รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2554

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

การคาดคะเนความหนาแน่นของประชากรผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) ในประเทศไทย โดยใช้การวิเคราะห์ทาง Microsatellite DNA ของผึ้งงานหรือผึ้งตัวผู้

Density estimation of *Apis dorsata* populations in Thailand by microsatellite analysis of drones or workers

คณะผู้ดำเนินงาน
รศ. ดร. จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า
นายอัศเลข รัตนวรรณี
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี หน่วยบัญชาการทหารพัฒนา จังหวัดกาญจนบุรี และเขื่อนวชิราลงกรณ จังหวัดกาญจนบุรีที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

ผึ้งหลวงมีความสำคัญอย่างสูงในแง่ที่ช่วยผสมเกสรของพืชในแถบเอเชีย พรานป่านิยมล่าผึ้งชนิดนี้มากที่สุดในประเทศไทย นอกจากนี้ยังพบว่าการตัดไม้ทำลายป่า การใช้ยาฆ่าแมลงอย่างแพร่หลายและการติดตั้งไฟตามแนวถนน (ซึ่งมักดึงดูดผึ้งให้มาเล่นไฟ แล้วนำไปสู่ความตาย) เป็นตัวชี้วัดสำคัญที่ส่งผลต่อประชากรของผึ้งหลวง ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาความสัมพันธ์และความแปรผันภายในและการรวมกลุ่มของรังของผึ้งหลวง ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์ในผึ้งหลวง 54 รังภายในการรวมกลุ่ม 3 บริเวณ ผลการทดลองพบว่าผึ้งในแต่ละรังไม่ได้มีความสัมพันธ์กันแบบแม่ลูก แสดงให้เห็นว่ารังใหม่ของผึ้งที่แยกจะกระจายตัวในบริเวณอื่นที่ไกลจากรังเดิม ดังนั้นการเพิ่มจำนวนรังของผึ้งหลวงอย่างรวดเร็วในช่วงฤดูดอกไม้บานจัดเป็นการย้ายรังเพื่อย้ายถิ่นฐานมากกว่าเพื่อการผสมพันธุ์ ในประชากรพบระดับของ heterozygosity ที่สูง มีค่า F_{st} values ระหว่างการรวมกลุ่มของรังไม่มีความต่างอย่างมีนัยสำคัญจากศูนย์ ($P > 0.05$) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าทั้งๆ ที่ผึ้งหลวงมีการถูกล่าเป็นอย่างมากในประเทศไทย ผึ้งชนิดนี้ก็ยังคงมีประสิทธิภาพที่สูงในการเพิ่มจำนวนรังและขนาดของประชากร มีความสามารถในการแยกรังสูงเพื่อกระจายไปอยู่ในบริเวณอื่นๆ และทนต่อภาวะถูกล่าได้ดี นอกจากนี้ประชากรผึ้งหลวงมีพความยั่งยืนต่อการอพยพจากพื้นที่ป่าจากบริเวณตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศไทยไปยังประเทศพม่า

คำสำคัญ ผึ้งหลวง การรวมกลุ่มของรัง ความแปรผันทางพันธุกรรม ไมโครแซทเทลไลท์ การอนุรักษ์

Abstract

The giant honey bee, *Apis dorsata,* is a keystone pollinator of Asian tropical forests. The species is heavily hunted throughout Thailand. Furthermore, forest clearing, widespread use of pesticides and proliferation of street lighting (which attracts bees, often resulting in their death) are likely to have significant impacts on population viability. We examined the relatedness and genetic variation within and between aggregations of *A. dorsata* nests. Microsatellite analysis of 54 nests in 3 aggregations showed that no colonies were related as mother-daughter, suggesting that if reproduction occurred at our study site, daughter colonies dispersed. This suggests that rapid increases in *A. dorsata* colony numbers during general flowering events most likely occur by migratory swarming rather than reproductive swarming events. The population shows high levels of heterozygosity. F_{st} values between aggregations were not significantly different from zero ($P > 0.05$). These results suggest that despite the formidable anthropogenic pressures that the *A. dorsata* population endures in northern Thailand, the species continues to enjoy a large effective population size and has high connectedness. This suggests that *A. dorsata* is currently able to tolerate habitat fragmentation and annual harvesting. We speculate that the population is sustained by immigration from forested regions to the northwest of our study sites in Burma.

Keywords: *Apis dorsata*, colony aggregation, genetic variation, microsatellite, conservation

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วิธีดำเนินการศึกษา	4
ผลการศึกษา	5
สรุปและวิจารณ์ผล	8
เอกสารอ้างอิง	10
ประวัตินักวิจัยและคณะ	13

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	genotype ของผึ้งนางพญาจำนวน 54 ตัวที่อยู่ภายใน 3 การรวมกลุ่มโดยใช้ 8 microsatellite loci.....	5
ตารางที่ 2	จำนวนของผึ้งนางพญาที่มีความสัมพันธ์แบบ half sisters เมื่อพิจารณาจากภายในและระหว่างการรวมกลุ่มของรังของผึ้งหลวง.....	6
ตารางที่ 3	Observed (H_o) และ expected heterozygosity (H_e) ของ 8 loci	7

ชื่อเรื่อง ภาษาไทย การคาดคะเนความหนาแน่นของประชากรผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) ในประเทศไทย โดยใช้การวิเคราะห์ทาง Microsatellite DNA ของผึ้งงานหรือผึ้งตัวผู้

ภาษาอังกฤษ Density estimation of *Apis dorsata* populations in Thailand by microsatellite analysis of drones or workers

ชื่อผู้วิจัย รศ. ดร. จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้าและนายอัศเลข รัตนวรรณี

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผึ้งหลวง (*Apis dorsata* Fabricius, 1793) มีขอบเขตของการกระจายตัวอย่างกว้างขวางในแถบอินเดียมาจนถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Ruttner 1988) ผึ้งชนิดนี้สร้างรังแบบเดี่ยว ห้อยตามกิ่งไม้สูง หน้าผาหรือคานของตึก (Oldroyd และ Wongsiri 2006) ผึ้งหลวงมักถูกตีรังเพื่อเก็บน้ำผึ้ง ไข ผึ้งและตัวอ่อน ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถสร้างรายได้เป็นอย่างมากแก่ผู้ล่า (Nath และคณะ 1994; Soman และ Kshirsager 1991; Lahjie และ Seibert 1990; Strickland 1982). ทั้งนี้การตีรังผึ้งหลวงมักทำตอนกลางคืน ส่งผลให้เกิดการตายของผึ้งเป็นจำนวนมาก

