



## การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนปีกหน้าของประชากรผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ทางการค้าในประเทศไทย

### Geometric Morphometric on Forewing of *Apis mellifera* and Buckfast Bee Population in Thailand

กิตติยาภรณ์ นิมพร้อม, ศิรประภา จันทรสัมคร และ ทิพย์วรรณ สรรพสตัย

Kittiyaporn Nimprom, Siraprapar Jansamak and Tipwan Suppasat

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

Biology Program, School of Science, University of Phayao

Received : 11 June 2021

Revised : 19 August 2021

Accepted : 6 September 2021

#### บทคัดย่อ

ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) นำเข้ามาในประเทศไทยเพื่อเลี้ยงเป็นอาชีพทางการเกษตรของไทย ปัจจุบันมีการแพร่กระจายปะปนกันของประชากรผึ้งพันธุ์ในแต่ละฟาร์มเลี้ยงผึ้ง วัดอุประสงค์ในการศึกษาเพื่อตรวจสอบความแปรผันทางสัณฐานวิทยาปีกหน้าผึ้งพันธุ์ด้วยการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตจำนวน 1,562 ตัวอย่าง จาก 161 รั้ง โดยการกำหนดตำแหน่งเครื่องหมายบ่งชี้ที่เป็นจุดตัดเส้นปีกหน้า 19 ตำแหน่ง ผลการศึกษาพบว่าสามารถจำแนกประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงแพร่กระจายในประเทศไทยและผึ้งบัคฟาสต์ (*A. mellifera ligustica*) มีค่าการจำแนกที่สูงถึงร้อยละ 94.2 และสามารถจำแนกกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ออกเป็น 9 กลุ่ม จากตัวอย่างจากฟาร์มเลี้ยงที่แตกต่างกันหรือแตกต่างกันเวลาเก็บตัวอย่างได้ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นถึงการแปรผันของประชากรผึ้งพันธุ์ของฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บในปี พ.ศ. 2560 และ ปี พ.ศ. 2563 กับกลุ่มผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและลูกผสมจำแนกถูกต้องที่ร้อยละ 80.0 การศึกษานี้สรุปได้ว่าการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกมีประสิทธิภาพในการระบุความแปรผันของประชากรผึ้งพันธุ์ของไทย ผึ้งบัคฟาสต์และผึ้งลูกผสม ข้อมูลนี้อาจสนับสนุนให้ประยุกต์ใช้วิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนปีกหน้า ในการใช้เป็นเครื่องหมายทางสัณฐานในการตรวจสอบที่มาของชนิดย่อยผึ้งพันธุ์ที่ขยายพันธุ์ในประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ : ผึ้งพันธุ์ ; ผึ้งบัคฟาสต์ ; การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิต ; ปีก



### Abstract

*Apis mellifera* was imported to raise the agricultural occupation of Thailand. Currently, there is considerable mixing distribution of honey bee populations in each bee farms. The objective of this study was to examine the *A. mellifera* forewing variation by the geometric morphometric of 1,562 specimens from 161 colonies. Nineteen landmarks were plotted as an indication of the vein junction on the forewings. The results showed that the *A. mellifera* populations distributes in Thailand and the Buckfast bees (*Apis mellifera ligustica*) could be correct identified as 94.2% and were able to distinguish 9 populations from different farms or different collection periods by using the geometric morphometric analysis. Moreover, the variation in the breeding bee populations of the Panya bee farm collected in 2017 and 2020, the Buckfast bee, and their hybrid populations could be correct identified as 80.0%. The study concluded that the geometric morphometric analysis on the forewing could be effective in identifying the variations in Thai *A. mellifera*, Buckfast bee and their hybrid bee populations. This information supports the application of the geometric morphometric on the forewings to be used as a morphological marker for further investigation of the origin of the *A. mellifera* subspecies breeding in Thailand.

**Keywords :** *Apis mellifera* ; buckfast bee ; geometric morphometric ; wing



## บทนำ

ผึ้งพันธุ์ (the European honey bee : *Apis mellifera* Linnaeus, 1758) ถูกนำเข้ามาเลี้ยงเป็นอาชีพทางการเกษตร และเพื่อใช้ผลิตภักดิ์ผึ้งในเชิงอุตสาหกรรม จึงเป็นแมลงทางเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศไทยและทั่วโลก ผึ้งพันธุ์มีต้นกำเนิดการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ (geographical origin) ในเขตยุโรปและแอฟริกา ปัจจุบันมีรายงานการวัดสัณฐานวิทยาของผึ้งเพื่อระบุชนิดย่อยได้มากกว่า 24 ชนิดย่อย (subspecies) จำแนกได้ 3 กลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (lineages) ที่สอดคล้องกับการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ ได้แก่ กลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage A พบแพร่กระจายในทวีปแอฟริกา เช่น *A. mellifera intermissa*, *A. mellifera scutellata*, *A. mellifera lamarckii* เป็นต้น กลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage M เช่น *A. mellifera mellifera*, *A. mellifera Iberiensis* เป็นต้น มีการแพร่กระจายบริเวณยุโรปตอนเหนือและตอนกลาง และกลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C เช่น *A. mellifera ligustica*, *A. mellifera carnica* เป็นต้น มีการแพร่กระจายแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียนและทางยุโรปตอนล่าง (Ruttner, 1988; Hepburn & Radloff, 1998; Francroy *et al.*, 2009; Kandemir *et al.*, 2011; Ilyasov *et al.*, 2020) จากความก้าวหน้าทางชีวโมเลกุล สามารถระบุกลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage O เช่น *A. mellifera syriaca*, *A. mellifera caucasica* และ *A. mellifera anatoliaca* (Francroy *et al.*, 2008) และปัจจุบันพบเพิ่มเติมอีก 2 ชนิดย่อย ได้แก่ *A. mellifera adami* และ *A. mellifera armeniaca* (Sheppard & Arias, 2005) ปัจจุบันผึ้งพันธุ์เป็นผึ้งที่นิยมเลี้ยงกันมากทั่วโลก ประเทศไทยมีการนำผึ้งพันธุ์เข้ามาเลี้ยงในภาคเหนือของไทยเพื่อเก็บน้ำผึ้งลำไยโดยชาวใต้หวัน รวมทั้งนำเข้ามาเพื่อการวิจัยมากกว่า 40 ปี ปัจจุบันผึ้งพันธุ์ได้รับการส่งเสริมการเลี้ยงเป็นอาชีพให้เกษตรกรไทยทั่วทุกภาค มีอุตสาหกรรมหลากหลายที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ผึ้ง เช่น ชีผึ้ง นมผึ้ง เกสรผึ้งและโพรโพลิส และน้ำผึ้ง ซึ่งใช้บริโภคภายในและสามารถส่งออกไปต่างประเทศสร้างรายได้ให้กับผู้ประกอบการเลี้ยงผึ้ง ผึ้งพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทยมี 4 ชนิดย่อย คือ 1) ผึ้งพันธุ์อิตาลีเลียน (A. mellifera ligustica Spinola, 1806) ลำตัวสีเหลือง เลี้ยงง่าย ไม่ดุร้าย ให้ผลผลิตน้ำผึ้งสูง นิยมเลี้ยงทั่วโลก มีชื่อเรียกพันธุ์ตามถิ่นที่มีการปรับปรุงพันธุ์ เช่น พันธุ์อเมริกัน พันธุ์ใต้หวัน พันธุ์ญี่ปุ่น พันธุ์ออสเตรเลีย เป็นต้น 2) ผึ้งพันธุ์คาร์นิโอลาน (A. mellifera carnica Pollman, 1879) ลำตัวสีน้ำตาล ผึ้งงานบริเวณท้องมีจุดสีน้ำตาลเข้มหรือน้ำตาลอ่อน เลี้ยงง่าย เพิ่มจำนวนประชากรผึ้งได้เร็วปรับตัวต่อสภาพอากาศได้ดี 3) ผึ้งพันธุ์คอเคเซียน (A. mellifera caucasica Gorbachev, 1916) ลำตัวมีจุดสีน้ำตาลกระจายทั่วด้านบนส่วนหลังบริเวณช่วงท้องปล้องแรกขยับสร้างรัง ขยับออกหาอาหารและดุมากกว่าพันธุ์อื่น 4) ผึ้งพันธุ์ดำ (A. mellifera mellifera Linnaeus, 1758) ลำตัวสีดำ มีจุดเหลืองด้านบนบริเวณช่วงท้องปล้องที่ 2 และ 3 เป็นผึ้งที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศได้ดี มีนิสัยเชิงให้ผลผลิตน้ำผึ้งปานกลาง (Wongsiri & Deowanish, 2012) การศึกษาความหลากหลายและโครงสร้างประชากรผึ้งพันธุ์ในประเทศไทยมีรายงานทางชีวโมเลกุลด้วยการวิเคราะห์ Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) และลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน tRNA<sup>leu</sup>-COII ระบุชนิดย่อยที่มีการเลี้ยง ได้แก่ *A. mellifera ligustica*, *A. mellifera carnica*, *A. mellifera syriaca* (Suppasat *et al.*, 2008) และจากรายงานล่าสุดโดยการวิเคราะห์ยีนไมโทคอนเดรียและไม่โครโซมไทท์แสดงการระบุชนิดย่อย ได้แก่ *A. mellifera ligustica*, *A. mellifera carnica* และ *A. mellifera caucasica* (Rattanawanee *et al.*, 2019)



