บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ชันโรงกำเนิดมานานมากกว่า ๘๐ ล้านปี (Michener and Grimaldi,1988) จัดเป็นแมลงผสมเกสรล้าหลัง (eusocial insects) เมื่อเทียบกับพวกผึ้งรวง (highly eusocial insects) (Gromaldi and Engel, 2005) หรืออาจจะยกระดับชันโรงเป็นพวกแมลงสังคมชั้นสูงแบบล้าหลังหรือ highly primitive eusocial insect ส่วนผึ้งรวงจัดอยู่ในพวกแมลงสังคมชั้นสูงแบบก้าวหน้า highly advance eusocial insect ก็ได้ โดยพฤติกรรมแล้ว จะจัดชันโรงกับผึ้งรวงอยู่ในระนาบเดียวกันไม่ได้อย่างเด็ดขาด แต่ชันโรงก้าวหน้ากว่าผึ้งป่า และผึ้งสันโดษ (solitary bees) (Michener, 1974) เพราะผึ้งป่าไม่มีการดำรงชีวิตแบบสังคม อย่างดีก็แค่กึ่งสังคม คือตัวเมียมีพฤติกรรมเลี้ยงลูกร่วมกัน ลักษณะและพฤติกรรมที่บ่งบอกว่าชันโรงเป็นแมลงสังคมแท้จริง (eusocial insects) หรือเป็นแมลงสังคมชั้นสูงแบบล้าหลังกว่าผึ้งรวง ดังนี้ ๑) ชันโรงควบคุมอุณหภูมิในรังให้คงที่ไม่ได้ ๒) การติดต่อสื่อสารของชันโรงบอกแหล่งอาหารระหว่างผึ้งงานด้วยกัน ไม่ชัดเจน ๓) การเลี้ยงดูตัวอ่อนของชันโรงไม่ใช้วิธีที่ก้าวหน้าหรือ progressive feeding กลับใช้วิธีเตรียมอาหารให้เสร็จหรือ provisioning feeding และ ๔) การลงตอมดอกไม้ของชันโรงไม่สอดคล้องกับกลไกผสมเกสรของพืชมีดอกและสัณฐานของชันโรง มีลักษณะและพฤติกรรมไม่เอื้ออำนวยในการนำพาเรณู เพื่อการผสมเกสรข้ามสายพันธุ์

จากการที่ชันโรงมีพฤติกรรมล้าหลังกว่าผึ้งรวง ทำให้การจัดการรังชันโรงได้ง่ายกว่าผึ้งรวง ที่สำคัญคือชันโรงไม่มีเหล็กใน ถึงแม้ว่าบางรังมีความก้าวร้าวแต่ก็ไม่มีอันตรายมากเท่าถูกผึ้งต่อย พฤติกรรมเด่นของชันโรง คือ การทนอยู่ในสภาพรังปิดหรือถูกปิดได้เป็นเดือน ในขณะที่ผึ้งรวง เช่น ผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงไม่สามารถทนสภาพรังถูกปิดได้นานเกิน ๒ ชั่วโมง ก็ตายยกรัง (สมนึก, 2553) โดยไม่มีทางระบายอากาศเพราะต้องควบคุมอุณหภูมิในรังให้ปรกติหรือคงที่นั้น อากาศในรังต้องหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลา แต่ชันโรงควบคุมอุณหภูมิไม่ได้จึงต้องพิถีพิถัน ในการเสาะหาโพรงที่แสงแดดส่องไม่ถึง ไม่มีไม้เลื้อยขึ้นปกคลุมโคนต้นไม้ยืนต้น ขนาดตัวของชันโรงมีผลต่อขนาดความจุของโพรง ตัวใหญ่โพรงก็จะใหญ่กว่าพวกที่ตัวเล็กกว่า ยังไม่มีข้อมูลงานวิจัยที่บ่งบอกถึงการใช้ออกซิเจนในรังชันโรงในสภาพรังถูกปิดนั้น ชันโรงอยู่ได้อย่างไร

