



รายงานสืบเนื่อง จากการประชุมวิชาการระดับชาติ

PROCEEDINGS

การประชุมวิชาการระดับชาติพินุลสงครามวิจัย

ครั้งที่ 6 ประจำปี พ.ศ. 2563

วันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2563

กลุ่มวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

ศ.เกียรติคุณ ดร.ไมตรี สุทธจิตต์	มหาวิทยาลัยพะเยา
ศ.น.สพ.ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศ.ดร.ศักดา ปั่นแห่งเพ็ชร	มหาวิทยาลัยศิลปากร
ศ.ดร.พิเชษฐ ลิ้มสุวรรณ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ศ.ดร.ผดุงศักดิ์ รัตนเดโช	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศ.ดร.จิรวัดน์ พิระสันต์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ศ.ดร.กิจการ พรหมมา	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ศ.ดร.สายสมร ลำยอง	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ.วรินทร์ ววงษ์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รศ.ดร.นฤมล มาแทน	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
รศ.ดร.ดิเรก อีระภูธร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.ธีรพร กงบังเกิด	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.อิสระ อินจันทร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์
รศ.ดร. นิรัช สุดสังข์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.สิริลักษณ์ ชัยจำรัส	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.สัญญา เคนาภูมิ	มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
รศ.ดร.วัชรินทร์ อินทพรหม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
รศ.ดร.เทียมจันทร์ พานิชย์ผลินไชย	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.พัชรินทร์ สิริสุนทร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร. วัลลภ สุขสวัสดิ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร. เนาวรัตน์ พลายน้อย	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร. ชัยรัตน์ สุทธิรัตน์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.กณิดา ธนเจริญชนมาส	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.รณสรณ์ ชินรัมย์	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
รศ.ดร.ปกรณ์ ประจัญบาน	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.วิทยา อยู่สุข	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
รศ.ดร.อภิรักษ์ เพียรมงคล	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.พร้อมพิไล บัวสุวรรณ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.เปรมวิทย์ วิวัฒน์เศรษฐ์	มหาวิทยาลัยพะเยา
รศ.ดร.ฉลอง ชาตรูประชีวิน	มหาวิทยาลัยนเรศวร

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

รศ.ดร.พนอเนือง สุทัศน์ ณ อยุธยา	มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
รศ.ดร.ภาสกร ดอกจันทร์	มหาวิทยาลัยมหามกุฏราชวิทยาลัย
รศ.ดร. ชัชวาลย์ จันทรวิจิตร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร. มนสิข สิริสมบุญ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร. จรรย์ธร บุญญานุภาพ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.สมิทธิ บุญชุตินา	มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์
รศ.ดร. ปริญา มาสวัสดิ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.ประภาพรรณ อุ่นอบ	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร.วัฒนชัย หมั่นยิ่ง	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.จักรกฤษณ์ พิญาพวงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์
รศ.ดร. ชัยวัฒน์ สุทธิรัตน์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.วารินทร์ แก้วอุไร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.ณรงค์ศักดิ์ หนูสอน	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รศ.ดร.สมชาย ขวนอุดม	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.สนิท สัตโยภาส	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
รศ.ดวงพร คำบุญวัฒน์	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ประทีป นึกปี	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.กฤษฎากาญจน์ โตพิทักษ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.โสภา มะสินาริ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ทวีศักดิ์ สว่างเมฆ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ภาคพร วัฒนดำรงค์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.จตุรพร รักษ์งาร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.กวินธร เสถียร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ธีรยุทธ์ เพ็งชัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรธานี
ผศ.ดร.ประทุมมา ฤทธิโพธิ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.สมจิตร สิริรัตนวิทย์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผศ.ดร.อาพัทธ์ เตียวตระกูล	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ภัทรพร พงศาปรมัตถ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.กันต์ อินทวงศ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์
ผศ.ดร.ธนาช กนกเทศ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.วนาวลัย ดาดี	มหาวิทยาลัยนเรศวร

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

ผศ.ดร.ปิ่นททัย หนูนวล	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ.ดร.พนมสิทธิ์ สอนประจักษ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.นันทน์นภัส รัตนศิลป์ชัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ผศ.ดร.อนุชา กอนพ่วง	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร. พิรธร์ บุญรัตพันธุ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.จิรภาส จงจิตวิมล	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.จิราพร โรจน์ทินกร	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผศ.ดร. ศรัณยู เรือนจันทร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์
ผศ.ดร.ชูรัตน์ ธารารักษ์	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผศ.ดร.ธีราพร กุลน่านันท์	มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์
ผศ.ดร.รัตนภาพร วังศรี	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร. นิติพงศ์ จิตรีโกชน	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.สรารัฐ คำปวน	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ภญ.วฐุ พรหมพิทยารัตน์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ดิเรก อีระภูธร	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.อุษา พัดเกตุ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร. อภิชัย รุ่งเรือง	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.จรรณู สารินทร์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.วันวิสาข์ ปั่นศักดิ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.จตุรงค์ สุภาพพร้อม	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร. ภูพงษ์ พงษ์เจริญ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.อรสา เตติวัฒน์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.วรรณภา ลือกิตินันท์	มหาวิทยาลัยบูรพา
ผศ.ดร.ขวัญเมือง แก้วคำเกิง	มหาวิทยาลัยมหิดล
ผศ.ดร.ฐิติอาภา ตั้งคำวานิช	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.อมรรัตน์ อังเวโรจน์วิทย์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ศรายุทธ ้วยวุฒิ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.สุภาภรณ์ สุดหนองบัว	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ณัฐดนัย ลิขิตตระกูล	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผศ.ดร.ชมพูนุช วรวงคณากุล	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร. ศักดา สมกุล	มหาวิทยาลัยนเรศวร

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

ผศ.ดร.สมชาย เจียจิตต์สวัสดิ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.จักรกฤษณ์ เสน่ห์ ณ มะหุต	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผศ.ดร.ชูรัตน์ ธารารัตน์	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผศ.ดร. ศศิธร แท่นทอง	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
ผศ.ดร.เดือนเพ็ญ กษกรจารุพงศ์	มหาวิทยาลัยทักษิณ
ผศ.ดร.อนวัทย์ ผาสี	มหาวิทยาลัยนครพนม
ผศ.จุไรรัตน์ ไสภา	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร.พรหมพิสิฐ พันธจันทร์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร.ยงยุทธ แฉล้มวงษ์	สถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศไทย
ดร.ศศิธร จันทโรทัย	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร. บุญสม บุษบรรณ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ดร.วราชต์ มัธยมบุรุษ	มหาวิทยาลัยพะเยา
ดร.ฤดีรัตน์ มหาบุญปิติ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร.รัตนาวดี ทองบัวบาน	มหาวิทยาลัยพิษณุโลก
ดร.โชติกานต์ ใจบุญ	มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต
ดร.สุรเดช จิตประไพกุลศาล	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร.สันติภาพ คำสะอาด	มหาวิทยาลัยศิลปากร
ดร.อนุสรณ์ สีนานา	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร.กรกมล ธนะโรจน์รุ่งเรือง	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี
ดร.สาคร สร้อยสังวาลย์	

