บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาผลของชนิดเกสรต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงานในผึ้งโพรง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

1. การศึกษาผลของชนิดเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดแลทานตะวัน ต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงาน แบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลอง คือ
    1.1 การศึกษาผลของชนิดเกสรต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงาน
    1.2 การศึกษาน้ำหนักเกสรผึ้งที่ดักได้จากหน้ารังและเกสรผึ้งบรรจุภายในเซลล์เก็บเกสร
    1.3 การศึกษาโปรตีนรวมในเกสรข้าวโพดและเกสรทานตะวัน
2. การศึกษาผลของเกสรต่อการเพิ่มประชากรผึ้งเมื่อได้รับเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน
3. การศึกษาผลของช่วงเวลาที่ผึ้งหาอาหารออกเก็บเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน

งานวิจัยนี้มีการทดลองทั้งในแปลงทดลองและในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองที่ 1, 1.1, 1.2, 2, และ 3 ทำการศึกษาในแปลงทดลอง สำหรับการทดลองที่ 1.3 ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาในแปลงทดลอง

เริ่มตั้งแต่การปลูกพืชอาหารผึ้งในแปลงทดลอง เก็บข้อมูลการทดลองจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิตภายในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี โดยมีรายละเอียดดังนี้

การศึกษาในแปลงทดลองทั้ง 5 การทดลองได้แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1: ผึ้งได้รับเกสรข้าวโพด
กลุ่มทดลองที่ 2: ผึ้งได้รับเกสรทานตะวัน
กลุ่มทดลองที่ 3: ผึ้งได้รับเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน

การเตรียมแปลง

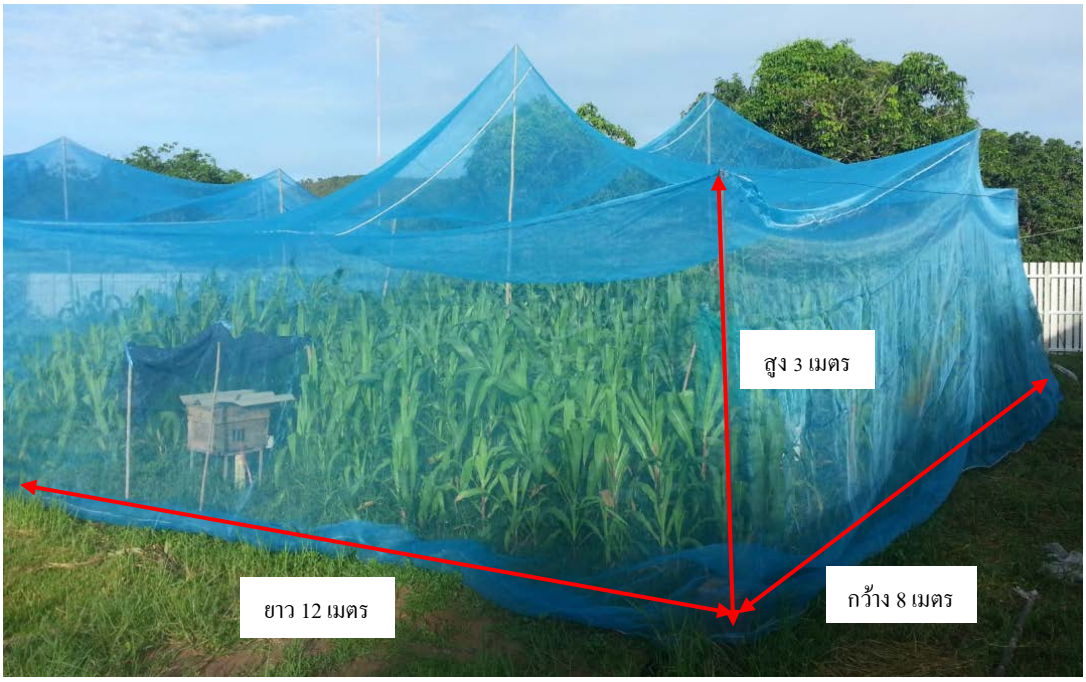
- เตรียมแปลงเพื่อปลูกพืช 2 ชนิด คือ ทานตะวันพันธุ์แปซิฟิค77 (Sunflower; *Helianthus annuus* Linn var. Pacific77) และข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์แฟนซีสีม่วง (Purple waxy corn; *Zea mays* Linn.) แปลง