การที่ชันโรงเป็นแมลงผสมเกสรท้องถิ่นของไทยอยู่รวมกันเป็นฝูง (colony) ทำรังในโพรงต้นไม้เป็นหลัก ยกเว้นพวกชันโรงบ้านทำรังในโพรงเทียมหรือโพรงที่มนุษย์ประดิษฐ์ หรือทำขึ้นเพื่อใช้สอย เก็บหรือทิ้งไว้ในที่ร่มชันโรงที่ออกเรือน จะเข้าอาศัยในโพรงเทียมดังกล่าว ห่างจากรังแม่ไม่เกิน 100 เมตร (Sakagami *et al.*, 1983) นอกจากนั้น ชันโรงบ้านมีระยะทางในการหากินที่จำกัด ไม่เกิน 300 เมตร (สมนึก, 2553) ทำให้บังคับชันโรงผสมเกสรพืชเป้าหมายได้ดี นอกจากนั้นยังมีข้อดีที่สำคัญที่สุดคือชันโรงบ้านผสมพันธุ์กันในรัง (closed breeding) ทำให้สามารถคัดเลือกและควบคุมนางพญาและตัวผู้ที่ต้องการให้

ผสมพันธุ์กันในรังเพื่อปรับปรุงพันธุ์ และพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่และลูกได้แม่นยำที่สุดเพราะสามารถควบคุมได้ทั้งพ่อและแม่ ส่วนของลูกก็จะไม่มีปัญหาแต่อย่างใด

ปัจจุบันทราบแล้วว่า ชันโรงตัวผู้เกิดมาได้อย่างไร เวลาใด เซลล์ตัวผู้มีรูปร่างอย่างไร ทำให้การคัดเลือกและปรับปรุงพันธ์ มีความถูกต้องทุกขั้นตอนแทบจะไม่มีความผิดพลาดเลย ถึงแม้ว่าชันโรงจะมีขนาดเล็กไม่สามารถผสมเทียมได้ แต่นางพญาและตัวผู้ ถูกควบคุมการผสมพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะชันโรงบ้านผสมพันธุ์กันในรัง ประกอบการปิดรังที่สามารถกระทำกับรังชันโรงได้ จึงไม่ต่างอะไรกับการควบคุมชันโรงผสมพันธุ์แบบประชากรปิด (closed population breeding) นับเป็นนิมิตรหมายที่ดีสำหรับการพัฒนาชันโรงให้ก้าวหน้ายิ่งๆ ขึ้นไป รูปร่างของเซลล์ตัวผู้ ต่างกับเซลล์ของชันโรงงาน สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ส่วนเซลล์ของนางพญาก็เช่นกัน ชันโรงงานจะสร้างเป็นระยะๆ คู่ขนานไปกับเซลล์ของตัวผู้ (Boongird and Michener, 2010) พบว่า สัณฐานวิทยาของชันโรงตัวผู้มีรูปร่างแตกต่างกัน แบ่งออกได้เป็น 2 แบบ แบบที่ 1 เรียกว่า Isopodal นั้น ทีเบียขาหลังของชันโรงตัวผู้มีรูปร่างเหมือนโครงสร้างทีเบียขาหลังของชันโรงงาน เพียงแต่การติดตั้งของขน (pilosity) แตกต่างกัน โดยทีเบียขาหลังของชันโรงตัวผู้ ไม่มีขนแข็งที่เรียกว่า setae แต่มีขนที่อยู่ระหว่าง bristle กับ hairs และเป็นการติดตั้งอย่างถาวร ทำให้ชันโรงตัวผู้ มีรูปร่างหน้าตาไม่แตกต่างจากชันโรงงาน แบบที่ 2 เรียกว่า anisopodal คือ ชันโรงตัวผู้ มีทีเบียขาหลังไม่เหมือนชันโรงงาน ทำให้ลักษณะของทีเบียขาหลังของชันโรงตัวผู้คล้ายคลึงกับทีเบียขาหลังของพวกผึ้งรวงตัวผู้ ทำให้รูปร่างลักษณะของชันโรงตัวผู้พวก anisopodal ไม่เหมือนชันโรงงานแต่อย่างใด เช่นเดียวกับพวกผึ้งรวง และพวก anisopodal มีแนวโน้มว่าจะมีพฤติกรรมการผสมพันธุ์นอกรังคล้ายกับพวกผึ้งรวงทั่วไปที่ผสมกลางอากาศ แต่ชันโรงพวกนี้ อาจเกาะบนใบไม้ เพราะอวัยวะสืบพันธุ์ของชันโรงตัวผู้ กับผึ้งรวงตัวผู้แตกต่างกัน พวก Isopodal มีหน้าที่พิเศษคือเก็บเกสรหรือชันผึ้งประมาณ 1/4 ไว้ที่ทีเบียขาหลัง เพื่อพรางตาชันโรงงานมิให้เข้ามาทำร้าย ขณะที่รอนางพญาพรหมจรรย์ออกเรือน เพราะตัวผู้ต่างรังไม่สามารถเข้าไปในรังได้ ตอนเย็นก็ต้องบินกลับรังของมัน รุ่งขึ้นก็มารอใหม่ ส่วนตัวผู้ที่เป็นแบบ anisopodal ไม่มีพฤติกรรมเฝ้าหน้ารังที่มีนางพญาพรหมจรรย์อยู่ในรัง แต่จะใช้วิธีรวมกลุ่มของตัวผู้ที่มาจากหลายๆรัง บริเวณใกล้ๆรังที่มีนางพญาพรหมจรรย์อยู่ในรัง แต่ยังไม่มีข้อมูลยืนยันว่านางพญาพรหมจรรย์กับตัวผู้ผสมพันธุ์กันนอกรัง

