มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

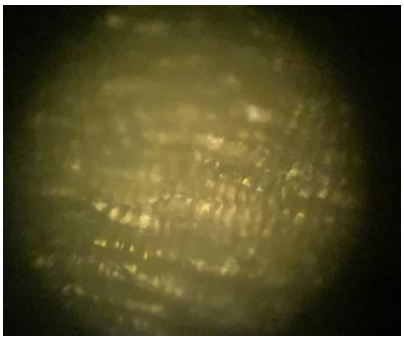
รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทุนวิจัยหมวดเงินอุดหนุน (ว.1)

ประจำปีงบประมาณ 2557

ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเข้าผสมเกสรของผึ้ง

Factors of flower color and size on bees pollination



คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.มนัญญา	เพียรเจริญ	หัวหน้าโครงการ
ดร.ธัญญารัตน์	คงขุนเทียน	ผู้ร่วมโครงการ
ดร.วรากร	รัตนอารีกุล	ผู้ร่วมโครงการ
นางสาวสุภาวดี	ชมพูพันธุ์	ผู้ร่วมโครงการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี

กรกฎาคม 2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเข้าผสมเกสรของผึ้ง
Factors of flower color and size on bees pollination

จัดทำโดย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี

คณะผู้วิจัย

มนัญญา เพียรเจริญ ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน วรากร รัตนอารีกุล และสุภาวดี ชมภูพันธุ์

เสนอ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

กรกฎาคม 2560

ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเข้าผสมเกสรของผึ้ง

มนัญญา เพียรเจริญ ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน[1] วรากร รัตนอารีกุล และสุภาวดี ชมภูพันธุ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยศึกษาดูความสัมพันธ์ระหว่างผึ้งกับดอกไม้ ผึ้งที่ทำการศึกษามี 3 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ ผึ้งโพรง และผึ้งมิ้ม ชนิดของดอกไม้และสีที่ใช้ศึกษา คือ คุณนายตื่นสายสีเหลือง สีส้ม สีบานเย็นและสีขาว งานวิจัยนี้ประกอบด้วย 3 การศึกษา คือ การศึกษาที่ 1 ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ต่อการเข้าผสมเกสรของผึ้ง ผลการศึกษาพบว่า ผึ้งพันธุ์เข้าผสมเกสรของดอกสีบานเย็นมากที่สุด ผึ้งโพรงเข้าผสมเกสรของดอกสีส้มมากที่สุด อย่างไรก็ตามผึ้งทั้ง 2 ชนิดไม่แสดงพฤติกรรมความชอบสีดอกสีใดสีหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ผึ้งมิ้มมีการเข้าผสมเกสรดอกสีเหลืองมากกว่าสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้พบว่าขนาดของดอกไม้ไม่มีความสัมพันธ์ต่อพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้งทั้ง 3 ชนิด การศึกษาที่ 2 คือ พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในการเข้าผสมเกสรจากปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ สรุปได้ว่าผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงไม่พบพฤติกรรมการเรียนรู้ในการเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายโดยดูจากข้อมูลที่ได้พบว่าผึ้งตัวเดิมไม่มีการกลับเข้ามาผสมเกสรของดอกสีเดิมในครั้งถัดไป ซึ่งต่างจากผึ้งมิ้มพบว่าผึ้งมิ้มตัวเดิมมีการเข้าผสมเกสรของดอกสีเดิมในครั้งถัดไป สีของดอกไม้ที่มีการกลับเข้ามาผสมเกสรมากที่สุด คือ สีเหลือง จึงอาจสรุปได้ว่าผึ้งมิ้มมีพฤติกรรมการเรียนรู้ในการเข้าผสมเกสรของดอกไม้ การศึกษาที่ 3 คือ ความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร ผลการศึกษา คือ ชนิดของรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกไม้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้งทั้ง 3 ชนิด เมื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ผิวของดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองพบว่ามีผลต่อพฤติกรรมการผสมเกสรแต่ไม่อาจชี้ชัดลงไปได้ลักษณะของเซลล์ผิวของกลีบดอกคุณนายตื่นสายมีความสัมพันธ์ส่งต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสรในการศึกษานี้

คำสำคัญ : ผึ้ง คุณนายตื่นสาย ปัจจัยการผสมเกสร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150
โทร 02-4709965

Factors of flower color and size on bees pollination

Mananya Phiancharoen, Tanyarat Khongkhuntian, Warakorn Rattanaareekul,
and Supawadee Chompopun

Abstract

This research studied the relation between honeybee and flower. Three species of honeybees, *Apis mellifera Apis cerana* and *Apis florea*, were selected for this study. The flower was *Portulaca oleracea*. The colors chosen were yellow, orange, magenta, and white. The project was consisted of 3 studies. First experiment, the factors and the size of flower color were on bees' pollination. The result showed that magenta flower drew *A. mellifera* the most. For *A. cerana*, they attracted orange flower the most. However, both species did not show significant color preference. While *A. florea*, they visited more yellow flower significantly than other colors. In addition, the size of flowers had no correlation with the flower–visiting behavior in all sampling honeybee species. Second experiment, learning behavior of bees in pollination by flower color and size cues, can be summarized that *A. mellifera* and *A. cerana* did not show learning behavior related to flower color and size cues. Data were clearly shown no return to the same flower color. In contrast, *A. florea* revisited the same flower color. Most revisiting color was yellow. However, data was not enough to conclude that *A. florea* has learning behavior related to color and size cues. Last experiment, the relation of pigment accumulation in the dorsal petal epidermis and epidermis shape, that attract bees to visit, showed types of pigment in petal epidermis no relation with bee preference. Epidermis shape of yellow flower affected pollination behavior in honeybee, but sampling size was too small to deduce that epidermis shape of *Portulaca oleracea* petal was related to bee preference.

Keywords : Honeybee, *Portulaca oleracea,* pollination factor

King Mongkut's University of Technology Thonburi Ratchaburi Campus Rang Bua, Chom Bueng, Ratchaburi 70150, Thailand. Tel +662-470-9965

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

โครงการวิจัยเรื่องปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเข้าผสมเกสรของผึ้ง ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2557 พร้อมด้วยการสนับสนุนด้านความรู้และบุคลากร ตลอดจนการอำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่และเครื่องมือต่างๆ สำหรับการศึกษาวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรีและบางมด ทำให้การดำเนินโครงการวิจัยสามารถบรรลุผลและเป็นไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ. โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

3 กรกฎาคม 2560

สารบัญ (Table of Contents)

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
สารบัญแผนภูมิ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	7
บทที่ 4 ผลการวิจัย	16
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	25
เอกสารอ้างอิง	27

สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่ **หน้า**

1 ผล One-way ANOVA แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างความถี่ในการเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งโพรง 16

2 ผล One-way ANOVA แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างความถี่ในการเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งพันธุ์ 17

3 ผล One-way ANOVA แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างความถี่ในการเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งมิ้ม 18

4 จำนวนความถี่เฉลี่ยและความแปรปรวนของการเลือกเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งมิ้ม 19

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

ภาพที่ **หน้า**

1 ผึ้งพันธุ์ ผึ้งโพรง และผึ้งมิ้ม 7
2 คุณนายตื่นสายสีที่นำมาทำการทดลอง คือ สีส้ม บานเย็น เหลือง และขาว 8
3 แผนผังการวางแปลงโดยจุดตรงกลางแสดงตำแหน่งวางรังผึ้ง โดยมีแปลงดอกไม้แทนด้วยเครื่องหมายสี่เหลี่ยม ระยะห่างระหว่างแปลง 2 เมตร ล้อมรอบรังผึ้งเป็นวงกลมรัศมี 5.7 เมตร 8
4 ต้นพันธุ์คุณนายตื่นสายและวัสดุเพาะชำ 9
5 แสดงการเปรียบเทียบสีและขนาดดอกคุณนายตื่นสาย 9
6 การคัดแยกและเพาะชำต้นคุณนายตื่นสายสีส้ม บานเย็น เหลืองและขาว 10
7 ผึ้งที่ถูกทำเครื่องหมายขณะเข้ามาเก็บเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ 11
8 การวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็น 12
9 กลีบดอกสดบนสไลด์และเซลล์ผิวของกลีบดอกไม้บนสไลด์หลังทำ Glue imprint 12
10 เซลล์ผิวกลีบดอกคุณนายตื่นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X 12
11 ลักษณะเซลล์ผิวจากกลีบดอกคุณนายตื่นสายด้วยวิธี Glue imprint ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X 13
12 กลีบดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็นและสีเหลืองก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก 13
13 การชั่งน้ำหนักของกลีบดอกด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง 14
14 สารสกัดที่ได้จากดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองและสีบานเย็น 14
15 เซลล์ผิวกลีบดอกคุณนายตื่นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X 23
16 ลักษณะเซลล์ผิวจากกลีบดอกคุณนายตื่นสายด้วยวิธี Glue imprint ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X 24

สารบัญแผนภูมิ (List of chart)

แผนภูมิที่	หน้า
1 ความถี่ของการเข้าผสมดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งโพรง	16
2 ความถี่ของการเข้าผสมดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งพันธุ์	17
3 ความถี่ของการเข้าผสมดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งมิ้ม	19
4 แผนภาพกล่อง (box plot) แสดงค่าเฉลี่ยและการผันแปรของขนาดของดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ	20
5 แผนภูมิวงกลมแสดงสัดส่วนของการเลือกสีเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป ในพืชอาหารชนิดคุณนายตื่นสายในผึ้งมิ้ม	21
6 เส้นโค้งสเปคตรัมในช่วง UV-Visible light ของรงควัตถุที่สกัดจากดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ	22

บทที่ 1 บทนำ
(Introduction)

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันการเลี้ยงผึ้งกำลังได้รับความนิยมในประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีความหลากหลายทางชีวภาพและอุดมไปด้วยพืชอาหารหลายชนิดในรอบปี เช่น สาบเสือ ลำไย ลิ้นจี่ ยางพารา ทานตะวัน ข้าวโพด เป็นต้น ผึ้งเป็นแมลงเศรษฐกิจที่สำคัญที่ให้ผลิตภัณฑ์มากมาย เช่น น้ำผึ้ง เกสร ไขผึ้ง พลอพอลิส นมผึ้ง รวมถึงการนำเอาพิษของผึ้งไปรักษาโรค นอกจากนี้ผึ้งมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศ คือ เป็นแมลงผสมเกสรที่สำคัญในการช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร สิ่งที่ผึ้งได้รับจากการเข้าผสมเกสรให้ดอกไม้ คือ น้ำหวาน (nectar) เป็นอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงาน และเกสร (pollen) เป็นแหล่งอาหารสำคัญของผึ้งที่ประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน/กรดไขมัน เกลือแร่ และวิตามิน (Ellis *et al.*, 2010) ที่มีผลต่อการพัฒนา การเจริญเติบโต และยังมีผลต่อการวางไข่ของผึ้งนางพญา (Groot, 1953; Schmidt *et al*., 1995; Human *et al*., 2007) ถ้าผึ้งได้รับน้ำหวานและเกสรในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้ผึ้งมีสภาพรังแข็งแรง ทำให้จำนวนประชากรเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ผลผลิตด้านน้ำผึ้ง เกสร และผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพิ่มขึ้น เกิดการสร้างรายได้ให้กลุ่มเลี้ยงผึ้งมากขึ้น แต่เนื่องจากปัจจุบันเกษตรกรรมไทย มีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ทำให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมและความเสื่อมโทรมของทรัพยากรธรรมชาติ (อานัฐ ตันโช, 2549) การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชไม่ได้ทำลายเฉพาะศัตรูพืชเท่านั้น แต่ยังทำลายแมลงที่เป็นประโยชน์ในบริเวณนั้นด้วย นั่นก็คือแมลงผสมเกสร ซึ่งหนึ่งในนั้นก็คือ ผึ้ง (Buchmann and Nabhan 1996; Kremen *et al*., 2002) เมื่อผึ้งไปสัมผัสดอกไม้ที่มีสารฆ่าแมลงจะทำให้ผึ้งตายและอาจก่อให้เกิดการตายของผึ้งทั้งรังได้เพราะเมื่อผึ้งตัวที่ได้ไปสัมผัสสารฆ่าแมลงกลับมาที่รัง ผึ้งตัวอื่นก็จะมาสัมผัสไปด้วยทำให้เกิดการตายของผึ้งทั้งรัง ตลอดจนการตกค้างของสารฆ่าแมลงในน้ำผึ้งอันก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ

จากการศึกษาพบว่าสี รูปร่าง กลิ่น ขนาด อุณหภูมิและรางวัล (น้ำหวานและเกสร) ของดอกไม้เป็นสิ่ง ดึงดูดให้แมลงเข้ามาผสมเกสร ลักษณะหลักที่สำคัญของดอกไม้ในการดึงดูดแมลงผสมเกสร คือ สี ขนาด และพื้นผิว (Whitney and Glover, 2007) ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาทำให้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดในการทำวิจัยเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์กับดอกไม้ (คุณนายตื่นสาย *Portulaca oleracea* L.) โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ อันประกอบด้วย สี ขนาด อัตราส่วนของรงควัตถุที่สะสมในกลีบดอกและเซลล์ผิวของกลีบดอกในพืชอาหารคุณนายตื่นสายที่มีผลต่อผึ้งในการเลือกเข้าผสมเกสร โดยมีเป้าหมายคือนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้การปลูกพืชอาหารเสริมที่มีสีและขนาดที่ดึงดูดผึ้งเข้ามาผสมเกสรเพื่อส่งเสริมการเลี้ยงผึ้ง ในพื้นที่ที่มีพืชอาหารหลักไม่เพียงพอ เพื่อให้ผึ้งได้รับอาหารอย่างเพียงพอซึ่งจะเป็นการป้องกันและควบคุมขอบเขตพื้นที่การหาอาหารของผึ้ง ในการลดปัญหาการตายของผึ้งจากเข้าไปสัมผัสยาฆ่าแมลงและลดการสูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการผสมเกสรของผึ้ง
2. เพื่อศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งต่อสีและขนาดของดอกไม้

3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลกระทบต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร และการเรียนรู้ของผึ้ง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผึ้งมิ้ม ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์กับดอกไม้ โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ อันประกอบด้วย สีของดอก ขนาดของดอก อัตราส่วนของรงควัตถุที่สะสมในกลีบดอก และเซลล์ผิวของกลีบดอกในพืชอาหารของผึ้ง คือ คุณนายตื่นสาย ที่มีผลต่อผึ้งในการเลือกเข้าผสมเกสร โดยมีเป้าหมาย คือ เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้การปลูกพืชอาหารเสริมพืชดอกที่มีสีและขนาดที่ดึงดูดผึ้งเข้ามาผสมเกสร ในพื้นที่ที่มีพืชอาหารหลักไม่เพียงพอ เพื่อการส่งเสริมการเลี้ยงผึ้ง

มีระยะเวลาดำเนินงานโครงการ 12 เดือน

แผนการดำเนินงานเชิงปริมาณ/ เชิงคุณภาพ อาศัยแนวทางอย่างสังเขปเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. การบริหารการเลี้ยงผึ้งเป็นการให้อาหาร ตรวจดูโรคและไรศัตรูผึ้ง เพื่อให้ผึ้งมีสภาพรังแข็งแรง
2. จัดทำแปลงทดลอง คือ แปลงดอกไม้คุณนายตื่นสายเพื่อให้ได้สีดอกที่ต้องการ เพื่อนำมาใช้ในการดำเนินการวิจัยในข้อ 3
3. เก็บข้อมูลการวิจัย คือ ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้ง พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในแต่ละชนิดในการเข้าผสมเกสร และความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่มีผลต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร
4. วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการวิจัยต่างๆ
5. จัดทำรายงาน

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิด

การจัดการด้านพืชอาหารของผึ้ง โดยส่งเสริมการปลูกอาหารเสริมซึ่งเป็นพืชดอกที่ออกดอกได้ง่ายและตลอดปี เช่น คุณนายตื่นสาย ซึ่งมีลักษณะที่มีสีและขนาดที่ดึงดูดให้ผึ้งมาผสมเกสร ให้ได้รับอาหารน้ำหวานและเกสรอย่างเพียงพอ เพื่อควบคุมจำกัดขอบเขตการหาอาหารของผึ้ง ไม่ให้ออกไปหาอาหารในสวนเกษตรที่มีการใช้สารฆ่าแมลง เพื่อลดการสูญเสียจากการตายของผึ้งในการเข้าไปสัมผัสยาฆ่าแมลง ตลอดจนส่งเสริมการเลี้ยงผึ้งในพื้นที่ที่มี/ไม่มีอาหารหลักอย่างเพียงพอโดยใช้เทคโนโลยีการเกษตรเชิงอินทรีย์เพื่อส่งเสริมอาชีพและรายได้ให้กับผู้เลี้ยงผึ้ง อีกทั้งส่งเสริมให้เกษตรกรมีความระมัดระวังในการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชมากขึ้น และเกิดการจัดการนำผึ้งช่วยผสมเกสรเพื่อเพิ่มผลผลิตพืชอย่างกว้างขวาง ซึ่งจะก่อให้เกิดการอนุรักษ์ผึ้ง ทรัพยากรที่มีอยู่ในธรรมชาติอย่างยั่งยืนต่อไป

การบริหารจัดการด้านพืชอาหารของผึ้ง โดยใช้การจัดการเทคโนโลยีการเกษตรแบบผสมผสานเชิงเกษตรอินทรีย์ที่เหมาะสมควบคู่ไปกับการเลี้ยงผึ้ง เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. การประยุกต์ผลการศึกษาที่ได้เพื่อส่งเสริมการปลูกพืชอาหารเสริมที่มีสีดึงดูดผึ้ง ในพื้นที่ที่มีพืชอาหารหลักไม่เพียงพอ โดยการควบคุมขอบเขตการหาอาหารของผึ้งเพื่อลดปัญหาการตายจากเข้าไปสัมผัสยาฆ่าแมลง
2. ส่งเสริมการจัดการบริหารการเลี้ยงผึ้งเพื่อรักษาสมดุลทางนิเวศวิทยาอย่างยั่งยืน
3. การจัดการเทคโนโลยีการเกษตรแบบผสมผสานเชิงเกษตรอินทรีย์ที่เหมาะสมควบคู่ไปกับการเลี้ยงผึ้ง เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

- กลุ่มเกษตรผู้เลี้ยงผึ้ง
- กรมส่งเสริมการเกษตร
- กรมวิชาการเกษตร

ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

1. งานวิจัยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการปลูกพืชอาหารเสริมที่มีสีดึงดูดผึ้ง ในพื้นที่ที่มีพืชอาหารหลักไม่เพียงพอ เพื่อควบคุมขอบเขตการหาอาหารของผึ้ง ซึ่งจะลดปัญหาการตายของผึ้งจากเข้าไปสัมผัสยาฆ่าแมลงในพื้นที่ที่มีพืชอาหาร
2. เกษตรกรได้รับความรู้เพิ่มเติมเรื่องการจัดการบริหารการเลี้ยงผึ้งเพื่อรักษาสมดุลทางนิเวศวิทยาอย่างยั่งยืน
3. สร้างแนวทางเพิ่มเติมในการจัดการเทคโนโลยีการเกษตรแบบผสมผสานเชิงเกษตรอินทรีย์ที่เหมาะสม ควบคู่ไปกับการเลี้ยงผึ้ง เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่
4. การประยุกต์ใช้เพื่อการจัดการบริหารการเลี้ยงผึ้งเพื่อรักษาสมดุลทางนิเวศวิทยาและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม
5. การเสริมสร้างความมั่นคงในอาชีพและรายได้ของเกษตรกรในการพึ่งตนเองอย่างยั่งยืน

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม
(Literature Review)

ปัจจุบันเกษตรกรรมไทยมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชทำให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมและความเสื่อมโทรมของทรัพยากรธรรมชาติ (อานัฐ ตันโช, 2549) การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ได้ทำลายเฉพาะศัตรูพืชเท่านั้น แต่ยังทำลายแมลงที่เป็นประโยชน์ในบริเวณนั้นไปด้วย นั้นก็คือผึ้งและแมลงผสมเกสร ปัจจุบันทั่วโลกมีแมลงผสมเกสรที่จำแนกได้ประมาณ 30,000 ชนิด ผึ้งเป็นแมลงผสมเกสรที่สำคัญคิดเป็น 75% ในการผสมเกสรของพืชทั่วโลก (Buchmann and Nabhan, 1996; Kremen *et al*., 2002) นอก จากนี้ผึ้งเป็นแมลงเศรษฐกิจสำคัญ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากผึ้งมีหลายชนิดมีมูลค่าทางเศรษฐกิจ เช่น น้ำผึ้ง เกสรผึ้ง นมผึ้ง พรอพอลิส ไขผึ้งและพิษผึ้ง ผลิตภัณฑ์บางชนิดมีการนำมาแปรรูปนำไปใช้ในด้านอุตสาหกรรม ด้านการแพทย์ ประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพด้านผึ้งสูง คือ มีผึ้งทั้งหมด 5 ชนิดจาก 11 ชนิดทั่วโลก ประกอบด้วยผึ้งพื้นเมือง 4 ชนิด คือ ผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) ผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*) และ ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) นอกจากนี้ยังมีผึ้งนำเข้าจากยุโรป 1 ชนิด คือ ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และเพ็ญศรี, 2528; Koeniger and Koeniger, 2000) อีกทั้งประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพและอุดมไปด้วยพืชอาหารมากมายหลายชนิดในรอบปี เช่น ลำไย สาบเสือ นุ่น ลิ้นจี่ ยางพารา ทานตะวัน ข้าวโพด เป็นต้น ทำให้อาชีพการเลี้ยงผึ้งกำลังได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น โดยในปี 2555 มี เกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งพันธุ์จำนวน 964 คน มีจำนวนรังผึ้ง 184,927 รัง ในปี 2557 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งพันธุ์เพิ่มขึ้นเป็นจำนวน 1,170 คน มีจำนวนรังผึ้งพันธุ์ถึง 275,907 รัง ปริมาณส่งออกน้ำผึ้ง 17,777.54 ตัน มีมูลค่า 1,234.90 ล้านบาท ปริมาณส่งออกนมผึ้ง 19.26 ตัน มีมูลค่า 17.96 ล้านบาท สำหรับผึ้งโพรงนั้นในปี 2555 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้ง 600 คน จำนวนรัง 2,412 รัง ในปี 2557 มีผู้เลี้ยงผึ้งเพิ่มขึ้นเป็น 1,627 คน จำนวนรัง 9,229 รัง และพบว่าปริมาณน้ำผึ้งไม่มีการส่งออกเนื่องจากการผลิต ไม่เพียงพอการบริโภค (สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตรกรมส่งเสริมการเกษตร, 2558)

จากที่กล่าวมาเห็นได้ว่าผึ้งมีบทบาททางระบบนิเวศเพราะเป็นแมลงผสมเกสรที่สำคัญ เนื่องจากมีขนปกคลุมลำตัวมาก เมื่อคลุกเคล้ากับดอกไม้แล้ว เกสรตัวผู้จะติดขนได้ง่ายและมีจำนวนมาก จึงมีโอกาสไปตกผสมกับเกสรตัวเมียได้ดี และผึ้งก็จะหากินโดยเก็บทั้งเกสรและน้ำหวานไม่ว่าดอกไม้นั้นจะมีอย่างใดอย่างหนึ่ง ผึ้งก็สามารถช่วยผสมเกสรได้ ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณและคุณภาพ (Morse and Calderone, 2000) กล่าวคือผึ้งและดอกไม้เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์แบบ (Protocooperation : +, +) คือต้องพึ่งพาอาศัยกันในภาวะได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน แต่แม้แยกกันอยู่ก็สามารถดำรงชีวิตได้ตามปกติ กล่าวคือดอกไม้ได้รับประโยชน์จากผึ้งคือช่วยผสมเกสรทำให้แพร่พันธุ์ได้ ส่วนผึ้งได้รับประโยชน์จากดอกไม้ คือ น้ำหวาน ซึ่งเป็นอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งให้พลังงาน และเกสร เป็นแหล่งโปรตีนเพื่อใช้ในการดำรงชีวิต (Haydak, 1970) ซึ่งเกสรจากดอกไม้นับว่าเป็นแหล่งอาหารสำคัญของผึ้งที่ประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน/กรดไขมัน เกลือแร่ และวิตามิน (Ellis *et al*., 2010) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่างๆ ของผึ้ง (Schmidt *et al*., 1995) และยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของรังไข่และพัฒนาการของไข่ในผึ้งนางพญา (Lin and Winston, 1998; Pernal and Currie, 2000; Hoover *et al*., 2006; Schafer *et al*., 2006) และที่สำคัญคุณภาพของเกสรยังมีผลต่อจำนวนการวางไข่ของผึ้งนางพญา และสัดส่วนในการเลี้ยงดูตัวอ่อนของตัวเต็มวัยอีกด้วย (Doull 1975; Human *et al*., 2007; Pirk *et al*., 2010) ดังนั้นหลักการสำคัญในการเลี้ยงผึ้งคือต้องมีความรู้เกี่ยวกับการบริหารงานผึ้ง เช่น

