บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบทางสัณฐานของชันโรง

จากการเก็บตัวอย่างชันโรงงานจากรังธรรมชาติและในแปลงดอกไม้ที่มีชันโรงลงตอมดอกไม้ในจังหวัดเชียงใหม่ กาญจนบุรี นครราชสีมา จันทบุรี และจังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นตัวแทนของแต่ละภาค จำนวน 5 ภาค ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือหรืออีสาน ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยการสุ่มจับด้วยสวิงจับแมลง โฉบบริเวณหน้ารังและที่ปากทางเข้ารังในกรณีที่มีรังอื่นอยู่ใกล้ และตามดอกไม้ที่ชันโรงลงตอม ใส่ขวดฆ่าแมลง แต่ไม่ใช้สาร ethyl acetate ในการฆ่าชันโรงหลังลายเพราะทำให้ตัวแมลงที่ตาย แข็งและเปราะมาก (มีปัญหาเรื่องการจับติดเข็มชันโรงได้ยาก) ทำการติดเข็มปักแมลงและ card point แล้ว label นำไปอบแห้ง จากนั้นนำมาวัดขนาด ด้วยกล้องสเตริโอ ไมโครสโคป วัดที่ละตัว ทีละส่วนอวัยวะ เช่น ความกว้างของหัววัดไปจนครบ 258 ตัว จากนั้นจึงมาเริ่มวัดความยาวของปีก รวมแผ่นหุ้มปีกหรือ tegula วัดปลายสุดของเทกูลา และปลายสุดของขอบปีกคู่หน้า (forewing) จนครบ 258 ตัวอย่าง การวัดความยาวของปีก วัดคนละตำแหน่งกับที่ Sakagami, (1978) ศึกษาคือวัดจากจุดเชื่อมระหว่าง Cu-M ลากไปแตะที่ขอบเส้น Rm ของปีกหน้า แต่จากการเซทตัวอย่างชันโรงที่ได้ส่วนมาก ปีกหุบและห่อ เป็นการวัดที่ยากมากไม่สะดวก เหมือนวัดขอบปีกคู่หน้า กับปลายสุดของเทกูลา ซึ่งไม่มีอะไรปิดบัง ถึงแม้จะอยู่ในสภาพปีกหุบ ก็วัดได้ไม่ได้ทำให้ความยาวของปีกเปลี่ยนแปลง ส่วนความยาวของทีเบียขาหลัง Sakagami, (1978) วัดด้านบนของทีเบียกับส่วนของ femur ติดไปด้วย คือส่วนโค้งของ femur ถือเป็นขอบบนของทีเบีย ทำให้ค่าที่วัดได้มากกว่าค่าที่วัดทีเบียอย่างเดียวไปประมาณ 0.5 มม. การลากเส้นตรงด้วยสายตา มาจดส่วนล่างของทีเบียซึ่งมีลักษณะโค้ง เว้า อยู่ตรงบริเวณกลางๆ ก็ต้องใช้วิธีกำหนดตำแหน่งเองเหมือนกัน ซึ่งใช้หลักการวัดตำแหน่งเดียวกันหมดทุกตัวอย่าง อย่างไรก็ตามถึงแม้จะได้ค่าที่ต่างกันเล็กน้อย แต่ก็มิได้นำค่านั้นไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ เพราะไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมในแต่ละภาคได้ จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบทางสถิติได้ แต่ข้อมูลก็สามารถเห็นได้ชัดว่าแตกต่างกันโดยเฉพาะชันโรงหลังลายในภาคเหนือตัวใหญ่ที่สุด ส่วนชันโรงในภาคใต้เล็กที่สุด ตามทฤษฎีพื้นที่ที่ห่างไกลออกไปจากเส้นศูนย์สูตร แมลงจะมีขนาดใหญ่กว่าพื้นที่อาศัยที่อยู่ใกล้เส้นศูนย์สูตร และพื้นที่ที่เป็นภูเขาสูง ขนาดของแมลงจะตัวใหญ่กว่าที่อยู่ต่ำกว่า (Roubik,1989; O'Toole, 1991) ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือภาคตะวันตกและภาคตะวันออกมีขนาดใกล้เคียงกัน เพราะอยู่ในระนาบเดียวกัน อาจจะต่างกันของระดับน้ำทะเล และเกิดพฤติกรรมรวมกลุ่มเพื่อสืบพันธุ์ได้ง่าย จึงมีขนาดพอๆ กัน ส่วนภาคใต้ พื้นที่การ

