



บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

วัสดุอุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง
 - ผึ้งหลวง *Apis dorsata*
 - ผึ้งโพรง *A. cerana*
 - ผึ้งมีม *A. florea*
 - ผึ้งม้าน *A. andreniformis*

2. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในภาคสนาม
 - 2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาบริเวณที่สร้างรัง และตำแหน่งที่สร้างรัง
 - 2.1.1 เวอร์เนีย คัลลิเปอร์ และสายวัด
 - 2.1.2 เข็มทิศ
 - 2.1.3 กล้องส่องทางไกล
 - 2.1.4 กล้องถ่ายภาพ และฟิล์มถ่ายภาพ
 - 2.1.5 GPS (Global Positioning System)

 - 2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาช่วงเวลาที่ยังหาอาหารของ ผึ้งมีม และผึ้งม้าน
 - 2.2.1 เทอร์โมไฮโกรมิเตอร์
 - 2.2.2 นาฬิกาจับเวลา

2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง ผึ้ง

- 2.3.1 สวิงจับแมลง
- 2.3.2 สเปรย์ฉีดน้ำ
- 2.3.3 กระจบ้องคว้น
- 2.3.4 ถุงผ้าตาข่าย
- 2.3.5 ขวดเก็บตัวอย่างผึ้ง
- 2.3.6 กรรไกรตัดกิ่งไม้
- 2.3.7 เอทิล อะซิเตต
- 2.3.8 เอทิลแอลกอฮอล์

3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

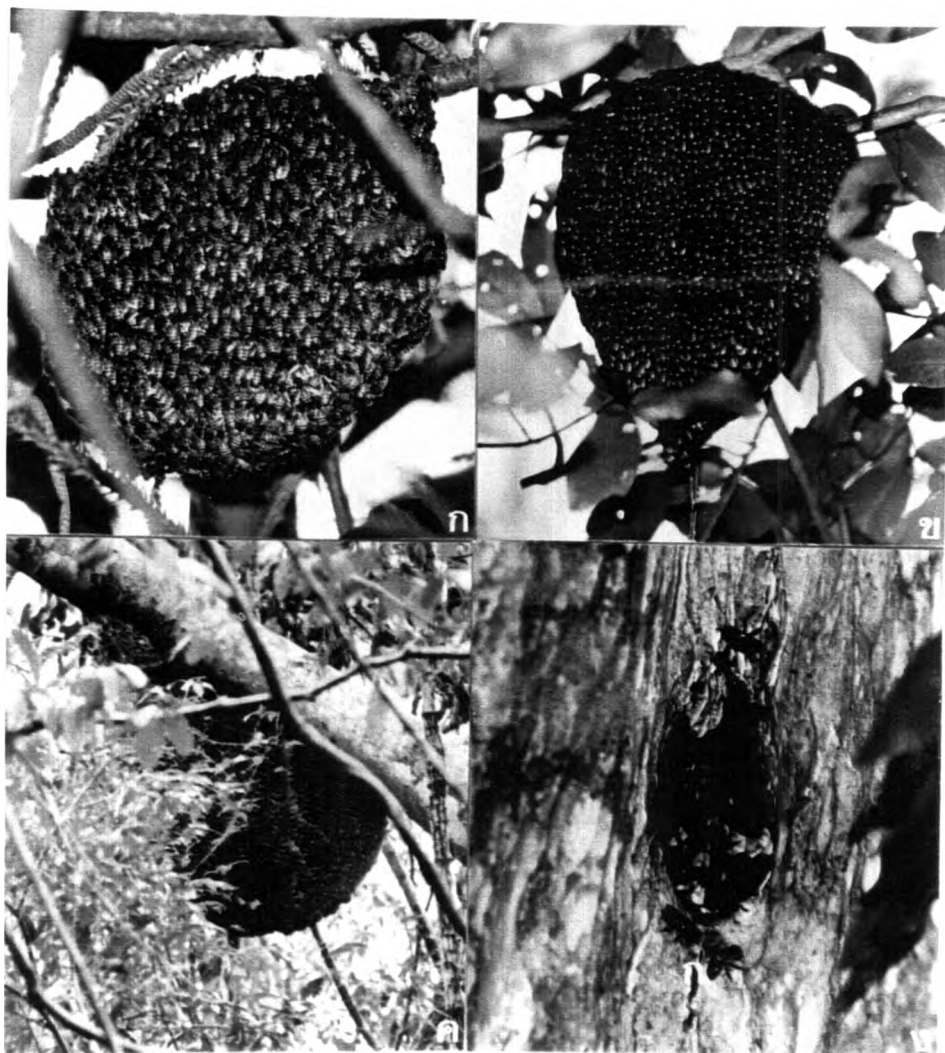
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาความแตกต่างของอวัยวะที่ใช้และการหาอาหาร

- 3.1.1 Ocular micrometer และ stage micrometer
- 3.1.2 สไลด์ และ แผ่นปิดสไลด์
- 3.1.3 กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ
- 3.1.4 เครื่องมือผ่าตัด

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ศึกษาอาหาร(ละอองเรณูและน้ำผึ้ง)ที่ผึ้งมี และ ผึ้งมีานสะสมไว้ในรัง

- 3.2.1 หลอดเซนติฟิวจ์ ขนาด 5 มล.
- 3.2.2 เครื่องเซนติฟิวจ์
- 3.2.3 กล้องจุลทรรศน์ และ counting chamber
- 3.2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า
- 3.2.5 เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส
- 3.2.6 เต้าไฟฟ้า
- 3.2.7 บีเปต

