มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทุนวิจัยหมวดเงินอุดหนุน (ว.1)

ประจำปีงบประมาณ 2560

การสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งประเทศไทย

Endophallus pigments accumulation of honeybee in Thailand

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.มนัญญา	เพียรเจริญ	หัวหน้าโครงการ
ดร.ธัญญารัตน์	คงขุนเทียน	ผู้ร่วมโครงการ
ดร.วรากร	รัตนอารีกุล	ผู้ร่วมโครงการ
ดร.ทรงพล	ชื่นคำ	ผู้ร่วมโครงการ
รศ.ดร.กันทิมา	สุวรรณพงศ์	ผู้ร่วมโครงการ
นางสาวสุภาวดี	ชมพูพันธุ์	ผู้ร่วมโครงการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ตุลาคม 2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งประเทศไทย

Endophallus pigments accumulation of honeybee in Thailand

จัดทำโดย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

คณะผู้วิจัย

มนัญญา เพียรเจริญ ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน วรากร รัตนอารีกุล

ทรงพล ชื่นคำ กันทิมา สุวรรณพงศ์ และ สุภาวดี ชมภูพันธุ์

เสนอ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ตุลาคม 2562

การสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งประเทศไทย

มนัญญา เพียรเจริญ[1] ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน[1] วรากร รัตนอารีกุล[1] ทรงพล ชื่นคำ[1] กันทิมา สุวรรณพงศ์[2] และสุภาวดี ชมภูพันธุ์[1]

บทคัดย่อ

รงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์บริเวณต่อม cornua ของผึ้งตัวผู้มีสีเหลืองถึงสีส้มซึ่งมีความคล้ายคลึงกันระหว่างผึ้งแต่ละชนิดแต่ก็ยังมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ความแตกต่างของสีนี้อาจเกิดจากการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่ต่างกันในผึ้งแต่ละชนิด การวิจัยนี้จึงศึกษาสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้ง 3 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) และผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) โดยเปรียบเทียบปริมาณและสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุระหว่างชนิดผึ้ง ผลการดลองพบว่าสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์มี 3 peak ที่เห็นชัดเจนในผึ้งทุกชนิด อย่างไรก็ตามความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันระหว่างผึ้งแต่ละชนิด นอกจากนี้ได้ศึกษาการสะสมรงควัตถุในผึ้งแต่ละชนิดที่มีอายุแตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่าผึ้งมีการสะสมรงควัตถุที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับอายุและชนิดของผึ้ง จึงสรุปได้ว่ารงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์บริเวณต่อม cornua เป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวในผึ้งแต่ละชนิดทั้งในเรื่องการสะสมรงควัตถุและความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสง

คำสำคัญ : ผึ้ง ผึ้งตัวผู้ ต่อม cornua รงควัตถุ การดูดกลืนแสง

[1]มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150
[2]มหาวิทยาลัยบูรพา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ 169 ถนนหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Endophallus pigments accumulation of honeybee in Thailand

Mananya Phiancharoen[1]*, Tanyarat Khongkhuntian[1], Warakorn Rattanaareekul[1], Songpol Chuenkhum[1]
Guntima Suwannapong[2] and Supawadee Chompopun[1]

Abstract

The pigment of the cornua gland of drone has a yellow to orange color. The similarity of the color among the species is obvious, but there are some slightly differences. These minor differences in color may be caused by the differences in light absorption among the species' pigments. This research determined the cornua pigment's absorption spectra in three species, *Apis mellifera, Apis cerana and Apis florea*. Then, we compared the pigments across the species and recorded the results. The absorption spectra of the cornua pigment showed obviously three peaks in all species, however they were found in different wavelength. We also studied the accumulation of pigment for each species at different ages. The result showed that the accumulation of pigment was relatively different depended on the age and species. In summary, the cornua pigment is the unique characteristic for each species in terms of spectra absorption and the pigment accumulation.

Keywords : Honeybees, drone, cornua gland, pigment, absorption

[1]King Mongkut's University of Technology Thonburi Ratchaburi Campus, Rang Bua Subdistrict, Chom Bueng District, Ratchaburi 70150, Thailand.

[2]Burapha University, Department of Biology, Faculty of Science, 169 Bangsaen Road, Saen Suk Subdistrict, Mueang District, Chonburi 20131, Thailand.

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

โครงการวิจัยการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2560 ขอขอบคุณ Prof. Dr. Nikolaus Koeniger และ Dr. Gudrun Koeniger ที่ให้คำปรึกษา ขอขอบคุณอาจารย์ละเอียด เพ็งโสภา ที่ให้ความช่วยเหลือและดูแลการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการวิจัย และขอขอบคุณบุคลากรทุกท่านที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุกด้าน ทำให้การดำเนินโครงการวิจัยสามารถบรรลุผลและประสบความสำเร็จไปด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

31 ตุลาคม 2562

สารบัญ (Table of Contents)

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญแผนภูมิ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	5
บทที่ 4 ผลการวิจัย	11
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	16
เอกสารอ้างอิง	18

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

ภาพที่ **หน้า**

3.1 เซลล์ผึ้งตัวผู้ในระยะดักแด้ของผึ้งมิ้ม 5
3.2 เซลล์ผึ้งตัวผู้ในระยะดักแด้ของผึ้งพันธุ์ 6
3.3 เซลล์ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้มระยะดักแด้ที่ใกล้ออกมาเป็นตัวเต็มวัยอยู่ในกล่องกักเก็บ 6
3.4 เซลล์ผึ้งตัวผู้ระยะดักแด้ของผึ้งมิ้มแต่ละรังแยกใส่ในกล่องกักเก็บภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 7
3.5 ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้มที่เพิ่งออกมาเป็นตัวเต็มวัยได้รับการติดเครื่องหมายตัวเลขบริเวณส่วนหลัง 7
3.6 ผึ้งตัวผู้ของผึ้งพันธุ์ที่ติดเครื่องหมายสีต่างๆ อยู่ในรังของผึ้งพันธุ์ 8
3.7 ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้มที่ติดเครื่องหมายสีต่างๆ อยู่ในรังของผึ้งมิ้ม 8
3.8 แสดงตำแหน่งที่พบรงควัตถุของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของผึ้งพันธุ์อายุ 8 วัน 9
3.9 การแช่อวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ผึ้งพันธุ์ในสารละลาย Dichloromethane 9
3.10 แสดงรงควัตถุของอวัยวะสืบพันธุ์ตัวผู้ของผึ้งพันธุ์ในหลอด cuvette สำหรับวัดความสามารถในการดูดกลืนแสง 10

สารบัญแผนภูมิ (List of chart)

แผนภูมิที่ **หน้า**

4.1 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้ม (*A. florea*) ตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 21 วัน 11

4.2 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้ของผึ้งโพรง (*A. cerana*) ตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 16 วัน 13

4.3 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้ของผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 20 วัน 14

บทที่ 1 บทนำ
(Introduction)

