

สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแมลงวันขาวยาวสกุล *Phacaspis* และสกุลใกล้เคียง
ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์

Phylogenetic Relationship of Long-Legged Flies between Genus *Phacaspis* and Closely Related
Genus in Peninsular Thailand, Brunei and Singapore

นัฐชา แก้วกระจ่าง (Natcha Kaewkrajang)* ดร.สิงโต บุญโรจน์พงศ์ (Dr.Singtoe Boonrotpong)**

บทคัดย่อ

ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแมลงวันขาวยาวในสกุล *Phacaspis* และสกุล *Ornamenta* ซึ่งถูกสันนิษฐานเบื้องต้นว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน โดยตัวอย่างของแมลงวันขาวยาวทั้งหมดจะถูกเก็บจากบริเวณป่าชายเลนของคาบสมุทรไทย บรูไน และสิงคโปร์ วิเคราะห์สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระดับโมเลกุลโดยใช้ยีนไซโทโครมออกซิเดส หน่วยย่อยที่หนึ่ง จากการศึกษาด้านวงศาวานวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลในการวิเคราะห์แบบ maximum likelihood พบว่า แมลงวันขาวยาวสกุล *Phacaspis* และสกุล *Ornamenta* เป็นวงศาวานเดียวกัน (monophyletic group) สำหรับการศึกษาระยะเวลาการเกิดแยกกันของชนิด (divergence time) พบว่าแมลงวันขาวยาวทั้ง 2 สกุล มีจุดกำเนิดในยุคอีโอซีนตอนปลาย และมีความหลากหลายในช่วงยุคไพลโอ-ไพลสโตซีน โดยอิทธิพลของการเพิ่มหยดของพื้นที่ป่าชายเลนมีบทบาทสำคัญต่อการแพร่กระจายของแมลงวันขาวยาวในคาบสมุทรไทย บรูไนและสิงคโปร์ ณ ช่วงเวลานั้น

ABSTRACT

The study of phylogenetic relationship of long-legged flies was focused on genus *Phacaspis* and closely related genus that was *Ornamenta*. All specimens of long-legged flies were collected from the mangroves in peninsular Thailand, Brunei and Singapore. The molecular phylogeny was analyzed based on cytochrome oxidase subunit I gene. Moreover, the phylogenetic tree was constructed using maximum likelihood analysis. The result revealed that long-legged flies genus *Phacaspis* and *Ornamenta* were monophyletic group. Furthermore, the estimating of divergence time indicated that *Phacaspis* and *Ornamenta* have arisen in late Eocene and it was diverse during Plio-Pleistocene periods. The influence of the mangrove expansion and fragmentation plays an important role to the distribution of long-legged flies in peninsular Thailand, Brunei and Singapore at that time.

คำสำคัญ: วงศาวานวิวัฒนาการ ยีนไซโทโครมออกซิเดสหน่วยย่อยที่หนึ่ง บรรพบุรุษร่วมกัน

Keywords: Phylogeny, Cytochrome oxidase subunit I gene, Monophyletic group

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

** อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทนำ

แมลงจัดเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายมากที่สุดในโลก อันเป็นผลมาจากความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้อย่างหลากหลายทั้งในน้ำและบนบก โดยแมลงในอันดับ Diptera ประกอบด้วย 188 วงศ์ ถือเป็นกลุ่มที่มีความโดดเด่นทั้งในแง่ของจำนวนชนิดและจำนวนตัว สำหรับแมลงวันขายาว (long-legged flies) ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Dolichopodidae ทั่วโลกสามารถพบได้มากกว่า 7,100 ชนิดในจำนวน 230 สกุล (Yang et al., 2006) ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่าการแพร่กระจายของแมลงวันขายาวในหลายประเทศ เช่น ประเทศบรูไน, สิงคโปร์, ฟิลิปปินส์, มาเลเซียรวมทั้งประเทศไทยและมีแนวโน้มที่จะพบความหลากหลายได้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในแต่ละปี

