

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



248657



การศึกษาเปรียบเทียบความผันแปรของสัณฐานวิทยาในกลุ่มผึ้งจิ๋วในแต่ละภาคของประเทศไทย  
Comparative Study on Morphological Variations of the Genus *Tetragonula* Collected  
from 5 Regions of Thailand

รศ.ดร.สมนึก บุญเกิด

และ

อาจารย์ อรุณรัตน์ เทพรัตน์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยรามคำแหง

วันที่ 10 กันยายน 2551 - วันที่ 9 กันยายน 2554

600 255498

การศึกษาเปรียบเทียบความผันแปรของสัณฐานวิทยาในกลุ่มผึ้งจิ๋วในแต่ละภาคของประเทศไทย  
Comparative Study on Morphological Variations of the Genus *Tetragonula* Collected  
from 5 Regions of Thailand

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



248657



รศ.ดร.สมนึก บุญเกิด

และ

อาจารย์ อรุณรัตน์ เทพรัตน์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยรามคำแหง

วันที่ 10 กันยายน 2551 - วันที่ 9 กันยายน 2554

## บทคัดย่อ

248657

การดำเนินงานวิจัยโครงการการศึกษาเปรียบเทียบความผันแปรของสัณฐานวิทยาในกลุ่มสิ่งมีชีวิตในแต่ละภาคของประเทศไทย เริ่มโครงการในปี ๒๕๕๑ สิ้นสุดในปี ๒๕๕๔ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาขนาดของชันโรงหลังลาย *Tetragonula fuscobalteata* (Cameron) ที่แพร่กระจายอาศัยในโพรงเทียมทั่วประเทศมีขนาดและสภาพการดำรงชีวิตสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันอย่างไร ศักยภาพในการผลิตลูกผสมจากรังพ่อและแม่เป็นอย่างไร มีความเป็นพ่อแม่ลูกกันขนาดไหน ด้วยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการรวบรวม คัดเลือก และปรับปรุงพันธุ์ชันโรงหลังลายในโอกาสต่อไป จากการเก็บตัวอย่างวรรณะฝัองงานของชันโรงหลังลายจากหน้ารังและจากดอกไม้ในจังหวัดเชียงใหม่ สุราษฎร์ธานี จันทบุรี นครปฐม และจังหวัดนครราชสีมา เป็นตัวแทนของแต่ละภาคจำนวน ๕ ภาค ตัวอย่างที่ศึกษาได้มาจากรังชันโรงหลังลายเฉลี่ยอย่างเป็นสัดส่วนของการเป็นตัวแทนของแต่ละรังใกล้เคียงกัน ไม่มีรังใดรังหนึ่งมากเป็นพิเศษ รวมจำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาเฉลี่ยภาคละ ๒๕๘ ตัว ทำการวัดขนาด ความกว้างของหัว (HW) ความยาวของปีกรวมแผ่นประกบโคนปีกหรือเทกูลา (WL+T) และความยาวของท่อน้ำเลี้ยงหลัง (HTL) เป็นสัดส่วนที่ไม่เปลี่ยนแปลงไม่ว่าชันโรงจะตายหรือมีชีวิตอยู่ พบว่าขนาดของอวัยวะดังกล่าวของชันโรงหลังลายในแต่ละภาคมีขนาดไม่เท่ากัน โดยภาคเหนือมีขนาดใหญ่ที่สุด และภาคใต้มีขนาดเล็กที่สุด ส่วนภาคตะวันตกมีขนาดรองลงมาจากภาคเหนือ และภาคตะวันออกมีขนาดใกล้เคียงกับภาคตะวันตก ส่วนการวิเคราะห์ดีเอ็นเอของชันโรงหลังลายในสภาพรังที่อาศัยตามบ้านเรือน อาคาร วัด และอื่นๆที่พบรังชันโรงอาศัย มากกว่าสองรัง มีน้อยมาก ส่วนใหญ่จะพบเพียงรังเดียวในรัศมี ๕๐๐ เมตร แสดงว่า ชันโรงดังกล่าวมีสายเลือดชิดสูงจึงไม่ประสบความสำเร็จในการแพร่พันธุ์ เนื่องจากวิธีการแพร่พันธุ์ของชันโรงมีโอกาสเกิดการสืบพันธุ์ระหว่างพ่อกับลูก หรือปู่กับหลาน ขึ้นอยู่กับจำนวนรัง ใครมีมากกว่ากัน การตรวจสอบพันธุกรรมของชันโรงที่ปรากฏในธรรมชาติ เพื่อหาวิธีการที่จะช่วยเหลือชันโรง มีโอกาสเพิ่มจำนวนรังในธรรมชาติได้มากขึ้น โดยปราศจากสายเลือดชิด และเพื่อยืนยันข้อมูลในการพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ลูกกัน จึงได้ทดลองผสมพันธุ์ ระหว่างชันโรงที่นำมาจากจังหวัดจันทบุรี กับจังหวัดพัทลุง ผลการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอมีความเป็นพ่อแม่ลูก ในขณะที่รังธรรมชาติมีสายเลือดชิด ดังนั้นการที่รังชันโรงในธรรมชาติจะแพร่พันธุ์ได้อย่างยั่งยืนจะต้องเกิดมาจากรังพ่อและแม่ผสมพันธุ์กันเท่านั้น