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

รศ.ดร.สุขแก้ว คำสอน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร.คงศักดิ์ ศรีแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร.โชติ บดีรัฐ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร.ธัชคนิน จงจิตวิมล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร. ธันวดี ศรีธาวีรัตน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร.ณัฐริรา ทับทิม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร.วิโรจน์ ตึกจ๊ะ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร. สุขสมาน สังโยคะ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ดร.อนุ เจริญวงศ์ระยัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.ไพโรจน์ เยียระยง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.บุษบา หินเอวาร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
รศ.อุไรวรรณ รักผกาวงศ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ศิริสุภา เอมหยวก	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ขวัญชนก นัยจรรย์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ณรงค์มล เล่าห์รอดพันธ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ณัฐินี ดีแท้	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. วิจิตรา จำลองราษฎร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. อุทาน บุญเมือง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. จักรกฤษ ศรีละอ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. อรรถพล รอดแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. กิรติ ดันเรือน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. กัมปนาท วงษ์วัฒนพงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.เสาวนีย์ เสริมสุข	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. รัตนา สิทธิอ่วม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. วราภรณ์ ผาสี	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. นิคม นาคอ้าย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. วราภรณ์ ชื่อประดิษฐ์กุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ชุตินันท์ ศรีสวัสดิ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ทศนีย์ ปัทมสนธิ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ปิณณวิษณุ ไบกุหลาบ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. พัทธราวัลย์ มีทรัพย์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

ผศ.ดร. อนุชา ภูมิสิทธิพร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.ธานินทร์ ไชยเชษฐ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.ร่ำไผ่ โกฏสืบ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.รพีพรรณ จันทรมะณี	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.ธนวัตร คล้ายแท้	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. สลักจิต ตรีธโนโสภาส	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.จิตศิริณ ก้อนคง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. จิราพัทธ์ แก้วศรีทอง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. สุชาดา เจียพงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.นงลักษณ์ ใจฉลาด	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ธนสาร เพ็งพุ่ม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. มนตรา ศรีชะแย้ม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.สุภาวดี แหยมคง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. อรุณี นุสิทธิ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.ศุภนิช เจริญสุข	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ปิยะดา วชิระวงศกร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ยศจรัส ตือขุนทด	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ปิยมนัส วรวิทย์รัตนกุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. กฤติกา สังข์ขวดี	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ภาวิดา มหาวงค์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. จิตติพร ตั้งควิเวชกุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. นพรัตน์ วรรณเทศ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. ชนิภาญจน์ จันทร์มาทอง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. สกล เกิดผล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.ยุวดี ตรงต่อกิจ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. กมลธรรม เกื้อบุตร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. กิตติพงษ์ สุวรรณราช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.วสุ พันไพศาล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.วิษณุ ธงไชย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.พิชิตชัย ปิรมแพง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

ผศ.ดร. นิธิพงศ์ ศรีเบญจมาศ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.คงเดช พะสีนาม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.สมศักดิ์ แก้วนุช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร.ไกรลาศ มาตรมูล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ดร. อรชร ฉิมจรรย์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.กึ่งแก้ว สำรวยรีน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.สุพจน์ พฤกษ์วัน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ประภาศิริ ใจผ่อง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.เอกภพ จันทรสุคนธ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.ปรารธนา ศิริสานต์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.พิชญพร ประครองใจ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.พิมพ์ชนก พริกบุญจันทร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.สนทยา สาลี	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผศ.วิภาดา ศรีเจริญ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ว่าที่เรืออากาศตรี ดร.บัญชา สำรวยรีน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. สมหมาย อำดอนกลอย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร.ชัชวินทร์ นวลศรี	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. ศุภชัย อีระกุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. เทิน สีนวน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. พิมพ์รินทร์ ศิริรินทร์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. อดุลย์ วังศรีคุณ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. วรรัตน์ วรวิทย์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. พงษ์พันธ์ จุลทา	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. อรวรรณ ไพโรจน์วุฒิพงศ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. พงษ์พันธุ์ พุทธิวิศิษฐ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. เสกสรรค์ ศิวาลัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. ฐิติพร เจาจะจง	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร.ปภาดา ชมภูนิสัย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. วศิน สุขสมบูรณ์วงศ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. พิงรัก รียะขัน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. ชัยยา นรเดชานันท์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

ดร. เอกรงค์ บั่นพงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. ปิยลักษณ์ พฤกษ์วัน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. ธัญณัฏฐ์ เจริญพานิช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. วาสนี มีเครือเอี่ยม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. พันธ์ มัตยะสุวรรณ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ดร. อุมารณ ยศเจริญ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.พัชรารณ อินริราย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.พัฒนภาณุ พูลธรรม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.นภาพรณ อุ่นปรีชาวนิชย์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.สุวิมล ทองแกมแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.นันทิภาคย์ พวงสถิต	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.กীরติญา สอนเนย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อ.ยุวดี พ่วงรอด	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

สารบัญ

	หน้า
การกระจายเชิงพื้นที่ของไมโครไฟเบอร์ และความสัมพันธ์ต่อคุณภาพของน้ำผิวดิน ในพื้นที่ชุ่มน้ำบึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์	
กนกวรรณ เนตรสิงแสง พันธุ์ทิพย์ กล่อมเจ็ก และ จรูญ สารินทร์.....	268-280
การสะสมโลหะหนักในปลา และความสัมพันธ์ระหว่างโลหะหนักในปลา น้ำผิวดิน และตะกอนพื้นท้องน้ำ ในพื้นที่ชุ่มน้ำบึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์	
ธนาธิป แสงพ่ายัพ พันธุ์ทิพย์ กล่อมเจ็ก และ จรูญ สารินทร์.....	281-295
การเปรียบเทียบเชื้อเพลิงชีวมวลผสมอัดแท่งสำหรับอุตสาหกรรมขนมอบ	
สุทธิเดช โตนชัยภูมิ ยศภัทรชัย คณิตปัญญาเจริญ และ พลิศภัทร์ คำฟู.....	296-305
การเปรียบเทียบประสิทธิภาพตู้อบเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ด้วยพลังงานสะอาดและพลังงานสิ้นเปลือง	
ภูวดล เพ็ญนาดี และ ยศภัทรชัย คณิตปัญญาเจริญ.....	306-313
การประมาณค่าความเข้มแสงอาทิตย์แบบรายเดือนด้วยวิธีโครงข่ายประสาทเทียม	
กิตติศักดิ์ คงสีไพร และ สมพร เรืองสินชัยวานิช.....	314-323
โครโมโซมของตั๊กแตนลิงจุดเชื่อม (<i>Erianthus serratus</i>) และตั๊กแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า (<i>Pseudomorphacris hollisi</i>) จากจังหวัดเพชรบูรณ์	
สุปรียา ศิริวารินทร์ บุษยา แก้วย้อย สุรเชษฐ์ เอี่ยมสำอาง และ สุมาสี พิมพ์พันธุ์.....	324-332
* การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของตั๊กแตนโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด	
ณัฐฉิณันท์ วันเพ็ญ อาภาณุช วงศ์ศิริ สุมาสี พิมพ์พันธุ์ และ สุรเชษฐ์ เอี่ยมสำอาง.....	333-340 *
การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของโพรไบโอติก <i>Lactobacillus johnsonii</i> ที่แยกจากมูลไก่	
อุทัยมาศ วงศ์บัณฑิต ปิยะนุช เนียมทรัพย์ และ ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน.....	341-348
โครโมโซมของจิ้งหรีดทองดำ (<i>Gryllus bimaculatus</i>) จิ้งหรีดทองแดง (<i>Acheta domesticus</i>) และจิ้งโกร่ง (<i>Brachytrupes portentosus</i>) ใน จังหวัดเพชรบูรณ์	
อารียา แสงลาก อีรพงษ์ ขุนเกี่ยม สุรเชษฐ์ เอี่ยมสำอาง และ สุมาสี พิมพ์พันธุ์.....	349-358
การคัดเลือกเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสสำหรับการเพิ่มปริมาณสารไอโซฟลาโวนกลุ่มอะไกลโคโน	
อาภัสรา ศรีกุ่มภา ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน และ ปิยะนุช เนียมทรัพย์.....	359-365
ผลของการเติมเชื้อ <i>Streptomyces</i> sp. SEF11 ข้ำต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแครอท	
จุฑามาส เทียนสุข ขนิษฐา สมตระกูล อภิเดช แสงดี และ วราภรณ์ ฤทัย.....	366-372
ผลของการตรึงเชื้อ <i>Streptomyces</i> sp. SEF11 ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้งในสภาวะแล้ง	
จุฑามาส อยู่สนิท ขนิษฐา สมตระกูล อภิเดช แสงดี และ วราภรณ์ ฤทัย.....	373-380
ผลของความร้อนต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำคั้นหัวหอมแขก (<i>Allium cepa</i> var. <i>viviparum</i>)	
รุ่งทิพย์ กาวารี สมคิด ดิจจริง และ ชุตินา ปาววงศ์.....	381-389
การพัฒนาแผ่นสะท้อนรังสีอาทิตย์แบบรูปประกอบพาราโบลาจากแผ่นอลูมิเนียม	
สรวิศ สอนสารี สมเด็จ แซ่ลี ศุภวิทย์ มะโนทน วรธัญญ มณีพันธุ์ เพชรสยาม อุณทุโร เอกภูมิ บุญธรรม และ เอกกฤษ แก้วเจริญ.....	390-396

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของตั๊กแตนโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด
GENETIC RELATIONSHIPS AND IDENTIFICATION GRASSHOPPER SPECIES USING
DNA BARCODING

ณัฐนันท์ วันเพ็ญ อาภาณุ วังศิริ สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

*corresponding author e-mail : tophesun1978@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการระบุชนิดของตั๊กแตน ที่ถูกรวบรวมได้จากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Cytochrome c oxidase Subunit I (COI) ศึกษาตั๊กแตนทั้งหมด 6 ชนิด ใช้ไพรเมอร์ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ LCO1490 HCO2198 และ SR-J-14233 SR-N-14588 วิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของตั๊กแตนในฐานข้อมูล GenBank ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของตั๊กแตนที่รวบรวมได้โดยการสร้าง Phylogenetic tree พบว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ดชนิด SR-J-14233 SR-N-14588 สามารถจำแนกชนิดของตั๊กแตนจำนวน 6 ชนิด ได้อย่างถูกต้องตามการจัดเรียงทางอนุกรมวิธาน โดยมีความยาวเฉลี่ยของลำดับนิวคลีโอไทด์ประมาณ 370 คู่เบส สามารถจำแนกกลุ่มของตั๊กแตนได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ถูกรวบรวมไว้เป็นฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด และเป็นประโยชน์ในด้านการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตั๊กแตนต่อไป

คำสำคัญ : ตั๊กแตน ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม การระบุชนิด เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด

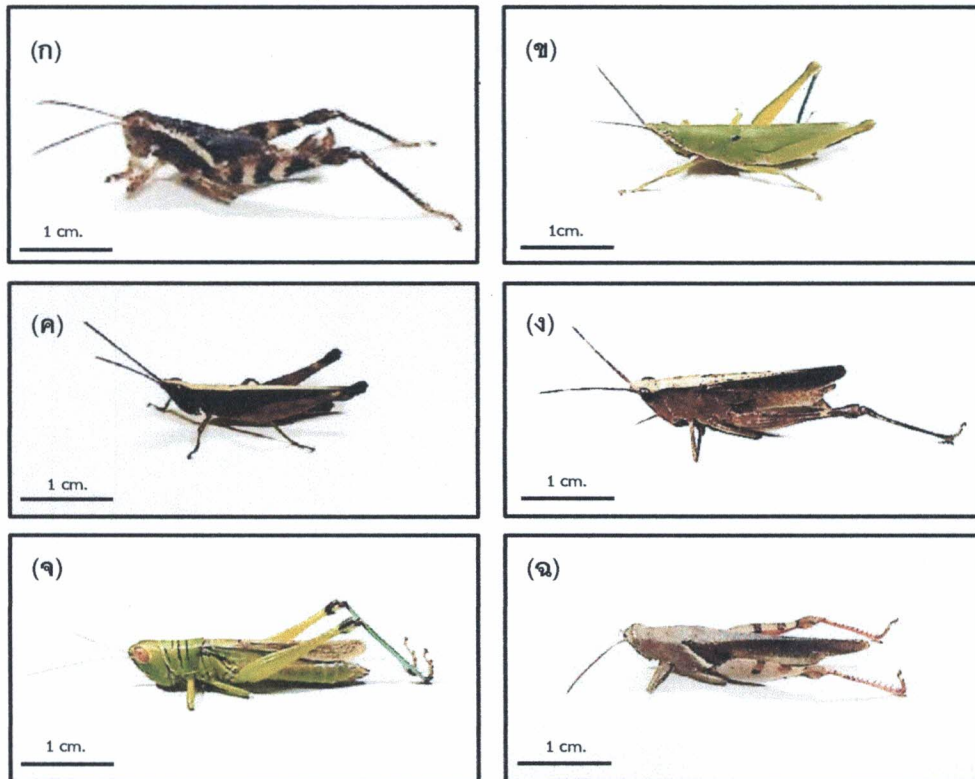
Abstract

The objective of this study was to examine the genetic relationships and identification of grasshoppers was collected from Phetchabun Rajabhat University. The sequence of nucleotide gene Cytochrome c oxidase Subunit I (COI). The 6 types of grasshoppers and using 2 DNA barcode such as LCO1490 HCO2198 and SR-J-14233. SR-N-14588. Analytical sequence nucleotide of locusts in the GenBank database. The study of phylogenetic relationship found that SR-J-14233 and SR-N-14588 to identify species of grasshoppers can be arranged by taxonomy. The average length of the nucleotide sequence of about 370 base pairs and can be classified into 3 groups of locusts which group. The data in this study were compiled into a database of DNA barcodes and useful in the studying of genetic relationship of grasshoppers next.

Keywords : grasshopper, genetic relationships, identification, dna barcode markers

บทนำ

ตั๊กแตน (Grasshopper) เป็นแมลงที่อยู่ในไฟลัม Arthropoda อันดับ Orthoptera เป็นแมลงที่มีความหลากหลายของรูปร่างลักษณะค่อนข้างมาก มีขนาดลำตัวแตกต่างกัน การเจริญเติบโตมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปทีละน้อย ตัวอ่อนเรียกว่า nymph ตัวอ่อนมักจะมีขนาดเล็กกว่าตัวเต็มวัย และยังไม่มีปีก มีการลอกคราบ และเจริญเติบโตไปเป็นตัวเต็มวัย มีตัวรวมขนาดใหญ่ หนวดเป็นแบบเส้นด้าย (Filiform) ปีกคู่หน้ามีลักษณะคล้ายหนัง (Tegmina) ปีกคู่หลังมีลักษณะบางใส (Membrane) ซึ่งพับอยู่ใต้ปีกคู่หน้า ขามี 2 คู่ คู่หน้าเป็นขาเดิน (Walking legs) ขาคู่หลังเป็นขากระโดด (Jumping legs) ปล้องมี 3-5 ปล้อง ตั๊กแตนมีอวัยวะพิเศษคือ อวัยวะทำเสียงซึ่งใช้ในการสื่อสาร และหากู่ (สุนัขจิ้งจอก และ ชมัยพร บัวมาศ, 2556) ในทางการศึกษาทางชีววิทยานั้น มีความจำเป็นต้องมีการจำแนกสายพันธุ์ เพื่อระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต แต่เนื่องจากการจำแนกโดยลักษณะภายนอกมักจะประสบปัญหา และเกิดความคลาดเคลื่อนได้ง่าย จากปัญหาดังกล่าวได้มีการพยายามใช้วิธีต่างๆ ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตซึ่งยากต่อการศึกษาที่ผ่านมา วิธีหนึ่งที่ถูกใช้ในการระบุชนิดที่มีความแม่นยำอีกวิธีหนึ่งคือ การศึกษาโดยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล การศึกษาครั้งนี้จึงทำการศึกษากำหนดที่เก็บรวบรวมได้ จากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยนำเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลมาใช้ในการศึกษา เพื่อจำแนกชนิด และระบุความใกล้ชิดทางพันธุกรรม เรียกว่า เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcode) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีการใช้ลำดับเบสของดีเอ็นเอในตำแหน่งยีน Cytochrome c Oxidase Subunit I หรือ (COI) ซึ่งเป็นยีนที่อยู่บนไมโทคอนเดรียในเซลล์สิ่งมีชีวิต มีลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด มีความหลากหลายภายในชนิดค่อนข้างต่ำ แต่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดสิ่งมีชีวิตได้หลายชนิด (Hebert et al., 2003) จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าได้มีการนำเทคนิคดังกล่าวมาทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น การศึกษาของ (จุฑาดี ปานพรหมมินทร, 2560) โดยการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลาในวงศ์ปลาสาวย โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน (COI) สามารถจำแนกปลาในวงศ์ Pangasiidae ทั้งหมด 6 ชนิด ได้ถูกต้องตามระบบอนุกรมวิธานปลา ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำเทคนิคดังกล่าวมาทำการศึกษากลุ่มตั๊กแตนทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ 1. ตั๊กแตนตั๊กแตนแม้อั้วแพร่ (*Anasedulia maejophræ Dawwrueng, Storozhenko et Anusak, 2015*) ซึ่งมีลักษณะรูปร่างคล้ายเกล็ด มีขนาดลำตัวยาว 4 เซนติเมตร ลำตัวเป็นสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีแถบสีขาวพาดจากหลังตาถึงบริเวณข้างอก (แหลมไทย อาษานอก และคณะ, 2558) 2. ตั๊กแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า (*Pseudomorphacris hollisi*) ลำตัวมีสีเขียว ขนาดลำตัวยาว 4.5 เซนติเมตร บริเวณส่วนตามีแถบสีขาว ขามีสีน้ำตาลปนเขียว ขาคู่หลังบริเวณส่วนข้างด้านในมีสีเขียวอมฟ้า (เกรียงไกร สุวรรณภักดิ์, 2559) 3. ตั๊กแตนบอลแถบน้ำตาล (*Ceracris fasciata*) มีลักษณะลำตัวขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีสีเทาหรือน้ำตาล ปีกคู่หลังเป็นแผ่นบางสีเขียวแถบดำขนาดลำตัวยาว 4.5 เซนติเมตร (Brunnervon Wattenwyl, 1893) 4. ตั๊กแตนฝ้าย (*Cyrtacanthacris tatarica*) มีลักษณะลำตัวค่อนข้างใหญ่ ขนาดลำตัวยาว 3.8 เซนติเมตร ลำตัวอ้วนสั้น สีของลำตัวเป็นสีน้ำตาลอ่อนสลับน้ำตาลแก่ ปีกคู่หน้ามีจุดสีน้ำตาลเข้มขนาดใหญ่กระจายอยู่ทั่วลำตัว (Walker, 1870) 5. ตั๊กแตนข้าว (*Hieroglyphus Banian*) มีลักษณะบริเวณหน้ามีสีดำ ใต้ท้องมีสีดำตลอดลำตัว ขนาดลำตัวยาว 5.5 เซนติเมตร บริเวณหลังมีเส้นหนวดทอดยาวตลอดลำตัว เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจะมีสีเขียวเหมือนกันทั้งหมด (วันชัย ไพศรีจันทร์, 2559) และ 6. ตั๊กแตนขาลายแข้งแดง (*Apalacris varicornis*) มีลักษณะหนวดสั้นแบบเส้นด้าย ลำตัวมีสีออกน้ำตาล บริเวณต้นขามีลายสีอ่อนเข้มสลับกัน บริเวณข้างมีสีแดง ขนาดลำตัวยาว 4.3 เซนติเมตร (Walk, 1870) ดังแสดงใน (ภาพที่ 1) จากนั้นนำตัวอย่างตั๊กแตนทั้งหมดทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของตั๊กแตนในฐานข้อมูล GenBank และศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของตั๊กแตนที่รวบรวมได้โดยการสร้างแผนโดแกรม การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และระบุชนิดของตั๊กแตนโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด ซึ่งข้อมูลที่ได้ในการศึกษานี้จะสามารถทำให้ทราบถึงลักษณะความใกล้ชิดทางพันธุกรรม รวมถึงสามารถระบุ และจำแนกชนิดของตั๊กแตนได้ ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเป็นข้อมูลพื้นฐาน และเป็นประโยชน์ในด้านการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตั๊กแตนต่อไป



