

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



249014



การศึกษาลักษณะพละสัมพันธ์ฐานวิธานและพันธุกรรมของด้วงหนวดยาวข้าว
STUDY ON MORPHOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF
THE SUGARCANE LONGHORN BEETLES

นางสาวรัชชิตา หาญเลิศฤทธิ์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553

600253579

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



249014



การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของด้วงหนวดยาวอ้อย
STUDY ON MORPHOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF
THE SUGARCANE LONGHORN BEETLES



นางสาวชลลดา หาญเลิศฤทธิ์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของด้วงหนวดยาวอ้อย

นางสาวชลดา หาญเลิศฤทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชากีฏวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
พ.ศ. 2553

**STUDY ON MORPHOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF
THE SUGARCANE LONGHORN BEETLES**

MISS CHONLADA HANLAOEDRIT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN ENTOMOLOGY
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

2010



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
หลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาศึกษาศาสตร์

ชื่อวิทยานิพนธ์: การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของด้วงหนวดยาวอ้อย

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์: นางสาวชลลดา หาญเลิศฤทธิ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	อาจารย์ ดร. อุบล ตั้งควานิซ	ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. ทรวงยศ พิสิษฐ์กุล	กรรมการ
	อาจารย์ ดร. ดวงรัตน์ ธงภักดิ์	กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

.....
(อาจารย์ ดร. ดวงรัตน์ ธงภักดิ์) อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ลำปาง แม่นมาตย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี)

คณบดีคณะเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

ชลดดา หาญเลิศฤทธิ์. 2553. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของ

ด้วงหนวดยาวอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: อาจารย์ ดร. ดวงรัตน์ ธงภักดิ์

บทคัดย่อ

249014

ด้วงหนวดยาวอ้อยเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจในการเข้าทำลายผลผลิตอ้อย ปัจจุบันข้อมูลอนุกรมวิธานของด้วงหนวดยาวอ้อยค่อนข้างน้อย ดังนั้นการศึกษารังนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอนุกรมวิธาน การจำแนกชนิดของด้วงหนวดยาวอ้อยด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิธีทางชีวโมเลกุล โดยเก็บตัวอย่างตัวหนอนและตัวเต็มวัยจากแหล่งปลูกอ้อยทั้งหมด 8 แหล่ง ในเขตของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม ชัยภูมิ บุรีรัมย์ นครสวรรค์และกำแพงเพชร ทำการจำแนกและบรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกและอวัยวะสืบพันธุ์ภายใต้กล้องสเตอริโอ ผลการศึกษาพบว่า ตัวหนอนจัดอยู่ในวงศ์ย่อย Prioninae แต่การศึกษารังนี้ยังไม่สามารถจำแนกถึงระดับชนิด (species) ได้ เนื่องจากตัวหนอนแต่ละแหล่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การจำแนกชนิดตัวเต็มวัยทางสัณฐานวิทยาสามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ *Dorysthenes granulosis* และ *Dorysthenes buqueti* การศึกษารังนี้เป็นครั้งแรกที่พบว่า ด้วง *D. granulosis* เข้าทำลายอ้อย หลังจากนั้นนำตัวอย่างแมลงมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ โดยการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA Sequencing) บริเวณส่วนของยีน COI ด้วยวิธี Maximum parsimony โดยใช้โปรแกรม PAUP*4.0b10 พบว่าด้วงหนวดยาว *D. granulosis* และ *D. buqueti* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน ซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ อยู่ในวงศ์ย่อย Prioninae และสกุล *Dorysthenes* เหมือนกัน

Chonlada Hanlaoedrit. 2010. **Study on Morphological and Genetic Characteristics of The Sugarcane Longhorn Beetles.** Master of Science Thesis in Entomology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisor : Dr. Duangrat Thongphak