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ผึ้งเป็นแมลงสำคัญก่อให้เกิดมูลค่าเศรษฐกิจทั่วโลก ผลิตภัณฑ์จากผึ้งมีหลายชนิด ผลิตภัณฑ์ผึ้งที่นำมารับประทานได้โดยตรง คือ น้ำผึ้ง นมผึ้ง เกสรผึ้ง ผลิตภัณฑ์ผึ้งที่ต้องนำมาแปรรูป คือ พรอพอลิส (นำมาทำยาและผลิตภัณฑ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย) ไขผึ้ง (ทำเทียนและเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์การเคลือบเงา) และพิษผึ้ง (นำมาทำยาและใช้รักษาโรค) นอกจากนี้ผึ้งเป็นแมลงผสมเกสรสำคัญช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรและรักษาความสมดุลของระบบนิเวศ ผึ้งในสกุล *Apis* sp. ทั่วโลกมีทั้งหมด 11 ชนิด ทวีปยุโรป ทวีปอเมริกา และทวีปแอฟริกา มีผึ้งเพียง 1 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) สำหรับผึ้งอีก 10 ชนิดพบในทวีปเอเชีย ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพด้านผึ้งสูง มีผึ้งพื้นเมือง 4 ชนิด คือ ผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*) ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) และผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) และมีผึ้งนำเข้า 1 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ผึ้งเป็นแมลงสังคมชั้นสูง (eusocial insect) มี 3 วรรณะ คือ ผึ้งงาน ผึ้งนางพญา และผึ้งตัวผู้ แต่ละวรรณะมีความสำคัญและแบ่งหน้าที่อย่างชัดเจน จำนวนประชากรของผึ้งงานและผึ้งตัวผู้ขึ้นอยู่กับชนิดของผึ้ง ผึ้งหนึ่งรังประกอบด้วยผึ้งนางพญาหนึ่งตัว ผึ้งนางพญาเป็นผึ้งเพศเมีย มีหน้าที่ผสมพันธุ์ วางไข่และควบคุมสังคมของผึ้งภายในรังให้อยู่ในสภาพปกติโดยใช้ฟีโรโมน (pheromone) ผึ้งงานเป็นผึ้งเพศเมีย ผึ้งงานหนึ่งตัวมีหลายหน้าที่ขึ้นอยู่กับช่วงอายุของผึ้ง เช่น ทำความสะอาดรัง เลี้ยงดูตัวอ่อน สร้างรัง หาอาหาร และปกป้องรัง สำหรับผึ้งตัวผู้เป็นผึ้งเพศผู้มีหน้าที่เพียงอย่างเดียว คือ ผสมพันธุ์ หลังจากผสมพันธุ์กับผึ้งนางพญาเสร็จผึ้งตัวผู้ตาย ผึ้งตัวผู้พบภายในรังในช่วงฤดูผสมพันธุ์ประมาณเดือนมีนาคมถึงกรกฎาคม เมื่อหมดช่วงฤดูผสมพันธุ์ผึ้งตัวผู้จะถูกกำจัดออกไปจากรัง หากปราศจากผึ้งตัวผู้ ผึ้งก็ไม่สามารถขยายพันธุ์ดำรงเผ่าพันธุ์และถ่ายทอดพันธุกรรมไปสู่รุ่นต่อไปได้ หรือถ้าผึ้งตัวผู้นั้นอ่อนแอ พันธุกรรมไม่ดี ก็ทำให้ลูกหลานออกมาอ่อนแอเกิดโรคได้ง่าย เนื่องจากผึ้งผสมพันธุ์กันกลางอากาศจึงไม่สามารถคัดเลือกผึ้งตัวผู้และผึ้งนางพญาเพื่อการผสมพันธุ์ได้ ปัจจุบันมีเทคนิคการผสมเทียมผึ้งทำให้สามารถคัดเลือกผึ้งนางพญาและผึ้งตัวผู้ที่ใช้ผสมพันธุ์มาจากรังที่แข็งแรงและสายพันธุ์ที่ดี นอกจากนี้ยังสามารถวางแผนการผสมพันธุ์ในช่วงเวลาที่เหมาะสมเพื่อขยายพันธุ์และการจับผึ้งตัวผู้ในวัยเจริญพันธุ์มาเก็บน้ำเชื้อเพื่อใช้ในการผสมเทียมกับผึ้งนางพญา กาวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ในผึ้ง 3 ชนิด คือ ผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ เหตุผลที่ศึกษาผึ้ง 3 ชนิดนี้ เพราะสามารถนำมาเลี้ยงได้ โดยเฉพาะผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ที่นำมาเลี้ยงในครัวเรือนและเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรม สำหรับเหตุผลที่ศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในอายุที่ต่างกันและต่างชนิดกันเนื่องจากด้านชีววิทยาของผึ้งนั้นผึ้งแต่ละชนิดมีลักษณะทางกายภาพ พฤติกรรม พันธุกรรม และมีลักษณะเด่นและด้อยที่แตกต่างกัน จึงศึกษาองค์ความรู้พื้นฐานทางด้านการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์เพื่อเป็น

องค์ความรู้ด้านความหลากหลายทางชีวภาพของผึ้งและนำความรู้ที่ได้มาใช้เป็นฐานข้อมูลในการสร้างคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้งเพิ่มเติมในอนาคต

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้ชนิดต่างๆ ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์
2. เพื่อเปรียบเทียบการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ในผึ้งต่างชนิดกัน
3. เพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้เป็นฐานข้อมูลการสร้างคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้ง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ตั้งแต่อายุแรกเกิดจนถึงวัยเจริญพันธุ์ในผึ้ง 3 ชนิด คือ ผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์

ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพด้านผึ้ง คือ มีผึ้งทั้งหมด 5 ชนิด ซึ่งในผึ้งแต่ละชนิดมีความแตกต่างทางด้านชีววิทยา เช่น มีลักษณะทางกายภาพ พฤติกรรม พันธุกรรม โดยมีลักษณะเด่นและด้อยแตกต่างกัน ทั้งในผึ้งงาน ผึ้งนางพญา และผึ้งตัวผู้ การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ซึ่งเป็นการศึกษาวิทยาศาสตร์ขั้นพื้นฐานเพื่อเป็นองค์ความรู้ด้านความหลากหลายด้านชีวภาพในส่วนของการวิวัฒนาการที่มากขึ้นในผึ้งสกุล *Apis* sp. ความรู้ที่ได้จากการวิจัยจะนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลในการสร้างในการสร้างคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้งเพิ่มเติมในอนาคต เพื่อพัฒนาแนวทางประเมินดัชนีชีวัดด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ความรู้พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ทางด้านการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ต่างชนิดตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ในผึ้ง 3 ชนิดในประเทศไทย
2. องค์ความรู้ที่ได้เกี่ยวกับรงควัตถุสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการสร้างคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้งเพิ่มเติมในอนาคต

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. หน่วยงานทางวิชาการด้านผึ้งทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ
2. กรมส่งเสริมการเกษตรและกรมวิชาการเกษตร

ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

องค์ความรู้ที่ได้เกี่ยวกับรงควัตถุสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการสร้างคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้งเพิ่มเติมในอนาคต

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม
(Literature Review)