ผึ้งหลวงแตกต่างจากผึ้งในสปีชีส์อื่นๆ ในสกุลเอปิสในแง่ของพฤติกรรมและนิเวศน์วิทยา (Oldroyd และ Wongsiri 2006) ช่วงเริ่มแรกรังหลายๆ รังจะมีการรวมกลุ่มหนาแน่นมาก อาจมีมากกว่า 200 รังบนต้นไม้ 1 ต้นหรือหน้าผา 1 หน้าผา (Oldroyd และคณะ 2000) โดยแต่ละรังมีความห่างกันเพียงไม่กี่เซ็นติเมตร (Paar และคณะ 2004) ต่อมาหลังจากผึ้งย้ายรังไปสู่ถิ่นใหม่แล้ว ผึ้งจะย้ายกลับมาสร้างรังที่ตำแหน่งเดิมในแต่ละปีเป็นเวลาที่ซ้ำกันหลายๆ สิบปี (Oldroyd และคณะ 2000; Oldroyd และ Wongsiri 2006). เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่พบว่าผึ้งนางพญามักจะกลับมาที่ตำแหน่งของรังเดิมถึงแม้ว่าจะผ่านไปนานถึง 18 เดือนแล้วก็ตาม (Paar และคณะ 2000; Neumann และคณะ 2000) ต่อมาผึ้งแต่ละรังจะอพยพตามฤดูกาลระหว่างตำแหน่งของรังในที่ต่างๆ โดยมักอยู่ในแต่ละที่เป็นเวลา 3-4 เดือน (Paar และคณะ 2004) และในที่สุดผึ้งก็จะทิ้งรังอย่างสมบูรณ์ ปล่วยรวงรังว่างเปล่า ดังนั้น Absconding swarms อาจจะเป็นการอพยพระหว่างตำแหน่งในแต่ละช่วงของการบานของดอกไม้ (Koeniger และ Koeniger 1980; Underwood 1990; Crane และคณะ 1993; Dyer และ Seeley 1994; Itioka และคณะ 2001; Sheikh และ Chetry 2000; Liu และคณะ 2007) ในขณะที่ผึ้งอพยพจะไม่มีการสร้างตัวอ่อน ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการติดไร *Tropilaelaps* ซึ่งต้องใช้ตัวอ่อนผึ้งในการเจริญเติบโต (Rinderer และคณะ 1994; Kavinseksan และคณะ 2003)

ป่าในแถบเอเชียมีพืชหลักเป็นพวก Family Dipterocarpaceae นิเวศน์วิทยาของการผสมเกสรของพืชพวกนี้ถูกจัดจำแนกตามการบานของดอกไม้ในระยะเวลา 2-10 ปี ทั้งนี้พืชที่อยู่ในสปีชีส์เดียวกันมักมีการบานที่พร้อมกันแบบสุ่มในแต่ละปี (Ashton 1988; Sakai และคณะ 1999) พืชเหล่านี้มีการปรับตัวเพื่อให้เกิดการผสมเกสรโดยผึ้งที่อพยพมา ซึ่งมีจำนวนมากได้อย่างเหมาะสม (Momose และคณะ 1998; Oldroyd และ Nanork 2009) ในช่วงเวลาดังกล่าวผึ้งหลวงจะสามารถขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนได่อย่างรวดเร็ว โดยเร็วกว่าพวกสัตว์ที่ช่วยผสมเกสรอื่นๆ เช่น นก ค้างคาว solitary bees หรือชันโรงซึ่งอาจจะอพยพมาในช่วงเวลาเดียวกัน (Oldroyd และ Wongsiri 2006)

นอกจากนี้ยังเป็นเพราะต้นไม้แต่ละต้นของแต่ละสปีชีส์มักมีระยะที่ห่างพอควรในป่า Dipterocarp เกสรจึงสามารถแพร่กระจายไปได้ไกล (Itioka และคณะ 2001) การแพร่กระจายนี้ต้องมีสัตว์เป็นตัวช่วย ทั้งนี้ควรเป็นสัตว์ที่ออกหาเกสรจากดอกไม้หลายๆ ต้นในเวลาเดียวกัน จึงทำให้มีการกระจายเกสรข้ามต้ยได้อย่างปพร่หลาย ผึ้งหลวงจัดเป็นสัตว์ที่เหมาะกับลักษณะเช่นนี้ (Oldroyd และ Nanork 2009) จึงสามารถกล่าวได้ว่าผึ้งหลวงเป็นสปีชีส์หลักที่ช่วยในการผสมเกสรในป่า Dipterocarp ยกตัวอย่างเช่น ผึ้งหลวงเป็นผึ้งสังคมชนิดเดียวที่หาอาหารบนต้นไม้ในกลุ่ม Dipterocarp ที่เมือง Lambir ประเทศ Sarawak ซึ่งดอกไม้จะบานก่อนพระอาทิตย์ขึ้น (05:00–06:00 น.) และหลังพระอาทิตย์ตกดิน (18:00–20:00 น.) (Momose และคณะ 1998) การปรับตัวทางการบานของดอกไม้เหล่านี้เพื่อให้เหมาะสมต่อการออกหาอาหารของผึ้งหลวง (Corlett 2004).

โดยภาพรวมผึ้งหลวงผสมเกสรจากพืชอย่างน้อย 15 สปีชีส์ ในบริเวณป่า Dipterocarp ที่เมือง Lambir (Momose และคณะ 1998) นอกจากนี้ผึ้งหลวงยังเป็นผึ้งผสมเกสรหลักในป่า Rainforest ในแถบ Peninsular Malaysia (Appanah 1993) และบริเวณ Canopy dipterocarps ในประเทศศรีลังกา (Dayanandan และคณะ 1990). จึงสามารถสรุปได้ว่าการลดลงของประชากรของผึ้งหลวงซึ่งมีสาเหตุมาจากการถูกตีรังที่มากเกินไปหรือการที่ป่าถูกทำลายส่งผลไปสู่การเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางนิเวศน์วิทยาของการผสมเกสรในป่าเหล่านี้ (Itioka และคณะ 2001; Oldroyd และ Wongsiri 2006)