## ABSTRACT

248657

Comparative study on morphological variations of the genus *Tetragonula* collected from 5 regions of Thailand was conducted in 2008, and finished in 2011 in order to know the existing *Tetragonula fuscobalteata* (Cameron) nesting in artificial cavity from an individual 5 regions whether their organs were measured an individual 258 samples, head width, wing length + tegula, and length of hind tibia under binocular stereo microscope with eyepiece micrometer, different in sizes or not. The results have shown that the biggest size of *T. fuscobalteata* was found in northern Chiangmai province. The smallest size came from the southern Suratthani province. The intermediate sizes were found in Chanthaburi, Nakornprathom and Nakornrachsima province. In case of domestic *T. fuscobalteata* living in Chiangmai sometimes has low temperature that forced them change the pattern of brood from cluster builder into semicombs which were surrounded by food pots and kept the lower space beneath the brood chamber to provide for warming by heating done by house bees. In case of *T. fuscobalteata* living in central region and eastern region in which climate is not affect on daily life, therefore, it is not necessary to change the brood pattern. It is implied that the small stingless bee, *T. fuscobalteata* can adapt for survival in their environment. In case of DNA analyses, in order to distinguish the genomic DNA bands of natural inbred colonies (M1, M2, M3 and M4) compared to outbred colonies (Patthalung, Chanthaburi and hybrid colony) by controlling mating between virgin queen brought from Patthalung colony and males from Chanthaburi colony produced hybrid colony (Chanthaburi X Patthalung) by using 3 primers. It has shown that the DNA bands were different between inbred and outbred lines. The primer, Tc.3.155 has shown good result in DNA banding. The number of existing colonies in those provinces was observed on how many existing nests living in the same cohort of those colonies could mate each other. It was found that there was only single colony existing in its habitat, therefore another colony would not succeed in swarming due to existing colony induced inbreeding with another one carried the same alleles as in existing colony. This is a basic technique for testing bee colonies of *T. fuscobalteata* in the bee yard to be selected and kept as parent stocks or to be destroyed them. The experiment should be added more sample sizes and try on numerous primers. The parent-offspring colonies were highly recommended for beekeepers to produce hybrid colonies, therefore the beekeepers should keep more parent stock colonies in the bee yard and propagate the colony from those couples forever. The hybrid colonies as in production hive were prohibited for propagating otherwise all produced offspring are inbred, and cannot survive as normal colony.

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนวิจัย จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยรามคำแหงจึงขอขอบคุณ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา รศ.ดร. มณี อชวรานนท์ และขอขอบคุณ รศ.ดร.พงษ์เทพ อัครชนกุล ผู้อำนวยการศูนย์ และดร.Hugo volgaert นักวิจัยระดับโมเลกุล แห่งศูนย์ความเป็นเลิศทางเทคโนโลยีชีวภาพ การเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ช่วยดำเนินการวิเคราะห์ ดีเอ็นเอ ของตัวอย่างชันโรงจากรังธรรมชาติและรังที่ผสมพันธุ์ขึ้นมาใหม่ ขอขอบคุณ คุณนิภา ชื่นป้อม ที่ได้ ช่วยเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ดีเอ็นเอตลอดจนช่วยวิเคราะห์ข้อมูล ขอขอบคุณ คุณเพ็ญศรี มณีคำ เป็นผู้ ประสานงานรวบรวมเอกสาร

ข้าพเจ้าขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ช่วยแก้ไข แนะนำให้รายงานวิจัยฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