ผึ้งให้น้ำหวาน (honeybee) เป็นแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและสร้างรายได้ให้กับประเทศทั่วโลกจากผลิตภัณฑ์ผึ้ง เช่น น้ำผึ้ง เกสรผึ้ง นมผึ้ง ไขผึ้ง พรอพอริส และพิษผึ้ง (สิริวัฒน์และคณะ 2551) ผึ้งเป็นแมลงสังคมชั้นสูง มี 3 วรรณะ คือ ผึ้งงาน ผึ้งนางพญา และผึ้งตัวผู้ ด้านชีววิทยาในหนึ่งรังประกอบด้วยผึ้งนางพญาหนึ่งตัว จำนวนประชากรของผึ้งงานและผึ้งตัวผู้ขึ้นอยู่กับชนิดของผึ้ง ทุกวรรณะในสังคมมีความสำคัญและแบ่งหน้าที่อย่างชัดเจน ผึ้งนางพญามีหน้าที่สำคัญ คือ ผสมพันธุ์ วางไข่ให้ลูกหลานและควบคุมสังคมของผึ้งให้อยู่ในสภาพปกติโดยใช้ฟีโรโมน ผึ้งงานมีหลายหน้าที่ขึ้นอยู่กับช่วงอายุ คือ เลี้ยงดูตัวอ่อน ทำความสะอาดรัง สร้างรัง หาอาหาร และปกป้องรัง ผึ้งนางพญาและผึ้งงานเป็นผึ้งเพศเมียและมีเหล็กไน สำหรับผึ้งตัวผู้ไม่มีเหล็กใน มีลิ้นสั้นจึงไม่สามารถกินอาหารด้วยตนเองได้ จึงต้องได้รับการป้อนอาหารจากผึ้งงาน ผึ้งตัวผู้มีหน้าที่เพียงอย่างเดียว คือ ผสมพันธุ์ หลังจากผสมพันธุ์เสร็จผึ้งตัวผู้ตาย ผึ้งตัวผู้ถูกสร้างขึ้นในช่วงฤดูผสมพันธุ์เท่านั้น เมื่อผึ้งตัวผู้หมดความจำเป็นจะถูกกำจัดออกจากรังโดยผึ้งงานไม่ป้อนอาหารให้ผึ้งตัวผู้ หรือผึ้งงานจะดึงผึ้งตัวผู้ออกไปจากรัง ไม่ใช่เพียงผึ้งนางพญาที่มีความสำคัญ หากปราศจากผึ้งตัวผู้ ผึ้งก็ไม่สามารถขยายพันธุ์ ดำรงเผ่าพันธุ์และถ่ายทอดพันธุกรรมไปสู่รุ่นลูกหลานต่อไปได้ (Winston, 1991) ผึ้งมีพฤติกรรมการผสมพันธุ์ที่เป็นเอกลักษณ์ คือ ผึ้งนางพญาผสมพันธุ์กับผึ้งตัวผู้กลางอากาศ โดยผึ้งตัวผู้หลายตัว (หลักร้อยถึงหลักพันตัว) บินไปรอผึ้งนางพญากลางอากาศ บริเวณที่ผึ้งตัวผู้รวมตัวกันเพื่อผสมพันธุ์ เรียกว่า drone congregation area (DCA) ผึ้งนางพญาบริสุทธิ์บินไปผสมพันธุ์กับผึ้งตัวผู้บริเวณ DCA ผึ้งนางพญาปล่อยฟีโรโมนทำให้ผึ้งตัวผู้รู้ว่ามีผึ้งนางพญาช่วงเวลาและบริเวณ DCA มีความจำเพาะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับผึ้งแต่ละชนิด ผึ้งนางพญาบริสุทธิ์อายุ 3-7 วัน บินออกจากรังเพื่อไปผสมพันธุ์กับผึ้งตัวผู้ โดยผึ้งนางพญา 1 ตัวผสมกับผึ้งตัวผู้หลายตัว (6-20 ตัว) ขึ้นอยู่กับชนิดของผึ้ง เมื่อผึ้งตัวผู้ผสมพันธุ์เสร็จอวัยวะสืบพันธุ์ (endophallus) จะฉีกขาดหลังจากนั้นผึ้งตัวผู้ตกลงมาตาย เมื่อผสมพันธุ์เสร็จผึ้งนางพญาเก็บน้ำเชื้อไว้ในถุงเก็บน้ำเชื้อ (spermatheca) เพื่อใช้ผสมกับไข่ไปจนตลอดชีวิตโดยไม่บินไปผสมกับผึ้งตัวผู้อีกเลย การที่ผึ้งผสมพันธุ์กันกลางอากาศนั้นต้องมีกลไกที่ซับซ้อนช่วยในการเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะสืบพันธุ์ให้เชื่อมติดกันระหว่างการผสมพันธุ์ อีกทั้งเวลาของการผสมพันธุ์ใช้เวลาไม่เกิน 30 นาที (Woyke 1958, Tan 1999, Schlüns *et al*. 2005, Oldroyd and Wongsiri 2008, Tarpy *et al*. 2004, Koeniger *et al*. 2010)

ปัจจุบันผึ้งในสกุล *Apis* sp. มีการจัดจำแนกได้ 11 ชนิด คือ *Apis laboriosa*, *A. dorsata*, *Apis breviligula*, *A. mellifera*, *Apis nigrocinta*, *Apis koschevnikovi*, *Apis nuluensis*, *Apis indica*, *A. cerana A. florea* และ *A. andreniformis* (Koeniger and Koeniger 2000, Arias and Sheppard 2005, Lo *et al*., 2010) พบว่าในทวีปยุโรป ทวีปอเมริกา และทวีปแอฟริกา มีผึ้งเพียง 1 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ในทวีปเอเชียมีความหลากหลายทางชีวภาพของผึ้งสูง คือ มีผึ้งถึง 10 ชนิด ประเทศไทยจัดเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพด้านผึ้ง คือ มีผึ้ง 5 ชนิด เป็นผึ้งนำเข้า