ภาพที่ 1 ลักษณะภายนอกของตั๊กแตน (ก) ตั๊กแตนแมโจแพร์ (ข) ตั๊กแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า (ค) ตั๊กแตนบอลแถบน้ำตาล (ง) ตั๊กแตนฝ้าย (จ) ตั๊กแตนข้าว (ฉ) ตั๊กแตนขาลายแข้งแดง

วิธีดำเนินการวิจัย

เก็บรวบรวมตัวอย่างของตั๊กแตนจากเขตบริเวณพื้นที่ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์โดยทำการสวิงจับ และนำตัวอย่างของตั๊กแตนที่เก็บรวบรวมได้ทำการจัดจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากนั้นเก็บรักษาคุณภาพของตัวอย่างใน ethanol ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. การดำเนินการวิจัย

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)

สกัด Genomic DNA จากชุดสกัดสำเร็จรูป ยี่ห้อ GF-TD -100 GF-1 Tissue DNA Extraction Kit และทำการสกัดตามวิธีที่ผู้ผลิตแนะนำ โดยการนำตัวอย่างสด หรือตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการเก็บรักษาคุณภาพใน ethanol มาใช้ในการสกัดโดยนำบริเวณที่เป็นส่วนเนื้อเยื่อ เช่น บริเวณส่วนหัวซบให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู จากนั้นนำตัวอย่างย่อยลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยการเติม TL buffer 250 ไมโครลิตร Proteinase K 10 ไมโครลิตร และ Lysis Enhancer 12 ไมโครลิตร แล้วนำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม TB buffer 560 ไมโครลิตร แล้วนำไป Vortex ให้สารเข้ากัน นำตัวอย่างไปทำการบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม Ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ย้ายตัวอย่างลง Filter column กับ Collection tube ปริมาตร 650 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที นำส่วนใสที่อยู่ใน Collection tube ที่ทิ้ง จากนั้นเติม Wash buffer ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ใส่ลงใน GD column กับ Collection tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที และนำส่วนใสใน Collection tube ที่ทิ้ง นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อกำจัด ethanol นำส่วนของ GD Column ย้ายใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม Elution buffer

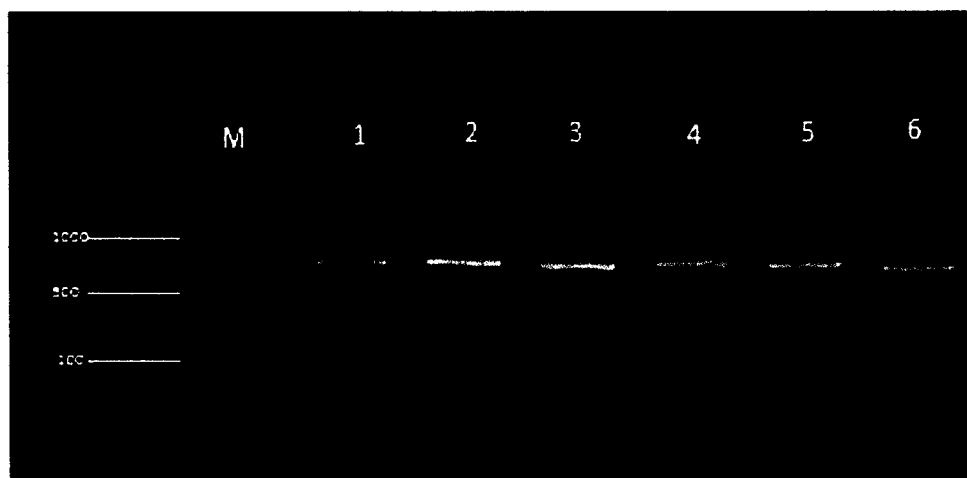
50 ไมโครลิตร ลงใน GD Column เพื่อละลายตะกอนทิ้งไว้ 2-3 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 วินาที นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส Polymerase Chain Reaction หรือ (PCR)