แมลงวันขายาวโดยทั่วไปสามารถพบได้ในแหล่งอาศัยที่มีความชื้นตั้งแต่บนบก แหล่งน้ำจืด ไปจนถึงหาดหิน หาดทรายรวมถึงพื้นที่โคลนของป่าชายเลน (Grootaert, Meuffels, 2004) แสดงให้เห็นว่าแมลงวันขายาวโดยเฉพาะกลุ่มที่พบตามชายฝั่งมีความสามารถในการปรับตัวได้ดีในระบบนิเวศที่มีการเปลี่ยนแปลงรุนแรงจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น ความเค็ม ของน้ำทะเลและปริมาณแสงแดด ดังนั้นแมลงวันขายาวในกลุ่มดังกล่าวจึงจัดเป็นกลุ่มที่มีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะแมลงวันขายาวในสกุล *Phacaspis* (Meuffels, Grootaert, 1988) ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่จำเพาะเจาะจงกับทางทะเลเท่านั้น และมีการแพร่กระจายในหลายประเทศของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย นอกจากนี้แมลงวันขายาวในสกุล *Ornamenta* จากประเทศบรูไน ซึ่งถูกสันนิษฐานว่าจะเป็นกลุ่มที่มีความใกล้ชิดกับแมลงวันขายาวในสกุล *Phacaspis* (*per obs*, Grootaert) ก็ถูกนำมาตรวจสอบเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเช่นเดียวกัน

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแมลงวันขายาวในสกุล *Phacaspis* และสกุล *Ornamenta* ในครั้งนี้จะมุ่งเน้นศึกษาในพื้นที่ป่าชายเลนของประเทศบรูไนและสิงคโปร์ รวมถึง 4 จังหวัดของคาบสมุทรไทย ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี, สตูล, กระบี่และพังงา ซึ่งเป็นตัวแทนทั้งจากชายฝั่งด้านอ่าวไทยและอันดามัน โดยการสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum likelihood จะถูกวิเคราะห์ในยีน Cytochrome oxidase subunit I ในไมโทคอนเดรีย รวมถึงการหาช่วงเวลาของการแยกกันระหว่างชนิด (Divergence time) จะถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี Neighbor-joining นอกจากนี้แมลงวันขาวยาวชนิด *Phacaspis mitis* ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์จะถูกนำมาวิเคราะห์ Haplotype network เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างประชากรและเพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือให้แก่สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree)

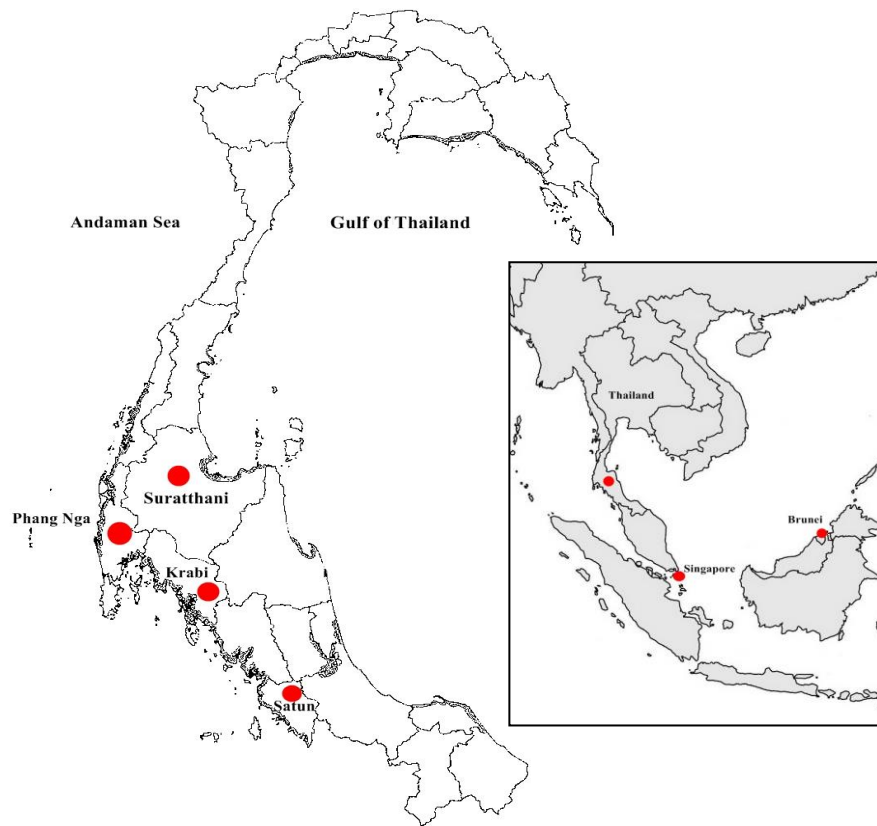
วัตถุประสงค์การวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแมลงวันขาวยาวในสกุล *Phacaspis* และสกุล *Ornamenta* ซึ่งคาดว่ามีความใกล้ชิดกัน ในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์