1 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) และเป็นผึ้งพื้นเมือง 4 ชนิด คือ ผึ้งมิ้มเล็ก (*A. andreniformis*) ผึ้งมิ้ม (*A. florea*) ผึ้งโพรง (*A. cerana*) และผึ้งหลวง (*A. dorsata*) (Wongsiri, 1989) การจัดจำแนกกลุ่มของผึ้งมีหลายวิธีซึ่งใช้ผึ้งงานในการจัดจำแนก เช่น การใช้ลักษณะรูปร่างภายนอกตามสัณฐานวิทยา (morphometric) พฤติกรรมของผึ้ง การใช้ชีวโมเลกุลในการจัดจำแนกด้วยลักษณะทางกายภาพของยีนที่แสดงออกในผึ้งงานซึ่งเป็นการแสดงออกแบบ diploid แบ่งออกเป็น 3 subgenera คือ 1. Subgenus *Megapis* ผึ้งขนาดใหญ่ (the giant honeybees) มี 3 ชนิด ประกอบด้วย *A. laboriosa*, *A. dorsata* และ *A. breviligula* 2. Sugenus *Apis* ผึ้งขนาดกลาง (medium-sized honeybees) มี 6 ชนิด คือ *A. mellifera*, *A. koschevnikovi, A. nigrocinta*, *A. nuluensis, A. cerana*, และ *A. indica* และ 3. Subgenus *Micrapis* ผึ้งขนาดเล็ก (dwarf honeybees) มี 2 ชนิด คือ *A. andreniformis* และ *A. florea* (Skorikov 1929, Koeniger 1976, Ruttener 1988, Alexander 1991, Arias and Sheppard 2005, Oldroyd and Wongsiri 2006, Lo *et al*., 2010 ที่กล่าวมานั้นใช้ผึ้งงานในการจัดจำแนกกลุ่มของผึ้ง อย่างไรก็ตามลักษณะบางอย่างในทางกายภาพนั้นจะแสดงออกในผึ้งตัวผู้ในแบบ haploid ซึ่งปัจจุบันข้อมูลการศึกษาทางกายภาพแบบ haploid ในผึ้งตัวผู้มีน้อย Blenau และคณะ (2015) ได้ศึกษาองค์ประกอบของเปปไทน์และโปรตีนในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งพันธุ์ *A. mellifera* โดยใช้ Mass spectrophotometer พบว่าชนิดของเปปไทน์และโปรตีนแต่ละชนิดจะพบในส่วนประกอบของอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวผู้แตกต่างกัน นอกจากนี้อวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ บริเวณ cornua gland มีความแตกต่างกันในผึ้งแต่ละชนิด และบริเวณส่วนปลายของ cornua gland มีสีส้ม (Koeniger *et al*., 1990) จากการมองด้วยตาจะเห็นการเข้มของสีเพิ่มขึ้นเมื่อผึ้งเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ ซึ่งเป็นงานวิจัยที่จะช่วยเพิ่มเติมข้อมูลการแสดงลักษณะทางกายภาพแบบ haploid ของผึ้งตัวผู้ โดยศึกษาผึ้ง 3 ชนิด คือ ผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ เหตุผลที่เลือกศึกษาผึ้ง 3 ชนิดนี้ เพราะเป็นผึ้งที่สามารถนำมาเลี้ยงได้ในครัวเรือนและอุตสาหกรรม สำหรับเหตุผลที่ศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในอายุที่ต่างกันและในผึ้งต่างชนิดกัน เนื่องจากด้านชีววิทยาผึ้งแต่ละชนิดมีลักษณะทางกายภาพ พฤติกรรม พันธุกรรม และมีลักษณะเด่นและด้อยแตกต่างกัน จึงต้องการศึกษาองค์ความรู้พื้นฐานทางด้านการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์เพื่อเป็นองค์ความรู้ด้านความหลากหลายชีวภาพ ของผึ้ง และนำความรู้ที่ได้มาใช้เป็นฐานข้อมูลในการสร้างคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้งเพิ่มเติมในอนาคต

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย
(Materials and Method)

สิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษา

ผึ้ง 3 ชนิด คือ ผึ้งมิ้ม (*A. florea*) ผึ้งโพรง (*A. cerana*) และผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*)

พื้นที่ศึกษา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การจัดเตรียมรังผึ้งที่มีเซลล์ของผึ้งตัวผู้

จัดเตรียมรังผึ้งที่มีระยะดักแด้ของผึ้งตัวผู้ เพราะผึ้งสกุล Apis *sp.* ไม่พบผึ้งตัวผู้ตลอดปีแต่จะพบในช่วงฤดูผสมพันธุ์เท่านั้น คือ ช่วงประมาณเดือนเมษายน-กรกฎาคม ผึ้งตัวผู้ที่ใช้ในการศึกษาต้องเกิดจากการวางไข่ของผึ้งนางพญาไม่ใช่เกิดจากการวางไข่ของผึ้งงาน การจัดเตรียมรังผึ้งที่มีเซลล์ของผึ้งตัวผู้ มี 2 วิธี คือ 1. ซื้อรังผึ้งมาเลี้ยง ทำการบริหารจัดการผึ้งให้มีสภาพแข็งแรง และรอจนผึ้งนางพญามีการวางไข่เป็นผึ้งตัวผู้ หรือ 2. ซื้อรังผึ้งที่มีเซลล์ของผึ้งตัวผู้ที่เกิดจากการวางไข่ของผึ้งนางพญา

รูปที่ 3.1 เซลล์ผึ้งตัวผู้ในระยะดักแด้ของผึ้งมิ้ม (บริเวณภายในกรอบสี่เหลี่ยมสีแดง)

รูปที่ 3.2 เซลล์ผึ้งตัวผู้ในระยะดักแด้ของผึ้งพันธุ์ (บริเวณภายในกรอบวงกลมสีส้ม)

3.2 การจัดเตรียมผึ้งตัวผู้เพื่อทำการทดลอง

หลังจากได้รังผึ้งที่มีเซลล์ผึ้งตัวผู้แล้ว ตัดคอนหรือบริเวณของรังที่มีเซลล์ผึ้งตัวผู้ในระยะดักแด้ออกจากรังและนำมาเก็บไว้ที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator) ที่อุณหภูมิช่วง 34-35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70%

รูปที่ 3.3 เซลล์ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้มระยะดักแด้ที่ใกล้ออกมาเป็นตัวเต็มวัยอยู่ในกล่องกักเก็บ

รูปที่ 3.4 เซลล์ผึ้งตัวผู้ระยะดักแด้ของผึ้งมิ้มแต่ละรังแยกใส่ในกล่องกักเก็บ
ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ

เมื่อผึ้งตัวผู้ออกจากเซลล์เป็นตัวเต็มวัย ติดเครื่องหมายสีที่มีหมายเลขลงบนส่วนอกด้านหลัง (thorax) ของผึ้งตัวผู้ที่เพิ่งออกเป็นตัวเต็มวัยในแต่ละวันเพื่อให้รู้อายุของผึ้งตัวผู้เพื่อนำมาใช้ในการศึกษา

รูปที่ 3.5 ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้มที่เพิ่งออกมาเป็นตัวเต็มวัยได้รับการติด
เครื่องหมายสีเหลืองที่มีตัวเลขบริเวณส่วนหลัง

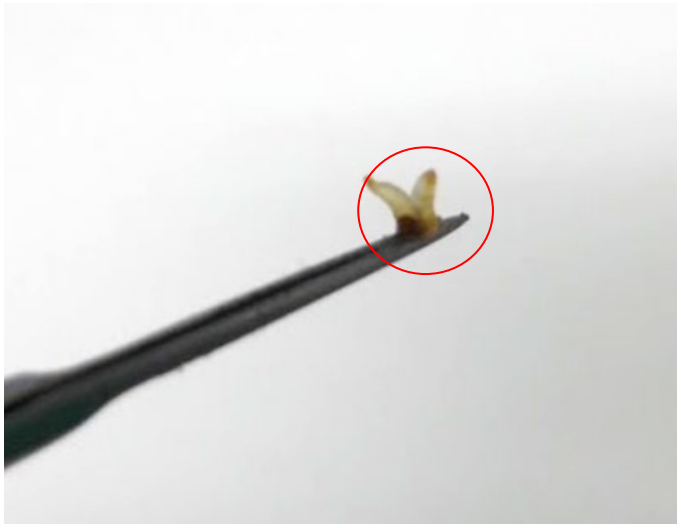
จากนั้นนำผึ้งตัวผู้ที่ติดเครื่องหมายไปฝากเลี้ยงในรังผึ้งชนิดเดียวกันกับผึ้งตัวผู้เพื่อให้ผึ้งงานดูแลเลี้ยงดูผึ้งตัวผู้ เพื่อเก็บตัวอย่างผึ้งตัวผู้ตามอายุตามที่ต้องการตามวันที่กำหนดโดยดูจากเครื่องหมายสีที่ติดไว้บริเวณส่วนหลังเพื่อนำมาเก็บอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งแต่ละชนิด