ความรู้ทางด้านชีววิทยาและพฤติกรรม การเปลี่ยนแปลงของวัยผึ้ง สภาพสังคมภายในรังผึ้ง ความรู้เกี่ยวกับโรคและศัตรูของผึ้ง โดยเฉพาะในเรื่องของพืชอาหาร ดังนั้นผู้เลี้ยงต้องมีการบริหารงานจัดการด้านพืชอาหารให้ออกดอกหนาแน่นและบานติดต่อกันเป็นช่วงระยะเวลานาน หากผึ้งได้รับน้ำหวานและเกสรเพียงพอจะทำให้ผึ้งมีสภาพรังที่แข็งแรง มีการเพิ่มจำนวนประชากรผึ้ง และเมื่อมีจำนวนประชากรของผึ้งมากขึ้นส่งผลให้ได้รับผลผลิตทางด้านน้ำผึ้ง เกสร และผลิตภัณฑ์อื่นๆเพิ่มขึ้น จะส่งผลผู้เลี้ยงผึ้งมีรายได้เพิ่มขึ้นด้วย จึงเห็นได้ว่าน้ำหวานและเกสรที่ได้จากดอกไม้มีความสำคัญมากสำหรับการเลี้ยงผึ้ง

คุณนายตื่นสาย (*Portulaca oleracea* L.) พืชล้มลุกในวงศ์ Portulacaceae ลำดับ Caryophyllales คุณนายตื่นสายเป็นพืชอาหารของผึ้ง ให้ทั้งน้ำหวานและเกสร ในทางการเกษตรคุณนายตื่นสายนิยมปลูกเป็นไม้ประดับประเภทคลุมดินเนื่องจากทนแล้งได้ดี (Ren *et al*., 2011) มีสีดอกสวยงามหลากหลาย อีกทั้งเป็นพืชกินได้ (Simopoulos *et al*., 1992) และมีคุณค่าทางสมุนไพรอีกด้วย (Ding *et al*., 2008) สีในดอกคุณนายตื่นสาย เป็นผลของการสะสมรงควัตถุกลุ่ม Betalains ซึ่งเป็นสารประกอบทุติยภูมิที่พบในพืชส่วนใหญ่ที่อยู่ในลำดับ Caryophyllales ยกเว้นวงศ์ Caryophyllaceae และวงศ์ Molluginaceae นอกจากนี้ รงควัตถุกลุ่ม Betalains ยังถูกค้นพบในราชั้นสูงบางประเภท อย่างเช่น *Amanita muscaria* (Brockington *et al.,* 2011)

รงควัตถุให้สีในพืชแบ่งได้ออกเป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่ม Carotenoids ซึ่งเป็นรงควัตถุประเภทละลายในไขมัน ให้สีโทนเหลือง ส้ม จนถึงแดง กลุ่ม flavonoids และ อนุพันธ์ของ flavonoids ซึ่งรวมถึง anthocyanins กลุ่มนี้จะเป็นรงควัตถุละลายในน้ำ ให้สีตั้งแต่โทนเหลือง ส้ม แดง ม่วง และน้ำเงิน รงควัตถุกลุ่ม flavonoids เป็นกลุ่มที่พบว่าเป็นรงควัตถุหลักที่สร้างความหลากหลายของสีดอกในอาณาจักรพืช ยกเว้นในกลุ่มพืชส่วนใหญ่ในลำดับ Caryophyllales รงควัตถุกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่ม Betalains ซึ่งพบเป็นสารให้สีในพืชลำดับ Caryophyllales ยกเว้นวงศ์ Caryophyllaceae และวงศ์ Molluginaceae สีของรงควัตถุกลุ่ม Betalains ให้สีตั้งแต่โทนเหลือง ส้มจนถึงม่วงแดง ซึ่งรงควัตถุกลุ่ม Betalain สามารถแยกออกเป็นสองกลุ่มย่อยตามสีของรงควัตถุ นั่นคือ Betacyanins ที่ให้สีโทนแดง และ Betaxantins ให้สีโทนเหลือง เป็นที่น่าสังเกตว่าพืชที่สะสมรงควัตถุกลุ่ม Betalains ไม่สะสมรงควัตถุกลุ่มอนุพันธ์ของ flavonoid อย่างเช่น anthocyanin ซึ่งการเปลี่ยนการสะสมรงควัตถุดังกล่าวนี้ยังเป็นที่ถกเถียงกันว่ามีผลกระทบอย่างไรหรือไม่ต่อพืช (Tanaka *et al*., 2008, Brockington *et al*., 2011)

จากงานวิจัยของ Whitney และ Glover (2007) พบว่า ปัจจัยของ สี รูปร่าง กลิ่น ขนาด อุณหภูมิ และรางวัล (น้ำหวานและเกสร) ของดอกไม้เป็นสิ่งดึงดูดให้แมลงเข้ามาผสมเกสร ลักษณะหลักที่สำคัญของดอกไม้ในการดึงดูดแมลงผสมเกสร คือ สีและขนาดโดยพบว่าสีของดอกไม้ที่ดึงดูดแมลงผสมเกสรมากที่สุดคือสีม่วง และสีที่ไม่ดึงดูดแมลงเข้ามาผสมเกสรคือสีเขียว เพราะเป็นสีที่ไม่มีสีสำหรับการมองเห็นของแมลงผสมเกสร (Waser and Chittka, 1998) นอกจากนี้พบว่าขนาดของดอกไม้ก็เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการดึงดูดแมลงผสมเกสร พบว่าดอกไม้ที่มีขนาดใหญ่กว่าดึงดูดแมลงผสมเกสรได้มากกว่าดอกไม้ที่มีขนาดเล็ก (Spaetthe *et al*., 2001) ซึ่งพบได้ทั้งในดอกไม้ที่ต่างชนิดกันและภายในชนิดเดียว (Bradshaw, 1965)

นอกจากปัจจัยของสี รูปร่าง กลิ่น ขนาด อุณหภูมิ และรางวัลแล้ว งานวิจัยใหม่ยังค้นพบถึงความสัมพันธ์ระหว่างรูปร่างของเซลล์ผิวของกลีบดอกที่ช่วยดึงดูดแมลงผสมเกสรอีกด้วย การศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ผิวของดอกไม้ในอาณาจักรพืชหลากหลายชนิด ค้นพบว่าเซลล์ผิวของกลีบดอกส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นทรงกรวย (conical cell) หรือทรงยาว (papillated cell) แต่ทั้งนี้ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ว่าลักษณะดังกล่าวมีผลอย่างไรในพืช และเหตุใดพืชหลายชนิดต่างมีลักษณะเซลล์ผิวของกลีบดอกที่คล้ายคลึงกัน ข้ออธิบายหลากหลายที่มีผู้เสนอเพื่ออธิบายความ สำคัญของลักษณะเซลล์ผิวแบบดังกล่าว โดยส่วนใหญ่มี

ความเห็นในเชิงเดียวกัน คือ น่าจะมีสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับแมลงผสมเกสร (ทบทวนโดย Whitney *et al*., 2011) ข้อเสนอแนะที่น่าสนใจหนึ่ง ซึ่งเสนอ โดย Noda และคณะ (1994) ค้นพบดอกลิ้นมังกร (snapdragon) กลายพันธุ์ที่ขาดการแสดงออกของยีน *Mixta* ส่งผลให้เซลล์ผิวกลีบดอกมีลักษณะแบนราบ งานวิจัยของ Noda และคณะ ได้เปรียบเทียบลักษณะของดอกลิ้นมังกรปกติและดอกกลายพันธุ์ ซึ่ง Noda และคณะได้เสนอสมมติฐานว่า conical cells ทำหน้าที่สะท้อนแสงที่ตกกระทบในมุมต่างๆ กัน และทำให้สีดอกเข้มขึ้น และมีมิติมากขึ้น การศึกษาการมองเห็นในผึ้งบัมเบิลบี (*Bombus* sp.) ได้ยืนยันสมมติฐานนี้ โดยพบว่าผึ้งมองเห็นดอกลิ้นมังกรปกติและดอกลิ้นมังกรที่กลายพันธุ์ที่ขาดการแสดงออกของยีน *Mixta* แตกต่างกัน (Dyer *et al*., 2007) การศึกษาเกี่ยวความสำคัญของ conical cells ที่เกี่ยวข้องกับการผสมเกสรโดย Whitney และคณะ (2009) ชี้ให้เห็นว่า เมื่อเปรียบเทียบพฤติกรรมของผึ้งบัมเบิลบี ต่อดอกลิ้นมังกรปกติและดอกกลายพันธุ์แล้ว ผึ้งแสดงการเลือกปฏิบัติต่อลักษณะพื้นผิว โดยจะเลือกพื้นผิวแบบที่มี conical cell มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญโดยเฉพาะเมื่อลักษณะพื้นผิวทำมุมทแยงกับพื้นดินมากขึ้น แม้ว่าการให้น้ำหวานและกลิ่นจะไม่มีความแตกต่างกัน

จากปัญหาการใช้สารฆ่าแมลง ก่อให้เกิดการสูญเสียของเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งทั้งทางตรงและทางอ้อม การสูญเสียทางตรง คือเมื่อผึ้งเมื่อไปสัมผัสยาฆ่าแมลงทำให้ผึ้งตัวนั้นตาย ในกรณีที่ผึ้งไม่ตายก็จะบินกลับมาที่รัง ผึ้งตัวอื่นจะมาสัมผัสผึ้งที่มียาฆ่าแมลงติดตัวมาทำให้เกิดการตายของผึ้งทั้งรัง สำหรับการสูญเสียทางอ้อม คือเกิดการตกค้างของสารฆ่าแมลงในน้ำผึ้งทำให้ไม่สามารถส่งออกได้ก่อให้เกิดการสูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ ดังนั้นคณะ ผู้วิจัยมีแนวคิดในการทำวิจัยเรื่องปัจจัยของสี และขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเข้าผสมเกสรของผึ้ง โดยจะนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้การปลูกพืชอาหารเสริมคือคุณนายตื่นสายที่มีสีและขนาดที่ดึงดูดผึ้งเข้ามาผสมเกสร ในบริเวณพื้นที่ที่มีพืชอาหารหลักไม่เพียงพอ เพื่อลดปัญหาการตายของผึ้งจากเข้าไปสัมผัสยาฆ่าแมลง ลดการสูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ นอกตลอดจนเป็นแนวทางการส่งเสริมการจัดการเทคโนโลยี การเกษตรแบบผสมผสานเชิงเกษตรอินทรีย์ที่เหมาะสมควบคู่ไปกับการเลี้ยงผึ้ง เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย
(Materials and Method)

การวิจัยนี้ประกอบด้วย 3 การทดลอง ดังนี้

- การทดลองที่ 1 ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้ง
- การทดลองที่ 2 พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในการเข้าผสมเกสรจากปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้
- การทดลองที่ 3 ความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร

สิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษา

1. ผึ้ง *Apis* sp. ศึกษาผึ้งทั้งหมด 3 ชนิด คือ
   - ผึ้งมิ้ม (*Apis florea* F.)
   - ผึ้งโพรง (*Apis cerana* F.)
   - ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera* L.)