วิธีการวิจัย

การเก็บตัวอย่างแมลงวันขาวยาว

ตัวอย่างแมลงวันขาวยาวในสกุล *Phacaspis* และ สกุล *Ornamenta* ถูกเก็บจากพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศบรูไน, สิงคโปร์ รวมถึง 4 จังหวัดของคาบสมุทรไทย ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี, สตูล, กระบี่และพังงา (รูปที่ 1) โดยตัวอย่างของแมลงวันขาวยาวถูกเก็บด้วย 3 วิธี คือ การวางกับดักมุ้ง (Malaise trap), การใช้ขวดพลาสติกใส และการใช้สวิง (รูปที่ 2) ซึ่งตัวอย่างแมลงวันขาวยาวเพศผู้ที่ได้ถูกนำมาจัดจำแนกภายใต้กล้องสเตอริโอโดยใช้เอกสารการจัดจำแนกในระดับสกุลและชนิด (Grootaert, Meuffels, 2001) หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างแมลงวันขาวยาวในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์และแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพดีเอ็นเอ



รูปที่ 1 พื้นที่ศึกษาใน 4 จังหวัดของคาบสมุทรไทย ประเทศสิงคโปร์ และประเทศบรูไน
(ดัดแปลงจาก สนิท อักษรแก้ว, 2545)



รูปที่ 2 วิธีการเก็บตัวอย่างแมลงวันขยาขาว (2A) การวางกับดักมุ้ง
(2B) การใช้ขวดพลาสติกใส และ (2C) การใช้สวิง

การสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction

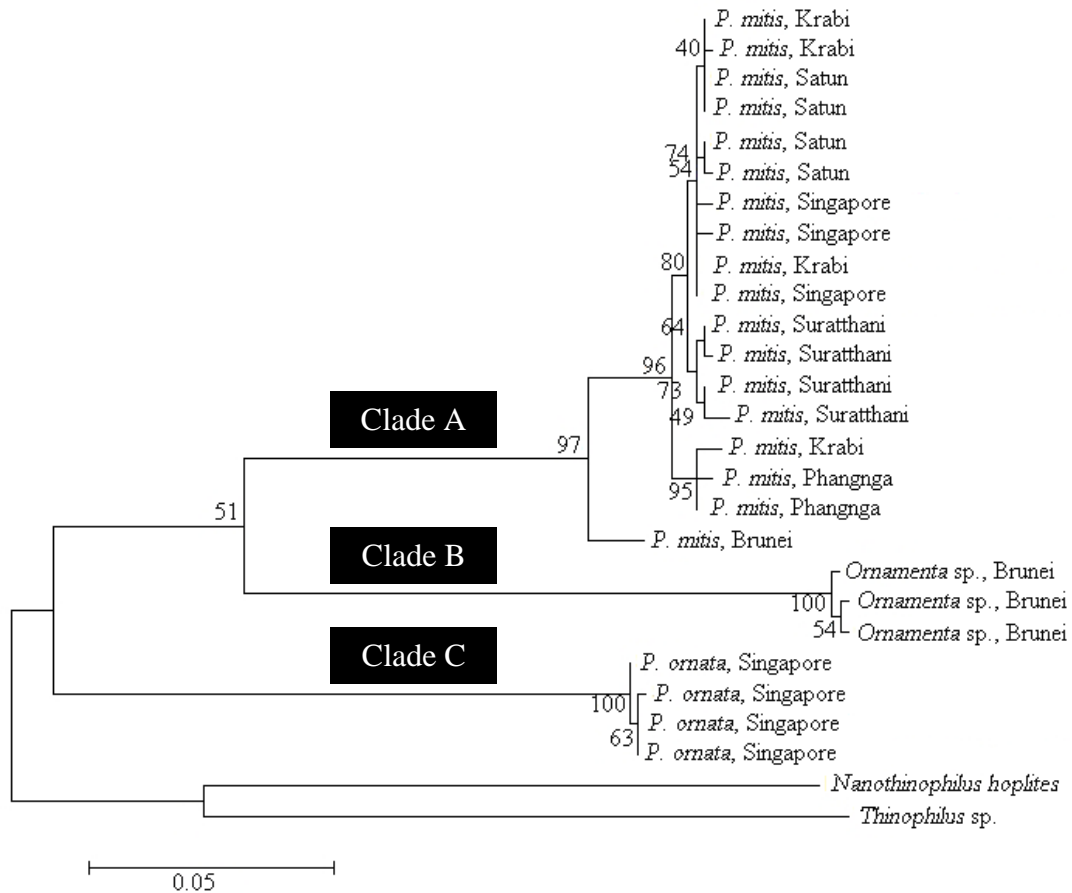
เนื้อเยื่อของแมลงวันขาขาวเพศผู้ถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอ (Beebe et al., 2005) หลังจากนั้นตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้ถูกเพิ่มปริมาณในยีน Cytochrome oxidase subunit I ด้วยไพรเมอร์ LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') และไพรเมอร์ HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACC AAAAATCA-3') (Folmer et al., 1994) โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอใช้อุณหภูมิ Initial denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ตามด้วย 40 รอบของ denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 60 วินาที annealing ที่ 48 องศาเซลเซียส นาน 60 วินาที extension 72 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที และ final extension ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (Folmer et al., 1994) นำผลผลิตของปฏิกิริยา PCR มาทำการตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอโดยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ที่มีความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมและการสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

ผลผลิตของ PCR ถูกส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท First BASE ประเทศมาเลเซีย จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปตรวจสอบความถูกต้องและเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นที่มีบันทึกในฐานข้อมูลด้วยการ BLAST ใน GenBank หลังจากนั้นลำดับนิวคลีโอไทด์ถูกนำมาจัดเรียงด้วยโปรแกรม BioEdit (Hall, 1999) และ การศึกษารูปแบบของ Haplotype network ถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม POPART (Leigh, Bryant, 2015) รวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการสร้างแผนภูมิต้นไม้ (Phylogenetic tree) แบบวิธี Maximum likelihood (ML) และการวิเคราะห์หาช่วงเวลาของการแยกกันระหว่างชนิด (Divergence time) ด้วยวิธี Neighbor-joining (NJ) ด้วยโปรแกรม MEGA6 (Tamura et al., 2013) สำหรับการคำนวณหาช่วงเวลาของการแยกกันระหว่างชนิดใช้ค่าพอสซิลของแมลงวันขาขาวสกุล *Thinophilus* ซึ่งมีค่าประมาณ 37.2-33.9 ล้านปีก่อน (Pollet et al., 2004) โดยการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมทั้งหมดใช้แมลงวันขาขาวชนิด *Nanothophilus hoplites* และ *Thinophilus* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความใกล้ชิดกับแมลงวันขาขาวในสกุล *Phacaspis* เป็น outgroup

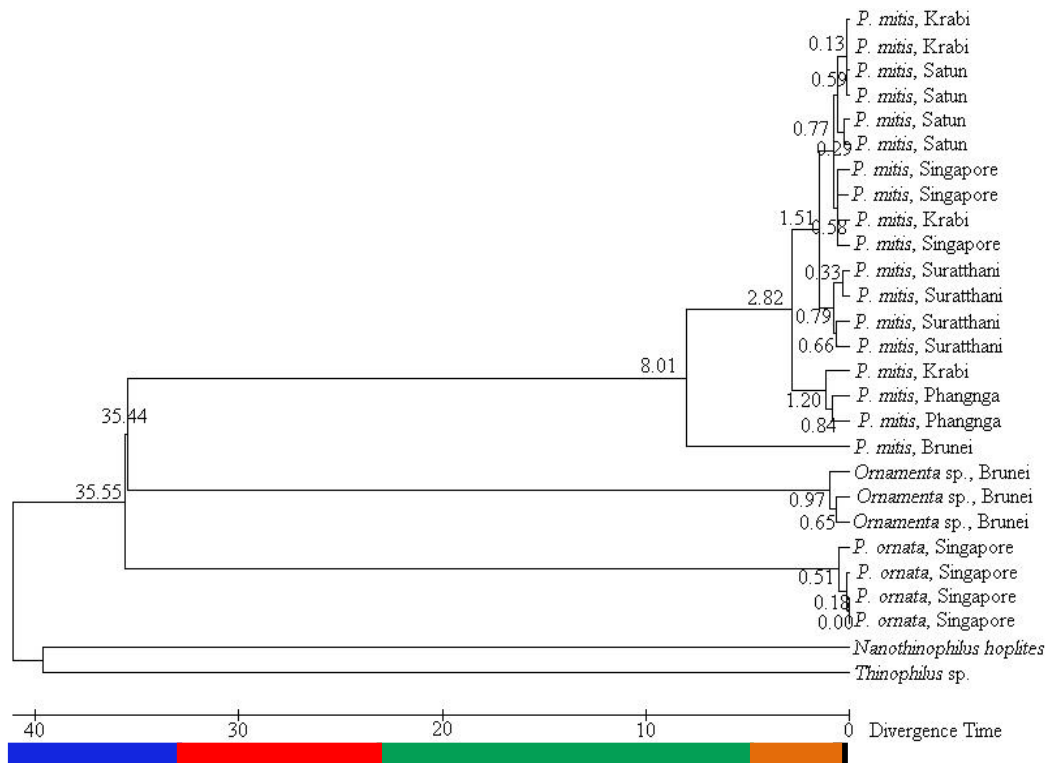
ผลการวิจัย

จากการสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแมลงวันขาขาวชนิด *Phacaspis mitis*, *P. ornata* และ *Ornamenta* sp. จำนวน 25 ตัวอย่างที่พบในคาบสมุทรมไทย, บรูไนและสิงคโปร์ พบว่าแมลงวันขาขาวทั้ง 3 ชนิดมีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแบบมีบรรพบุรุษร่วมกัน (monophyletic group) โดยถูกแยกออกเป็น 3 กลุ่มที่ชัดเจน ได้แก่ แมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis* จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี, สตูล, กระบี่และพังงา ของคาบสมุทรมไทยรวมถึงประเทศบรูไนและสิงคโปร์ถูกจัดอยู่รวมกันภายใน Clade A ในขณะที่แมลงวันขาขาวชนิด *Ornamenta* sp. จากประเทศบรูไนถูกจัดอยู่ภายใน Clade B และมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับแมลงวันขาขาวใน Clade A มากกว่า Clade C ซึ่งประกอบด้วยแมลงวันขาขาวชนิด *P. ornata* จากประเทศสิงคโปร์ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแบบ Maximum likelihood ของแมลงวันขาขาวที่พบในคาบสมุทรมไทย, บรูไนและสิงคโปร์

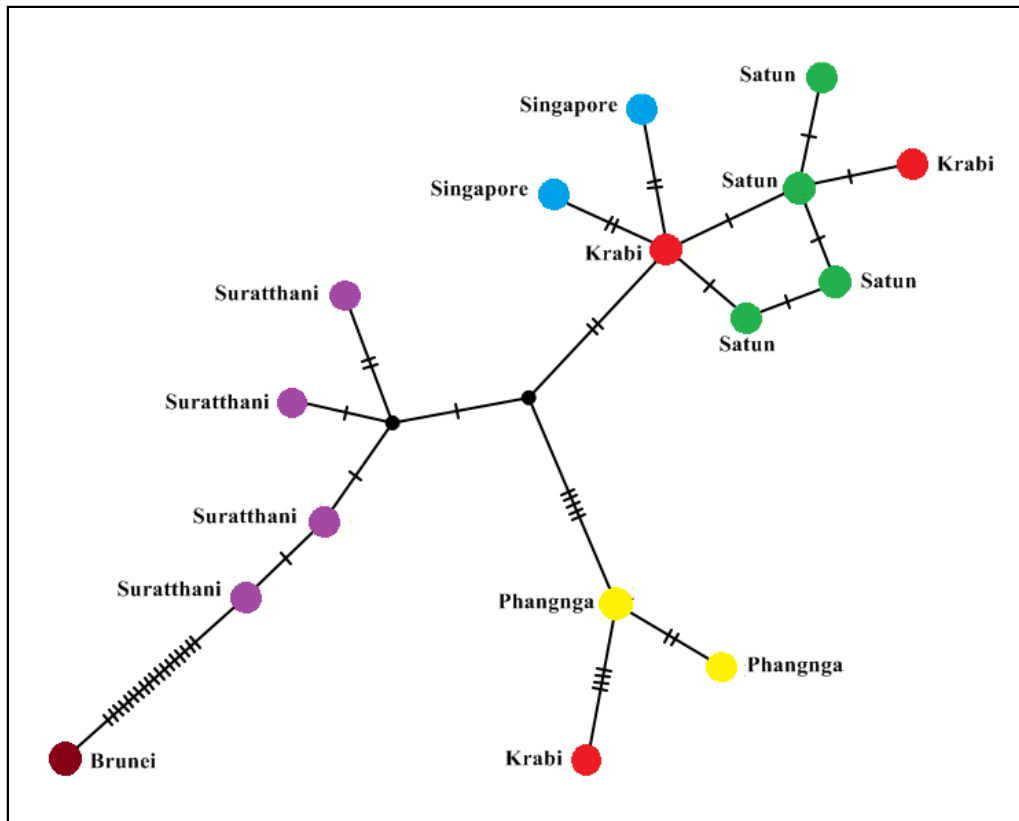
ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์หาช่วงเวลาที่เกิดการแยกกันระหว่างชนิด (Divergence time) พบว่า แมลงวันขาขาวชนิด *P. ornata* เป็นกลุ่มแรกที่แยกออกจากกลุ่มอื่นๆ ในช่วงเวลาประมาณ 35.55 ล้านปีก่อนซึ่งจัดอยู่ในยุค Eocene ในขณะที่แมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis* และ *Ornamenta* sp. ซึ่งมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมากกว่า จะถูกแยกออกจากกันในช่วงเวลาประมาณ 35.44 ล้านปีก่อนซึ่งจัดอยู่ในยุค Eocene เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าแมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis* จากประเทศบรูไนถูกแยกออกจากคาบสมุทรมไทยและสิงคโปร์ในช่วงเวลาประมาณ 8.01 ล้านปีก่อนในยุค Miocene และผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นว่าแมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis* ในคาบสมุทรมไทยและสิงคโปร์มีการแพร่กระจายสูงในช่วงยุค Pliocene/Pleistocene (ประมาณ 2.82 ถึง 0.13 ล้านปีก่อน) เช่นเดียวกับแมลงวันขาขาวชนิด *Ornamenta* sp. จากประเทศบรูไนซึ่งพบว่ามีการแพร่กระจายสูงประมาณ 0.97 ถึง 0.65 ล้านปีก่อนและ *P. ornata* จากสิงคโปร์พบว่ามีการแพร่กระจายสูงประมาณ 0.51 ล้านปีก่อนถึงปัจจุบัน ซึ่งจัดอยู่ในช่วงยุค Pliocene/Pleistocene และ Holocene (รูปที่ 4)