รูปที่ 3.6 ผึ้งตัวผู้ของผึ้งพันธุ์ที่ติดเครื่องหมายสีต่างๆ อยู่ในรังของผึ้งพันธุ์

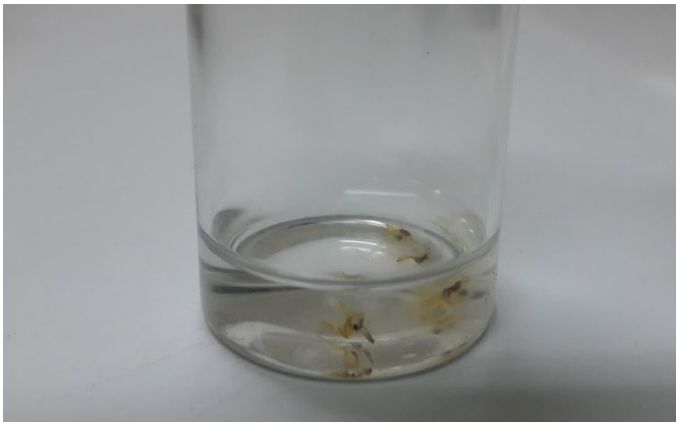
รูปที่ 3.7 ผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้มที่ติดเครื่องหมายสีต่างๆ อยู่ในรังของผึ้งมิ้ม

3.3 การเก็บอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งแต่ละชนิด เพื่อสกัดรงควัตถุที่สะสมอยู่ในอวัยวะสืบพันธุ์

เก็บผึ้งตัวผู้ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยอายุไม่เกินหนึ่งวันจนถึงวัยเจริญพันธุ์ตามอายุที่กำหนดไว้ โดยหนึ่งชุดของตัวอย่างเก็บจากผึ้งรังเดียวกันและมีอายุเท่ากันจำนวนสองตัว จากนั้นนำผึ้งตัวผู้มาบีบบริเวณส่วนท้ายเพื่อให้อวัยวะสืบพันธุ์โผล่พ้นออกมานอกลำตัวตรงบริเวณรูเปิดส่วนท้องปล้องสุดท้าย นำกรรไกรมาตัดอวัยวะสืบพันธุ์ (endophallus) ให้เหลือเพียงบริเวณที่มีการสะสมรงควัตถุ คือ cornua gland คีบ cornua gland ด้วยปากคีบและนำมาแช่ไว้ในสารละลาย Dichloromethane (DCM) ปริมาตร 2 ml ต่ออวัยวะสืบพันธุ์ 2 ตัว (อัตราส่วน 1:1) เป็นเวลา 5 วัน เพื่อสกัดรงควัตถุ



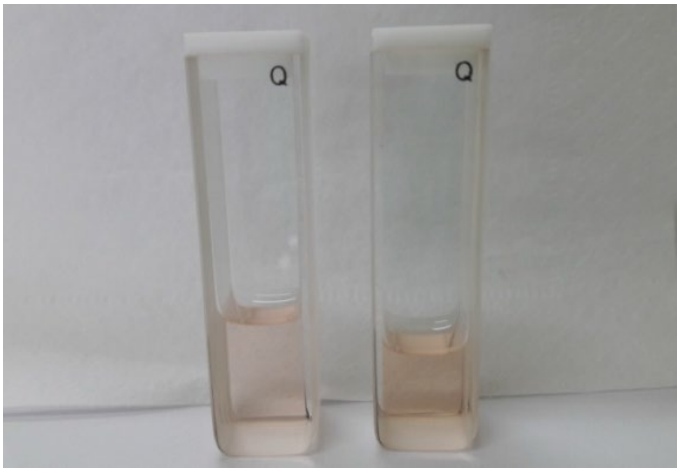
รูปที่ 3.8 แสดงตำแหน่งที่พบรงควัตถุของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของผึ้งพันธุ์อายุ 8 วัน



รูปที่ 3.9 การแช่อวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ผึ้งพันธุ์ในสารละลาย Dichloromethane

3.4 การวัดความสามารถในการดูดกลืนแสง (absorbance) และการส่องผ่าน (transmittance)

หลังแช่อวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ 5 วัน นำอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ออกจากขวดให้เหลือไว้เพียงสารสกัดรงควัตถุที่ละลายอยู่ในสารละลาย DCM นำมาวัดการดูดกลืนแสงและการส่องผ่านโดยใช้ spectrophotometer (Thermo scientific, Genesys 10S *UV-VIS*) โดยวัดในช่วงแสงเหนือม่วงจนถึงแสงขาว (UV-Visible light) ความยาวคลื่นช่วง 190-1100 นาโนเมตร เพื่อศึกษาคุณลักษณะเฉพาะเกี่ยวกับความสามารถในการดูดกลืนแสงและการส่องผ่านของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งแต่ละชนิดที่อายุต่าง ๆ กันตั้งแต่เพิ่งออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์



รูปที่ 3.10 แสดงรงควัตถุของอวัยวะสืบพันธุ์ตัวผู้ของผึ้งพันธุ์ในหลอด cuvette สำหรับวัดความสามารถในการดูดกลืนแสง

3.5 การศึกษาการสะสมของรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้อายุต่างๆ

นำข้อมูลความสามารถการดูดกลืนแสงและการส่องผ่านของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ในผึ้งแต่ละชนิดมาวิเคราะห์ผลเพื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนการสะสมรงควัตถุในช่วงอายุต่างๆ

3.6 การศึกษาเพื่อจำแนกลักษณะของพันธะเคมีในโมเลกุลของรงควัตถุที่ผึ้งตัวผู้แต่ละชนิดผลิตและสะสมด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