รูปที่ 1 ผึ้งพันธุ์ (บน) ผึ้งโพรง (กลาง) และผึ้งมิ้ม (ล่าง)

2. คุณนายตื่นสาย *Portulaca olearcea* L. ที่มีสีดอก ส้ม บานเย็น เหลือง และขาว

รูปที่ 2 คุณนายตื่นสายสีที่ใช้ในการทดลอง
สีส้ม (ซ้ายบน) บานเย็น (ขวาบน) เหลือง (ซ้ายล่าง) และขาว (ขวาล่าง)

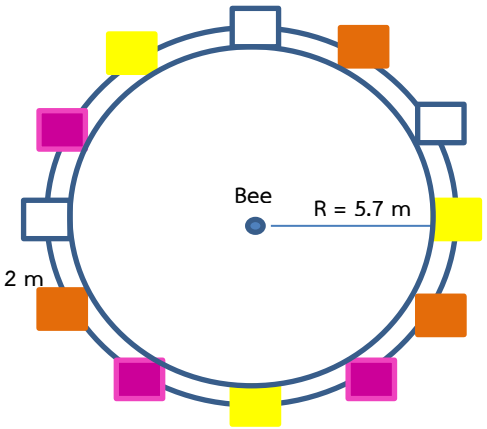
วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การบริหารงานผึ้ง

เป็นการตรวจเช็คสภาพของรังผึ้งก่อนทำวิจัย เช่น ให้อาหาร เกสร ตรวจดูโรคและ ไรศัตรูผึ้งกับรังผึ้ง พันธุ์และผึ้งโพรง เพื่อให้รังมีสภาพรังแข็งแรงเป็นการเตรียมความพร้อมของรังผึ้งก่อนการทดลอง

2. การเตรียมแปลงดอกไม้

คุณนายตื่นสายหนึ่งสีจะถูกวางเป็นสามแปลงย่อย รวมทั้งสิ้น 12 แปลงย่อยต่อหนึ่งการทดลอง โดยแต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ซ้ำ แต่ละแปลงย่อยมีขนาด 1 x 1 ตารางเมตร โดยแต่ละแปลงย่อยห่างกันอย่างน้อย 2 เมตร ดังภาพที่ 1 การวางแปลงเป็นแบบสุ่ม



รูปที่ 3 แผนผังการวางแปลง ตรงกลางแสดงตำแหน่งรังผึ้ง โดยมี เครื่องหมายสี่เหลี่ยมคือแปลงดอกไม้สีต่างๆ ระยะห่างระหว่างแปลง 2 เมตร ล้อมรอบรังผึ้งในรัศมี 5.7 เมตร

การคัดแยกสีดอกคุณนายตื่นสาย มีการเตรียมแปลงดอกคุณนายตื่นสายด้วยวิธีการเพาะชำตัดตอน คัดแยกสีที่ต้องการนำมาทำการทดลอง คือ คุณนายตื่นสายสี ส้ม บานเย็น เหลือง และขาว

รูปที่ 4 ต้นพันธุ์คุณนายตื่นสายและวัสดุเพาะชำ

การเตรียมดอกคุณนายตื่นสายให้ได้สีที่ต้องการ โดยการคัดแยกต้นคุณนายตื่นสายด้วยวิธีการชำ หลังจากนำต้นใส่ลงในวัสดุเพาะและวางไว้ในที่ร่มเพื่อรักษาต้นกล้า พบว่าเมื่อเกิดดอก ดอกมีสีซีดจางสีมีความผิดเพี้ยนจากเดิมและขนาด เล็ก จึงทำการทดลองนำออกมาให้ถูกแสงแดดในช่วงเช้าไม่ต่ำกว่า 4 ชั่วโมง พร้อมให้ปุ๋ยสำหรับดอก พบว่าดอกสีเข้มสดและขนาดเพิ่มขึ้น

รูปที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบสีและขนาดดอกคุณนายตื่นสาย
ดอกด้านซ้ายของภาพ แสดงสีและขนาดก่อนนำออกมาถูกแสงและให้ปุ๋ย
ดอกด้านขวาของภาพ แสดงสีและขนาดหลังนำออกมาถูกแสงและให้ปุ๋ย

การเพิ่มปริมาณดอกและสีของคุณนายตื่นสายให้เพียงพอสำหรับการทดลอง ต้องทำการเพาะชำต้นพันธุ์รุ่นแรกร่วมกับการตัดตอนเพาะชำจากรุ่นสู่รุ่น เพื่อให้ได้ปริมาณดอกและสีของคุณนายตื่นสายที่ต้องการนำมาทดลองต่อสีทั้งหมดจำนวน 36 กระถาง สำหรับการทดลองกับผึ้ง 1 ชนิด ในการทดลองนี้คุณนายตื่นสายสีขาวใช้เวลาในการเพาะชำให้ได้ปริมาณของดอกตามจำนวนที่ต้องการนานที่สุดเพราะมีปริมาณต้นพันธุ์จากแหล่งขายน้อยกว่าสีอื่น

รูปที่ 6 การคัดแยกและเพาะชำดอกของคุณนายตื่นสายสีส้ม บานเย็น เหลืองและขาว

3. การเก็บข้อมูลงานวิจัย

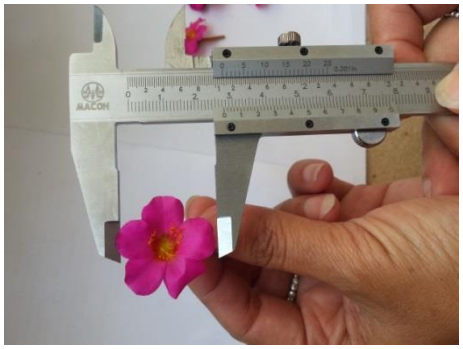
การทดลองที่ 1: ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้ง

การเก็บข้อมูลการเลือกปฏิบัติของผึ้งในการเข้าผสมเกสรวางรังผึ้งแต่ละชนิดในสีของดอกคุณนายตื่นสายตามตำแหน่งที่วาง (รูปที่ 3) ทำการเก็บข้อมูลการเข้าผสมเกสรครั้งแรก (first visit) โดยจดบันทึกสีดอกและขนาดของดอกที่ผึ้งเข้า 50 ตัวในแต่ละวัน ในช่วงเวลาดอกคุณนายตื่นสายบาน (8.00-11.00 น.) ทั้งนี้ผึ้งที่เข้าผสมเกสรแล้วจำนวน 50 ตัวนี้จะได้รับการแต้มสี (รูปที่ 7) การทดลองจะเก็บข้อมูลเป็นเวลา 5 วันต่อผึ้งหนึ่งชนิด และทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

รูปที่ 7 ผึ้งที่ถูกทำเครื่องหมายขณะเข้ามาเก็บเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ผึ้งพันธุ์ (ภาพบน) ผึ้งโพรง (ภาพกลาง) และผึ้งมิ้ม (ภาพล่าง)

การทดลองที่ 2: พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในแต่ละชนิดในการเข้าผสมเกสรจากปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้

ผึ้งที่เข้าผสมเกสรครั้งแรกจะถูกแต้มสี เพื่อติดตามและเก็บข้อมูลในการเข้าผสมเกสรของผึ้งในครั้งต่อๆไปที่เกี่ยวข้องกับสีและขนาดของดอก โดยเก็บข้อมูลพฤติกรรมในการกลับมาเลือกสีเดิมของผึ้งตัวเดิมในช่วงเวลาที่ดอกคุณนายตื่นสายบานจนหุบ เพื่อนับจำนวนครั้งที่ผึ้งกลับมาตอมดอกไม้สีเดิม/ดอกเดิม บันทึกระยะห่างของเวลาในการกลับเข้ามาตอมดอกไม้สีเดิม/ดอกเดิมในแต่ครั้ง และบันทึกเวลาที่ผึ้งใช้ในการเก็บน้ำหวานและเกสรในแต่ละครั้ง เก็บข้อมูลของผึ้งในการทดลองนี้ ชนิดละ 20 ตัว ดอกไม้ที่ได้รับการเลือกเข้าผสมเกสรจากการทดลองที่ 1 ทั้งหมดจะถูกตัด บันทึกสีที่มองเห็นและเส้นผ่านศูนย์กลางของดอก



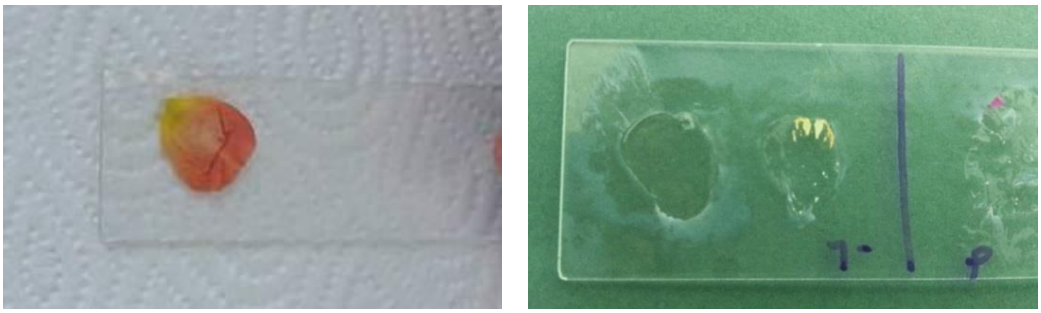
รูปที่ 8 การวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็น

การทดลองที่ 3: ความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลกระทบต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร

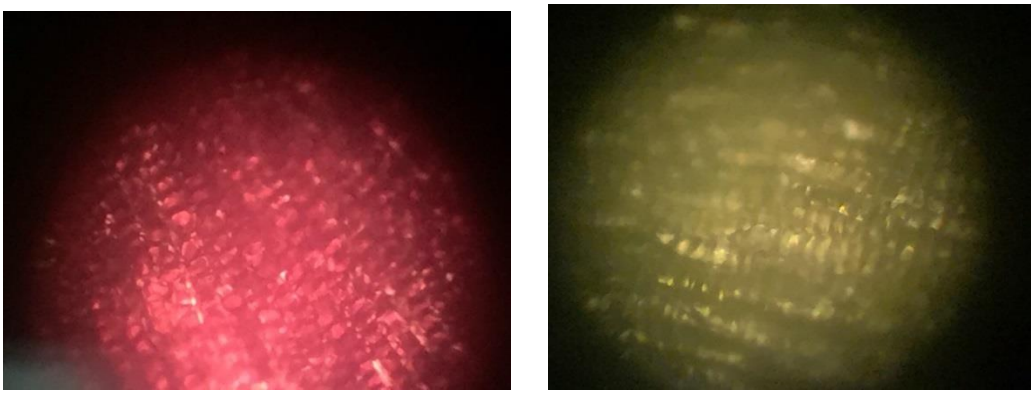
การทดลองนี้มีการศึกษา 2 ส่วน คือ

- ส่วนที่ 1 ศึกษาลักษณะของเซลล์ผิวของกลีบดอกด้านใน ด้วยวิธี Glue imprint

นำกลีบดอกไม้มาวางบนสไลด์เพื่อดูลักษณะเซลล์ผิวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Zeiss (Axiostar plus) กำลังขยาย 10x10

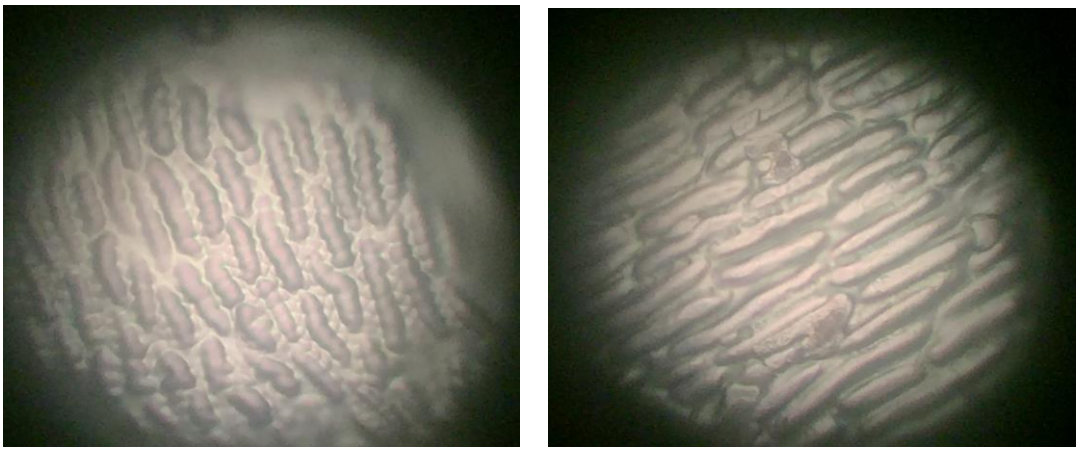


รูปที่ 9 กลีบดอกสดบนสไลด์ (ซ้าย)
เซลล์ผิวของกลีบดอกไม้บนสไลด์หลังทำ Glue imprint (ขวา)



เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็น เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีเหลือง

รูปที่ 10 เซลล์ผิวกลีบดอกคุณนายตื่นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X



ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีบานเย็น ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีเหลือง

รูปที่ 11 ลักษณะเซลล์ผิวจากกลีบดอกคุณนายตื่นสายด้วยวิธี Glue imprint ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X

- ส่วนที่ 2 ชั่งเก็บน้ำหนักดอกสดก่อนนำไปสกัดรงควัตถุด้วยวิธีสกัดตามวิธีในงานวิจัยของ Escribano และคณะ (1998) จากนั้นนำไปวัดความเข้มข้นของสี ด้วยวิธี UV-Vis Spectrophotometry

  นำดอกไมที่วัดเส้นผ่าศูนย์กลางแล้ว มาชั่งน้ำหนัก โดยก่อนชั่งต้องเอาเกสร ฐานกลีบดอกออก ให้เหลือเฉพาะกลีบดอก

รูปที่ 12 กลีบดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

รูปที่ 13 การชั่งน้ำหนักของกลีบดอกด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