รวมกลุ่มเพื่อสืบพันธุ์ค่อนข้างแคบและมีทิศทางเดียว พบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์กับพัทลุงมีความเหมือนกัน แสดงว่าเคยรวมกลุ่มกันเพื่อสืบพันธุ์กัน อย่างไรก็ดีจะต้องทำการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาความต่างของจีโนมดีเอ็นเอเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ผึ้งจิ๋วหลังลายต่อไป นอกจากตัวอย่างที่นำมาวัดขนาดแล้วยังมีส่วนที่เก็บมาแต่มิได้นำมาวัดเพราะพิจารณาแล้วเห็นว่า มีขนาดต่างจากชันโรงหลังลายทั่วไปมาก อีกทั้งพฤติกกรมการสร้างรังและวางไข่ก็ไม่เหมือนกัน จึงกันไว้สำหรับศึกษารายละเอียดเพื่อแยกออกเป็นสปีชีส์ใหม่น่าจะเหมาะสมกว่า แต่ไม่สามารถดำเนินการให้เสร็จในโครงการนี้ เนื่องจาก ปัญหาการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ซึ่งใช้เวลาทำ pretest ประมาณ 9 เดือน ผลสุดท้ายก็ต้องไปตั้งต้นใหม่ เก็บตัวอย่างใหม่ทั้งหมด ทำให้เสียเวลาและค่าใช้จ่าย แต่อย่างไรก็ดี การเริ่มต้นศึกษานับว่ามีประโยชน์พอสมควร

สรุปว่าการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของชันโรงหลังลายไม่มีอะไรที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เหมือนกับที่นักอนุกรมวิธานในอดีตรายงาน ส่วนการเปลี่ยนแปลงภายในตัวแมลง ที่เป็นสาเหตุชักนำให้เกิดการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของชันโรงหลังลายนั้น ชันโรงมีการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดเป็นหลัก อาหารและปริมาณอาหารมีส่วนสำคัญต่อขนาดของชันโรง ระยะเวลาเพียง 90-100 ปี ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางรูปร่างได้ เพราะลักษณะรูปร่างของชันโรงถูกควบคุมโดยยีน ที่มีลำดับเบสที่สำคัญๆ ที่มีความเสถียรในตัวชันโรง และวิทยาการดีเอ็นเอ ของชันโรงยังไม่สามารถหาตำแหน่ง start codon ของชันโรง แต่ก็ไม่มีความจำเป็นในขณะนี้ มีงานที่เร่งด่วนรออยู่ข้างหน้าคืองานปรับปรุงพันธุ์ชันโรงหลังลายให้ได้ลักษณะที่ดีเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงให้ผลผลิตสูง ดูแลและจัดการรังง่าย ดังนั้นงานวิจัยที่สมควรศึกษาต่อไปคือ การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยเสาะหาสายพันธุ์ชันโรงในแต่ละภาคที่มีอัลลีล (alleles) ต่างกันเพื่อคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

ยีนเป็นตัวควบคุมรูปร่างชันโรงที่ไม่เปลี่ยนแปลงเพราะยีนมีความเสถียรสูงเพราะชันโรงกำเนิดมานานแล้ว และยีนมีอยู่หรือประกอบอยู่ทุกส่วนของโครโมโซม ทำหน้าที่ควบคุมการก่อกำเนิดส่วนต่างๆ ของชันโรง การเลือกลักษณะของชันโรงเพื่อศึกษาหาทางปรับปรุงลักษณะนั้นให้ดีขึ้น เป็นประโยชน์ต่อผู้เลี้ยงมากขึ้น น่าจะหวังผลการทดลองได้ในอนาคต