- Eocene (55.8-33.9 Mya)
- Oligocene (33.9-23.03 Mya)
- Miocene (23.03- 5.3 Mya)
- Pliocene/Pleistocene (5.3-0.01 Mya)
- Holocene (0.01- Present)

รูปที่ 4 ช่วงเวลาของการเกิดการแยกกันระหว่างชนิดของแมลงวันขาขาวที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์

และเมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันขาขาวเฉพาะชนิด *P. mitis* ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์มาสร้าง Haplotype network พบว่าแมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis* จากสตูล, กระบี่และสิงคโปร์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน ในขณะที่ *P. mitis* จากกระบี่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *P. mitis* จากพังงาเช่นเดียวกัน สำหรับ *P. mitis* จากสุราษฎร์ธานีพบที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ *P. mitis* จากบรูไน แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นว่า *P. mitis* จากประเทศบรูไนมีอัตราการเกิดมิวเทชันสูงที่สุดและถูกแยกออกจากกลุ่มอย่างชัดเจน (รูปที่ 5) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ



รูปที่ 5 Haplotype network ของแมลงวันขาขาวชนิด *Phacaspis mitis* ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากผลการสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแบบ Maximum likelihood แสดงให้เห็นว่าแมลงวันขาขาวสกุล *Phacaspis* และสกุล *Ornamenta* มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแบบมีบรรพบุรุษร่วมกัน (Monophyletic group) โดยแมลงวันขาขาวทั้ง 3 ชนิดจาก 2 สกุลมีการเกิดการแยกกันระหว่างชนิดในช่วงยุค Eocene ตอนปลาย (ประมาณ 35.55-35.44 ล้านปีก่อน) ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวภูมิอากาศของโลกมีแนวโน้มที่จะแห้งและเย็นลงจึงส่งผลกระทบต่ออัตราการลดของระดับน้ำทะเลในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Hoom et al., 2012) เมื่อระดับน้ำทะเลลดลงจะส่งผลกระทบต่อการแพร่กระจายและการเกิดการแยกเป็นพื้นที่ย่อยๆ ของป่าชายเลน (fragmentation) ซึ่งคาดว่าเหตุการณ์ดังกล่าวทำให้เกิดการแยกกันของแมลงวันขาขาวทั้ง 3 ชนิด โดยแมลงวันขาขาวชนิด *P. ornata* จากประเทศสิงคโปร์เป็นกลุ่มแรกที่แยกออกจากกลุ่มอื่น ๆ (Basal clade) จึงมีความเป็นไปได้ว่าแมลงวันขาขาวชนิด *P. ornata* จากประเทศสิงคโปร์จัดเป็นกลุ่มที่มีความเก่าแก่ที่สุด รองลงมาคือชนิด *P. mitis* จากคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์ โดยแมลงวันขาขาวชนิด *Ornamenta* sp. จากบรูไนจัดเป็นกลุ่มที่ใหม่สุดและมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับ *P. mitis* มากกว่า *P. ornata* สำหรับแมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis* จากคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์ พบว่ามีบรรพบุรุษร่วมกัน (common ancestor) และถูกจัดอยู่ภายในกลุ่มเดียวกัน (รูปที่ 3) แสดงให้เห็นว่า *P. mitis* จากคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์ มีการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมระหว่างกัน