หลังจากชั่งน้ำหนักแล้ว นำกลีบดอกไม้จำนวน 2 ดอกมาสกัดสีโดยแช่ในสารละลายผสมระหว่าง absolute methanol 97 ml และ conc. HCL 3 ml ปริมาตร 3 ml แช่ในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นนำไปวัดความเข้มข้นของสี ด้วยวิธี UV-Vis Spectraphotometry ด้วยเครื่อง Thermo Scientific รุ่น Genesys 10S UV-Vis

รูปที่ 14 สารสกัดที่ได้จากดอกคุณนายตื่นสายสีเหลือง (ซ้าย) สีบานเย็น (ขวา)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองที่ 1: ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ที่มีผลต่อการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้ง

- วิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบการเข้าผสมเกสรครั้งแรกของผึ้งภายในชนิดเดียวกันและระหว่างชนิดต่อปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้

การทดลองที่ 2: พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในแต่ละชนิดในการเข้าผสมเกสรจากปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้

- วิเคราะห์ทางสถิติของผึ้งระหว่างชนิดต่อการกลับมาเข้าผสมเกสร

การทดลองที่ 3: ความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลกระทบต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร

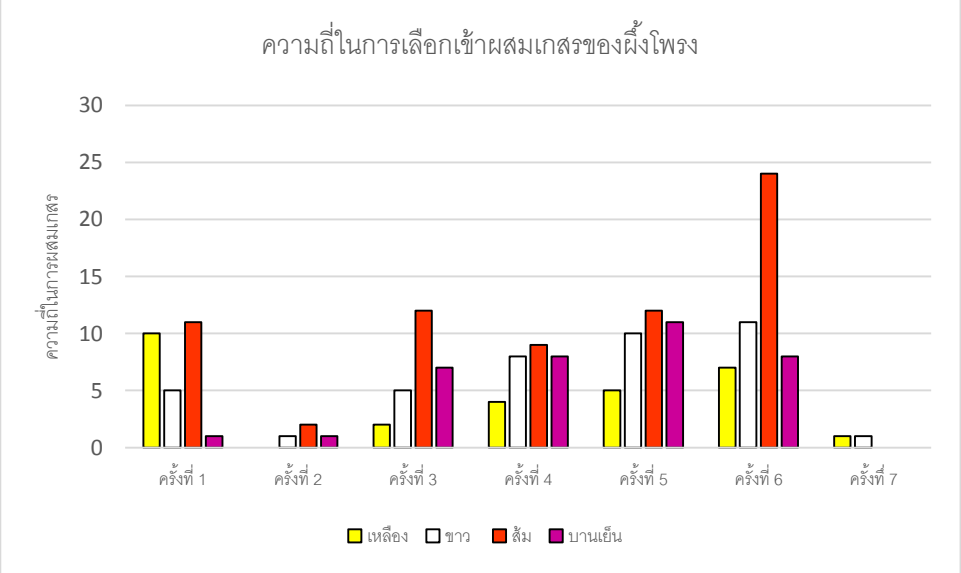
- วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและปริมาณของรงควัตถุกับการเข้าผสมเกสร
- วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของเซลล์ผิวกับการเข้าผสมเกสร

บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล
(Results and Discussion)

การทดลองที่ 1 การทดลองปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ต่อการเลือกเข้าผสมเกสร

1.1 ปัจจัยของสีต่อพฤติกรรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งโพรง

จากการสังเกตพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งโพรงจำนวน 7 ครั้งอย่างอิสระ (Independent replication) ความถี่รวมที่เข้าผสมทั้งสิ้น 176 ครั้ง พบว่าผึ้งโพรงเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสาย สีส้ม 70 ครั้ง ตามด้วย สีขาว 41 ครั้ง สีบานเย็น 36 ครั้ง และสีเหลือง 29 ครั้ง (แผนภูมิที่ 1) อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าความแตกต่างดังกล่าวมีไม่มีความแตกต่างระหว่างสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.1946, One-way *ANOVA*; ตารางที่ 1) จึงสามารถสรุปได้ว่า ในพืชอาหารประเภทคุณนายตื่นสาย ผึ้งโพรงในการทดลองนี้ไม่แสดงพฤติกรรมความชอบสีดอกสีใดสีหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญ



แผนภูมิที่ 1 ความถี่ของการเข้าผสมดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งโพรง

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	139.1429	3	46.38095	1.695387	0.19464	3.008787
Within Groups	656.5714	24	27.35714			
Total	795.7143	27				

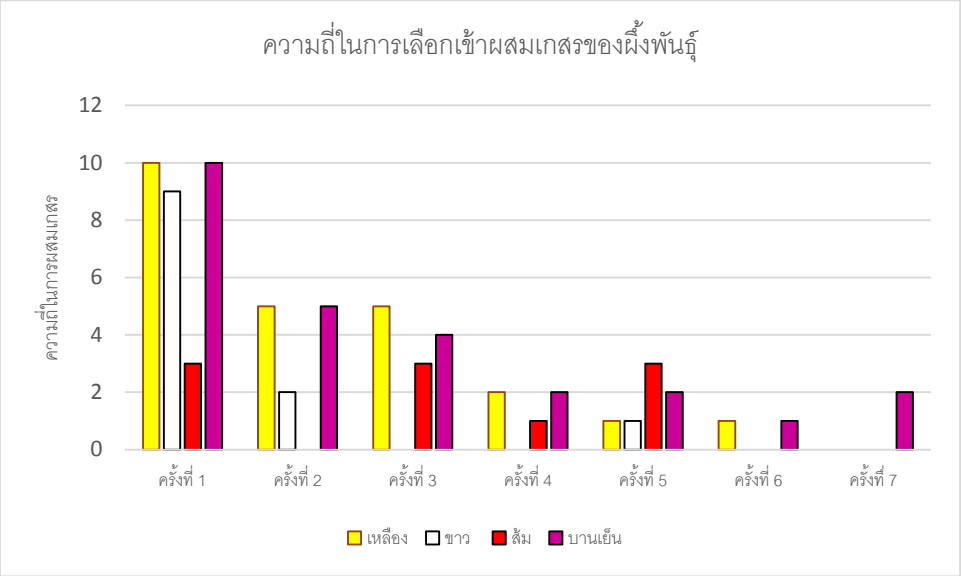
ตารางที่ 1 ผล One-way ANOVA แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างความถี่ในการเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งโพรง

อย่างไรก็ตามการสังเกตพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายพบข้อสังเกตประการหนึ่ง คือ ผึ้งโพรงจำนวน 4 รังที่สังเกตมีการเลือกเข้าผสมเกสรกับคุณนายตื่นสายเพียง 2 รังเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าผึ้งโพรงมีพฤติกรรมการเลือกชนิดพืชอาหาร ซึ่งน่าจะได้ทำการศึกษาต่อไป

1.2 ปัจจัยของสีต่อพฤติกรรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งพันธุ์

จากการสังเกตพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งพันธุ์จำนวน 7 ครั้งอย่างอิสระ ความถี่รวมที่เข้าผสมทั้งสิ้น 72 ครั้ง พบว่าผึ้งพันธุ์เข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสาย สีบานเย็น 26 ครั้ง สีเหลือง 24 ครั้ง สีขาว 12 ครั้ง และสีส้ม 10 ครั้ง (แผนภูมิที่ 2) อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติจะพบว่าความแตกต่างดังกล่าวมีไม่มีความแตกต่างระหว่างสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.3736, One-way *ANOVA*; ตารางที่ 2) จึงสามารถสรุปได้ว่า ในพืชอาหารประเภทคุณนายตื่นสาย ผึ้งพันธุ์ในการทดลองนี้ไม่แสดงพฤติกรรมความชอบสีดอกสีใดสีหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญ

อย่างไรก็ตามการสังเกตพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายพบข้อสังเกตประการหนึ่ง คือ ผึ้งพันธุ์ จำนวน 5 รังมีการเลือกเข้าผสมเกสรกับคุณนายตื่นสายเพียง 3 รังเท่านั้น และปริมาณผึ้งในแต่ละรังที่แสดงความสนใจในดอกคุณนายตื่นสายมีน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณผึ้งหาอาหารทั้งรัง (<1%) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าผึ้งพันธุ์มีพฤติกรรมการเลือกชนิดพืชอาหาร ซึ่งน่าจะได้ทำการศึกษาต่อไป



แผนภูมิที่ 2 ความถี่ของการเข้าผสมดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งพันธุ์

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	28.57143	3	9.52381	1.086957	0.373564	3.008787
Within Groups	210.2857	24	8.761905			
Total	238.8571	27				

ตารางที่ 2 ผล One-way ANOVA แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างความถี่ในการเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งพันธุ์

พฤติกรรมที่ผึ้งพันธุ์แสดงให้เห็นในการศึกษาครั้งนี้ขัดแย้งกับการศึกษาของ Morawetz และ คณะ ในปี 2013 ซึ่งได้ทดสอบกับผึ้งพันธุ์ในยุโรป พบว่าผึ้งพันธุ์มีความสนใจต่อดอกไม้สีม่วงน้ำเงินบนพื้นหลังสีเขียวมากกว่าสีอื่นเมื่อทดสอบด้วยรูปทรงเดียวกัน เช่นเดียวกับบทความวิจารณ์ (Review article) ของ Orban และ Plowright ในปี 2014 ที่ได้รวบรวมรายงานหลายฉบับโดยชี้ให้เห็นว่า ผึ้งพันธุ์มีความชอบโดยกำเนิด (innate preference) ต่อสีที่สะท้อนคลื่นแสงในช่วง 410 nm (bee-UV-blue) ถึง 530 nm (bee-green) อย่างไรก็ตามการทดสอบการเรียนรู้และการจดจำรูปทรงของผึ้งพันธุ์ดังกล่าวยังพบว่าผึ้งพันธุ์ที่มีประสบการณ์จะสามารถประมวลผลในเรียนรู้เชิงพื้นที่ (spatial learning) และปรับตัวให้เข้ากับสภาวะที่มีปัจจัยกระตุ้นเปลี่ยนแปลงไปได้ จึงเป็นไปได้ว่าผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยมีการเรียนรู้เกี่ยวกับพืชอาหารในพื้นที่ประเทศไทย ซึ่งมีสัดส่วนชนิดของพืชอาหารที่มีสีม่วง ม่วงชมพู หรือบานเย็นเพียง 33% ของชนิดพืชอาหารทั้งหมด (ตารางที่ 1ก ภาคผนวก ก) ซึ่งการเรียนรู้ดังกล่าวมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นความทรงจำระยะยาว อันเนื่องจาก Menzel (2001) ได้รายงานถึงการศึกษาการตอบสนองของสมองในผึ้งพันธุ์ว่าสามารถเกิดการเรียนรู้แบบใช้เหตุผล (Cognitive learning) ในระดับต่ำและกลางได้ ทั้งนี้ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ใช้ผึ้งหาอาหารที่ไม่มีประสบการณ์ เนื่องจากเป็นสังเกตพฤติกรรมในแปลงจริง จึงไม่สามารถสรุปปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกสีดอกไม้ที่แตกต่างไปจากการทดลองกับผึ้งพันธุ์ในพื้นที่อื่นๆ ได้

1.3 ปัจจัยของสีต่อพฤติกรรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งมิ้ม