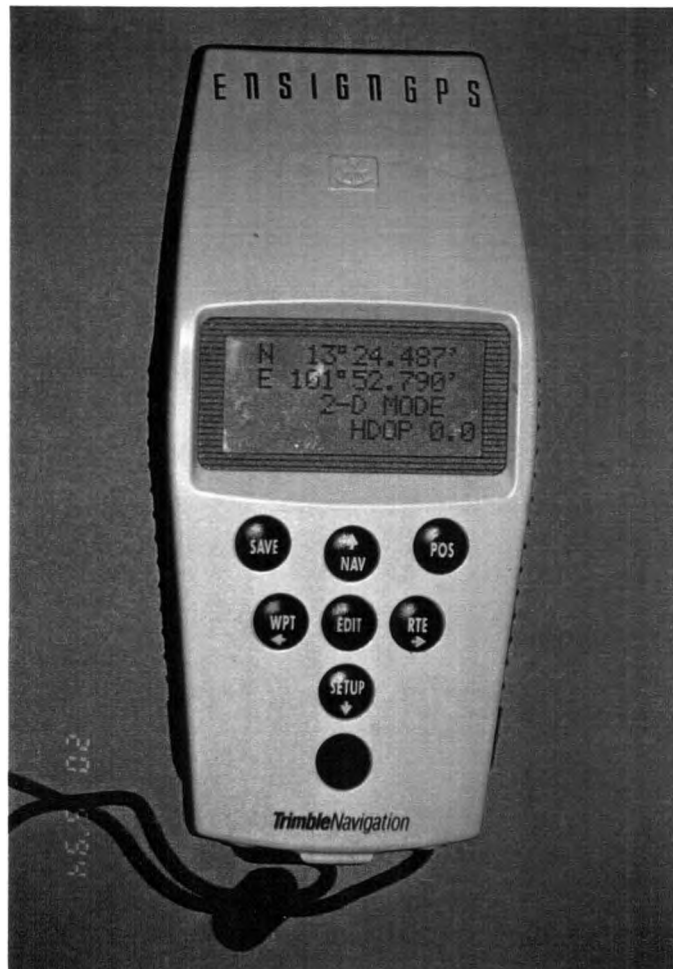
- 3.2.8 บิวเรต และขาตั้ง
- 3.2.9 ขวดรูปพลาสติกขนาด 250 มล.
- 3.2.10 บีกเกอร์
- 3.2.11 น้ำกลั่น
- 3.2.12 กลีเซอริน
- 3.2.13 เอทิล อีเทอร์
- 3.2.14 คอปเปอร์ซัลเฟต
- 3.2.15 โฟตอสเชียมโซเดียมตาร์ทเตรท
- 3.2.16 เอทิลแอลกอฮอล์
- 3.2.17 กรดไฮโดรคลอริก
- 3.2.18 ซูโครส
- 3.2.19 โซเดียมไฮดรอกไซด์
- 3.2.20 คลอโรล ไฮเดรท
- 3.2.21 เมทิล-กรีน



ภาพที่ 3.1 รังของผึ้ง 4 ชนิดที่พบในป่าดิบแล้ง

(ก) ผึ้งมีม *Apis florea* (ข) ผึ้งม้าน *A. andreniformis*

(ค) ผึ้งหลวง *A. dorsata* (ง) ผึ้งโพรง *A. cerana*



ภาพที่ 3.2 เครื่อง GPS ที่ใช้ในการตรวจสอบตำแหน่งของรังผึ้ง



วิธีการดำเนินการวิจัย

1 การศึกษาคำหาพื้นที่สร้างรังในบริเวณป่าดิบแล้ง

สำรวจหารังผึ้ง 4 ชนิด คือ ผึ้งหลวง ผึ้งโพรง ผึ้งมีม และผึ้งม้าน ในบริเวณป่าดิบแล้ง โดยใช้วิธีการเดินตามเส้นทางสำรวจพรรณไม้ของศูนย์วิจัยสัตว์ป่าและเขิงเทรา ซึ่งอยู่บริเวณป่าดิบแล้งด้านหลังศูนย์วิจัยสัตว์ป่าและเขิงเทรา มีระยะทางประมาณ 6 กิโลเมตร ซึ่งผ่านทั้งบริเวณที่เป็นป่าดิบแล้งที่สมบูรณ์ บริเวณชายป่าและบริเวณของป่าที่กำลังฟื้นตัวหลังจากถูกทำลายครอบคลุมพื้นที่ประมาณ 4 ตารางกิโลเมตร หาตำแหน่งที่สร้างรังทางภูมิศาสตร์ (ละติจูด และลองจิจูด) ของผึ้งแต่ละชนิด และตำแหน่งตามชายป่าระหว่างป่าดิบแล้งและป่าที่กำลังฟื้นตัวโดยใช้เครื่อง GPS

2 การศึกษาชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งสร้างรัง

บันทึกชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งหลวง ผึ้งโพรง ผึ้งมีม และผึ้งม้านสร้างรัง เก็บตัวอย่างใบไม้และดอกไม้โดยวิธีอัดแห้งในแผงอัดพรรณไม้ และวิธีดองในฟอร์มาลีน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบชนิดที่หอพรรณไม้ กรมป่าไม้

3 การศึกษาคำหาพื้นที่สร้างรังบนต้นไม้ของผึ้งหลวง ผึ้งโพรง ผึ้งมีม และผึ้งม้าน

เมื่อสำรวจพบตำแหน่งที่สร้างรังของผึ้งแต่ละชนิดในบริเวณป่าดิบแล้ง ได้บันทึกข้อมูลต่างๆดังนี้

3.1 ชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งทำรัง

3.2 ความสูงของรังจากพื้นดิน

3.3 ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของกิ่งไม้ที่ผึ้งสร้างรัง

3.4 ตำแหน่งของรังในทรงพุ่มของต้นไม้โดยแบ่งกิ่งที่ผึ้งใช้สร้างรังออกเป็น 3

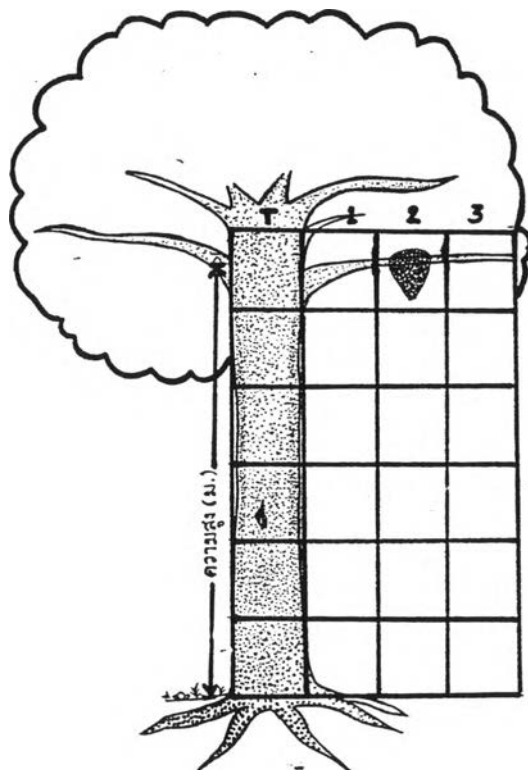
ช่วงเท่า ๆ กัน จากโคนกิ่งที่ติดกับลำต้นถึงปลายกิ่ง (Thirakhupt, 1985) ดังภาพที่ 3.3 โดยกำหนดให้

T คือ บริเวณลำต้น ซึ่งกำหนดให้มีค่า เท่ากับ 0

1 คือ 1/3 ของกิ่ง ด้านที่อยู่ติดกับลำต้น

2 คือ 1/3 ของกิ่ง บริเวณส่วนกลางของกิ่ง

3 คือ 1/3 ของกิ่ง ด้านที่อยู่ปลายกิ่ง



ภาพที่ 3.3 แสดงตำแหน่งของรังผึ้งในทรงพุ่มของต้นไม้ และความสูงของรังจากพื้นดิน

3.5 ทิศทางของรังทั้งด้านหน้าและด้านหลังของรังผึ้งหลวง ผึ้งมีม และผึ้งม้าน และทิศทางของปากโพรงของผึ้งโพรง

3.6 สิ่งบดบังรัง เช่น กิ่งไม้และใบไม้ของต้นไม้ที่ผึ้งสร้างรัง ใบหญ้า หรือ ใบไม้แห้งที่ปิดบังรัง ซึ่งกำหนดค่าให้สิ่งบดบังรังมีค่าตั้งแต่ 0-6 ดังนี้

- 0 คือ ไม่มีสิ่งใดบดบังรังสามารถมองเห็นรังได้ชัดเจน
- 1 คือ มีสิ่งทีบดบังรัง เพียง 1 ด้าน
- 2 คือ มีสิ่งทีบดบังรัง 2 ด้าน

- 3 คือ มีสิ่งที่ยึดโยงรั้ง 3 ด้าน
- 4 คือ มีสิ่งที่ยึดโยงรั้ง 4 ด้าน
- 5 คือ มีสิ่งที่ยึดโยงรั้ง 5 ด้าน
- 6 คือ มีสิ่งที่ยึดโยงรั้งทุกด้าน

4 การศึกษาช่วงเวลาในการสร้างรั้งของฝั้งหลวง ฝั้งโพรง ฝั้งมิม และฝั้งมัน ในบริเวณป่าดิบแล้ง

สำรวจรั้งฝั้งหลวง ฝั้งโพรง ฝั้งมิม และฝั้งมัน ในบริเวณเส้นทางสำรวจ ในเดือนต่าง ๆ ตั้งแต่ มกราคม พ.ศ. 2536 ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2537 และในบริเวณใกล้เคียง สถานีวิจัยสัตว์ป่าละเมาะ เชียงเทรา

5 การศึกษาช่วงเวลาการออกหาอาหารของฝั้งมิม และฝั้งมัน

ศึกษาช่วงเวลาการออกหาอาหารของฝั้งมิมและฝั้งมันโดยเปรียบเทียบกัน 3 คู่ แต่ละคู่ที่ทำการเปรียบเทียบจะเป็นรั้งที่อยู่ใกล้กันมากที่สุด ดังนี้

คู่ที่ 1 ระหว่างฝั้งมันรั้งที่ 8 และ ฝั้งมิมรั้งที่ 7 ศึกษาที่ปากทางเข้าบ้านชัยชนุน วันที่ 31 มกราคม ถึง 5 กุมภาพันธ์ 2537 ระยะห่างระหว่างรั้งประมาณ 120 ม.