ทดลองแบ่งออกเป็น 3 แปลงตามกลุ่มการทดลองคือ แปลงข้าวโพด แปลงทานตะวัน และแปลงผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน แต่ละแปลงมีขนาด 84 ตารางเมตร (8 × 12 × 3 เมตร) โดยพื้นที่ภายในแปลงขนาด 4 ตารางเมตร ใช้สำหรับวางกล่องผึ้งโพรง โดยใช้ผึ้งโพรง 3 กล่องในแต่ละกลุ่มการทดลอง รวมทั้งหมด 9 กล่อง ใช้เวลาในการทดลองทั้งหมด 3 รอบ แต่ละรอบทำการทดลองพร้อมกันทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง ใช้ระยะเวลารอบละ 3 เดือน ตั้งแต่การปลูกพืชอาหารผึ้ง ทำการทดลอง และเก็บเกี่ยวผลผลิต

- การปลูกพืชอาหารผึ้งแต่ละแปลงเริ่มจากเตรียมดินก่อนปลูกโดยการไถดะครั้งแรก ตากดินไว้ 1 สัปดาห์ เพื่อกำจัดวัชพืชจากนั้นใส่ปุ๋ยคอกมูลสัตว์เพื่อปรับคุณภาพดิน และไถพรวนครั้งที่สองเพื่อยกร่องพร้อมต่อการปลูก การปลูกหยอดเมล็ดพันธุ์ลงหลุม หลุมละ 1 - 2 เมล็ด ระยะห่างระหว่างต้น 40 เซนติ เมตร ระยะห่างระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยและรดน้ำตามระยะของการเจริญเติบโต ในพื้นที่ 1 แปลงมีทั้งหมด 16 แถว แต่ละแถวมี 20 ต้น รวมทั้งหมด 320 ต้นต่อแปลง โดยแต่ละแปลงแบ่งการปลูกออกเป็น 2 ครั้ง เพื่อสลับให้พืชอาหารผึ้งบานตลอดเวลาและผึ้งได้รับเกสรต่อเนื่องตลอดการทดลอง ในกรณีแปลงผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน จะแบ่งการปลูกข้าวโพดและทานตะวัน ออกแถวละเท่าๆ กันโดยเริ่มปลูกทานตะวันก่อน 7 วัน ก่อนจะปลูกข้าวโพด เพื่อให้ดอกทานตะวันและดอกข้าวโพดบานพร้อมกัน

- เมื่อต้นกล้ามีอายุประมาณ 45 วัน สร้างโรงเรือนคลุมด้วยมุ้งตาข่ายของแต่ละกลุ่มการทดลองสูง 3 เมตรจากพื้น และนำกล่องผึ้งไปวางในแปลงก่อนระยะดอกไม้บาน 1 สัปดาห์ เพื่อปรับสภาพของผึ้งก่อนทำการทดลอง ผึ้งจะได้รับน้ำและน้ำหวานเท่านั้น โรงเรือนจะช่วยควบคุมไม่ให้ผึ้งได้รับเกสรและอาหารจากแหล่งอื่น

- เริ่มเก็บข้อมูลเมื่อดอกไม้มีการบานเต็มที่ (ดูการบานของดอกเกินร้อยละ 80) โดยดอกทานตะวันบานเมื่ออายุ 55 - 58 วัน และดอกข้าวโพดบานเมื่ออายุ 47 - 50 วัน มีระยะการบานเต็มที่เฉลี่ย 12 วัน เมื่อผึ้งงานออกเก็บเกสรเป็นปกติประมาณ 1 สัปดาห์ จึงเริ่มทำการเก็บข้อมูล



รูปที่ 3.1 รูปแบบแปลงทดลองขนาด 8 x 12 x 3 เมตร คลุมด้วยมุ้งตาข่ายเมื่อต้นกล้ามีอายุ 45 วัน

รูปที่ 3.2 พื้นที่ภายในแปลงขนาด 4 ตารางเมตร ใช้สำหรับวางกล่องผึ้งโพรง ถาดน้ำ และถาดน้ำหวาน

3.1 การศึกษาผลของชนิดเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน ต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงาน

3.1.1 การศึกษาผลของชนิดเกสรต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงาน

การศึกษาการพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงานเมื่อได้รับเกสรชนิดต่างๆ ตามกลุ่มการทดลอง ได้แก่ เกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างทานตะวันและข้าวโพด เก็บข้อมูลหลังจากผึ้งได้รับเกสรภายในแปลงทดลองในระยะดอกไม้บานเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เริ่มสำรวจการวางไข่ของผึ้งนางพญา และเก็บข้อมูลการเจริญพัฒนาการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะไข่ถึงตัวเต็มวัย

3.1.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- แผ่นใส สำหรับ mapping ตำแหน่งเซลล์ไข่
- ปากกาเขียนแผ่นใส
- แปรงสำหรับปัดตัวผึ้ง
- กล้องถ่ายรูปสำหรับบันทึกการเปลี่ยนแปลงของผึ้งในแต่ละระยะ

3.1.1.2 ระเบียบวิธีการทดลอง

1. วางแผนการทดลองโดยเก็บข้อมูลระยะเวลาการเจริญเติบโตของผึ้งงานตั้งแต่ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะไข่ถึงตัวเต็มวัย กลุ่มการทดลองละ 3 ซ้ำ สุ่มเก็บข้อมูลซ้ำละ 200 เซลล์ต่อผึ้ง 1 รัง
2. หลังนำกล่องผึ้งไปวางในแปลงทดลองในระยะดอกไม้บาน และปล่อยให้ผึ้งได้รับเกสรภายในแปลงทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เริ่มสำรวจการวางไข่ของผึ้งนางพญาจนกว่าจะมีการวางไข่ ใช้แปรงปัดตัวผึ้งออกจากคอน และวางแผ่นใสลงบนคอนทำเครื่องหมายบนแผ่นใส (mapping) ณ ตำแหน่งเซลล์ระยะไข่ที่มีการวางไข่ที่มีอายุ 1 วัน (สังเกตโดยไข่จะตั้งในแนว 90 องศา) ซึ่งจะทำเครื่องหมายจำนวนเซลล์ประมาณ 250 เซลล์ แต่จะเลือกจำนวนเพียง 200 เซลล์ต่อผึ้ง 1 กล่องเฉพาะเซลล์ที่เหลือรอด ทำการเช็คทุก 2 วัน เพื่อดูการเจริญเติบโตจากไข่เป็นตัวหนอน และเมื่อตัวหนอนอายุ 4 วัน เช็คทุกวันจนเข้าดักแด้ และหลังจากเข้าดักแด้เป็นเวลา 10 วัน ทำการเช็คทุกวันจนกว่าจะออกเป็นตัวเต็มวัย ถ่ายรูปเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในแต่ละระยะ ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่มการทดลอง

รูปที่ 3.3 การทำ mapping บนคอนผึ้งก่อนการทดลอง

รูปที่ 3.4 การพัฒนาการเจริญเติบโตของผึ้งงานในระยะต่างๆ หลังได้รับเกสรในแปลงทดลอง

3.1.1.3 การเก็บข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยนับจำนวนวันที่มีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละระยะของผึ้งงานตั้งแต่ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ ระยะไข่ถึงตัวเต็มวัย
- วิเคราะห์ข้อมูลโดย หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Munltiple Test

3.1.2 การศึกษาน้ำหนักเกสรผึ้งที่ดักได้จากหน้ารังและเกสรผึ้งบรรจุภายในเซลล์เก็บเกสร

การศึกษาน้ำหนักเกสรผึ้งที่ดักได้จากหน้ารังและเกสรผึ้งบรรจุภายในเซลล์เก็บเกสร เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม และวิเคราะห์มูลค่าทางเศรษฐกิจของเกสรเพื่อเป็นแนวทางให้เกษตรกรเลือกชนิดพืชอาหารควบคู่กับการเลี้ยงผึ้งเพื่อสร้างรายได้เสริม