โครงสร้างของประชากรสามารถเพิ่มขึ้นได้ตามกระบวนการของ genetic drift และ restricted gene flow ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิด heterogenous distribution ของความแปรผันทางพันธุกรรมภายในกลุ่มประชากรและระหว่างกลุ่มประชากร (Frankham 1995; Frankham และคณะ 2010) เมื่อมีข้อจำกัดทาง gene flow ประชากรที่แยกออกไปสามารถเกิดการแยกกลุ่มทางพันธุกรรมได้และต้องทนต่อการสูญเสีย heterozygosity และ inbreeding depression ในพวกที่เป็นสปีชีส์ที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ การสูญเสียถิ่นที่อยู่จัดเป็นสาเหตุหลักของการแยกกลุ่มประชากร การลดกลุ่มหรือการสูญพันธุ์ (Foin และคณะ 1998)

รังของผึ้งหลวงถูกล่าอย่างไม่มีข้อผ่อนปรนโดยทั่วไปแต่ไม่ใช่ทุกบริเวณในประเทศไทย แต่ทั้งนี้การตัดไม้ทำลายป่าก็เป็นปัญหาใหญ่ของประเทศไทยเช่นกัน (Sodhi และคณะ 2004) บริเวณป่าที่ยังหลงเหลืออยู่ก็ถูกไฟไหม้ป่าบ่อย การใช้ยาฆ่าแมลงอย่างแพร่หลายและการเพิ่มไฟติดตั้งตามพื้นที่ถนนซึ่งสามารถดึงดูดผึ้งให้มาเล่นไฟนั้น ส่งผลต่อการตายของผึ้งเป็นจำนวนมาก อันส่งผลต่อขนาดประชากรอย่างมีนัยสำคัญ การสำรวจก่อนหน้านี้ทางด้านความแปรผันทางพันธุกรรมของประชากรของผึ้งหลวงแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมที่จำกัดในประเทศไทย อันแสดงให้เห็นถึงเหตุการณ์ bottlenecks ที่เกิดขึ้นมาจาก anthropogenic activity (Insuan และคณะ 2007) ในที่นี้พวกเราได้ทำการศึกษาโครงสร้างประชากรของรังผึ้งหลวงในสเกลที่เล็กกว่าเดิม คืออยู่ภายในจังหวัดตากซึ่งอยู่ทางตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศไทย บริเวณนี้ถูกจัดเป็นพื้นที่สูง พืชเด่นประจำพื้นที่ซึ่งมีลักษณะแห้งนี้คือ dipterocarp

วัตถุประสงค์

ศึกษา gene flow ระหว่างการรวมกลุ่มของรังของผึ้งหลวง 3 กลุ่มโดยใช้เทคนิค microsatellite ค้นหาค่า the degree of genetic divergence ระหว่างกลุ่มของการรวมและความสัมพันธ์ระหว่างรังในแต่ละกลุ่ม ทำการตรวจสอบประชากรในตอนเริ่มแรกแสดงสัญญาณของ inbreeding หรือ fragmentation หรือไม่

ประโยชน์ที่ได้รับ

Atsalek Rattanawannee, Chanpen Chanchao, Julianne Lim, Siriwat Wongsiri, and Benjamin P. Oldroyd. (2012). Genetic structure of a giant honey bee (*Apis dorsata*) population in northern Thailand: implications for conservation. Insect Conservation and Diversity. Accepted. **(ISI2009, IF = 2.828)**

วิธีดำเนินการศึกษา

การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างผึ้งจากรังทั้งหมดที่อยู่บนต้นไม้ 3 ต้นซึ่งอยู่ที่ป่า dipterocarp ในจังหวัดตากซึ่งอยู่ทางทิศตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศไทย ต้นผึ้งที่เลือกศึกษานี้มีขนาดใหญ่มาก มีความสูงที่เกิน 40 เมตร รังของผึ้งหลวงมาสร้างรังอยู่บนต้นไม้พวกนี้เป็นประจำทุกปีเป็นระยะเวลานานกว่า 10 ปี และรังเหล่านี้มักถูกล่าเป็นประจำทุกปีโดยพรานป่า ทำการเก็บผึ้งงานที่โตเต็มที่แล้วทั้งหมดจำนวน 54 รัง โดยเก็บจากต้นผึ้งต้นที่ 1 (N 17° 01.02, E 98° 57.06) จำนวน 10 รัง เก็บจากต้นผึ้งต้นที่ 2 (N 17° 01.06, E 98° 56.57) จำนวน 23 รัง และเก็บจากต้นผึ้งต้นที่ 3 (N 17° 03.56, E 98° 56.23) จำนวน 21 รัง โดยเก็บในเดือนเมษายน 2553 ในแต่ละรังทำการเก็บผึ้งงานจำนวน 30 ตัว โดยเลือกเก็บในตำแหน่งทางด้านล่างของรัง ทำการจับผึ้งในช่วงตอนหัวค่ำเพื่อป้องกันไม่ให้ผึ้งบินออกจากรัง ซึ่งอาจก่อให้เกิดการจับผึ้งผิดรังได้ (Paar และคณะ 2002) เก็บรักษาผึ้งไว้ใน 95% (v/v) เอทานอลเพื่อทำการสกัด DNA ต่อไป (**หมายเหตุ:** ทั้งนี้ไม่พบลักษณะของการรวมกลุ่มของผึ้งหลวงในลักษณะที่ต้องการในพื้นที่ของ อพสธ.)

การสกัด DNA และการเพิ่มปริมาณโดยการทำ PCR

ทำการสกัด DNA จากบริเวณขาหลัง 1 ขาในผึ้งแต่ละตัวโดยใช้ 5% Chelex solution (Walsh และคณะ 1991) เลือกตำแหน่งของ microsatellite loci 8 บริเวณ คือ A14, A24, A76, A88, BI225 และ SV197 ซึ่งเป็นบริเวณที่อ้างอิงมาจากผึ้งพันธุ์ *A. mellifera* (Estoup และคณะ 1993; Solignac และคณะ 2007), B124 จาก *Bombus terrestris* (Estoup และคณะ 1993) และ Ad3 จาก *A. dorsata* (Paar และคณะ 2004) ทำการเพิ่มปริมาณของทุก microsatellite loci โดยใช้ polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งมีโปรแกรมดังนี้ 94ºC เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วย 35 รอบของ 94, 55 และ 72ºC เป็นเวลา 30 วินาทีในแต่ละรอบ สุดท้ายตามด้วย 72ºC เป็นเวลา 9 นาที ทำการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ของ PCR โดยใช้ 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, California) และทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ GENEMAPPER software (Applied Biosystems)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ค้นหา genotype ของผึ้งนางพญาโดยพิจารณาจาก genotype ของผึ้งงาน (Oldroyd และคณะ 1996, 2000) โดยอาศัยข้อมูลที่ว่า (a) ภายใน 1 รังมีผึ้งนางพญาเพียง 1 ตัว, (b) ผึ้งงานทุกตัวที่ถูกเก็บภายในแต่ละรังเป็นลูกสาวของผึ้งนางพญาทั้งสิ้น และ (c) ในแต่ละ loci ที่ทำการตรวจสอบนั้นผึ้งนางพญาจะไม่มี null-allele จากจำนวนตัวอย่างของผึ้งงานที่มีเพียงพอในแต่ละรัง (อย่างน้อย 30 ตัว) การพิจารณารวมจากทั้ง 4 ข้อข้างต้นนี้ทำให้สามารถบ่งบอก genotype ของผึ้งนางพญาได้ (Oldroyd และคณะ 1996; Paar และคณะ 2004)

