วนหัวบริเวณหน้าผากเว้าเมื่อมองทางด้านข้าง ส่วนมดคันหน้าแบนหน้าผากจะเรียบ

1.2 Phenogram ที่สร้างจากข้อมูลสัณฐานวิทยา

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของมดทหารทั้ง 13 ชนิด ใช้ความแปรผันจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 9 ลักษณะ ต่อจากนั้นสร้างตารางสรุปข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของมดสกุล *Pheidole* ทั้งหมด (ตารางภาคผนวกที่ 1) มาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม Pcord version 4 แล้วสร้างเป็นแผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาของมดสกุลนี้ได้ดังนี้



ภาพที่ 30 Phenogram ที่สร้างจากข้อมูลสัณฐานภายนอกจำนวน 9 ลักษณะของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด(ข้อมูลจากตารางภาคผนวกที่ 1) ในป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา

หมายเหตุ nodif= *P. nodifera* , pieli=*P. pieli* , inorna= *P. inornata*, bugi= *P.bugi* , plagi= *P.Plagiaria* , plani= *P.planifrons* , yeens= *P.yeensis* , sp.A= *P.* sp.A , sp.B= *P.* sp.B , sp.C= *P.* sp.C , sp.D= *P.* sp.D , sp.E=*P.* sp.E , sp.F= *P.* sp.F และ Campono = *Camponotus rufoglaucus* เป็น outgroup

การสร้างไดอะแกรมแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้โปรแกรมPcord version 4 บนพื้นฐานของความแปรผันจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกทั้ง 9 ลักษณะของมดสกุล *Pheidole* โดยใช้มด *Camponotus rufoglaucus* เป็นoutgroup (ภาพที่ 30) Phenogram ที่ได้แบ่งความเหมือนทางสัณฐานวิทยาเป็น 3 กลุ่ม(clade) ดังนี้

cladeที่ 1 เป็นกลุ่มมดขนาดเล็ก propodeum ขนาดสั้นปลายทู่ มีสันร่องบริเวณหน้าผากชัดเจนมีสมาชิกภายในกลุ่มมี 3 ชนิด ได้แก่ มดคันบ้าน , มดคันหัวแบน และมด *Pheidole* sp.B โดยมดคันบ้านและมด *Pheidole* sp.B มีความเหมือนกันมากถึงประมาณ 97 % cladeที่ 2 เป็นกลุ่มใหญ่ที่ประกอบด้วยมดขนาดเล็กจนถึงขนาดกลางปะปนกันมีสมาชิกภายในกลุ่มจำนวน 10 ชนิด เมื่อแบ่งความสัมพันธ์ตามความเหมือนที่ระดับ 65 % สามารถแบ่งมดได้อีกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อยที่ 1 คือ มดคันกระโดด , มดคันร่องโค้ง , มด*Pheidole* sp.A , มด *Pheidole* sp.C , มด *Pheidole* sp.D , มด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.F กลุ่มย่อยที่ 2 คือ มดคันหน้าแบนและมดคันจีน และ clade สุดท้ายคือ มดคันครีบขนซึ่งมีความแตกต่างจากมดชนิดอื่นชัดเจนคือ มีรยางค์

รูปใบพายหรือครีบอยู่ใต้เอวปล้องที่ 1 ซึ่งมด *Camponotus rufoglaucus* ที่ใช้เป็นoutgroup จัดอยู่ในกลุ่มนี้ที่ระดับความเหมือน 80 % ซึ่งโปรแกรม Pcord version 4 สามารถแยกชนิดมดสกุลนี้ได้เพียง 12 ชนิดเท่านั้นเพราะ cladeที่ 2 ไม่อาจแยกมด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.Fออกจากกันได้

2. พฤติกรรมของมดสกุล *Pheidole*

2.1 พฤติกรรมการสร้างรัง

มดสกุล *Pheidole* เป็นมดกลุ่มหนึ่งที่มีการดัดแปลงสิ่งแวดล้อมรอบตัวให้เหมาะสมกับความต้องการได้อย่างดี มีการสร้างรังอย่างประณีตในบริเวณพื้นที่หาอาหาร เพื่อใช้เป็นเกราะป้องกันอันตราย เก็บสะสมอาหาร ขยายพันธุ์ และเลี้ยงดูตัวอ่อน รูปแบบรังมดในสกุลนี้มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของมด ประเภทของดิน และบริเวณที่มดสร้างรัง รังมดบางชนิดมีอายุการใช้งานสั้น เพราะมดมีการเคลื่อนย้ายรังบ่อย แต่บางชนิดมีอายุการใช้งานนานนับปี

รูปแบบรังมดสกุล *Pheidole* ที่พบจากการสำรวจภาคสนามที่ป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ.นครราชสีมา จำแนกได้เป็น 4 รูปแบบ คือ

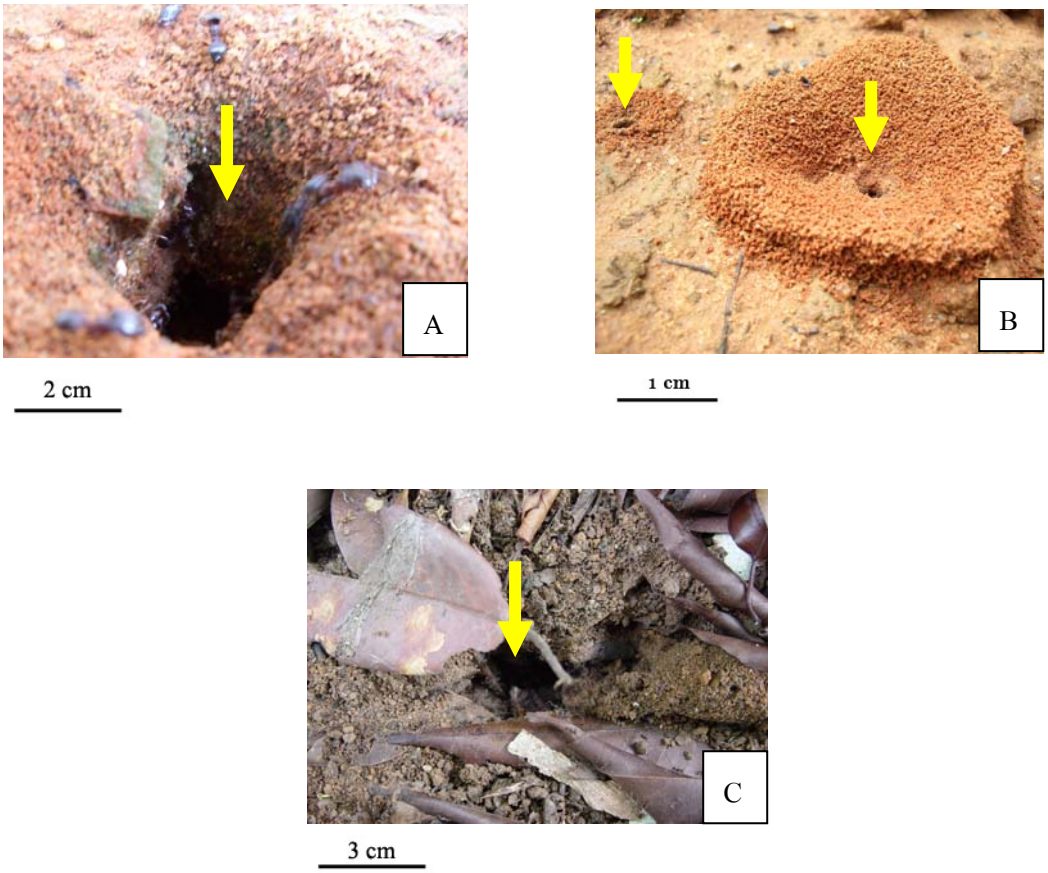
2.1.1 รังที่สร้างในดิน ซึ่งมีรูปแบบของการสร้างรังแตกต่างกัน โดยหลัก ๆ แล้วมดจะมีการขนมูลดินมาทิ้งไว้ที่บริเวณปากรังจำแนกรูปแบบของรังได้เป็น 3 ประเภท คือ รังที่สร้างโดยมีปากทางเข้าออกขนาดใหญ่เพียงตำแหน่งเดียว (รูปที่ 31 A) และรังมีปากทางเข้าออกขนาดเล็กกว่าประเภทแรกและมีปากรัง 2 ตำแหน่งขนาดใกล้เคียงกันและอยู่ไม่ห่างกันนัก ปากรังหนึ่งมักมีมูลดินจำนวนมากเรียงเป็นรูปวงกลม ยกสูงขึ้นกว่าพื้นระนาบ ซึ่งน่าจะเป็นปากทางเข้าหลัก ส่วนปากรังอีกตำแหน่งหนึ่งจะเป็นปากรังรองที่มีมูลดินรอบปากรังจำนวนน้อย(รูปที่ 31 B) อย่างไรก็ดีมดใช้ปากรังทั้งสองในการเข้าออก รังประเภทสุดท้ายมีลักษณะคล้ายคลึงกับรังประเภทแรก เพียงแต่มีการนำเอาใบไม้แห้งมาปิดปากรังเพื่อพรางรังจากภัย(รูปที่ 31 C)

2.2.2 รังในขอนไม้ผุและกิ่งไม้ผุขนาดเล็กมีมดที่สร้างรังลักษณะนี้จำนวน 4 ชนิด มดที่สร้างรังประเภทนี้มีคุณประโยชน์ต่อป่าเขตร้อนอย่างในประเทศไทย ช่วยทำให้ขอนไม้ผุเร็วยิ่งขึ้น เนื่องจากการกัดส่วนที่ผุให้เป็นโพรงแล้วมักมีเชื้อราเข้าย่อยสลายไม้นั้นต่อไป มดที่สร้างรังแบบนี้ เช่น มดคันครีบขน , มดคันกระโดด และมด *Pheidole* sp.C ส่วนใหญ่สร้างในขอนไม้ ส่วน

มดคันหัวแบน สร้างรังในกิ่งไม้ผุขนาดเล็กโดยจะมีมูลดินละเอียดเล็ก ๆ สร้างเป็นทางเข้าออกต่อจากกิ่งไม้โดยตรง(ภาพที่ 32)

2.2.3 รังใต้ก้อนหิน พบจำนวน 2 ชนิด เป็นรังที่สร้างโดยมดชนิดนี้อยู่ใต้ก้อนหินบริเวณป่าโล่งเสมอ ลักษณะรังเป็นโพรงดินกระจายอยู่ใต้ก้อนหิน เช่น มด *Pheidole* sp.B และมด *Pheidole* sp.E (ภาพที่ 33)

2.2.4 รังในดินและขอนไม้ผุ พบจำนวน 1 ชนิด คือ มดคันร่องโค้ง สามารถสร้างรังได้ทั้งสองรูปแบบ เป็นรังที่สลับซับซ้อนและปากรังมีใบไม้กำบังเพื่อป้องกันอันตราย (ภาพที่ 31 C) รังมีอายุนาน เนื่องจากมีสมาชิกจำนวนมาก

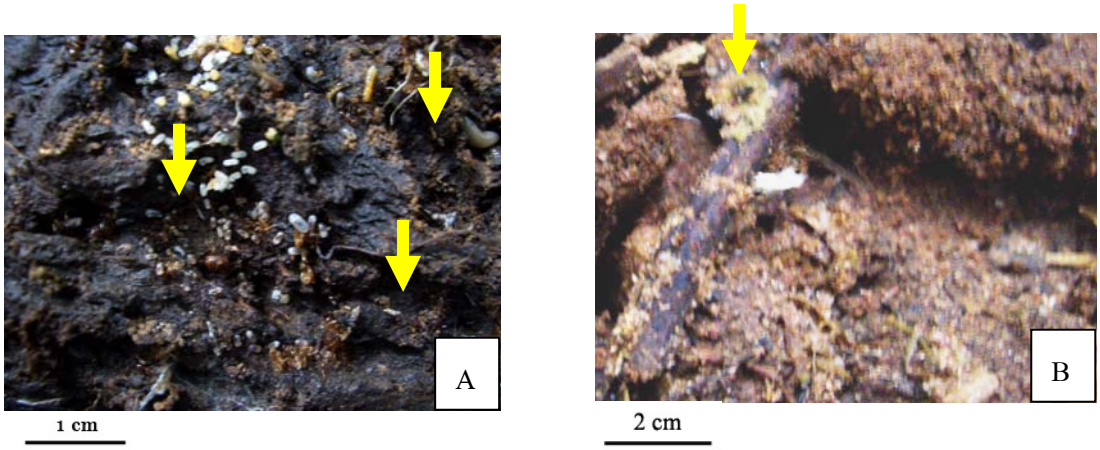


ภาพที่ 31 รูปแบบของรังในดินในป่าดิบแล้ง

A) ปากรังมดคันหน้าแบน (*Pheidole planifrons*) ลูกศรแสดงปากรังมีมดงานผ่านเข้าออกพบในพื้นที่เปิดโล่งบริเวณทางเดินในป่า

B) ปากรังมดคันจีน (*Pheidole yeensis*) ซึ่งใช้เป็นทางเข้าออกลูกศรแสดงปากรังใหญ่และปากรังย่อย เป็นรังสร้างใหม่ตอนเช้าหลังจากฝนตกตอนกลางคืน พบรังรูปแบบนี้ในพื้นที่ชายป่าใกล้บ้านเรือน

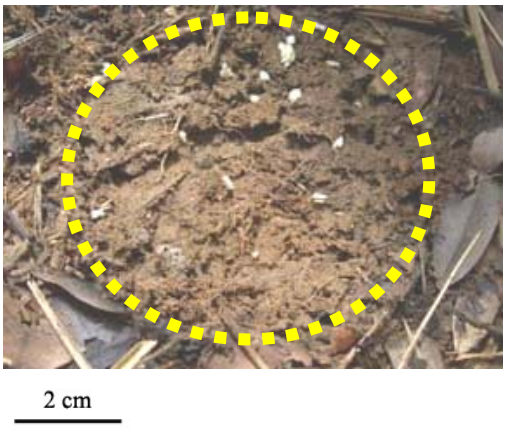
C) ปากรังมดคันร่องโค้ง (*Pheidole plagiaria*) เป็นรังขนาดใหญ่ในดินมีเศษใบไม้ปกคลุมปากรัง ลูกศรแสดงปากรังค่อนข้างใหญ่ ภายหลังนำใบไม้ที่กำบังปากรังออกแล้ว



ภาพที่ 32 ลักษณะรังในขอนไม้ผุ

A) รังมด *Pheidole* sp.C พบโพรงภายในรังหลังจากตักส่วนผิวหน้าขอนไม้ผุออกแล้ว ลูกศรแสดงตำแหน่งโพรงต่าง ๆภายในรัง พบในป่าดิบแล้ง

B) รังมดคันหัวแบน (*Pheidole pieli*) เป็นรังในกิ่งไม้ผุขนาดเล็ก ลูกศรแสดงปากรังเป็นรูทางเข้าขนาดเล็กติดกิ่งไม้ที่ใช้ทำรัง พบในป่าดิบแล้ง



ภาพที่ 33 ลักษณะรังใต้ก้อนหินของมด *Pheidole* sp.E เป็นโพรงดินกระจายอยู่ใต้ก้อนหิน วงกลมเส้นประแสดงตำแหน่งโพรงต่างๆ ในรัง (รูปภายหลังจากนำก้อนหินออกแล้ว) พบในป่าเต็งรัง

จากการศึกษาโดยเดินสำรวจรูปแบบการสร้างรังมดสกุล *Pheidole* จำนวนทั้งสิ้น 13 ชนิด ในบริเวณป่าสะแกราช พบรังมดกระจายบริเวณผืนป่าทั่วไปโดยเฉพาะในป่าดิบแล้งพบมากถึง 11 ชนิด คือ มดคันจีน ,มดคันบ้าน ,มดคันกระโดด ,มดคันครีบขน,มดคันหัวแบน ,มดคันร่องโค้ง ,มดคันหน้าแบน ,มด *Pheidole* sp.B ,มด *Pheidole* sp.C ,มด *Pheidole* sp.D และมด *Pheidole* sp.F ทำรังอยู่ในดินและขอนไม้ผุและใต้ก้อนหิน ส่วนป่าเต็งรังพบเพียง 2 ชนิด คือ มด *Pheidole* sp.A และมด *Pheidole* sp.E ทำรังในพื้นดินและใต้ก้อนหินบริเวณพื้นที่ว่างระหว่างกอหญ้าเพ็ก

Pheidole เป็นมดที่มีการกระจายได้ดีในระบบนิเวศป่าเขตร้อน แหล่งที่สามารถพบมดสกุลนี้ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ป่าธรรมชาติ (natural forest)หรือป่าขั้นทดแทน (secondary forest) มีบางชนิดสามารถแพร่กระจายได้ในพื้นที่เกษตรกรรมหรือใกล้บ้านเรือน เช่น มดคันจีน บริเวณป่าสะแกราชสามารถพบรังมดสกุล *Pheidole* ในรูปแบบรังที่หลากหลาย ได้แก่ ใต้พื้นดิน ใบไม้ผุ กิ่งไม้ผุ ขอนไม้ผุ และใต้ก้อนหิน ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับรายงานของ Eguchi (2001) และของพรนรินทร์และวียะวัฒน์(2003)

2.2 พฤติกรรมการหาอาหาร

มดสกุล *Pheidole* กินอาหารได้หลากหลายชนิด คือ กินสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก เช่น แมลงสาบป่าและกินเมล็ดพืชขนาดเล็กเป็นอาหาร (ภาพที่ 34) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Brown(2000) และEguchi (2001) อีกทั้งยังสามารถบริโภคขนมปังและเนยผงที่ใช้เป็นเหยื่อล่อด้วย จากการที่มดในสกุลนี้มีความหลากชนิดและสามารถบริโภคอาหารได้หลายชนิด จึงถือว่ามีความ สำคัญต่อระบบนิเวศป่าไม้ในแง่ของการมีส่วนช่วยปรับปรุงโครงสร้างทางกายภาพของดินเป็นอย่างยิ่ง (ภาพที่ 34)

1 cm

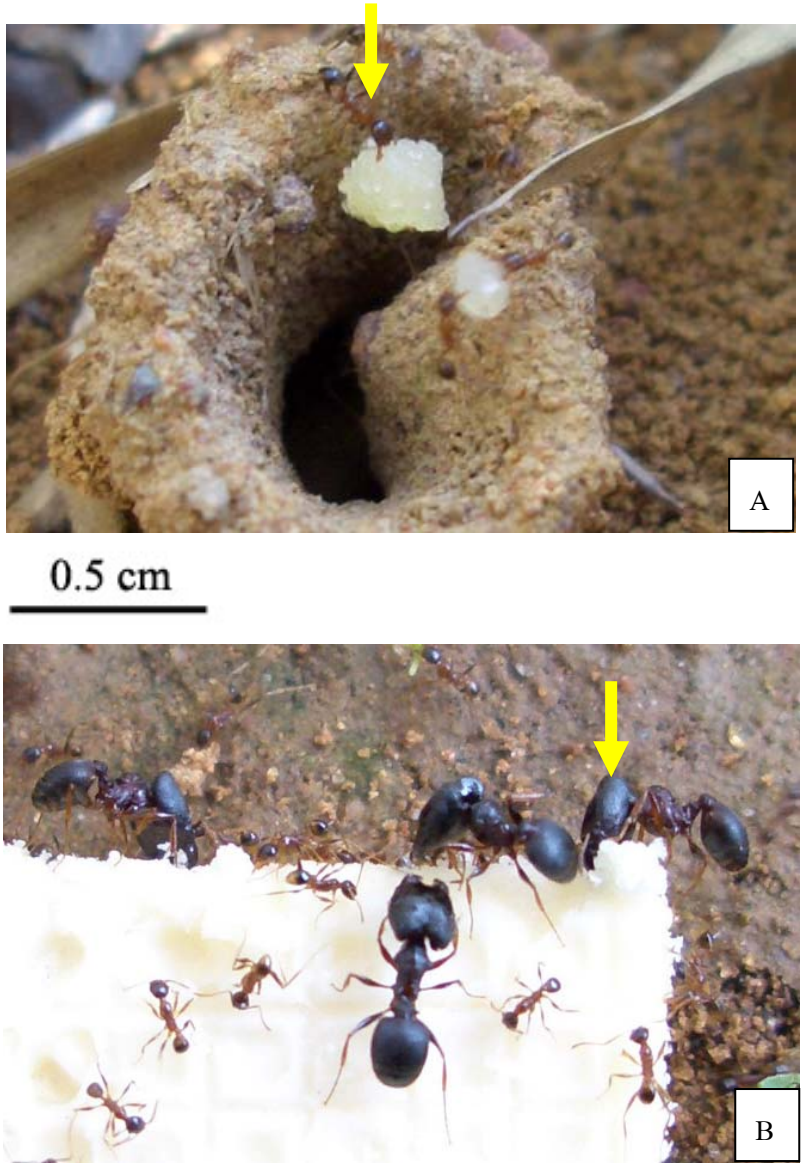
ภาพที่ 34 การล่าเหยื่อของมดสกุล *Pheidole*

A) มดคันร่องโค้ง (*Pheidole plagiaria*) กำลังล่าแมลงสาบป่า (ลูกศร)จะเห็นความร่วมมือกันระหว่างมดทหารและมดงานเล็ก

B) มดงานเล็กของมดคันจีน(*Pheidole yeensis*) ขนเมล็ดพืชมาที่รัง

มดงานของ *Pheidole* มีการแบ่งหน้าที่ในการหาอาหาร โดยมดงานเล็กมีหน้าที่สำรวจและขนย้ายอาหารเข้าสู่รัง ในขณะที่มดทหารจะมีหน้าที่ในการตัดเศษอาหารขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง (รูปที่ 35) สามารถพบเห็นได้ทั่วไปตามพื้นป่าในช่วงอากาศไม่ร้อนจัดและมีแสงสว่าง การแบ่งงานกันระหว่างมดงานเล็กและมดทหารได้มีรายงานก่อนหน้านี้โดย Holldobler และ Wilson (1990) ว่ามดสกุล *Pheidole* มีการแบ่งหน้าที่ภายในรังอย่างชัดเจน มีหน้าที่แตกต่างกันภายในรังพฤติกรรมการหาอาหารบางกลุ่มมีหน้าที่จำเพาะขึ้นอยู่กับอายุของมด ตัวอย่างเช่น มดงานที่ออกมาใหม่ ๆ จะอยู่ภายในรัง มีหน้าที่ดูแลไข่ ตัวอ่อน และดักแด้ ส่วนมดงานที่มีอายุมากกว่าก็จะเปลี่ยนกิจกรรมจากดูแลตัวอ่อนทำหน้าที่สร้างรัง และท้ายสุดของชีวิตก็จะกลาย เป็นผู้หาอาหารคือออกจากรังไปหาอาหาร งานวิจัยนี้สังเกตเห็นว่าวิธีการออกหาอาหารมดสกุล *Pheidole* ทั้ง 13 ชนิดมีรูปแบบพฤติกรรมการหาอาหารคล้ายกัน โดยสามารถสรุปขั้นตอนพฤติกรรมการหาอาหารดังนี้

เมื่อมดงานเล็กพบอาหารจะขนอาหารกลับสู่รัง และหากพบสมาชิกระหว่างทางอาจมีการปล่อยกลิ่นเช่นเดียวกับพฤติกรรมมดสกุลอื่น ๆ Bolton (1995)บอกทางให้สมาชิกอีกตัวให้ไปยังตำแหน่งที่มีอาหาร ในการวิจัยได้ใช้เนยผงเป็นเหยื่อล่อพบว่าเนยผงสามารถล่อมดได้ดี เนื่องจากมดรับกลิ่นได้รวดเร็วและเนยมีสีขาวซึ่งช่วยในการตามพฤติกรรมการนำอาหารเข้าสู่ตำแหน่งรังได้ง่าย หลังจากมดงานเล็กขนอาหารเข้าสู่รังแล้ว จะมีสมาชิกมดงานเล็กตามกันออกมายังแหล่งอาหารโดยเริ่มต้นเดินจากปากรังไปในทิศทางที่มีอาหาร แต่ลักษณะการเดินยังไม่เป็นระเบียบ เมื่อถึงตำแหน่งของอาหารจะเริ่มขนอาหารและเดินกลับรังเป็นระเบียบ ในกรณีที่อาหารมีขนาดใหญ่จะมีมดทหารตามมาภายหลัง ปกติมดทหารทำหน้าที่ปกป้องรังและอาจช่วยในการฉีกตัดอาหารให้ขนาดเล็กลง แต่ไม่มีหน้าที่ในการขนอาหาร เพราะหลังจากตัดอาหารแล้วไม่พบมีการขนอาหาร แต่มดทหารบางส่วนอาจจะเดินสำรวจบริเวณพื้นที่โดยรอบ เพื่อหาอาหารที่ยังต้องการการฉีกตัดอีก มดงานเล็กจะขนอาหารกลับสู่รังจนหมดหลังจากนั้นสมาชิกจะเริ่มทยอยกลับรัง ผู้วิจัยสังเกตความพอเพียงในด้านปริมาณของอาหารเพราะในกรณีที่มีอาหารปริมาณมากหลังจากขนเสร็จแล้ว แม้จะใช้เหยื่อล่ออีกก็จะไม่พบมดงานในรังเดิมออกมาที่เหยื่ออีกเลย



ภาพที่ 35 การหาอาหารของมดสกุล *Pheidole*

A) มดงานเล็ก *Pheidole* sp.A กำลังขนชิ้นเนยผงสีนวลไปที่ปากรัง (ลูกศร)

B) มดทหารของมดคันหน้าแบน (*Pheidole planifrons*) กำลังใช้กรามขนาดใหญ่ทำหน้าที่ตัดชิ้นขนมปัง(สีขาว)ให้เป็นชิ้นเล็กๆ สังเกตมดทหารมีขนาดใหญ่ยาวกว่ามดงานเล็กมากถึงประมาณ 3 เท่า (ลูกศร)

3. การหาความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการ

3.1 ความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด พบว่ามีความแตกต่างกันของความยาวของ ITS2 ในช่วงกว้างตั้งแต่ 764 bp จนถึง 1,117 bp (ตารางที่ 1) ทำให้สามารถแบ่งกลุ่มมดตามขนาดความยาวนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 มีความยาวของ ITS2 สั้นคือมีขนาดต่ำกว่า 800 bp คือ มด *Pheidole* sp.C (ความยาวขนาด 764 bp) และมด *Pheidole* sp.B (ความยาวขนาด 774 bp) กลุ่มที่ 2 มีความยาวของ ITS2 ตั้งแต่ 800 bp ขึ้นไปแต่ไม่เกิน 1,000 bp ซึ่งได้แก่มดกลุ่มใหญ่เรียงตามความยาวสั้นสุดในมดคันหัวแบน (*Pheidole pieli*)มีความยาว ขนาด 945 bp มดคันร่องโค้ง (*Pheidole plagiaria*) และมดคันครีบขน (*Pheidole nodifera*) ซึ่งมีความยาวเท่ากันเท่ากับ 954 bp มด *Pheidole* sp.E มีความยาวขนาด 959 bp มดคันจีน (*Pheidole yeensis*)มีความยาวขนาด 964 bp มด *Pheidole* sp.F มีความยาวขนาด 968 bp มดคันบ้าน (*Pheidole bugi*) มีความยาวขนาด 975 bp และมดคันกระโดด (*Pheidole inornata*) ซึ่งมี ITS2 ขนาดความยาวมากที่สุดเท่ากับ 981 bp และกลุ่มสุดท้ายมีความยาวของ ITS2 ตั้งแต่ 1,000 bp ขึ้นไป ได้แก่ มดคันหน้าแบน (*Pheidole planifrons*) มีความยาว ขนาด 1,073 bp มด *Pheidole* sp.A มีความยาวขนาด 1,117 bp และ *Pheidole* sp.D มีความยาวขนาด 1,116 bp

จะเห็นได้ว่าความยาวลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 มีความแปรผันมาก กล่าวคือ มีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์สั้นสุดในมด *Pheidole* sp.C จนถึงยาวสุดในมด *Pheidole* sp.A ซึ่งแตกต่างกันมากถึง 353 เบส ความแตกต่างที่เกิดขึ้นได้ที่นี่จาก ITS2 เป็นส่วนนิวคลีโอไทด์ที่จะถูกตัดทิ้งภายหลังจากที่มีการ transcribed RNA จากยีน rDNA ของมด จึงเอื้อให้สามารถพัฒนาความแตกต่างกันไปได้ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าในส่วนต้นของ ITS2 ประมาณ 60 คู่เบสแรกจะค่อนข้างอนุรักษ์(conserved) ยกเว้นมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่ 49 ในมดคันบ้าน หลังจากนั้นจึงเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มมากขึ้นตลอดช่วงความยาวของ ITS2 จนถึงตำแหน่งที่ 1,207 จึงจะเริ่มเกิดการconserved อีกครั้งจนถึงตำแหน่งที่ 1,231 ยกเว้นมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่ 1,225 ในมดคันบ้าน ซึ่งรูปแบบการอนุรักษ์เบสส่วนต้นและปลายของ ITS2 มดสกุลนี้คล้ายคลึงกับมดสกุล *Strumigenys* (Hung *et al*., 2004) ยุง *Culex* (Bhargavi *et al*., 2005) ยุง *Anopheles* (Li *et al*., 2005)

3.2 ปริมาณ GC Content ของนิวคลีโอไทด์ในส่วน ITS2

การศึกษาลำดับเบสบริเวณ ITS2 ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด พบว่ามีปริมาณเปอร์เซ็นต์(%) ของเบสอะดีนีน (Adenine) ตั้งแต่ 17.2 – 19.2 % มีค่าเฉลี่ยที่ 18.4% เบสไธมีน (Thymine) ตั้งแต่ 13.7 – 16.8 % มีค่าเฉลี่ยที่ 15.1 % เบสกัวนีน (Guanine) ตั้งแต่ 32.9 – 35.6 % มีค่าเฉลี่ยที่ 34.9 % และเบสไซโตซีน (Cytosine)ตั้งแต่ 30.3 – 32.7 % มีค่าเฉลี่ยที่ 31.6 % พบว่ามดสกุล *Pheidole* ทั้งหมดมีปริมาณ Guanine และ Cytosine รวมกันตั้งแต่ 64.8 – 67.6 % มีค่าเฉลี่ยที่ 66.5 % (ตารางที่ 1) ปริมาณเบสในส่วนของ ITS2 มีปริมาณเปอร์เซ็นต์ของเบสอะดีนีนมีค่าเฉลี่ยที่ 18.4% เบสไทมีนมีค่าเฉลี่ยที่ 15.1 % เบสกัวนีนมีค่าเฉลี่ยที่ 34.9 % และเบสไซโทซีนมีค่าเฉลี่ยที่ 31.6 % พบว่า ITS2 ในมดสกุลนี้ทั้งหมดมีปริมาณเบสกัวนีนรวมกับเบสไซโทซีนมีค่าเฉลี่ยที่ 66.5 % แม้ว่าลำดับเบส ITS2 ของมดสกุลนี้จะมีความแปรผันในด้านความยาวมากถึง 353 คู่เบสแต่ให้ข้อมูล GC rich ที่ระดับสูงกว่า 64 % ขึ้นไปโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 66.5 % และมีค่า SD ต่ำเพียง 0.834 ซึ่งแสดงความแปรผันของ %GC น้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน %GC rich ของ ITS2 จากมด *Strumigenys* ทั้งหมด 15 ชนิดมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 60.8%(Hung *et al*., 2004)และแมลงอื่นๆ ในอันดับ Hymenoptera เหมือนกัน(Wagener *et al*., 2006) และต่างจากอันดับ Diptera ซึ่งเป็น AT rich (Miller *et al*., 1997; Tautz *et al*., 1998; Schlotterer *et al*., 1994; Muccio *et al*., 2000; Thanwisai *et al*., 2005)

ตารางที่ 1 ความยาวของนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ที่ได้และเปรียบเทียบข้อมูลลำดับเบสปริมาณของเบสอะดีนีน (Adenine) เบสไธมีน (Thymine) เบสกัวนีน (Guanine) และเบสไซโตซีน (Cytosine) ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด

ที่	ชนิด	ความยาวของ ITS2 (bp)	อะดีนีน (Adenine) (%)	ไธมีน (Thymine) (%)	กัวนีน (Guanine) (%)	ไซโตซีน (Cytosine) (%)	% GC
1	*Pheidole bugi*	981	17.9	15.2	34.7	32.2	66.9
2	*Pheidole inornata*	975	17.8	14.7	35.6	31.9	67.5
3	*Pheidole nodifera*	954	17.2	15.2	35.6	32.0	67.6
4	*Pheidole pieli*	945	18.7	16.5	32.9	31.9	64.8
5	*Pheidole plagiaria*	954	18.4	14.4	34.5	32.7	67.2
6	*Pheidole planifrons*	1,073	18.8	15.7	35.2	30.3	65.5
7	*Pheidole yeensis*	964	19.1	15.2	34.8	30.9	65.7
8	*Pheidole* sp.A	1,117	18.7	15.0	35.3	31.1	66.3
9	*Pheidole* sp.B	775	17.4	16.8	34.5	31.4	65.8
10	*Pheidole* sp.C	764	19.2	13.7	35.6	31.4	67.0
11	*Pheidole* sp.D	1,116	18.7	15.1	35.0	31.2	66.2
12	*Pheidole* sp.E	959	18.1	14.6	35.2	32.0	67.3
13	*Pheidole* sp.F	968	18.4	14.7	35.1	31.8	66.9
	ค่าเฉลี่ย	965	18.4	15.1	34.9	31.6	66.5

3.3 ความสัมพันธ์ของลำดับเบสบริเวณ ITS2 ในมดสกุล *Pheidole*

จากแนวคิดเกี่ยวกับวิวัฒนาการของดาร์วินที่กล่าวว่า “ สิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีวิวัฒนาการจากบรรพบุรุษร่วมกัน โดยมีการปรับเปลี่ยนลักษณะไปตามกาลเวลา ” ซึ่งทำให้เราสามารถหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของมดสกุล *Pheidole* จากลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ ITS2 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน rDNA โดยการวิเคราะห์ความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์มดสกุล *Pheidole* ทั้ง 13 ชนิดที่เก็บรวบรวมจากป่าสะแกราชในสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมามีลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ITS2 ของมดที่แตกต่างกันทั้งรูปการแทนที่เบส ซึ่งมักพบได้ทั่วไปทั้งแบบ transitions และแบบ transversions การแทรก/การขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ ซึ่งในกรณีของ ITS2 อาจไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของ rDNA เนื่องจากจะถูกตัดทิ้งไปในที่สุด ดังรายละเอียดข้างล่าง

3.3.1 การแทนที่เบส (transitions /transversions) (ภาพที่ 36)

การแทนที่เบส (base substitution)เหมาะสำหรับในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสปีชีส์ต่างๆ เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ผู้วิจัยได้ใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของมดคันหน้าแบน (*Pheidole planifrons*) เป็นสายมาตรฐาน(standard sequence) เนื่องจากเป็นมดที่สามารถพบเห็นได้ง่ายและกระจายอยู่ทั่วไปในป่าสะแกราช ใช้เป็นตำแหน่งเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 จากมด *Pheidole* ทั้งหมด ผลการวิเคราะห์ข้อมูลดังรายละเอียดต่อไปนี้

การตรวจสอบปลายต้น(proximal end) ซึ่งครอบคลุมลำดับเบส 60 คู่เบสของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 พบว่าค่อนข้าง conserved จะมีเพียงตำแหน่ง bp ที่49ในมดคันบ้านเท่านั้น transitions จาก Adenine เป็น Guanine ในมดคันหัวแบนตำแหน่ง bp ที่ 64 เกิด transversions จาก Guanineเป็น Cytosine และตำแหน่งที่ 64 เกิด transversions จาก Cytosine เป็น Guanine ซึ่งเป็นเหตุผลที่ผู้วิจัยเลือกศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากส่วนของ ITS2 แทนที่จะเป็นส่วน5.8S rDNA และ 28S rDNA

เมื่อวิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนต้นของ ITS2 ตำแหน่ง bpที่ 80ในมดคันบ้าน มดคันร่องโค้งและมดคันหัวแบนเกิดการ transversions จาก Guanineเป็น Cytosine ตำแหน่ง bp ที่ 170

ในมดคันกระโดด มดคันบ้าน มดคันร่องโค้ง มดคันหน้าแบน มดคันจีน มด *Pheidole* sp.B , มด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.F เกิดการ transitions ของหมู่พิวรีนจาก Adenine เป็น Guanine ตำแหน่ง bp ที่ 472 ในมดทุกชนิด transitions ของหมู่พิวรีนจากจาก Adenine เป็น Guanine ตำแหน่ง bp ที่ 479 เกิดการ transitions ของหมู่พิวรีนจาก Guanine เป็น Adenine ซึ่งพบในมดคันกระโดด , มด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.F เท่านั้น

ตำแหน่ง bp ที่ 514 ในมดคันครีบขน มด *Pheidole* sp.B และมด *Pheidole* sp.C เกิดการ transitions ของหมู่ไพริมิดีนจาก Thymine เป็น Cytosine เช่นเดียวกับตำแหน่ง bp ที่ 572 เกิด transitionsของหมู่พิวรีนจาก Guanine เป็น Adenine ในกลุ่มมดข้างต้น ตำแหน่ง bp ที่ 1,022 ในมดคันหัวแบน และมด *Pheidole* sp.B เกิดการ transitions ของหมู่พิวรีนจาก Adenine เป็น Guanine และในส่วนปลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ในตำแหน่ง bp ที่ 1,207 พบว่าค่อนข้าง conserved อีกครั้งหนึ่งจำนวนเพียง 25 bp จะมีเพียงตำแหน่ง bp ที่ 1,225ในมดคันบ้านเกิดการ transitions จาก Cytosine เป็น Thymine เท่านั้น

จากตารางที่ 2-3 สรุปได้ว่าการเกิด transitionsในระหว่างวิวัฒนาการของลำดับเบสในบริเวณ ITS2 ของยีน rDNA โดยเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 4.8 น้อยกว่าการเกิด transversions โดยเฉลี่ยซึ่งเท่ากับร้อยละ 5.7 การที่เกิด transversions มากกว่า transitions เป็นลักษณะเฉพาะในมดสกุล *Pheidole* เท่านั้นซึ่งแตกต่างจากการศึกษาการแทนที่เบสในมด *Strumigenys* เกิด transversions น้อยกว่า transitions (Hung *et al*., 2004)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของ Transitions ภายในมดสกุล *Pheidole* โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ใช้ Model : Nucleotide: Kimura 2-parameter

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]
[1]													
[2]	0.043												
[3]	0.064	0.059											
[4]	0.071	0.057	0.069										
[5]	0.074	0.059	0.072	0.002									
[6]	0.071	0.057	0.069	0.000	0.002								
[7]	0.071	0.050	0.069	0.024	0.026	0.024							
[8]	0.071	0.050	0.067	0.024	0.026	0.024	0.004						
[9]	0.071	0.052	0.074	0.022	0.022	0.022	0.014	0.014					
[10]	0.069	0.059	0.072	0.034	0.037	0.034	0.037	0.037	0.039				
[11]	0.069	0.057	0.069	0.032	0.034	0.032	0.035	0.035	0.037	0.002			
[12]	0.076	0.059	0.072	0.039	0.041	0.039	0.037	0.037	0.038	0.012	0.010		
[13]	0.084	0.074	0.072	0.072	0.072	0.072	0.067	0.067	0.072	0.065	0.062	0.065	

หมายเหตุ ข้อมูลใต้แนวเส้นทแยงมุม คือ ค่า Transitions ระหว่างมดภายในกลุ่ม

ตัวเลขแสดงมดแต่ละชนิด ประกอบดังนี้

1= *P. nodifera* , 2=*P. pieli* , 3= *P.* sp.C , 4= *P. inornata* , 5=*P.* sp.F , 6= *P.* sp.E , 7= *P.bugi* , 8= *P.Plagiaria*, 9= *P.yeensis*, 10= *P.* sp.A, 11= *P.* sp.D, 12= *P. planifrons* และ13= *P.* sp.B

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของ Transversions ภายในมดสกุล *Pheidole* โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ใช้ Model : Nucleotide: Kimura 2-parameter

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]
[1]													
[2]	0.044												
[3]	0.076	0.067											
[4]	0.076	0.067	0.087										
[5]	0.078	0.069	0.089	0.002									
[6]	0.076	0.067	0.087	0.000	0.002								
[7]	0.083	0.061	0.089	0.025	0.027	0.025							
[8]	0.083	0.061	0.089	0.025	0.027	0.025	0.000						
[9]	0.074	0.052	0.080	0.017	0.019	0.017	0.015	0.015					
[10]	0.083	0.069	0.094	0.042	0.040	0.042	0.048	0.048	0.036				
[11]	0.085	0.072	0.096	0.044	0.042	0.044	0.050	0.050	0.038	0.002			
[12]	0.076	0.063	0.087	0.036	0.033	0.036	0.042	0.042	0.029	0.006	0.008		
[13]	0.103	0.094	0.120	0.092	0.094	0.092	0.103	0.103	0.085	0.099	0.101	0.092	

หมายเหตุ ข้อมูลใต้แนวเส้นทแยงมุม คือ ค่า Transversions ระหว่างมดภายในกลุ่ม

ตัวเลขแสดงมดแต่ละชนิด ประกอบดังนี้

1= *P. nodifera* , 2=*P. pieli* , 3= *P.* sp.C , 4= *P. inornata* , 5=*P.* sp.F , 6= *P.* sp.E , 7= *P.bugi* , 8= *P.Plagiaria*, 9= *P.yeensis*, 10= *P.* sp.A, 11= *P.* sp.D, 12= *P. planifrons* และ13= *P.* sp.B

3.3.2 การเพิ่ม/ลดของเบส (insertions or deletions) (ภาพที่ 36)

เมื่อวิเคราะห์พบว่าชิ้นดีเอ็นเอส่วน ITS2 มีความแปรผันมากเนื่องมาจากความยาวที่แตกต่างกันจึงมีการเพิ่ม/ลดของเบสในสายนิวคลีโอไทด์เอง ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจน คือ ตำแหน่ง bp ที่ 69 ของสายมาตรฐานเมื่อเปรียบเทียบกับมดทั้งหมดพบการเพิ่มของ Guanine ในมดคันบ้าน มดคันร่องโค้ง และมดคันหัวแบน ยกเว้นมด *Pheidole* sp.B พบการเพิ่มของ Cytosine เท่านั้น ตำแหน่ง bp ที่ 334-336 ในมด *Pheidole* sp.B พบการเพิ่มของเบส AGG จำนวน 3 เบส ตำแหน่ง bp ที่ 226-251ในมดคันกระโดดและมด *Pheidole* sp.E มีเบส GAGGTG เพิ่มมาจำนวน 6 เบส ส่วนมด *Pheidole* sp.F มีเบส GTG เพิ่มขึ้นมาจำนวน 3 เบสเท่านั้น ส่วนมดคันหัวแบนมีเบส Thymine เพิ่มขึ้นมาจำนวน 1 เบส ส่วนมดคันครีบขนและมด *Pheidole* sp.C มี Guanine เพิ่มขึ้นมาจำนวน 1 เบส

ตำแหน่ง bp ที่ 334-336 ในมด *Pheidole* sp.B พบการเพิ่มของเบส AGG จำนวน 3 เบส ตำแหน่ง bp ที่ 484-488 มีเบส GGAGG เพิ่มจำนวน 5 เบสในมดคันกระโดด , มด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.F ตำแหน่ง bp ที่ 768-770 มีเบส ACG เพิ่มมาจำนวน 3 เบส ในมด *Pheidole* sp.A และมด *Pheidole* sp.D ซึ่งตำแหน่งดังกล่าวมีเบส GAG เพิ่มมาในมดคันบ้านและมดคันร่องโค้ง และมีเบส G เพิ่มมาในมดคันหัวแบนตามลำดับ

จากข้อมูลลำดับเบสบริเวณ ITS2 ของมดสกุลนี้ทุกชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับมดคันหน้าแบนพบว่ามีความแปรผันมากในตำแหน่งต่าง ๆ คือ มีการเพิ่มของเบส (insertions) หรือการขาดหายไปของเบส (deletions) โดยกลุ่มมดที่มีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งต่าง ๆ ภายในบริเวณ ITS2 เมื่อเปรียบเทียบกับมดทั้งหมดแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีความแตกต่างของตำแหน่งลำดับเบสมากมีจำนวน 4 ชนิด คือ มดคันครีบขน ,มดคันหัวแบน ,มด *Pheidole* sp.C และมด *Pheidole* sp.B และกลุ่มที่มีความคล้ายคลึงกันของตำแหน่งลำดับเบสซึ่งสามารถแบ่งความสัมพันธ์มดชนิดที่เหลือได้เป็นกลุ่ม ๆ คือ กลุ่มมดคันร่องโค้งและมดคันบ้าน กลุ่มมดคันหน้าแบน , มด *Pheidole* sp.A และมด *Pheidole* sp.D และกลุ่มสุดท้ายคือมดคันกระโดด ,มด *Pheidole* sp.E และมด *Pheidole* sp.F ซึ่งมี insertions หรือdeletions คล้ายคลึงกันภายในกลุ่ม

```
CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment


P.planifrons   CGGATACAAT TCCCGGACCA CGCCTGGCTG AGGGTCGTTT AAGTAACCAA AGACTGCTTG  60
P.sp.A         .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.sp.D         .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.inornata     .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.sp.F         .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.sp.E         .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.bugi         .......... .......... .......... .......... ........G. ..........
P.plagiaria    .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.yeensis      .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.pieli        .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.sp.B         .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.nodifera     .......... .......... .......... .......... .......... ..........
P.sp.C         .......... .......... .......... .......... .......... ..........



P.planifrons   CGCGCCGC-C CGTAATCTGG GCGCGCGCGT ACGAGCGATC GTTGGACGTT TTCGCCCGTG  120
P.sp.A         ........-. .....C.... .......... .......... .......... .........C
P.sp.D         ........-. .....C.... .......... .......... .......... .........C
P.inornata     ........-- ....--.CT. .......... .......... .........G ..........
P.sp.F         ........-- ....--.CT. .......... .......... .........G ..........
P.sp.E         ........-- ....--.CT. .......... .......... .........G ..........
P.bugi         ........G. ....CCTG.C .......... .......... .........G ..........
P.plagiaria    ........G. ....CCTG.C .......... .......... .........G ..........
P.yeensis      ........-. -...--.CT. .......... .......... .........G ..........
P.pieli        ...CG...G. ....CCTG.C .......... .......... .........- -.......GT
P.sp.B         ....-...C. .....-C.CT. .......... .......... ........C- -.........
P.nodifera     ........-- ....CCA... -......... .......... .........G .......-C.
P.sp.C         ........-- ....CC.... ........CC .......... .........-- .........T



P.planifrons   AACGGAG--- -AGCGCGCGC GAG-ACGCGC GC-------- CCCTCGCGAA TCCTCG-CGA  180
P.sp.A         ...A...AGA G......... ...-....T. ..-------- .......... ......-...
P.sp.D         ...A...AGA G......... ...-....T. ..-------- .......... ......-...
P.inornata     TG------AC G......... ...-...... CTAA-----A ...C.C...G ......-...
P.sp.F         TG------AC G......... ...-...... CTAA-----A ...C.C...G ......-...
P.sp.E         TG------AC G......... ...-...... CTAA-----A ...C.C...G ......-...
P.bugi         .C-------- G......... ...-...... .-------- G..C.-...G ......-...
P.plagiaria    .C-------- G......... ...-...... .-------- G..C.-...G ......-...
P.yeensis      .C-------- G......... ...-...... .-------- ...---...G ......-...
P.pieli        GTA....CGC GC........ .C.-CGCGAG A.GC-----G G..C.C.... ......-...
P.sp.B         .C-------- G......... ...-...... .-------- -----C.... ......-...
P.nodifera     GG----ACGA G......... .C.CG..... ..GCGAGACG .GGC.C.... ...C..C...
P.sp.C         GG----ACGA GC........ ...-.....G C.CC----CC ...C.C...G .....-T...
```

ภาพที่ 36 ผลการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด 13 ชนิดในสกุล *Pheidole* เปรียบเทียบกับสายมาตรฐาน(standard sequence) ของมดคันหน้าแบน

```
P.planifrons   ATCGTGGAAG GAACCGGATC CACGACGAGG GAGGAGGAGC GGGAG----- -AGGCCCGCG   240
P.sp.A         .......T.. .......-.. .......... .........- --........ -.........
P.sp.D         .......T.. .......-.. .......... .........- --........ -.........
P.inornata     ........T. -.....A-.. .G........ .........G A....GAGGT G........-
P.sp.F         ........T. -.....A-.. .G........ .........G A.....---GT G........-
P.sp.E         ........T. -.....A-.. .G........ .........G A....GAGGT G........-
P.bugi         ........T. -.....A-.. .......... .........- --........ -.........
P.plagiaria    ........T. -.....A-.. .......... .........- --........ -.........
P.yeensis      ........T. ......A-.. .G........ .........- --........ -.........
P.pieli        ........T. -.....A-.. .......... .........G A-........ TG.C.....-
P.sp.B         ........T. -.....A-.. .......... .........- ---------- -........-
P.nodifera     ........T. A.....ATCT ........A. .C..TA.GAG TA........ GG.C.....-
P.sp.C         ........T. A.-...ATC- .......... .........G A......... G..-----.A-


P.planifrons   CCGTCTCGCG CCGC------ -----CCTTG GTGGGCGTCG TCCGAAATGA ----ACGAGG   300
P.sp.A         .......... .......... -----..... .......... .......... G--A......
P.sp.D         .......... .......... -----..... .......... .......... G--A......
P.inornata     -......... .......... -----...-- --........ .......... ----......
P.sp.F         -......... .......... -----...-- --........ .......... ----......
P.sp.E         -......... .......... -----...-- --........ .......... ----......
P.bugi         -......... .......... -----T..-- --........ .......... ----......
P.plagiaria    -......... .......... -----T..-- --........ .......... ----......
P.yeensis      .......... .......... ----....- --........ .......... ----......
P.pieli        -......... ....G--CGC GCCCAT.CCC C......... .......... ----......
P.sp.B         -......... T......... -----T..-- --......... .T........ TG-A......
P.nodifera     -......... ....CGCCGC CGCCG..GC. TG........ .......... TGAA......
P.sp.C         -A.GAGG.GT ....CGTCTC GCGCG..G.C C......... .......... ----------


P.planifrons   AG--GACGTT ATATAACGGA GA-GGCGTTA ACG---CGGT TTCGCGCCGC CGCCGCCCGG   360
P.sp.A         ..--...... .CG-...... ..-....... ...---.... .......... ..........
P.sp.D         ..--...... .CG-...... ..-....... ...---.... .......... ..........
P.inornata     ..--....AC CGG----AA. ..-....... ...---.... .......... .........---
P.sp.F         ..--....AA CGG----AA. ..-....... ...---.... .......... .........---
P.sp.E         ..--....AC CGG----AA. ..-....... ...---.... .......... .........--
P.bugi         ..--....AC ---------- ..-....... ...---.... .......... T.........---
P.plagiaria    ..--....AC ---------- ..-....... ...---.... .......... .........---
P.yeensis      ..--....AC ---------- ..-....... ...---.... .......... .........---
P.pieli        ..--....AC ---------- ..-....... ...---.... .......... -........--
P.sp.B         ..--....AC CGG----A.. ..-....... ...AGG.... .......... -......G--
P.nodifera     ..GG....AC CGG.G.A... A.C....... ...---.... ......T... .......G--
P.sp.C         ..--....AC CGGAG.---- ---------- ...---..A. .A........ --......G--


P.planifrons   GGATCGAGAA CGCGC----C CGTAT----- -TTA-CGGGC CGT------- -GATCCCGCG   420
P.sp.A         .......... .....GC--. ...G.ACACG T...-..... ...C-----G T.........
P.sp.D         .......... .....GC--. ...G.ACACG T...-..... ...C-----G T.........
P.inornata     --------GC ...C.GG--A GA.CAACG-G CG..-.A... ..C------- -....T....
P.sp.F         --------GC ...C.GG--A GA.CAACG-G CG..-.A... ..C------- -....T....
P.sp.E         --------GC ...C.GG--A GA.CAACG-G CG..-.A... ..C------- -....T....
P.bugi         --------GC ...C.GG--A GA.CAACG-G CG..-.A... ...------- -....T....
P.plagiaria    --------GC ...C.GG--A GA.CAACG-G CG..-.A... ...------- -....T....
P.yeensis      --GC..CCGC ...C.GG--G GA.CAACG-G CG..-.A... ...------- -....T....
P.pieli        --------GT ...C.GGAGA GACGAACG-G CG..-.C... ...T-----C C....T....
P.sp.B         -------CGT ...C.GG--G GA.CAACG-G CG..T.C... ...GT----G T.........
P.nodifera     -----.CC.GG GATCTCGACA TCG.CACG-G CG..T.C... ...GTCGGGG G.G..T....
P.sp.C         -----.CC.G. GATCA----- -----ACG-G CGCTA.C... ...G------ --...T....
```