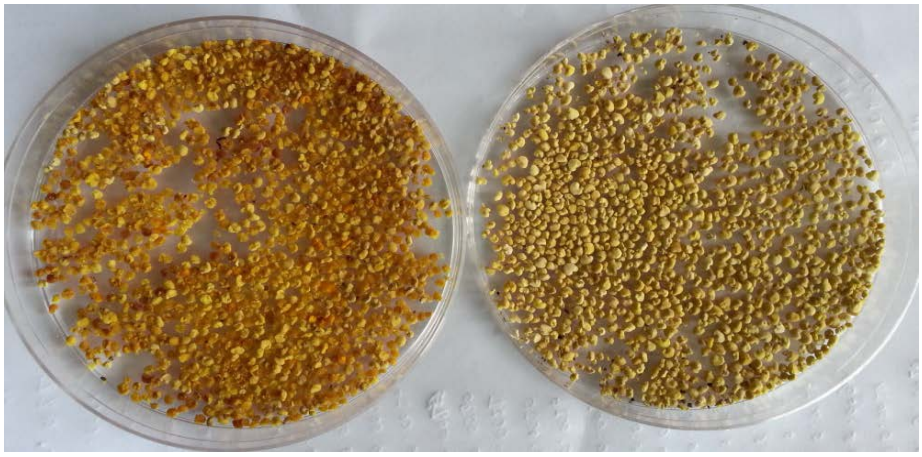
3.1.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิตอล 4 ตำแหน่ง
- ขวดพร้อมฝาบิด สำหรับเก็บตัวอย่างเกสรผึ้ง
- กล้องถ่ายรูป
- ตู้เย็นอุณหภูมิ 1 - 4 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์

3.1.2.2 วิธีการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างก้อนเกสรผึ้งสดที่ดักได้จากหน้ารังและเกสรผึ้งบรรจุภายในเซลล์เก็บเกสร คือ เกสรทานตะวัน และเกสรข้าวโพด อย่างละ 20 ก้อน นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิตอล 4 ตำแหน่ง เพื่อหาน้ำหนักเกสรสดเฉลี่ยต่อก้อน และนำเกสรสดใส่ขวดและปิดฝามิดชิด นำไปแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 1 - 4 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ชั่งจนน้ำหนักคงที่เพื่อหาน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อก้อน
2. นับจำนวนเซลล์เกสรผึ้งที่บรรจุภายในเซลล์เก็บเกสรทั้งก่อนการทดลองและหลังจากผึ้งได้รับเกสรเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในแปลงทดลองของแต่ละกลุ่มการทดลองเมื่อได้รับเกสรแต่ละชนิด บันทึกข้อมูลโดยการถ่ายรูป และใช้โปรแกรม Microsoft paint ใช้ในการนับจำนวนเซลล์เกสรเพื่อเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของเซลล์เก็บเกสรผึ้ง
3. วัดขนาดของเซลล์ผึ้งงานที่ใช้บรรจุเกสรผึ้ง สุ่มตัวอย่างจำนวน 3 รัง รังละ 30 เซลล์ เพื่อหาความสามารถในการบรรจุเกสรภายในหลอดเซลล์

รูปที่ 3.5 ลักษณะการดักเก็บเกสรของผึ้งหาอาหารหน้ารัง



รูปที่ 3.6 ลักษณะเกสรที่ดักเก็บได้จากหน้ารังของเกสรทานตะวัน (ซ้าย) และ เกสรข้าวโพด (ขวา)

รูปที่ 3.7 ลักษณะเกสรทานตะวันที่บรรจุภายในเซลล์เก็บเกสร

รูปที่ 3.8 ลักษณะเกสรที่แยกออกมาจากเซลล์เก็บเกสรภายในรังของเกสรข้าวโพด (ซ้าย) และเกสรทานตะวัน (ขวา)

3.1.2.3 การเก็บข้อมูล

- เก็บข้อมูลน้ำหนักเกสรผึ้งสดและแห้งที่ดักได้จากหน้ารังและเกสรผึ้งบรรจุภายในเซลล์เก็บเกสรเฉลี่ยต่อก้อน
- เก็บข้อมูลการเพิ่มขึ้นของเซลล์เกสรผึ้งที่บรรจุภายในเซลล์เก็บเกสรหลังได้รับเกสรในแปลงทดลอง
- เก็บข้อมูลขนาดของเซลล์ที่ใช้บรรจุเกสรผึ้ง
- วิเคราะห์ข้อมูลโดย หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Munltiple Test

3.1.3 การศึกษาโปรตีนรวมในเกสรข้าวโพดและเกสรทานตะวัน

นำเกสรที่เก็บตัวอย่างจากการทดลองที่ 3.1.2 ไปทำให้แห้งโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 1 - 4 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ชั่งจนน้ำหนักคงที่ และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford

3.1.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- ตัวอย่างเกสรทานตะวัน และเกสรข้าวโพด อย่างละ 0.05 กรัม
- เครื่อง spectrophotometer
- สารละลายโปรตีนมาตรฐาน Stock BSA (4 mg/ml)

- สี Coomassie Brillian Blue G-250
- เครื่อง vortex
- น้ำกลั่น
- หลอดทดลอง

3.1.3.2 วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสี Coomassie Brillian Blue G-250 (Assay Reagent)

- นำสี Coomassie blue G 250 ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ละลายใน เมทานอล 50 มิลลิลิตร เติม 85% H_3PO_4 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร นำสารละลายเก็บในที่มืดอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- ก่อนนำมาใช้เจือจางสารละลายสีต่อน้ำกลั่นในอัตรา 1 : 4 มิลลิลิตร โดยสารละลายมีสีน้ำตาล pH = 1.1 และกรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์1

2. การเตรียม Standard Protein Assay (ภาคผนวกตารางที่ ข.16,17)

3. การวัดปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเกสรข้าวโพดและเกสรทานตะวัน

- นำตัวอย่างเกสรข้าวโพดและเกสรทานตะวันที่อบแห้งทำให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 0.05 กรัม จากนั้นนำไปละลายในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และนำไป vortex

- ปิเปตตัวอย่าง ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จำนวน 2 หลอด

- เติมสีที่เตรียม (Assay Reagent) ลงในหลอดทดลองหลอดละ 2 มิลลิลิตร

- นำไป vortex และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที

- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 595 นาโนเมตร

- บันทึกค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้

3.1.3.2 การเก็บข้อมูล

- นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ของแต่ละตัวอย่างไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณโปรตีนของตัวอย่างแต่ละชนิด (ตารางภาคผนวกที่ ข.18,19)

3.2 การศึกษาผลของเกสรต่อการเพิ่มประชากรเมื่อได้รับเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน

การศึกษาผลของเกสรต่อการเพิ่มประชากรเมื่อได้รับเกสรชนิดต่างๆ เนื่องจากเกสรผึ้งเป็นแหล่งอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการขยายรังของผึ้ง ซึ่งการเก็บข้อมูลจะเปรียบเทียบการเพิ่มประชากรก่อนและหลังได้รับเกสรในแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยนับจำนวนเซลล์ตัวหนอนที่มีอายุ 4 - 5 วัน ก่อนเข้าระยะดักแด้ และนับจำนวนเซลล์หลังจากเข้าดักแด้ 10 วัน เพื่อดูการเพิ่มของจำนวนเซลล์ เพราะในระยะนี้เป็นระยะที่ตัวหนอนพร้อมเข้าระยะดักแด้ซึ่งไม่ต้องการอาหารเพิ่มอีก ดังนั้นจึงไม่มีการตาย และสามารถรู้จำนวนตัวเต็มวัยที่กำลังจะออกเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมดได้ (Vanderplanck, et al., 2014)

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- แผ่นใส สำหรับ mapping ตำแหน่งเซลล์ระยะตัวหนอน
- ปากกาเขียนแผ่นใส
- แปรงสำหรับปัดตัวผึ้ง
- ปากคีบ

3.2.2 วิธีการทดลอง

1. วางแผนการทดลองโดยเก็บข้อมูลจำนวนเซลล์ตัวหนอนที่มีอายุ 4 - 5 วัน ก่อนเข้าระยะดักแด้ จนเข้าดักแด้ 10 วัน โดยใช้ผึ้งรังเดียวกันในการเปรียบเทียบประชากรผึ้งก่อนได้รับเกสรและหลังที่ผึ้งได้รับเกสรชนิดต่างๆ โดยการทำ mapping ทุกคอนภายในผึ้ง 1 รัง ของแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยแต่ละรังมีคอนผึ้ง 5 คอนเท่ากัน และนำผึ้งกล่องเดิมของแต่ละกลุ่มการทดลองไปวางในแปลงทดลองเพื่อให้ผึ้งได้รับเกสรตามกลุ่มการทดลอง สำรวจการวางไข่ของนางพญา และนับจำนวนเซลล์ตัวหนอนที่มีอายุ 4 - 5 วันก่อนเข้าระยะดักแด้ทุกเซลล์จนเข้าดักแด้ 10 วัน บันทึกข้อมูลโดยการถ่ายรูปและใช้โปรแกรม Microsoft paint เพื่อใช้ในการนับจำนวนตัวหนอนเปรียบเทียบก่อนการทดลองและหลังผึ้งได้รับเกสรตามกลุ่มการทดลอง

รูปที่ 3.9 คอนผึ้งที่ได้รับเกสรตามธรรมชาติก่อนได้รับเกสรในแปลงทดลอง

รูปที่ 3.10 คอนผึ้งหลังได้รับเกสรในแปลงทดลอง มีการเพิ่มของจำนวนเซลล์ดักแด้มากขึ้น

3.2.3 การเก็บข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยนับจำนวนเซลล์ตัวหนอนที่มีระยะ 4 - 5 วันก่อนเข้าระยะดักแด้จนเข้าดักแด้ อายุ 10 วัน โดยเปรียบเทียบจำนวนประชากรที่เพิ่มขึ้นหลังได้รับเกสรของแต่ละกลุ่มการทดลอง
- วิเคราะห์ข้อมูลโดย หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Munltiple Test

3.3 การศึกษาช่วงเวลาที่ผึ้งหาอาหารออกเก็บเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน

การศึกษาช่วงเวลาที่ผึ้งหาอาหารออกเก็บเกสรข้าวโพด เกสรทานตะวัน และเกสรผสมระหว่างข้าวโพดและทานตะวัน เพื่อศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการนำไปแนะนำให้เกษตรกรดักเก็บเกสรหน้ารังเพื่อสร้างรายได้เสริมจากการเลี้ยงผึ้งควบคู่กับการปลูกพืชไร่

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

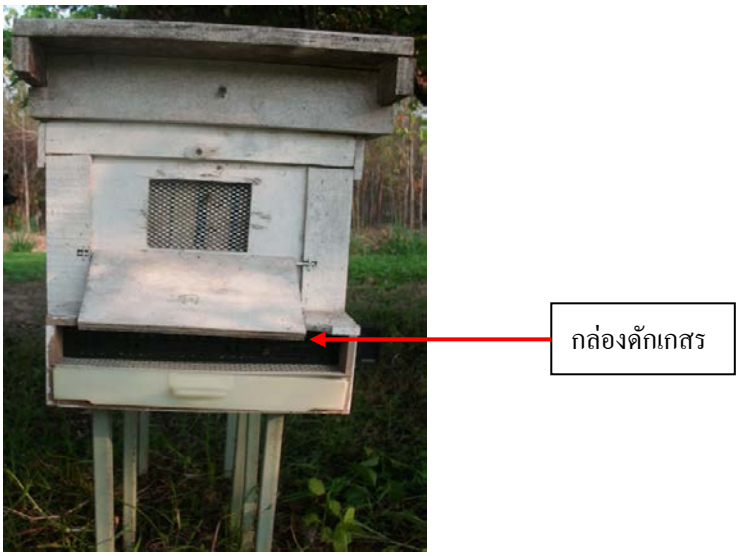
- นาฬิกาจับเวลา
- กล่องดักเกสร
- ขวดแก้วพร้อมฝาปิดสำหรับใส่ตัวอย่างเกสรผึ้ง
- กล้องวีดีโอ
- เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ

3.3.2 วิธีการทดลอง

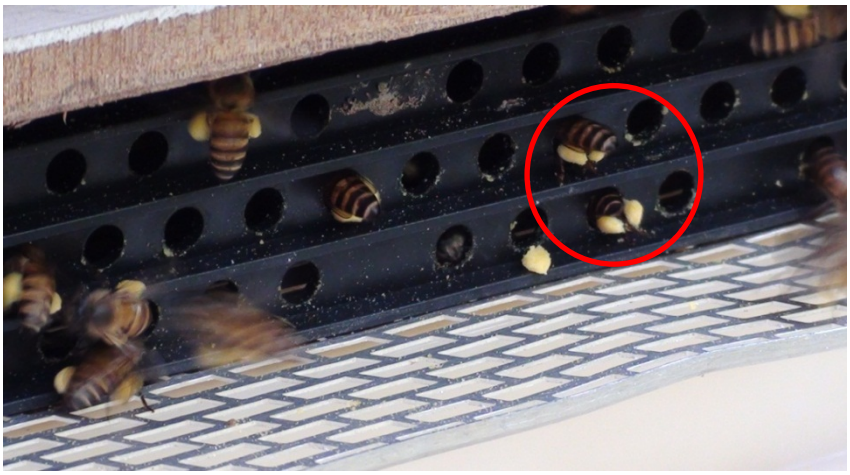
1. วางแผนการทดลองโดยเก็บข้อมูลจำนวนผึ้งหาอาหารในแต่ละช่วงเวลา โดยผึ้งหาอาหารมีจำนวนร้อยละ 30 ของประชากรผึ้งทั้งรัง (Binns, 2013) ใช้กลุ่มการทดลองละ 3 รังที่แตกต่างกัน เพื่อเปรียบเทียบการกระจายข้อมูลการออกเก็บเกสรในแต่ละช่วงเวลา จากนั้นวิเคราะห์โดยละเอียด แบ่งเป็นรายชั่วโมงที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเก็บข้อมูลแบ่งเป็น 3 ช่วงเวลา คือ

    1. ช่วงเวลาเช้า 6.00 - 10.00 น.
    2. ช่วงเวลากลางวัน 10.00 - 14.00 น.
    3. ช่วงเวลาบ่าย 14.00 - 18.00 น.

2. นำกล่องผึ้งที่มีการติดตั้งกล่องดักเกสรก่อนการทดลอง ไปวางในแปลงในช่วงที่ดอกไม้บานเต็มที่ ลักษณะของกล่องดักเกสรจะเป็นตะแกรงดักตรงปากทางเข้าของรังผึ้ง ขนาดตะแกรงโตพอที่ตัวผึ้งลอดผ่านไปได้พอดี แต่ขาหลังของผึ้งจะครูดกับตะแกรงทำให้เกสรที่ติดมากับขาผึ้งร่วงลงถาดรองรับ
3. นับจำนวนการออกเก็บเกสรของผึ้งงานหน้ารังตั้งแต่เวลา 6.00 - 18.00 น. บันทึกข้อมูลทุกๆ ชั่วโมง แต่ละชั่วโมงเป็นเวลา 15 นาที เก็บข้อมูล 3 วันต่อเนื่องกันของแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยใช้กล้องวิดีโอช่วยในการบันทึกจำนวนผึ้งออกเก็บเกสร
4. นับจำนวนเซลล์ผึ้งงานทั้งหมดภายในรังของแต่ละกลุ่มการทดลอง เพื่อประเมินจำนวนประชากรทั้งรัง เพื่อนำมาประมาณจำนวนผึ้งหาอาหารซึ่งมีร้อยละ 30 ของประชากรผึ้งทั้งรัง
5. เก็บตัวอย่างเกสรที่ดักได้จากหน้ารังเพื่อนำไปศึกษาต่อในการทดลองที่ 3.1.2 และ 3.1.3 ต่อไป



รูปที่ 3.11 กล่องดักเกสรที่ติดตั้งบริเวณทางเข้าหน้ารังผึ้ง



รูปที่ 3.12 ลักษณะการนับจำนวนผึ้งหาอาหารหน้ารังเฉพาะตัวที่มีเกสรติดอยู่บริเวณขาหลังเท่านั้น

3.3.3 การเก็บข้อมูล

- นับจำนวนผึ้งหาอาหารออกเก็บเกสรชนิดต่างๆ หน้ารังในแต่ละช่วงเวลา
- วิเคราะห์ข้อมูลโดย หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Munltiple Test
- วิเคราะห์การกระจายข้อมูลโดยใช้ Boxplot