โดยผลการศึกษาระหว่างชนิดพบว่าแมลงวันขาขาวชนิด *P. mitis*, *P. ornata* และ *Ornamenta* sp. มีการแพร่กระจายสูงในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในช่วงยุค Pliocene/Pleistocene (รูปที่ 4) จากรายงานของ Voris *et al.* (2000) ระบุว่าความผกผันของระดับน้ำทะเลช่วงยุค Pliocene/Pleistocene ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีส่วนทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันระหว่าง mainland และ island ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลจะมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของสังคมพืชและสังคมสัตว์ทั้งในน้ำและบนบกในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Darlington, 1957; Wallace, 1881; Voris, 2000) ดังนั้นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการแพร่กระจายของแมลงวันขาขาวทั้ง 3 ชนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คือการขยายและลดขนาดของป่าชายเลนในช่วงยุค Pliocene/Pleistocene นอกจากนี้ผลจากการเชื่อมต่อกันระหว่างพื้นที่ป่าชายเลนย่อย ๆ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ยังมีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดการไหลของยีนระหว่างประชากรของ *P. mitis* ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์

จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าแมลงวันขาขาวสกุล *Phacaspis* และ *Ornamenta* ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์ มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแบบมีบรรพบุรุษร่วมกัน โดยแมลงวันขาขาวชนิด *Ornamenta* sp. พบว่ามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับชนิด *P. mitis* มากกว่าชนิด *P. ornata* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่มีความเก่าแก่ที่สุด นอกจากนี้ผลการศึกษายังแสดงให้เห็นว่า *P. mitis* ที่พบในคาบสมุทรไทย, บรูไนและสิงคโปร์ มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกัน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ Prof. Patrick Grootaert ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านการศึกษาเก็บตัวอย่างจากประเทศบรูไนและสิงคโปร์ การยืนยันชนิดของแมลงวันขาขาว ตลอดจนคำแนะนำที่มีความสำคัญตลอดการทำวิจัย โดยงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนา มหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา รวมถึงทุนสนับสนุนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

- Bebee NW, Whelan PI, Van Den Hurk A, Ritchie SA, Cooper RD. Genetic diversity of the dengue vector *Aedes aegypti* in Australia and implications for future surveillance and mainland incursion monitoring. *Communicable Diseases Intelligence*. 2005; 29(3): 299–304.
- Darlington PJ. *Zoogeography: the Geographical Distribution of Animals*. New York: John Wiley & Sons; 1957.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology & Biotechnology*. 1994; 3(5):294–299.
- Grootaert P, Meuffels HJG. Insecta: Diptera, Dolichopodidae. In: Yule CM, Yong HS, editors. *Freshwater invertebrates of the Malaysian region*. Malaysia: Academy of Sciences Malaysia and Monash University; 2004. p. 810–817.
- Grootaert P, Meuffels HJG. Note on marine dolichopodid flies from Thailand (Insecta: Diptera: Dolichopodidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*. 2001; 49(2): 339–353.

- Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Window 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999; 41: 95–98.
- Hoorn C, Straathof J, Abels HA, Xu Y, Utescher T, Dupont-Nivet G. A late Eocene palynological record of climate change and Tibetan Plateau uplift (Xining Basin, China). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 2012; 344-345: 16–38.
- Leigh JW, Bryant D. POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in ecology and evolution*. 2015; 6: 1110–1116.
- Meuffels HJG, Grootaert P. Dolichopodidae (Diptera) from Papua New Guinea VIII. *Phacaspis*, a new genus incertae sedis from the mangrove. *Indo-Malayan Zoology*. 1988; 5: 311–319.
- Pollet M, Brooks SE, Cumming JM. Catalog of the Dolichopodidae (Diptera) of America north of Mexico. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 2004; 283: 1–114.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular biology and evolution*. 2013; 30(12): 2725–2729.
- Voris HK. Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time duration. *Journal of Biogeography*. 2000; 27(5): 1153–1167.
- Wallace AR. Island life; or, the phenomena and causes of insular faunas and floras including a revision and attempted solution of the problem of geological climates. *Nature*. 1881; 23: 357–359.
- Yang D, Zhu Y, Wang M, Zhang L. *World catalog of Dolichopodidae (Insecta:Diptera)*. Beijing: China Agricultural University Press; 2006.