ABSTRACT

249014

The sugarcane longhorn beetles are economically important pest of sugarcane production. The taxonomic information of the sugarcane longhorn beetles is still little known. Therefore, the objectives of this study are to provide taxonomic reversion identification based on morphological and molecular characters. The specimens both of adult and larvae were collected from eight locations in the Northeast and the North of Thailand including Udon Thani, Khon Kaen, Kalasin, Maha Sarakham, Chaiyaphum, Buriram, Nakhon Sawan and Kamphaeng Phet. The specimens were then identified and described based on morphology both external and terminalia characters under stereo microscope. The results showed that the larval specimens belong to subfamily Prioninae, but this study can not identified the larvae into species level since the larvae of all locations no significant difference in morphological characters. Two species of longhorn beetles are identified based on morphological characters of adult. These included *D. granulosus* and *D. buqueti*. In this study *D. granulosus* is newly record as pest of sugarcane. DNA sequence analysis was then investigated using the COI gene in order to construct phylogenetic relationships by the maximum parsimony analysis conducted using PAUP*4.0b10. It was indicated that *D. granulosus* and *D. buqueti* are closely related to morphological characters which, and genus *Dorysthenes* both are belong to subfamily Prioninae.

งานวิทยานิพนธ์นี้มอบส่วนดีให้บุพการีและคณาจารย์ทุกท่าน

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้เนื่องด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่าย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ดวงรัตน์ ชงภักดิ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความกรุณาดูแลเอาใจใส่ ให้คำแนะนำ คำปรึกษา วาดภาพประกอบวิทยานิพนธ์ การตรวจแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. อุบล ตั้งวานิช ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. ทรงยศ พิธิษฐ์กุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง รวมทั้งคณาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ผู้วิจัยให้สามารถต่อสู้กับอุปสรรคต่างๆ จนกระทั่งประสบความสำเร็จได้ในปัจจุบัน

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่นและศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE) และโครงการพัฒนานักวิจัยหน้าใหม่ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2551 ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่สุชสวัสดิ์ พลพินิจ ที่ช่วยในการจำแนกชนิดแมลงและตัวอย่างในการเปรียบเทียบ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธิดารัตน์ บุญมาศ นางสาวศิรินทิพย์ บุญจรัสภิญโญ และห้องปฏิบัติการปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ช่วยเอื้อเพื่อสถานที่ในการทำวิจัยด้าน DNA และให้คำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตร พี่พุดผิงษ์ โศกคาน พี่โก้ คุณรัตนภรณ์ คุณชื่น และเกษตรกรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างแมลง

ขอขอบคุณพี่กุศล พี่อาท พี่ปู พี่พร พี่หญิง พี่เกตุ พี่ศุภิตา เฮง เบงค์และพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนในสาขากัญญาวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่คอยเป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือในทุกเวลาและทุกสถานการณ์เพื่อทำให้วิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนบุคลากรและเจ้าหน้าที่ในสาขากัญญาวิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสมชาย คุณแม่บุญสม หาญเลิศฤทธิ์ และครอบครัวของข้าพเจ้าทุกคนที่ให้โอกาสในการศึกษา คอยให้ความรักความห่วงใยดูแลเอาใจใส่ตลอดมา

ชลลดา หาญเลิศฤทธิ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
คำอุทิศ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
3. สมมติฐานของการวิจัย	2
4. ขอบเขตของการวิจัย	3
5. สถานที่ดำเนินงานวิจัย	3
6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1. อ้อยและความสำคัญ	4
2. ค้างहनวดยาว	4
3. การจัดหมวดหมู่ของค้างहनวดยาวทางสัตวศาสตร์	5
4. การแพร่กระจายของค้างहनวดยาว	9
5. ชีวิตวิทยาและนิเวศวิทยา	9
6. สถานการณ์ค้างहनวดยาวในประเทศไทย	10
7. ค้างहनวดยาวอ้อย	11
8. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
1. พื้นที่ศึกษา	17
2. การเก็บตัวอย่างแมลง	17
3. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาตัวเต็มวัย	23
4. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของด้วงหนวดยาวอ้อย	27
5. การวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย	29
1. ลักษณะสัณฐานวิทยา	30
1.1 ระยะตัวหนอน	30
1.2 ระยะตัวเต็มวัย	36
2. การศึกษาความสัมพันธ์สายวิวัฒนาการทางชีวโมเลกุล	54
บทที่ 5 การอภิปรายผลงานวิจัย	57
1. การศึกษาสัณฐานวิทยาของด้วงหนวดยาวอ้อย	57
2. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของด้วงหนวดยาวอ้อย	59
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	60
1. สรุปผลการวิจัย	60
2. ข้อเสนอแนะ	61
เอกสารอ้างอิง	62
ภาคผนวก	69
ประวัติผู้เขียน	73

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 2.1	จำนวนชนิด (species) และวงศ์ย่อย (Subfamily) ของด้วงหนวดยาวที่พบในประเทศไทย	11
ตารางที่ 3.1	แหล่งที่เก็บตัวอย่างและวันที่เก็บตัวอย่าง	18
ตารางที่ 3.2	พิกัดของแหล่งที่เก็บตัวอย่างด้วงหนวดยาวอ้อย	18
ตารางที่ 4.1	จำนวนตัวอย่างที่เก็บได้ในแต่ละแหล่ง	30
ตารางที่ 4.2	จำนวนชนิด (species) ที่พบในแต่ละแหล่ง	36
ตารางที่ 4.3	เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของด้วงหนวดยาวอ้อย	45
<i>Dorysthenes granulosis</i> และ <i>Dorysthenes buqueti</i>		
ตารางภาคผนวกที่ 1	ปริมาณ DNA ที่วัดได้จากเครื่องspectrophotometer	70
ตารางภาคผนวกที่ 2	สารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา polymerase chain reaction	71
ตารางภาคผนวกที่ 3	การเรียงเทียบ (alignment) นิวคลีโอไทด์ของด้วงหนวดยาวที่ใช้ในการศึกษา	72

สารบัญภาพ

	หน้า	
ภาพที่ 3.1	การเก็บตัวอย่างตัวหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย	19
ภาพที่ 3.2	ลักษณะตัวหนอนของด้วงหนวดยาวอ้อย	21
ภาพที่ 3.3	แสดงรายละเอียดของโครงสร้างส่วนหัว	22
ภาพที่ 3.4	ลักษณะทั่วไปของด้วงหนวดยาว <i>Dorysthenes granulatus</i>	25
ภาพที่ 3.5	แสดงรายละเอียดโครงสร้างส่วนหัวของด้วงหนวดยาวตัวเต็มวัยเพศผู้	26
ภาพที่ 3.6	แสดงรายละเอียดสันหลังอกปล้องแรก	26
ภาพที่ 4.1	แผนที่แสดงจุดที่เก็บตัวอย่างด้วงหนวดยาวอ้อย	29
ภาพที่ 4.2	ลักษณะตัวหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย	31
ภาพที่ 4.3	ลักษณะส่วนหัวของตัวหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย	33
ภาพที่ 4.4	แสดงลักษณะโครงสร้างส่วนหัวของตัวหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย	34
ภาพที่ 4.5	แสดงลักษณะโครงสร้างส่วนต่างๆ ของตัวหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย	35
ภาพที่ 4.6	ลักษณะตัวเต็มวัยของด้วงหนวดยาว	47
ภาพที่ 4.7	ส่วนหัวตัวเต็มวัยของด้วงหนวดยาว	48
ภาพที่ 4.8	สันหลังอกปล้องแรกของด้วงหนวดยาว	48
ภาพที่ 4.9	เปรียบเทียบข้อแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมีย	49
ภาพที่ 4.10	อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของด้วงหนวดยาว	50
ภาพที่ 4.11	โครงสร้าง tegmen ของด้วงหนวดยาวอ้อย	51
ภาพที่ 4.12	โครงสร้าง eighth sternite ของด้วงหนวดยาวอ้อย (dorsal view)	52
ภาพที่ 4.13	โครงสร้าง eighth tergite ของด้วงหนวดยาวอ้อย (dorsal view)	52
ภาพที่ 4.14	Ovipositor เพศเมียของด้วงหนวดยาว	53
ภาพที่ 4.15	รูปแบบ Electrophoresis ของ PCR product บริเวณ COI จากด้วงหนวดยาวอ้อย ที่ run gel บน 2% agarose gel electrophoresis กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์	54
ภาพที่ 4.16	Phylogenetic tree ของ CO I gene ด้วงหนวดยาวอ้อย	56