ภาพที่ 36 (ต่อ)

```
P.planifrons   GAGCGGCGCG CGCG------ --CCCACCGC CGCGTGCGAT CCGCGCAGGA GAAAAGGAGG   480
P.sp.A         .......... .....----- --........ .......... .......... .G........
P.sp.D         .......... .....----- --........ .......... .......... .G........
P.inornata     .......... .....---.. --........ .......... .......... .G......A.
P.sp.F         .......... .....---.. --........ .......... .......... .G......A.
P.sp.E         .......... .....----- --........ .......... .......... .G......A.
P.bugi         .......... G.....--CG CG........ .......... .......... .G........
P.plagiaria    .......... G.....--CG CG........ .......... .......... .G........
P.yeensis      .......... ....AGCGCG CG..A..... .....A.... .......... .G....T...
P.pieli        .......... .....----- CG........ .....A.... .......... .G........
P.sp.B         .......... ....CGCGCG CGT....... .....A.... .......... .G........
P.nodifera     .......... ....CC---- --.A.CG... ....C..... .......... .G...T.C.A
P.sp.C         .......... ....C----- ---------- --------... .......... .G....CG.A


P.planifrons   CGA-----TG GGAT--CGCG CGAGCCGACC GCGTGTCCGA GTCC-ACG-- -GAGCT----   540
P.sp.A         ........-. .....---.. .......... .......... ....-...AC G.........
P.sp.D         ........-. .....---.C .......... .......... ....-...AC G.........
P.inornata     ...GGAGG.T .....---.. .......... .......... ....-....- GAG.......
P.sp.F         ...GGAGG.T .....---.. .......... .......... ....-....- GAG...T---
P.sp.E         ...GGAGG.T .....---.. .......... .......... ....-....- GAG.......
P.bugi         --------.T .....---.. .......... .......... ....-....- -.........
P.plagiaria    --------.T .....---.. .......... .......... ....-....- -.........
P.yeensis      T.T-----.. .-...---.. .......... .......... ....-....- -.........
P.pieli        --------GT .....---.. .......... .......... ....C....- -.........
P.sp.B         ..------.T .....---.. .......... ...C...... ....-...GA G...G.C---
P.nodifera     G.------GT .....---.. .......... ...C...... ....-....- -...TCGTGA
P.sp.C         G.------CT ...GAG.... .......... ...C...... ....-....- -.........


P.planifrons   --CCCTCTCG AGGA-----A AAAGGCGAGA GGGAT---CG TAAGTAAACG GGACCGGCGC   600
P.sp.A         --........ .....-----. ...A...... .....---.. C....G.... ..........
P.sp.D         --........ .....-----. .......... .....---.. C....G.... ..........
P.inornata     --........ ..-------. ....A..... .....---.. -.-T..C... ..........
P.sp.F         --........ ..-------. ....A..... .....---.. -..T..C... ..........
P.sp.E         --........ ..-------. ....A..... .....---.. -.-T..C... ..........
P.bugi         --........ ..-------. .......... .....---.. -..T..C... ..........
P.plagiaria    --........ ..-------. .......... .....---.. -..T..C... ..........
P.yeensis      --........ ..-------. .......... .......---. ...AG.T... ..........
P.pieli        --........ .C.------. .....A.... .....---.. ---T.GT... ..........
P.sp.B         -T........ ..-------- -....A...G .ACG------ --.TCGT... ..........
P.nodifera     CC.T...... CCTCGTAGAG G.GA...... .A..GGGTGT ..CACGC... ..........
P.sp.C         -C...CA... TTCT----A. G.G.AT.G.. .A..---TTA ..TA..T... ..........


P.planifrons   GT-CGTA-GT CGTGTACTCG CGCGGCGAGG CGATACGGGG GAGAAAAGAG ACACGCGCGG   660
P.sp.A         ..-....-.. .......... .......... .......... .......... ..........
P.sp.D         ..-....-.. .......... .......... .......... .......... ..........
P.inornata     ..-....-.. .......... .......... T.T.T..--- ---------- .GGGA.....
P.sp.F         ..-....-.. .......... .......... T.T.T..--- ---------- .G.GA.....
P.sp.E         ..-....-.. .......... .......... T.T.T..--- ---------- .G.GA.....
P.bugi         ..-....-.. .......... ....-...T- ...G..---- -----.TCGA G.GGA.....
P.plagiaria    ..-....-.. .......... ....-...T- ...G..---- -----.TCGA G.GGA.....
P.yeensis      ..-....-.. .......... ....A..... T..C.A.--- -----.G..T. ..........
P.pieli        ..-...TT.. .......... ....T..... T..C------ ---------- GG.GA.A...
P.sp.B         ..T....-.. .......... .......... TATG..A--- ---------. .G.GA.A...
P.nodifera     ..-....-.. .......... ....A..... T..CGG.... C---GGCAC. ..G.A.A...
P.sp.C         ..-....-.. .......... .......... ---------- ---------- --------A.
```

ภาพที่ 36 (ต่อ)

```
P.planifrons   AAA-GAGAGC CGTGTGTCTC -CCCCGCCTC GATTCCACGC CTCG--TCCT GCGGGG--TC   720
P.sp.A         ...-...... .....--... -......... .......... ....--.... .......--..
P.sp.D         ...-...... .....--... -......... .......... ....--.... .......--..
P.inornata     ..-----GAG ...CC----T -.T....... .......... ....CG.... ...C..--..
P.sp.F         ..-----GAG ...CC----T -.T....... .......... ....CG.... ...C..--..
P.sp.E         ..-----GAG ...CC----T -.T....... .......... ....CG.... ...C..--..
P.bugi         ..-----GAT .......... -..G..T... .......... ....--.... ...C..--..
P.plagiaria    ..-----GAT .......... -..G..T... .......... ....--.... ...C..--..
P.yeensis      ...A...C.T .......... -..G...... .......... ....--.... ...C..--..
P.pieli        ..------.AG T..------- ---..---.. .......... ....--.... ...C.A--..
P.sp.B         ..------.AG T..------- ---..---.. .......... ....--.... .A.C.C----
P.nodifera     ..CGAGTGTG ..C..---.. T.AG...... .......... .C..CG.... .T.C..GG..
P.sp.C         GGCGAGAGAG TAA.A..... -.G..---.. .......... .CT-CG.... ...C.T----

P.planifrons   TCGCGCGCGC GCGCGTGCGA CGGA------ GAGATCGAGA GAGGAAC--- GAGGAACAGG   780
P.sp.A         .......... .......... ....AATCGA ....GA.GAG .......ACG AG.A......
P.sp.D         .......... .......... ....GATCGA ....CA.GAG .......ACG AG.A......
P.inornata     --........ ...--..... ...------ -------GAG .....--- ----------
P.sp.F         --........ .......... ...------ -------.AG ...A..--- ----------
P.sp.E         --........ .......... ...------ -------GAG .....--- ----------
P.bugi         --........ .......... ...------ -------GAG .......GAG A.CAGGA..A
P.plagiaria    --........ .......... ...------ -------GAG .......GAG A.CAGGA..A
P.yeensis      --------.. .......... ...------ -------GAG ...T..--- --.AG.ATA.
P.pieli        --........ .......... ...------ -------...G .....---G A.C....GAA
P.sp.B         ---------- -------..T ..-------- ---------- ---------- ----------
P.nodifera     G......... .......... ...------ -------.A. ......G--- ----------
P.sp.C         ---------- -..T...... ...------ -------GCG .G.AGGA--- ----------

P.planifrons   GAAGAGAGAG -AGGATGCGT TCTCTCTCTT CGACG--TCT CCTCTC---T CTCT----GT   840
P.sp.A         .......... G......... .......... .....TG... ......GGC. ....CGGC..
P.sp.D         .......... G......... .......... .....TG... ......GGC. ....CGGC..
P.inornata     ---------- ------A..C ..........-- ---.----- ---------- ----------
P.sp.F         ---------- ------A..C ..........-- ---.----- ---------- ----------
P.sp.E         ---------- ------A..C ..........-- ---.----- ---------- ----------
P.bugi         ..CAC..... AGA.CCC... ........G. .TT..A--.G TT.....---. .....------
P.plagiaria    ..CAC..... AGA.CCC... ........G. .TT..A--.G TT.....---. .....------
P.yeensis      .......... -......... .......... .....---TC T.....---. .....------
P.pieli        CG.....AGA G.......C. G.CA.TC.A. .TCTCTC... .T..GACG-. ....CT----
P.sp.B         ---------- ------T... CG..GT---- ---------- ---------- ----------
P.nodifera     ---------- ----.C...A AGA.GG---- ---------- ---------- ----------
P.sp.C         ---------- ----.C...G AGGAGG---- ---------- ---------- ----------

P.planifrons   AA-AACCGTG ATC--GCGTT GGAAGGAACG CCCGTCCGTC GTCGTCGTCG TC-GTCGTTG   900
P.sp.A         ..G....... ...TC..... .......... ...---.... ----..... ..-.....C.
P.sp.D         ..G....... ...TC..... .......... ...---.... ----..... ..-.....C.
P.inornata     ------TA.A ...-..... .......... ....AG.... ---------- ..C.....C.
P.sp.F         ------TA.A ...-..... .......... ....AG.... ---------- ..C.....C.
P.sp.E         ------TA.A ...-..... .......... ....AG.... ---------- ..C.....C.
P.bugi         --------.A ...-..... .......... ....AG.... ---------- ..C.....C.
P.plagiaria    --------.A ...-..... .......... ....AG.... ---------- ----------
P.yeensis      -----T...A ...-..... .......... ....AG.... ---------- ..-.....C-
P.pieli        ---------- ...--..... .......... ....AG.... ..T.....T. ..-.....C.
P.sp.B         -------...C G..---.TCG. A.T..T.GT- -------... -------..A. .A--------
P.nodifera     -------AGA GA.GA.A.AG A....AG.A. GAT.--...T ------C..T ..TTCTC.C.
P.sp.C         -------AG. GG---.A.AG A...C.C.A. ---------- ------C..T C.TCCTCCAA
```

ภาพที่ 36 (ต่อ)

```
P.planifrons   GCGTCGTAGG CGTCGTAGCC CGTCGTCGGG AACCGCGC-- -CCGGGGTGT AAAGGAAAGA  960
P.sp.A         .........C .--...C..- ---------- ........GC G........C ......G.C.
P.sp.D         .........C .--...C..- ---------- ........GC G........C ...A....C.
P.inornata     T......C.T ......C.T. GT---CGTCC GT.GT..GGA AA........ ..C.AG.G.G
P.sp.F         T......C.T ......C.-- -------TCC GT.GT..GGA AA........ ..C.AG.G.G
P.sp.E         T......C.T ......C--- ---------C GT.GT..GGA AA........ ..C.AG.G.G
P.bugi         T......C.T ......C.T. GT---C...C GT.GT..GTA A......... GT------...
P.plagiaria    ---------- ---------- -----C..TC GT.GC..GGA A......... GT-----.-.
P.yeensis      -......C.T ..C...C.T- ---------- ...A..---- ---------- ..------.C.
P.pieli        T......C.T ......C.T. GT-.....TC GT.GT..GGA A......... ...------.
P.sp.B         ---------- ---------- --------.TC GT.GT..GTG A......... ..--------
P.nodifera     A.-------- ---------- --------T. GT.TC.T.TG T.TT.C..C. CTC----GCT
P.sp.C         C.-------- ---------- ---------.C G.GATATATC T..TCC..CC GTC----GCG


P.planifrons   ACGGGCGTGC GT-CGTCACG CGGAGGGCGA GCGAGCGTGC GAGCGAGCGA G--CGGGACG  1020
P.sp.A         .......... ..-....G.. ......T... .......... .......... .--..A.CG.
P.sp.D         .......... ..-....G.. ......T... .......... .......... .--..A.CG.
P.inornata     G.A.CACC.T .CGT...... --........ .......A.. .....G.... AAG..A.CG.
P.sp.F         G.A.CACC.T .CGT...... --........ .......A.. .....G.... .AG..A.CG.
P.sp.E         G.A.CACC.T .CGT...... --A....... ..........- -----G.... .AG..A.CG.
P.bugi         ...------ ---T...... ------.AA.G -.......A.. .........G .A-...A...
P.plagiaria    ...------ ---T...... ------.AA.G T......A.. .......... .--........
P.yeensis      G..C-----. .G-T...... ---------. AA.....A.. .........C .--.......
P.pieli        ...------ ---T...... ---------- ---------- ---------- ----------.
P.sp.B         -...------ ---T...... ---------- ---------- ---------- ----------.
P.nodifera     C...------ -.AAA..G.. T--------- ---------- ---------- ---T..A.G.
P.sp.C         C--------- ---GA..G.. T--------- ---------- ---------- ---T..A.G.


P.planifrons   AACG---GGG T-AACGCTGT AACGGAGCGT TATCGTCGTT CGGTAAGACC CCGTCGTCGT  1080
P.sp.A         G...AAC... .-........ .......... .......... .......... ..........
P.sp.D         G...AAC... .-........ .......... .......... .......... ..........
P.inornata     ....GGAC.. .T....GC.C GCAAC....C CGGT-.AA.C ..T.CGCGGT ...C......
P.sp.F         ....GGAC.. .T....GC.C GCAAC....C CGGT-.AA.C ..T.CGCGGT ...C......
P.sp.E         ....GGAC.. .T....GC.C GCAAC....C CGGT-.AA.C ..T.CGCGGT ...C......
P.bugi         G..------. .-.C--GC.. ...AA-...G .....---.. .A..------ .-------..
P.plagiaria    ...------. .-.C--GC.. ...A--...G .....---.. ...------ ..CC......
P.yeensis      G..------. .-.CACGC.. ...A.C...G ..C.-CG... ...------ -..C......
P.pieli        .GA.------ -------C.. .....CT.-C .CC...G..C .CC.C----- ------.AAC
P.sp.B         .GA.------ ---------- .G..A----- --------.CC ......A--- -----.GG..
P.nodifera     ...------- -------C.C ...C....C- -G.......C GTCG------ ------....
P.sp.C         ...------- -------C-- --.C...--- -G.......C ---------- ----------


P.planifrons   C---TCTATC GCTGTAACGG AGCTCT--CC CTCTCG-CGT ACGCGCAC-G GCCTTCTTAC  1140
P.sp.A         .GTCC..... .......... .....--.. .....-.... ........-. .......C..
P.sp.D         .GTC...... .......... .....--.. .....-.... ........-. -......C..
P.inornata     .-----CG.. ..-.C..AAC T..G.GCG.T ......GT.. ....-...GC CG..G..GCT
P.sp.F         .-----CG.. ..-.C..AAC T..G.GCG.T ......GT.. ....-...AC CG..G..GCT
P.sp.E         ..-----CG. ..-.C..AAC T..G.GCG.T ......GT.. ....-...AC CG..G..GCT
P.bugi         .-----C... ..-....-.A. C....CGCT. .C....-T.C ........A. ..T.G.C...
P.plagiaria    .-----C... ..-....-.A. C....CGCT. .C....-T.C ........A. ..T.G.C...
P.yeensis      .--------- ..-....-.A. ..AG..---.T ...G..-T.. ..A....... ----G.....
P.pieli        .-------C. ..------.. .A.CT.CGTA .G.A..TACG ..A.....-- ---GG..CTT
P.sp.B         .-------.. ..-------- --.....--.T ..------.- -T.T------ ----C.....
P.nodifera     .------G.. .T-------- --.GTCGT.G TCG...T... -..T------ ---CG.CGTT
P.sp.C         ---------- ---------- ---------G TCG...T... -..T------ ---CGTCGCG
```

ภาพที่ 36 (ต่อ)

```
P.planifrons   CCCGCGCGT- -----GTACA CCGCGCGTAC GGCTGCTACC GCTACT---- -----CGCTA  1200
P.sp.A         ......T..G TGTGT..... ...T...... ...C...... ..CG..ACTC GCTAC.A...
P.sp.D         ......T..G TGTGT..... ...T...... ...C...... ..CG..ACTC GCTAC.A...
P.inornata     .TAC.C..C- ---------- --.AA.C.T. .TAC.GGTA. .AC..GCG-C GACGCTCT.T
P.sp.F         .TAC.C..C- ---------- --.AA.C.T. .TAC.GGTA. .AC..GC--- GACGCTCT.T
P.sp.E         .TAC.C..C- ---------- --.AA.C.T. .TAC.GGTA. .AC..GC--- GACGCTCT.T
P.bugi         .TAC...CCC ACCGGCGCGC G..AA.C.T. .TAC.G..-. ..G..GAGAC ACT-C.T..C
P.plagiaria    .TAC...CCC AACGGCGCGC G..AA.C.T. .TAC.G..-. ..G..GAGAC ACT-C.T..C
P.yeensis      ......AAC- ---------- .TTG...A.. ..T.AGACG. .AC..---- ------.CTAT
P.pieli        .GGCTATA.- ---------- --ATATA..T ATA.A.C.TA TA..TA---- ------C.AT
P.sp.B         ......T--- ---------- --------... CTTC.TAC.. ..C..GCACG GCTCT.TACT
P.nodifera     G.A....ACC ---------- --T...TGTA ACGCCGCGAT .TC..ACA-- ----TTTTAC
P.sp.C         AAA.....C- ---------- ---------- ---------- ---------- --------A.


P.planifrons   CTACA-CGAC GACCTCAGAG CAGGCGAGAT C    1231
P.sp.A         .....-.... .......... .......... .
P.sp.D         .....-.... .......... .......... .
P.inornata     .....-.... .......... .......... .
P.sp.F         .....-.... .......... .......... .
P.sp.E         .....-.... .......... .......... .
P.bugi         TA...-.... .......... ....T..... .
P.plagiaria    TA...-.... .......... .......... .
P.yeensis      .....-.... .......... .......... .
P.pieli        AC...-.... .......... .......... .
P.sp.B         ....T-.... .......... .......... .
P.nodifera     GC...T.... .......... .......... .
P.sp.C         AC...-.... .......... .......... .
```

ภาพที่ 36 (ต่อ)

3.4 ระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) (ตารางที่ 4)

การคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมเป็นการคำนวณความแตกต่างระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของมดทั้งหมด โดยใช้ข้อมูลการแทนที่เบสที่ได้จากการ alignment ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิดโดยใช้มดสกุล *Strumigenys* จำนวน 4 ชนิดเป็น outgroup (AY124711,AY124712,AY124713 และAY124714 จาก databaseของ GenBank)โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 ในการศึกษาครั้งนี้ระยะห่างทางพันธุกรรมได้จากการเปรียบเทียบระหว่างมดแต่ละคู่ (pairwise) โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ซึ่งระยะห่างทางพันธุกรรมที่คำนวณได้จะใช้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์มด 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ระยะห่างทางพันธุกรรมภายในและระหว่างกลุ่มมดทั้งหมดจำนวน 17 ชนิด และกลุ่มที่ 2 ข้อมูลอยู่ในรูประยะห่างทางพันธุกรรมเปรียบเทียบระหว่างมดแต่ละคู่ (pairwise distance)

การเปรียบเทียบมดแต่ละคู่พบค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.00 - 0.723 โดยที่มดสกุล *Pheidole* จะมีค่าเฉลี่ยระยะห่างทางพันธุกรรมภายในกลุ่มอยู่ระหว่าง 0.00 - 0.193 มดสกุลนี้ที่มีค่าเฉลี่ยทางพันธุกรรมเท่ากับ 0 หรือไม่มีความแตกต่างกันมีอยู่ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มดคันร่องโค้งเปรียบเทียบกับมดคันบ้าน กลุ่มที่ 2 มด *Pheidole* sp.A เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.D กลุ่มที่ 3 มดคันกระโดดเปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.F

ค่า S.E (Standard error) ระหว่างมดภายในกลุ่มมีความแปรผันตามค่าgenetic distance ตัวอย่างเช่น มดคันจีนเปรียบเทียบกับมดคันบ้านมีค่า genetic distance เท่ากับ 0.024 มีค่า S.E เท่ากับ 0.008 มดคันครีบขนเปรียบเทียบกับมดคันหัวแบนมี genetic distance เท่ากับ 0.082 มีค่า S.E เท่ากับ 0.015 ส่วนค่าเฉลี่ย genetic distance ของมดทั้งหมดเท่ากับ 0.303 และค่าเฉลี่ย S.E ทั้งหมดเท่ากับ 0.023

ผลการวิเคราะห์ genetic distance มดสกุล *Pheidole* ทั้งหมดพบว่ามด *Pheidole* sp.C มีค่า genetic distance เฉลี่ยต่ำสุด 0.121 ในมดคันหัวแบนจนถึงสูงสุด 0.193 ในมด *Pheidole* sp.B ส่วนมดสกุล *Strumigenys* มีค่า genetic distance เฉลี่ย 0.118 - 0.184 ซึ่งการเปรียบเทียบ genetic distance ระหว่างมดสกุล *Pheidole* และมดสกุล *Strumigenys* ที่ใช้เป็น outgroup พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในสกุลต่ำกว่าระหว่างสกุลชัดเจน แสดงให้เห็นว่าการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของมดโดยลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของ ITS2 มีประสิทธิภาพสูงช่วยในการ

แบ่งความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของมดได้ชัดเจนมากกว่าข้อมูลความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาภายนอก ในกรณีที่มดสกุลนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกคล้ายคลึงกัน(sibling species) จำแนกได้เป็นมดต่างชนิดกัน

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ภายในมดสกุล *Pheidole* โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) ใช้ Model : Nucleotide: Kimura 2-parameter

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]	[14]	[15]	[16]	[17]
[1]		.015	.020	.018	.018	.019	.018	.018	.019	.019	.019	.018	.021	.077	.070	.061	.062
[2]	.082		.019	.016	.016	.016	.015	.015	.016	.016	.016	.015	.022	.066	.064	.060	.058
[3]	.140	.121		.019	.019	.020	.019	.019	.020	.020	.020	.019	.025	.069	.067	.059	.058
[4]	.121	.093	.133		.000	.004	.010	.010	.012	.012	.012	.010	.020	.068	.061	.058	.057
[5]	.121	.093	.133	.000		.004	.010	.010	.012	.012	.012	.010	.020	.068	.061	.058	.057
[6]	.127	.099	.140	.005	.005		.011	.011	.013	.013	.013	.011	.020	.067	.061	.059	.058
[7]	.115	.087	.130	.038	.038	.044		.000	.011	.011	.010	.008	.019	.066	.062	.058	.055
[8]	.115	.087	.130	.038	.038	.044	.000		.011	.011	.010	.008	.019	.066	.062	.058	.055
[9]	.124	.099	.146	.058	.058	.061	.047	.047		.000	.005	.010	.020	.067	.063	.062	.058
[10]	.124	.099	.146	.058	.058	.061	.047	.047	.000		.005	.010	.020	.067	.063	.062	.058
[11]	.124	.093	.143	.058	.058	.061	.041	.041	.011	.011		.010	.019	.068	.064	.063	.059
[12]	.121	.090	.133	.044	.044	.047	.024	.024	.044	.044	.038		.020	.067	.063	.060	.056
[13]	.153	.156	.193	.137	.137	.140	.121	.121	.136	.136	.133	.134		.071	.071	.069	.067
[14]	.723	.664	.703	.673	.673	.664	.658	.658	.668	.668	.668	.658	.704		.020	.024	.024
[15]	.692	.661	.705	.626	.626	.632	.640	.640	.643	.643	.650	.652	.712	.137		.123	.018
[16]	.634	.632	.640	.628	.628	.641	.621	.621	.644	.644	.651	.635	.697	.184	.177		.023
[17]	.639	.616	.638	.604	.604	.616	.598	.598	.606	.606	.619	.609	.698	.171	.118	.180	

หมายเหตุ ข้อมูลใต้แนวเส้นทแยงมุม คือ ค่า nucleotide distance ระหว่างมดภายในกลุ่ม
ข้อมูลเหนือแนวเส้นทแยงมุม คือ ค่า S.E (Standard error) ระหว่างมดภายในกลุ่ม
ตัวเลขแสดงมดแต่ละชนิด ประกอบดังนี้

1= *P. nodifera* , 2=*P. pieli* , 3= *P.* sp.C , 4= *P. inornata* , 5=*P.* sp.E , 6= *P.* sp.F , 7= *P.bugi* , 8= *P.Plagiaria*, 9= *P.* sp.A,10= *P.* sp.D, 11= *P.planifrons*, 12= *P.yeensis*, 13= *P.* sp.B หมายเลข 1-13 เป็นมดสกุล *Pheidole*

14=*S.orchidensis* , 15=*S.nanzanesis* , 16=*S.minutula* และ17=*S.lacunose* หมายเลข 14-17 เป็นมดสกุล *Strumigenys* จำนวน 4 ชนิด (AY124711, AY124712, AY124713 และAY124714 จาก database ของ GenBank) กำหนดเป็น outgroup

3.5 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 (ตารางที่ 5)

การวิเคราะห์เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ ITS2 ภายในมดสกุล *Pheidole* ทั้ง 13 ชนิดมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 62-99 % มด *Pheidole* sp.C เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.B มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน ITS2 ต่ำที่สุด ส่วนค่าเฉลี่ยสูงถึง 99 % มีอยู่ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มด *Pheidole* sp.A เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.D กลุ่มที่ 2 มด *Pheidole* sp.E เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.F กลุ่มที่ 3 มดคันกระโดด เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.E ส่วนมดที่มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน ITS2 ต่างจากมดชนิดอื่นมากที่สุดคือ มด *Pheidole* sp.B มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 62-67 %