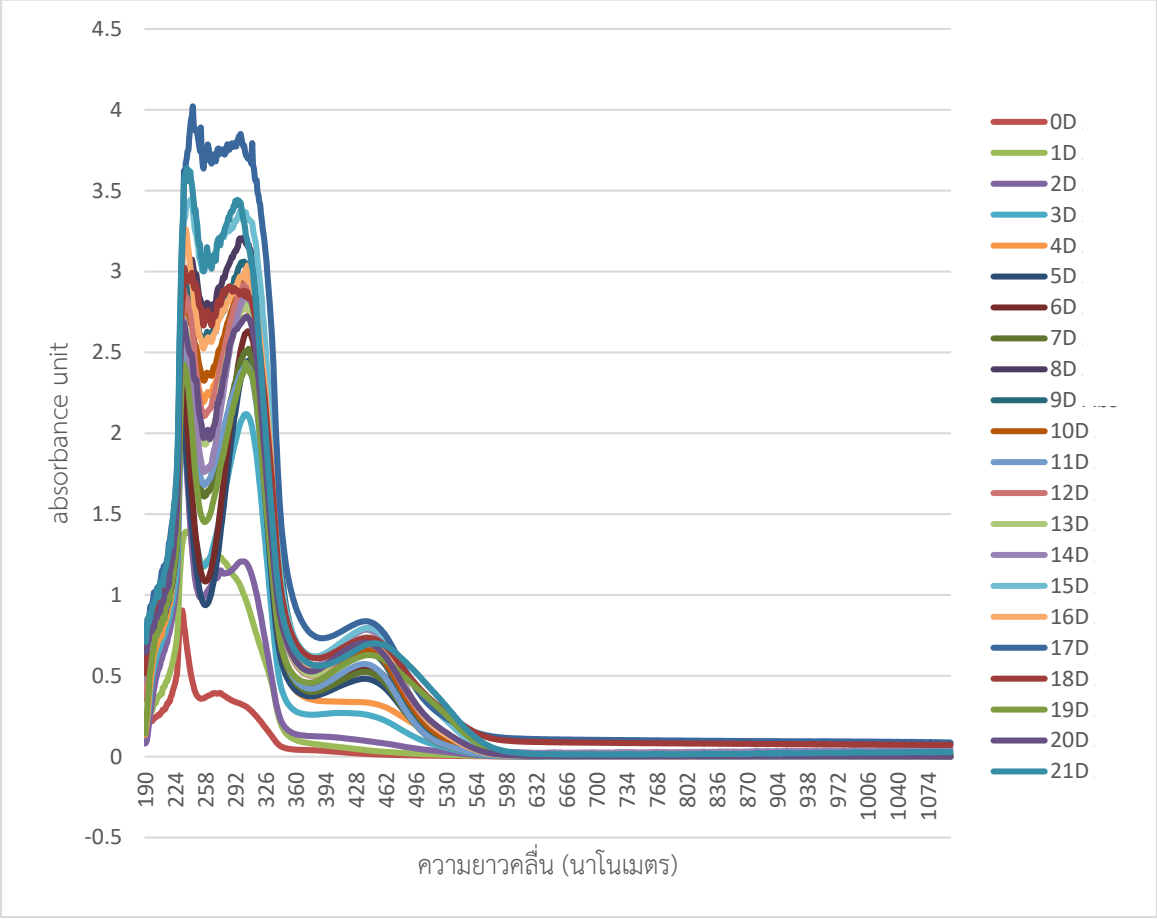
นำรงควัตถุที่สกัดด้วย Dichloromethane มาตรวจวัดด้วยเทคนิค FTIR โดยส่งวิเคราะห์ นำผลที่ได้มาอ่านผลเปรียบเทียบกับหมู่ฟังก์ชันเคมีสามัญต่างๆ เพื่อระบุหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุลของรงควัตถุ

บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล
(Results and Discussion)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรง และ ผึ้งพันธุ์ในช่วงอายุต่างๆ ตั้งแต่เพิ่งออกมาเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์

4.1 ผลการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้ม

นำสารสกัดรงควัตถุในสารละลาย DCM ของผึ้งมิ้มตัวผู้ที่มีอายุตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 21 วัน (n= 6, จำนวน 6 รัง) มาวัดค่าดูดกลืนแสง แสดงค่าการดูดกลืนแสงตามแผนภูมิที่ 4.1

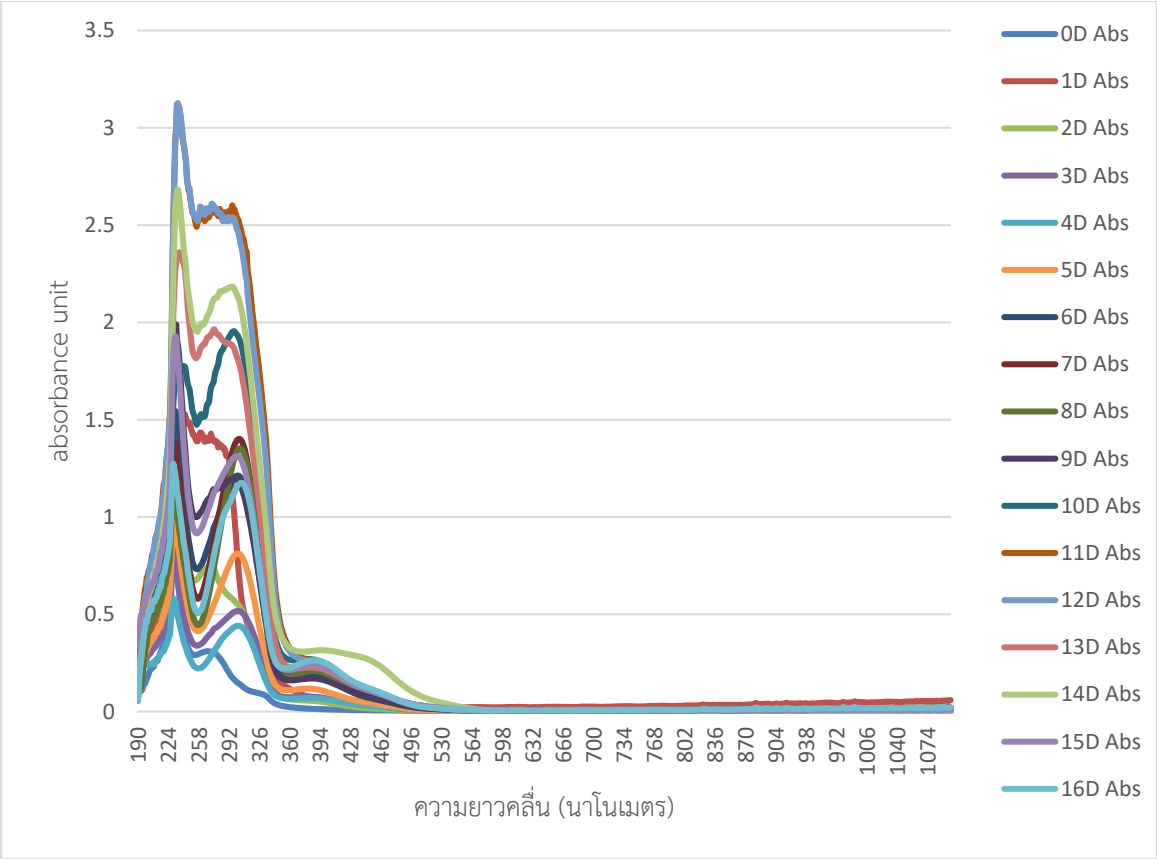


แผนภูมิ 4.1 รูปแบบการดดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งมิ้ม (*A. florea*) ตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 21 วัน

จากการวัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งมิ้มตัวผู้ในช่วงอายุตั้งแต่เริ่มออกจากเซลล์ (0 วัน) จนถึง 21 วัน พบว่า ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้สูง คือ ที่ความยาวคลื่น 232 305 และ 445 นาโนเมตร โดยพบว่าที่ความยาวคลื่นช่วง 232 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 21 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 17 15 16 18 และ 8 วัน ความยาวคลื่นช่วง 305 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 17 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 15 21 9 8 และ 16 วัน ความยาวคลื่นช่วง 445 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 18 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 16 15 14 19 และ 17 วัน

4.2 ผลการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งโพรง

นำสารสกัดรงควัตถุในสารละลาย DCM ของผึ้งโพรงตัวผู้ที่มีอายุตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัย จนถึงอายุ 16 วัน (n= 3, จำนวน 3 รัง) มาวัดค่าดูดกลืนแสง แสดงค่าการดูดกลืนแสงตามแผนภูมิที 4.2

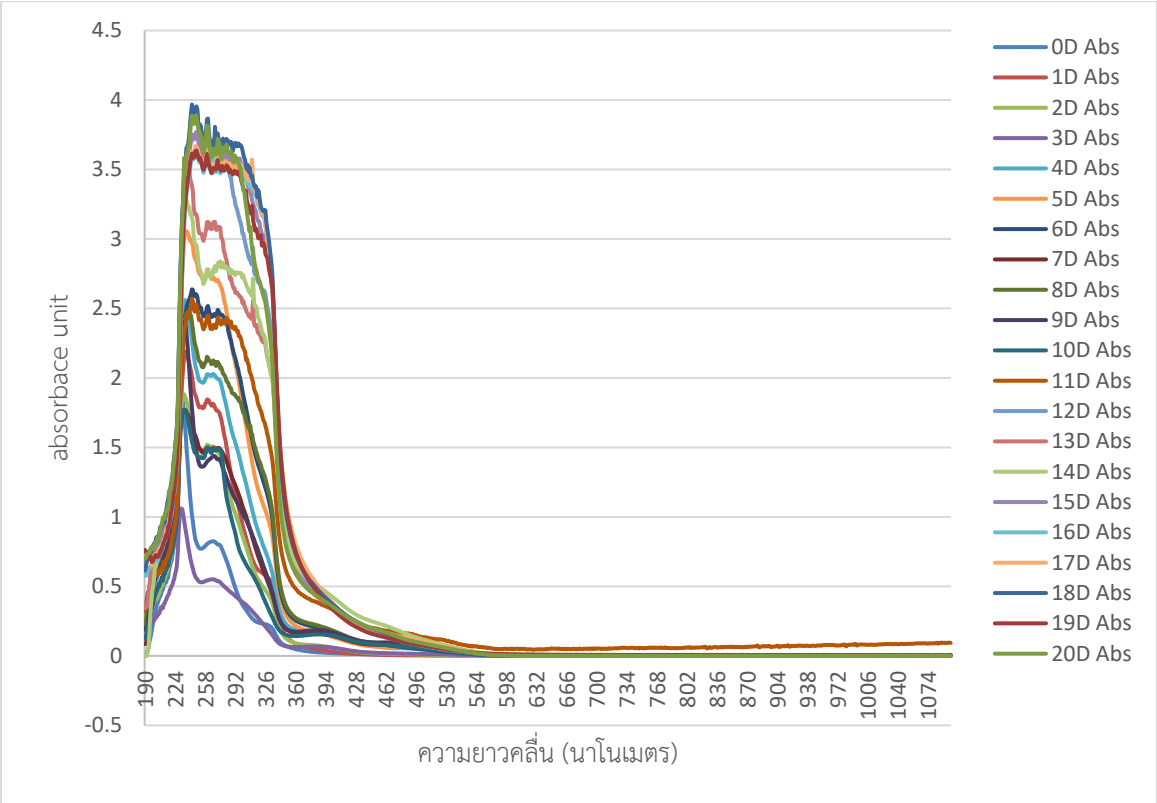


แผนภูมิ 4.2 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งโพรง (*A. cerana*) ตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 16 วัน

จากการวัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งโพรงตัวผู้ในช่วงอายุตั้งแต่เริ่มออกจากเซลล์ (0 วัน) จนถึง 16 วัน พบว่า ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้สูง คือ ที่ความยาวคลื่น 236 305 และ 386 นาโนเมตร โดยพบว่าที่ความยาวคลื่นช่วง 236 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 11 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 12 14 13 9 และ 10 วัน ความยาวคลื่นช่วง 305 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 11 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 12 14 10 13 และ 7 วัน ความยาวคลื่นช่วง 386 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 14 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 10 11 12 16 และ 15 วัน

4.3 ผลการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งพันธุ์

นำสารสกัดรงควัตถุในสารละลาย DCM ของผึ้งพันธุ์ตัวผู้ที่มีอายุตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 20 วัน (n= 3, จำนวน 3 รัง) มาวัดค่าดูดกลืนแสง แสดงค่าการดูดกลืนแสงตามแผนภูมิที่ 4.3



แผนภูมิ 4.3 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ของผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ตั้งแต่เริ่มออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงอายุ 20 วัน

จากการวัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งพันธุ์ตัวผู้ในช่วงอายุตั้งแต่เริ่มออกจากเซลล์ (0 วัน) จนถึง 20 วัน พบว่า ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้สูง คือ ที่ความยาวคลื่น 236 280 และ 385 นาโนเมตร โดยพบว่าที่ความยาวคลื่นช่วง 236 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 18 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 20 12 13 15 และ 19 วัน ความยาวคลื่นช่วง 280 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 14 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 18 20 12 15 และ 17 วัน ความยาวคลื่นช่วง 385 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้ที่มีอายุ 17 วันมีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงที่สุด รองลงมาคืออายุ 14 15 18 16 และ 19 วัน

4.4 ผลการศึกษาค่าการส่องผ่าน (transmittance) ของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งแต่ละชนิด

ผลการทดลองพบว่าค่าการส่องผ่าน (transmittance) ของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ในผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ อายุตั้งแต่เริ่มเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ มีผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับผลของการดูดกลืนแสง

4.5 ผลการศึกษาเพื่อจำแนกลักษณะของพันธะเคมีในโมเลกุลของรงควัตถุที่ผึ้งตัวผู้แต่ละชนิดผลิตและสะสมด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

นำรงควัตถุที่สกัดด้วย Dichloromethane มาตรวจวัดด้วยเทคนิค FTIR โดยส่งวิเคราะห์ นำผลที่ได้มาอ่านผลเปรียบเทียบกับหมู่ฟังก์ชันเคมีสามัญต่างๆ ผลการศึกษา คือ ค่าการวิเคราะห์ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างหมู่ฟังก์ชันได้จึงไม่สามารถระบุหมู่ฟังก์ชั่นของโมเลกุลของรงควัตถุของผึ้งตัวผู้ทั้งในผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์

5.สรุปและข้อเสนอแนะ
(Conclusions and Recommendations)

การสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ในผึ้งทั้ง 3 ชนิด คือ ผึ้งมิ้ม (*A. florea*) ผึ้งโพรง (*A. cerana*) และผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) จากความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงน่าจะมีการสะสมของรงควัตถุมากกว่า 1 ชนิด โดยมีตำแหน่งค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของผึ้ง และผึ้งตัวผู้ที่มีอายุต่างกันก็มีความสามารถในการดูดกลืนแสงแตกต่างกันในผึ้งแต่ละชนิด คือ ผึ้งมิ้มพบการสะสมของรงควัตถุขึ้นๆ ลงๆ ไม่มีทิศทางที่แน่นอน มีตำแหน่งการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้สูงที่ความยาวคลื่น 232 305 และ 445 นาโนเมตร โดยที่ความยาวคลื่นช่วง 232 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 21 วัน มีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่นช่วง 305 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 17 วัน มีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงสุด และที่ความยาวคลื่นช่วง 445 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 18 วัน มีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงสุด ในขณะที่ผึ้งโพรงมีตำแหน่งการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 236 305 และ 386 นาโนเมตร พบการสะสมของรงควัตถุลดลงเมื่อมีผึ้งมีอายุมากขึ้น คือ ที่ความยาวคลื่นช่วง 236 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 11 วัน มีการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่นช่วง 305 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 11 วัน มีการดูดกลืนแสงสูงที่สุด และที่ความยาวคลื่นช่วง 386 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 14 วัน มีการดูดกลืนแสงสูงสุด สำหรับในผึ้งพันธุ์มีตำแหน่งการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 236 280 และ 385 นาโนเมตร เมื่อผึ้งมีอายุมากขึ้นการสะสมรงควัตถุค่อนข้างคงที่ คือ ที่ความยาวคลื่นช่วง 236 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 18 วัน มีการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ความยาวคลื่นช่วง 280 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 14 วัน มีการดูดกลืนแสงสูงสุด และที่ความยาวคลื่นช่วง 385 นาโนเมตร ผึ้งตัวผู้อายุ 17 วัน มีความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงสุด

เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากการสะสมรงควัตถุของอวัยวะสืบพันธุ์ในผึ้งตัวผู้ทั้ง 3 ชนิด จะเห็นได้ว่าการสะสมรงควัตถุเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของผึ้งแต่ละชนิด ทั้งในเรื่องของสเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สะสมและปริมาณการสะสมของรงควัตถุ

แม้ว่าจะมีความแตกต่างในผึ้งแต่ละชนิดแต่พบว่าผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงซึ่งเป็นผึ้งขนาดกลางสร้างหลายรวงรังในโพรงอยู่ใน Subgenus เดียวกัน คือ Subgenus *Apis* มีผลแนวโน้มที่คล้ายกันสำหรับช่วงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและอัตราส่วนความเข้มของสี ในขณะที่ผึ้งมิ้มซึ่งเป็นผึ้งขนาดเล็กสร้างรวงรังเดี่ยวอยู่ใน Subgenus *Micrapis* มีผลที่แตกต่างออกไป ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับการจำแนกผึ้ง โดยใช้ลักษณะรูปร่างภายนอกตามสัณฐานวิทยา (morphometric) พฤติกรรมของผึ้ง การใช้ชีวโมเลกุลออกเป็น 3 Subgenera ตามสายวิวัฒนาการ (phylogenetic) ดังนั้นการใช้การสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้จึงสามารถนำมาเป็นคุณลักษณะเฉพาะที่ใช้ในการจำแนกชนิดของผึ้งได้

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรงควัตถุที่สะสมในอวัยวะสืบพันธุ์ของผึ้งตัวผู้ที่ในผึ้งแต่ละชนิดที่อายุต่างๆ

2. ศึกษาการสะสมรงวัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ตัวผู้ในผึ้ง Subgenus *Megapis* ผึ้งขนาดใหญ่ (the giant honeybees)

3. ศึกษาการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ตัวผู้ตั้งแต่ออกเป็นตัวเต็มวัยจนถึงวัยเจริญพันธุ์ในผึ้งอีก 4 ชนิด คือ *A. koschevnikovi, A. nigrocinta*, *A. nuluensis,* และ *A. indica* ที่อยู่ใน Subgenus *Apis* เพื่อดูความแตกต่าง/ความใกล้ชิดภายใน Subgenus เดียวกัน

4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนอสุจิกับการสะสมรงควัตถุในอวัยวะสืบพันธุ์ผึ้งตัวผู้ในอายุที่ต่างกัน

เอกสารอ้างอิง
(References)

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์ และ อรวรรณ ดวงภักดี. 2551. *ผึ้งและน้ำผึ้ง*. พิมพ์ลักษณ์ กรุงเทพมหานคร, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Alexander B.A. 1991. Phylogenetic analysis of the genus *Apis* (Hymenoptera: Apidae). Ann. Entomol.Soc. Am. 84: 137-149.

Arias M.C. and Sheppard W.S. 2005. Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. Molecular phylogenetic and evolution 37: 25-35.

Blenau W., Koeniger G., Rompp A., Vilcinskas A. and Spengler B. 2015. Protein and Peptide Composition of Male Accessory Glands of *Apis mellifera* Drones Investigated by Mass Spectrometry. Plos one (DOI:10.1371/ 0125068): 1-19.

Lo N., Gloag R.S., Anderson D.L., and Oldroyd B.P. 2010. A molecular phylogeny of the genus *Apis* suggests that the Giant Honey Bee of the Philippines, *A. breviligula* Maa, and the Plains Honey Bee of southern India, *A. indica* Fabricius, are valid species. Systematic Entomology. 35(2): 226-233.

Koeniger N. 1976. Neue Aspekte der Phylogenie innerhalb der Gattung *Apis*. Apidologie 7: 357-366. (in German)

Koeniger N. and Koeniger G. 2000. Reproductive isolation among species of the genus *Apis*. Apidologie 31: 313-339.

Koeniger N., Koeniger G. and Tingek S. 2010. Honey of Borneo, exploring the center of *Apis* diversity. Nat Hist Publ (Borneo). Kota Kinabalu.

Koeniger N., Koeniger G. and Smith D. 2011. Phylogeny of the Genus *Apis*. In Hepuurn R. and Radloff S.(eds). Honeybees of Asia, pp 23-50. New York, Springer Heidelberg.

Oldroyd B. and Wongsiri S. 2006. Asian Honey Bees. Harvard University Press, MA.

Ruttner F. 1988. Biogeography and taxonomy of honey bee. Springer, Berlin.

Schlüns H., Moritz R.F.A., Lattorf H.M.G. and Koeniger G. 2005. Paternity skew in seven species of honeybees (Hymenoptera: Apidae: *Apis*). Apidologie 36: 201-209.

Tan N.Q., Mardan M.,Thai P.H. and Chinh P.H. 1999. Observations on multiple mating flights of *Apis dorsata* queens. Apidologie 30: 339-346.

Tarpy D.R. 2003. Genetic diversity within honey bee colonies prevents severe infections and promotes colony growth. Proc. Biol. Sci. 270: 99-103.

Winston M.L. 1987. The Biology of the Honeybee, Harvard University Press, Cambridge.

Wongsiri S. 1989. Biology of honey bees. Ton-or Co., Ltd: Bangkok.

Woyke J. 1958. The histological structure of the reproductive organs of the drone. Publ. Sect. Agr. Sylv. 19: 38-50.