รองศาสตราจารย์ ดร.สมนึก บุญเกิด

อาจารย์ อรุณรัตน์ เทพรัตน์

ผู้วิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(2)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(3)
กิตติกรรมประกาศ.....	(4)
สารบัญ .....	(5)
สารบัญตาราง.....	(6)
สารบัญภาพประกอบ.....	(7)
บทที่	
1. บทนำ .....	1
ความเป็นมาและสภาพของปัญหา .....	2
2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
3. วิธีดำเนินการวิจัย .....	9
4. ผลของการวิจัยและอภิปรายผล.....	16
5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	19
เอกสารอ้างอิง .....	28
ประวัติผู้วิจัย.....	32

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.	แสดงตัวอย่างชันโรงหลังลาย ( <i>Tetragonlua fuscobalteata</i> ) ที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงและจากการเก็บรวบรวมจากรังในธรรมชาติ โดยรังธรรมชาติสร้างรังห่างกันไม่เกิน 200 เมตร ส่วนรังผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงและควบคุมการผสมพันธุ์แบบประชากรปิด (close population breeding) ดำเนินการในเดือนกุมภาพันธ์ 2553 ที่กรุงเทพมหานคร ..... 12
2.	แสดงลำดับเบสของ primer ชนิด Simple Sequence Repeats (SSR) 3 ตำแหน่ง (Green <i>et al.</i> , 2001) ที่เข้าจับกับลำดับเบสซ้ำ (TC) <sub>12</sub> (GAA) <sub>9</sub> และ (CAA) <sub>12</sub> กับชันโรงหลังลาย ( <i>Tetragonula fuscobalteata</i> ) ..... 14
3.	เปรียบเทียบขนาดของความกว้างของหัว (Head width=HW) ความยาวของปีก (Wing length include tegula=WL+T) และความยาวของตะกั่วเก็บเกสร (Hind tibia length=HTL) ของชันโรงหลังลาย ( <i>Tetragonula fuscobalteata</i> (Cameron) ในภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือหรือภาคอีสาน (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) ..... 16
4.	แสดงการ score การปรากฏแถบอัลลีลของ DNA ชันโรงหลังลาย ( <i>Tetragonula fuscobalteata</i> ) 72 ตัวอย่าง จาก 9 รัง เมื่อทดสอบกับ SSR 3 ตำแหน่ง ..... 22
5.	แสดงผลการวิเคราะห์ความถี่ยัลลีลของชันโรงหลังลาย ( <i>Tetragonula fuscobalteata</i> ) จำนวน 72 ตัวอย่างเมื่อทดสอบกับ SSR 3 ตำแหน่ง ..... 25

## สารบัญภาพ

### รูปที่

### หน้า

1. แสดงการวิเคราะห์แถบอัลลีล DNA ของชั้นโรงหลังลาย (*Tetragonula fuscobalteata*) ด้วย polyacrylamide gel 4.5% กับ primer 3 ตำแหน่ง Tc3.155, Tc4.287 และ Tc7.13 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นผลมาจากชนิดของ primer จำนวน 3 ชนิดที่ให้ผลดีที่สุดคือ primer Tc3.155 สามารถแยกความแตกต่างของดีเอ็นเอพ่อแม่ลูกก่อนข้างชัดเจน ส่วนแถบดีเอ็นเอของรัง M1, M2 และ M3 มีความเป็นเครือญาติกันสูง แถบดีเอ็นเอจึงไม่แสดงความแตกต่าง ส่วน M4 เป็นสายพันธุ์ที่ต่างจากกลุ่ม M1, M2, M3 แต่ก็มีความเป็นเครือญาติกันอยู่บางส่วน .....17
2. เปรียบเทียบขนาดชั้นโรงหลังลายในภาคเหนือซึ่งมีขนาดใหญ่ที่สุดกับชั้นโรงหลังลายในภาคใต้ซึ่งมีขนาดเล็กที่สุด .....18
3. แสดงตัวเต็มวัยของชั้นโรงงานหลังลายและอวัยวะที่วัดขนาดได้แก่ ความกว้างของส่วนหัว ความยาวของปีกคู่หน้า ความยาวของทิวเบียขาหลัง .....18
4. การวิเคราะห์ Phylogenetic tree จากโปรแกรม DARWin5 ของชั้นโรงหลังลาย (*Tetragonula fuscobalteata*) ทั้ง 9 รัง .....27