มดสกุล *Pheidole* มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ ITS2 เกิน 90 % ขึ้นไป(มีค่าความแตกต่างกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน ITS2 น้อยมาก)มีอยู่ 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มดคันกระโดด เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.E และ *Pheidole* sp.F มีค่า 99 % กลุ่มที่ 2 มดหน้าแบนเปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.Fมีค่า 95 % กลุ่มที่ 3 มด *Pheidole* sp.A เปรียบเทียบกับมด *Pheidole* sp.D มีค่า 99 % กลุ่มที่ 4 มดคันร่องโค้งเปรียบเทียบกับมดคันบ้าน มีค่า 98 %

เปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนของ ITS2 ระหว่างมดคันร่องโค้งกับมดคันบ้าน พบมีความเหมือนกันถึง 98 % แต่เมื่อพิจารณาข้อมูลสัณฐานวิทยาภายนอกจากมดทหารระหว่างมดทั้งคู่พบความแตกต่างกันชัดเจน คือ ขนาดความยาวลำตัวแตกต่างกันมาก hypostoma มีจำนวนแตกต่างกัน บริเวณส่วนหัวแตกต่างกัน เป็นต้น แสดงว่าทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ ITS2 ร่วมกัน แต่มีความแตกต่างกันทางสัณฐานภายนอกทำให้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านรูปร่างเนื่องจากไม่จำเป็นต้องปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่วนของ ITS2 มีผลต่อการคัดเลือกตามธรรมชาติ (natural selection) น้อยมากเพราะเป็นส่วน non coding region ใน rDNA ที่ไม่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมด จึงสามารถแปรผันได้ทั้งการแทนที่เบส (transversions/transitions) การเพิ่มของเบส(insertions)หรือการขาดหายไปของเบส (deletions) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิวัฒนาการและการจัดจำแนกชนิดโดยใช้บริเวณส่วนของITS2 ในมดสกุล*Strumigenys* (Hung *et al*., 2004) ยุง (Bhargavi *et al.* , 2005; Li *et al.* ,2005; Marrelli *et al.* ,2005) และริ้นดำ (Thanwisai *et al.* ,2005)

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ ITS2 ภายในมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด โดยใช้โปรแกรม CLUSTAL W 1.83

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]
[1]													
[2]	69												
[3]	65	85											
[4]	66	66	66										
[5]	65	84	99	65									
[6]	67	84	99	65	98								
[7]	66	87	85	66	85	85							
[8]	78	79	77	62	76	77	77						
[9]	68	87	85	67	84	85	88	80					
[10]	69	85	86	65	85	86	98	79	88				
[11]	70	95	86	66	85	85	86	78	88	85			
[12]	69	99	84	66	84	84	87	78	87	85	95		
[13]	73	70	68	65	69	70	71	79	72	75	71	70	

หมายเหตุ ตัวเลขแสดงมดแต่ละชนิดประกอบดังนี้

1= *P. nodifera* , 2= *P.* sp.A, 3= *P.* sp.E, 4= *P.* sp.B , 5= *P.* sp.F, 6= *P. inornata*, 7= *P.plagiaria*, 8= *P.* sp.C, 9= *P.yeensis*,10= *P.bugi*, 11= *P.planifrons*, 12= *P.* sp.D และ13= *P. pieli*

3.6 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

การสร้าง phylogenetic tree ของมดทั้งหมดโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน ITS2 อาศัยค่าระยะห่างทางพันธุกรรมจากการเปรียบเทียบระหว่างมดแต่ละคู่ (pairwise) โดยใช้โปรแกรม MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 1993) แล้วพิจารณาจากความสัมพันธ์ของค่า distance ที่ได้จากตัวอย่างแต่ละคู่เปรียบเทียบกับคู่อื่น ๆ โดยใช้วิธีการดังนี้

3.6.1 Phylogenetic tree ที่สร้างจากวิธี Neighbour - joining (NJ) (ภาพที่ 37)

Phylogenetic tree ที่สร้างด้วยวิธี NJ ทดสอบค่าความเชื่อมั่น(bootstrap) จำนวน 1,000 ซ้ำ เพื่อให้ได้ tree ที่ถูกต้อง (consensus tree) Phylogenetic tree ที่ได้ประกอบด้วย 8 interior branch ที่มีค่าความเชื่อมั่นแตกต่างกันตั้งแต่ 39 - 100 % (ค่าความเชื่อมั่นสูงแสดงถึงความถูกต้องของการจัดกลุ่ม ในกรณีค่าความเชื่อมั่นต่ำแสดงความไม่แน่นอนของการจัดกลุ่ม) โดยมี 1 interior branch ที่มีค่า Bootstrap สูงถึง 100 % คือ branch ที่เชื่อมระหว่าง node ร่วมของมดสกุล *Pheidole* กับมดสกุล *Strumigenys* ส่วน interior branch ของมดสกุล *Pheidole* สามารถแบ่งความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มด *Pheidole* sp.C มีค่า bootstrap 39 % กลุ่มที่ 2 มดคันครีบขน และมดคันหัวแบนมีค่า bootstrap 65 % และกลุ่มสุดท้ายเป็นกลุ่มใหญ่ที่มีสมาชิกจำนวน 9 ชนิด ตามค่า bootstrap 79 % แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วยมดคันกระโดด , มด *Pheidole* sp.E และ *Pheidole* sp.F มีค่า bootstrap สูงถึง 99 % และกลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วยมดคันหน้าแบน มด *Pheidole* sp.A และมด*Pheidole* sp.D มีค่า bootstrap สูงถึง 99 %และกลุ่มย่อยสุดท้ายเชื่อมระหว่างมดคันจีน, มดคันร่องโค้ง และมดคันบ้านมีค่า bootstrap เพียง 44 % เท่านั้น

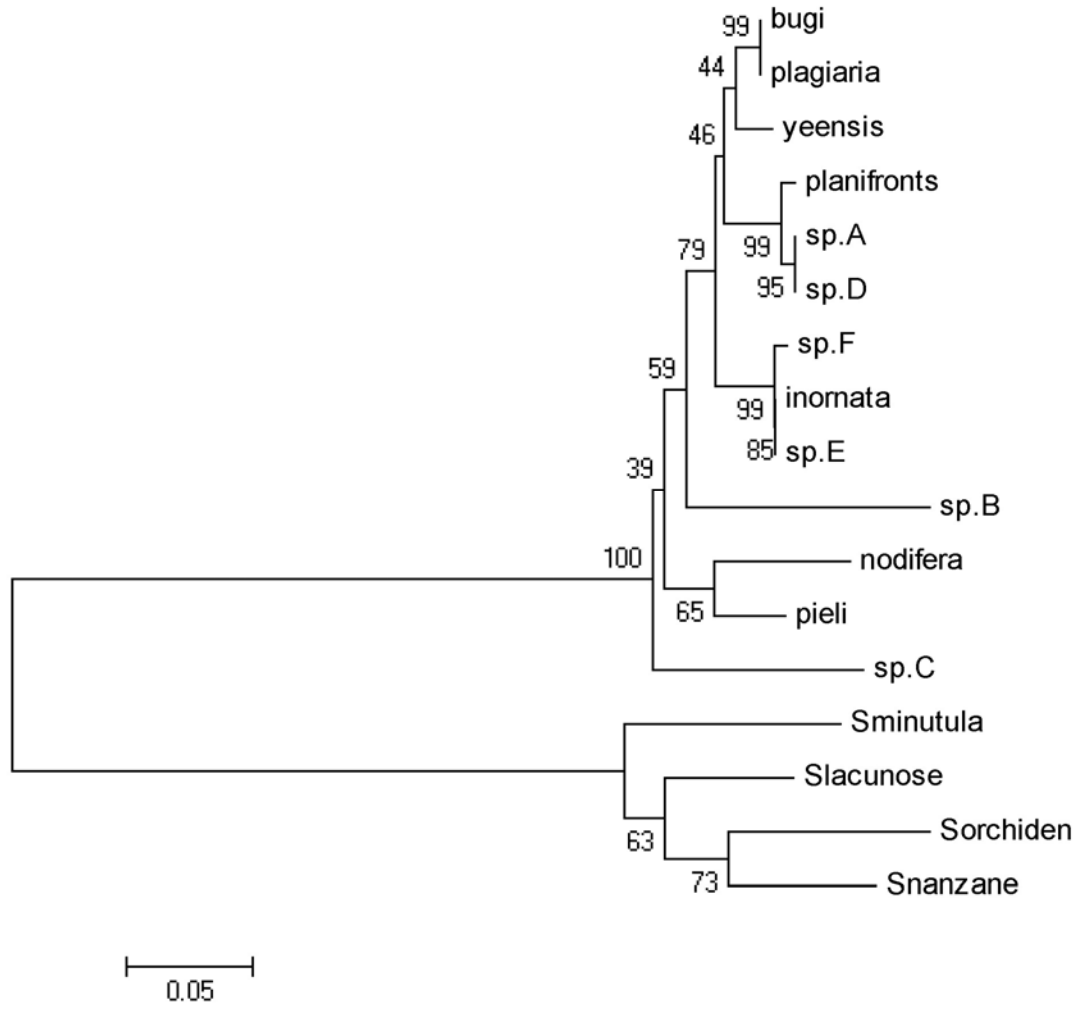
3.6.2 Phylogenetic tree ที่สร้างจากวิธี Maximum parsimony (MP) (ภาพที่ 38)

Phylogenetic tree ที่สร้างด้วยวิธี MP ทดสอบค่า bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ Phylogenetic tree ที่ได้ประกอบด้วย 9 interior branch ที่มีค่าความเชื่อมั่นแตกต่างกันตั้งแต่ 22 - 100 % โดยมี 1 interior branch ที่มีค่า bootstrap สูงถึง 100 % คือ interior branch ที่เชื่อมไปยัง node ร่วมของมดสกุล *Pheidole* กับมดสกุล *Strumigenys* ส่วนอีก interior branch ของมดสกุล *Pheidole* สามารถแบ่งความสัมพันธ์ชิงวิวัฒนาการได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มด *Pheidole* sp.C , มดคันครีบขน และมดคันหัวแบนมีค่า Bootstrap 53 % กลุ่มที่ 2 มด *Pheidole* sp.B มีค่า Bootstrap

41 % และกลุ่มสุดท้ายเป็นกลุ่มใหญ่ที่มีสมาชิกจำนวน 9 ชนิดตามค่า bootstrap 69 % แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มย่อยที่ 1 เชื่อมระหว่างมดคันกระโดด , มด *Pheidole* sp.E และ *Pheidole* sp.F มีค่า bootstrap สูงถึง 99 % กลุ่มย่อยที่ 2 เชื่อมระหว่างมดคันร่องโค้งกับมดคันบ้านมีค่า bootstrap สูงถึง 91 % และกลุ่มย่อยสุดท้ายเชื่อมระหว่างมดคันจีน , มดคันหน้าแบน , มด *Pheidole* sp.A และมด*Pheidole* sp.D มีค่า bootstrap เพียง 42 % เท่านั้น

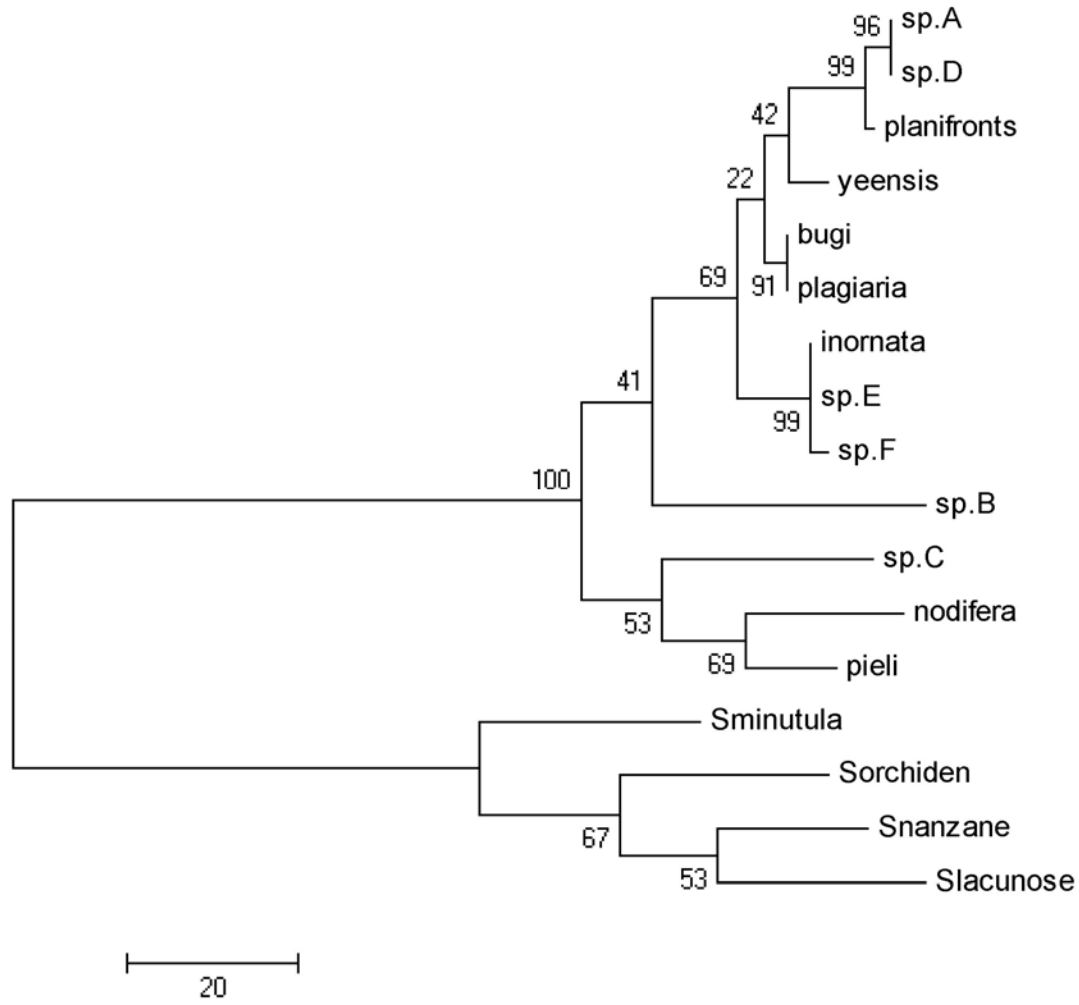
ผลที่ได้จากการสร้าง phylogenetic tree ทั้ง 2 แบบ แสดงให้เห็นถึง tree ที่มีรูปลักษณ์คล้ายคลึงกันมากจำแนกมดออกได้เป็น 10 กลุ่ม และมีรูปแบบความสัมพันธ์ภายในกลุ่มคล้ายกันมากต่างกันเพียงค่าความเชื่อมั่นเท่านั้น tree ที่สร้างแต่ละวิธีจะเป็นความแตกต่างของความสัมพันธ์ภายในกลุ่ม คือ มด *Pheidole* sp.C จะมีความห่างกับมดคันหัวแบน และมดคันครีบขนในวิธี NJ แต่มีความใกล้ชิดกับมดทั้งสองชนิดในวิธี MP ซึ่งมีค่า bootstrap ต่ำเพียง 44 % ทำให้มีความน่าเชื่อถือไม่มากนัก แม้ผล tree ที่สร้างโดยวิธี NJ และ MP มีความคล้ายคลึงกันแต่ผู้วิจัยมีแนวโน้มที่จะชอบวิธี MP มากกว่าเนื่องจากมีค่าความเชื่อมั่นที่สูงกว่า

เมื่อนำผลของ Phenogram มาเปรียบเทียบกับ phylogenetic tree พบว่ามีความแตกต่างกันเนื่องจากวิวัฒนาการของลักษณะทางสัณฐานภายนอกอาจขึ้นอยู่กับการดำรงชีวิตของมด แต่ ITS2 ไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตฉะนั้นอัตราความเร็วของวิวัฒนาการจึงไม่เท่ากันได้ การเปรียบเทียบข้อมูลทางสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 สรุปความแตกต่างได้ 2 ข้อ คือ (1) *Pheidole* แต่ละชนิดเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันจะมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 และลักษณะทางสัณฐานภายนอกแตกต่างกัน (2) ความแตกต่างกันของนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 สามารถใช้เป็นเหตุผลในการตัดสินใจจำแนกความแตกต่างในกรณีที่มดมีความคล้ายคลึงกันทางอนุกรมวิธานกรณีที่เป็น sibling species ได้ เหตุผลทั้งสองข้อสอดคล้องกับการจำแนกความแตกต่างของยุงanophelineจำนวน 16 ชนิดที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างจากสัณฐานวิทยาภายนอกได้แต่ใช้ความแตกต่างกันของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 แทน (Marrelli *et al*., 2005) ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าการจัดจำแนกมดสกุล *Pheidole* โดยอ้างอิงจากสัณฐานวิทยาภายนอกและลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอของมดสกุลนี้มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามสามารถใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บิรเวณ ITS2 ร่วมกับการจำแนกชนิดด้านอนุกรมวิธานได้ซึ่งจะเป็นเหตุผลสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดมดในระดับสกุลได้ถูกต้องยิ่งขึ้น



ภาพที่ 37 Phylogenetic tree ที่สร้างจากข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 โดยวิธี Neighbour- joining ทดสอบ bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำระหว่างมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด โดยใช้มดสกุล *Strumigenys* จำนวน 4 ชนิด คือ AY124711,AY124712,AY124713 และ AY124714 จาก database ของ GenBank เป็นoutgroup

หมายเหตุ nodifera= *P. nodifera* , pieli=*P. pieli* , inornata= *P. inornata*, bugi= *P.bugi* , plagiria= *P.Plagiaria* , planifronts= *P.planifrons* , yeensis= *P.yeensis* , sp.A= *P.* sp.A , sp.B= *P.* sp.B , sp.C= *P.* sp.C , sp.D= *P.* sp.D , sp.E=*P.* sp.E , sp.F= *P.* sp.F เป็นมดสกุล *Pheidole* ส่วน Sorchiden=*S.orchidensis* , Snanzane=*S.nanzanesis* , Snanzane=*S.minutula* และ Slacunose=*S.lacunose* เป็นมดสกุล *Strumigenys*



ภาพที่ 38 Phylogenetic tree ที่สร้างจากข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของ ITS2โดยวิธี Maximum parsimony ทดสอบ bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ ระหว่างมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิดโดยใช้มดสกุล *Strumigenys* จำนวน 4 ชนิด คือ AY124711,AY124712, AY124713 และ AY124714 จาก database ของ GenBank)เป็น outgroup

หมายเหตุ nodifera= *P. nodifera* , pieli=*P. pieli* , inornata= *P. inornata*, bugi= *P.bugi* , plagiria= *P.Plagiaria* , planifronts= *P.planifrons* , yeensis= *P.yeensis* , sp.A= *P.* sp.A , sp.B= *P.* sp.B , sp.C= *P.* sp.C , sp.D= *P.* sp.D , sp.E=*P.* sp.E , sp.F= *P.* sp.F เป็นมดสกุล *Pheidole* ส่วน Sorchiden=*S.orchidensis* , Snanzane=*S.nanzanesis* , Snanzane=*S.minutula* และSlacunose=*S.lacunose* เป็นมดสกุล *Strumigenys*

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การศึกษาอนุกรมวิธานของมดสกุล *Pheidole* ในป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของมดทหาร จำนวน 9 รูปแบบ นำข้อมูลทั้งหมดมาสร้าง key สามารถจำแนกมดได้ 13 ชนิด แต่เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Pcord version 4 สร้างเป็น Phenogram แบ่งความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาได้เพียง 12 ชนิด

2. พฤติกรรมของมดสกุล *Pheidole* จำนวน13 ชนิดแบ่งรูปแบบรังได้ 4 รูปแบบ คือ สร้างรังในดิน สร้างรังในขอนไม้ผุและกิ่งไม้ผุขนาดเล็ก สร้างรังใต้ก้อนหิน และสร้างรังได้ทั้งในดินและขอนไม้ผุ พื้นที่สร้างรังพบรังกระจายทั่วทั้งพื้นป่า มดสกุลนี้กินอาหารได้หลากหลายชนิด ส่วนพฤติกรรมการหาอาหารมีความคล้ายคลึงกันมาก และชนิดของมดไม่มีความสัมพันธ์กับรูปแบบรังที่สร้าง

3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS2 ของมดสกุล *Pheidole* พบความยาวของ ITS2 มีความแปรผันตั้งแต่ 764 bp จนถึง 1,117 bp ส่วนมากมีความยาวต่ำกว่า 1,000 bp ซึ่งเป็นผลจากการเพิ่มจำนวนเบส (insertions) หรือการขาดหายไปของเบส(deletions) นั่นเอง อย่างไรก็ดี % GC rich มีค่าเฉลี่ย 64.8 % - 67.6 % ในมดทุกชนิด

4. Phylogenetic tree ที่สร้างด้วยวิธี NJ และ MP แสดงให้เห็น tree ที่มีรูปแบบคล้ายคลึงกันมากและจำแนกมดออกได้เป็น 10 กลุ่ม

5. ผล tree ของ phenogram เปรียบเทียบกับ phylogenetic tree ที่สร้างจากทั้ง 2 วิธีมีความแตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอัตราการเกิดวิวัฒนาการ

ข้อเสนอแนะ

จากประสบการณ์ของผู้วิจัยในการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ร่วมกับข้อมูลทางอนุกรมวิธานและพฤติกรรมของมดสกุล *Pheidole* จากป่าสะแกราช ณ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา ทำให้สามารถวิเคราะห์เกี่ยวกับความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของมดสกุลนี้ได้ชัดเจนขึ้น ใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาด้านอนุกรมวิธานควบคู่ไปกับพันธุศาสตร์โมเลกุล ซึ่งผลการวิจัยที่ได้สนับสนุนการตัดสินใจในการจำแนกความแตกต่างและจัดกลุ่มมดแต่ละชนิดภายในสกุลได้ชัดเจนขึ้นดังนั้นงานวิจัยต่อไปจึงควร

1. เก็บตัวอย่างมดสกุลนี้ให้มีจำนวนชนิดมากขึ้นและเก็บจากหลายสถานที่ให้ครอบคลุมทั้งประเทศ เพื่อเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์การกระจายของมดสกุล *Pheidole* โดยงานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างจากป่าบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ.นครราชสีมาเพียงแห่งเดียวเท่านั้น

2. งานวิจัยนี้จำแนกมดสกุล *Pheidole* ได้จำนวน 7 ชนิดเท่านั้นและยังไม่สามารถจำแนกได้จำนวนถึง 6 ชนิด จากการตรวจสอบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน ITS2 ของมดสกุลนี้ยังไม่พบรายงานใน database ของ Genbank ฉะนั้นจึงควรเก็บตัวอย่างนำมาสกัดดีเอ็นเอและหาลำดับเบส ITS2 เก็บไว้เป็นฐานข้อมูลต่อไป

3. ในการเปรียบเทียบผลของ Phenogram กับ phylogenetic tree ทั้ง 2 วิธีพบว่ามีความแตกต่างกันอาจเป็นเพราะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของมดทหารน้อยเกินไป ฉะนั้นการวิจัยครั้งต่อไปควรเพิ่มข้อมูลลักษณะทางสัณฐานภายนอกให้มีรูปแบบมากขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เดชา วิวัฒน์วิทยา และวียะวัฒน์ ใจตรง. 2544. **คู่มือจัดจำแนกมดบริเวณอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่.** ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 110 น.

นาวี หนุนอนันต์. 2546. **ชนิดและความชุกชุมของมดตามฤดูกาลในป่าบาลา เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าฮาลา-บาลา จังหวัดนราธิวาส**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 128 น.

พรนรินทร์ คุ้มทอง และวียะวัฒน์ ใจตรง. 2547. **ความหลากชนิดของมดบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤาไน จังหวัดฉะเชิงเทรา**. รายงานฉบับสมบูรณ์, กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. 140 น.

Amer, S. A.M. and Y. Kumazawa. 2005. Mitochondrial genome of *Pogona vitticepes* (Reptilia; Agamidae): control region duplication and the origin of Australasian agamids. **Gene**. 346: 249-256.

Astruc, C., J. F. Julien, C. Errard and A. Lenoira. 2004. Phylogeny of ants (Formicidae) based on morphology and DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 31: 880–893.

Ayala, F. J., J. K. Wetterer, J. T. Longino and D. L. Hartl. 1996. Molecular Phylogeny of *Azteca* Ants (Hymenoptera: Formicidae) and the Colonization of Cecropia Trees. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 5: 423–428.

Baere, D.T. , A. V. Keerberghen , P. V. Hauwe, H. D. Beenhouwer, A. Boel, G. Verchraegen, G. Claeys and M. Vaneechoutte. 2005. An interlaboratory comparison of ITS 2-PCR for the identification of yeasts , using the ABI Prism 310 and CEQ8000 capillary electrophoresis systems. **BMC Microbiology**. 5(14): 1-6.

Beebe, N.W., Ellis, J.T., Cooper, R.D. and Saul, A., 1999. DNA sequence analysis of the ribosomal DNA ITS2 region for the *Anopheles punctulatus* group of mosquitoes. **Insect Mol**. **Biol**. 8: 381–390.

Bhargavi, R., S. Vishwakarma and U. S. Murty. 2005. A secondary structural common core in the ribosomal ITS2 (internal transcribed spacer) of *culex* species from diverse geographical locations. **Bioinformatic**. 1(2): 52 -55.

Blattner, F.R., K. Weising, G. Banfer, U. Maschwitz and B. Fiala. 2001. Molecular Analysis of Phylogenetic Relationships among Myrmecophytic *Macaranga* Species (Euphorbiaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. Vol. 19: 331–344.

Bolton, B. 1994. **Identification Guide to The Ant Genera of The World**. Harvard University Press, Cambridge. 222 pp.

Bolton, B. 1995. **A New General Catalogue of Ants of the World**. Harvard University Press, Cambridge. 504 pp.

Brown, W.L., Jr. 2000. **Diversity of ants**. In Agosti,D., Alonso, L. E., Majer, J.D. and Schultz, T.R. (eds.), Ant: Standard Method for Measuring and Monitoring Biodiversity. pp. 45 – 79. Washington :Smithsonian Institution Press.

Chen, C.A., C. C. Chang, N. V. Wei., C. H. Chen., Y.T. Lein., H. Lin, C. F. Dai and C. C. Wallace. 2004. Secondary Structure and Phylogenetic Utility of the Ribosomal Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) in *Scleractinian Corals*. **Zoological Studies**. 43(4): 759-771.