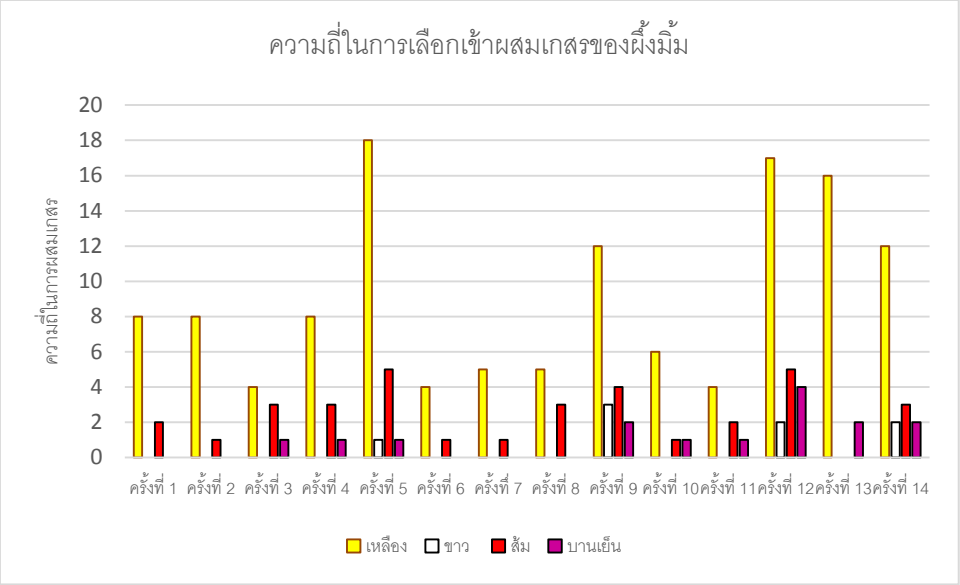
จากการสังเกตพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งมิ้มจำนวน 14 ครั้งอย่างอิสระ ความถี่รวมที่เข้าผสมทั้งสิ้น 184 ครั้ง พบว่าผึ้งมิ้มเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสาย สีเหลือง 127 ครั้ง สีส้ม 34 ครั้ง สีบานเย็น 15 ครั้ง และสีขาว 8 ครั้ง (แผนภูมิที่ 3) อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติจะพบว่าความแตกต่างดังกล่าวมีความแตกต่างระหว่างสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 4.3 \times 10^{-11}$, One-way *ANOVA*; ตารางที่ 3) เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติของความถี่ในการเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายสีต่างๆ พบว่าผึ้งมิ้มแสดงความสนใจเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมากกว่าสีอื่นๆ ในการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 7.26 \times 10^{-5}$, F-test for variance, ตารางที่ 4) ขณะที่พฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายสีส้ม สีบานเย็น และ สีขาว ของผึ้งมิ้มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) จึงสามารถสรุปได้ว่า ผึ้งมิ้มมีพฤติกรรมเลือกเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมากกว่าสีอื่นๆ

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	650.7143	3	216.9048	28.72075	4.31E-11	2.7826
Within Groups	392.7143	52	7.552198			
Total	1043.429	55				

ตารางที่ 3 ผล One-way ANOVA แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างความถี่ในการเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งมิ้ม

	เหลือง	*ส้ม*	*บานเย็น*	*ขาว*
Mean	9.071429[a]	2.428571[b]	1.071429[b]	0.571429[b]
Variance	25.45604	2.417582	1.302198	1.032967
P value	7.26×10^{-5}	0.138782	0.34121	

ตารางที่ 4 จำนวนความถี่เฉลี่ยและความแปรปรวนของการเลือกเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆในผึ้งมิ้ม



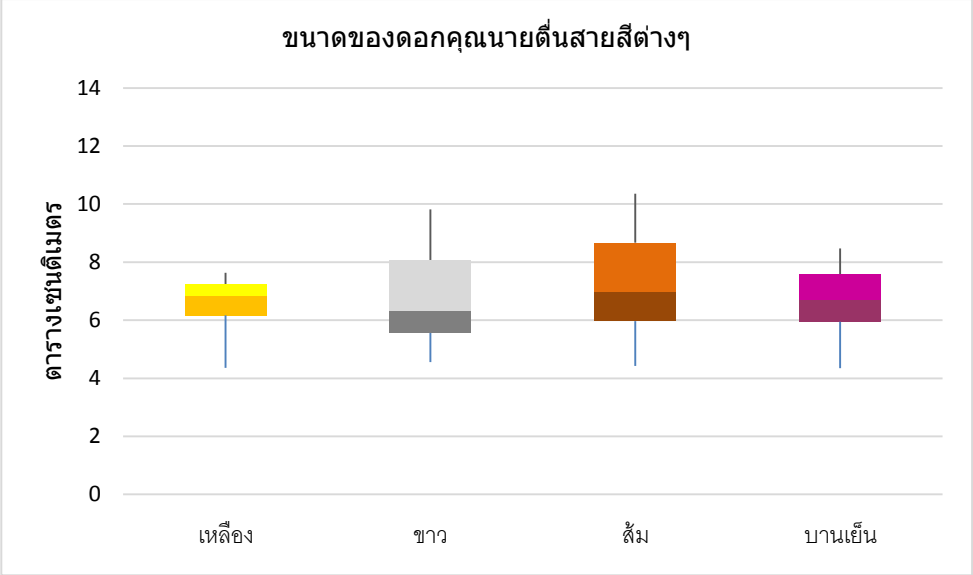
แผนภูมิที่ 3 ความถี่ของการเข้าผสมดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ ในผึ้งมิ้ม

1.4 ปัจจัยของขนาดดอกไม้ต่อพฤติกรรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายในผึ้งโพรง ผึ้งพันธุ์ และผึ้งมิ้ม

ดอกคุณนายตื่นสายที่ได้รับการเข้าผสมเกสรจากผึ้งทุกชนิดนำมาวัดขนาด โดยตั้งข้อสันนิษฐานว่าดอกคุณนายตื่นสายมีลักษณะเป็นวงรีค่อนไปทางวงกลม โดยคำนวณพื้นที่ดอกจากการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางในแนวตั้งฉากกัน จากนั้นนำมาคำนวณด้วยสมการหาพื้นที่วงรี ดังนี้

พื้นที่วงรี = $(\pi ab)/4$ เมื่อ a = เส้นผ่านศูนย์กลางที่ยาวที่สุดของวงรี
b = เส้นผ่านศูนย์กลางของวงรีที่ตั้งฉากกับ a

เมื่อได้พื้นที่ของแต่ละดอกแล้วนำมาพิจารณาทางสถิติระหว่างพื้นที่ดอกในคุณนายตื่นสายสีต่างๆ จำนวนสีละ 20 ดอก เพื่อเปรียบเทียบขนาดของดอกสีต่างๆ ผลพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสี ดังแสดงในแผนภูมิที่ 4 จึงไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของดอกต่อพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งทุกชนิด



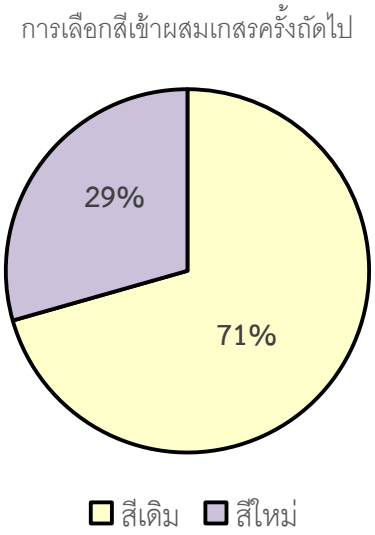
แผนภูมิที่ 4 แผนภาพกล่อง (box plot) แสดงค่าเฉลี่ยและการผันแปรของขนาดของดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ

การทดลองที่ 2: พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในแต่ละชนิดในการเข้าผสมเกสรจากปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้

ในการทดลองครั้งนี้ การเข้าผสมเกสรจากการเรียนรู้จะเริ่มนับจากผึ้งตัวเดิมที่ได้รับการแต้มสีได้กลับเข้ารังและออกมาหาน้ำหวานและผสมเกสรใหม่ เพื่อลดปัจจัยการหาดอกไม้แบบสุ่มของผึ้ง โดยให้นิยามเป็นการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป (re-visit)

ผลการสังเกตการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปในผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ พบว่า จากการสังเกตการเข้าผสมเกสรในพืชอาหารชนิดคุณนายตื่นสายของผึ้งพันธุ์อย่างอิสระจำนวน 22 ตัว และผึ้งโพรงอย่างอิสระจำนวน 25 ตัว ไม่พบการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปในผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงหลังจากการเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายครั้งแรกแม้แต่ครั้งเดียว ยืนยันให้เห็นตามผลการทดลองที่ 1.1 และ 1.2 ว่าผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ไม่เลือกคุณนายตื่นสายเป็นพืชอาหารหลัก

ผลการสังเกตการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปในผึ้งมิ้ม พบว่า จากการสังเกตการเข้าผสมเกสรของผึ้งมิ้มอย่างอิสระจำนวน 97 ตัว มีการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปจากผึ้งตัวเดิมจำนวน 17 ครั้ง คิดเป็น 17.53% ของการเข้าผสมเกสร โดยพบว่าใน 17 ครั้ง ผึ้งมีการเลือกดอกไม้สีเดิมในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปจำนวน 12 ครั้ง และมีการเลือกดอกไม้สีใหม่ในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปจำนวน 5 ครั้ง คิดเป็นสัดส่วน 71% และ 29% ตามลำดับ ดังแสดงตามแผนภูมิที่ 5



แผนภูมิที่ 5 แผนภูมิวงกลมแสดงสัดส่วนของการเลือกสีเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป ในพืชอาหารชนิดคุณนายตื่นสายในผึ้งมิ้ม

ในผึ้งที่แสดงพฤติกรรมการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปทั้ง 16 ตัว พบว่ามีผึ้งเลือกดอกคุณนายสีเหลืองสำหรับการผสมเกสรครั้งแรกจำนวน 12 ตัว ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ 1.3 ที่ชี้ให้เห็นว่า ผึ้งมิ้มมีพฤติกรรมเลือกเข้าผสมเกสรดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมากกว่าสีอื่นๆ ในขณะที่ผึ้งมิ้มเลือกดอกคุณนายสีขาวสำหรับการผสมเกสรครั้งแรก จำนวน 4 ตัว และเลือกดอกคุณนายสีส้มสำหรับการผสมเกสรครั้งแรกจำนวน 1 ตัว

ในผึ้งที่เลือกดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองสำหรับการผสมเกสรครั้งแรกจำนวน 12 ตัว พบว่า 91.67% (11 ตัว) เลือกสีเดิมในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป ในขณะที่ผึ้งที่เลือกดอกคุณนายตื่นสายสีขาวจำนวน 4 ตัว มีเพียง 25% (1 ตัว) ที่เลือกสีเดิม (สีขาว)ในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป และผึ้งที่เลือกดอกคุณนายตื่นสายสีส้มจำนวน 1 ตัวเลือกสีที่ต่างออกไปในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป

จากผลการทดลองดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับสัดส่วนการเลือกสีเหลืองของผึ้งมิ้มจากการทดลองที่ 3.1 ซึ่งมีสัดส่วนที่ 69.02% พบว่าการเลือกสีเหลืองในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไปมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น 32.82% จากความชอบของสีเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นในการเรียนรู้นอกจากความชอบของสีเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามไม่สามารถสรุปได้ถึงความสัมพันธ์ได้อย่างชัดเจนเนื่องจากตัวอย่างน้อยจนเกินไป ซึ่งควรมีการทดลองซ้ำในเรื่องดังกล่าว

การทดลองที่ 3: ความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร

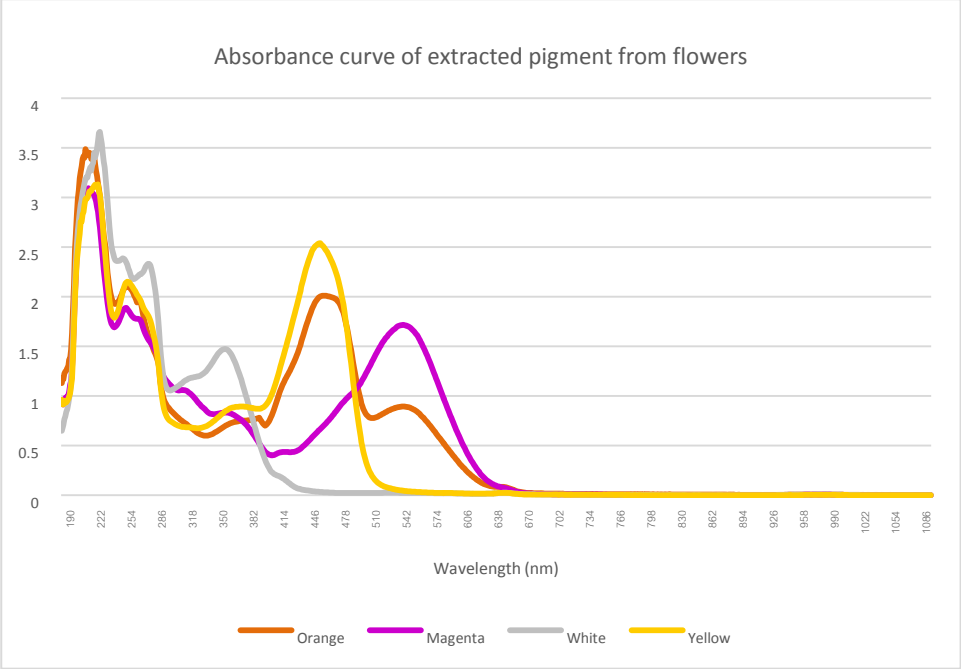
3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและปริมาณของรงควัตถุกับการเข้าผสมเกสร

ลักษณะของการสะสมรงควัตถุของดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ มีการสะสมรงควัตถุในเซลล์ผิว (จากการสังเกต ไม่แสดงผลในที่นี้) เมื่อทำสกัดรงควัตถุในดอกคุณนายตื่นสายด้วยเมทานอลที่มีฤทธิ์เป็นกรด (MeOH: HCl; 97:3) พบว่าสามารถสกัดรงควัตถุในดอกคุณนายตื่นสายทุกสี

ผลของการตรวจสอบรงควัตถุในดอกคุณนายตื่นสายด้วยการดูดกลืนคลื่นแสงช่วง UV-Visible light พบว่าดอกสีเหลืองมีการสะสมรงควัตถุประเภท Betaxanthins สีเหลือง (λ_{max} =480 nm; Azeredo,

2009) ในขณะที่ ดอกสีม่วงแดงมีการสะสม Betacyanins สีชมพู-แดง (λ_{max} = 540 nm; Azeredo, 2009) (แผนภูมิที่ 6) ซึ่งรงควัตถุทั้งสองประเภทอยู่ในกลุ่ม Betalain ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีตั้งแต่เหลืองจนถึงม่วงของพืชกลุ่ม Caryophylalles

นอกจากนี้จากแผนภูมิที่ 6 แสดงให้เห็นว่าดอกคุณนายตื่นสายสีส้มสะสมรงควัตถุสองประเภทคือ Betaxanthins และ Betacyanins สีส้มที่เห็นจึงเป็นสีผสมระหว่าง Betaxanthins และ Betacyanins ลักษณะที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งคือ ดอกคุณนายสีขาวแสดงให้เห็นถึงการสะสมสารที่ดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง 350 nm ซึ่งเป็นช่วงคลื่น UV จำนวนมากกว่าสีอื่น แสดงให้เห็นว่าผึ้งน่าจะเห็นดอกคุณนายตื่นสายสีขาวในอีกสีหนึ่งซึ่งตามนุษย์มองไม่เห็น อย่างไรก็ตามสารนี้มีพบในดอกคุณนายทุกสีแม้จะมีปริมาณน้อยกว่าในดอกสีขาว เชื่อว่าสารที่ดูดกลืนช่วงแสงนี้น่าจะเป็นกรดอะมิโน และโปรตีนที่สกัดออกมาพร้อมกับรงควัตถุ (Elde *et al*., 2012) แต่ทั้งนี้คำอธิบายนี้ไม่สามารถอธิบายได้ว่าเหตุใดในดอกสีขาวจึงมีปริมาณมากกว่าสีอื่นๆ



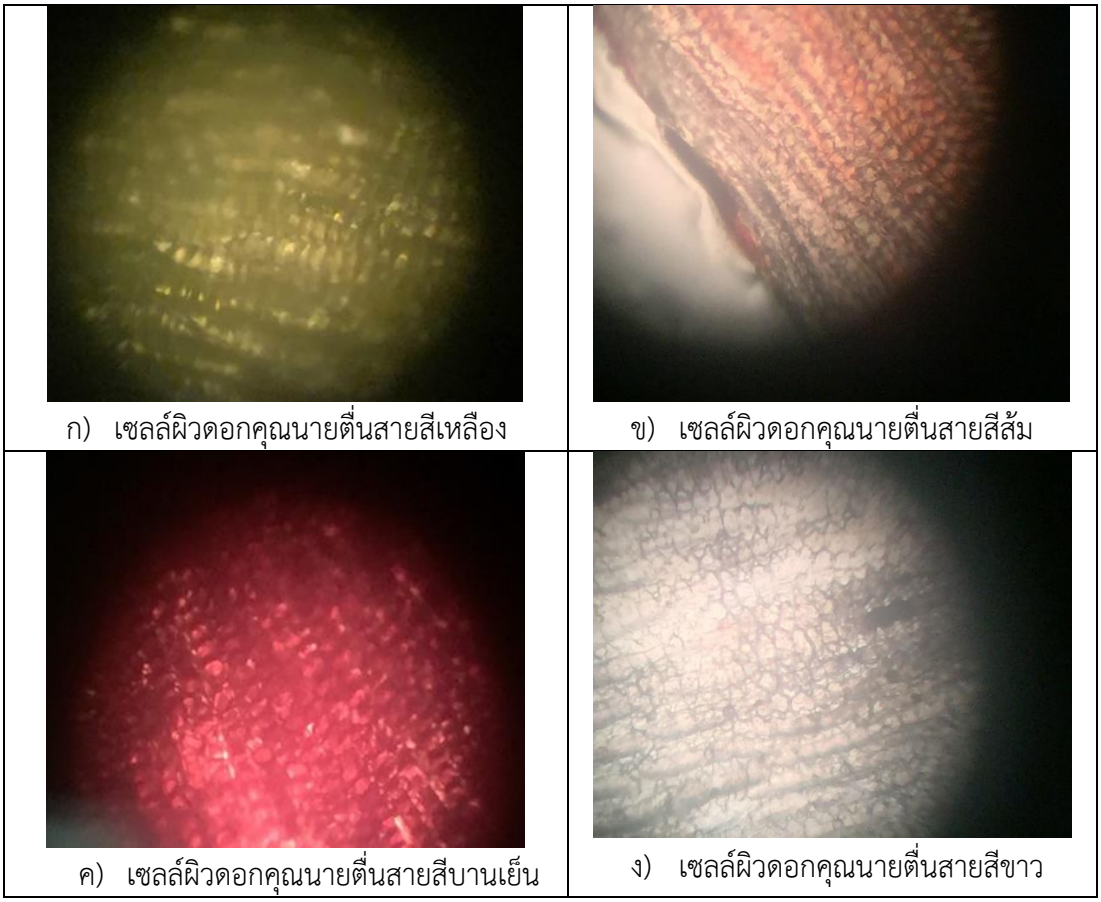
แผนภูมิที่ 6 เส้นโค้งสเปคตรัมในช่วง UV-Visible light ของรงควัตถุที่สกัดจากดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ

เมื่อนำมาวิเคราะห์ร่วมกับจำนวนการเข้าผสมเกสรของผึ้งโพรง ผึ้งพันธุ์ และผึ้งมิ้ม ไม่พบว่าชนิดของรงควัตถุที่สะสม (Betaxanthins และ Betacyanins) มีผลอย่างมีนัยทางสถิติกับการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้งทั้งสามชนิด

3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของเซลล์ผิวกับการเข้าผสมเกสร

ลักษณะของเซลล์ผิวของดอกคุณนายตื่นสายสีต่างๆ มีการสะสมรงควัตถุในเซลล์ผิว (รูปที่ 15) เมื่อสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง กำลังขยาย 400X มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือมีลักษณะเป็นคลื่น เซลล์ผิวเรียงตัวกันแน่นเป็นลักษณะหลายเหลี่ยมมุม (polygonal) อย่างไรก็ตามการศึกษาใต้กล้องแบบใช้แสงมีข้อจำกัดคือการซ้อนเห็นเซลล์ในหลายชั้นพร้อมๆ กันทำให้จำแนกลักษณะได้ยาก จึงได้ทำการศึกษา

ลักษณะทางสัณฐานของเซลล์ผิวด้วยวิธีการพิมพ์ลายพื้นผิวของกลีบดอกลงบนกาวแห้งเร็ว เพื่อศึกษาลักษณะใต้กล้องจุลทรรศน์อีกครั้งหนึ่ง ผลดังแสดงในรูปที่ 16 มีลักษณะเซลล์ผิวผสมระหว่างเซลล์แบบหลายมุม (polygonal) และแบบเซลล์ยาว (elongated) ลักษณะผิวของเซลล์แบบยาวเป็นแบบหยักเป็นคลื่น (sinuate) ในทุกสี ยกเว้นในดอกสีเหลืองที่มีความหยักเป็นคลื่นน้อยกว่าในดอกสีอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงในรูปที่ 16 ก



ก) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีเหลือง

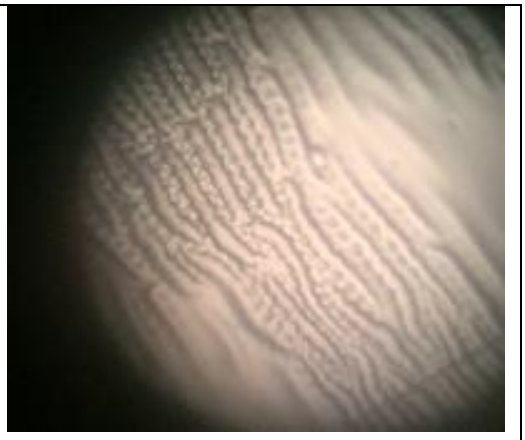
ข) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีส้ม

ค) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็น

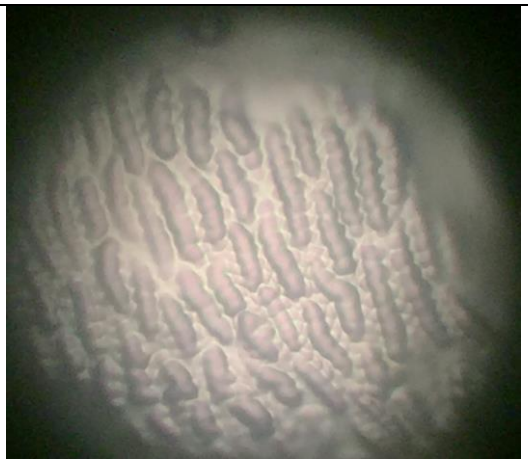
ง) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีขาว

รูปที่ 15 เซลล์ผิวกลีบดอกคุณนายตื่นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X
ก) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีเหลือง ข) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีส้ม
ค) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็น ง) เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีขาว

ก) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีเหลือง



ข) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีส้ม



ค) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีบานเย็น

ง) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีขาว

รูปที่ 16 ลักษณะเซลล์ผิวจากกลีบดอกคุณนายตื่นสายด้วยวิธี Glue imprint ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 400X

ก) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีเหลือง ข) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีส้ม

ค) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีบานเย็น ง) ลักษณะเซลล์ผิวดอกสีขาว

ลักษณะของเซลล์ผิวที่ค่อนข้างเรียบของดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองเป็นลักษณะที่พบได้จากทุกดอกที่ผึ้งมีการลงไปผสมเกสร อย่างไรก็ตามเนื่องจากการขยายพันธุ์ของคุณนายตื่นสายเป็นลักษณะการปักชำและมีอายุค่อนข้างสั้นอีกทั้งการได้มาซึ่งต้นคุณนายตื่นสายมาจากแหล่งเดียวกัน ดังนั้นจึงเป็นไปได้สูงที่จะมาจากต้นพันธุ์เดียวกัน ทำให้พบแต่ลักษณะดังกล่าว และไม่สามารถชี้ชัดลงไปได้ว่า เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมีผลต่อพฤติกรรมการผสมเกสรของผึ้ง

5.สรุปและข้อเสนอแนะ
(Conclusions and Recommendations)

1. ปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้ต่อการเลือกเข้าผสมเกสรสายในผึ้งโพรง ผึ้งพันธุ์ และผึ้งมิ้ม

ผึ้งโพรงเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีส้มมากที่สุด รองลงมา คือ สีขาว สีบานเย็น และสีเหลือง ตามลำดับ ในผึ้งพันธุ์เข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีบานเย็นมากที่สุด รองลงมา คือ สีเหลือง สีขาว และสีส้ม ตามลำดับ แต่พบว่าทั้งผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงไม่แสดงพฤติกรรมความชอบสีดอกสีใดสีหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงอาจจะมีพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรชนิดพืชอาหาร โดยสังเกตจากไม่ใช่ทุกรังของผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสาย ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะให้ทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้มีข้อมูลมากเพียงพอและออกแบบการทดลองแบบอื่นและอาจเปลี่ยนชนิดของดอกไม้ที่มีรูปทรงและสีที่เหมือนหรือใกล้เคียงดอกคุณนายตื่นสายให้มากที่สุดเพื่อยืนยันผลที่ได้ในเรื่องของปัจจัยสีมีผลต่อการเลือกเข้าผสมเกสรในผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงต่อไป สำหรับผึ้งมิ้มให้ผลที่แตกต่างไป คือ ผึ้งมิ้มเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมากที่สุด รองลงมาคือ สีส้ม สีบานเย็น และสีขาว ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติของความถี่พบว่าผึ้งมิ้มแสดงความสนใจเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมากกว่าสีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่พฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรในดอกคุณนายตื่นสายสีส้ม สีบานเย็น และ สีขาว ของผึ้งมิ้มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถสรุปได้ว่าผึ้งมิ้มมีพฤติกรรมเลือกเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมากกว่าสีอื่นๆ