ทั้งนี้ number of alleles, allele frequency, และ observed (H_O) และ expected (H_e) heterozygosity (พิจารณาจาก Hardy-Weinberg equilibrium assumptions) ของแต่ละ microsatellite locus ถูกคำณวนโดยใช้ GENEPOP 4.0.10 (Rousset 2008) และทำการตรวจสอบตาม Hardy-Weinberg equilibrium ในแต่ละ locus และ genotypic linkage disequilibrium นอกจากนี้พวกเรายังใช้ GENEPOP เพื่อตรวจสอบหา genetic differentiation และ genetic distance (F_{ST}) ระหว่างกลุ่มของการรวมของผึ้ง ต่อมาพวกเราได้ทำการค้นหา sibship

reconstruction โดยใช้ COLONY (version 1.3, Wang 2004) เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของผึ้งนางพญาภายในและระหว่างหลุ่มของการรวมของผึ้ง จากผลของการวิเคราะห์ทั้งหมดทำให้พวกเราสามารถหา genotypes ของผึ้งนางพญาได้ (Paar และคณะ 2004)

ผลการศึกษา

สามารถค้นหา genotype ของผึ้งนางพญาได้ แสดงดังในตารางที่ 1 จากทั้งภายในกลุ่มของการรวมรังผึ้งและระหว่างกลุ่มของการวมของรังผึ้ง พบว่าผึ้งนางพญาแต่ละตัวไม่มีความสัมพันธ์ที่เป็นแบบแม่-ลูกต่อกันเลย เพราะว่าไม่มีคู่ของผึ้งนางพญาคู่ใดเลยที่มี allele อย่างน้อย 1 อันที่เหมือนกัน (จากทั้งหมด 8 alleles) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการย้ายถิ่นฐานของผึ้งแต่ละรังไม่ได้เป็นไปเพื่อการสืบพันธุ์เพื่อสร้างรังใหม่ ผลจาก sibship reconstructions ที่ได้จาก COLONY ยืนยันให้เห็นว่าผึ้งนางพญาทั้ง 54 รังไม่ได้เป็น full-siblings เลย อย่างไรก็ตามพบความเป็น half sisters (ตารางที่ 2).

ตารางที่ 1 genotype ของผึ้งนางพญาจำนวน 54 ตัวที่อยู่ภายใน 3 การรวมกลุ่มโดยใช้ 8 microsatellite loci

Aggregation	Colony	Locus							
		A14	A24	A88	B124	A76	Ad3	BI225	SV197
A1	1	206/208	99/99	135/137	215/217	204/204	165/165	249/257	208/212
	2	204/210	105/105	135/139	215/217	206/216	163/165	253/253	210/214
	3	208/208	103/103	133/139	217/217	204/210	163/163	255/259	208/210
	4	204/210	99/99	129/141	215/215	204/210	171/199	235/247	210/210
	5	210/210	103/105	129/129	215/217	208/212	163/163	249/257	208/218
	6	204/210	103/?	143/146	217/217	202/214	165/171	243/253	212/220
	7	208/210	103/103	133/163	215/215	212/214	163/?	249/253	208/214
	8	206/208	97/105	129/146	215/217	208/210	163/171	253/257	208/212
	9	204/210	99/105	137/139	215/215	208/214	165/165	255/267	208/223
	10	210/210	103/105	129/129	215/215	204/204	161/163	255/257	210/212
A2	1	206/210	99/107	137/141	217/219	212/214	163/169	249/255	210/214
	2	206/211	99/109	135/137	215/215	210/214	163/163	257/257	208/214
	3	211/211	99/105	129/141	217/217	210/214	163/167	255/259	210/212
	4	204/204	101/103	139/146	215/217	204/210	163/165	257/259	212/220
	5	210/210	99/103	139/141	217/217	204/204	163/?	243/247	210/210
	6	204/210	99/103	135/150	215/217	204/208	165/?	257/269	208/208
	7	204/210	103/?	135/141	215/223	208/216	163/167	243/255	210/212
	8	210/210	99/101	129/133	215/217	208/210	165/167	243/247	210/212
	9	204/?	99/105	129/137	215/215	208/214	163/165	255/257	206/212
	10	210/211	103/107	139/141	215/?	204/206	165/169	249/255	212/214
	11	206/206	103/103	133/137	215/217	204/214	165/167	239/243	210/216
	12	210/211	99/99	135/135	215/217	204/212	163/167	249/253	212/243
	13	211/211	103/105	135/135	215/217	204/214	165/165	255/263	210/212
	14	204/208	99/?	139/141	215/217	204/210	163/163	257/275	208/212
	15	204/208	99/103	141/157	215/215	204/214	165/165	247/249	208/218
	16	204/206	105/107	133/133	215/217	204/212	161/165	249/255	212/224
	17	210/210	99/99	133/139	215/233	204/216	163/?	255/255	210/210
	18	208/210	103/111	141/148	215/217	204/204	167/198	255/263	210/210
	19	208/210	99/99	137/141	215/217	214/214	163/163	253/255	210/212
	20	204/208	99/103	135/139	215/215	204/216	163/163	249/255	216/?