Chenna, R., H. Sugawara, T. Koike, R. Lopez, T.J. Gibson, D.G. Higgins and D. Thompson. 2003. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. **Nucleic Acies Res**. 31: 3497-3500.

Chiotis, M., L. S. Jermiin and R. H. Crozier. 2000. A Molecular Framework for the Phylogeny of The Ant Subfamily Dolichoderinae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 17: 108–116.

Eguchi, K. 2001. **A revision of the Bornean species of the ant genus Pheidole (Insecta : Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae)**. Tropics. Monograph Series No.2: 1-153.

Feldhaar, H., B. Fiala , J. Gadau , M. Mohamed and U. Maschwitzd. 2003. Molecular phylogeny of Crematogaster subgenus *Decacrema* ants (Hymenoptera: Formicidae) and the colonization of *Macaranga* (Euphorbiaceae) trees. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 27: 441– 452.

Gomez-Zurita, J., Juan, C. and Petitpierre, E., 2000. Sequence, secondary structure and phylogenetic analysis of the ribosomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) in the *Timarcha* leaf beetles (Coleoptera: Chysomelidae). **Insect Mol. Biol**. 9: 591–604.

Goropashnaya, A.V., V. B. Fedorov and P. Pamiloc. 2004. Recent speciation in the *Formica rufa* group ants (Hymenoptera, Formicidae): inference from mitochondrial DNA phylogeny .**Molecular Phylogenetics and Evolution**. 32: 198–206.

Harris, D. J. and K. A. Crandall.Intragenomic Variation Within ITS1 and ITS2 of Freshwater Crayfishes(Decapoda: Cambaridae): Implications for Phylogenetic and Microsatellite Studies. **Molecular Biology and Evolution**. 17(2): 284–291.

Hillis, D.M. and Dixon, M.T., 199. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. **Q. Rev. Biol**. 66**:** 411–453.

Huang, X. and A. Madan. 1999. CAP3: A DNA sequence assembly program. **Genome Res**. 9: 868-877.

Jaitrong, W. and J. Nabhitabhata. 2005. A List of Known Ant Species of Thailand (Formicidae: Hymenoptera). **The Thailand Natural History Museum Journal**. 1(1): 9-54.

Joseph, N., E. Krauskopf , M.I. Vera and B. Michot. 1999. Ribosomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) exhibits a common core of secondary structure in vertebrates and yeast. **Nucleic Acid Research**. 27: 4533–4540.

Hillis, D.M. and M. T. Dixon. 1991. Ribosomal DNA: **Molecular evolution and phylogenetic inference**. Quart. Rev. Biol. 66: 411-453.

Hirai, H., M.T. Yamamoto , K. Ogura , Y. Satta , M. Yamada , R.W. Taylor and H.T. Imai. 1994. Mutiplication of 28 s rDNA and Nor activity in chromosome evolution among ant of the *Myrmecia polosula* species complex. **Chromosoma**. 103: 171-178.

Holldobler, B. and Wilson , E.O. 1990. **Ants**. Springer Verlag, Berlin. 732 pp.

Hung, Y.T., C. A. Chen, W. J. Wu , C. C. Lin and C. J. Shiha. 2004. Phylogenetic utility of the ribosomal internal transcribed spacer2 in *Strumigenys* spp. (Hymenoptera: Formicidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 32: 407– 415.

Kumar S., K. Tamura and M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis andSequence Alignment. **Bioinformatics**. 5: 150-163.

Larkin, L. L. , J. L. Neff and B. B. Simpson. 2006. Phylogeny of the Callandrena subgenus of *Andrena* (Hymenoptera: Andrenidae) based on mitochondrial and nuclear DNA data: Polyphyly and convergent evolution. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 38: 330-343.

Li, C., J. S. Lee, J. L. Groebner, H. Kim,T. A. Kliein, M. L. O'Guinn and R. C. Wilkerson. 2005.

A newly recognized species in the *Anopheles* Hyrcanus Group and molecular identification of related species from the Republic of South Korea (Diptera: Culicidae). **Zootaxa**. 939: 1–8.

Lopez-Vaamonde, C., Rasplus, J.Y., Weiblen, G.D. and Cook, J.M., 2001. Molecular phylogenies of fig wasps: partial cocladogenesis of pollinators and parasites. **Mol. Phylogenet. Evol.** 21: 55–71.

Imai, H. T. and M. Kubota. 1975. Chromosome Polymorphism in the Ant, *Pheidole nodus*. **Chromosome** (Berl.) 51: 391-399.

Johnson, R. N., P. M. Agapow and R. H. Croziera. 2003. A tree island approach to inferring phylogeny in the ant subfamily Formicinae, with especial reference to the evolution of weaving. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 29: 317–330.

Lord, N.S., C.W. Kaplan , P. Shank , C.L. Kitts and S.L. Elrod. 2002. Assessment of fungal diversity using terminal restriction fragment (TRF) pattern analysis: comparison of 18S and ITS ribosomal regions. **FEMS Microbiology Ecology**. 42: 327-337.

Lorite, P. , J. A. Carrilloa , A. Tinautb and T. Palomequea. 2004. Evolutionary dynamics of satellite DNA in species of the Genus *Formica* (Hymenoptera, Formicidae). **Gene**. 332: 159 –168.

Lorite, P., J.A. Carrillo , A. Tinaut and T. Palomeque. 2002. Chromosome numbers in Spanish Formicidae (Hymenoptera). IV. New data of species from the Genera *Camponotus*, *Formica*, *Lasius*, *Messor* and *Monomorium*. **Sociobiolgy**. 40. 331-341.

Marrelli, M. T., L. M. F. Winter, R. S. Malafronte, W. P. Tadei, R. L.,Oliveira, C. F.Mendoza and O. Marinotti. 2005. Amazonian malaria vector anopheline relationships interpreted from ITS2 rDNA sequences.**Medical and Veterinary Entomology**. 19(2): 208-218.

Nipitwattanaphon , M.,P. Saksoong , S. Peyachoknagul and P. Hormchan. 2003. Ribosomal DNA diversity of ants (*Camponotus rufoglaucus* and *Diacamma* sp.) and the potential use for evolutionary study. Master of Science (Genetics), Kasetsart University.

Ohnishi, H., H. T. Imai and M. T. Yamamoto. 2003. Molecular phylogenetic analysis of ant subfamily relationship inferred from rDNA sequence. **Genes Gent**. **Syst**. 78: 419 – 425.

_____and_____. 2004. The Structure of a Single Unit of Ribosomal RNA Gene (rDNA) Including Intergenic Subrepeats in the Australian Bulldog Ant *Myrmecia croslandi* (Hymenoptera: Formicidae). **Zoological Science**. 21: 139-146.

Page, R.DM. 1996. TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. **Comput. Appl. Biol. Sci.** 12: 357-358.

Pastorini,J., Michael R. J. Forstner and R. D. Martin. 2002. Phylogenetic relationships among *Lemuridae* (Primates): evidence from mtDNA. **Journal of Human Evolution**. 43: 463-478 .

Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. **Molecular cloning: *A Laboratory Manual***, 2nd eds. Cold Spring Habor Press, Cold Spring Habor< New York, USA.

Sauxa,C., B. L. Fisherb and G. S. Spicer. 2004. Dracula ant phylogeny as inferred by nuclear 28S rDNA sequences and implications for ant systematics (Hymenoptera: Formicidae: Amblyoponinae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 33: 457–468.

Schmitz, J. and R. F. A. Moritz. 1998. Molecular Phylogeny of Vespidae (Hymenoptera) and the Evolutionof Sociality in Wasps. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 2: 183–191.

Segawa, R. D. and T. Aotsuka. 2005. The mitochondrial genome of the Japanese freshwater

crab, *Geothelphusa dehaani* (Crustacea: Brachyura): Evidence for its evolution via gene duplication. **Gene**. 355: 28-39.

Severini, C., Silvestrini, F., Mancini, P., La Rosa, G. and Marinucci, M., 1996. Sequence and secondary structure of the rDNA second internal transcribed spacer in the sibling species *Culex pipiens* L. and *Cx. Quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Insect Mol. Biol**. 5: 181–186.

Sharma, S., S. Rustgi, H.S. Balyan and P.K. Gupta. 1996. Internal transcribed spacer (ITS) sequence of ribosomal DNA of wild barley and their comparison with ITS sequence in common wheat. **Barly genetics Newsletter**. 2: 38-45.

Shattuck, S.O. 1999. **Australian ants**. CSIRO Publishing, Collingwood. 226 pp.

Tautz, D., Tautz, C., Webb, D. and Dover, G.A., 1987. Evolutionary divergence of promoters and spacers in the rDNA family of four *Drosophila* species. **Mol. Biol.** 195: 525–542.

Terayama, M. and S. Yamane. 2000. Lisiomryma, a new stenammine ant genus from Southeast Asia (Hymenoptera : Formiccidae). **Entomological Science**. 3(3): 523– 27.

Thanwisai, A., C. Kuvangkadilok. and V. Baimai. 2006. Molecular phylogeny of black files (Diptera: Simuliidae) from Thailand, using ITS2 rDNA. **Genetica.** 128: 177-204.

Viginier, B., C. Peeters , L. Brazier and C. Doums. 2004. Very low genetic variability in the Indian queenless ant *Diacamma indicum*. **Molecular Ecology**. 13: 2095 –2100.

Xiao, H., S. Chen, Z. Liu, R. Zhang, W. Li, R. Zan and Y. Zhang. 2005. Molecular phylogeny of *Sinocyclocheilus* (Cypriniformes: Cyprinidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 36: 67-77.

ภาคผนวก

การเตรียมเซลล์คอมพิเทนต์ (competent cell)

1. เพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Escherichia coli* สายพันธุ์ XL-1-Blue ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรที่มีอาหาร Luria-Bertani (LB) broth (tryptone 10 กรัม, yeast xtract 5 กรัม และ Nacl 10 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใน incubator shaker อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150-250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมงหรือข้ามคืน

2. ดูดอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรที่มีอาหาร LB broth 50 มิลลิลิตรนำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า(incubator shaker) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150-250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งอาหารเลี้ยงแบคทีเรียมีค่า A600 ประมาณ 0.5

3. ย้ายอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนแบคทีเรียที่ 2,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

4. เทอาหารใสส่วนบนทิ้ง เติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (50 mM calcium chloride ($Cacl_2$))ที่เย็นจัด 20 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้พลาสเจอร์ปิเปตต์ดูดขึ้นลงเบา ๆ จากนั้นแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที

5. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายใสทิ้ง ทำขั้นตอนในข้อ 4-5 ซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

6. เติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ผสมกลีเซอรอล 20 เปอร์เซ็นต์ ที่เย็นจัดลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้พลาสเจอร์ปิเปตต์ดูดขึ้นลงเบา ๆแช่ในน้ำแข็ง 30 นาที

7. แบ่งใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตรหลอดละ 100 ไมโครลิตร นำไปใช้ในการทรานสฟอร์เมชันได้ทันที หรือเก็บไว้โดยนำไปแช่ไนโตรเจนเหลวจนสารละลายแข็งตัวแล้วเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

วิธีถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แบคทีเรียด้วยวิธีทรานสฟอร์เมชัน

1. เติมสารละลายดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีคอมพีเทนต์เซลล์ 100 ไมโครลิตร แช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที

2. นำมาบ่มที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ย้ายลงแช่ในน้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 2 นาที

3. เติมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย SOC (2% tryptone, 0.5% yeast extract, 10 mM Nacl, 2.5 mM Kcl, 10 mM Mgcl, 10 mM $MgSO_4$, 20 mM glucose pH 6.8-7.0) ลงไป 900 ไมโครลิตร และนำไป

บ่มไว้ที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150-250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4. ดูดอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย 100 ไมโครลิตร มาเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารที่ผสมแอมพิซิลิน 100 ไมโคกรัมต่อมิลลิลิตร (ฉาบด้วย X-gal 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ IPTG 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรผสมอยู่ด้วย)โดยเกลี่ยแบคทีเรียให้กระจายทั่วจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียด้วยแท่งแก้วปลายงอ (glass spreader)

5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีของแบคทีเรียสีขาวและสีฟ้าที่เจริญบนอาหาร

ตารางผนวกที่ 1 สรุปข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของมดสกุล *Pheidole* ที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิด

ที่	ชนิด	ขนาดความยาวลำตัว	จำนวนปุ่มบนขอบล่างของ clypeus	ลักษณะสันนอกปล้องที่ 2	สันร่องบริเวณหน้าผาก	ลักษณะหนาม propodeal spine	ครีบใต้เอวปล้องที่ 1	สัดส่วนความยาวของหัว	ลักษณะความโค้งของหน้าผาก	ลักษณะผิวส่วนท้องปล้องที่ 1
1.	*Pheidole bugi*	0	5	0	1	0	0	0	0	0
2.	*Pheidole inornata*	0	4	1	1	1	0	1	2	1
3.	*Pheidole nodifera*	1	0	1	0	1	1	0	2	0
4.	*Pheidole pieli*	0	5	0	1	0	0	1	0	0
5.	*Pheidole plagiaria*	1	2	1	1	1	0	0	2	1
6.	*Pheidole planifrons*	1	2	1	1	1	0	1	1	0
7.	*Pheidole yeensis*	1	2	1	1	1	0	1	0	0
8.	*Pheidole* sp.A	1	3	1	1	1	0	1	2	0
9.	*Pheidole* sp.B	0	5	0	1	0	0	1	0	1
10.	*Pheidole* sp.C	0	4	1	0	0	0	0	2	1
11.	*Pheidole* sp.D	1	5	1	1	1	0	1	1	0
12.	*Pheidole* sp.E	1	5	1	1	1	0	1	2	1
13.	*Pheidole* sp.F	1	4	1	1	1	0	1	2	1

หมายเหตุ

รายละเอียดแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 9 ลักษณะประกอบการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดโดยใช้โปรแกรมทางสถิติมีดังนี้

(1) ขนาดความยาวลำตัว

0 = ขนาดความยาวลำตัวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร

1 = ขนาดความยาวลำตัว 5 มิลลิเมตรหรือมากกว่า

(2) ขอบล่างของฐานริมฝีปากบน (clypeus)

0 = ไม่มี hypostoma

1 = มี hypostoma จำนวน 1 ตุ่ม

2 = มี hypostoma จำนวน 2 ตุ่ม

3 = มี hypostoma จำนวน 3 ตุ่ม

4 = มี hypostoma จำนวน 4 ตุ่ม

5 = มี hypostoma จำนวน 5 ตุ่ม

(3) ลักษณะอกปล้องที่ 2

0 = อกปล้องที่ 2 ไม่เป็นสันหรือตุ่มนูน

1 = อกปล้องที่ 2 มีลักษณะเป็นสัน หรือตุ่มนูนขึ้น

(4) สันร่องบริเวณหน้าผาก(เมื่องมองจากด้านหน้า)

0 = ไม่เป็นร่องลึกขนานกันตามความยาวลำตัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้งฐานกะโหลก

1 = เป็นร่องลึกขนานกันตามความยาวลำตัวจากขอบริมฝีปากบนจนถึงส่วนโค้งฐานกะโหลก

(5) หนามบน propodeum (propodeal spine) เมื่อมองทางด้านข้าง

0 = ขนาดสั้นปลายทู่

1 = ขนาดยาวปลายแหลม

(6) ลักษณะครีบใต้เอวปล้องแรก (sub petiole)

0 = ลักษณะเรียบ

1 = มีรยางค์รูปใบพายหรือครีบ

(7) สัดส่วนความยาวของหัว (ความกว้าง : ความยาว)

0 = ส่วนหัวมีความยาวใกล้เคียงหรือเท่ากับความกว้าง

1 = ส่วนหัวมีความยาวมากกว่าความกว้าง

(8) ลักษณะของหน้าผาก (เมื่อมองจากด้านข้าง)

0 = ลักษณะเว้า

1 = ลักษณะเรียบ

2 = ลักษณะนูน

(9) ลักษณะของผิวส่วนท้องปล้องที่ 1

0 = ลักษณะหยาบหรือขรุขระ

1 = ลักษณะเรียบเป็นมัน

```
CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

                                <----------------------5.8S---------------------->
Myrmecia_croslandi_5.8S         GAACTGCAGGACACATGAACATCGACACTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.A                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.D                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_planifrons             GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_yeensis                GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_plagiaria              GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACACTGCGGTCCA 50
Pheidole_bugi                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.F                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_inornata               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.E                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.B                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_pieli                  GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_nodifera               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.C                   GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
                                ************************** ************ *********

Myrmecia_croslandi_5.8S         --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.D                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_planifrons             CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_yeensis                CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_plagiaria              CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_bugi                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCGA 100
Pheidole_sp.F                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_inornata               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.E                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.B                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_pieli                  CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_nodifera               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.C                   CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100


Myrmecia_croslandi_5.8S         --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                   AGACTGCTTGCGCGCCGC-CCGTAACCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 149
Pheidole_sp.D                   AGACTGCTTGCGCGCCGC-CCGTAACCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 149
Pheidole_planifrons             AGACTGCTTGCGCGCCGC-CCGTAATCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 149
Pheidole_yeensis                AGACTGCTTGCGCGCCGC-C-GTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_plagiaria              AGACTGCTTGCGCGCCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATC 150
Pheidole_bugi                   AGACTGCTTGCGCGCCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATC 150
Pheidole_sp.F                   AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_inornata               AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_sp.E                   AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_sp.B                   AGACTGCTTGCGCGC-GCCCCGTA-CCCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 148
Pheidole_pieli                  AGACTGCTTGCGCCGCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATC 150
Pheidole_nodifera               AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTACCATGG-CGCGCGCGTACGAGCGATC 147
Pheidole_sp.C                   AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTACCCTGGGCGCGCGCCCACGAGCGATC 148
```

ภาพผนวกที่ 1 แสดง Sequence alignment ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด นำมาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 5.8S ของมด *Myrmecia croslandi* (AB052895)ขนาด 50 bp ใน database ของ GenBankโดยโปรแกรม ClustalW 1.83

```
Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GTTGGACGTTTTCGCCCGTCAACAGAGAGAGAGCGCGCGCGAG-ACGCTC 198
Pheidole_sp.D                GTTGGACGTTTTCGCCCGTCAACAGAGAGAGAGCGCGCGCGAG-ACGCTC 198
Pheidole_planifrons          GTTGGACGTTTTCGCCCGTGAACGGAG----AGCGCGCGCGAG-ACGCGC 194
Pheidole_yeensis             GTTGGACGTGTTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 187
Pheidole_plagiaria           GTTGGACGTGTTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 191
Pheidole_bugi                GTTGGACGTGTTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 191
Pheidole_sp.F                GTTGGACGTGTTCGCCCGTGTG------ACGAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 189
Pheidole_inornata            GTTGGACGTGTTCGCCCGTGTG------ACGAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 189
Pheidole_sp.E                GTTGGACGTGTTCGCCCGTGTG------ACGAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 189
Pheidole_sp.B                GTTGGACG--CTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 187
Pheidole_pieli               GTTGGACG--TTCGCCCGGTGTAGGAGCGCGCGCGCGCGCG-CGCGAG 197
Pheidole_nodifera            GTTGGACGTGTTCGCCC-CGGG----ACGAGAGCGCGCGCGCGCGCGC 192
Pheidole_sp.C                GTTGGACG--TTCGCCCGTTGG----ACGAGCGCGCGCGCGAG-ACGCGG 191


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GC--------CCCTCGCGAATCCTC-GCGAATCGTGGTAGGAACCGG-TC 238
Pheidole_sp.D                GC--------CCCTCGCGAATCCTC-GCGAATCGTGGTAGGAACCGG-TC 238
Pheidole_planifrons          GC--------CCCTCGCGAATCCTC-GCGAATCGTGGAAGGAACCGGATC 235
Pheidole_yeensis             GC--------CCC---CGAGTCCTC-GCGAATCGTGGATGGAACCGA-TC 224
Pheidole_plagiaria           GC--------GCCCC-CGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 229
Pheidole_bugi                GC--------GCCCC-CGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 229
Pheidole_sp.F                CTAA-----ACCCCCCCGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 231
Pheidole_inornata            CTAA-----ACCCCCCCGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 231
Pheidole_sp.E                CTAA-----ACCCCCCCGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 231
Pheidole_sp.B                GC------------CCCGAATCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 222
Pheidole_pieli               ACGC-----GGCCCCCCGAATCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 239
Pheidole_nodifera            GCGCGAGACGCGGCCCCGAATCCCCGCCGAATCGTGGATGAAACCGATCT 242
Pheidole_sp.C                CCCC----CCCCCCCCCGAGTCCTC-TCGAATCGTGGATGAA-CCGATC- 234


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 275
Pheidole_sp.D                CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 275
Pheidole_planifrons          CACGACGAGGGAGGAGGAGCGGGAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 275
Pheidole_yeensis             CGCGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 261
Pheidole_plagiaria           CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGC--CGTC-T 264
Pheidole_bugi                CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGC--CGTC-T 264
Pheidole_sp.F                CGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGG------TGAGGCCCGC--CGTC-T 272
Pheidole_inornata            CGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGG---TGAGGCCCGC--CGTC-T 275
Pheidole_sp.E                CGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGG---TGAGGCCCGC--CGTC-T 275
Pheidole_sp.B                CACGACGAGGGAGGAGGAG------A---------GGCCCGC--CGTC-T 254
Pheidole_pieli               CACGACGAGGGAGGAGGAGGAGTGGCCCC-GCCGTCTCGCGCCG-C-G 286
Pheidole_nodifera            CACGACGAAGGCGGTAGGAGTAGAGGGGCCCCGCCGTCTCGCGCCGCCGC 292
Pheidole_sp.C                CACGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGG----GAAGGAGGGGTCCGCCGT 280


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CGCGCCGCCCTTGGTGGGCGTCGTCCGAAATGAG--AACGAGGAG--GAC 321
Pheidole_sp.D                CGCGCCGCCCTTGGTGGGCGTCGTCCGAAATGAG--AACGAGGAG--GAC 321
Pheidole_planifrons          CGCGCCGCCCTTGGTGGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 319
Pheidole_yeensis             CGCGCCGCCCTT---GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 302
Pheidole_plagiaria           CGCGCCGCTCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 304
Pheidole_bugi                CGCGCCGCTCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 304
Pheidole_sp.F                CGCGCCGCCCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 312
Pheidole_inornata            CGCGCCGCCCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 315
Pheidole_sp.E                CGCGCCGCCCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 315
Pheidole_sp.B                CGCGTCGCTCT----GGGCGTCGTTCGAAATGATG-AACGAGGAG--GAC 297
Pheidole_pieli               CGCGCCCATCCCCCTGGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 330
Pheidole_nodifera            CGCCGCCGCCGCGTGGGGCGTCGTCCGAAATGATGAAACGAGGAGGGGAC 342
Pheidole_sp.C                CTCGCGCGCCGTCCTGGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 324
```

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GTTACG-AACGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 366
Pheidole_sp.D                GTTACG-AACGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 366
Pheidole_planifrons          GTTATATAACGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 365
Pheidole_yeensis             GACCGG---AGAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 345
Pheidole_plagiaria           GAC------CGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 344
Pheidole_bugi                GAC------CGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCTGCCGCC 344
Pheidole_sp.F                GAACGG----AAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC-----CGCCGCC 349
Pheidole_inornata            GACCGG----AAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC-----CGCCGCC 352
Pheidole_sp.E                GACCGG----AAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC-----CGCCGCC 352
Pheidole_sp.B                GACCGG----AGAGA-GGCGTTAACGAGGCGGTTTCGCGC---CGCCGC- 338
Pheidole_pieli               GACC------GGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC------GCCGCC 364
Pheidole_nodifera            GACCGGTGAAGGAAACGGCGTTAACG---CGGTTTCGCGTCGCCGCCGCC 389
Pheidole_sp.C                GACCGGAGA-------GGCGTTAACG---CGATTACGCG------CCGCC 358


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CGGGGATCGAGAACGCGCGC--CCGTGTACACGTTTA-CGGGCCGTC--- 410
Pheidole_sp.D                CGGGGATCGAGAACGCGCGC--CCGTGTACACGTTTA-CGGGCCGTC--- 410
Pheidole_planifrons          CGGGGATCGAGAACGCGC----CCGTAT------TTA-CGGGCCGT---- 400
Pheidole_yeensis             -----GCCGCCGCCGCCCGG--GGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGT---- 382
Pheidole_plagiaria           -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGT---- 375
Pheidole_bugi                -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGT---- 375
Pheidole_sp.F                -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGC---- 380
Pheidole_inornata            -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGC---- 383
Pheidole_sp.E                C----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGC---- 384
Pheidole_sp.B                -----------GTCGCCCGG--GGATCAACG-GCGTATCCGGCCGTGT-- 372
Pheidole_pieli               C----------GTCGCCCGGAGAGACGAACG-GCGTA-CCGGCCGTT--- 399
Pheidole_nodifera            G------CCCGGGGATCTCGACATCGACACG-GCGTATCCGGCCGTGTCG 432
Pheidole_sp.C                G------CCCGGAGATCA----------ACG-GCGCTACCGGCCGTG--- 388


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                --GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 450
Pheidole_sp.D                --GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 450
Pheidole_planifrons          ----GATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 438
Pheidole_yeensis             ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGAGCGCGCGCCAACCGCCGCGTAC 428
Pheidole_plagiaria           ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGGGCG----CGCGCCCACCGCCGCGTGC 417
Pheidole_bugi                ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGGGCG----CGCGCCCACCGCCGCGTGC 417
Pheidole_sp.F                ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 418
Pheidole_inornata            ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 421
Pheidole_sp.E                ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 422
Pheidole_sp.B                --GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCGCGCGCGTCCACCGCCGCGTAC 420
Pheidole_pieli               --CCGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG------CGCCCACCGCCGCGTAC 441
Pheidole_nodifera            GGGGGGTCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGCC------CACCGCGCCGCGCGC 476
Pheidole_sp.C                -----ATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGC---------------------- 411


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCGA-----TGGGAT--CGCGCGAGCCG 493
Pheidole_sp.D                GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCGA-----TGGGAT--CGCCCGAGCCG 493
Pheidole_planifrons          GATCCGCGCAGGAGAAAAGGAGGCGA-----TGGGAT--CGCGCGAGCCG 481
Pheidole_yeensis             GATCCGCGCAGGAGGAAAGTAGGTGT-----TGG-AT--CGCGCGAGCCG 470
Pheidole_plagiaria           GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGG--------TTGGAT--CGCGCGAGCCG 457
Pheidole_bugi                GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGG--------TTGGAT--CGCGCGAGCCG 457
Pheidole_sp.F                GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGAT--CGCGCGAGCCG 466
Pheidole_inornata            GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGAT--CGCGCGAGCCG 469
Pheidole_sp.E                GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGAT--CGCGCGAGCCG 470
Pheidole_sp.B                GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCG------TTGGAT--CGCGCGAGCCG 462
Pheidole_pieli               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGG--------GTGGAT--CGCGCGAGCCG 481
Pheidole_nodifera            GATCCGCGCAGGAGGAAATGCGAGG------GTGGAT--CGCGCGAGCCG 518
Pheidole_sp.C                GATCCGCGCAGGAGGAAAGCGGAGG------CTGGAGAGCGCGCGAGCCG 455
```

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACGACGGAGCT------CCCTCTCGAGGA--- 533
Pheidole_sp.D                ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACGACGGAGCT------CCCTCTCGAGGA--- 533
Pheidole_planifrons          ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAGGA--- 518
Pheidole_yeensis             ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAG----- 505
Pheidole_plagiaria           ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAG----- 492
Pheidole_bugi                ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAG----- 492
Pheidole_sp.F                ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG--GAGGCTT-----CCCTCTCGAG----- 503
Pheidole_inornata            ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG--GAGGCT------CCCTCTCGAG----- 505
Pheidole_sp.E                ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG--GAGGCT------CCCTCTCGAG----- 506
Pheidole_sp.B                ACCGCGCGTCCGAGTCC-ACGGAGGAGGTC----TCCCTCTCGAG----- 502
Pheidole_pieli               ACCGCGTGTCCGAGTCCCACG---GAGCT------CCCTCTCGACG---- 518
Pheidole_nodifera            ACCGCGCGTCCGAGTCC-ACG---GAGTCGTGACCCTCTCTCGCCTCGTA 564
Pheidole_sp.C                ACCGCGCGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT-----CCCCCATCGTTCT--- 493

Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                --AAAAAGCGAGAGGGA---TCGCAAGTGAACGGGACCGGCGCGT-CGTA 577
Pheidole_sp.D                --AAAAGGCGAGAGGGA---TCGCAAGTGAACGGGACCGGCGCGT-CGTA 577
Pheidole_planifrons          --AAAAGGCGAGAGGGA---TCGTAAGTAAACGGGACCGGCGCGT-CGTA 562
Pheidole_yeensis             --AAAAGGCGAGAGGGA---TT-TAAAGATACGGGACCGGCGCGT-CGTA 548
Pheidole_plagiaria           --AAAAGGCGAGAGGG--------AATTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 531
Pheidole_bugi                --AAAAGGCGAGAGGG--------AATTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 531
Pheidole_sp.F                --AAAAGACGAGAGGGA-------AATTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 543
Pheidole_inornata            --AAAAGACGAGAGGGA-------A-TTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 544
Pheidole_sp.E                --AAAAGACGAGAGGGA-------A-TTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 545
Pheidole_sp.B                ----AAG--GAGAGGGA------CGATCGTACGGGACCGGCGCGTTCGTA 540
Pheidole_pieli               --AAAAGGAGAGAGGGA---------TTGTACGGGACCGGCGCGTCGTTT 557
Pheidole_nodifera            GAGGAGAGCGAGAGAGAGGGTGTTACACGCACGGGACCGGCGCGT-CGTA 613
Pheidole_sp.C                -AAGAGGATGGGAGAGA---TTATATATATACGGGACCGGCGCGT-CGTA 538

Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGC 627
Pheidole_sp.D                GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGC 627
Pheidole_planifrons          GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGC 612
Pheidole_yeensis             GTCGTGTACTCGCGCGACGAGGTGACAAG-------AGAGTGACACGCGC 591
Pheidole_plagiaria           GTCGTGTACTCGCGCG-CGAT-CGAGACG--------ATCGAGCGGACGC 571
Pheidole_bugi                GTCGTGTACTCGCGCG-CGAT-CGAGACG--------ATCGAGCGGACGC 571
Pheidole_sp.F                GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCG-------------AGAGACGC 580
Pheidole_inornata            GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCG-------------AGGGACGC 581
Pheidole_sp.E                GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCG-------------AGAGACGC 582
Pheidole_sp.B                GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTATGACA-----------AGAGAGACAC 579
Pheidole_pieli               GTCGTGTACTCGCGCGTCGAGGTGACG----------------GAGACAC 591
Pheidole_nodifera            GTCGTGTACTCGCGCGACGAGGTGACGGGGGGC-GGCACGACGCACACGG 662
Pheidole_sp.C                GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGG-------------------------AG 562

Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GGAAA-GAGAGCCGTGT--CTCCCCCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 672
Pheidole_sp.D                GGAAA-GAGAGCCGTGT--CTCCCCCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 672
Pheidole_planifrons          GGAAA-GAGAGCCGTGTGTCTCCCCCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 659
Pheidole_yeensis             GGAAAAGAGCGTCGTGT-----CCGCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 634
Pheidole_plagiaria           GGAAA----GATCGTGT-----CCGCGTCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 610
Pheidole_bugi                GGAAA----GATCGTGT-----CCGCGTCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 610
Pheidole_sp.F                GGAAA----GAGCGTCC----TCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCC 622
Pheidole_inornata            GGAAA----GAGCGTCC----TCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCC 623
Pheidole_sp.E                GGAAA----GAGCGTCC----TCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCC 624
Pheidole_sp.B                GGAAA----AAGTGTGT-------CCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 616
Pheidole_pieli               GGAAA------AAGTGT-------CCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 626
Pheidole_nodifera            AACGAGTGTGCGCGTGTCTCT-CAGCGCCTCGATTCCACGCCCCGCGTCC 711
Pheidole_sp.C                GGCGAGAGAGTAAGAGTCTC--CGCCGCCTCGATTCCACGCCCT-CGTCC 609
```

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                TGCGGGG--TCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAAATCGAGAGAGAGGA 720
Pheidole_sp.D                TGCGGGG--TCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAGATCGAGAGACAGGA 720
Pheidole_planifrons          TGCGGGG--TCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA------GAGATCGAG 701
Pheidole_yeensis             TGCGCGG--TC--------GCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 661
Pheidole_plagiaria           TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 643
Pheidole_bugi                TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 643
Pheidole_sp.F                TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------AA 655
Pheidole_inornata            TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGC--GTGCGACGGA-------------GA 654
Pheidole_sp.E                TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 657
Pheidole_sp.B                TGAGCGC-------------------------------------------- 623
Pheidole_pieli               TGCGCGA--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA------------GAG 660
Pheidole_nodifera            TGTGCGGGGTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAAA----AGAGGAAGA 757
Pheidole_sp.C                TGCGCGT--------------CGTGTGCGACGGAGC----GGGGAGGAA 640


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                GGAGGAACACGAGGAAACAGGGAAGAGAGAGGAGGATGCGTTCTCTCTCT 770
Pheidole_sp.D                GGAGGAACACGAGGAAACAGGGAAGAGAGAGGAGGATGCGTTCTCTCTCT 770
Pheidole_planifrons          AGAGGAAC---GAGGAACAGGGAAGAGAGAG-AGGATGCGTTCTCTCTCT 747
Pheidole_yeensis             GGAGTAAC-----GAGAATAGGAAGAGAGAG-AGGATGCGTTCTCTCTCT 705
Pheidole_plagiaria           GGAGGAACGAGAACAGGAAGAGACACGAGAGAGAGCCCCGTTCTCTCTCG 693
Pheidole_bugi                GGAGGAACGAGAACAGGAAGAGACACGAGAGAGAGCCCCGTTCTCTCTCG 693
Pheidole_sp.F                GGAGAAAC----------------------------ACGCTCTCTCTC- 675
Pheidole_inornata            GGAGGAAC----------------------------ACGCTCTCTCTC- 674
Pheidole_sp.E                GGAGGAAC---------------------------ACGCTCTCTCTC- 677
Pheidole_sp.B                --CGTCGT-----------------------------CGTCGTCGT--- 638
Pheidole_pieli               GGAGGAAC--GAACGAACGAACGAGAGAAGAGAGGATGCCTGCCATTCCA 708
Pheidole_nodifera            CGCGAAGACGGAGAGACGAGAGAGAGAAGAGAAGGATGCGTTCTCTTC-- 805
Pheidole_sp.C                CGCGGAGGAGGAGGGG---GAGAGAGAACGCAAG--------CTCTCC-- 677


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                TCGACGTGTCTCCTCTCGGCTCTCTCGGCGTAAGAACCGTGATCTCGCGT 820
Pheidole_sp.D                TCGACGTGTCTCCTCTCGGCTCTCTCGGCGTAAGAACCGTGATCTCGCGT 820
Pheidole_planifrons          TCGACG--TCTCCTCTC---TCTCT----GTAA-AACCGTGATC--GCGT 785
Pheidole_yeensis             TCGACG---TCTCTCTC---TCTCT-----------TCGTAATC--GCGT 736
Pheidole_plagiaria           TCTTCGA--CGTTTCTC---TCTCT-----------CCGTAATC--GCGT 725
Pheidole_bugi                TCTTCGA--CGTTTCTC---TCTCT-----------CCGTAATC--GCGT 725
Pheidole_sp.F                ----CG-------------------------------TATAATC--GCGT 688
Pheidole_inornata            ----CG-----------------------------TATAATC--GCGT 687
Pheidole_sp.E                ----CG-------------------------------TATAATC--GCGT 690
Pheidole_sp.B                ------------------------------------CGTCGTC--GTCG 649
Pheidole_pieli               TCTCTCTCTCTCTTCGACG-TCTCTCT---------CCGTGATC--GCGT 746
Pheidole_nodifera            ---------------------------------------TTCTCTCGACT 816
Pheidole_sp.C                ---------------------------------------TCCTCCAACCG 688


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                TGGAAGGAACGCCC---CGTC-----CGTCGTC-GTCGTCGGCGTCGTAG 861
Pheidole_sp.D                TGGAAGGAACGCCC---CGTC-----CGTCGTC-GTCGTCGGCGTCGTAG 861
Pheidole_planifrons          TGGAAGGAACGCCCGTCCGTCGTCGTCGTCGTC-GTCGTTGGCGTCGTAG 834
Pheidole_yeensis             TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTC-GTCGTC--CGTCGTCG 777
Pheidole_plagiaria           TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCG------------------- 750
Pheidole_bugi                TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 769
Pheidole_sp.F                TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 732
Pheidole_inornata            TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 731
Pheidole_sp.E                TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 734
Pheidole_sp.B                TAGTAGTAGT-------CGTC------GTAGTA----------------- 669
Pheidole_pieli               TGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTTGTCGTTGTC-GTCGTCGTCGTCGTCG 795
Pheidole_nodifera            GGTCTCCTCTGTCT-TGCGTC-----TCTCG------------------- 841
Pheidole_sp.C                CGAGATATATCTCC-TCCGTC-----CGTCG------------------- 713
```

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CC--CGTCGC-----GTCGGGAACCGCGCGCGCCGGGGTGCAAAGGAGAC 904
Pheidole_sp.D                CC--CGTCGC-----GTCGGGAACCGCGCGCGCCGGGGTGCAAAAGAAAC 904
Pheidole_planifrons          GCGTCGTAGCCCGTCGTCGGGAACCGCGC---CCGGGGTGTAAAGGAAAG 881
Pheidole_yeensis             TCGCCGTCGT-------CGGGAACAGC-------GGGGTGTAA-----AC 808
Pheidole_plagiaria           ---------------CCGTCGTCGCCGGGAACCGGGGTGTGT-----A- 778
Pheidole_bugi                TCGTCGTCGTCGT---CCGGCGTCGTCGGTAACCGGGGTGTGT-----AG 811
Pheidole_sp.F                TCGTCGTCGTC---------CGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGAGG 773
Pheidole_inornata            TCGTCGTCGTCGT---CGTCCGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGAGG 778
Pheidole_sp.E                TCGTCGTC------------CGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGAGG 772
Pheidole_sp.B                ------------------GTCGTCGTCGGTGACCGGGGTGTAA------- 694
Pheidole_pieli               TCGTCGTCGTCGT-CGTCGTCGTCGTCGGGAACCGGGGTGTAAA------ 838
Pheidole_nodifera            ----------------------CTCCGGTAAATCGCGTTGGAA------- 862
Pheidole_sp.C                ----------------------CGC-----GATCGCGTTGGAA------- 729


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                AACGGGCGTGCGTCGTCGCGCGGAGGTCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGA 954
Pheidole_sp.D                AACGGGCGTGCGTCGTCGCGCGGAGGTCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGA 954
Pheidole_planifrons          AACGGGCGTGCGTCGTCACGCGGAGGGCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGA 931
Pheidole_yeensis             AGCGC-----CGGTGTCACG--------GAAAGAGCGAGCGAGCGAGCGC 845
Pheidole_plagiaria           AACGG--------TGTCACG-GAAGGTCGAGCGAGCGAGCGAGCGAG--- 816
Pheidole_bugi                AACGG--------TGTCACG-GAAGG-CGAGCGAGCGAGCGAGCGGGA-- 849
Pheidole_sp.F                GGCAGCACCGTG-CGTGTCACGGAGGGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGCGA 822
Pheidole_inornata            GGCAGCACCGTG-CGTGTCACGGAGGGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGCGA 827
Pheidole_sp.E                GGCAGCACCGTG-CGTGTCACGAAGGGCGAGCGAGC--------GGGCGA 813
Pheidole_sp.B                --CGG--------TGTCACG--------GAGAGAGCGAGC---------- 716
Pheidole_pieli               AACGG--------TGTCACG----------GAGAGCGT------------ 858
Pheidole_nodifera            -------------------G------------GAACGCGC---------- 871
Pheidole_sp.C                -------------------G------------GAACGC------------ 736


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                --GCGAGCGGGACGAACGGGT-AACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTT 1001
Pheidole_sp.D                --GCGAGCGGGACGAACGGGT-AACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTT 1001
Pheidole_planifrons          --GCGGGACGAACG---GGGT-AACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTT 975
Pheidole_yeensis             --GCGGGACGGACG-----GT-ACACGCGTAACAGCGCGGTACC-CGGTT 886
Pheidole_plagiaria           ---CGGGACGAACG-----GT-AC--GCGTAACA--GCGGTATC---GTT 850
Pheidole_bugi                ---CGGAACGGACG-----GT-AC--GCGTAACAA-GCGGTATC---GTT 884
Pheidole_sp.F                GAGCGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGT-TAATC 871
Pheidole_inornata            AAGCGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGT-TAATC 876
Pheidole_sp.E                GAGCGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGT-TAATC 862
Pheidole_sp.B                -----------CCG-----GTAAAGGG-------------GTC------ 730
Pheidole_pieli               ----------AACG-----GCTCCTCCCGTGGTCCCCTCTAACC------ 887
Pheidole_nodifera            -----AACCGAGCC-----GTCGTCGTCGT-------CGTCGTC------ 898
Pheidole_sp.C                -------CCGAGC------GTCGTCGTC---------------------- 751


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CGGTAAGACCCCGTCGTCGTCGTCCCTATCGCTGTAACGGAGCTCT--CC 1049
Pheidole_sp.D                CGGTAAGACCCCGTCGTCGTCGTCTCTATCGCTGTAACGGAGCTCT--CC 1049
Pheidole_planifrons          CGGTAAGACCCCGTCGTCGTC---TCTATCGCTGTAACGGAGCTCT--CC 1020
Pheidole_yeensis             CGGT-------CGCCGTCGTC---TCTATCGC-GTA-CAGAGAGCT--CT 922
Pheidole_plagiaria           CGGT------CCCCCGTCGTC-----CATCGC-GTA-CAGCGCTCCGCTC 887
Pheidole_bugi                CAGT------C-------GTC-----CATCGC-GTA-CAGCGCTCCGCTC 914
Pheidole_sp.F                CGTTCGCGGTCCGCCGTCGTC-----CGTCGC-GCAAAACTGCGCGCGCT 915
Pheidole_inornata            CGTTCGCGGTCCGCCGTCGTC-----CGTCGC-GCAAAACTGCGCGCGCT 920
Pheidole_sp.E                CGTTCGCGGTCCGCCGTCGTC-----CGTCGC-GCAAAACTGCGCGCGCT 906
Pheidole_sp.B                ----------------------------TCGC----------CTCT--CT 740
Pheidole_pieli               ----------------------------CCGCGGAA-------------- 895
Pheidole_nodifera            ------------GTCGTCGTC------GTCGT----------------CG 914
Pheidole_sp.C                ----------------------------CGT----------------CG 756
```

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CTCTCGCGTACGCGCAC-GGCCTTCTCACCCCGCGTGTGTGTGTGTACAC 1098
Pheidole_sp.D                CTCTCGCGTACGCGCAC-G-CCTTCTCACCCCGCGTGTGTGTGTGTACAC 1097
Pheidole_planifrons          CTCTCGCGTACGCGCAC-GGCCTTCTTACCCCGCGCGT------GTACAC 1063
Pheidole_yeensis             CTCGCGTGTACACGCA-------GCTTACCCCGCGAAC-----------C 954
Pheidole_plagiaria           CCCTCGTGCACGCGCACAGGCTTGCCTACCTACCGCCCCAACGGCGCGCG 937
Pheidole_bugi                CCCTCGTGCACGCGCACAGGCTTGCCTACCTACCGCCCCACCGGCGCGCG 964
Pheidole_sp.F                CTCTCG-GTGTACGCCACACCGCTGCTGCTCTACCCC------------G 952
Pheidole_inornata            CTCTCG-GTGTACGCCACGCCGCTGCTGCTCTACCCC------------G 957
Pheidole_sp.E                CTCTCG-GTGTACGCCACACCGCTGCTGCTCTACCCC------------G 943
Pheidole_sp.B                CTCTCGTGT--------------CCTTACCCCGCGTT------------- 763
Pheidole_pieli               CCTTCGTACGCACGTACGACACGCACGGCTCTTCGGCT------------- 933
Pheidole_nodifera            TCGTCGTCGTCGC----------CGTTGCAGCGCACCT------------ 942
Pheidole_sp.C                TCGTCGTCGTCGT----------CGCGAAAGCGCGC------------- 782


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                CGTGCGTACGGCCGCTACCGCCGCTACTCGCTACCACTACTACA-CGACG 1147
Pheidole_sp.D                CGTGCGTACGGCCGCTACCGCCGCTACTCGCTACCACTACTACA-CGACG 1146
Pheidole_planifrons          CGCGCGTACGGCTGCTACCGCTACT---------CGCTACTACA-CGACG 1103
Pheidole_yeensis             TTGGCGAACGGTTAGACGCGACACT---------CCTATCTACA-CGACG 994
Pheidole_plagiaria           CGAACCTTCGTACGGTA-CGCGACGAGACACT-CCTCTCTAACA-CGACG 984
Pheidole_bugi                CGAACCTTCGTACGGTA-CGCGACGAGACACT-CCTCTCTAACA-CGACG 1011
Pheidole_sp.F                CGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCG--ACG-CTCTTTCTACA-CGACG 998
Pheidole_inornata            CGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCGCGACG-CTCTTTCTACA-CGACG 1005
Pheidole_sp.E                CGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCG--ACG-CTCTTTCTACA-CGACG 989
Pheidole_sp.B                ---ACCTTCGTAC----CCGCCACGCACGGCTCTCTACTCTACT-CGACG 805
Pheidole_pieli               ---ATATATATATATATACCATATA----TATACCATACACA-CGACG 975
Pheidole_nodifera            --CGCTGTAACGCCGCGATGTCACACA------TTTTACGCACATCGACG 984
Pheidole_sp.C                ------------------------------------AAACACA-CGACG 794


Myrmecia_croslandi_5.8S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A                ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1197
Pheidole_sp.D                ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1196
Pheidole_planifrons          ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1153
Pheidole_yeensis             ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1044
Pheidole_plagiaria           ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1034
Pheidole_bugi                ACCTCAGAGCAGGTGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1061
Pheidole_sp.F                ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1048
Pheidole_inornata            ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1055
Pheidole_sp.E                ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1039
Pheidole_sp.B                ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 855
Pheidole_pieli               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1025
Pheidole_nodifera            ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1034
Pheidole_sp.C                ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 844


Myrmecia_croslandi_5.8S      --------------------
Pheidole_sp.A                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1217
Pheidole_sp.D                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1216
Pheidole_planifrons          GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1173
Pheidole_yeensis             GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1064
Pheidole_plagiaria           GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1054
Pheidole_bugi                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1081
Pheidole_sp.F                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1068
Pheidole_inornata            GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1075
Pheidole_sp.E                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1059
Pheidole_sp.B                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 875
Pheidole_pieli               GCGGAAAAGAAACTAACCAG 1045
Pheidole_nodifera            GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1054
Pheidole_sp.C                GAGGAAAAGAAACTAACCAG 864
```

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

```
CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment


Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.D               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_planifrons         GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_yeensis            GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_plagiaria          GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACACTGCGGTCCA 50
Pheidole_bugi               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.F               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_inornata           GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.E               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.B               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_pieli              GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_nodifera           GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50
Pheidole_sp.C               GAACTGCAGGACACATGAACATCGACATTTCGAACGCACATTGCGGTCCA 50


Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.D               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_planifrons         CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_yeensis            CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_plagiaria          CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_bugi               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCGA 100
Pheidole_sp.F               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_inornata           CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.E               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.B               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_pieli              CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_nodifera           CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100
Pheidole_sp.C               CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAA 100


Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               AGACTGCTTGCGCGCCGC-CCGTAACCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 149
Pheidole_sp.D               AGACTGCTTGCGCGCCGC-CCGTAACCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 149
Pheidole_planifrons         AGACTGCTTGCGCGCCGC-CCGTAATCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 149
Pheidole_yeensis            AGACTGCTTGCGCGCCGC-C-GTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_plagiaria          AGACTGCTTGCGCGCCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATC 150
Pheidole_bugi               AGACTGCTTGCGCGCCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATC 150
Pheidole_sp.F               AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_inornata           AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_sp.E               AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTA--CCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 146
Pheidole_sp.B               AGACTGCTTGCGCGC-GCCCCGTA-CCCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATC 148
Pheidole_pieli              AGACTGCTTGCGCCGCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATC 150
Pheidole_nodifera           AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTACCATGG-CGCGCGCGTACGAGCGATC 147
Pheidole_sp.C               AGACTGCTTGCGCGCCGC--CGTACCCTGGGCGCGCGCCCACGAGCGATC 148
```

ภาพผนวกที่ 2 แสดง Sequence alignment ของมดสกุล *Pheidole* จำนวน 13 ชนิด นำมาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 28S ของมด *Myrmecia croslandi* ขนาด 50 bp(AB052895) ใน database ของGenBankโดยโปรแกรม ClustalW 1.83

```
Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GTTGGACGTTTTCGCCCGTCAACAGAGAGAGAGCGCGCGCGAG-ACGCTC 198
Pheidole_sp.D               GTTGGACGTTTTCGCCCGTCAACAGAGAGAGAGCGCGCGCGAG-ACGCTC 198
Pheidole_planifrons         GTTGGACGTTTTCGCCCGTGAACGGAG----AGCGCGCGCGAG-ACGCGC 194
Pheidole_yeensis            GTTGGACGTGTTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 187
Pheidole_plagiaria          GTTGGACGTGTTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 191
Pheidole_bugi               GTTGGACGTGTTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 191
Pheidole_sp.F               GTTGGACGTGTTCGCCCGTGTG------ACGAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 189
Pheidole_inornata           GTTGGACGTGTTCGCCCGTGTG------ACGAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 189
Pheidole_sp.E               GTTGGACGTGTTCGCCCGTGTG------ACGAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 189
Pheidole_sp.B               GTTGGACG--CTCGCCCGTGAC--------GAGCGCGCGCGAG-ACGCGC 187
Pheidole_pieli              GTTGGACG--TTCGCCCGGTGTAGGAGCGCGCGCGCGCGCG-CGCGAG 197
Pheidole_nodifera           GTTGGACGTGTTCGCCC-CGGG----ACGAGAGCGCGCGCGCGCGCGC 192
Pheidole_sp.C               GTTGGACG--TTCGCCCGTTGG----ACGAGCGCGCGCGCGAG-ACGCGG 191


Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GC--------CCCTCGCGAATCCTC-GCGAATCGTGGTAGGAACCGG-TC 238
Pheidole_sp.D               GC--------CCCTCGCGAATCCTC-GCGAATCGTGGTAGGAACCGG-TC 238
Pheidole_planifrons         GC--------CCCTCGCGAATCCTC-GCGAATCGTGGAAGGAACCGGATC 235
Pheidole_yeensis            GC--------CCC---CGAGTCCTC-GCGAATCGTGGATGGAACCGA-TC 224
Pheidole_plagiaria          GC--------GCCCC-CGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 229
Pheidole_bugi               GC--------GCCCC-CGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 229
Pheidole_sp.F               CTAA-----ACCCCCCCGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 231
Pheidole_inornata           CTAA-----ACCCCCCCGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 231
Pheidole_sp.E               CTAA-----ACCCCCCCGAGTCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 231
Pheidole_sp.B               GC------------CCCGAATCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 222
Pheidole_pieli              ACGC-----GGCCCCCCGAATCCTC-GCGAATCGTGG-ATGAACCGA-TC 239
Pheidole_nodifera           GCGCGAGACGCGGCCCCGAATCCCCGCCGAATCGTGGATGAAACCGATCT 242
Pheidole_sp.C               CCCC----CCCCCCCCCGAGTCCTC-TCGAATCGTGGATGAA-CCGATC- 234


Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 275
Pheidole_sp.D               CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 275
Pheidole_planifrons         CACGACGAGGGAGGAGGAGCGGGAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 275
Pheidole_yeensis            CGCGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGCGCCGTC-T 261
Pheidole_plagiaria          CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGC--CGTC-T 264
Pheidole_bugi               CACGACGAGGGAGGAGGAG---GAGA---------GGCCCGC--CGTC-T 264
Pheidole_sp.F               CGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGG------TGAGGCCCGC--CGTC-T 272
Pheidole_inornata           CGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG---TGAGGCCCGC--CGTC-T 275
Pheidole_sp.E               CGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG---TGAGGCCCGC--CGTC-T 275
Pheidole_sp.B               CACGACGAGGGAGGAGGAG------A---------GGCCCGC--CGTC-T 254
Pheidole_pieli              CACGACGAGGGAGGAGGAGGAGAGTGGCCCC-GCCGTCTCGCGCCG-C-G 286
Pheidole_nodifera           CACGACGAAGGCGGTAGGAGTAGAGGGGCCCCGCCGTCTCGCGCCGCCGC 292
Pheidole_sp.C               CACGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAG----GAAGGAGGGGTCCGCCGT 280


Myrmecia_croslandi_28S      --------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CGCGCCGCCCTTGGTGGGCGTCGTCCGAAATGAG--AACGAGGAG--GAC 321
Pheidole_sp.D               CGCGCCGCCCTTGGTGGGCGTCGTCCGAAATGAG--AACGAGGAG--GAC 321
Pheidole_planifrons         CGCGCCGCCCTTGGTGGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 319
Pheidole_yeensis            CGCGCCGCCCTT---GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 302
Pheidole_plagiaria          CGCGCCGCTCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 304
Pheidole_bugi               CGCGCCGCTCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 304
Pheidole_sp.F               CGCGCCGCCCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 312
Pheidole_inornata           CGCGCCGCCCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 315
Pheidole_sp.E               CGCGCCGCCCT----GGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 315
Pheidole_sp.B               CGCGTCGCTCT----GGGCGTCGTTCGAAATGATG-AACGAGGAG--GAC 297
Pheidole_pieli              CGCGCCCATCCCCCTGGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 330
Pheidole_nodifera           CGCCGCCGCCGCGTGGGGCGTCGTCCGAAATGATGAAACGAGGAGGGGAC 342
Pheidole_sp.C               CTCGCGCGCCGTCCTGGGCGTCGTCCGAAATGA----ACGAGGAG--GAC 324
```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GTTACG-AACGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 366
Pheidole_sp.D               GTTACG-AACGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 366
Pheidole_planifrons         GTTATATAACGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 365
Pheidole_yeensis            GACCGG---AGAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 345
Pheidole_plagiaria          GAC------CGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCCGCCGCC 344
Pheidole_bugi               GAC------CGGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGCGCCGCTGCCGCC 344
Pheidole_sp.F               GAACGG----AAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC-----CGCCGCC 349
Pheidole_inornata           GACCGG----AAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC-----CGCCGCC 352
Pheidole_sp.E               GACCGG----AAAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC-----CGCCGCC 352
Pheidole_sp.B               GACCGG----AGAGA-GGCGTTAACGAGGCGGTTTCGCGC---CGCCGC- 338
Pheidole_pieli              GACC------GGAGA-GGCGTTAACG---CGGTTTCGC------GCCGCC 364
Pheidole_nodifera           GACCGGTGAAGGAAACGGCGTTAACG---CGGTTTCGCGTCGCCGCCGCC 389
Pheidole_sp.C               GACCGGAGA-------GGCGTTAACG---CGATTACGCG------CCGCC 358


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CGGGGATCGAGAACGCGCGC--CCGTGTACACGTTTA-CGGGCCGTC--- 410
Pheidole_sp.D               CGGGGATCGAGAACGCGCGC--CCGTGTACACGTTTA-CGGGCCGTC--- 410
Pheidole_planifrons         CGGGGATCGAGAACGCGC----CCGTAT------TTA-CGGGCCGT---- 400
Pheidole_yeensis            -----GCCGCCGCCGCCCGG--GGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGT---- 382
Pheidole_plagiaria          -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGT---- 375
Pheidole_bugi               -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGT---- 375
Pheidole_sp.F               -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGC---- 380
Pheidole_inornata           -----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGC---- 383
Pheidole_sp.E               C----------GCCGCCCGG--AGATCAACG-GCGTA-CAGGCCGC---- 384
Pheidole_sp.B               -----------GTCGCCCGG--GGATCAACG-GCGTATCCGGCCGTGT-- 372
Pheidole_pieli              C----------GTCGCCCGGAGAGACGAACG-GCGTA-CCGGCCGTT--- 399
Pheidole_nodifera           G------CCCGGGGATCTCGACATCGACACG-GCGTATCCGGCCGTGTCG 432
Pheidole_sp.C               G------CCCGGAGATCA----------ACG-GCGCTACCGGCCGTG--- 388


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               --GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 450
Pheidole_sp.D               --GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 450
Pheidole_planifrons         ----GATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 438
Pheidole_yeensis            ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGAGCGCGCGCCAACCGCCGCGTAC 428
Pheidole_plagiaria          ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGGGCG----CGCGCCCACCGCCGCGTGC 417
Pheidole_bugi               ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGGGCG----CGCGCCCACCGCCGCGTGC 417
Pheidole_sp.F               ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 418
Pheidole_inornata           ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 421
Pheidole_sp.E               ----GATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG--------CCCACCGCCGCGTGC 422
Pheidole_sp.B               --GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCGCGCGCGTCCACCGCCGCGTAC 420
Pheidole_pieli              --CCGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG------CGCCCACCGCCGCGTAC 441
Pheidole_nodifera           GGGGGGTCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGCC------CACCGCGCCGCGCGC 476
Pheidole_sp.C               -----ATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGC---------------------- 411


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCGA-----TGGGAT--CGCGCGAGCCG 493
Pheidole_sp.D               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCGA-----TGGGAT--CGCCCGAGCCG 493
Pheidole_planifrons         GATCCGCGCAGGAGAAAAGGAGGCGA-----TGGGAT--CGCGCGAGCCG 481
Pheidole_yeensis            GATCCGCGCAGGAGGAAAGTAGGTGT-----TGG-AT--CGCGCGAGCCG 470
Pheidole_plagiaria          GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGG--------TTGGAT--CGCGCGAGCCG 457
Pheidole_bugi               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGG--------TTGGAT--CGCGCGAGCCG 457
Pheidole_sp.F               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGAT--CGCGCGAGCCG 466
Pheidole_inornata           GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGAT--CGCGCGAGCCG 469
Pheidole_sp.E               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGAT--CGCGCGAGCCG 470
Pheidole_sp.B               GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCG------TTGGAT--CGCGCGAGCCG 462
Pheidole_pieli              GATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGG--------GTGGAT--CGCGCGAGCCG 481
Pheidole_nodifera           GATCCGCGCAGGAGGAAATGCGAGG------GTGGAT--CGCGCGAGCCG 518
Pheidole_sp.C               GATCCGCGCAGGAGGAAAGCGGAGG------CTGGAGAGCGCGCGAGCCG 455
```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACGACGGAGCT------CCCTCTCGAGGA--- 533
Pheidole_sp.D               ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACGACGGAGCT------CCCTCTCGAGGA--- 533
Pheidole_planifrons         ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAGGA--- 518
Pheidole_yeensis            ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAG----- 505
Pheidole_plagiaria          ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAG----- 492
Pheidole_bugi               ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT------CCCTCTCGAG----- 492
Pheidole_sp.F               ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG--GAGGCTT-----CCCTCTCGAG----- 503
Pheidole_inornata           ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG--GAGGCT------CCCTCTCGAG----- 505
Pheidole_sp.E               ACCGCGTGTCCGAGTCC-ACG--GAGGCT------CCCTCTCGAG----- 506
Pheidole_sp.B               ACCGCGCGTCCGAGTCC-ACGGAGGAGGTC----TCCCTCTCGAG----- 502
Pheidole_pieli              ACCGCGTGTCCGAGTCCCACG---GAGCT------CCCTCTCGACG---- 518
Pheidole_nodifera           ACCGCGCGTCCGAGTCC-ACG---GAGTCGTGACCCTCTCTCGCCTCGTA 564
Pheidole_sp.C               ACCGCGCGTCCGAGTCC-ACG---GAGCT-----CCCCCATCGTTCT--- 493

Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               --AAAAAGCGAGAGGGA---TCGCAAGTGAACGGGACCGGCGCGT-CGTA 577
Pheidole_sp.D               --AAAAGGCGAGAGGGA---TCGCAAGTGAACGGGACCGGCGCGT-CGTA 577
Pheidole_planifrons         --AAAAGGCGAGAGGGA---TCGTAAGTAAACGGGACCGGCGCGT-CGTA 562
Pheidole_yeensis            --AAAAGGCGAGAGGGA---TT-TAAAGATACGGGACCGGCGCGT-CGTA 548
Pheidole_plagiaria          --AAAAGGCGAGAGGG--------AATTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 531
Pheidole_bugi               --AAAAGGCGAGAGGG--------AATTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 531
Pheidole_sp.F               --AAAAGACGAGAGGGA-------AATTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 543
Pheidole_inornata           --AAAAGACGAGAGGGA-------A-TTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 544
Pheidole_sp.E               --AAAAGACGAGAGGGA-------A-TTACACGGGACCGGCGCGT-CGTA 545
Pheidole_sp.B               ----AAG--GAGAGGGA------CGATCGTACGGGACCGGCGCGTTCGTA 540
Pheidole_pieli              --AAAAGGAGAGAGGGA---------TTGTACGGGACCGGCGCGTCGTTT 557
Pheidole_nodifera           GAGGAGAGCGAGAGAGAGGGTGTTACACGCACGGGACCGGCGCGT-CGTA 613
Pheidole_sp.C               -AAGAGGATGGGAGAGA---TTATATATATACGGGACCGGCGCGT-CGTA 538

Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGC 627
Pheidole_sp.D               GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGC 627
Pheidole_planifrons         GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGC 612
Pheidole_yeensis            GTCGTGTACTCGCGCGACGAGGTGACAAG-------AGAGTGACACGCGC 591
Pheidole_plagiaria          GTCGTGTACTCGCGCG-CGAT-CGAGACG--------ATCGAGCGGACGC 571
Pheidole_bugi               GTCGTGTACTCGCGCG-CGAT-CGAGACG--------ATCGAGCGGACGC 571
Pheidole_sp.F               GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCG-------------AGAGACGC 580
Pheidole_inornata           GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCG-------------AGGGACGC 581
Pheidole_sp.E               GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCG-------------AGAGACGC 582
Pheidole_sp.B               GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTATGACA-----------AGAGAGACAC 579
Pheidole_pieli              GTCGTGTACTCGCGCGTCGAGGTGACG---------------GAGACAC 591
Pheidole_nodifera           GTCGTGTACTCGCGCGACGAGGTGACGGGGGGC-GGCACGACGCACACGG 662
Pheidole_sp.C               GTCGTGTACTCGCGCGGCGAGG-------------------------AG 562

Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GGAAA-GAGAGCCGTGT--CTCCCCCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 672
Pheidole_sp.D               GGAAA-GAGAGCCGTGT--CTCCCCCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 672
Pheidole_planifrons         GGAAA-GAGAGCCGTGTGTCTCCCCCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 659
Pheidole_yeensis            GGAAAAGAGCGTCGTGT-----CCGCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 634
Pheidole_plagiaria          GGAAA----GATCGTGT-----CCGCGTCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 610
Pheidole_bugi               GGAAA----GATCGTGT-----CCGCGTCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 610
Pheidole_sp.F               GGAAA----GAGCGTCC----TCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCC 622
Pheidole_inornata           GGAAA----GAGCGTCC----TCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCC 623
Pheidole_sp.E               GGAAA----GAGCGTCC----TCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCC 624
Pheidole_sp.B               GGAAA----AAGTGTGT-------CCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 616
Pheidole_pieli              GGAAA------AAGTGT-------CCGCCTCGATTCCACGCCTCG--TCC 626
Pheidole_nodifera           AACGAGTGTGCGCGTGTCTCT-CAGCGCCTCGATTCCACGCCCCGCGTCC 711
Pheidole_sp.C               GGCGAGAGAGTAAGAGTCTC--CGCCGCCTCGATTCCACGCCCT-CGTCC 609
```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               TGCGGGG--TCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAAATCGAGAGAGAGGA 720
Pheidole_sp.D               TGCGGGG--TCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAGATCGAGAGACAGGA 720
Pheidole_planifrons         TGCGGGG--TCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA------GAGATCGAG 701
Pheidole_yeensis            TGCGCGG--TC--------GCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 661
Pheidole_plagiaria          TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 643
Pheidole_bugi               TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 643
Pheidole_sp.F               TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------AA 655
Pheidole_inornata           TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGC--GTGCGACGGA-------------GA 654
Pheidole_sp.E               TGCGCGG--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA-------------GA 657
Pheidole_sp.B               TGAGCGC-------------------------------------------- 623
Pheidole_pieli              TGCGCGA--TC--GCGCGCGCGCGCGTGCGACGGA------------GAG 660
Pheidole_nodifera           TGTGCGGGGTCGCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAAA----AGAGGAAGA 757
Pheidole_sp.C               TGCGCGT--------------CGTGTGCGACGGAGC----GGGGAGGAA 640


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               GGAGGAACACGAGGAAACAGGGAAGAGAGAGGAGGATGCGTTCTCTCTCT 770
Pheidole_sp.D               GGAGGAACACGAGGAAACAGGGAAGAGAGAGGAGGATGCGTTCTCTCTCT 770
Pheidole_planifrons         AGAGGAAC---GAGGAACAGGGAAGAGAGAG-AGGATGCGTTCTCTCTCT 747
Pheidole_yeensis            GGAGTAAC-----GAGAATAGGAAGAGAGAG-AGGATGCGTTCTCTCTCT 705
Pheidole_plagiaria          GGAGGAACGAGAACAGGAAGAGACACGAGAGAGAGCCCCGTTCTCTCTCG 693
Pheidole_bugi               GGAGGAACGAGAACAGGAAGAGACACGAGAGAGAGCCCCGTTCTCTCTCG 693
Pheidole_sp.F               GGAGAAAC----------------------------ACGCTCTCTCTC- 675
Pheidole_inornata           GGAGGAAC----------------------------ACGCTCTCTCTC- 674
Pheidole_sp.E               GGAGGAAC---------------------------ACGCTCTCTCTC- 677
Pheidole_sp.B               --CGTCGT---------------------------CGTCGTCGT--- 638
Pheidole_pieli              GGAGGAAC--GAACGAACGAACGAGAGAAGAGAGGATGCCTGCCATTCCA 708
Pheidole_nodifera           CGCGAAGACGGAGAGACGAGAGAGAGAAGAGAAGGATGCGTTCTCTTC-- 805
Pheidole_sp.C               CGCGGAGGAGGAGGGG---GAGAGAGAACGCAAG--------CTCTCC-- 677


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               TCGACGTGTCTCCTCTCGGCTCTCTCGGCGTAAGAACCGTGATCTCGCGT 820
Pheidole_sp.D               TCGACGTGTCTCCTCTCGGCTCTCTCGGCGTAAGAACCGTGATCTCGCGT 820
Pheidole_planifrons         TCGACG--TCTCCTCTC---TCTCT----GTAA-AACCGTGATC--GCGT 785
Pheidole_yeensis            TCGACG---TCTCTCTC---TCTCT-----------TCGTAATC--GCGT 736
Pheidole_plagiaria          TCTTCGA--CGTTTCTC---TCTCT-----------CCGTAATC--GCGT 725
Pheidole_bugi               TCTTCGA--CGTTTCTC---TCTCT-----------CCGTAATC--GCGT 725
Pheidole_sp.F               ----CG-------------------------------TATAATC--GCGT 688
Pheidole_inornata           ----CG-------------------------------TATAATC--GCGT 687
Pheidole_sp.E               ----CG-------------------------------TATAATC--GCGT 690
Pheidole_sp.B               ------------------------------------CGTCGTC--GTCG 649
Pheidole_pieli              TCTCTCTCTCTCTTCGACG-TCTCTCT---------CCGTGATC--GCGT 746
Pheidole_nodifera           ---------------------------------------TTCTCTCGACT 816
Pheidole_sp.C               ---------------------------------------TCCTCCAACCG 688


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               TGGAAGGAACGCCC---CGTC-----CGTCGTC-GTCGTCGGCGTCGTAG 861
Pheidole_sp.D               TGGAAGGAACGCCC---CGTC-----CGTCGTC-GTCGTCGGCGTCGTAG 861
Pheidole_planifrons         TGGAAGGAACGCCCGTCCGTCGTCGTCGTCGTC-GTCGTTGGCGTCGTAG 834
Pheidole_yeensis            TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTC-GTCGTC--CGTCGTCG 777
Pheidole_plagiaria          TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCG------------------- 750
Pheidole_bugi               TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 769
Pheidole_sp.F               TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 732
Pheidole_inornata           TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 731
Pheidole_sp.E               TGGAAGGAACGCCCGAGCGTC------GTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCG 734
Pheidole_sp.B               TAGTAGTAGT-------CGTC------GTAGTA----------------- 669
Pheidole_pieli              TGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTTGTCGTTGTC-GTCGTCGTCGTCGTCG 795
Pheidole_nodifera           GGTCTCCTCTGTCT-TGCGTC-----TCTCG------------------- 841
Pheidole_sp.C               CGAGATATATCTCC-TCCGTC-----CGTCG------------------- 713
```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CC--CGTCGC-----GTCGGGAACCGCGCGCGCCGGGGTGCAAAGGAGAC 904
Pheidole_sp.D               CC--CGTCGC-----GTCGGGAACCGCGCGCGCCGGGGTGCAAAAGAAAC 904
Pheidole_planifrons         GCGTCGTAGCCCGTCGTCGGGAACCGCGC---CCGGGGTGTAAAGGAAAG 881
Pheidole_yeensis            TCGCCGTCGT-------CGGGAACAGC-------GGGGTGTAA-----AC 808
Pheidole_plagiaria          ---------------CCGTCGTCGCCGGGAACCGGGGTGTGT-----A- 778
Pheidole_bugi               TCGTCGTCGTCGT---CCGGCGTCGTCGGTAACCGGGGTGTGT-----AG 811
Pheidole_sp.F               TCGTCGTCGTC---------CGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGAGG 773
Pheidole_inornata           TCGTCGTCGTCGT---CGTCCGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGAGG 778
Pheidole_sp.E               TCGTCGTC------------CGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGAGG 772
Pheidole_sp.B               ------------------GTCGTCGTCGGTGACCGGGGTGTAA------- 694
Pheidole_pieli              TCGTCGTCGTCGT-CGTCGTCGTCGTCGGGAACCGGGGTGTAAA------ 838
Pheidole_nodifera           ----------------------CTCCGGTAAATCGCGTTGGAA------- 862
Pheidole_sp.C               ----------------------CGC-----GATCGCGTTGGAA------- 729

Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               AACGGGCGTGCGTCGTCGCGCGGAGGTCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGA 954
Pheidole_sp.D               AACGGGCGTGCGTCGTCGCGCGGAGGTCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGA 954
Pheidole_planifrons         AACGGGCGTGCGTCGTCACGCGGAGGGCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGA 931
Pheidole_yeensis            AGCGC-----CGGTGTCACG--------GAAAGAGCGAGCGAGCGAGCGC 845
Pheidole_plagiaria          AACGG--------TGTCACG-GAAGGTCGAGCGAGCGAGCGAGCGAG--- 816
Pheidole_bugi               AACGG--------TGTCACG-GAAGG-CGAGCGAGCGAGCGAGCGGGA-- 849
Pheidole_sp.F               GGCAGCACCGTG-CGTGTCACGGAGGGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGCGA 822
Pheidole_inornata           GGCAGCACCGTG-CGTGTCACGGAGGGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGCGA 827
Pheidole_sp.E               GGCAGCACCGTG-CGTGTCACGAAGGGCGAGCGAGC--------GGGCGA 813
Pheidole_sp.B               --CGG--------TGTCACG--------GAGAGAGCGAGC---------- 716
Pheidole_pieli              AACGG--------TGTCACG----------GAGAGCGT------------ 858
Pheidole_nodifera           -------------------G------------GAACGCGC---------- 871
Pheidole_sp.C               -------------------G------------GAACGC------------ 736

Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               --GCGAGCGGGACGAACGGGT-AACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTT 1001
Pheidole_sp.D               --GCGAGCGGGACGAACGGGT-AACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTT 1001
Pheidole_planifrons         --GCGGGACGAACG---GGGT-AACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTT 975
Pheidole_yeensis            --GCGGGACGGACG-----GT-ACACGCGTAACAGCGCGGTACC-CGGTT 886
Pheidole_plagiaria          ---CGGGACGAACG-----GT-AC--GCGTAACA--GCGGTATC---GTT 850
Pheidole_bugi               ---CGGAACGGACG-----GT-AC--GCGTAACAA-GCGGTATC---GTT 884
Pheidole_sp.F               GAGCGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGT-TAATC 871
Pheidole_inornata           AAGCGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGT-TAATC 876
Pheidole_sp.E               GAGCGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGT-TAATC 862
Pheidole_sp.B               -----------CCG-----GTAAAGGG--------------GTC------ 730
Pheidole_pieli              ----------AACG-----GCTCCTCCCGTGGTCCCCTCTAACC------ 887
Pheidole_nodifera           -----AACCGAGCC-----GTCGTCGTCGT-------CGTCGTC------ 898
Pheidole_sp.C               -------CCGAGC------GTCGTCGTC---------------------- 751

Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CGGTAAGACCCCGTCGTCGTCGTCCCTATCGCTGTAACGGAGCTCT--CC 1049
Pheidole_sp.D               CGGTAAGACCCCGTCGTCGTCGTCTCTATCGCTGTAACGGAGCTCT--CC 1049
Pheidole_planifrons         CGGTAAGACCCCGTCGTCGTC---TCTATCGCTGTAACGGAGCTCT--CC 1020
Pheidole_yeensis            CGGT-------CGCCGTCGTC---TCTATCGC-GTA-CAGAGAGCT--CT 922
Pheidole_plagiaria          CGGT------CCCCCGTCGTC-----CATCGC-GTA-CAGCGCTCCGCTC 887
Pheidole_bugi               CAGT------C-------GTC-----CATCGC-GTA-CAGCGCTCCGCTC 914
Pheidole_sp.F               CGTTCGCGGTCCGCCGTCGTC-----CGTCGC-GCAAAACTGCGCGCGCT 915
Pheidole_inornata           CGTTCGCGGTCCGCCGTCGTC-----CGTCGC-GCAAAACTGCGCGCGCT 920
Pheidole_sp.E               CGTTCGCGGTCCGCCGTCGTC-----CGTCGC-GCAAAACTGCGCGCGCT 906
Pheidole_sp.B               ----------------------------TCGC----------CTCT--CT 740
Pheidole_pieli              ----------------------------CCGCGGAA-------------- 895
Pheidole_nodifera           ------------GTCGTCGTC------GTCGT----------------CG 914
Pheidole_sp.C               ----------------------------CGT----------------CG 756
```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

```
Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CTCTCGCGTACGCGCAC-GGCCTTCTCACCCCGCGTGTGTGTGTGTACAC 1098
Pheidole_sp.D               CTCTCGCGTACGCGCAC-G-CCTTCTCACCCCGCGTGTGTGTGTGTACAC 1097
Pheidole_planifrons         CTCTCGCGTACGCGCAC-GGCCTTCTTACCCCGCGCGT------GTACAC 1063
Pheidole_yeensis            CTCGCGTGTACACGCA-------GCTTACCCCGCGAAC-----------C 954
Pheidole_plagiaria          CCCTCGTGCACGCGCACAGGCTTGCCTACCTACCGCCCCAACGGCGCGCG 937
Pheidole_bugi               CCCTCGTGCACGCGCACAGGCTTGCCTACCTACCGCCCCACCGGCGCGCG 964
Pheidole_sp.F               CTCTCG-GTGTACGCCACACCGCTGCTGCTCTACCCC------------G 952
Pheidole_inornata           CTCTCG-GTGTACGCCACGCCGCTGCTGCTCTACCCC------------G 957
Pheidole_sp.E               CTCTCG-GTGTACGCCACACCGCTGCTGCTCTACCCC------------G 943
Pheidole_sp.B               CTCTCGTGT--------------CCTTACCCCGCGTT------------- 763
Pheidole_pieli              CCTTCGTACGCACGTACGACACGCACGGCTCTTCGGCT------------- 933
Pheidole_nodifera           TCGTCGTCGTCGC----------CGTTGCAGCGCACCT------------ 942
Pheidole_sp.C               TCGTCGTCGTCGT----------CGCGAAAGCGCGC------------- 782


Myrmecia_croslandi_28S      ------------------------------------------------
Pheidole_sp.A               CGTGCGTACGGCCGCTACCGCCGCTACTCGCTACCACTACTACA-CGACG 1147
Pheidole_sp.D               CGTGCGTACGGCCGCTACCGCCGCTACTCGCTACCACTACTACA-CGACG 1146
Pheidole_planifrons         CGCGCGTACGGCTGCTACCGCTACT---------CGCTACTACA-CGACG 1103
Pheidole_yeensis            TTGGCGAACGGTTAGACGCGACACT---------CCTATCTACA-CGACG 994
Pheidole_plagiaria          CGAACCTTCGTACGGTA-CGCGACGAGACACT-CCTCTCTAACA-CGACG 984
Pheidole_bugi               CGAACCTTCGTACGGTA-CGCGACGAGACACT-CCTCTCTAACA-CGACG 1011
Pheidole_sp.F               CGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCG--ACG-CTCTTTCTACA-CGACG 998
Pheidole_inornata           CGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCGCGACG-CTCTTTCTACA-CGACG 1005
Pheidole_sp.E               CGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCG--ACG-CTCTTTCTACA-CGACG 989
Pheidole_sp.B               ---ACCTTCGTAC----CCGCCACGCACGGCTCTCTACTCTACT-CGACG 805
Pheidole_pieli              ---ATATATATATATATACCATATA----TATACCATACACA-CGACG 975
Pheidole_nodifera           --CGCTGTAACGCCGCGATGTCACACA------TTTTACGCACATCGACG 984
Pheidole_sp.C               ------------------------------------AAACACA-CGACG 794

                                                <-----------28S--------------
Myrmecia_croslandi_28S      --------------------ACCCGCTGAATTTAAGCATATTACTAAGCG 30
Pheidole_sp.A               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1197
Pheidole_sp.D               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1196
Pheidole_planifrons         ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1153
Pheidole_yeensis            ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1044
Pheidole_plagiaria          ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1034
Pheidole_bugi               ACCTCAGAGCAGGTGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1061
Pheidole_sp.F               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1048
Pheidole_inornata           ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1055
Pheidole_sp.E               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1039
Pheidole_sp.B               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 855
Pheidole_pieli              ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1025
Pheidole_nodifera           ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 1034
Pheidole_sp.C               ACCTCAGAGCAGGCGAGATCACCCGCTGAATTTAAGCATATTATTAAGCG 844
                                                ********************** ******

                             ----28S----------->
Myrmecia_croslandi_28S      GAGGAAAAGAAACTAACCAG 50
Pheidole_sp.A               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1217
Pheidole_sp.D               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1216
Pheidole_planifrons         GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1173
Pheidole_yeensis            GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1064
Pheidole_plagiaria          GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1054
Pheidole_bugi               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1081
Pheidole_sp.F               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1068
Pheidole_inornata           GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1075
Pheidole_sp.E               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1059
Pheidole_sp.B               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 875
Pheidole_pieli              GCGGAAAAGAAACTAACCAG 1045
Pheidole_nodifera           GAGGAAAAGAAACTAACCAG 1054
Pheidole_sp.C               GAGGAAAAGAAACTAACCAG 864
                            * ******************
```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

```
>Pheidole_bugi_ITS2_981 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCGAAGACTGCTTG
CGCGCCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCGTG
ACGAGCGCGCGCGAGACGCGCGCGCCCCCGAGTCCTCGCGAATCGTGGATGAACCGATCC
ACGACGAGGGAGGAGGAGGAGAGGCCCGCCGTCTCGCGCCGCTCTGGGCGTCGTCCGAAA
TGAACGAGGAGGACGACCGGAGAGGCGTTAACGCGGTTTCGCGCCGCTGCCGCCGCCGCC
CGGAGATCAACGGCGTACAGGCCGTGATCTCGCGGAGCGGCGCGGGCGCGCGCCCACCGC
CGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGTTGGATCGCGCGAGCCGACCGCGTGTCCGA
GTCCACGGAGCTCCCTCTCGAGAAAAGGCGAGAGGGAATTACACGGGACCGGCGCGTCGT
AGTCGTGTACTCGCGCGCGATCGAGACGATCGAGCGGACGCGGAAAGATCGTGTCCGCGT
CTCGATTCCACGCCTCGTCCTGCGCGGTCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAGAGGAGGAA
CGAGAACAGGAAGAGACACGAGAGAGAGCCCCGTTCTCTCTCGTCTTCGACGTTTCTCTC
TCTCCGTAATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCGT
CGTCGTCGTCGTCCGGCGTCGTCGGTAACCGGGGTGTGTAGAACGGTGTCACGGAAGGCG
AGCGAGCGAGCGAGCGGGACGGAACGGACGGTACGCGTAACAAGCGGTATCGTTCAGTCG
TCCATCGCGTACAGCGCTCCGCTCCCCTCGTGCACGCGCACAGGCTTGCCTACCTACCGC
CCCACCGGCGCGCGCGAACCTTCGTACGGTACGCGACGAGACACTCCTCTCTAACACGAC
GACCTCAGAGCAGGTGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 3 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันบ้าน (*Pheidole bugi*) ความยาว 981 bp

```
>Pheidole inornata_ITS2_975 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCGTACCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCGTGTGAC
GAGCGCGCGCGAGACGCGCCTAAACCCCCCCGAGTCCTCGCGAATCGTGGATGAACCGAT
CCGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGAGGCCCGCCGTCTCGCGCCGCCCTGGGC
GTCGTCCGAAATGAACGAGGAGGACGACCGGAAAGAGGCGTTAACGCGGTTTCGCCGCCG
CCGCCGCCCGGAGATCAACGGCGTACAGGCCGCGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGCCCA
CCGCCGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGATCGCGCGAGCCGA
CCGCGTGTCCGAGTCCACGGAGGCTCCCTCTCGAGAAAAGACGAGAGGGAATTACACGGG
ACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCGAGGGACGCGGAAAGAGC
GTCCTCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCCTGCGCGGTCGCGCGCGCGCGTGCGACG
GAGAGGAGGAACACGCTCTCTCTCCGTATAATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGT
CGTCCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCCGTCGTCGGGAAACGGGGTGTA
ACGAGAGGGGCAGCACCGTGCGTGTCACGGAGGGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGCGAAAG
CGAGCGGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGTTAATCCGTTCGCGGTCCGC
CGTCGTCCGTCGCGCAAAACTGCGCGCGCTCTCTCGGTGTACGCCACGCCGCTGCTGCTC
TACCCCGCGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCGCGACGCTCTTTCTACACGACGACCTC
AGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 4 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันกระโดด (*Pheidole inornata*) ความยาว 975 bp

```
>Pheidole nodifera_ITS2_954 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCGTACCATGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCCGGGAC
GAGAGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGAGACGCGGCCCCGAATCCCCGCCGAATCGTGGA
TGAAACCGATCTCACGACGAAGGCGGTAGGAGTAGAGGGGCCCCGCCGTCTCGCGCCGCC
GCCGCCGCCGCCGCGTGGGGCGTCGTCCGAAATGATGAAACGAGGAGGGGACGACCGGTG
AAGGAAACGGCGTTAACGCGGTTTCGCGTCGCCGCCGCCGCCCGGGGATCTCGACATCGA
CACGGCGTATCCGGCCGTGTCGGGGGGGTCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGCCCACCGCGCC
GCGCGCGATCCGCGCAGGAGGAAATGCGAGGGTGGATCGCGCGAGCCGACCGCGCGTCCG
AGTCCACGGAGTCGTGACCCTCTCTCGCCTCGTAGAGGAGAGCGAGAGAGAGGGTGTTAC
ACGCACGGGACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGACGAGGTGACGGGGGGCGGCA
CGACGCACACGGAACGAGTGTGCGCGTGTCTCTCAGCGCCTCGATTCCACGCCCCGCGTC
CTGTGCGGGGTCGCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAAAAGAGGAAGACGCGAAGACGGAG
AGACGAGAGAGAGAAGAGAAGGATGCGTTCTCTTCTTCTCTCGACTGGTCTCCTCTGTCT
TGCGTCTCTCGCTCCGGTAAATCGCGTTGGAAGGAACGCGCAACCGAGCCGTCGTCGTCG
TCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGCCGTTGCAGCGCACCTCGCTGTAA
CGCCGCGATGTCACACATTTTACGCACATCGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 5 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันครีบขน (*Pheidole nodifera*) ความยาว 954 bp

```
>Pheidole_pieli_ITS2_945 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCCGCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTTCGCCCGGTGT
AGGAGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGAGACGCGGCCCCCCGAATCCTCGCGAATCGTGGAT
GAACCGATCCACGACGAGGGAGGAGGAGGAGAGTGGCCCCGCCGTCTCGCGCCGCGCGCG
CCCATCCCCCTGGGCGTCGTCCGAAATGAACGAGGAGGACGACCGGAGAGGCGTTAACGC
GGTTTCGCGCCGCCCGTCGCCCGGAGAGACGAACGGCGTACCGGCCGTTCCGATCTCGCG
GAGCGGCGCGCGCGCGCCCACCGCCGCGTACGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGGTGGAT
CGCGCGAGCCGACCGCGTGTCCGAGTCCCACGGAGCTCCCTCTCGACGAAAAGGAGAGAG
GGATTGTACGGGACCGGCGCGTCGTTTGTCGTGTACTCGCGCGTCGAGGTGACGGAGACA
CGGAAAAAGTGTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGTCCTGCGCGATCGCGCGCGCGCGCGTG
CGACGGAGAGGGAGGAACGAACGAACGAACGAGAGAAGAGAGGATGCCTGCCATTCCATC
TCTCTCTCTCTTCGACGTCTCTCTCCGTGATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTT
GTCGTTGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGGGAACCGG
GGTGTAAAAACGGTGTCACGGAGAGCGTAACGGCTCCTCCCGTGGTCCCCTCTAACCCCG
CGGAACCTTCGTACGCACGTACGACACGCACGGCTCTTCGGCTATATATATATATATATA
CCATATATATACCATACACACGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 6 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันหัวแบน (*Pheidole pieli*) ความยาว 945 bp

```
>Pheidole_plagiaria_ITS2_954 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCGCCGTACCTGGCGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCGTG
ACGAGCGCGCGCGAGACGCGCGCGCCCCCGAGTCCTCGCGAATCGTGGATGAACCGATCC
ACGACGAGGGAGGAGGAGGAGAGGCCCGCCGTCTCGCGCCGCTCTGGGCGTCGTCCGAAA
TGAACGAGGAGGACGACCGGAGAGGCGTTAACGCGGTTTCGCGCCGCCGCCGCCGCCGCC
CGGAGATCAACGGCGTACAGGCCGTGATCTCGCGGAGCGGCGCGGGCGCGCGCCCACCGC
CGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGTTGGATCGCGCGAGCCGACCGCGTGTCCGA
GTCCACGGAGCTCCCTCTCGAGAAAAGGCGAGAGGGAATTACACGGGACCGGCGCGTCGT
AGTCGTGTACTCGCGCGCGATCGAGACGATCGAGCGGACGCGGAAAGATCGTGTCCGCGT
CTCGATTCCACGCCTCGTCCTGCGCGGTCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAGAGGAGGAA
CGAGAACAGGAAGAGACACGAGAGAGAGCCCCGTTCTCTCTCGTCTTCGACGTTTCTCTC
TCTCCGTAATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTCGCCGTCGTCGCCGGGAACCGG
GGTGTGTAAACGGTGTCACGGAAGGTCGAGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGACGAACGGTA
CGCGTAACAGCGGTATCGTTCGGTCCCCCGTCGTCCATCGCGTACAGCGCTCCGCTCCCC
TCGTGCACGCGCACAGGCTTGCCTACCTACCGCCCCAACGGCGCGCGCGAACCTTCGTAC
GGTACGCGACGAGACACTCCTCTCTAACACGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันร่องโค้ง (*Pheidole plagiaria*) ความยาว 954 bp

```
>Pheidole_planifrons_ITS2_1073 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCCGTAATCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTTTTCGCCCGTGA
ACGGAGAGCGCGCGCGAGACGCGCGCCCCTCGCGAATCCTCGCGAATCGTGGAAGGAACC
GGATCCACGACGAGGGAGGAGGAGCGGGAGAGGCCCGCGCCGTCTCGCGCCGCCCTTGGT
GGGCGTCGTCCGAAATGAACGAGGAGGACGTTATATAACGGAGAGGCGTTAACGCGGTTT
CGCGCCGCCGCCGCCCGGGGATCGAGAACGCGCCCGTATTTACGGGCCGTGATCCCGCGG
AGCGGCGCGCGCGCCCACCGCCGCGTGCGATCCGCGCAGGAGAAAAGGAGGCGATGGGAT
CGCGCGAGCCGACCGCGTGTCCGAGTCCACGGAGCTCCCTCTCGAGGAAAAAGGCGAGAG
GGATCGTAAGTAAACGGGACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGCGATAC
GGGGGAGAAAAGAGACACGCGCGGAAAGAGAGCCGTGTGTCTCCCCCGCCTCGATTCCAC
GCCTCGTCCTGCGGGGTCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAGAGATCGAGAGAGGAACG
AGGAACAGGGAAGAGAGAGAGGATGCGTTCTCTCTCTTCGACGTCTCCTCTCTCTCTGTA
AAACCGTGATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCGTTGGCGTC
GTAGGCGTCGTAGCCCGTCGTCGGGAACCGCGCCCGGGGTGTAAAGGAAAGAACGGGCGT
GCGTCGTCACGCGGAGGGCGAGCGAGCGTGCGAGCGAGCGAGCGGGACGAACGGGGTAAC
GCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTTCGGTAAGACCCCGTCGTCGTCTCTATCGCTGTAAC
GGAGCTCTCCCTCTCGCGTACGCGCACGGCCTTCTTACCCCGCGCGTGTACACCGCGCGT
ACGGCTGCTACCGCTACTCGCTACTACACGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 8 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันหน้าแบน(*Pheidole planifrons*) ความยาว 1,073 bp

```
>Pheidole_yeensis_ITS2_964 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCGTACCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCGTGACGA
GCGCGCGCGAGACGCGCGCCCCCGAGTCCTCGCGAATCGTGGATGGAACCGATCCGCGAC
GAGGGAGGAGGAGGAGAGGCCCGCGCCGTCTCGCGCCGCCCTTGGGCGTCGTCCGAAATG
AACGAGGAGGACGACCGGAGAAGAGGCGTTAACGCGGTTTCGCGCCGCCGCCGCCGCCGC
CGCCGCCCGGGGATCAACGGCGTACAGGCCGTGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGAGCGC
GCGCCAACCGCCGCGTACGATCCGCGCAGGAGGAAAGTAGGTGTTGGATCGCGCGAGCCG
ACCGCGTGTCCGAGTCCACGGAGCTCCCTCTCGAGAAAAGGCGAGAGGGATTTAAAGATA
CGGGACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGACGAGGTGACAAGAGAGTGACACGCG
CGGAAAAGAGCGTCGTGTCCGCGCCTCGATTCCACGCCTCGTCCTGCGCGGTCGCGCGCG
TGCGACGGAGAGGAGTAACGAGAATAGGAAGAGAGAGAGGATGCGTTCTCTCTCTTCGAC
GTCTCTCTCTCTCTTCGTAATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTCGTCGTCGTCC
GTCGTCGTCGCCGTCGTCGGGAACAGCGGGGTGTAAACAGCGCCGGTGTCACGGAAAGAG
CGAGCGAGCGAGCGCGCGGGACGGACGGTACACGCGTAACAGCGCGGTACCCGGTTCGGT
CGCCGTCGTCTCTATCGCGTACAGAGAGCTCTCTCGCGTGTACACGCAGCTTACCCCGCG
AACCTTGGCGAACGGTTAGACGCGACACTCCTATCTACACGACGACCTCAGAGCAGGCGA
GATC
```

ภาพผนวกที่ 9 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมดคันจีน(*Pheidole yeensis*) ความยาว 964 bp

```
>Pheidole_sp.A_ITS2_1117 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCCGTAACCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTTTTCGCCCGTCA
ACAGAGAGAGAGCGCGCGCGAGACGCTCGCCCCTCGCGAATCCTCGCGAATCGTGGTAGG
AACCGGTCCACGACGAGGGAGGAGGAGGAGAGGCCCGCGCCGTCTCGCGCCGCCCTTGGT
GGGCGTCGTCCGAAATGAGAACGAGGAGGACGTTACGAACGGAGAGGCGTTAACGCGGTT
TCGCGCCGCCGCCGCCCGGGGATCGAGAACGCGCGCCCGTGTACACGTTTACGGGCCGTC
GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCCCACCGCCGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGG
AGGCGATGGGATCGCGCGAGCCGACCGCGTGTCCGAGTCCACGACGGAGCTCCCTCTCGA
GGAAAAAAGCGAGAGGGATCGCAAGTGAACGGGACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGC
GCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGCGGAAAGAGAGCCGTGTCTCCCCC
GCCTCGATTCCACGCCTCGTCCTGCGGGGTCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAAATCG
AGAGAGAGGAGGAGGAACACGAGGAAACAGGGAAGAGAGAGGAGGATGCGTTCTCTCTCT
TCGACGTGTCTCCTCTCGGCTCTCTCGGCGTAAGAACCGTGATCTCGCGTTGGAAGGAAC
GCCCCGTCCGTCGTCGTCGGCGTCGTAGCCCGTCGCGTCGGGAACCGCGCGCGCCGG
GGTGCAAAGGAGACAACGGGCGTGCGTCGTCGCGCGGAGGTCGAGCGAGCGTGCGAGCGA
GCGAGCGAGCGGGACGAACGGGTAACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTTCGGTAAGAC
CCCGTCGTCGTCGTCCCTATCGCTGTAACGGAGCTCTCCCTCTCGCGTACGCGCACGGCC
TTCTCACCCCGCGTGTGTGTGTGTACACCGTGCGTACGGCCGCTACCGCCGCTACTCGCT
ACCACTACTACACGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 10 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.A ความยาว 1,117 bp

```
>Pheidole_sp.B_ITS2_775 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCGCCCCGTACCCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGCTCGCCCGTGACGA
GCGCGCGCGAGACGCGCGCCCCGAATCCTCGCGAATCGTGGATGAACCGATCCACGACGA
GGGAGGAGGAGAGGCCCGCCGTCTCGCGTCGCTCTGGGCGTCGTTCGAAATGATGAACGA
GGAGGACGACCGGAGAGAGGCGTTAACGAGGCGGTTTCGCGCCGCCGCGTCGCCCGGGGA
TCAACGGCGTATCCGGCCGTGTGTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCGCGCGCGTCCAC
CGCCGCGTACGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAGGCGTTGGATCGCGCGAGCCGACCGCGCG
TCCGAGTCCACGGAGGAGGTCTCCCTCTCGAGAAGGAGAGGGACGATCGTACGGGACCGG
CGCGTTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTATGACAAGAGAGACACGGAAAAAGTGT
GTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGTCCTGAGCGCCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGT
AGTAGTAGTCGTCGTAGTAGTCGTCGTCGGTGACCGGGGTGTAACGGTGTCACGGAGAGA
GCGAGCCCGGTAAAGGGGTCTCGCCTCTCTCTCTCGTGTCCTTACCCCGCGTTACCTTCG
TACCCGCCACGCACGGCTCTCTACTCTACTCGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 11 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.B ความยาว 775 bp

```
>Pheidole_sp.C_ITS_764 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCGTACCCTGGGCGCGCGCCCACGAGCGATCGTTGGACGTTCGCCCGTTGGAC
GAGCGCGCGCGCGAGACGCGGCCCCCCCCCCCCCGAGTCCTCTCGAATCGTGGATGAACC
GATCCACGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGAAGGAGGGGTCCGCCGTCTCGCGCGCC
GTCCTGGGCGTCGTCCGAAATGAACGAGGAGGACGACCGGAGAGGCGTTAACGCGATTAC
GCGCCGCCGCCCGGAGATCAACGGCGCTACCGGCCGTGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCG
CGATCCGCGCAGGAGGAAAGCGGAGGCTGGAGAGCGCGCGAGCCGACCGCGCGTCCGAGT
CCACGGAGCTCCCCCATCGTTCTAAGAGGATGGGAGAGATTATATATATACGGGACCGGC
GCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGAGGGCGAGAGAGTAAGAGTCTCCGCCGCCT
CGATTCCACGCCCTCGTCCTGCGCGTCGTGTGCGACGGAGCGGGGAGGAACGCGGAGGAG
GAGGGGGAGAGAGAACGCAAGCTCTCCTCCTCCAACCGCGAGATATATCTCCTCCGTCCG
TCGCGCGATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCGTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCGTC
GCGAAAGCGCGCAAACACACGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 12 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.C ความยาว 764 bp

```
>Pheidole_sp.D_ITS2_1116 p
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCCGTAACCTGGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTTTTCGCCCGTCA
ACAGAGAGAGAGCGCGCGCGAGACGCTCGCCCCTCGCGAATCCTCGCGAATCGTGGTAGG
AACCGGTCCACGACGAGGGAGGAGGAGGAGAGGCCCGCGCCGTCTCGCGCCGCCCTTGGT
GGGCGTCGTCCGAAATGAGAACGAGGAGGACGTTACGAACGGAGAGGCGTTAACGCGGTT
TCGCGCCGCCGCCGCCCGGGGATCGAGAACGCGCGCCCGTGTACACGTTTACGGGCCGTC
GTGATCCCGCGGAGCGGCGCGCGCGCCCACCGCCGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGG
AGGCGATGGGATCGCCCGAGCCGACCGCGTGTCCGAGTCCACGACGGAGCTCCCTCTCGA
GGAAAAAGGCGAGAGGGATCGCAAGTGAACGGGACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGC
GCGGCGAGGCGATACGGGGGAGAAAAGAGACACGCGCGGAAAGAGAGCCGTGTCTCCCCC
GCCTCGATTCCACGCCTCGTCCTGCGGGGTCTCGCGCGCGCGCGCGTGCGACGGAGATCG
AGAGACAGGAGGAGGAACACGAGGAAACAGGGAAGAGAGAGGAGGATGCGTTCTCTCTCT
TCGACGTGTCTCCTCTCGGCTCTCTCGGCGTAAGAACCGTGATCTCGCGTTGGAAGGAAC
GCCCCGTCCGTCGTCGTCGTCGGCGTCGTAGCCCGTCGCGTCGGGAACCGCGCGCGCCGG
GGTGCAAAAGAAACAACGGGCGTGCGTCGTCGCGCGGAGGTCGAGCGAGCGTGCGAGCGA
GCGAGCGAGCGGGACGAACGGGTAACGCTGTAACGGAGCGTTATCGTCGTTCGGTAAGAC
CCCGTCGTCGTCGTCTCTATCGCTGTAACGGAGCTCTCCCTCTCGCGTACGCGCACGCCT
TCTCACCCCGCGTGTGTGTGTGTACACCGTGCGTACGGCCGCTACCGCCGCTACTCGCTA
CCACTACTACACGACG
ACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 13 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.D ความยาว 1,116 bp

```
>Pheidole sp.E_ITS2_959 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCGTACCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCGTGTGAC
GAGCGCGCGCGAGACGCGCCTAAACCCCCCCCGAGTCCTCGCGAATCGTGGATGAACCGAT
CCGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGTGAGGCCCGCCGTCTCGCGCCGCCCTGGGC
GTCGTCCGAAATGAACGAGGAGGACGACCGGAAAGAGGCGTTAACGCGGTTTCGCCGCCG
CCCGCCGCCCGGAGATCAACGGCGTACAGGCCGCGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGCCC
ACCGCCGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGATCGCGCGAGCCG
ACCGCGTGTCCGAGTCCACGGAGGCTCCCTCTCGAGAAAAGACGAGAGGGAATTACACGG
GACCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCGAGAGACGCGGAAAGAG
CGTCCTCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCCTGCGCGGTCGCGCGCGCGCGCGTGCG
ACGGAGAGGAGGAACACGCTCTCTCTCCGTATAATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGT
CGTCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCGTCCGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAGA
GGGGCAGCACCGTGCGTGTCACGAAGGGCGAGCGAGCGGGCGAGAGCGAGCGGAACGGGA
CGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGTTAATCCGTTCGCGGTCCGCCGTCGTCCGTCGCG
CAAAACTGCGCGCGCTCTCTCGGTGTACGCCACACCGCTGCTGCTCTACCCCGCGAACCT
TCGTACGGGTACGACACGCGACGCTCTTTCTACACGACGACCTCAGAGCAGGCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 14 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.E ความยาว 959 bp

```
>Pheidole_sp.F_ITS2_968 bp
CGGATACAATTCCCGGACCACGCCTGGCTGAGGGTCGTTTAAGTAACCAAAGACTGCTTG
CGCGCCGCCGTACCTGGCGCGCGCGTACGAGCGATCGTTGGACGTGTTCGCCCGTGTGAC
GAGCGCGCGCGAGACGCGCCTAAACCCCCCCCGAGTCCTCGCGAATCGTGGATGAACCGAT
CCGCGACGAGGGAGGAGGAGGAGGAGGTGAGGCCCGCCGTCTCGCGCCGCCCTGGGCGTC
GTCCGAAATGAACGAGGAGGACGAACGGAAAGAGGCGTTAACGCGGTTTCGCCGCCGCCG
CCGCCCGGAGATCAACGGCGTACAGGCCGCGATCTCGCGGAGCGGCGCGCGCGCCCACCG
CCGCGTGCGATCCGCGCAGGAGGAAAGGAAGCGAGGAGGTTGGATCGCGCGAGCCGACCG
CGTGTCCGAGTCCACGGAGGCTTCCCTCTCGAGAAAAGACGAGAGGGAAATTACACGGGA
CCGGCGCGTCGTAGTCGTGTACTCGCGCGGCGAGGTGTTTCGAGAGACGCGGAAAGAGCG
TCCTCTCCGCCTCGATTCCACGCCTCGCGTCCTGCGCGGTCGCGCGCGCGCGCGTGCGAC
GGAAAGGAGAAACACGCTCTCTCTCCGTATAATCGCGTTGGAAGGAACGCCCGAGCGTCG
TCGTCCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGTCCGTCGTCGGGAAACGGGGTGTAACGAG
AGGGGCAGCACCGTGCGTGTCACGGAGGGCGAGCGAGCGAGCGAGCGGGCGAGAGCGAGC
GGAACGGGACGGTTAACGGCGCGCAACAGCGCCGGTTAATCCGTTCGCGGTCCGCCGTCG
TCCGTCGCGCAAAACTGCGCGCGCTCTCTCGGTGTACGCCACACCGCTGCTGCTCTACCC
CGCGAACCTTCGTACGGGTACGACACGCGACGCTCTTTCTACACGACGACCTCAGAGCAG
GCGAGATC
```

ภาพผนวกที่ 15 ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของมด *Pheidole* sp.F ความยาว 968 bp

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	8 กุมภาพันธ์ 2519
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดอุทัยธานี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต(ชีววิทยาประยุกต์) มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
	ประกาศนียบัตรวิชาชีพครู มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ครู คศ.1
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนกาญจนาภิเษกวิทยาลัย อุทัยธานี
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิทยาศาสตร์ ได้รางวัลที่ 3 ระดับภาคกลางและภาคตะวันออกปี พ.ศ.2543
	อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิทยาศาสตร์ ได้รางวัลที่ 2 ระดับภาคเหนือตอนล่างปี พ.ศ.2543
	เพชรสควค.จากสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี(สสวท.)ปี พ.ศ.2544
	ครูผู้อุทิศตนเพื่อพัฒนาการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ ได้รางวัลรองชนะเลิศระดับจังหวัดอุทัยธานี ปี พ.ศ.2544
	ครูแกนนำวิทยาศาสตร์ดีเด่นระดับจังหวัด ปี พ.ศ.2544
	ครูต้นแบบวิทยาศาสตร์ดีเด่นระดับจังหวัด ปี พ.ศ.2545
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนโครงการสควค. ปี พ.ศ.2539-2541
	ทุนวิจัยและพัฒนาสื่อการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ (สสวท.)ปี พ.ศ.2546
	ทุนโครงการ GE Project Guiding Light (GE-PGL) จาก GE Foundation โดยสถาบันการศึกษานานาชาติ(IIE) ร่วมกับสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี(สสวท.) ปี พ.ศ.2547-2549
	ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ปี พ.ศ.2549