การที่รังชันโรงบ้านหรือรังชันโรงป่า สามารถดำรงชีวิตอยู่รอดในธรรมชาติได้นานนับสิบปีแสดงว่า พื้นฐานทางพันธุกรรม มีความเป็นพ่อแม่และลูก (parent – offspring community) สูง มีระดับของสายเลือดชิดต่ำ คอกใดมีความเป็นพ่อแม่ลูกสูง จะมีจำนวนรังลูกเพิ่มขึ้น แต่รังหลานไม่น่าจะอยู่รอดได้ยาวนาน ยกเว้นนางพญาพรหมจรรย์ของรังหลานผสมพันธุ์กับตัวผู้ที่ไม่เป็นเครือญาติกันที่มาจากต่างคอกกัน เมื่อมีพฤติกรรมรวมกลุ่มเกิดขึ้น และสายเลือดชิดในรังหลานจะค่อยๆจางลงเมื่อมีโอกาสผสมกับตัวผู้จากคอกอื่นๆ ต่อไปเรื่อยๆ เป็นการไหลหรือคืบคลานของยีน (gene flow) อย่างยาวไกล ตราบใดที่ไม่มีสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์ (geographical barrier) คือมีสภาพพื้นที่ติดต่อกันไป (land bridge) ไม่มีสภาพพื้นที่ถูกตัดขาด (isolated forest) แยกเป็นสองส่วน มีช่องว่างที่กว้างเกินกว่าที่ชันโรงแต่ละคอกจะคืบคลานเข้าหากัน

ได้ ดังนั้น การทำลายป่า เกิดสภาพป่าเป็นหย่อมๆ ช่องว่างระหว่างป่ากลายเป็นสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์ นับเป็นอันตรายอย่างใหญ่หลวงที่ผืนป่าจะล่มสลายได้ในที่สุดเมื่ออายุขัยของต้นพ่อต้นแม่ล้มตายไปแล้ว ไม่มีลูกไม้เกิดขึ้นทดแทน

การเก็บตัวอย่างชันโรงจากรังที่ใกล้จะล่มสลายในเวลาต่อมาไม่มีประโยชน์สักเท่าใดนักสำหรับงานวิเคราะห์ดีเอ็นเอ เพราะไม่สามารถติดตามนำผลและข้อมูลที่ได้ไปใช้แก้ไขปัญหาการเพาะเลี้ยงชันโรงได้แต่อย่างใด เพียงแต่รับรู้ว่ามีพันธุกรรมเป็นอย่างไร ในทางปฏิบัติรังที่อาศัยอยู่โดดเดี่ยวในธรรมชาติทั้ง heterozygous และ/หรือ homozygous ข้อมูลไม่เพียงพอสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ ต้องศึกษาดีเอนเอในลักษณะเปรียบเทียบพ่อแม่ลูก ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์มากกว่า เพราะการปรับปรุงรังในธรรมชาติ จากคอกที่ไม่มีความเป็นพ่อและลูกนั้น ค่อนข้างลำบากและเสียค่าใช้จ่ายสูงกว่า และใช้เวลาปรับปรุงยาวนานกว่า (Borges *et al.*, 2010, Carvalho, 2001, Roubik, 1989, Rinderer, 1986) Thammajitsakul *et al.*, (2008) รายงานว่า รังชันโรงขนเงิน *Tetragonula pagdeni* (Schwarz) ที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง นั่นคือ รังที่พบมักเป็นรังอยู่โดดเดี่ยว จีโนมจากแม่และพ่อไม่ได้ถ่ายไปสู่ลูก หรือถ่ายไปแล้วตาย ไม่มีชีวิตอยู่บนธรรมชาติได้ รังอื่นๆที่ไม่ปรากฏแสดงว่ารังล่มสลายไปก่อนหน้าที่จะเข้าไปสำรวจ เป็นปรากฏการณ์ทั่วไปสำหรับชันโรงที่ไม่สามารถรวมกลุ่มเพื่อผสมข้ามสายพันธุ์ได้ด้วยสาเหตุหลายประการที่รังถูกทำลาย ตรงข้ามกับจังหวัดจันทบุรี พบว่า มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด เพราะมีผู้เลี้ยงผึ้งจิ๋วกระจายตัว เพาะเลี้ยงผึ้งจิ๋วกันอยู่ทั่วไป มีการเคลื่อนย้ายรังจากแหล่งหนึ่งไปอีกแหล่งหนึ่ง มีทั้งรังลูกผสม (outbred colonies) และรังสายเลือดชิด (inbred colonies) ดังนั้น ชันโรงที่เพาะเลี้ยงได้ โดยหลักการแล้วถือว่า ไม่มีสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์สามารถเคลื่อนย้ายรังได้ตลอดเวลา หลักการนี้สามารถนำไปใช้เพิ่มพูนแมลงผสมเกสรในสวนป่าที่ขาดแคลนชันโรงป่าได้ เพราะชันโรงบ้านก็มีชีวิตอยู่ได้นานไม่ต่ำกว่า 20 ปี (สมนึก, 2553)

การแสดง phylogenetic tree ของชันโรงบ้านช่วยให้การคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมที่จะผสมพันธุ์กันแล้วได้ลูกผสมเป็น heterozygote คือ รังที่อยู่ห่างกัน จะผลิตลูกผสมได้ดีกว่ารังที่อยู่ใกล้คือสายเลือดใกล้ล้เคียงกัน (Rasmussen and Camargo, 2007) พบในชันโรงภาคใต้ ที่มีลักษณะการไหลของยีน (gene flow) เกิดการรวมตัวกัน จึงต้องคัดเลือกสายเลือดที่ห่างกัน