การใช้เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological markers) เพื่อระบุความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต นิยมใช้เป็นโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาซึ่งเป็นผลมาจากวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต โดยการเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานเชิงปริมาณ โดยใช้หลักและวิธีการวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์และสถิติหลายตัวแปร เรียกว่า วิธีการวัดสัณฐาน (morphometric) ซึ่งสามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงและเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงความแตกต่างของสัณฐานวิทยาภายนอกทางสัณฐานวิทยาได้อย่างชัดเจน (Jearanaiprepame, 2014) ในการศึกษาความผันแปรของสัณฐานวิทยาของผึ้งนิยมใช้โครงสร้างปีก (wing) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญ (key character) ที่เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงและการวิวัฒนาการในแมลง ภายในโครงสร้างปีกมีลักษณะสำคัญในการจัดจำแนก คือ ลักษณะเส้นปีก (wing veins) และเซลล์ภายในปีก (wing cells) ที่เส้นปีกขาดหายไปหรือลดรูปเซลล์ปีกกลาง (Michener, 2007) ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิต หรือการวิเคราะห์รูปทรงทางเรขาคณิต (geometric morphometric) เริ่มในปี 1991 โดย Bookstein ได้คิดค้นวิธีการวิเคราะห์รูปร่างทางเรขาคณิตที่เป็นการแสดงปริมาณร่วมกับการวิเคราะห์รูปทรงทางเรขาคณิต โดยการกำหนดตำแหน่งบ่งชี้ (landmark) แทนการวัดระยะ วิธีการนี้สามารถจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตและจัดกลุ่มประชากรได้ รวมถึงแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้ (Rohlf, 1999; 2002) การประยุกต์ใช้การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตในการศึกษาในสิ่งมีชีวิตอาศัยหลักการทางเรขาคณิตร่วมกับการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรเพื่อวิเคราะห์รูปแบบสัณฐานของสิ่งมีชีวิตที่เน้นวิเคราะห์เฉพาะรูปร่างหรือโครงสร้างที่สำคัญต่อการอธิบายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ เช่น โครงสร้างกระดูกโครงกระดูกในสัตว์เลื้อยคลาน โครงสร้างปีกในแมลง เป็นต้น (Dryden & Mardia, 1998) เนื่องจากการวัดสัณฐานเรขาคณิตเป็นการวิเคราะห์รูปร่างเชิงเรขาคณิตทั้งหมดดังนั้นข้อมูลที่ได้จะไม่ขึ้นหน่วย (dimensionless) ถือเป็นารลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากตำแหน่งการวัด มาตราส่วน หรือการกำหนดทิศทางเมื่อมีการเลื่อนภาพ ปรับขนาด หรือการหมุน จะไม่ส่งผลให้รูปร่างเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Dryden & Mardia, 1998; Zelditch *et al.*, 2004) รายงานวิจัยที่แสดงการประยุกต์ใช้วิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกของประชากรผึ้งพันธุ์เพื่อตรวจสอบบรรพบุรุษสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (lineage) ชนิดย่อย (subspecies) และลูกผสม (hybrid) ในประเทศโปแลนด์ เช่น การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนปีกหน้าจากการกำหนดจุดบ่งชี้ 18 ตำแหน่ง จำแนกชนิดย่อยได้ถูกต้องที่ร้อยละ 84.9 ของ *A. mellifera caucasica*, *A. mellifera carnica* และ *A. mellifera mellifera* ซึ่งมีค่าร้อยละการจำแนกกลุ่มสูงกว่าการใช้วิธีการวัดสัณฐานแบบมาตรฐาน (Tofilski, 2008) รายงานต่อมาใช้การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนปีกหน้าจากการกำหนดจุดบ่งชี้ 19 ตำแหน่งบนจุดตัดเส้นปีกของผึ้งงานตรวจสอบประชากรผึ้งพันธุ์ลูกผสม (hybrid) และลูกผสมกลับ (backcrosses) ระหว่าง *A. mellifera caucasica*, *A. mellifera carnica* และ *A. mellifera mellifera* ข้อมูลสนับสนุนวิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตมีศักยภาพบ่งชี้ระดับการถ่ายทอดลักษณะทางสัณฐานวิทยาและใช้การตรวจสอบการพัฒนาพันธุ์ผึ้งลูกผสมและลูกผสมกลับ (Weęrzynowicz *et al.*, 2019; Weęrzynowicz & Łoś, 2020) นอกจากนี้รายงานการระบุชนิดย่อยของผึ้งพันธุ์แอฟริกัน (Africanize Bee/ABH) โดยการวัดสัณฐานของปีก 2 วิธี คือ การวิเคราะห์พื้นฐานข้อมูล Automatic Bee Identification System (ABIS) และการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิต แสดงการระบุชนิดย่อยของผึ้งพันธุ์กลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C (*A. mellifera ligustica* และ *A. mellifera carnica*) lineage M (*A. mellifera mellifera*) และ lineage A โดยมีความแม่นยำร้อยละ 99 ในการระบุกลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ นอกจากนี้การระบุชนิดย่อยในกลุ่ม lineage C มีความถูกต้องมากกว่าร้อยละ 80 บ่งชี้ว่าการระบุชนิดย่อยด้วยวิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตมีความรวดเร็ว แม่นยำ และค่าใช้จ่ายน้อย



(Francoy *et al.*, 2008; 2009) และรายงานการจัดจำแนกผึ้งพันธุ์กลุ่มสายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage A จำนวน 3 ชนิดย่อย ได้แก่ *A. mellifera intermissa*, *A. mellifera sahariensis* และ *A. mellifera capensis* จากประเทศแอลจีเรีย เปรียบเทียบข้อมูลอ้างอิง *A. mellifera capensis* ที่รวบรวมจากแอฟริกาใต้ โดยใช้วิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกหน้าบางซึ่งถึงการระบุชนิดย่อยถูกต้องที่ร้อยละ 96.7 ส่วนการวิเคราะห์บนปีกหน้าร่วมและปีกหลังบ่งชี้ถึงการระบุชนิดย่อยได้ดีกว่าที่ร้อยละ 99.6 แสดงถึงรูปร่างและขนาดเซนทรอยด์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในประชากรผึ้งทั้ง 3 ชนิดย่อย การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการระบุความแตกต่างของผึ้งพันธุ์ได้ (Barour & Baylac, 2016) นอกจากนี้การศึกษาสัณฐานวิทยาของปีกโดยวิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตเพื่อจำแนกชนิดย่อยของผึ้งพันธุ์ในเขตนิเวศ (habitat) แตกต่างกัน 3 พื้นที่ในประเทศไทย แสดงความแตกต่างและระบุประชากรผึ้งพันธุ์ภายในแต่ละเขตนิเวศ ซึ่งแสดงความสอดคล้องกับการกระจายในแต่ละพื้นที่ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์และบ่งบอกถึงลักษณะทางนิเวศวิทยาได้เช่นกัน (Combey *et al.*, 2018)

การเลี้ยงผึ้งพันธุ์แพร่หลายทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทย ซึ่งมีการเลี้ยงทางการค้าและมีการเคลื่อนย้ายรังและแพ่งกระจายประชากรโดยมนุษย์เป็นสำคัญ อีกทั้งมีการพัฒนาคัดเลือกพันธุ์อย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ผึ้งลักษณะที่ดี ให้ผลผลิตน้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์ผึ้ง ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด ปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งพันธุ์ในประเทศไทยมีการนำเข้านางพญาจากหลายแหล่ง โดยเฉพาะผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้าจากต่างประเทศที่ให้ผลผลิตน้ำผึ้งได้ดี จึงได้รับความสนใจและนำเข้ามาในประเทศไทย มีการผสมพันธุ์และพัฒนาพันธุ์โดยเกษตรกรอย่างต่อเนื่อง (Triyasut, 2020) แต่การตรวจสอบการแปรผัน ความหลากหลายของประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยมีไม่มากนัก มีรายงานข้อมูลการตรวจสอบด้วยเครื่องหมายทางชีวโมเลกุล (Suppasat *et al.*, 2008; Rattanawanee *et al.*, 2019) ซึ่งอาจมีความยุ่งยากและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นการประยุกต์ใช้การวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนปีกหน้าของผึ้งงาน เพื่อเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพและเป็นวิธีการพื้นฐานเพื่อระบุความแตกต่างของประชากรระบุกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการและชนิดย่อยผึ้งพันธุ์ได้ งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการแปรผันของสัณฐานวิทยาปีกหน้าของประชากรผึ้งพันธุ์ที่มีการเลี้ยงและพบการแพร่กระจายรังเลี้ยงในประเทศไทย โดยเปรียบเทียบกับผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้าจากประเทศสวีเดน เพื่อเริ่มต้นการพัฒนาเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา ใช้เป็นเครื่องมือและวิธีการในการระบุความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาภายในปีกหน้าของประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงและแพร่กระจายในประเทศไทยต่อไป