ตารางที่ 1 (ต่อ) genotype ของผึ้งนางพญาจำนวน 54 ตัวที่อยู่ภายใน 3 การรวมกลุ่มโดยใช้ 8 microsatellite loci

A2	21	206/208	99/107	131/141	215/217	204/214	165/165	251/259	208/210
	22	208/215	99/103	135/139	215/217	210/216	167/193	255/265	206/210
	23	204/211	103/105	129/148	215/217	206/214	165/169	249/255	212/214
A3	1	208/210	99/109	139/141	215/215	206/214	163/163	255/257	213/213
	2	208/210	99/105	150/153	215/215	204/216	165/165	249/253	205/215
	3	208/210	105/107	137/157	215/217	204/210	165/?	247/255	209/209
	4	210/210	101/103	129/135	215/215	210/216	161/163	249/253	207/211
	5	204/208	103/103	131/141	215/215	204/214	161/165	253/259	207/207
	6	210/210	99/107	129/139	215/217	204/206	165/169	243/261	211/217
	7	208/210	103/105	131/137	215/?	204/204	165/165	253/257	207/209
	8	204/206	99/101	137/141	215/217	204/214	163/165	235/251	207/207
	9	208/210	101/107	135/141	215/215	204/204	163/163	253/255	209/219
	10	204/210	101/103	133/137	217/217	204/204	163/165	249/255	207/207
	11	204/210	99/107	129/139	217/217	204/214	165/165	247/249	209/213
	12	204/204	99/103	131/141	215/215	204/204	163/165	245/255	209/209
	13	210/211	99/99	139/141	215/217	202/208	161/169	249/255	207/211
	14	204/210	99/103	139/141	215/217	204/212	163/163	255/267	207/211
	15	210/211	99/103	137/143	217/223	202/214	165/165	255/257	211/211
	16	206/206	99/103	133/159	215/215	214/?	163/165	247/261	207/211
	17	204/210	99/105	135/135	215/215	212/218	163/163	249/257	207/211
	18	210/210	99/107	129/141	215/215	204/204	167/167	247/255	211/211
	19	204/210	103/105	131/135	215/215	204/216	163/165	251/257	205/211
	20	204/211	99/109	129/131	215/217	204/208	163/169	255/259	207/217
	21	204/210	99/103	139/141	215/221	212/212	165/165	253/257	211/211

ตารางที่ 2 จำนวนของผึ้งนางพญาที่มีความสัมพันธ์แบบ half sisters เมื่อพิจารณาจากภายในและระหว่างการรวมกลุ่มของรังของผึ้งหลวง

	Aggregation 1	Aggregation 2	Aggregation 3
Aggregation 1	3	-	-
Aggregation 2	7	4	-
Aggregation 3	5	11	5

จากการตรวจสอบด้วย Hardy-Weinberg equilibrium ในแต่ละ locus ผลการทดลองพบว่าไม่มีการเบี่ยงเบนจาก equilibrium อย่างมีนัยสำคัญในแต่ละ locus ($P > 0.05$) หรือทุก loci ($P = 0.48$) และไม่พบ linkage disequilibrium ระหว่างแต่ละคู่ของ loci (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีการรวมกลุ่มใดที่แสดง linkage disequilibrium ($P > 0.05$) อย่างมีนัยสำคัญ ค่า F_{st} values ทั้งหมดระหว่างการรวมกลุ่มไม่แตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) การตรวจสอบหาความแตกต่างของ allele frequency ระหว่างการรวมกลุ่มของรังให้ผลพบว่าไม่มีความแตกต่าง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 Observed (H_o) และ expected heterozygosity (H_e) ของ 8 loci

Locus		Aggregation 1	Aggregation 2	Aggregation 3	All aggregations
A14	Number of Alleles	4	6	5	6
	Number of effective alleles	3.175	4.854	3.401	3.968
	H_o	*0.700*	*0.682*	*0.762*	*0.717*
	H_e	*0.685*	*0.794*	*0.706*	*0.748*
A24	Number of Alleles	4	7	6	8
	Number of effective alleles	3.311	3.676	4.444	4.016
	H_o	*0.444*	*0.809*	*0.905*	*0.784*
	H_e	*0.698*	*0.728*	*0.775*	*0.751*
A88	Number of Alleles	9	11	12	15
	Number of effective alleles	6.289	4.237	9.009	8.197
	H_o	*0.800*	*0.869*	*0.952*	*0.889*
	H_e	*0.841*	*0.764*	*0.889*	*0.878*
B124	Number of Alleles	2	5	4	6
	Number of effective alleles	1.923	2.267	1.901	2.070
	H_o	*0.400*	*0.727*	*0.400*	*0.538*
	H_e	*0.480*	*0.559*	*0.474*	*0.517*
A76	Number of Alleles	8	7	9	9
	Number of effective alleles	5.714	4.608	3.953	4.630
	H_o	*0.800*	*0.869*	*0.700*	*0.792*
	H_e	*0.825*	*0.783*	*0.747*	*0.784*
Ad3	Number of Alleles	5	7	5	9
	Number of effective alleles	3.378	3.731	3.096	3.496
	H_o	*0.556*	*0.650*	*0.500*	*0.571*
	H_e	*0.704*	*0.732*	*0.677*	*0.714*
BI225	Number of Alleles	9	13	12	17
	Number of effective alleles	6.250	6.993	7.407	7.633
	H_o	*0.900*	*0.913*	*1.00*	*0.944*
	H_e	*0.840*	*0.857*	*0.865*	*0.869*
SV197	Number of Alleles	7	10	8	10
	Number of effective alleles	4.762	4.608	4.464	4.831
	H_o	*0.900*	*0.818*	*0.619*	*0.755*
	H_e	*0.790*	*0.783*	*0.776*	*0.793*

สรุปและวิจารณ์ผล

งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าประชากรของผึ้งหลวงที่เก็บได้ จากจังหวัดตาก (ทั้งนี้ไม่พบลักษณะของการรวมกลุ่มของผึ้งหลวงในลักษณะที่ต้องการในพื้นที่ของ อพสธ.) มีลักษณะเป็น panmictic และจัดว่ามี limited genetic diversity ในปี 2007 Insuan และคณะพบ matrilineal diversity ที่ต่ำในประชากรของผึ้งหลวงในบริเวณที่กว้างทั่วประเทศไทย มีรูปแบบของ mitochondrial type เพียงชนิดเดียวโดยมีความถี่ระหว่าง 0.92 ถึง 1.00 ในทำนองเดียวกันผลจาก nuclear microsatellites แสดงให้เห็นว่าไม่มี population structure ในระดบที่กว้างของผึ้งดัลกล่าว (Insuan และคณะ 2007) ลักษณะ homogeneity แบบนี้แสดงให้เห็นว่าเกิด bottleneck หรือ selective sweep ในประชากรของผึ้งหลวงในประเทศไทย ทั้งนี้เป็นเพราะว่าผึ้งหลวงบินได้ในระยะที่ไกล

จากงานวิจัยชิ้นนี้สะท้อนให้เห็นถึงการศึกษาในสเกลท้องถิ่น พบว่าไม่มี genetic differentiation ระหว่างการรวมกลุ่มของรัง แสดงให้เห็นว่าการ matings อาจเกิดขึ้นได้ระหว่างการรวมกลุ่ม จัดเป็นการ swarms เพื่อการย้ายถิ่นฐาน หลายๆ รังบนต้นไม้ 1 ต้นมาจากหลายๆ สถานที่ด้วยกัน (Paar และคณะ 2004) มีค่าความหลากหลายของ alleleic diversity ในระดับปานกลาง ซึ่งแสดงให้เห็นถึงว่าประชากรมี genetic base ที่แคบ

นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้เหมือนกับที่พบใน *A. mellifera* (Oldroyd และคณะ 1995) และ *A. florea* (Wattanachaiyingcharoen และคณะ 2008) กล่าวคือการรวมเป็นกลุ่มของผึ้งหลวงไม่ได้เกิดจากการรวมกลุ่มของรังที่เป็นแม่ลูกกัน ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลที่เคยรายงานไปแล้วในกลุ่มของรังผึ้งหลวงในประเทศมาเลเซียและอินเดีย (Oldroyd และคณะ 2000; Paar และคณะ 2004) การไม่พบรังของลูกแสดงให้เห็นว่าการ swarms เพื่อการสืบพันธุ์จะไปไกลจากรังเดิมซึ่งอาจเป็นอีกการรวมกลุ่มหนึ่ง (Wattanachaiyingcharoen และคณะ 2008) ดังนั้นการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของขนาดของประชากรของผึ้งหลวงในช่วงดอกไม้บาน (Itioka และคณะ 2001) มีสาเหตุมาจากเพื่อการย้ายถิ่นมากกว่าเพื่อการสืบพันธุ์

เป็นที่น่าเด่นชัดที่ผลการทดลองของพวกเราไม่พบผึ้งแต่ละตัวย้ายไปอยู่ที่รังอื่น สังเกตจาก genotype ของผึ้งงานทุกตัวภายในแต่ละรังมีลักษณะที่เข้าคู่กับผึ้งนางพญา ในปี 2002 Paar และคณะพบว่าสัดส่วนของผึ้งงานของผึ้งหลวงที่หลงรังมีแค่เพียง 0 - 6.25% คิดเป็นค่าเฉลี่ยได้เพียง 1.27% จึงแสดงให้เห็นว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างทิศทางของการหลงรังและตำแหน่งของรัง ผลการทดลองของพวกเราสนับสนุนข้อสรุปที่ว่าการหลงรังเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้อย่างยากมากในการรวมกลุ่มกันของรังผึ้ง ถึงแม้ว่าจะอยู่ใกล้กันมากก็ตาม จากการสังเกตของพวกเราพบว่ารังของผึ้งหลวงแต่ละรังไม่มีความใกล้ชิดกัน และมีการจับจองอาณาเขตกันอย่างชัดเจน

ผลการทดลองของพวกเรายังชี้ให้เห็นอีกว่าพฤติกรรมในการบินได้ในระยะที่ไกลของผึ้งหลวงทำให้ผึ้งหลวงทนต่อการเกิด habitat fragmentation ช่วยลดการสูญพันธุ์ในระดับท้องถิ่น การอพยพของผึ้งหลวงอาจส่งเสริมให้เกิดการป้องกันการเกิดกลุ่ม (patch) ที่แยกออกจากกันของป่า dipterocarp เพราะถ้ามีพื้นที่ที่ใหญ่มากพอ ก็จะสามารถดึงดูดรังของผึ้งหลวงในช่วงดอกไม้บานได้ แสดงให้เห็นว่าต้นผึ้งแต่ละต้นมีความสำคัญอย่างมากต่อการเพิ่มจำนวนของรังในช่วงดอกไม้บานในป่า dipterocarp ในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ดังนั้นพื้นที่ป่าเหล่านี้มีคุณค่าแก่การอนุรักษ์รักษาไว้

เช่นเดียวกันกับผึ้งหลวง ผึ้งมิ้ม (*A. florea*) และผึ้งม้าน (*A. andreniformis*) เป็นผึ้งที่ถูกล่าอย่างหนักในประเทศไทย (Oldroyd และ Wongsiri 2006) ประชากรของผึ้งมิ้ม (Nanork 2001; Hepburn และคณะ 2005) และผึ้งม้าน (Rattanawannee และคณะ 2007) ไม่มี population structure เอกลักษณ์นี้อาจจะสะท้อนให้เห็นว่าผึ้งทั้งสองชนิดมีความสามารถในการสร้างรังขึ้นมาได้ใหม่ในพื้นที่ที่ถูกล่ารังไปแล้ว ดังนั้นในขณะที่พวกเราระมัดระวังว่าการล่าผึ้งอาจก่อให้เกิดความไม่ยั่งยืนของผึ้ง แต่จากการศึกษา สามารถเป็นหลักฐานได้ว่าอัตราการสืบพันธุ์ที่สูงและการอพยพย้ายถิ่นทำให้ประชากรของผึ้งเอเชียทนทานภาวะถูกล่าได้

เอกสารอ้างอิง

Appanah S (1993) Mass flowering of dipterocarp forests in the aseasonal tropics. J Biosci 18:457–474

Ashton PS (1988) Dipterocarp biology as a window to the understanding of tropical forest structure. Annu Rev Ecol Syst 19:347–370

Corlett RT (2004) Flower visitors and pollination in the Oriental (Indomalayan) Region. Biol Rev Camb Philos Soc 79:497–532

Crane E, Van Luyen V, Mulder V, Ta TC (1993) Traditional management system for *Apis dorsata* in submerged forests in southern Vietnam and central Kalimantan. Bee World 74:27–40

Dayanandan S, Attygalla DNC, Abeygunasekera AWWL, Gunatilleke IAUN, Gunatilleke CVS (1990) Phenology and floral morphology in relation to pollination of some Sri Lankan dipterocarps, In: Bawa KS, Hadley M (Eds.), Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants, Parthenon, Carnforth, UK., pp. 103–134

Dyer FC, Seeley TD (1994) Colony migration in the tropical honey bee *Apis dorsata* F. (Hymenoptera: Apidae). Insect Soc 41:129–140

Estoup A, Solignac M, Harry H, Cornuet JM (1993) Characterization of $(GT)_n$ and $(CT)_n$ microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. Nucl Acid Res 21:1427–1431

Foin T, Reilly S, Pawley A, Ayres D, Carlson T, Hodem P, Switzer P (1998) Improving recovery planning for the conservation of threatened and endangered taxa. Bioscience 48:177–184

Frankham R (1995) Conservation genetics. Annu Rev Gen 29:305–327

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2010) Introduction to conservation genetics. 2nd Ed, Cambridge University Press, Cambridge

Hepburn HR, Radloff SE, Otis GW, Fuchs S, Verma LR, Ken T, Chaiyawong T, Tahmasebi G, Ebadi R, Wongsiri S (2005) *Apis florea*: morphometrics, classification and biogeography. Apidologie 36:359–376

Insuan S, Deowanish S, Klinbunga S, Sittipraneed S, Sylvester HA, Wongsiri, S (2007) Genetic differentiation of the giant honey bee (*Apis dorsata*) in Thailand analyzed by mitochondrial genes and microsatellites. Biochem Genet 45:345–361

Itioka T, Inoue T, Kaliang H, Kato M, Nagamitsu T, Momose K, Sakai S, Yumoto T, Mohamad SU, Hamid AA, Yamane S (2001) Six-year population fluctuation of giant honey bee *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae) in tropical lowland dipterocarp forest in Sarawak. Ann Entomol Soc Am 94: 545–549

Kavinseksan B, Wongsiri S, de Guzman LI, Rinderer TE (2003) Absence of *Tropilaelaps* infestation from recent swarms of *Apis dorsata* in Thailand. J Apic Res 42:49–50

Koeniger N, Koeniger G (1980) Observations and experiments on migration and dance communication of *Apis dorsata* in Sri Lanka. J Apic Res 19:21–34

Lahjie AM, Seibert B (1990) Honey gathering by people in the interior of East Kalimantan. Bee World 71:153–157

Liu F, Roubik DW, He D, Li J (2007) Old comb for nesting site recognition by *Apis dorsata*? Field experiments in China. Insect Soc 54:424–426

Momose K, Yumoto T, Nagamitsu T, Kato M, Nagamasu H, Sakai S, Harrison RD, Itioka T, Hamid AA, Inoue T (1998) Pollination biology in a lowland dipterocarp forest in Sarawak, Malaysia. I. characteristics of the plant-pollinator community in a lowland dipterocarp forest. Am J Bot 85:1477–1501

Nath S, Roy P, Leo R, John M (1994) Honeyhunters and beekeepers of Tamil Nadu, A survey document Keystone, Pondicherry

Narnork P (2001) Mitochondrial DNA variability of dwarf honey bee *Apis florea* Fabricius, 1787 in Thailand using PCR-RFLP technique. Master's thesis, Department of Biology, Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Neumann P, Koeniger N, Koeniger G, Tingek S, Kryger P, Moritz RFA (2000) Home-site fidelity in miagratory honeybees. Nature 406:474–475

Oldroyd BP, Smolenski A, Lawler S, Estoup A, Crozier R (1995) Colony aggregations in *Apis mellifera* L. Apidologie 26:119–130

Oldroyd BP, Smolenski AJ, Cornuet JM, Wongsiri S, Estoup A, Rinderer TE, Crozier RH (1996) Levels of polyandry and intracolonial genetic relationships in *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae). Ann Entomol Soc Am 89:276–283

Oldroyd BP, Osborne KE, Mardan M (2000) Colony relatedness in aggregations of *Apis dorsata* Fabricius (Hymenoptera, Apidae). Insect Soc 47:94–95

Oldroyd BP, Wongsiri S (2006) Asian honey bees: biology, conservation and human Interactions, Harvard University Press, Cambridge

Oldroyd BP, Nanork P (2009) Conservation of Asian honey bees. Apidologie 40:296–312

Paar J, Oldroyd BP, Huettinger E, Kastberger G (2000) Giant honeybees return to their nest sites. Nature 406:475

Paar J, Oldroyd BP, Huettinger E, Kastberger G (2002) Drifting of workers in nest aggregations of the giant honeybee *Apis dorsata*. Apidologie 33:553–561

Paar J, Oldroyd BP, Huettinger E, Kastberger G (2004) Genetic structure of an *Apis dorsata* population: the significance of migration and colony aggregation. J Hered 95: 119–126

Rattanawannee A, Chanchao C, Wongsiri S (2007) Morphometric and genetic variation of small dwarf honeybees *Apis andreniformis* Smith, 1858 in Thailand. Insect Sci 14: 451–460

Rinderer T, Oldroyd BP, Lekprayoon C, Wongsiri S, Boonthai C, Thapa R (1994) Extended survival of the parasitic honey bee mite *Tropilaelaps clareae* on adult workers of *Apis mellifera* and *Apis dorsata*. J Apic Res 33:171–173

Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. Molec Ecol Res 8:103–106

Ruttner F (1988) Biogeography and taxonomy of honey bee, Springer Verlag, Berlin

Sakai S, Momose K, Yumoto T, Nagamitsu T, Nagamasu H, Hamid AA, Nakashizuka T, Inoue T (1999) Plant reproductive phenology over four years including an episode of GF in a lowland dipterocarp forest, Sarawak, Malaysia. Am J Bot 86:1414–1436

Sheikh MS, Chetry G (2000) Distribution of honey bees in Assam. Environ Ecol 18:236–234

Sodhi NS, Koh LP, Brook BW, Ng PKL (2004) Southeast Asian biodiversity: an impending disaster. Trends Ecol Evol 19:654–660

Solignac M, Mougel F, Vautrin D, Monnerot M, Cornuet JM (2007) A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map. Gen Biol 8(4):R66

Soman AG, Kshirsagar KK (1991) Preliminary survey on the rockbee (*Apis dorsata* F.) and some observations on the traditional methods of honey hunting. Indian Bee J 53:1–4

Strickland SS (1982) Honey hunting by the Gurungs of Nepal. Bee World 63:153–161

Underwood BA (1990) Seasonal nesting cycle and migration patterns of the Himalayan honey bee *Apis laboriosa*. Nat Geo Res **6**:276–290

Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R (1991) Chelax (R)100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Biotechniques 10:507

Wang J (2004) Sibship reconstruction from genetic data with typing errors, Genetics 166:1963–1979

Wattanachaiyingcharoen W, Wongsiri S, Oldroyd BP (2008) Aggregations of unrelated *Apis florea* colonies. Apidologie 39:531–536