ชันโรงหลังลายตัวเล็กขนาดเล็กว่าชันโรงหลังลายทั่วไป จึงทำให้เกิดข้อสงสัยว่า เป็นคนละสปีชีส์หรือไม่ เพราะในรายงานของ Schwarz, (1939) กล่าวว่า ชันโรงมีขนาดเท่ากันแต่สีต่างกัน ก็ต่างสปีชีส์ได้ ชันโรงขนาดต่างกันแต่สีเหมือนกันเป็นชนิดเดียวกันได้ ดังกรณี ชันโรงหลังลายตัวเล็กมากและมีนิสัยก้าวร้าวมากมีขนาดประมาณ 1.7 มม. ขณะที่ชันโรงหลังลายมีขนาดเฉลี่ยประมาร 2.5-3.1 มม.

ชันโรงหลังลายมีความสามารถในการปรับพฤติกรรมได้ดีมาก เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนจากร้อนไปเป็นหนาว ชันโรงหลังลายสามารถปรับพฤติกรรมการสร้างรังโดยเปลี่ยนโครงสร้างรังจาก cluster ไปเป็น semicomb (สมนึก และอรุณรัตน์, 2553) อาศัยในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำ สามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างภายในรัง ให้มีสภาพอบอุ่นขึ้นมาได้ ด้วยการนำถ้วยอาหารล้อมรอบกลุ่มตัวอ่อน เปลี่ยนจาก cluster ไปเป็น semicombs ส่วนพื้นรัง ชันโรงเว้นเป็นช่องว่างให้ชันโรงงานหรือผึ้งงานกระพือปีกปลดปล่อยความร้อนออกจากตัวให้รังอบอุ่นขึ้น การที่ชันโรงไม่สามารถระบายอากาศออกจากรังได้ แต่สามารถปรับโครงสร้างของตัวอ่อน ทำให้รังอบอุ่นขึ้นในช่วงฤดูหนาวได้ การพบโครงสร้างของตัวอ่อนสกุล *Tetragonula* แตกต่างกันเนื่องจากสภาพอากาศ มิใช่จะมีโครงสร้างตัวอ่อนเหมือนกันหมด ถึงแม้จะเป็นสปีชีส์เดียวกัน

สรุปว่า รูปร่างสัณฐานของชันโรงไม่เปลี่ยนแปลงแต่พฤติกรรมปรับเปลี่ยนได้ตามสถานการณ์ โดยเฉพาะอุณหภูมิซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อชันโรงทุกชนิด แต่มีอยู่ชนิดหนึ่งอาศัยในไต้หวันตอนล่างสุด (23.5N) และที่คุนหมิงที่ผู้เขียนพบ คือ *Lepidotrigona ventralis* var. hoozana (Smith) ที่สามารถอยู่อาศัยในที่มีอุณหภูมิต่ำได้