## วิธีดำเนินการวิจัย

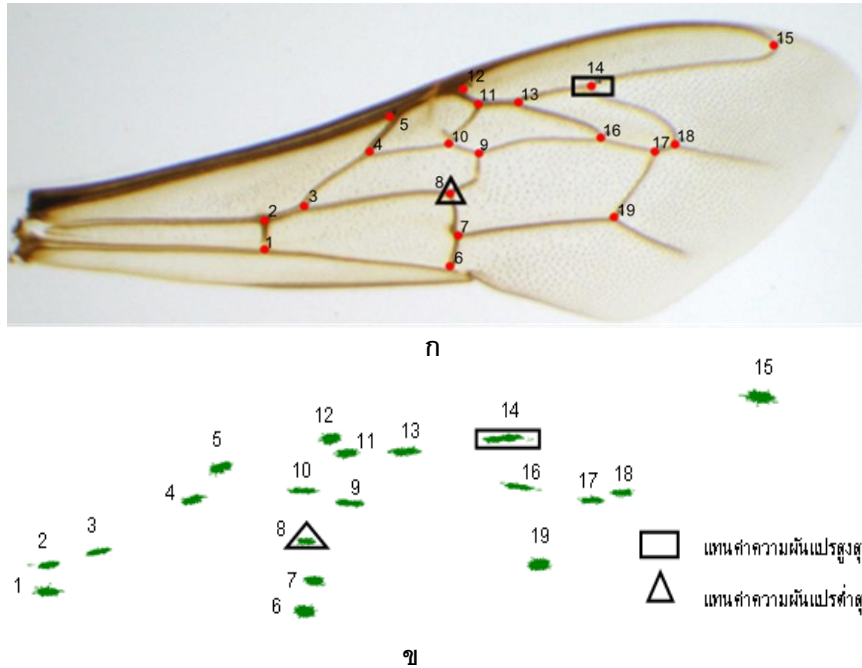
เก็บตัวอย่างผึ้งพันธุ์ตัวเต็มวัยวรรณะผึ้งงานที่เลี้ยงไว้ในกล่องเลี้ยงผึ้ง จำนวน 161 รัง (ตาราง 1) รักษาสภาพตัวอย่างผึ้งด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 การเตรียมตัวอย่างปีกผึ้งจำนวน 1,562 ตัวอย่าง ทำการผ่าตัดปีกหน้าด้านขวา นำปีกมาจัดวางบนสไลด์ ทำการหยดน้ำยารักษาสภาพฮอยเออร์ (Hoyer's solution) ปิดกระจกสไลด์ และอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท ถ่ายภาพปีกผึ้งโดยใช้กล้องถ่ายภาพระบบอัตโนมัติดิจิทัลรุ่น Optikam HDMI-4083 13H เชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ ผ่านโปรแกรม OptikaView ที่กำลังขยาย 10 เท่า ปรับความคมชัดและถ่ายภาพโครงสร้างส่วนปีกเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์การวัดสัณฐาน



**ตารางที่ 1** ข้อมูลตัวอย่างผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) วรรณะผึ้งงาน ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ปี	จังหวัดและแหล่งที่มา (ตำแหน่งที่ตั้งทางภูมิศาสตร์)	การจำแนกกลุ่มประชากรตัวอย่างผึ้งพันธุ์ในการวิเคราะห์		จำนวน รัง	จำนวน ตัวอย่าง (n)
		ข้อมูล (หมายเลข แทน กลุ่มประชากร)	หน่วยงานเลี้ยงผึ้ง/ฟาร์มผึ้ง		
2560	เชียงราย (19.5904N, 99.9678E)	ฟาร์มผึ้งเชียงเคี่ยน (3)	<i>A. mellifera</i> (1)	18	179
	พะเยา (19.0876N, 99.9027E)	ฟาร์มผึ้งปัญญา (5)	<i>A. mellifera</i> (1)	20	199
2563	เชียงราย (19.6099N, 99.7576E)	สวนอะโวคาโด (1)	<i>A. mellifera</i> (1)	5	48
	เชียงราย (19.5409, 99.7580E)	ฟาร์มผึ้งป่าจิว (2)	<i>A. mellifera</i> (1)	20	196
	จันทบุรี (13.2224N, 102.3761E)	ฟาร์มผึ้งปัญญา (4)	<i>A. mellifera</i> (1)	26	256
	อุบลราชธานี (15.2481N, 104.8481E)	มรภ.อุบลราชธานี (6)	<i>A. mellifera</i> (1)	35	350
	ชุมพร (10.4950N, 99.1373E)	ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการ เกษตรด้านแมลงเศรษฐกิจ (7)	<i>A. mellifera</i> (1)	20	199
	อุบลราชธานี (15.2481N, 104.8481E)	มรภ.อุบลราชธานี (8)	<i>A. mellifera</i> hybrid (2)	11	110
	ต่างประเทศ (46.7444N, 7.5533E)	ฝรั่งเศส (9)	<i>A. mellifera ligustica</i> (3)	6	25

หมายเหตุ : <sup>1</sup> *A. mellifera* หมายถึง ผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในฟาร์มในประเทศไทย; *A. mellifera* hybrid หมายถึง ผึ้งพันธุ์ที่เป็นลูกผสมระหว่าง *A. mellifera* จากแหล่งเลี้ยงในจังหวัดอุบลราชธานี และ *A. mellifera ligustica* ที่นำเข้ามาในประเทศไทย ; *A. mellifera ligustica* หมายถึง ผึ้งงานตัวอย่างของผึ้ง Buckfast จากประเทศฝรั่งเศส



ภาพที่ 1 ตำแหน่งบ่งชี้ (Landmark) 19 ตำแหน่งบนจุดตัดเส้นปีกหน้า (ก) เวกเตอร์ความแปรปรวนของตำแหน่งหมายบ่งชี้ (ข)

การวัดสัณฐานทางเรขาคณิต กำหนดตำแหน่งบ่งชี้ (landmark) จำนวน 19 ตำแหน่งบนจุดตัดเส้นปีกหน้าของผึ้งพันธุ์ (ภาพ 1 ก, ตารางที่ 2) โดยใช้โปรแกรม TpsDig version 2.16 (Rohlf, 2010a) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตำแหน่งบ่งชี้ (consensus) (ภาพ 1ก) ทำการวิเคราะห์ relative warp จากการคำนวณรูปร่าง ขนาด และทิศทางของตำแหน่งบ่งชี้ ตรวจสอบการกระจายของตัวอย่างผึ้งพันธุ์จากการวิเคราะห์รูปร่างตำแหน่งบ่งชี้บนจุดตัดเส้นปีกด้วยการวิเคราะห์ส่วนประกอบสำคัญ (Principle Component Analysis : PCA) แสดงการกระจายของตัวอย่างจากจุดศูนย์กลาง (coordinate) บนเป็นแกน X แกน Y โดยการวิเคราะห์จาก partial warp และ relative warp ด้วยโปรแกรม TpsRelw version 1.49 (Rohlf, 2010b)





**ตารางที่ 2** จุดตัดของเส้นปีกที่ใช้กำหนดตำแหน่งบ่งชี้ 19 ตำแหน่ง ค่าความแปรปรวนบนตำแหน่งบ่งชี้จาก 1,562 ตัวอย่าง และค่าผลลัพธ์ความสัมพันธ์ของตำแหน่งบ่งชี้

ตำแหน่งบ่งชี้ (Landmarks)	คำอธิบายจุดตัดบนเส้นปีก	ค่าความแปรปรวน ( $S^2$ ) ของตำแหน่งบ่งชี้	ผลลัพธ์ความสัมพันธ์ของตำแหน่งบ่งชี้ (Relative contribution of landmark)
1	จุดตัดเส้น V และ Cu-a	0.0000301	0.01564
2	จุดตัดเส้น M+Cu และ Cu-a	0.0000202	0.03864
3	จุดตัดเส้น M+Cu, Cu และ M	0.0000256	0.01856
4	จุดตัดเส้น M+RS, M และ 1 <sup>st</sup> abscissa RS	0.0000251	0.02267
5	จุดตัดเส้น R และ 1 <sup>st</sup> abscissa RS	0.0000307	0.02295
6	จุดตัดเส้น V และ Cu2	0.0000309	0.01974
7	จุดตัดเส้น Cu2, Cu และ Cu1	0.0000221	0.06531
8	จุดตัดเส้น Cu และ 1m-cu	0.0000152	0.04639
9	จุดตัดเส้น 1m-cu, M และ M	0.0000317	0.04093
10	จุดตัดเส้น M, M+RS และ 2 <sup>nd</sup> abscissa RS	0.0000289	0.04940
11	จุดตัดเส้น 2 <sup>nd</sup> abscissa RS, r-rs และ RS	0.0000236	0.26001
12	จุดตัดเส้น r-rs และ R	0.0000244	0.12331
13	จุดตัดเส้น RS, 1rs-m และ RS	0.0000348	0.03255
14	จุดตัดเส้น RS, 2rs-m และ RS	0.0000541	0.00839
15	จุดตัดเส้น RS และ R	0.0000471	0.00035
16	จุดตัดเส้น M, 1rs-m และ M	0.0000320	0.02237
17	จุดตัดเส้น 2m-cu และ M	0.0000224	0.13290
18	จุดตัดเส้น 2rs-m และ M	0.0000200	0.07826
19	จุดตัดเส้น 2m-cu, Cu1 และ Cu	0.0000344	0.00161

หมายเหตุ คำอธิบายเส้นปีกแสดงสัญลักษณ์เส้นปีกตามยาวและเส้นปีกตามขวางของผึ้งพันธุ์ อ้างอิงตาม Michener (2007)

การวิเคราะห์ทางสถิติ นำเข้าข้อมูลผลการคำนวณ relative warp จาก TpsRelw นำมาจัดเรียงข้อมูลในโปรแกรม Microsoft excel แล้วนำเข้าข้อมูลในโปรแกรม IBM SPSS version 22.0 ทำการวิเคราะห์การจำแนกกลุ่ม (discrimination analysis) ตรวจสอบแผนภาพแสดงการกระจายของประชากรผึ้งพันธุ์ด้วยระยะเซนทรอยด์ (centroid) จากจุดศูนย์กลาง (coordinate) ของจุดตัดแกน X และ Y ทดสอบค่าประสิทธิภาพการจำแนกกลุ่มและการทำนาย (cross-validation) แสดงผลร้อยละในการจัดจำแนกกลุ่มที่ได้โดยวิเคราะห์การจำแนกตรวจสอบความถูกต้องเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของการวัดสัดส่วนฐานวิทยา การวิเคราะห์ข้อมูลดังนี้

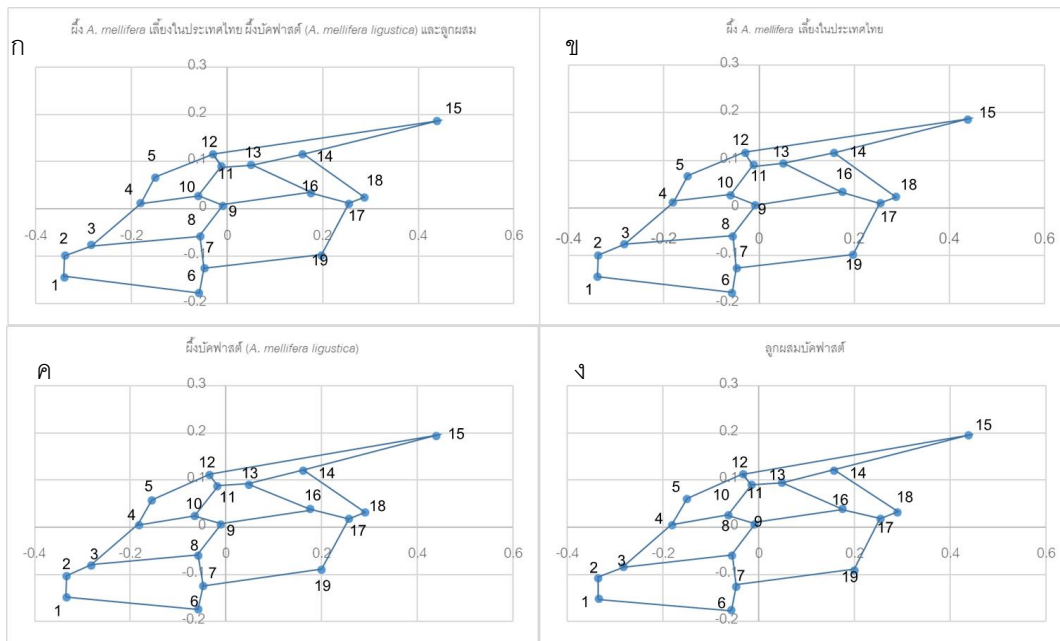
- 1) ระบุความผันแปรของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงลงกล่องในฟาร์มเลี้ยงผึ้งในประเทศไทย (n=1,472) และกลุ่มผึ้งบำบัดทาง การค้าที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและถูกผสม (n=135)
- 2) ความผันแปรของประชากรผึ้งพันธุ์ 9 กลุ่ม ที่เก็บตัวอย่างจากฟาร์มเลี้ยง



แตกต่างกัน หรือแตกต่างเวลาเก็บตัวอย่าง 3) ความผันแปรของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่างในปี 2560 (n=199) และปี 2563 (n=256) กลุ่มผึ้งปักฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ (n=25) และลูกผสม (n=110) (ตารางที่ 1)

### ผลการวิจัย

ผลแสดงการแปรผันของเวกเตอร์จากค่าความแปรปรวนบนตำแหน่งบ่งชี้ 19 ตำแหน่ง แสดงค่าความแปรปรวนสูงสุดที่ตำแหน่งบ่งชี้ 14 บนเส้นปีก RS ตัดกับ 2rs-m รองลงมาตำแหน่ง 15 อยู่ที่ปลายเส้นปีก Marginal cell ที่จุดตัดเส้น RS ตัดกับเส้น R และแสดงค่าความแปรปรวนต่ำสุดตำแหน่ง 8 อยู่ที่บนเส้นปีก 1m-cu ตัดกับ Cu (ภาพ 1ข, ตารางที่ 2)



**ภาพที่ 2** กราฟแสดงความสัมพันธ์ของรูปร่างเซลล์ปีก consensus configuration จากตำแหน่งบ่งชี้ 19 ตำแหน่ง ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่ศึกษาทั้งหมด (n=1,562) (ก) กลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (n=1,427) (ข) กลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ปักฟาสต์ (*A. mellifera ligustica*) (n=25) (ค) และกลุ่มผึ้งพันธุ์ลูกผสมปักฟาสต์ (n=110) (ง)

จากค่าผลลัพธ์ความสัมพันธ์ของตำแหน่งบ่งชี้ทั้ง 19 ตำแหน่ง พบว่า ตำแหน่งบ่งชี้ 11 ที่จุดตัดเส้น 2<sup>nd</sup> abscissa RS, r-rs และ RS มีค่าสูงสุด รองลงมาที่ตำแหน่งบ่งชี้ 17 ที่จุดตัดเส้น 2m-cu และ M และ ตำแหน่งบ่งชี้ 12 ที่จุดตัดเส้น r-rs และ R ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งตำแหน่งบ่งชี้ทั้ง 3 ตำแหน่ง มีผลต่อการแสดงรูปร่างของเซลล์ปีก (wing cell) จากจุดตัดเส้นปีกที่ได้ กำหนดเป็นตำแหน่งบ่งชี้ โดยความแปรผันระหว่างรูปร่างเซลล์ปีกจากผลของ consensus configuration บนตำแหน่งบ่งชี้ ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่ศึกษาทั้งหมด (n=1,562) กลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (n=1,426) กลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์



บึ้งฟาสต์ (*A. mellifera ligustica*) (n=25) และกลุ่มผึ้งพันธุ์ลูกผสมบึ้งฟาสต์ (n=110) (ภาพที่ 2) ซึ่งรูปร่างเซลล์ปีกที่พบความแปรผันของรูปร่างของเซลล์ปีก 2<sup>nd</sup> medial cell ที่ตำแหน่งบั้งซี่ที่ 7 และ 19 และตำแหน่งบั้งซี่ที่ปลายสุดของเซลล์ปีก marginal cell ที่ตำแหน่งบั้งซี่ 15 ระหว่างกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ที่พบในประเทศไทย และผึ้งบึ้งฟาสต์ (*A. mellifera ligustica*) มีความแปรผันของรูปร่างเซลล์ปีก 2<sup>nd</sup> medial cell และตำแหน่งปลายของ marginal cell (ภาพที่ 2ข และ 2ค) ส่วนผึ้งพันธุ์บึ้งฟาสต์ลูกผสมมีรูปร่างเซลล์ปีกทั้งสองเช่นเดียวกับ ผึ้งบึ้งฟาสต์ (*A. mellifera ligustica*) (ภาพที่ 2ค และ 2ง)

### ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ relative warps และค่าสัมประสิทธิ์ของการจำแนกกลุ่มผึ้งพันธุ์

Relative warp (RW)	ผลของการวิเคราะห์ relative warp		ผลการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มและค่าสัมประสิทธิ์ฟังก์ชันที่ใช้ในการจำแนกกลุ่ม				
	Singular values (SV)	% Cumulative	Canonical function coefficients	Discrimination function coefficients	Classification	Function	Coefficients
			Function 1	Function 2	<i>A. mellifera</i>	<i>A. mellifera</i> hybrid	<i>A. mellifera ligustica</i>
X2	0.28164	35.32	-39.849	56.888	-8.389	106.317	11.208
X3	0.23342	49.73	43.563	179.117	6.630	8.854	-418.262
X5	0.19809	70.27	68.547	74.499	12.637	-93.523	-309.256
Y5	0.18280	74.14	-790	224.313	-2.495	117.815	-375.277
Y6	0.16443	80.72	-75.399	54.154	-15.342	173.407	111.164
X7	0.15123	83.37	-108.655	-1.780	-21.233	208.556	294.532
Y7	0.13447	85.47	278.113	91.889	53.419	-488.558	-900.832
X8	0.11789	87.08	-85.061	29.461	-16.966	179.242	178.642
X9	0.11582	90.21	-40.642	28.617	-8.249	93.189	60.900
Y9	0.11438	91.73	-92.258	-12.861	-17.933	171.175	269.156
X10	0.10090	92.91	45.526	-92.832	9.872	-135.898	34.034
X14	0.05956	98.13	-61.515	82.099	-12.897	161.151	26.917
Y14	0.05665	98.50	107.501	-83.147	21.893	-250.359	-148.549
Y15	0.05244	99.15	106.525	7.667	20.749	-201.402	-298.725
X16	0.05048	99.44	-48.392	-29.005	-9.165	78.257	178.641
Y16	0.04163	99.64	-5.593	-111.685	.080	-47.109	202.922
UniX	0.03983	99.83	49.884	55.151	9.181	-67.581	-226.636
UniY	0.03854	100.00	56.629	-37.073	11.462	-128.395	-89.568



ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบสำคัญ (PCA) ของ relative warp จากการกำหนดตำแหน่งบ่งชี้บนโครงสร้างปีกหน้า 19 ตำแหน่ง แสดงค่า singular values (SV) และ ค่า % Cumulative ของ relative warp จำนวน 34 warp ซึ่งผลการวิเคราะห์การจำแนกกลุ่มแสดงให้เห็นว่ามีจำนวน 18 warps ที่ส่งผลต่อการสมการจำแนกกลุ่มระหว่างกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (*A. mellifera*) กลุ่มผึ้งบักฟาสต์ทางการค้า (*A. mellifera ligustica*) และลูกผสมบักฟาสต์ โดยพบว่าผลของ partial warp แสดงผลการกระจายของตัวอย่างผึ้งพันธุ์บนแกน X และ Y ครั้งนี้มีความเหมาะสมต่อการจำแนกกลุ่มดังแสดงไว้ใน warp UniX และ UniY (ตารางที่ 3) ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบสำคัญแสดงการกระจายของประชากรตัวอย่างผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) และผึ้งบักฟาสต์ (*A. mellifera ligustica*) จากจุดศูนย์กลางบนแกน X และแกน Y ด้วยผลการวิเคราะห์ relative warp แสดงผลการกระจายของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 161 รัง จำนวนประชากรผึ้งพันธุ์ 1,562 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างที่ 410 จากมหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี และตัวอย่างที่ 1,431 จากผึ้งบักฟาสต์ที่นำเข้าจากต่างประเทศกระจายแยกออกจากกลุ่มตัวอย่าง และมีจำนวนตัวอย่าง 14 ตัวอย่าง ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของโครงสร้างเส้นปีก จึงไม่ได้นำเข้าในการวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม

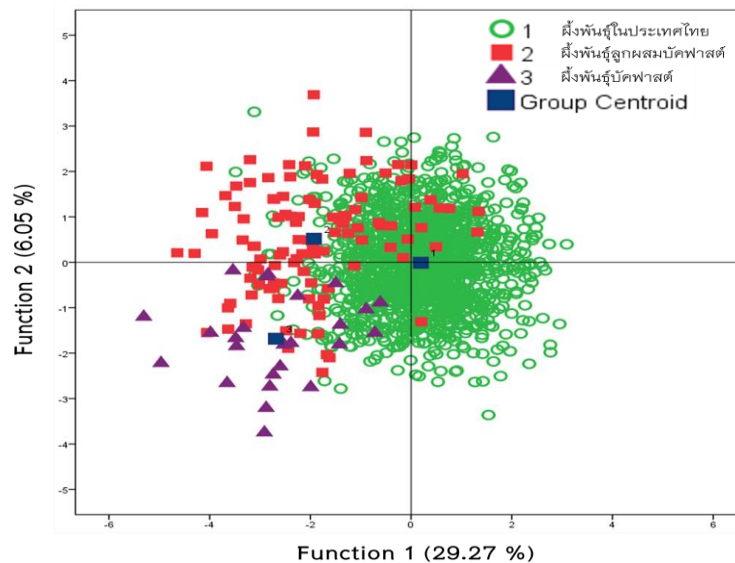
จากผลการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มตรวจสอบการแปรผันจากการวัดสัดส่วนแบบเรขาคณิตด้วยการตรวจสอบระยะเซนทรอยด์ (centroids size) ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงลงในฟาร์มเลี้ยงผึ้งในประเทศไทย (*A. mellifera*, n=1,427) พบว่ามีค่าเฉลี่ยระยะเซนทรอยด์น้อยที่สุด รองลงมาคือกลุ่มผึ้งพันธุ์ลูกผสมบักฟาสต์ (*A. mellifera* hybrid, n=110) และกลุ่มผึ้งพันธุ์บักฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ (*A. mellifera ligustica*, n=25) มีระยะมากที่สุด โดยผลของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ของค่าเฉลี่ยระยะเซนทรอยด์ของทั้ง 3 กลุ่มประชากรนี้ (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 4** ค่าเฉลี่ยระยะเซนทรอยด์ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่ได้จากการวิเคราะห์การจำแนกกลุ่มร่วมกับการวิเคราะห์ Cross-validation

ปี	หน่วยงานเลี้ยงผึ้ง/ฟาร์มผึ้ง	ค่าเฉลี่ยระยะ centroid (Mean±SE)	ชนิดและชนิดย่อยผึ้งพันธุ์	ค่าเฉลี่ยระยะ centroid (Mean±SE)
2560	ฟาร์มผึ้งเชียงใหม่ n=179, (3)	38.19±0.84 <sup>c</sup>	<i>A. mellifera</i> n=1,427, (1)	34.51±0.26
	ฟาร์มผึ้งปัญญา (5)	35.78±0.82 <sup>b</sup>		
2563	สวนอะโวคาโด n=28, (1)	33.90±1.46 <sup>ab</sup>		
	ฟาร์มผึ้งป่าจิว n=196, (2)	30.55±0.61 <sup>a</sup>		
	ฟาร์มผึ้งปัญญา n=256, (4)	33.25±0.56 <sup>ab</sup>		
	มรภ.อุบลราชธานี n=350, (6)	30.66±0.16 <sup>a</sup>		
	ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านแมลงเศรษฐกิจ n=199, (7)	34.21± 0.64 <sup>b</sup>		
มรภ.อุบลราชธานี n=110, (8)	36.29±0.91 <sup>b</sup>	<i>A. mellifera</i> hybrid n=110, (2)	36.15±0.91	
สวีตเซอร์แลนด์ n=25, (9)	39.42±2.27 <sup>c</sup>	<i>A. mellifera ligustica</i> n=25, (3)	38.17±2.23	

หมายเหตุ อักษร <sup>a b c</sup> แสดงนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$  จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี ANOVA

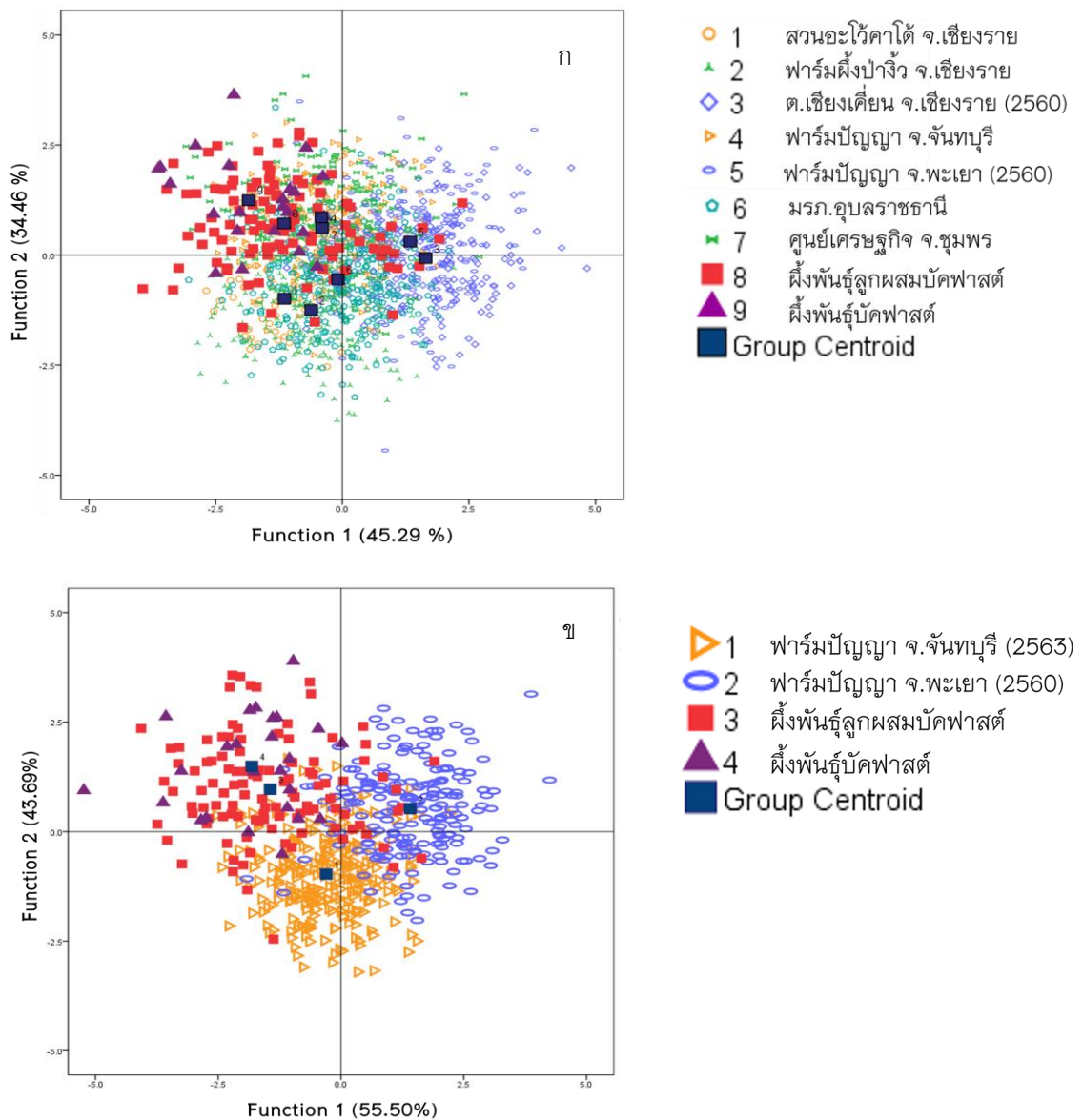
ผลการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มที่ทำการทดสอบผลของการจำแนกกลุ่มถูกต้องด้วยการวิเคราะห์ cross-validation แสดงค่าร้อยละการจำแนกกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (*A. mellifera*) ผึ้งพันธุ์ลูกผสมบัคฟาสต์ (*A. mellifera* hybrid) และผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้า (*A. mellifera ligustica*) มีการจำแนกกลุ่มถูกต้องที่ร้อยละ 94.20 ซึ่งผลการกระจายของตัวอย่างผึ้งพันธุ์ที่แบ่งเป็น 3 กลุ่มชนิดหรือชนิดย่อยนี้ มีการกระจายของตัวอย่างจากจุดศูนย์กลาง (coordinate) จากค่าของ canonical function บนแกน X มีค่าร้อยละ 29.27 และ Y มีค่าร้อยละ 6.05 ผลของการกระจายของประชากรผึ้งพันธุ์ในประเทศไทยเข้าใกล้จุดศูนย์กลางเกือบทั้งหมด แต่อาจพบประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยกระจายเข้าทับซ้อนกลุ่มประชากรผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้าและกลุ่มประชากรลูกผสมบัคฟาสต์ที่มีจุดเซนทรอยด์กระจายทางด้านลบของจุดศูนย์กลาง โดยพบว่าจำนวนประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในไทยและผึ้งบัคฟาสต์ลูกผสมมีจำนวนประชากรที่กระจายซ้อนทับกันมากกว่าประชากรผึ้งบัคฟาสต์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (ภาพ 3)



**ภาพที่ 3** แผนภาพการกระจายจากศูนย์กลางของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในไทย (*A. mellifera*) ผึ้งพันธุ์ลูกผสมบัคฟาสต์ (*A. mellifera* hybrid) และผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้า (*A. mellifera ligustica*)

ผลการวัดสัดส่วนแบบเรขาคณิตจากการตรวจสอบการแปรผันของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ 9 กลุ่ม ที่เก็บตัวอย่างจากฟาร์มเลี้ยงผึ้งที่แตกต่างกัน หรือแตกต่างกันเวลาในการเก็บตัวอย่าง พบว่าระยะเซนทรอยด์ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เก็บตัวอย่างในปี 2560 กระจายทางด้านบวก ส่วนประชากรผึ้งพันธุ์ที่เก็บตัวอย่างในปี 2563 จุดเซนทรอยด์กระจายจากจุดศูนย์กลางไปทางด้านลบ โดยจุดเซนทรอยด์ที่ 6 กลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากมหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ก่อนนำนางพญาผึ้งบัคฟาสต์เข้ามาผสมพันธุ์ พบการกระจายใกล้จุดศูนย์กลางและกระจายใกล้กับจุดเซนทรอยด์ที่ 1 และ 2 ผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งในจังหวัดเชียงรายทั้ง 2 ฟาร์ม รวมทั้งจุดเซนทรอยด์ที่ 4 ฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่างในปี 2563 ส่วนผึ้งพันธุ์จากศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตร ด้านแมลงเศรษฐกิจจังหวัดชุมพร ในจุดเซนทรอยด์ที่ 7 มีกระจายแยกจากทั้งสามกลุ่มข้างต้น แต่

กระจายใกล้เคียงกับประชากรผึ้งพันธุ์ที่เก็บตัวอย่างจากฟาร์มผึ้งปัญญาที่ย้ายไปเลี้ยงยังจังหวัดจันทบุรี ในจุดเซนทรอยด์ที่ 4 เช่นกัน ซึ่งทั้งสองกลุ่มประชากรนี้มีการกระจายเข้าใกล้กลุ่มประชากรผึ้งบัคฟาสต์ลูกผสมจากมหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ในจุดเซนทรอยด์ที่ 8 และยังมีการกระจายใกล้เคียงจุดเซนทรอยด์ที่ 9 ในกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (ภาพ 4 ก) สอดคล้องกับผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระยะเซนทรอยด์ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่ทั้ง 9 กลุ่มข้างต้น (ตารางที่ 4) และผลการวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม ทำการทดสอบการจำแนกกลุ่มถูกต้องด้วยการวิเคราะห์ cross-validation แสดงค่าร้อยละการจำแนกกลุ่มของประชากรจาก 9 กลุ่ม แสดงค่าร้อยละการจำแนกกลุ่มถูกต้องมีค่าร้อยละ 58.80



ภาพที่ 4 แผนภาพการกระจายจากจุดศูนย์กลางของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ 9 กลุ่ม (ก) และกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่างในปี 2560 และ 2563 กลุ่มผึ้งบัคฟาสต์และลูกผสม (ข)



นอกจากนี้การแสดงผลจากแผนภาพการกระจายจากจุดศูนย์กลางของการผันแปรกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในปี 2560 (n=199) ที่จังหวัดพะเยา และในปี 2563 (n=256) ที่จังหวัดจันทบุรี เปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (n=25) และลูกผสมบัคฟาสต์ (n=110) พบว่าค่าเฉลี่ยระยะเซนทรอยด์ของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่างในปี 2560 มีค่าเฉลี่ยระยะเซนทรอยด์ใกล้เคียงกับผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้า (*A. mellifera ligustica*) และลูกผสมบัคฟาสต์ (ตารางที่ 4) สอดคล้องกับแผนภาพการกระจายจากจุดศูนย์กลางบนแกน X และ Y ที่พบการกระจายของประชากรผึ้งพันธุ์จากจุดเซนทรอยด์ 2 กลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาในปี 2560 ที่จังหวัดพะเยา ที่กระจายไปทางบวก และกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาในปี 2563 จากจังหวัดจันทบุรี จุดเซนทรอยด์ที่ 1 กระจายเข้าใกล้จุดศูนย์กลางไปทางลบ โดยจุดเซนทรอยด์ทั้งสองจุดมีการกระจายของประชากรออกจากกัน ซึ่งมีระยะเทียบเท่ากับจุดเซนทรอยด์ที่ 3 กลุ่มลูกผสมบัคฟาสต์ และจุดเซนทรอยด์ที่ 4 กลุ่มผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้า ที่มีระยะทางของเซนทรอยด์ห่างจากประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญา แต่มีระยะใกล้เคียงกับผึ้งลูกผสมบัคฟาสต์จากมหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานีมากที่สุด (ภาพ 4ข)

## วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดสัดส่วนแบบเรขาคณิตในครั้งนี้ ระบุกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (*A. mellifera*) และผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ทางการค้า (*A. mellifera ligustica*) ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศได้ โดยแสดงการจำแนกกลุ่มถูกต้องร้อยละ 94.20 บ่งชี้ความแตกต่างของประชากรผึ้งพันธุ์ที่นำเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยและผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ที่นำเข้ามาเพื่อการพัฒนาขยายพันธุ์ในครั้งนี้ ซึ่งใช้ในการระบุกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (lineage) หรือระดับชนิดย่อย (subspecies) ของประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในปัจจุบัน ข้อมูลนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่สนับสนุนการประยุกต์วิธีการวัดสัดส่วนทางเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกหน้าในการระบุชนิดย่อยของผึ้งพันธุ์กลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C (*A. mellifera ligustica* และ *A. mellifera carnica*) lineage M (*A. mellifera mellifera*) และ lineage A โดยมีความแม่นยำของการระบุที่ร้อยละ 99 ในการระบุกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ส่วนการระบุชนิดย่อยผึ้งพันธุ์ในกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C มีความถูกต้องมากกว่าร้อยละ 80 (Francoy *et al.*, 2008) มากกว่านี้รายงานการจัดจำแนกผึ้งพันธุ์กลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage A จำนวน 3 ชนิดย่อย ได้แก่ *A. mellifera intermissa*, *A. mellifera sahariensis* และ *A. mellifera capensis* จากประเทศแอลจีเรีย เปรียบเทียบข้อมูลอ้างอิง *A. mellifera capensis* ที่รวบรวมจากแอฟริกาใต้ แสดงค่าร้อยละความถูกต้องการระบุชนิดย่อยที่ร้อยละ 96.7 (Barour & Baylac, 2016) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการวัดสัดส่วนแบบเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกหน้า แสดงถึงการแปรผันของประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มเลี้ยงผึ้ง ผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ ลูกผสม และผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้ามาเพื่อการพัฒนาคัดเลือกพันธุ์ในประเทศไทยได้ ซึ่งจะเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบการแปรผันของลักษณะในประชากรผึ้งพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงและขยายพันธุ์อย่างต่อเนื่องได้ จากการตรวจสอบการแปรผันของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ 9 กลุ่ม ที่เก็บตัวอย่างจากฟาร์มเลี้ยงแตกต่างกัน หรือแตกต่างกันเวลาเก็บตัวอย่าง แสดงค่าร้อยละการจำแนกกลุ่มถูกต้องเพียงร้อยละ 58.80 ซึ่งบ่งชี้ถึงการปะปนกันของชนิดย่อยผึ้งพันธุ์ที่ทำการเลี้ยงในฟาร์มเลี้ยงผึ้งของประเทศไทย และแสดงให้เห็นว่าฟาร์มเลี้ยงผึ้งในประเทศไทยมีการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ปะปนกันหลายชนิดย่อยที่ระบุ





ไว้ในกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C (*A. mellifera carnica*, *A. mellifera caucasica*, *A. mellifera ligustica*) รวมทั้งอาจพบชนิดย่อย *A. mellifera syriaca* กลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage O (Suppasat *et al.*, 2008; Rattanawanee *et al.*, 2019) นอกจากนี้จากผลการตรวจสอบการแปรผันของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในปี 2560 จากพื้นที่จังหวัดพะเยา และในปี 2563 จากการย้ายพื้นที่เลี้ยงไปยังจังหวัดจันทบุรี แสดงค่าร้อยละการจำแนกกลุ่มถูกต้องถึงร้อยละ 80.00 ซึ่งจะบ่งชี้ความแตกต่างของลักษณะปีกหน้าของผึ้งพันธุ์ใน 2 กลุ่มประชากร ซึ่งมีแนวโน้มแสดงความแตกต่างในระดับชนิดย่อยที่อยู่ในกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C (Francoy *et al.*, 2008) ซึ่งเป็นผลจากการปรับปรุงคัดเลือกพันธุ์ของผึ้งพันธุ์โดยเกษตรกรเจ้าของฟาร์มเลี้ยงผึ้งดังกล่าว โดยเกษตรกรอาจนำผึ้งนางพญาบัคฟาสต์ทางการค้าจากแหล่งขายทั้งในและต่างประเทศ รวมทั้งการแลกเปลี่ยนผึ้งนางพญาระหว่างเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งที่มีการคัดเลือกผึ้งพันธุ์ ขยายรัง และเพาะเลี้ยงผึ้งนางพญาที่มีคุณภาพอย่างต่อเนื่อง ซึ่งส่งผลกระทบต่อ การแปรผันของกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์จากฟาร์มผึ้งปัญญาที่เก็บตัวอย่างในปี 2560 และ 2563 จากรายก่อนหน้านี้นี้แสดงข้อมูลการกระจายของประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยโดยการใช้อารายงานรูปแบบพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ แสดงการระบุกลุ่มสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C (ThaiA) โดยมีการแพร่กระจายประชากรร้อยละ 82 โดยระบุชนิดย่อย *A. mellifera ligustica* (ThaiA1) มีการแพร่กระจายประชากรร้อยละ 22) และ *A. mellifera carnica* (ThaiA2) มีการแพร่กระจายประชากรร้อยละ 60) ของประชากรที่ได้ทำการศึกษา นอกจากนี้พบรูปแบบพันธุกรรม ThaiB มีการแพร่กระจายประชากรร้อยละ 18 ซึ่งระบุชนิดย่อย *A. mellifera syriaca* (Suppasat *et al.*, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานโครงสร้างประชากรผึ้งพันธุ์ของประเทศไทยโดยใช้พันธุกรรมของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอและไมโครแซทไลต์ที่จะพบการแพร่กระจายของผึ้งพันธุ์กลุ่มสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ lineage C ร้อยละ 80 เช่นกัน ซึ่งเพิ่มเติมชนิดย่อย *A. mellifera caucasica* (Rattanawanee *et al.*, 2019) ปัจจุบันการตรวจสอบการแปรผันของประชากรผึ้งพันธุ์ด้วยวิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกหน้า เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างในระดับชนิดย่อยของผึ้งพันธุ์ได้ โดยมีศักยภาพเทียบเท่าการตรวจสอบในระดับพันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายทอดจากทางแม่ด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (Tofliski, 2008) ดังนั้นหน่วยงานที่รับผิดชอบด้านการเลี้ยงผึ้งในประเทศไทยไปแลนด ได้ทำการตรวจสอบประชากรผึ้งพันธุ์ระหว่างชนิดย่อย *A. mellifera caucasica*, *A. mellifera carnica* และ *A. mellifera mellifera* ลูกผสม (hybrid) และลูกผสมกลับ (backcrosses) โดยการเปรียบเทียบลักษณะที่ได้รับการถ่ายทอดบนปีกหน้า ซึ่งให้ข้อมูลสนับสนุนศักยภาพของวิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตด้วยการกำหนดตำแหน่งบ่งชี้ 19 ตำแหน่ง แสดงให้เห็นถึงระดับการเปลี่ยนแปลงในการถ่ายทอดลักษณะทางสัณฐานวิทยาปีกหน้า โดยแนะนำให้ใช้วิธีการวัดสัณฐานแบบเรขาคณิตในการตรวจสอบการพัฒนาพันธุ์ผึ้งลูกผสมและลูกผสมกลับของผึ้งพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Węgrzynowicz *et al.*, 2019; Węgrzynowicz & Łoś, 2020) ในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าขนาดสัณฐานวิทยาปีกหน้าของผึ้งพันธุ์บัคฟาสต์ทางการค้าที่นำเข้ามีขนาดใหญ่กว่าผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย จึงส่งผลแสดงให้เกิดความแตกต่างในตำแหน่งบ่งชี้บนจุดตัดเส้นปีกการศึกษาที่สนับสนุนให้ประยุกต์ใช้การวัดสัณฐานเรขาคณิตด้วยการกำหนดตำแหน่งบ่งชี้ 19 ตำแหน่ง บนโครงสร้างปีกหน้า มีประสิทธิภาพในการใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยได้