เมื่อศึกษาขนาดดอกไม้มีผลต่อพฤติกรรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของดอกคุณนายตื่นสาย สรุปได้ว่าไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของดอกต่อพฤติกรรมการเลือกเข้าผสมเกสรของคุณนายตื่นสายในผึ้งโพรง ผึ้งพันธุ์และผึ้งมิ้ม

2. พฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในแต่ละชนิดในการเข้าผสมเกสรจากปัจจัยของสีและขนาดของดอกไม้

การเข้าผสมเกสรในพืชอาหารชนิดคุณนายตื่นสายของผึ้งพันธุ์ และผึ้งโพรง ไม่พบการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป อาจสรุปได้ว่าผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงไม่มีพฤติกรรมการเรียนรู้ในการเข้าผสมเกสรครั้งต่อไปในดอกคุณนายตื่นสายอาจเป็นเพราะคุณนายตื่นสายไม่ได้เป็นพืชอาหารหลักของผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง

ในผึ้งมิ้มอาจสรุปได้ว่ามีพฤติกรรมการเรียนรู้ในการเข้าผสมเกสรจากสีของดอกไม้ พบว่าผึ้งมิ้มตัวเดิมมีการเข้าผสมเกสรจากสีเดิมในครั้งถัดไป และพบว่าสีที่ผึ้งมิ้มเข้าผสมเกสรในครั้งถัดไปมากที่สุดคือสีเหลือง อย่างไรก็ตามไม่สามารถสรุปได้ถึงความสัมพันธ์ได้อย่างชัดเจนเนื่องจากตัวอย่างน้อยจนเกินไป ซึ่งควรมีการทดลองซ้ำในเรื่องดังกล่าวและ/หรือเปลี่ยนชนิดของดอกไม้ที่มีสีและรูปทรงใกล้เคียงกับดอกคุณนายตื่นสายมากที่สุด

3. ความสัมพันธ์ของปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกและลักษณะเซลล์ผิวที่ส่งผลกระทบต่อการดึงดูดผึ้งมาผสมเกสร

สารละลายเมทานอลสามารถสกัดรงควัตถุในดอกคุณนายตื่นสายทุกสี จากการดูดกลื่นแสงช่วง UV-Visible light คุณนายตื่นสายดอกสีเหลืองมีการสะสมรงควัตถุประเภท Betaxanthins ดอกสีม่วงแดงมีการสะสม Betacyanins ซึ่งทั้งสองรงควัตถุอยู่ในกลุ่ม Betalain ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีตั้งแต่เหลืองจนถึงม่วงของพืชกลุ่ม Caryophylalles สำหรับดอกสีส้มมีการสะสมรงควัตถุสองประเภท คือ Betaxanthins

และ Betacyanins ในดอกสีขาวสารที่ดูดกลืนแสงในช่วง 350 nm น่าจะเป็นกรดอะมิโน และโปรตีนที่สกัดออกมาพร้อมกับรงควัตถุ และคิดว่าผึ้งน่าจะเห็นดอกคุณนายตื่นสายสีขาวในอีกสีหนึ่งซึ่งตามนุษย์มองไม่เห็น เมื่อนำผลมาวิเคราะห์ร่วมกับจำนวนการเข้าผสมเกสรเพื่อศึกษาปริมาณรงควัตถุที่สะสมในเซลล์ผิวของกลีบดอกไม่พบว่าชนิดของรงควัตถุที่สะสม (Betaxanthins และ Betacyanins) มีผลอย่างมีนัยทางสถิติกับการเลือกเข้าผสมเกสรของผึ้งพันธุ์ ผึ้งโพรงและผึ้งมิ้ม

ลักษณะของเซลล์ผิวของดอกคุณนายตื่นสายในทุกสี มีลักษณะเซลล์ผิวผสมระหว่างเซลล์แบบหลายมุม และแบบเซลล์ยาว โดยในเซลล์แบบยาวเป็นแบบหยักเป็นคลื่นในทุกสี ยกเว้นในดอกสีเหลืองที่มีความหยักเป็นคลื่นน้อยกว่าในดอกสีส้ม สีบานเย็นและสีขาว ในผึ้งมิ้มพบว่าการเลือกเข้าดอกสีเหลืองมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เนื่องจากการขยายพันธุ์ของคุณนายตื่นสายเป็นลักษณะการปักชำโดยซื้อต้นพันธุ์มาจากแหล่งเดียวกันซึ่งเป็นไปได้สูงที่จะมาจากต้นพันธุ์เดียวกัน ทำให้ไม่สามารถชี้ชัดลงไปได้ว่า เซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมีผลต่อพฤติกรรมการผสมเกสรของผึ้ง

ข้อเสนอแนะ

1. ทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้มีข้อมูลมากเพียงพอและ/หรือออกแบบการทดลองแบบอื่นและ/หรือชนิดของดอกไม้ที่มีรูปทรงและสีที่เหมือนหรือใกล้เคียงดอกคุณนายตื่นสายให้มากที่สุด
2. ในการขยายพันธุ์ของต้นคุณนายตื่นสายเพื่อให้ได้สีดอกที่ต้องอย่างเพียงพอควรใช้ต้นพันธุ์จากแหล่งที่แตกต่างกันมาปักชำเพื่อให้แน่ใจว่าต้นของดอกคุณนายตื่นสายไม่ได้มาจากต้นพันธุ์เดียวกัน ซึ่งจะทำให้สามารถชี้ขัดอย่างชัดเจนว่าเซลล์ผิวดอกคุณนายตื่นสายสีเหลืองมีผลต่อพฤติกรรมการผสมเกสรของผึ้ง
3. การที่ผึ้งเลือกเข้าผสมเกสรดอกไม้ในครั้งแรก (first visit) ไม่เกี่ยวกับลักษณะเซลล์ผิวในแง่ของการยึดจับ จึงแนะนำให้ตรวจการสะท้อน (reflection) จากเซลล์ผิวแบบต่างกันเพื่อหาความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งในการเข้าผสมเกสรครั้งถัดไป (revisit)
4. ควรตรวจลักษณะเซลล์ผิวของสีดอกไม้ก่อนนำมาการทดลองเพื่อระบุให้ชัดเจนว่าดอกไม้ชนิดเดียวกันแต่มีสีที่ต่างกันลักษณะของเซลล์ผิวจะต่างกัน

เอกสารอ้างอิง
(References)

อาณัฐ ตันโช. 2549. เกษตรธรรมชาติ. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. 7(3): 32-37.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และ เพ็ญศรี ตังคณะสิงห์. 2528. ชีววิทยาของผึ้ง. กรุงเทพมหานคร, ฟันนี่พับบริชชิ่ง.

สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตรกรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. ข้อมูลพื้นฐานสินค้าเกษตรปี 2557/2558 กลุ่มส่งเสริมแมลงเศรษฐกิจ.

Bradshaw A. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advance Genetic* 13: 115-156.

Brockington S.F., Walker R.H., Glover B.J., Soltis P.S. and Soltis D.E. 2011. Complex pigment evolution in the Caryophyllales. *New Phytologist* 190: 854-864.

Buchmann, S.L. and Nabhan G.P. 1996. The Forgotten Pollinators. Island Press, Washington, DC.

De Azeredo H M C. 2009. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International* 42: 1240-1253

De Groot A.P. 1953. Protein and amino acid requirement of the honeybee (*Apis mellifera* L.) Physiologia Comparata et oecologia 3: 197-285.

Ding H., Yao J. and Song S. 2008. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Portulaca oleracea* L. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University* . p. 2008-2010.

Doull K. M. 1975. Pollen supplements – I Relationships between supplements, pollen and brood rearing. *American Bee Journal* 115: 14-15.

Dyer A.G., Whitney H.M., Arnold S.E.J., Glover B.J. and Chittka L. 2007. Mutation perturbing petal cell shape and anthocyanin synthesis influence bumblebee perception of *Antirrhinum majus* flower colour. *Arthropod-Plant Interactions* 1: 45-55.

Elde N.C., Child S.J., Eickbush M.T., Kitzman J.O., Rogers K.S., Shendure J., Geballe A.P. and Malik H.S. 2012. Poxviruses deploy genomic accordions to adapt rapidly against host antiviral defenses. *Cell* 150(4): 831-841

Ellis A., Ellis J., O'Malley M. and Nalen Z. C. 2010. The Benefits of pollen to Honey Bees, One of a series of the Entomology and Nematology Department, University of Florida p. 1-4.

Escribano J., Pedreño M. A., Garcia-Carmona F. and Muñoz R. 1998. Characterization of the antiradical activity of betalains from Beta vulgaris L. roots. *Phyetochemical Analaysis* 9: 124-127.

Haydak M.H. 1970. Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* 15: 143-156.

Hoover S.E.R., Higo H.A. and Winston, M.L. 2006. Worker honey bee ovary development: seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *Journal of Comparative Physiology B* 176: 55-63.

Human H., Nicolson S.W., Strauss K., Pirk C.W.W. and Dietemann V. 2007. Influence of pollen quality on ovarian development in honeybees (*Apis mellifera scutellata)*. *Journal of Insect Physiology* 53: 649-655.

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

Kremen C., Williams N.M. and Thorp R.W. 2002. Crop pollination from natives bee at risk from agricultural intensification. *Proceeding of the National Academy of Science* 99: 16812-16816.

Lin H. and Winston M.L. 1998. The role of nutrition and temperature in the ovarian development of the worker honey bee *Apis mellifera*. *Canadian Entomologist* 130: 883-891.

Menzel R. 1999. Memory dynamics in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology A* 185: 323-340.

Menzel R. 2001. Searching for the memory trace in a mini-brain, the honeybee. *Learning and Memory* 8: 53–62.

Morawetz L., Svoboda A., Spaethe J. and Dyer AG. 2013. Blue colour preference in honeybees distracts visual attention for learning closed shapes. *Journal of Comparative Physiology A* 199: 817-827.

Morse R.A. and Calderone N.W. 2000. The value of honey bees as pollinators of US crops in 2000. *Bee Culture* 128: 1-15.

Noda K., Glover B. J., Linstead P. and Martin C. 1994. Flower colour intensity depends on specialized cell shape controlled by a Myb-related transcription factor.*Nature* 369: 661-664.

Orbán L.L. and Plowright C.M. 2014. Getting to the start line: how bumblebees and honeybees are visually guided towards their first floral contact. *Insectes Sociaux* 61(4): 325-336

Pernal S.F. and Currie R.W. 2000. Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 31: 387-409.

Pirk C. W.W., Boodhoo C., Human H. and Nicolson S.W. 2010. The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie* 41: 62-72.

Ren S., Weeda S., Akande O., Guo Y., Rutto L. and Mebrahtu T. 2011. Drought tolerance and AFLP-based genetic diversity in purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Journal of Biotech Research* 3: 51-61.

Schäfer M.O., Dietemann V., Pirk C.W.W., Neumann P., Crewe R.M., Hepburn H.R., Tautz J. and Crailsheim K. 2006. Individual versus social pathway to honeybee worker reproduction (*Apis mellifera*) : pollen or jelly as protein source for oogenesis?. *Journal of Comparative Physiology A* 192: 761-768.

Schmidt J.O., Thoenes S.C. and Levin M.D. 1987. Survival of Honey Bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources. *Annals of the Entomological Society of America* 80(2): 176-183.

Simopoulos, P., Norman, H.A., Gillaspy, J.E. and Duke, J.A. 1992. Common purslane: a source of omega-3 fatty acids and antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* 11(4): 374-382.

Spaetthe J., Tautz J. and Chittka L. 2001. Visual constraints in foraging bumblebees: flower size and colour affect search time and flight behaviour. *Proceeding of the National Academy of Science* 98: 3898-3903.

Tanaka Y., Sasaki N. and Ohmiya A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanin, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* 54: 733-749.

Waser N. and Chittka L๊ 1998. Bedazzled by flowers. *Nature* 394: 835-836.

Whitney H.M, Chittka L., Bruce T.J.A. and Glover B.J. 2009. Conical Epidermal Cells Allow Bees to Grip Flowers and Increase Foraging Efficiency. *Current Biology* 19: 948-953.

Whitney H.M. and Glover B.J. 2007. Morphology and development of floral features recognized By pollinators. *Arthropod-Plant Interaction* 1: 147-158.

Whitney H.M., Bennett K.M.V, Dorling M., Sandbach L., Prince D., Chittka, L. and Glover B.J. 2011. Why do so many petals have conical epidermal cells?. *Annals of Botany* 108: 609-616.