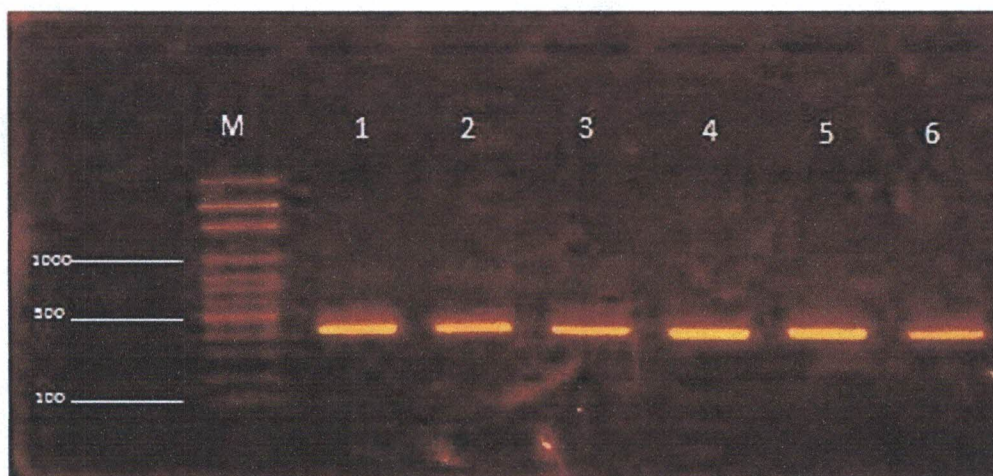
เพิ่มปริมาณในชิ้นส่วนดีเอ็นเอของตำแหน่งยีน COI ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ในสารละลายซึ่งประกอบด้วย สารละลายดีเอ็นเอของตั๊กแตน ที่มีความเข้มข้น 100 นาโนกรัม Buffer A 5 ไมโครลิตร $MgCl_2$ 3 ไมโครลิตร DNA *taq* Polymerase 0.4 ไมโครลิตร dNTP 1.6 ไมโครลิตร DNA Template 2 ไมโครลิตร dH_2O 34 ไมโครลิตร ในสารละลาย Master Mix และไพรเมอร์สำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ไพรเมอร์ชุดที่ 1 LCO1490 F- GGTCACAAATCATAAAGA TATTGG HCO2198 R-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA (V.C. Muhammedali, 2017) มีความยาวของผลิตภัณฑ์ ขนาด 589 bp. ไพรเมอร์ชุดที่ 2 SR-J-14233 F-AAGAGCGACGGGCGATGTGT และ SR-N-14588 R- AAACCTAGGATTA GATACCTTATTAT (Steven A. Trewick, 2001) มีความยาวของผลิตภัณฑ์ขนาด 389 bp. ทำปฏิกิริยาโดยขั้นตอน Pre - denaturation เริ่มต้นที่ 95 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที Denaturation 95 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที จากนั้นลด อุณหภูมิช่วง Annealing เป็น 53 องศาเซลเซียส เวลา 40 วินาที เพิ่มอุณหภูมิช่วง Extension เป็น 72 องศาเซลเซียส เวลา 1 วินาที และ Final-extension 72 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งหมด 30 รอบ จนสิ้นสุดกระบวนการ จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสของตำแหน่งยีน COI

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ที่ความเข้มข้น 1% agarose gel ในสารละลาย TBE buffer 50 มิลลิลิตร จากนั้นตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis เป็นเวลา 45 นาที จนสิ้นสุดกระบวนการ



ภาพที่ 2 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์ LCO1490 และ HCO2198 พบว่าขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมีขนาด 589 bp. ซึ่งสามารถแสดงชนิดของตัวอย่างได้ดังนี้ M คือ ดีเอ็นเอแม่แบบ หมายเลข 1 คือ ตั๊กแตนบอลแถบน้ำตาล หมายเลข 2 คือ ตั๊กแตนแม่โจ้แพร่ หมายเลข 3 คือ ตั๊กแตนขาลายข่างแดง หมายเลข 4 คือ ตั๊กแตนฝ้าย หมายเลข 5 คือ ตั๊กแตนข้าว และ หมายเลข 6 คือ ตั๊กแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า



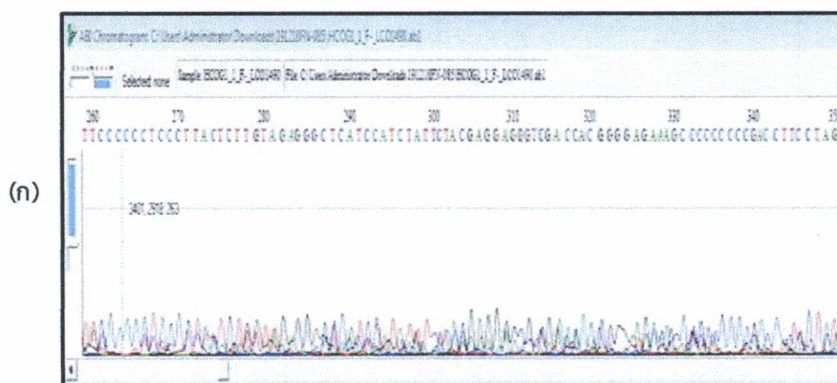
ภาพที่ 3 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยไพรเมอร์ SR-J-14233 และ SR-N-14588 พบว่าขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมีขนาด 389 bp. ซึ่งสามารถแสดงชนิดของตัวอย่างได้ดังนี้ M คือ ดีเอ็นเอแม่แบบ หมายเลข 1 คือ ตั๊กแตนบอลแถบน้ำตาล หมายเลข 2 คือ ตั๊กแตนแมงไฉ่แพร่ หมายเลข 3 คือ ตั๊กแตนชาลาย เข้มแดง หมายเลข 4 คือ ตั๊กแตนฝ้าย หมายเลข 5 คือ ตั๊กแตนข้าว และ หมายเลข 6 คือ ตั๊กแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า

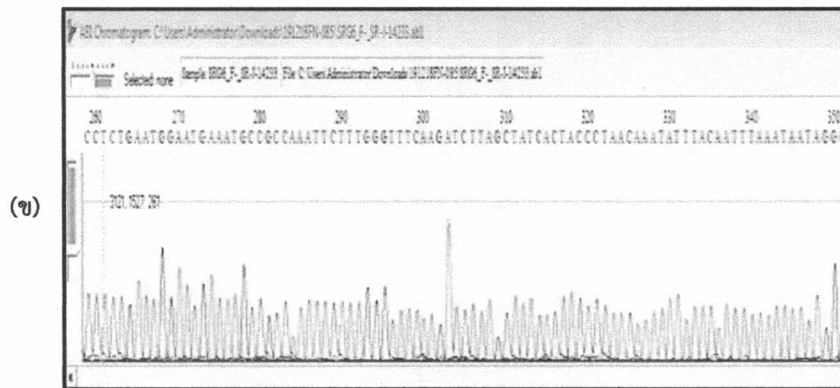
2.4 การวิเคราะห์ และการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI

นำผลที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ไปตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ยีน COI โดยการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในฐานข้อมูล GanBank วิเคราะห์ Multiple Sequence Alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ใน tick แต่ละชนิดด้วยโปรแกรม bioedit จากนั้น หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยสร้างแผนภูมิต้นไม้ด้วยโปรแกรม MEGA version 7.0 (Kumar et al., 2016)

2.5 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI โดยใช้ไพรเมอร์ LCO1490 HCO2198 และ SR-J-14233 SR-N-14588 ผลปรากฏว่าไพรเมอร์ LCO1490 และ HCO2198 มีความยาวเฉลี่ยของลำดับนิวคลีโอไทด์ตั้งแต่ 300-760 คู่เบส จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยในช่วงที่ 300 โดยใช้โปรแกรม bioedit พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์เกิดปัญหาในการแสดงผล และ การอ่านค่าของลำดับนิวคลีโอไทด์ไม่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนมากเกิดช่องว่างระหว่างลำดับเบส ไม่สามารถอ่านรหัสได้ และมีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์มากเกินไปจึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ และจัดจำแนกความแตกต่างของตักแตนได้ เมื่อเทียบกับไพรเมอร์ SR-J-14233 และ SR-N-14588 (ภาพที่ 4) ซึ่งมีความยาวเฉลี่ยของลำดับนิวคลีโอไทด์ตั้งแต่ 100-370 คู่เบส ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างแสดงสัญญาณที่ชัดเจน สามารถวิเคราะห์ และแยกความแตกต่างของตักแตนในแต่ละชนิดได้ค่อนข้างมีประสิทธิภาพ เมื่อเทียบกับการวิเคราะห์ที่ใช้ไพรเมอร์ LCO1490 และ HCO2198

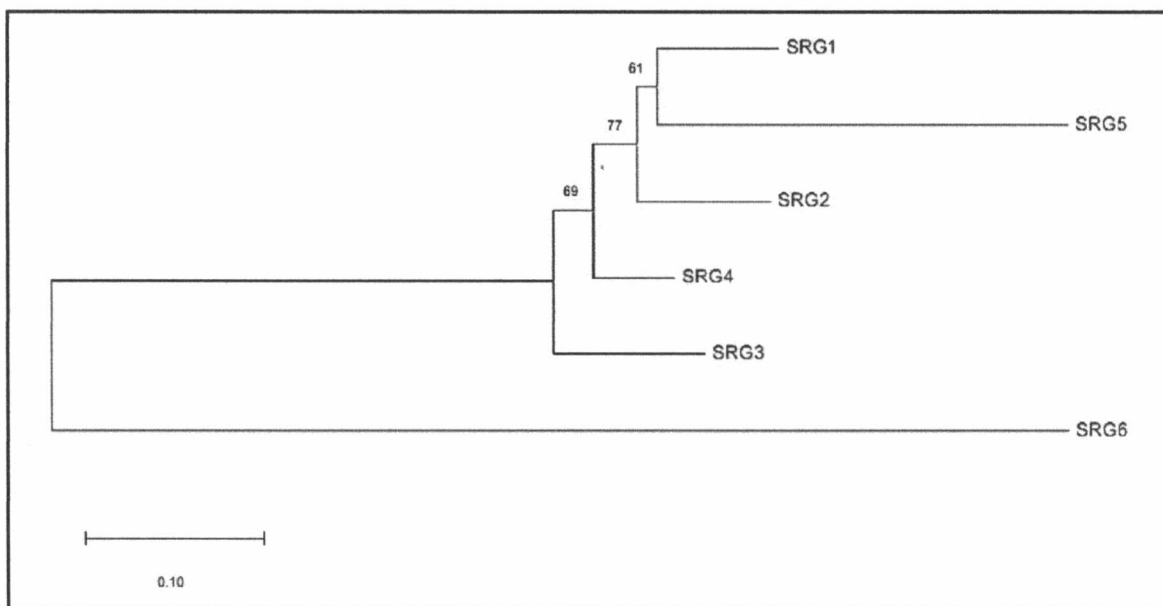




ภาพที่ 4 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (ก) LCO1490 HCO2198 และ (ข) SR-J-14233 SR-N-14588

2.6 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของตักแตน

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของตักแตนทั้งหมด 6 ชนิด โดยการสร้างแผนภูมิต้นไม้ที่ได้จากวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI โดยวิเคราะห์จากค่าดัชนีความเหมือน Similarity index (SI) และดัชนีความคล้ายคลึง Similarity matrix (SM) ด้วยโปรแกรม MEGA version 7.0 พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI สามารถแยกความแตกต่าง และจำแนกกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในตักแตนได้ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ที่ 61 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ตักแตนบอลแถบน้ำตาล (SRG1) และตักแตนข้าว (SRG5) กลุ่มที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ที่ 77 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ตักแตนแมโจแพร่ (SRG2) และ ตักแตนฝ้าย (SRG4) และกลุ่มที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ที่ 69 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ตักแตนขาลายแข้งแดง (SRG3) และตักแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า (SRG6) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มตัวอย่างตักแตน ทั้งหมด 6 ชนิด

อภิปรายผล

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มด้กัแตนโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ในตำแหน่งยีน COI พบว่าไพรเมอร์ LCO1490 และ HCO2198 แสดงผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ที่มีความยาวประมาณ 589 bp. แต่ไม่สามารถวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อจำแนกตัวอย่างตัวอย่างของด้กัแตนได้ เนื่องจากเกิดช่องว่างระหว่างลำดับเบส และเกิดการขาดหายของลำดับเบส จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ และจัดจำแนกความแตกต่างของด้กัแตนได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ V.C. Muhammedali, 2017 ที่ได้ทำการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อระบุตัวตนของด้กัแตนหนวดยาว (*Conocephalus dorsalis*) (Orthoptera: Tettigoniidae) ในประเทศอินเดีย โดยใช้ยีน Cytochrome Oxidase Subunit I สามารถใช้ไพรเมอร์ดังกล่าวจำแนก และแยกความแตกต่างในกลุ่มตัวอย่างด้กัแตนได้ สาเหตุดังกล่าวเป็นเพราะการคัดเลือกตัวอย่าง รวมถึงการเลือกใช้ไพรเมอร์ LCO1490 และ HCO2198 ไม่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในกลุ่มตัวอย่าง รวมทั้ง วิเคราะห์ความแตกต่างในกลุ่มตัวอย่างไว้เบื้องต้นได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาด้วยไพรเมอร์ SR-J-14233 และ SR-N-14588 พบว่าไพรเมอร์ดังกล่าวหลังจากเพิ่มปริมาณขึ้นส่วนดีเอ็นเอ วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วมีประสิทธิภาพที่เหมาะสมต่อการจำแนกความแตกต่างในกลุ่มตัวอย่างด้กัแตนที่ได้ทำการศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Steven A. Trewick, 2001) ที่ได้ทำการศึกษา ด้กัแตนที่ใกล้สูญพันธุ์ (Acrididae: Brachaspis) ตามอนุกรมวิธานโมเลกุล และการอนุรักษ์ โดยไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถจัดจำแนก และแยกความแตกต่างในกลุ่มด้กัแตนที่ได้ทำการศึกษาได้ถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธาน

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการระบุชนิดของด้กัแตน ภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยการใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่งยีน COI จากด้กัแตนทั้งหมด 6 ชนิด ใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดทั้งหมด 2 ไพรเมอร์ ได้แก่ LCO1490 HCO2198 และ SR-J-14233 SR-N-14588 วิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของด้กัแตนในฐานข้อมูล GenBank ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของด้กัแตนที่รวบรวมได้โดยการสร้างแผนโคกรม พบว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถจำแนกชนิดของด้กัแตนจำนวน 6 ชนิด ได้อย่างถูกต้องตามการจัดเรียงทางอนุกรมวิธาน โดยการตรวจสอบข้อมูลการจัดกลุ่มสปีชีส์ ซึ่งสามารถจำแนกได้จากไพรเมอร์ SR-J-14233 SR-N-14588 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์ประมาณ 370 คู่เบส และสามารถจำแนกกลุ่มของด้กัแตนได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ที่ 61 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ด้กัแตนบอลแถบน้ำตาล (SRG1) และด้กัแตนขาว (SRG5) กลุ่มที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ที่ 77 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ด้กัแตนแม่โจ้แพร่ (SRG2) และด้กัแตนฝ้าย (SRG4) และกลุ่มที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ที่ 69 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ด้กัแตนขาลายแข่งแดง (SRG3) และด้กัแตนหน้าเอียงขาสีฟ้า (SRG6) อย่างไรก็ตามการศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการระบุชนิดของด้กัแตน ภายในบริเวณเขตมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยการใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด จำแนกกลุ่มด้กัแตนทั้งหมด 6 ชนิด ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะสามารถนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐาน และเป็นประโยชน์ในด้านการศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของด้กัแตนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ หลักสูตรสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ให้การเอื้อเฟื้อสถานที่ สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิเคราะห์ผลในการทดลอง และขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ และครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจเสมอมา ตลอดจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เกรียงไกร สุวรรณภักดี. (2559). คู่มือแมลง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สารคดี.

ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์และวิชัย จันทรีโต. (2558). ความหลากหลายของปลาและการจำแนกชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด
ในน้ำตกธารสวรรค์ อุทยานแห่งชาติดอยภูนาง จังหวัดพะเยา. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา [www ://thailandtourismd
irectohttps://thailan](http://www.thailandtourismdirectohttps://thailan) (13 กันยายน 2562)

วันชัย ไพศรีจันทร์. (2559). การระบาดของศัตรูพืช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา [www. matichon.co.th/ publicizenews_
news_587869](http://www.matichon.co.th/publicizenews_news_587869) (12 กันยายน 2562)

สุนัดดา เขาวลิต และคณะ (2556). ศึกษาความหลากหลายชนิดของตั๊กแตนหนวดยาว Arcrididae [ออนไลน์]. แหล่งที่มา
www.search?srfr=ACYBGNscv2Nnz UPgw0mLaxyOOPj1 (13 กันยายน 2562)

แหลมไทย อาษานอก และคณะ (2558). ตั๊กแตนแม่โจ้แพร่สกุลใหม่ของโลก. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา [www.thairath.co.th
/content/542923](http://www.thairath.co.th/content/542923) (8 กันยายน 2562)

Brunner von Wattenwyl (1888). ตั๊กแตนบอลแถบน้ำตาล. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://orthoptera. speciesfile.org
Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1131902](http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1131902) (28 ธันวาคม 2562)

Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S.L. Ball, and J.R. deWaard. (2003). Biological identifications through DNA
barcodes.Proc. R. Soc. Lond. B 270:313-321.

Kumar, S., G. Stecher, and K. Tamura (2016) MEGA7 molecular evolutionary genetics analysis version 7.0
for bigger datasets. Mol. Biol. Evol. 33: 1870-1874.

V.C. Muhammedal (2017). DNA Barcoding for identification of Cynocephalus dorsal is (Orthoptera: Tettig
oniidae) from Northern Kerala using Cytochrome Oxidase Subunit I Gene Novosibirsk State Univ
ersity (2005). Molecular phylogeny of Palaearctic genera of Gomphocerinae grasshoppers
(Orthoptera, Acrididae).

Steven A. Trewick, (2001). Identity of an endangered grasshopper (Acrididae: Brachaspis): Taxonomy
molecules and conservation.

Walk (1870). Specief Diversity of Grasshoppers Family ArcrididaeIn The Southern Part Thailand
moleculeules and conservation.

Walker (1870). ตั๊กแตนฝ้าย .[ออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://orthoptera.speciesfile.org/Common/Basic/> (28 ธันวาคม
2562)

ที่ อว ๐๖๑๗/๖๐๘/๒๕๖๓



มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
มอบเกียรติบัตรฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

ณัฐธินันท์ วันเพ็ญ อภาณุช วงศ์ศรี สุมาลี พิมพันธ์ และ สุรเชษฐ เอี่ยมสำอาง

ได้เข้าร่วมนำเสนอผลงานวิจัยแบบบรรยาย

เรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของตักแตนโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด
ในงานประชุมวิชาการระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ ๖ ประจำปี พ.ศ. ๒๕๖๓

ให้ไว้ ณ วันที่ ๑๒ กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๖๓

John

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญา ศรีสมบัติ)

ผู้อำนวยการสำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ

รักษาราชการแทนอธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ที่ อว 0617.8/ว 77



สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อำเภอเมืองฯ จังหวัดพิษณุโลก 65000

28 กุมภาพันธ์ 2563

เรื่อง แจ้งผลการพิจารณาตีพิมพ์เผยแพร่ในรายงานสืบเนื่อง (Proceedings)

เรียน คุณณัฐฉิณันท์ วันเพ็ญ , อ. สุรพงษ์ เว็ชมล้ำาว

ตามที่ท่านได้ส่งผลงานวิจัย เรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการระบุชนิดของตักแตนโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด เพื่อนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการระดับชาติ พิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6 ประจำปี พ.ศ. 2563 ในวันพุธที่ 12 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 นั้น

บัดนี้ คณะกรรมการดำเนินงานจัดงานประชุมฯ ได้พิจารณาผลงานวิจัยดังกล่าวเรียบร้อยแล้ว เห็นสมควรให้งานวิจัยของท่านตีพิมพ์เผยแพร่ในรายงานสืบเนื่อง (Proceedings) ในงานประชุมวิชาการระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย ครั้งที่ 6 ประจำปี พ.ศ. 2563

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อันวดี ศรีธาวิรัตน์)

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

โทรศัพท์ 055 - 267 - 038 ต่อ 7230

โทรสาร 055 - 267 - 038

e-mail : pibulresearch@gmail.com