## สรุปผลการวิจัย

การวัดสัดส่วนวิทยาแบบเรขาคณิตบนโครงสร้างปีกหน้าผึ้งพันธุ์มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบการแปรผันและระบุกลุ่มประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย (*Apis mellifera*) และผึ้งบัคฟาสต์ทางการค้า (*A. mellifera ligustica*) ที่มาจากต่างประเทศได้ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าขนาดสัดส่วนวิทยาปีกหน้าของผึ้งบัคฟาสต์มีขนาดใหญ่กว่าผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย ซึ่งมีความแตกต่างในตำแหน่งบ่งชี้บนจุดตัดเส้นปีกหน้าของเซลล์ปีก 2<sup>nd</sup> Medial cell ที่ตำแหน่ง 14 บนจุดตัดเส้นปีก RS ตัดกับ 2rs-m ตำแหน่ง 17 จุดตัดบนเส้นปีก 2m-cu ตัดกับ M และตำแหน่ง 17 จุดตัดของเส้นปีก Cu Cu1 Cu2 และที่ตำแหน่ง 15 ที่ปลายของเซลล์ปีก Marginal cell ดังนั้นการศึกษานี้สนับสนุนให้ประยุกต์ใช้การกำหนดตำแหน่งบ่งชี้ 19 ตำแหน่งบนโครงสร้างปีกหน้าในการตรวจสอบการแปรผันของประชากรผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย การตรวจสอบผึ้งลูกผสมของผึ้งพันธุ์จากการพัฒนาคัดเลือกพันธุ์ของผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย นอกจากนี้ยังให้ข้อสรุปเกี่ยวกับวิธีการตรวจสอบและติดตามการแปรผันของผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทย โดยการใช้โครงสร้างปีกหน้าเพียงโครงสร้างเดียว ร่วมกับการประยุกต์ใช้วิธีการวัดสัดส่วนแบบเรขาคณิต เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการระบุกลุ่มสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ชนิดย่อย ระดับการถ่ายทอดลักษณะทางสัดส่วนวิทยาปีกของผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยได้ ทั้งนี้อาจเพิ่มความแม่นยำในการระบุกลุ่มได้ดีขึ้นจำเป็นต้องอาศัยวิธีการวัดสัดส่วนแบบมาตรฐานร่วมด้วย รวมทั้งการตรวจสอบการถ่ายทอดพันธุกรรมจากฝ่ายแม่ จะสามารถแสดงข้อมูลการแปรผันของประชากรผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในประเทศไทยในปัจจุบันได้อย่างแม่นยำขึ้น จากข้อสรุปของการศึกษาแนะนำให้หน่วยงานภาครัฐที่รับผิดชอบและกรมปศุสัตว์ ให้มีการตรวจสอบติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรผึ้งพันธุ์ การนำเข้านางพญาผึ้งพันธุ์จากต่างประเทศของเกษตรกรที่ทำฟาร์มเลี้ยงผึ้งทั่วประเทศรวมทั้งการนำเข้าโดยหน่วยงานภาครัฐอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้การเลี้ยงผึ้งพันธุ์ในประเทศไทยมีความยั่งยืนและไม่ส่งผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพของแมลงผสมเกสรและผึ้งพื้นถิ่นตามธรรมชาติ

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งจังหวัดเชียงราย ฟาร์มผึ้งปัญญา ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านแมลงเศรษฐกิจ จังหวัดชุมพร นางสาวชัชภัทร มุจนสินธุ์ และดร.ประพันธ์ ไตรสุทธิ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างผึ้งพันธุ์ รวมทั้งข้อมูลการศึกษาอิสระปีการศึกษา 2561 ของ สุנית เบ็งสุธรรม และปภาวรินทร์ วงศ์ปามาใช้ในการทำการศึกษานี้ และขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก.) ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยเลขที่ CRP6305031460 รวมทั้งคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

## เอกสารอ้างอิง

Barour, C., & Baylac, M. (2016). Geometric morphometric discrimination of the three African honeybee subspecies *Apis mellifera intermissa*, *A. mellifera sahariensis* and *A. mellifera capensis* (Hymenoptera, Apidae): fore wing and hind wing landmark configurations. *Journal of Hymenoptera*, 52, 61-70.



- Combey, R., Quandahor, P., & Mensah, B.A. (2018). Geometric morphometrics captures possible segregation occurring within subspecies *Apis mellifera adansonii* in three agro ecological zones. *Annals of Biological Research*, 9(3), 31-45.
- Dryden, I.L., & Mardia, K.V. (1998). *Statistical Shapen Analysis*. England: John Wiley & Sons.
- Francoy, T.M., Wittmann, D., Drauschke, M., Müller, S., Steinhage, V., Bezerra-Laure, M.A.F., de Jong, D., & Gonçalves, L.S. (2008). Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39, 488–494.
- Francoy, T.M., Wittmann, D., Steinhage, V., Drauschke, M., Müller, S., Cunha, D.R., Nascimento, A.M., Figueiredo, V.L.C., Simões, Z.L.P., De Jong, D., Arias, M.C., & Gonçalves, L.S. (2009). Morphometric and genetic changes in a population of *Apis mellifera* after 34 years of Africanization. *Genetic Molecular Research*, 8(2), 709-717.
- Hepburn, H.R., & Radloff, S.E. (1998). *Honeybees of Africa*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Ilyasov, R.A., Lee, M., Takahashi, J., Kwon, H.W., & Nikolenko, A.G. (2020). A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 3615–3621.
- Kandemir, L., Ozkan, A., & Fuchs, S. (2011). Reevaluation of honey bee (*Apis mellifera*) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. *Apidologie*, 42(5), 618-627.
- Jearranai-preame, P. (2014). Morphometrics in Zoology : Basic of Morphometrics. *KKU Science Journal* 42(3), 485-498. (in Thai)
- Michner, C.D. (2007). *The Bees of the World*. Baltimore: John Hopkins University Press.
- Rattanawanee, A., Duangphakdee, O., Chanchao, C., Teerapakpinyo, C., Warrit, N., Wongsiri S., & Oldroyd, B.P. (2019). Genetic characterization of exotic commercial honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations in Thailand reveals high genetic diversity and low population substructure. *Journal of Economic Entomology*, 133(1), 34-42.



- Rohlf, F.J. (1999). Shape Statistics Procrustes Superimposition and Tangent Spaces. *Journal of Classification*, 16, 197-223.
- Rohlf, F.J. (2002). *Geometric morphometrics and phylogeny*. In: MacLeod, N. & Forey, P.L. (eds), Morphology, shape and phylogeny. London: Taylor and Francis, 175-193.
- Rohlf, F.J. (2010a). *TpsDig. Version 2.16*. Ecology and Evolution. New York, USA: State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F.J. (2010b). *TpsRelw. Version 1.49*. Ecology and Evolution. New York, USA: State University of New York at Stony Brook.
- Ruttner, F. (1988). *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Sheppard, W.S., & Arias, M.C. (2005). Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera : Apinae : Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetic*, 37(1), 25-35.
- Suppasat, T., Smith, D.R., Deowanish, S., & Wongsiri, S. (2008). Matrilineal origins of *Apis mellifera* in Thailand. *Apidologie*, 38, 323-334.
- Tofilski, A. (2008). Using geometric and standard morphometry to discriminant three honeybee subspecies. *Apidologie*, 31, 249-263.
- Triyasut, P. (2020). *Developing good quality honey from Buckfast bee species to raise the level of beekeepers in Thailand*. Retrieved November 8, 2020, from [https://rae.mju.ac.th/goverment/2013\\_0325103535\\_2013\\_rae/Doc\\_25630\\_803141125\\_666087.pdf](https://rae.mju.ac.th/goverment/2013_0325103535_2013_rae/Doc_25630_803141125_666087.pdf)
- Węgrzynowicz, P., Gerula, D., Tofilski, A., Panasiuk, B., & Bieńkowska, M. 2019. Maternal inheritance in hybrids of three honey bee subspecies. *Journal of Apicultural Science*, 63 (1). 131-138.



Węgrzynowicz, P., & Łoś, A., (2020). Dataset of wing venation measurements for *Apis mellifera caucasica*, *A. mellifera carnica* and *A. mellifera mellifera* (Hymenoptera: Apidae), their hybrids and backcrosses. *Biodiversity Data Journal*, 8(2), 1-6.

Wongsiri, S., & Deowanish, S. (2012). *Biology of Bees: 3<sup>rd</sup>*, Bangkok: Chulalongkorn University Press. (in Thai)

Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., & Fink, W.L. (2004). *Geometric morphometrics for Biologist : A primer*. London: Elsevier Academic Press.