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. **ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)** นางสาวจันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Chanpen Chanchao Rank Associate Professor
2. **เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน** 3 1403 00209 37 5
3. **ตำแหน่งปัจจุบัน** รองศาสตราจารย์
4. **หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)**

   ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท ปทุมวัน กทม. 10330 โทร 02-218-5380 โทรสาร 02-218-5386, e-mail: chanpen@sc.chula.ac.th
5. **ประวัติการศึกษา**

   ปริญญาเอก สาขาชีววิทยาระดับโมเลกุลและเซลล์, Virginia Tech ปี 2542
   ปริญญาโท สาขาชีววิทยาระดับโมเลกุลและเซลล์, Virginia Tech ปี 2539
   ปริญญาตรี สาขาชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2535
6. **ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ทำเสร็จ <u>ย้อนหลัง 5 ปี</u>**

   Almehmadi, R.M., Alghamdi, A.A., Wongsiri, S., **Chanchao, C.,** and Aljedani, D.M. Histological studies on ovary differentiation in Yemini queen honeybees, *Apis mellifera jemenitica* (Hymenoptera: Apidae), during post-embryonic development. *The Pan-Pacific Entomologist*. Accepted. **(ISI, IF2009 = 0.383)**

   Kilaso, M., Kaewmuangmoon, J., Karnchanatat, A., Sangvanich, P., and **Chanchao, C.** (2011) Expression and characterization of *Apis dorsata* α-glucosidase III. *Journal of Asia Pacific Entomology*. 14: 479-488.

   Umthong, S., Phuwapraisirisan, P., Puthong, S., and **Chanchao, C.** (2011) *In vitro* antiproliferative activity of partially purified *Trigona laeviceps* propolis from Thailand on human cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11: 37. doi: 10.1186/1472-6882-11-37. **(ISI, IF2011 = 2.20)**

   Rattanawannee, A., **Chanchao, C.,** and Wongsiri, S. (2010) Gender and species identification of four native honeybees (Apidae: *Apis*) in Thailand based on wing morphometic analysis. *Annals of the Entomological Society of America*. 103(6): 965-970. **(ISI, IF2009 = 0.939)**

   Kaewmuangmoon, J., Suwanvijitr, T., Cherdshewasart, W., and **Chanchao, C.** (2010) Leaf morphometric and genetic variation of *Butea superba* in Thailand. *ScienceAsia*. 36: 180-186. (**ISI, no IF**, indexed in various international databases, such as CAPlus, SCOPUS and recently was re-listed in Thomson Reuters' Science Index Expanded Edition 2007)

Suwanvijitr, T., Kaewmuangmoon, J., Cherdshewasart, W., and **Chanchao, C.** (2010) Morphometric and genetic variation in *Pueraria mirifica* cultivars across Thailand. *Pakistan Journal of Botany.* 42(1): 97-109. **(ISI, IF2007 = 0.470)**

Umthong, S., Puthong, S., and **Chanchao, C.** (2009) *Trigona laeviceps* propolis from Thailand: antimicrobial, antiproliferative and cytotoxic activities. *The American Journal of Chinese Medicine*. 37(5): 855-865. **(ISI, IF2008 = 1.058)**

Chanchao, C. (2009) Antimicrobial activity by *Trigona laeviceps* (stingless bee) honey from Thailand. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 25(3): 364-369. (Indexed by WHO Index Medicus (IMEMR) for EMRO region, ExtraMed, covered by EXCERPTA MEDICA, Netherlands, CAB Abstract and Global Health of UK)

Chanchao, C. (2009) Properties and antimicrobial activity of *Apis dorsata* honey from Thailand*. Pakistan Journal of Medical Sciences*. 25(2): 313-318. (Indexed by WHO Index Medicus (IMEMR) for EMRO region, ExtraMed, covered by EXCERPTA MEDICA, Netherlands, CAB Abstract and Global Health of UK)

Chanchao, C., Pilalam, S., and Sangvanich, P. (2008) Purification and characterization of alpha – glucosidase in *Apis cerana indica. Insect Science*. 15: 217-224. **(ISI, IF2009 = 0.739)**

Ratanasaeng, P., **Chanchao, C.,** Pariyanonth, P., and Tangpraprutgul, P. (2008) Effects of 17 beta-estradiol on liver vitellogenin gene expression in immature female frogs, *Hoplobatrachus rugulosus. ScienceAsia.* 34: 377–384. (**ISI, no IF**, indexed in various international databases, such as CAPlus, SCOPUS and recently was re-listed in Thomson Reuters' Science Index Expanded Edition 2007)

Rattanawannee, A., **Chanchao, C.,** and Wongsiri, S. (2007) Morphometric and genetic variation of small dwarf honeybees *Apis andreniformis* Smith, 1858 in Thailand. *Insect Science*. 14: 451-460. **(ISI, IF2009 = 0.739)**

Chanchao, C., Padoongsupalai, R., and Sangvanich, P. (2007) Expression and characterization of alpha-glucosidase III in the dwarf honeybee, *Apis florea* Fabricius, (Hymenoptera: Apoidea: Apidae*). Insect Science*. 14: 283-292. **(ISI, IF2009 = 0.739)**

Chanchao, C., Teethakaew, T., and Wongsiri, S. (2006) Alpha-glucosidase activity in honey of *Apis* spp. in Thailand. *Laos Journal on Applied Science*. 1(1): 276-281.

Chanchao, C., Sintara, K., and Wongsiri, S. (2006) Comparison of antibiotic and organoleptic property of honey from various plant sources in Thailand. *Journal of Apicultural Science*. 50(2): 13-18. (is covered in Science Citation Index Expanded, Biological Abstract, BISOIS Previews, and Zoological Record)

Chanchao, C., Srimawong, P., and Wongsiri, S. (2006) Expression of alpha-glucosidase gene in hypopharyngeal glands of worker honeybee (*Apis cerana*).

Journal of Apicultural Science. 50(2): 35-42. (is covered in Science Citation Index Expanded, Biological Abstract, BISOIS Previews, and Zoological Record)

Wongchawalit, J., Yamamoto, T., Nakai, H., Kim, Y. M., Sato, N., Nishimoto, M., Okuyama, M., Mori, H., Saji, O., **Chanchao, C.,** Wongsiri, S., Surarit, R., Svasti, J., Chiba, S., and Kimura, A. (2006) Purification and characterization of alpha-glucosidase I from Japanese honeybee (*Apis cerana japonica*) and molecular cloning of its cDNA. *Biosci. Biotech. Biochem*. 70(12):2889-98. **(ISI, IF2009 = 1.89)**