คู่ที่ 2 ระหว่างฝั้งมันรั้งที่ 9 และฝั้งมิมรั้งที่ 8 ศึกษาที่ ศูนย์วิจัยสัตว์ป่าละเมาะ เชียงเทรา วันที่ 16 มกราคม ถึง 21 มกราคม 2537 ระยะห่างระหว่างรั้งประมาณ 100 ม.

คู่ที่ 3 ระหว่างฝั้งมันรั้งที่ 10 และฝั้งมิมรั้งที่ 11 ศึกษาที่ศูนย์วิจัยสัตว์ป่าละเมาะ เชียงเทรา วันที่ 6 กุมภาพันธ์ ถึง 12 กุมภาพันธ์ 2537 ระยะห่างระหว่างรั้งประมาณ 400 ม.

การศึกษาช่วงเวลาในการออกหาอาหารของฝั้งแต่ละรั้ง ได้ทำการสังเกตที่ บริเวณหน้ารั้งห่างจากรั้งประมาณ 1-3 ม. บันทึกจำนวนฝั้งงานที่บินกลับเข้ารั้งและบินออกจากรั้ง ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 15 นาทีในทุก ๆ 1 ชม. ตั้งแต่ 6.00 น. ถึง 18.00 น. ติดต่อกัน 3 วัน ในฝั้งแต่ละชนิด พร้อมทั้งบันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ของบริเวณที่ศึกษา

6 การศึกษาความแตกต่างของอาหารระหว่างผึ้งมีมและผึ้งมีาน

6.1 การเก็บตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่าง และการหาสัดส่วนของละอองเรณู

6.1.1 เก็บตัวอย่างรังของผึ้งมีมและผึ้งมีานในวันและเวลาเดียวกันชนิดละ 3 รัง (ในวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2537 เวลาประมาณ 15.00 - 16.00 น.)

6.1.2 แยกละอองเรณูที่ผึ้งสะสมไว้จากรัง

6.1.3 เตรียมละอองเรณูที่ได้โดยวิธีของ Muniategui และคณะ(1993)

ก. การกำจัดองค์ประกอบจำพวกไขมันออกจากละอองเรณู

ชั่งน้ำหนักละอองเรณู 10 กรัม ใส่ในหลอดเซนต์ปีทริก เดิม เอทิลอีเทอร์ จำนวน 30 มล. ค่อยๆเขย่าให้เข้ากันแล้วค่อยๆรินส่วนของเหลวที่อยู่ด้านบนออก ถ้าพบว่ามีละอองเรณูอยู่ในของเหลวส่วนบนให้เข้าเครื่องเซนต์ปีทริก 3,000 รอบ/นาทีก่อน แล้วจึงค่อยเทของเหลวส่วนบนออก ทำซ้ำเช่นนี้จนกระทั่งสารละลายมีสีเกิดขึ้น กำจัดของเหลวส่วนที่เหลือโดยใช้ความร้อนอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 °C

ข. การเตรียมตัวอย่างของละอองเรณู เพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เติมน้ำกลั่นลงในตะกอนที่ผ่านขั้นตอนที่ ก. แล้วเทลงในพลาสติก ขนาด 250 มล. เพื่อปรับปริมาตร ค่อยๆเพิ่มความร้อน และกวนให้ละอองเรณูกระจายทั่ว คูดสารแขวนลอยที่ได้จำนวน 1 มล. ใส่ในหลอดเซนต์ปีทริก รังละจำนวน 3 หลอด นำเข้าเครื่องปั่น 3000 รอบ/นาที นาน 10 นาที (Low et al, 1989) เทของเหลวส่วนบน (supernatant) ออกแล้วเติม Hydroalcoholic chloral hydrate solution 4 มล. (ภาคผนวก ก.) และน้ำกลั่น 1 มล. ลงในตะกอนละอองเรณู เพื่อกำจัดไขมันที่บริเวณผิวและให้เห็นลวดลายที่ผนังได้ชัดเจน เขย่าให้เข้ากันแล้วปล่อยให้ทิ้งไว้ประมาณ 10 - 15 นาที แล้วเข้าเครื่องปั่น 3,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที เทของเหลวส่วนบนออกแล้วจึงเติม Hydroalcoholic glycerined methyl-green solution (ภาคผนวก ก.) ลงไปที่ละอองเรณูที่อยู่ก้นหลอด เพื่อย้อมสีผนังของละอองเรณู

6.1.4 การหาสัดส่วนของละอองเรณู สุ่มตัวอย่างละอองเรณู เพื่อศึกษา สัดส่วนของกลุ่มละอองเรณูที่ผึ้งมีมและผึ้งมีานเก็บมาสะสมไว้ในรัง สุ่มตัวอย่างโดยใช้หลอดคาปิลารี (micro hematocrit capillary tubes) แล้วนำมานับจำนวนโดยใช้ counting chamber

การศึกษาละอองเรณู ในการวิจัยครั้งนี้พิจารณา โดยใช้รูปร่าง และขนาดเป็นเกณฑ์ในการจัดกลุ่ม โดยการแบ่งรูปร่างของละอองเรณูออกเป็น 3 กลุ่มคือรูปร่างกลม แบ่งได้เป็นกลุ่มย่อยได้ 5 กลุ่มย่อย รูปร่างรี แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อย และรูปร่างอื่น ๆ โดยแต่ละกลุ่มย่อยมี ช่วงความกว้างของขนาด เริ่มตั้งแต่ขนาด 0.6-1.0 มม. ถึงขนาด 2.6-3.0 มม. ตามลำดับ การสุ่มตัวอย่างละอองเรณูในแต่ละรังได้กระทำจำนวน 5 รัง

6.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของน้ำผึ้งที่สะสมไว้ภายในรัง

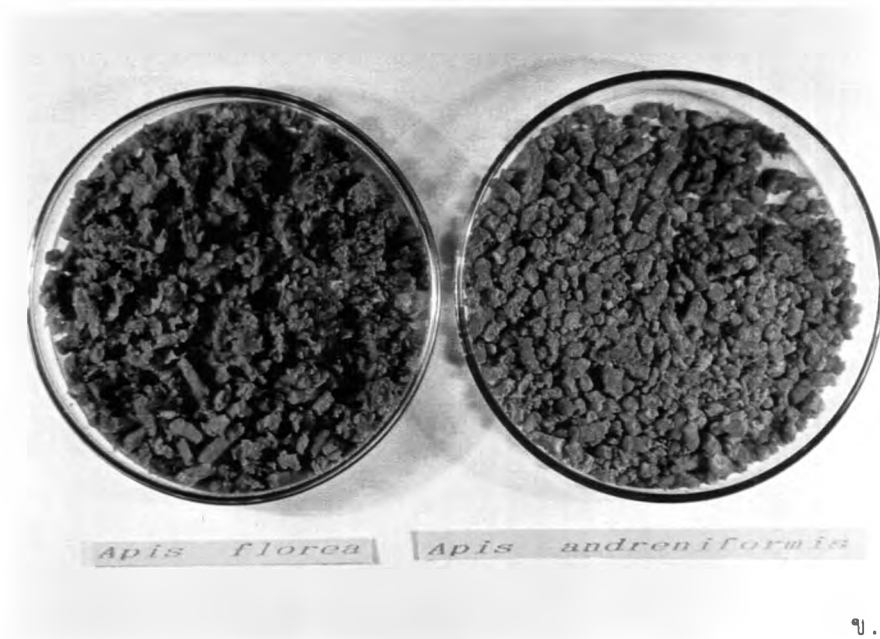
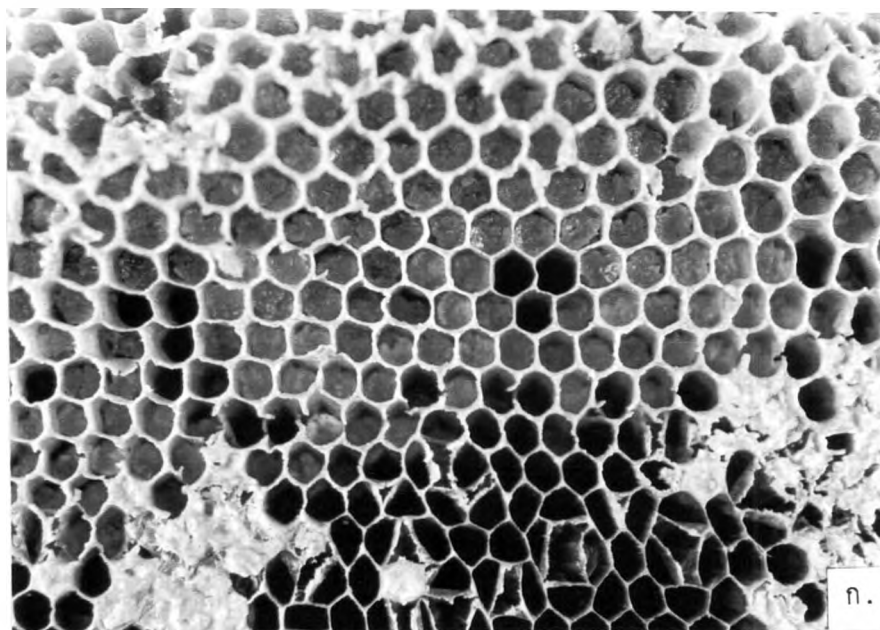
6.2.1 วัดค่า pH ของน้ำผึ้งที่สะสมไว้ภายในรัง โดยใช้ น้ำผึ้ง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มล. แล้วทำการวัดด้วยเครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส

6.2.2 หาค่าร้อยละของน้ำตาลรีดิวซิง ตามวิธีการในภาคผนวก ก.

7 การศึกษาขนาดของอวัยวะที่ใช้ในการหาอาหาร

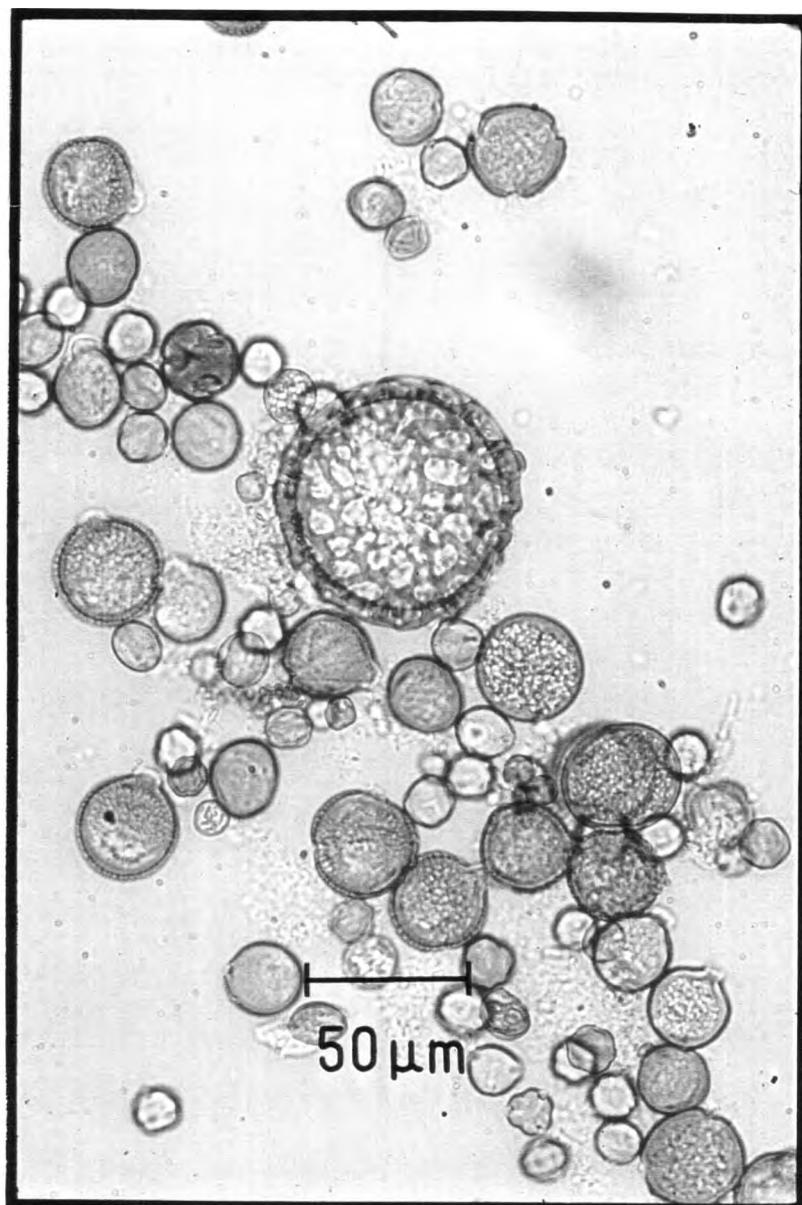
เก็บตัวอย่างผึ้งงานที่ทำหน้าที่หาอาหารจากรังของผึ้งมีม ผึ้งมัน และ ผึ้งโพรง รังละ 20 ตัว และเก็บตัวอย่างผึ้งหลวงที่มาตอมดอกไม้ และบริเวณแหล่งน้ำ ชนิดละ 20 ตัว แล้วนำตัวอย่างผึ้งมาทำการฆ่าด้วย ethyl acetate ทันที เพื่อให้ผึ้งยัดลิ้นให้ยาวออกมาเต็มที่ แล้วดองลงในแอลกอฮอล์ 70 %

จากตัวอย่างที่เก็บมาได้ นำมาวัดความยาวของลำตัว (ตั้งแต่หัวถึงปลายท้อง) ความยาวของลิ้น ความยาวของกลอสซา และความยาวของทิเบีย (ภาพที่ 3.6) ภายใต้อุปกรณ์ส่องตาโดยใช้ ocular lens กับตัวอย่างที่ผ่านการทำสไลด์ชั่วคราว

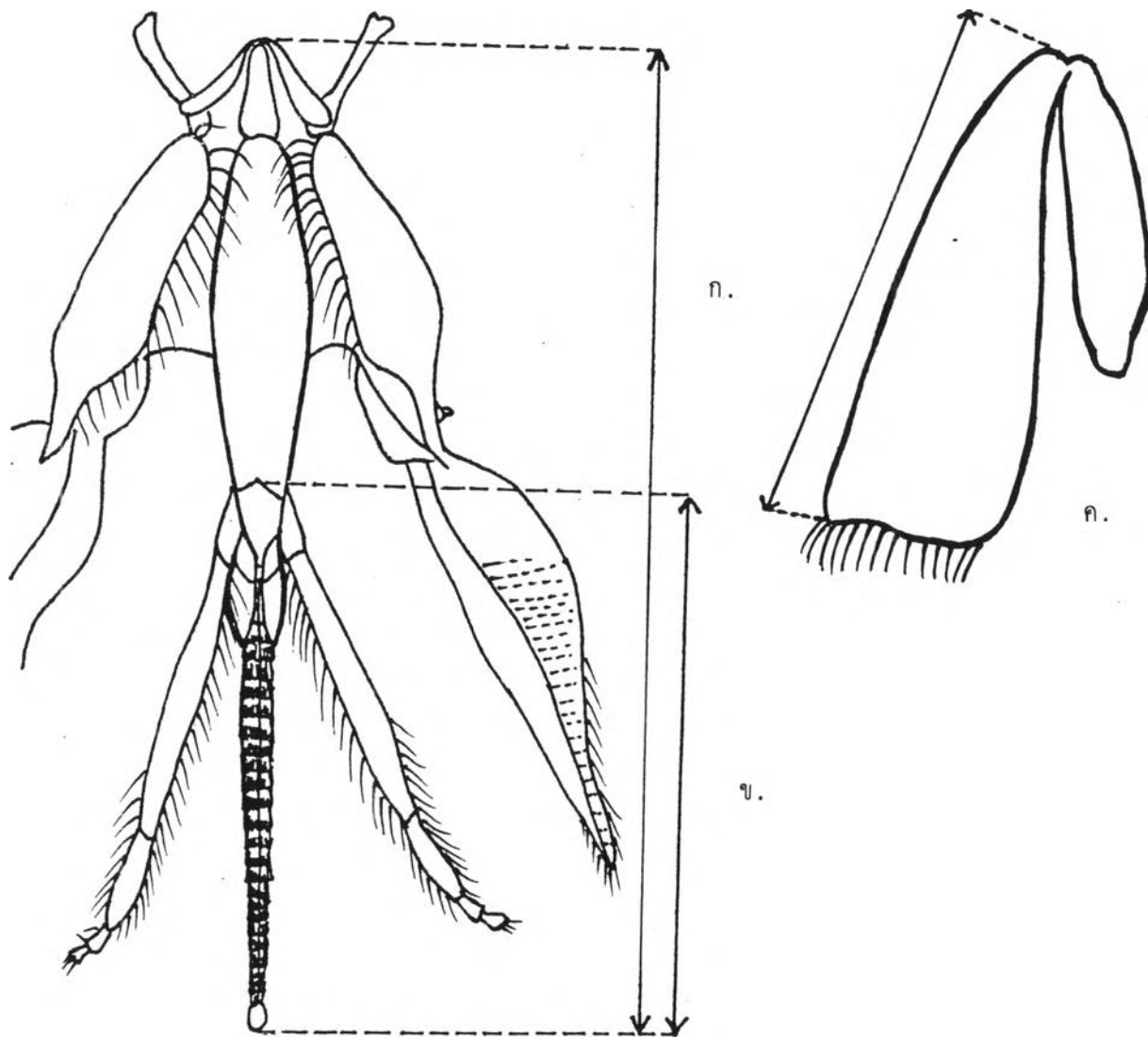


ภาพที่ 3.4 ก. ละอองเรณูที่เก็บสะสมไว้ในรังผึ้ง

ข. ละอองเรณูที่แยกจากรังของผึ้งมีม *Apis florea* และผึ้งมีม *A. andreniformis*



ภาพที่ 3.5 ลักษณะของละอองเรณูที่ผ่านวิธีการเตรียมตามวิธีการของ Muniategui et al.(1993)



ภาพที่ 3.6 แสดงวิธีการวัดความยาวของลำต้น ความยาวของกลอสีชา และความยาวของทีเบียบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

- 1 ทำแผนผังการกระจายของรังผึ้งในพื้นที่ที่ศึกษา
- 2 วิเคราะห์ชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งแต่ละชนิดทำรัง โดยการเปรียบเทียบกับตัวอย่างใน

หอพรรณไม้ กรมป่าไม้

คำนวณหาดัชนีความหลากหลายของต้นไม้ที่ผึ้งใช้ทำรัง โดยวิเคราะห์

Shannon-Weiner Index โดยวิธีการของ Colwell and Futuyma(1971)

โดยใช้โปรแกรม NICHE (Krebs, 1989) ซึ่งมีสมการในการหาค่าดังนี้

$$H' = -\sum P_i \log_e P_i$$

H' คือ ดัชนีความหลากหลาย Shannon - Weiner

P_i คือ สัดส่วนของต้นไม้ที่ผึ้งแต่ละชนิดใช้สร้างรังต่อชนิดของต้นไม้ทั้งหมดที่ผึ้งทั้ง 4 ชนิดใช้

$$H'(\text{base } e \text{ logs}) = 2.302585 H'(\text{base } 10 \text{ logs})$$

การปรับค่ามาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ ดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Weiner ของละอองเรณูที่ผึ้งมีม และผึ้งมันเก็บสะสมไว้ในรัง โดยใช้สมการของ Colwell and Futuyma(1971)

$$J' = H' / \log_e n$$

J' คือ ค่ามาตรฐานของดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Weiner

n คือ จำนวนทั้งหมดของกลุ่มของละอองเรณูที่ผึ้งมีมและผึ้งมันสะสมไว้ในรัง ค่าที่คำนวณได้มีค่าตั้งแต่ 0-1 ยังมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่ามียิ่งมีความ

หลากหลายมาก

คำนวณหา Similarity Index (Sorensen Index) ของพันธุ์ไม้ที่ใช้ทำรังระหว่างผึ้งแต่ละชนิด และใช้โปรแกรม Similar (HORN'S INDEX)(Krebs, 1989) ซึ่งมีสมการในการหาค่าดังนี้

Sorensen Index

$$S = 2C / A+B$$

S คือ ดัชนีความหลากหลายของ Sorensen

C คือ ชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งทั้ง 2 ชนิดใช้ร่วมกัน

A คือ ชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งชนิดที่ 1 ใช้ทำรัง

B คือ ชนิดของต้นไม้ที่ผึ้งชนิดที่ 2 ใช้ทำรัง

Horn Index (Krebs, 1989)

$$Ro = \frac{\Sigma[(X_{ij}+X_{ik}) \log(X_{ij}+X_{ik})] - \Sigma(X_{ij} \log X_{ij}) - \Sigma(X_{ik} \log X_{ik})}{[(N_j+N_k) \log(N_j+N_k)] - (N_j \log N_j) - (N_k \log N_k)}$$