2. การวิเคราะห์ทางดีเอ็นเอ

จากประชากรชันโรงทั้งหมด 72 ตัวอย่าง เมื่อนำมาทดสอบกับ SSR 3 ตำแหน่ง (ภาพที่ 1) สามารถ score ให้คะแนนของแถบ DNA ดังตารางที่ 4 และเมื่อนำมาวิเคราะห์ความเป็นลูกผสมของ F_1 ระหว่าง (พัทลุง x จันทบุรี) ด้วยโปรแกรม CERVUS พบว่ามีจำนวนอัลลีลอยู่ในช่วงระหว่าง 4-9 อัลลีล มีค่าสังเกตของ heterozygosity (Hobs) ค่าคาดหวังของ heterozygosity (Hexp) และค่า polymorphism information content (PIC) อยู่ในช่วงระหว่าง 0.375- 0.486, 0.323- 0.598 และ 0.296- 0.563 ตามลำดับ สำหรับความน่าจะเป็นของการไม่ได้เป็นพ่อแม่ในกรณีที่ทราบพ่อหรือแม่เพียงข้างเดียว (NE-1P) มีค่า 0.6675 แต่หากทราบพ่อแม่ข้างเดียวที่เป็นผู้ถ่ายทอด genotype ให้กับลูก (NE-2P) มีค่า 0.4040 และหากทราบพ่อและแม่ที่แน่นอน (NE-PP) มีค่า 0.1999 (ตารางที่ 4) สำหรับการศึกษาครั้งนี้ทราบแน่ชัดเฉพาะรังแม่จากพัทลุงแต่ไม่ทราบว่าตัวผู้ตัวใดจากจันทบุรีที่ผสมกับ queen ของพัทลุง ดังนั้นจึงสอดคล้องกับกรณีของ NE-2P แสดงว่าลูกผสม F_1 มีความน่าเชื่อมั่นได้ว่าเป็นลูกของชันโรงจากพัทลุงกับจันทบุรี 99.596% เมื่อทดสอบด้วย SSR ทั้ง 3 ตำแหน่ง อย่างไรก็ตาม SSR ทั้ง 3 ตำแหน่งนั้นยังไม่สามารถชี้บอกได้ว่าลูกผสมแต่ละตัวนั้นเกิดจาก

การผสมของพ่อตัวไหนจากรังจันทบุรี เนื่องจากในรังของจันทบุรีมีจำนวนตัวผู้อยู่มาก แต่ได้นำตัวแทนของรังมาเพียงแค่ 8 ตัว ในการศึกษาเท่านั้น

จากการ score แถบ DNA จะพบว่าลูกผสมตัวอย่างที่ 24 และ 20 เมื่อทดสอบกับ primer Tc3.155 และ Tc4.287 ตามลำดับ มีบางอัลลีลที่ไม่เหมือนพ่อกับแม่ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างที่นำมาทดสอบยังน้อยเกินไป หรือ queen ของรังพัทลุงอาจมีการเก็บ sperm ของเพศผู้จากรังอื่นไว้ในร่างกายก่อนที่จะนำมาผสมกับรังจันทบุรี จึงทำให้มีอัลลีลที่แตกต่างออกไปหรือหลังจากผสมกับจันทบุรีแล้ว มีตัวผู้จากรังอื่นมาผสมอีกก็ได้ ทำให้เกิดความสงสัยว่านางพญาชันโรงผสมพันธุ์ครั้งเดียวจริงหรือ

ตารางที่ 4. แสดงการ score การปรากฏแถบอัลลีลของ DNA ชันโรงหลังลาย (*Tetragonula fuscobalteata*) 72 ตัวอย่าง จาก 9 รัง เมื่อทดสอบกับ SSR 3 ตำแหน่ง

จำนวน	SSR primers ที่ใช้ทดสอบ					
	Tc3.155		Tc4.287		Tc7.13	
1	2	4	1	2	2	3
2	2	5	3	3	3	3
3	9	9	2	2	3	3
4	3	3	2	2	3	3
5	4	9	2	3	3	3
6	9	9	2	2	3	3
7	5	9	2	2	1	3
8	4	6	2	3	2	3
9	2	5	2	3	3	3
10	2	9	2	3	3	3
11	2	9	3	3	3	3
12	2	9	2	3	3	3
13	3	8	2	3	3	4
14	2	9	3	3	3	3

15	2	9	3	3	3	3
16	2	9	3	3	3	3
17	5	9	2	2	2	3
18	4	5	1	2	2	3
19	4	5	1	2	2	3
20	6	6	2	4	2	3
21	2	9	3	3	3	3
22	5	9	1	2	2	3
23	2	9	3	3	3	3
24	5	7	2	2	2	3
25	5	5	2	3	3	3
26	5	5	2	3	3	3
27	5	5	2	3	3	3
28	5	5	2	3	3	4
29	5	5	2	3	3	3
30	5	5	2	3	3	4
31	5	5	2	3	3	3
32	5	5	2	3	3	4
33	5	5	2	3	3	3
34	5	5	2	3	3	4
35	5	5	2	3	3	3
36	5	5	2	3	3	4
37	5	5	2	3	3	4
38	5	5	2	3	3	3
39	5	5	2	3	3	4
40	5	5	2	3	3	4
41	5	5	2	2	3	4
42	5	5	2	2	3	3