การฟื้นฟูสภาพรังชันโรงบ้านที่อาศัยในเลือกสวนนาไร่สำหรับใช้เป็นแมลงผสมเกสรท้องถิ่นอย่างยั่งยืนนั้น จะต้องทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอรังที่มีอยู่ เพื่อหาความเป็นพ่อแม่ลูก ถ้าไม่มีความเป็นพ่อแม่ลูก จะต้องทำการปรับปรุงแหล่งพันธุกรรม เพื่อจัดหารังพ่อพันธุ์และ/หรือแม่พันธุ์ ให้มีโอกาสผสมพันธุ์ เพื่อผลิตลูกผสมในแต่ละปี มีจำนวนเพิ่มขึ้นสามารถดำรงชีวิตได้อย่างยั่งยืนตราบใดที่รังพ่อแม่ยังมีชีวิตอยู่

การวิเคราะห์ดีเอ็นเอชันโรงเป็นงานวิจัยค่อนข้างใหม่สำหรับประเทศไทยที่ต้องค้นคว้าด้วยตัวเองทั้งหมดเพราะเป็นข้อมูลจำเพาะชนิด และชันโรงเป็นแมลงโลกเก่า ไม่มีในประเทศที่พัฒนาแล้ว การปล่อยทิ้งให้เกิดสภาพรังมีจำนวนลดลงไปเรื่อยๆโดยไม่มีการศึกษาหาสาเหตุแล้วทำการแก้ไขนั้น นับเป็นอันตราย

อย่างยิ่ง ชันโรงบ้านซึ่งเป็นทรัพยากรของประเทศไทย ที่ได้ปรับพฤติกรรมมาอย่างดีแล้ว เข้ากับวิถีชีวิตแบบไทยๆ ได้อย่างลงตัวแล้ว ก็ไม่ควรที่จะเห็นสภาพชันโรงบ้านสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ในการตรวจสอบพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตได้ทุกชนิด โดยอาศัยความแตกต่างของ DNA ในสิ่งมีชีวิตนั้น ซึ่งมีประโยชน์มากในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ด้วย สามารถจัดแบ่งจำแนกกลุ่มของสิ่งมีชีวิตได้ เช่น แบคทีเรีย ข้าว และกวาง เป็นต้น (Lu *et al.*, 2008; Rahman *et al.*, 2009; Masseti *et al.*, 1997)

เทคนิคที่นิยมใช้ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ คือเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลอง (Saiki *et al.*, 1988) โดยอาศัย primer ซึ่งเป็น DNA ลำดับเบสสั้นๆ ที่ complementary กับ DNA เป้าหมาย โดยมี DNA polymerase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ DNA ในบริเวณที่ primer เข้าจับ ความยาวของชิ้นส่วน DNA ที่เพิ่มปริมาณได้มีขนาดประมาณไม่เกิน 5 กิโลเบส (kb) เทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่รวดเร็วและไม่ยุ่งยากที่จะนำมาใช้ในการหาความแตกต่างของ DNA และเทคนิค PCR มีมากมายหลายชนิด เช่น simple sequence repeats (SSR), random amplified polymorphic DNA (RAPD) และ amplified fragment length polymorphisms (AFLP) เป็นต้น

SSR เป็นเทคนิคที่มีเป้าหมายของการศึกษาอยู่ที่ DNA microsatellite โดยใช้ primer ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับ DNA บริเวณที่เป็น microsatellite คือมีลำดับเบสของ DNA 1-4 เบส ซ้ำกันประมาณ 10-20 ครั้ง เช่น $(AT)_n$, $(GA)_n$ หรือ $(ATT)_n$ SSR เป็นเทคนิคที่สามมารถแยกความแตกต่างของ DNA ได้สูง จัดเป็น co-cominant marker สามารถใช้ตรวจสอบสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็น homozygous และ heterozygous (Pinto *et al.*, 2001) เทคนิคนี้จึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของชันโรง (Green *et al.*, 2001; Cameron *et al.*, 2004; Ronfort *et al.*, 2006)

ส่วน RAPD (Williams *et al.*, 1990) เป็นเทคนิคที่ใช้ primer สายเดี่ยว ที่มีขนาดสั้นประมาณ 10 เบส เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมาย ซึ่งการเข้าจับของ primer เป็นแบบสุ่มทั่วทั้ง genome พบแถบ DNA ที่เป็นผลจาก PCR จำนวนมาก RAPD เป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็ว เทคนิคนี้ก็ได้ถูกมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายและจัดกลุ่มของชันโรงบ้างเช่นกัน (Tavares *et al.*, 2007)

AFLP ได้ถูกพัฒนาขึ้นโดย Vos *et al.* (1995) เป็นเทคนิคที่รวมสองเทคนิค ได้แก่ RFLP และ PCR มาปรับใช้ร่วมกัน โดยมีการนำเอนไซม์ตัดจำเพาะมาใช้ตัด genomic DNA ร่วมกับการใช้วิธีเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ทำให้ได้ชิ้นส่วน DNA จาก PCR (amplified product) จำนวนมากต่อปฏิกิริยา AFLP จึงเป็นเทคนิคที่สามารถสร้าง DNA เครื่องหมายจำนวนมากได้รวดเร็ว ซึ่งก็ได้มีการนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของชันโรงเช่นกัน (Markert *et al.*, 2006) สำหรับประเทศไทยก็ได้มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ในการจำแนกสปีชีส์ (*Trigona collina*) ของชันโรงด้วย (Theeraapisakkun *et al.*, 2010)

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสิ่งมีชีวิต โดยใช้ DNA เครื่องหมายสามารถที่จะจำแนกพันธุ์ ตรวจสอบความแตกต่างระหว่าง genotype ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้ ซึ่งสามารถใช้ได้กับสิ่งมีชีวิตชนิดแฮพพลอยด์ (haploid) หรือดิพลอยด์ (diploid) ได้ ภายใต้สมมติฐานการกระจายตัวอย่างอิสระของ DNA เครื่องหมายแต่ละตำแหน่ง ต้องอยู่ในสภาพสมดุลประชากรของ Hardy-Weinberg จึงสามารถนำ DNA เครื่องหมายแต่ละชนิดมาใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างในระดับโมเลกุล เพื่อจัดกลุ่มแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้ (Kosman and Leonard, 2007) โดยสามารถประเมินจากค่าความถี่ของอัลลีล (allele) ในแต่ละตำแหน่ง

การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม

การวิเคราะห์การจัดกลุ่มข้อมูลและตัวอย่าง เป็นวิธีที่ใช้หลักการวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์มาช่วยในการจำแนกหรือแบ่งข้อมูลที่ศึกษาออกเป็นกลุ่มย่อยตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป โดยนิยมใช้วิธี UPGMA (unweighed pair-group method with arithematic average) เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนมาก หลักการสร้างแผนภาพ คือตัวอย่างหรือหน่วยทดลองที่มีความแตกต่างกันน้อยที่สุดจะถูกจัดเข้าร่วมเป็นกลุ่มเดียวกันในอันดับแรก หลังจากนั้นจะจัดหาตัวอย่างที่มีความคล้ายคลึงกันให้มาอยู่ภายในกลุ่มเดียวกันต่อไปจนกระทั่งครบทุกตัวอย่าง การใช้วิธี UPGMA มักจะให้ค่า cophenetic correlation coefficient สูง (Farris, 1970) แสดงให้เห็นว่าการใช้วิธี UPGMA จะมีโอกาสผิดพลาดน้อย มีความน่าเชื่อถือ นอกจากวิธี UPGMA แล้ว ยังมีวิธีอื่นๆ เช่น SLINK method (single linkage clustering method), CLINK method (complete linkage clustering method), และ Ward's minimum variance clustering method (Romesburg and Marshall, 1984) อย่างไรก็ตามถึงแม้จะใช้วิธีที่แตกต่างกันในการวิเคราะห์แหล่งข้อมูลหรือตัวอย่างเดียวกันจะยังคงให้ผลของแผนภาพที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการพิจารณาตัวแปรที่ใช้ในการวิเคราะห์แบ่งกลุ่ม