Ro คือ ดัชนีความเหมือนของ Horn สำหรับตัวอย่าง j และตัวอย่าง k

X_{ij}, X_{ik} คือ จำนวนของแต่ละตัวของชนิด i ในตัวอย่าง j และตัวอย่าง k

$N_j = \Sigma X_{ij}$ คือ จำนวนทั้งหมดของแต่ละตัวในตัวอย่าง j

$N_k = \Sigma X_{ik}$ คือ จำนวนทั้งหมดของแต่ละตัวในตัวอย่าง k

3 วิเคราะห์ข้อมูลบริเวณที่สร้างรังของผึ้งได้แก่ความสูงของรังจากพื้นดิน ตำแหน่งที่สร้างรังในทรงพุ่ม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของกิ่งที่ผึ้งทำรังและทิศทางของหน้ารังผึ้ง และลิ่งบดบังรังของผึ้งทั้ง 4 ชนิด โดยใช้สถิติ ANOVA และ Multiple comparison test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชนิด

4 วิเคราะห์ช่วงเวลาการออกหาอาหาร โดยการแสดงเป็นกราฟเส้นเปรียบเทียบระหว่างผึ้งมีม และผึ้งมีาน และหาค่าความสัมพันธ์กับความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิในบริเวณที่ศึกษา

5 วิเคราะห์ความกว้างของชีฟฟิเลีย (niche width) ของผึ้งแต่ละชนิดในด้านสถานที่สร้างรัง ช่วงเวลาการออกหาอาหาร และ อาหารที่ผึ้งสะสมไว้ในรัง

การประเมินค่า Niche width (Levin, 1968) โดยใช้โปรแกรม NICHE (Krebs, 1989) มีสมการในการหาค่าดังนี้

$$W = 1 / \sum P_i^2$$

W คือ ความกว้างของชีฟพิสัยตามวิธีการของ Levin

P_i คือ สัดส่วนที่ฝั่งแต่ละชนิดใช้ปัจจัยแต่ละชนิดต่อจำนวนที่ใช้ปัจจัยชนิดนั้นทั้งหมด การปรับค่ามาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ ความกว้างของชีฟพิสัยระหว่างชนิดของฝั่ง ใช้สมการของ Levin (1968)

$$W_s = B-1 / n-1$$

W_s คือ ค่ามาตรฐานของความกว้างของชีฟพิสัยของ Levin

W คือ ค่าความกว้างของชีฟพิสัยตามวิธีการของ Levin

n คือ จำนวนของ resource ที่เป็นไปได้

ค่าที่คำนวณได้มีค่าตั้งแต่ 0-1 ยังมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่ามียิ่งมีความกว้างของชีฟพิสัยมาก

6 คำนวณค่า การซ้อนทับกันของชีฟพิสัย (niche overlap) โดยใช้สมการของ Pianka (1973) ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจาก วิธีการของ MacArthur-Levins (1967) โดยใช้โปรแกรม NICHE (Krebs, 1989) มีสมการในการหาค่าดังต่อไปนี้

$$O_{jk} = \sum P_{ij} P_{ik} / (\sum P_{ij}^2 \sum P_{ik}^2)^{1/2}$$

O_{jk} คือ ค่าการซ้อนทับกันของชีฟพิสัยตามวิธีการของ Pianka

P_{ij}, P_{ik} คือ สัดส่วนของจำนวนทรัพยากรที่สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดใช้ต่อจำนวนทรัพยากรทั้งหมด

7 วิเคราะห์ความแตกต่างของสัดส่วนละอองเรณูระหว่างฝั่งมีมและฝั่งมีน โดย การแสดงเป็นกราฟวงกลม และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ t-test

8 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่า pH และ % น้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำผึ้งที่สะสมในรังผึ้งมีมและผึ้งม้าน โดยใช้ t-test

9 คำนวณหา Shannon-Weiner Index ของละอองเรณูของผึ้งมีม และผึ้งม้าน โดยวิธีการของ Colwell and Futuyama(1971) โดยใช้โปรแกรม NICHE ซึ่งมีสมการในการหาค่าดังนี้

$$H' = -\sum p_i \log_e P_i$$

H' คือ ดัชนีความหลากหลาย Shannon-Wiener

P_i คือ สัดส่วนของจำนวนทรัพยากรที่มีชีวิตแต่ละชนิดใช้ต่อจำนวนทรัพยากรทั้งหมด

การปรับค่ามาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ ดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Wiener ของละอองเรณูที่ผึ้งมีม และผึ้งม้านเก็บสะสมไว้ในรัง โดยใช้สมการของ Colwell and Futuyama(1971)

$$J' = H' / \log_e n$$

J' คือ ค่ามาตรฐานของดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Wiener

n คือ จำนวนทั้งหมดของกลุ่มของละอองเรณูที่ผึ้งมีมและผึ้งม้านสะสมไว้ในรัง

ค่าที่คำนวณได้มีค่าตั้งแต่ 0-1 ยิ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่ายิ่งมีความหลากหลายของละอองเรณูที่ผึ้งสะสมไว้ในรังมาก

10 เปรียบเทียบความยาวของกลอสซา ความยาวของหน้า ความยาวลำตัว และความยาวของทิวเบีย ของผึ้งทั้ง 4 ชนิด วิเคราะห์โดยใช้สถิติ ANOVA และ multipel comparison test