43	5	5	2	2	3	3
44	5	5	2	2	3	4
45	5	5	2	2	3	3
46	5	5	2	2	3	4
47	5	5	2	2	3	3
48	5	5	2	2	3	4
49	5	5	2	2	3	4
50	5	5	2	2	3	3
51	5	5	2	2	3	4
52	5	5	2	2	3	3
53	5	5	2	2	3	4
54	1	5	2	2	3	3
55	5	5	2	2	3	4
56	1	5	2	2	3	4
57	5	5	2	2	3	3
58	2	5	2	2	3	3
59	2	5	2	2	3	3
60	2	5	2	2	3	3
61	5	5	2	2	3	3
62	5	5	2	2	3	3
63	2	5	2	2	3	3
64	2	5	2	2	3	3
65	2	5	2	3	3	3
66	2	5	2	3	3	3
67	5	7	2	3	3	3
68	2	5	2	3	3	3
69	2	7	2	3	3	3
70	2	5	2	3	3	3

71	-	-	2	3	3	3
72	2	7	2	3	3	3

ตารางที่ 5. ผลการวิเคราะห์ความถี่อัลลีลของชันโรงหลังลาย (*Tetragonula fuscobalteata*) จำนวน 72 ตัวอย่างเมื่อทดสอบกับ SSR 3 ตำแหน่ง

Locus	k	N	HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP
Tc3.155	9	71	0.479	0.598	0.563	0.792	0.614	0.413
Tc4.287	4	72	0.486	0.474	0.388	0.889	0.789	0.674
Tc7.13	4	72	0.375	0.323	0.296	0.948	0.835	0.718

k: จำนวน alleles ของแต่ละ locus

N: จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ

Hobs: ค่าสังเกตของ heterozygosity

Hexp: ค่าคาดหวังของ heterozygosity

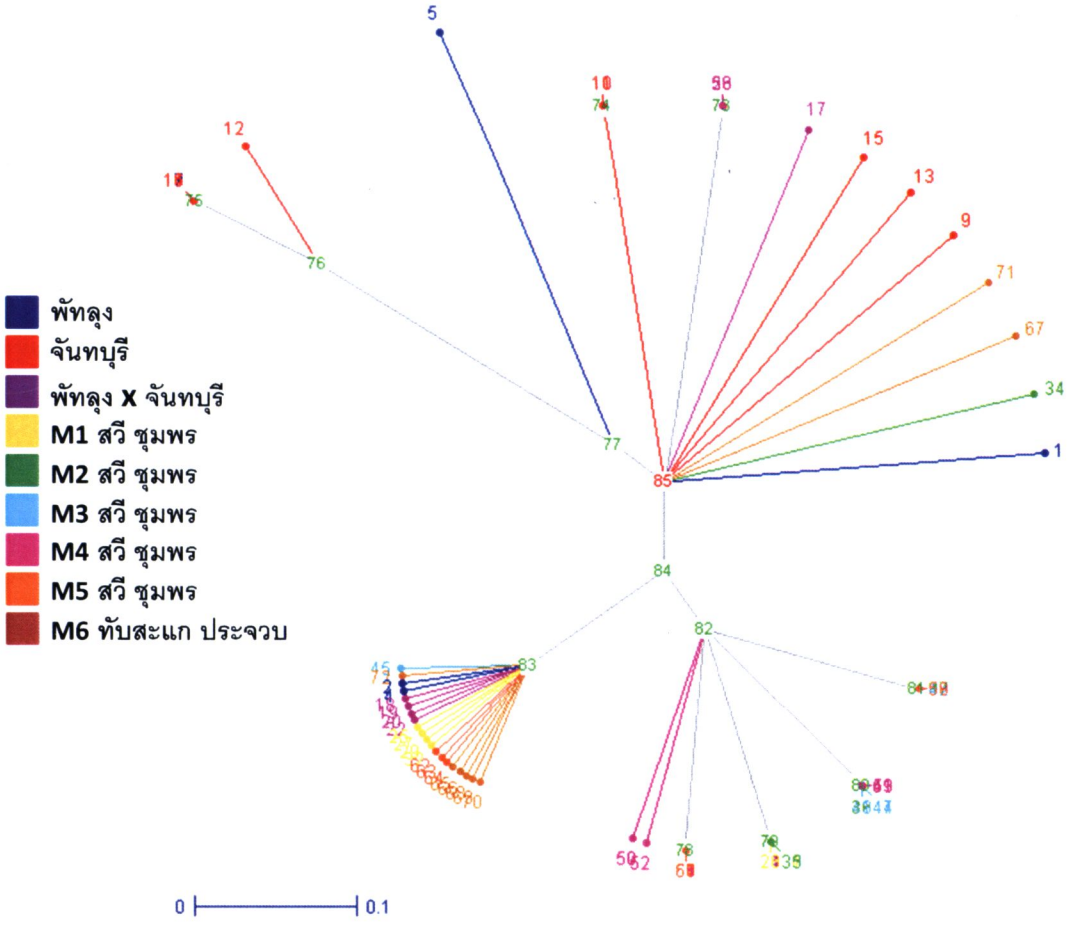
PIC: Polymorphic information content

NE-1P: ค่าเฉลี่ยของโอกาสที่ไม่ได้เป็นพ่อแม่ในกรณีที่ทราบพ่อหรือแม่เพียงข้างเดียว

NE-2P: ค่าเฉลี่ยของโอกาสที่ไม่ได้เป็นพ่อแม่ในกรณีที่ทราบพ่อแม่ข้างเดียวที่เป็นผู้ถ่ายทอด genotype ให้กับลูก

NE-PP: ค่าเฉลี่ยของโอกาสที่ไม่ได้เป็นพ่อแม่ในกรณีที่ทราบแหล่งที่มาของพ่อกับแม่

จากการวิเคราะห์ Phylogenetic tree ของชันโรงทั้ง 9 รัง รังละ 8 ตัวอย่าง โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ DARwin5 (ภาพที่ 4) พบว่าจากภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มแรกเป็นกลุ่มของชันโรงจากจังหวัดพัทลุง จันทบุรี และลูกผสม (พัทลุง x จันทบุรี) และมีตัวอย่างจากจังหวัดชุมพรกับประจวบคีรีขันธ์ปะปนอยู่บ้างเล็กน้อย ส่วนกลุ่มที่สองเป็นกลุ่มของชันโรง M1-M6 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากทางภาคใต้ของประเทศไทย คือตัวอย่างจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร อำเภอสวี จังหวัดชุมพร (M1-M5) และตัวอย่างจากน้ำตกขาอ่อน อำเภอทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (M6) นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับรังจากจังหวัดพัทลุง และลูกผสมของพัทลุงกับจันทบุรีด้วย อาจเนื่องมาจากจังหวัดพัทลุง ชุมพร และประจวบคีรีขันธ์อยู่ในเขตภาคใต้ของประเทศไทยเช่นเดียวกัน จึงทำให้ชันโรงในเขตนั้นมีการแลกเปลี่ยนอัลลีลระหว่างกัน อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าการแบ่งกลุ่มนั้นยังไม่ชัดเจนมากนักทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดลองได้ใช้จำนวน primer 3 ตำแหน่ง ซึ่งถือว่ายังน้อยเกินไป ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มจำนวน primer ให้มากขึ้น และเพิ่มจำนวนประชากรชันโรงจากหลายพื้นที่ของประเทศไทย



ภาพที่ 2 การวิเคราะห์ Phylogenetic tree จากโปรแกรม DARWin5 ของชันโรงหลังลาย (*Tetragonula fuscobalteata*) ทั้ง 9 รัง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย