พฤติกรรมการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ 2,4-ไดไนโตรโทลูอีนในผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 และผึ้งโพรง *Apis cerana* Fabricius, 1793

นายศิรัช เลิศจินตนากิจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Learning behavior and response to 2,4-dinitrotoluene in European honey bee *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 and Asian cavity-nesting honey bee *Apis cerana* Fabricius, 1793

Mr. Sirat Lertjintanakit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Zoology
Department of Biology
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2019

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	พฤติกรรมการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ 2,4-ไดไนโตรโทลูอีนในผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 และผึ้งโพรง *Apis cerana* Fabricius, 1793
โดย	นายศิรัช เลิศจินตนากิจ
สาขาวิชา	สัตววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพจน์ วาฤทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

---------- คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

---------- ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล กิตนะ)

---------- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพจน์ วาฤทธิ์)

---------- กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัชวาล ใจซื่อกุล)

---------- กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ศิรัช เลิศจินตนากิจ : พฤติกรรมการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ 2,4-ไดไนโตรโทลูอีนในผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 และผึ้งโพรง *Apis cerana* Fabricius, 1793. (Learning behavior and response to 2,4-dinitrotoluene in European honey bee *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 and Asian cavity-nesting honey bee *Apis cerana* Fabricius, 1793) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.ณัฐพจน์ วาฤทธิ์

ผึ้งให้น้ำหวานเป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบสำหรับการศึกษาการตอบสนองต่อกลิ่นโดยใช้วิธีการเรียนรู้แบบมี เงื่อนไข (classical conditioning) ผ่านทางพฤติกรรมการแลบลิ้นหรือ Proboscis Extension Response (PER) ซึ่งมีรายงานอย่างกว้างขวางในผึ้งพันธุ์หรือผึ้งให้น้ำหวานสายพันธุ์ยุโรป (*A. mellifera*) ในขณะที่การศึกษาในผึ้งโพรงหรือผึ้งให้น้ำหวานสายพันธุ์เอเชีย (*A. cerana*) กลับยังมีการศึกษาอยู่น้อยมาก ทั้งที่มีความสำคัญในการเป็นแมลงผสมเกสรในภูมิภาคเอเชียและในประเทศไทย ในการศึกษาครั้งนี้ วิธีการ PER ถูกนำมาใช้เพื่อเป็นตัวประเมินความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อสาร 2,4–ไดไนโตรโทลูอีน (DNT, สารตั้งต้นวัตถุระเบิด) โดยทำการเปรียบเทียบความสามารถของการเรียนรู้และตอบสนองระหว่างผึ้งทั้งสองชนิด การศึกษานี้ทดลองในช่วงระหว่างเดือนพฤษภาคม 2561 ถึงเดือนมีนาคม 2563 ผึ้งที่มีหน้าที่หาอาหารจะถูกจับและนำไปฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v (ใช้เป็นรางวัล) และ DNT ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ใช้เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข) การฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขนั้นจะทำการฝึกผึ้งทั้งหมด 6 ครั้ง ในช่วงเวลา 13:00–15:00 น. เพื่อที่จะสามารถประเมินได้ว่าผึ้งมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำกลิ่น DNT ได้หรือไม่ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ผึ้งพันธุ์ (N=61) สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นและน้ำตาลซูโครสได้ โดยมีการแสดงพฤติกรรม PER เพิ่มขึ้นจาก 9.84±3.84% (การฝึกครั้งที่ 1) เป็น 47.54±6.44% (การฝึกครั้งที่ 6) ในขณะที่ผึ้งโพรง (N=36) สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นและน้ำตาลซูโครสได้เช่นกัน เกิดการแสดงพฤติกรรม PER เพิ่มขึ้นจาก 2.78±2.78% (การฝึกครั้งที่ 1) เป็น 47.22±8.44% (การฝึกครั้งที่ 6) จากผลการศึกษายังระบุอีกว่า ผึ้งพันธุ์มีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อ DNT (49.18±6.45%) ได้ดีกว่าผึ้งโพรง (16.67±6.30%) ในช่วงที่สองของการฝึก ($P<0.01$) สำหรับการทดสอบความสามารถในการจดจำ (memory retention test) พบว่า ผึ้งพันธุ์ยังคงสามารถตอบสนองต่อ DNT และแสดงพฤติกรรม PER ได้ 46.00±3.68%, 67.34±4.83% และ 52.03±3.77% ในขณะที่ผึ้งโพรงก็สามารถแสดงพฤติกรรม PER ได้ 55.50±6.10%, 50.50±7.09% และ 44.50±6.37% หลังจากที่เวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังการฝึกตามลำดับ อย่างไรก็ตามความสามารถในการจดจำต่อกลิ่น DNT ของผึ้งทั้งสองชนิดนี้ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จากผลการศึกษานี้ ผู้วิจัยพบว่าผึ้งทั้งสองชนิดมีความจำระยะยาว (long-term memory) ที่ยังคงสามารถแสดงพฤติกรรม PER และตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้แม้ว่าเวลาจะผ่านไปแล้ว 48 ชั่วโมงก็ตาม ความสามารถในการเรียนรู้และจดจำที่แตกต่างกันระหว่างผึ้งให้หวานทั้งสองชนิดนี้อาจจะเป็นผลมาจากคัดเลือกทางธรรมชาติเนื่องจากผึ้งทั้งสองชนิดมีถิ่นที่อยู่อาศัยที่มีสภาพภูมิอากาศแตกต่างกัน การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อประเมินความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งให้น้ำหวานสายพันธุ์เอเชียชนิดอื่น ๆ จะช่วยให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นในการศึกษาเชิงเปรียบเทียบระหว่างผึ้งที่อาศัยในเขตอบอุ่นกับในเขตร้อนชื้น

สาขาวิชา	สัตววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต .....
ปีการศึกษา	2562	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

5972064223 : MAJOR ZOOLOGY
KEYWORD: detection, explosive, TNT, pavlovian conditioning

Sirat Lertjintanakit : Learning behavior and response to 2,4-dinitrotoluene in European honey bee *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 and Asian cavity-nesting honey bee *Apis cerana* Fabricius, 1793. Advisor: Asst. Prof. NATAPOT WARRIT, Ph.D.

Honey bee is an excellent model organism for studying olfactory learning using classical conditioning assay through Proboscis Extension Response (PER). Numerous PER studies have been performed in European honey bees, *Apis mellifera*, in contrast to the Asian honey bee, *Apis cerana*, an important pollinator in Asia and Thailand. In this study, PER assay was used to evaluate responding ability to 2,4–Dinitrotoluene (DNT, an explosive precursor) between *A. mellifera* and *A. cerana*. The study was conducted between May 2018 to March 2020. Foraging bees were trained and conditioned from 1:00 pm to 3:00 pm by associating 50% w/v sucrose solution (as reward) with 25 mg/l DNT aerosol odor. Training was repeated for six trials to evaluate whether each bee retained its memory. During this memory acquisition phase, 61 foraging *A. mellifera* were able to associate DNT with sucrose solution with a PER percentage increased from 9.84±3.84% (1st trial) to 47.54±6.44% (6th trials), whereas in *A. cerana* (N=36) a PER percentage increased from 2.78±2.78% (1st trial) to 47.22±8.44% (6th trial). Notably, during the first two trials, *A. mellifera* (49.18±6.45%) outperformed *A. cerana* (16.67±6.30%) in learning ability ($P<0.01$). For memory retention test, *A. mellifera* displayed PER percentages of 46.00±3.68%, 67.34±4.83% and 52.03±3.77%, whereas *A. cerana* displayed 55.50±6.10%, 50.50±7.09% and 44.50±6.37% after 10 min, 24 hours and 48 hours of testing, respectively. However, memory retention abilities between the two honey bee species were not statistically different ($P>0.05$). The results suggested that both honey bee species have long-term memory (at least to 48 hours) and able to performed proboscis extension behavior after DNT exposing. The subtle differences in learning and memory retention abilities between these two closely related honey bee species may resulted from different selection pressures, since they were originated from very distinct climatic habitats. More parallel studies are needed to evaluate learning ability in other tropical Asian honey bee species.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Field of Study: Zoology Student's Signature .....
Academic Year: 2019 Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีถ้าปราศจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐพจน์ วาฤทธิ์ ผู้ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่คอยให้คำแนะนำ การช่วยเหลือ การแก้ปัญหา และเป็นกำลังใจให้กับผู้จัดทำในระหว่างการศึกษาครั้งนี้ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณอาจารย์มา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นพดล กิตนะ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงศ์ศิริ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัชวาล ใจซื่อกุล ผู้เป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ที่กรุณาให้คำแนะนำในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณสมาชิกในห้องปฏิบัติการผึ้งและแมงมุมแห่งภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยแนะนำและช่วยเหลือตลอดระยะเวลาของการศึกษาและวิจัยในครั้งนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นายวรัตถ์ ศิวายพราหมณ์, นายนนธวัช ฉัตรธนบูรณ์, นายชวกร ขุนเศรษฐ์, นางสาวพุธิตา ผาสุขดี, นายภากร นลินรชตกัญจน์ และนายวศิน นวเนติวงศ์ ที่คอยเป็นกำลังใจและมอบความสุขในระหว่างการศึกษาและวิจัย

ขอขอบพระคุณทุนวิจัยทางทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ทุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายทางชีวภาพ และทุนการศึกษาจากทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ที่คอยสนับสนุนเงินทุนในการศึกษาและวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดาและมารดาผู้ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนให้ผู้จัดทำได้ศึกษาและเล่าเรียนในระดับบัณฑิตศึกษาตลอดจนเลี้ยงดูและช่วยเหลือตลอดมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ศิรัช เลิศจินตนากิจ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฏ
สารบัญตารางผนวก ..... ฐ
สารบัญรูปภาพ ..... ท
บทที่ 1 1
บทนำ 1
บทที่ 2 3
ทบทวนวรรณกรรม 3
2.1 อนุกรมวิธานของผึ้งให้น้ำหวาน 3
2.2 ผึ้งให้น้ำหวานที่สนใจและศึกษาในครั้งนี้ 5
2.2.1 ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) 5
2.2.1.1 การกระจายตัวและต้นกำเนิด 5
2.2.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 5
2.2.1.3 ชีววิทยาและพฤติกรรมของผึ้งพันธุ์ 5
2.2.2 ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) 6
2.2.2.1 การกระจายตัวและต้นกำเนิด 6
2.2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 6
2.2.2.3 ชีววิทยาและพฤติกรรมของผึ้งโพรง 7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.3 พฤติกรรมการเรียนรู้ในสิ่งมีชีวิต 7
2.4 ความเป็นมาของการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้ในผึ้งให้น้ำหวาน 11
2.5 การศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นในผึ้งให้น้ำหวานในปัจจุบัน 15
2.6 การประยุกต์ใช้ผึ้งจากพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น 17
2.7 สารตั้งต้นในการทำระเบิดและชนิดของระเบิดที่ใช้ในปัจจุบัน 19
2.8 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาร 2,4-ไดไนโตรโทลูอีน (DNT) 19
บทที่ 3 20
วิธีการศึกษา 20
3.1 การค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20
3.2 การเตรียมสารละลายน้ำตาลซูโครส สารละลายกลิ่นและเครื่องควบคุมกลิ่นที่จะนำมาทดสอบพฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้ง 20
3.3 การจับผึ้ง การเตรียมผึ้งและการคัดเลือกผึ้งก่อนที่จะนำมาทดลอง (วิธีดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012) 21
3.4 การศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นของผึ้งพันธุ์จากพฤติกรรม Proboscis Extension Response (PER) (วิธีดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012 และ Scheiner et al., 2013) 22
3.5 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่น เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งได้รับการฝึกให้เรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น 27
3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 28
3.6.1 การทดสอบการกระจายตัวของข้อมูล 28
3.6.2 การทดสอบความสามารถในการเรียนรู้ต่อกลิ่นในผึ้งให้น้ำหวานแต่ละชนิด 28
3.6.3 การทดสอบความสามารถในการจดจำต่อกลิ่นที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงในผึ้งให้น้ำหวานแต่ละชนิด 28
3.6.4 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่นระหว่างผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง 28
บทที่ 4 29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลการศึกษา 29
4.1 การศึกษาเบื้องต้น Preliminary study 29
4.1.1 ผลของแรงลมที่มีผลต่อการเรียนรู้และการจดจำของผึ้ง 29
4.1.2 กลิ่นมะลิสังเคราะห์ 31
4.1.2.1 ความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิของผึ้งพันธุ์ (Acquisition performance) 31
4.1.2.2 ความสามารถในจดจำกลิ่นมะลิของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention) 33
4.1.3 กลิ่นบิวทานอล 34
4.1.3.1 ความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลของผึ้งพันธุ์ (Acquisition performance) 35
4.1.3.2 ความสามารถในจดจำกลิ่นบิวทานอลของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (Memory retention) 36
4.2 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ในผึ้งให้น้ำหวาน *Apis mellifera* และ *Apis cerana* 37
4.2.1 ผลการศึกษาในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) 37
4.2.1.1 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) (Acquisition performance) 37
4.2.1.2 ความสามารถในจดจำกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention) 39
4.2.2 ผลการศึกษาในผึ้งโพรง (*Apis cerana*) 41
4.2.2.1 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ในผึ้งโพรง (*Apis cerana*) (Acquisition performance) 41
4.2.2.2 ความสามารถในจดจำกลิ่น DNT ของผึ้งโพรงที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention) 43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.3 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*).....44
4.2.3.1 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) (Acquisition performance).....44
4.2.3.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในจดจำกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (Memory retention).....45
4.3 อัตราการตายของผึ้งระหว่างที่จับมาทำการทดลอง (Mortality rate).....46
บทที่ 5.....48
อภิปรายผลการศึกษา.....48
5.1 การเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นของผึ้งหลังจากที่ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น.....48
5.2 การเปรียบเทียบการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการจดจำต่อกลิ่นระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์.....50
5.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการจดจำต่อกลิ่นของผึ้ง.....52
5.3.1 ชนิดและสายพันธุ์ของผึ้ง.....52
5.3.2 ระยะเวลาที่เว้นช่วงในการฝึกแต่ละครั้ง (Interval time, ITI).....53
5.3.3 จำนวนครั้งในการฝึกผึ้งให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition trial).....54
5.3.4 ปัจจัยหรือสิ่งเร้าที่อาจจะเกิดขึ้นและผึ้งอาจจะเรียนรู้ในระหว่างการทดลอง.....54
5.3.5 ปัจจัยที่อยู่ภายในของผึ้งแต่ละตัว.....54
5.3.5.1 ความหิว.....54
5.3.5.2 ความคุ้นชินต่อสิ่งเร้า (Habituation).....55
5.3.5.3 Sucrose responsiveness หรือความสามารถในการตอบสนองต่อน้ำตาล.....55
5.3.5.4 อายุขัยและวรรณะหน้าที่ภายในรัง.....55
5.3.6 ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลซูโครสและชนิดของน้ำตาลที่เลือกใช้ (US).....56

5.3.7 ปัจจัยอื่น.....57
5.4 รูปแบบการดำรงชีวิตและนิเวศวิทยาของผึ้งที่อาจจะส่งผลต่อพฤติกรรมการเรียนรู้ระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์.....58
5.5 การนำผึ้งให้น้ำหวานไปประยุกต์ใช้ในการตรวจระเบิดหรือวัตถุที่เกี่ยวข้องกับระเบิด.....60
บทที่ 6.....62
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....62
6.1 สรุปผลการศึกษา.....62
6.2 ข้อเสนอแนะ.....63
ภาคผนวก.....64
ภาคผนวก 1 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิในผึ้งพันธุ์.....64
ภาคผนวก 2 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นบิวทานอลในผึ้งพันธุ์.....72
ภาคผนวก 3 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อแรงลมในผึ้งพันธุ์.....75
ภาคผนวก 4 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ในผึ้งพันธุ์.....78
ภาคผนวก 5 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ในผึ้งโพรง.....85
ภาคผนวก 6 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*).....93
ภาคผนวก 7 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขของผึ้งพันธุ์ระหว่างการใช้กลิ่น DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขและการใช้ลมเปล่าเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข.....96

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 8 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง 99

ภาคผนวก 9 ตารางแสดงข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในวันที่ทำการศึกษา 101

บรรณานุกรม 102

ประวัติผู้เขียน 114

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของการพฤติกรรม PER ในผึ้งพันธุ์ที่ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ TNT ที่อุณหภูมิต่าง ๆ (ดัดแปลงจาก Taylor-mccabe et al., 2008) 17

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของการพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ที่ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ TNT ในวันแรกเปรียบเทียบกับวันที่สองเพื่อดูความสามารถในการจดจำเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Taylor-mccabe et al., 2008).....18

ตารางที่ 3 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นมะลิระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%).....33

ตารางที่ 4 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นบิวทานอลระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%).....36

ตารางที่ 5 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) 39

ตารางที่ 6 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่น DNT ของผึ้งโพรงระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) 42

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตารางผนวก

หน้า

ตารางผนวกที่ 1 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ 64

ตารางผนวกที่ 2 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ 64

ตารางผนวกที่ 3 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 65

ตารางผนวกที่ 4 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6 65

ตารางผนวกที่ 5 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 66

ตารางผนวกที่ 6 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 66

ตารางผนวกที่ 7 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 66

ตารางผนวกที่ 8 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ 67

ตารางผนวกที่ 9 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ 67

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 10 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 68

ตารางผนวกที่ 11 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6 68

ตารางผนวกที่ 12 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า).....69

ตารางผนวกที่ 13 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 69

ตารางผนวกที่ 14 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่นมะลิ 70

ตารางผนวกที่ 15 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่นมะลิ 71

ตารางผนวกที่ 16 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล 72

ตารางผนวกที่ 17 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล.....72

ตารางผนวกที่ 18 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 73

ตารางผนวกที่ 19 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6.....73

ตารางผนวกที่ 20 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0”

หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 73

ตารางผนวกที่ 21 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 74

ตารางผนวกที่ 22 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 74

ตารางผนวกที่ 23 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม.....75

ตารางผนวกที่ 24 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม 75

ตารางผนวกที่ 25 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 76

ตารางผนวกที่ 26 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลมระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6 76

ตารางผนวกที่ 27 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า).....76

ตารางผนวกที่ 28 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลมระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 77

ตารางผนวกที่ 29 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลมระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข.....77

ตารางผนวกที่ 30 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT 78

ตารางผนวกที่ 31 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT 78

ตารางผนวกที่ 32 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 79

ตารางผนวกที่ 33 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6 79

ตารางผนวกที่ 34 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 79

ตารางผนวกที่ 35 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 80

ตารางผนวกที่ 36 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 80

ตารางผนวกที่ 37 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT 80

ตารางผนวกที่ 38 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT 81

ตารางผนวกที่ 39 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 81

ตารางผนวกที่ 40 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6 82

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 41 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า).....82

ตารางผนวกที่ 42 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 82

ตารางผนวกที่ 43 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT.....83

ตารางผนวกที่ 44 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT 84

ตารางผนวกที่ 45 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT 85

ตารางผนวกที่ 46 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT.....85

ตารางผนวกที่ 47 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 86

ตารางผนวกที่ 48 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6.....86

ตารางผนวกที่ 49 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า).....87

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 50 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 87

ตารางผนวกที่ 51 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 87

ตารางผนวกที่ 52 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT.....88

ตารางผนวกที่ 53 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT 88

ตารางผนวกที่ 54 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า) 89

ตารางผนวกที่ 55 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6 89

ตารางผนวกที่ 56 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า).....90

ตารางผนวกที่ 57 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข 90

ตารางผนวกที่ 58 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT.....91

ตารางผนวกที่ 59 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT.....92

ตารางผนวกที่ 60 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ต่อกลิ่น DNT 93

ตารางผนวกที่ 61 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ต่อกลิ่น DNT 94

ตารางผนวกที่ 62 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของ PER ของระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*).....95

ตารางผนวกที่ 63 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างการใช้กลิ่น DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขและการใช้ลมเปล่าเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข.....96

ตารางผนวกที่ 64 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์กลุ่มที่ได้รับ DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข และกลุ่มของผึ้งพันธุ์ที่ได้รับแรงลม (air puff) เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข.....97

ตารางผนวกที่ 65 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์กลุ่มที่ได้รับ DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข และกลุ่มของผึ้งพันธุ์ที่ได้รับแรงลม (air puff) เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข.....98

ตารางผนวกที่ 66 สถิติพรรณนาของอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) 99

ตารางผนวกที่ 67 การทดสอบค่าการกระจายตัวของอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*).....99

ตารางผนวกที่ 68 การทดสอบสถิติด้วย Independent Samples Test ของอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*)..... 100

ตารางผนวกที่ 69 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่บันทึกในช่วงระหว่างการจับผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ที่บริเวณหน้ารังก่อนที่จะนำผึ้งมาทดลอง..... 101

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ผึ้งให้น้ำหวานที่สามารถพบได้ในประเทศไทย (A) ผึ้งโพรง *Apis cerana* (B) ผึ้งมิ้ม *Apis florea* (C) ผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* (D) ผึ้งหลวง *Apis dorsata*.....4

ภาพที่ 2 ลักษณะที่แตกต่างระหว่างปีกคู่หลังของผึ้งพันธุ์ (บน) และผึ้งโพรง (ล่าง) พบการปรากฏของ abssisca ที่ปลายเส้นปีกของผึ้งโพรง (ปลายลูกศร) ในขณะที่ผึ้งพันธุ์ไม่ปรากฏที่ปลายเส้นปีก.....6

ภาพที่ 3 Skinner box หรือกล่องเพื่อสังเกตพฤติกรรมการเรียนรู้แบบ operant conditioning ในหนู 8

ภาพที่ 4 กระบวนการทำให้เกิดการเรียนรู้แบบ classical conditioning ของ Pavlov หลังจากที่กระดิ่ง (conditioned stimulus) ถูกชักนำให้สุนัขเกิดการเรียนรู้ระหว่างกระดิ่งและอาหาร (unconditioned stimulus) ในท้ายที่สุดสุนัขตอบสนองต่อเสียงกระดิ่งโดยเกิดพฤติกรรมน้ำลายไหล (conditioned response).....9

ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณหยดน้ำลายของสุนัข (แกนตั้ง) กับจำนวนในการฝึกของสิ่งเร้าระหว่างกระดิ่งและอาหาร (แกนนอน) ของ Ivan Pavlov.....10

ภาพที่ 6 Carol’s car phobia ที่มีสาเหตุเกิดจากอุบติเหตุทางรถยนต์ซึ่งเป็นผลมาจากการเรียนรู้แบบ classical conditioning ของ Carol หญิงสาวผู้ซึ่งที่ประสบอุบัติเหตุทางรถยนต์.....10

ภาพที่ 7 (A) การแสดงพฤติกรรม Proboscis extension ของผึ้งให้น้ำหวาน (*Apis mellifera*) (B) ผีเสื้อนิลวรรณธรรมดา (*Notocrypta paralysos asawa*) และ (C) แมลงวันดอกไม้ (syrphid fly) ที่พบได้ในธรรมชาติที่กำลังกินน้ำหวานที่อยู่ภายในดอกไม้.....11

ภาพที่ 8 ผึ้งที่ถูกจับแล้วมาติดที่หลอดพลาสติก ผึ้งจะสามารถขยับได้เพียงแค่ส่วนหัวเท่านั้น.....12

ภาพที่ 9 การทดลองพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขครั้งแรกของ Takeda (1961) กราฟแสดงถึงพฤติกรรม PER ตอบสนองต่อกลิ่น hydroxycitronellal (A) และกลิ่น citral (B) โดยทำการทดลองให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขเป็นจำนวน 10 รอบและในแต่ละครั้งใช้ผึ้งในการทดลองเพียงแค่ 5–7 ตัวเท่านั้น 13

ภาพที่ 10 ผลการทดลองเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (Unpaired) และชุดทดลอง (Paired).....15

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 11 แนวโน้มการตอบสนองและการเกิดพฤติกรรม PER ในผึ้งพันธุ์ 32 กลุ่มตัวอย่างต่อกลิ่น 32 ชนิด โดยที่ผึ้งเหล่านี้ถูกนำมาฝึกเป็นจำนวน 4 ครั้ง (learning trials) ในระยะเวลาสองวัน (ตัวเลขในวงเล็บแสดงถึงจำนวนตัวที่ถูกนำมาทดลองในแต่ละกลิ่น) 16

ภาพที่ 12 เครื่องตรวจระเบิด Vasor 136 ภายในจะมีผึ้งที่สามารถตอบสนองและจะแสดงพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมาได้เมื่อผึ้งเหล่านี้ได้รับสารที่เกี่ยวข้องกับระเบิด 18

ภาพที่ 13 การสังเคราะห์ 2,4,6-ไตรไนโตรโทลูอีน (TNT) ที่ถูกใช้ในการทำระเบิด โดยผ่านกระบวนการเติมกรดไนตริกและซัลฟิวริก ที่ตำแหน่ง 2, 4 และ 6 บนโครงสร้างของวงเบนซีน 19

ภาพที่ 14 แบบจำลองเครื่องควบคุมและปล่อยกลิ่นให้กับผึ้ง (ซ้าย) ภาพเครื่องมือที่ใช้ทดลองจริง (ขวา) เป็นรูปทรงลูกบาศก์ทำจากพลาสติกอะคริลิคใสที่เปิดทางเดินหน้าและด้านข้าง 20

ภาพที่ 15 ผึ้งที่ถูกจับเพื่อเตรียมนำมาที่ห้องปฏิบัติการ (ซ้าย) การให้สารละลายน้ำตาลซูโครสแก่ผึ้งโดยใช้ไม้จิ้มฟันจุ่มลงในสารละลายน้ำตาลซูโครสแล้วนำไปแตะที่บริเวณหนวดของผึ้งแล้วให้ผึ้งจะเกิดการตอบสนองโดยการแลบลิ้น แล้วจึงให้ผึ้งกินสารละลายน้ำตาลซูโครส (ขวา).....22

ภาพที่ 16 ผึ้งที่ถูกจับเพื่อที่จะนำมาทดลอง (ซ้าย) ผึ้งถูกติดเทปกาวที่บริเวณส่วนหัวและส่วนอก ผึ้งสามารถขยับบริเวณส่วนหัวได้และสามารถเกิดการแสดงพฤติกรรมการแลบลิ้นหรือพฤติกรรม PER ได้ โดยกลิ่น (CS) จะถูกกระตุ้นที่บริเวณหนวด (ปลายลูกศร) ในขณะที่สารละลายน้ำตาลซูโครส (US) จะกระตุ้นที่ลิ้นของผึ้ง (proboscis) (ขวา) 22

ภาพที่ 17 แผนภาพการทดลองให้กลิ่น (CS, แท่งสีขาว) และการให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครส (US, แท่งสีดำ) โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสพร้อมกัน การฝึกผึ้งในแต่ละครั้งหรือการให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition) จะทำทั้งหมด 6 ครั้ง และในแต่ละครั้งมีช่วงเวลาห่างกัน 10 นาที (Interval Time, ITI) และผึ้งถูกพัก 1 ชั่วโมงจึงถูกนำมาทดสอบความสามารถในการตอบสนองและความจำอีกครั้ง (retention test) (แผนภาพดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012).....23

ภาพที่ 18 ผึ้งที่ถูกนำมาวางที่แท่นวางให้ห่างจากปลายหลอดฉีดยาเป็นระยะ 3 เซนติเมตร และใช้นิ้วอัดที่ปลายหลอดฉีดยาเพื่อยับยั้งกลิ่นที่อยู่ภายในหลอดฉีดยาและให้ผึ้งได้พักและปรับสภาพอย่างน้อย 10 วินาทีก่อนทำการฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น 24

ภาพที่ 19 ผึ้งได้รับกลิ่นโดยการดันหลอดฉีดยาอย่างช้า ๆ ไปที่บริเวณหนวดและส่วนหัวของผึ้งที่ถูกจับ ด้วยอัตราเร็ว 4 มิลลิลิตรต่อวินาที เป็นเวลาทั้งหมด 4 วินาที.....24

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 20 ผึ้งถูกกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสโดยการนำไม้จิ้มฟันที่จุ่มในสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v มาแตะที่บริเวณหนวดของผึ้ง หลังจากที่ผึ้งได้รับกลิ่นเป็นเวลา 3 วินาที 25

ภาพที่ 21 ผึ้งเกิดการแสดงพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมา ผึ้งจะได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสโดยการนำไม้จิ้มฟันที่จุ่มในสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v เป็นเวลาอย่างน้อย 3 วินาทีก่อนจะดึงไม้จิ้มฟันออก และในขณะเดียวกันระหว่างให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครสกลิ่นจะถูกยับยั้งไม่ให้ออกมาจากปลายหลอดฉีดยาด้วยการอุดและปิดด้วยนิ้วมือ 25

ภาพที่ 22 แผนภาพการทดลองให้กลิ่น (CS, แท่งสีขาว) และการให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครส (US, แท่งสีดำ) โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสจะถูกให้แยกออกจากกัน การฝึกผึ้งในแต่ละครั้งหรือการให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition) จะทำทั้งหมด 6 ครั้ง และในแต่ละครั้งมีช่วงเวลาห่างกัน 5 นาที (Interval Time, ITI) (แผนภาพดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012).....26

ภาพที่ 23 แผนภาพการทดลองให้ลมบริสุทธิ์ (CS, แท่งสีขาว) และการให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครส (US, แท่งสีดำ) โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งลมและสารละลายน้ำตาลซูโครสพร้อมกัน การฝึกผึ้งในแต่ละครั้งหรือการให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition) จะทำทั้งหมด 6 ครั้ง และในแต่ละครั้งมีช่วงเวลาห่างกัน 10 นาที (Interval Time, ITI) (แผนภาพดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012) 27

ภาพที่ 24 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อลมของผึ้งพันธุ์.....30

ภาพที่ 25 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อลม เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) (Memory retention).....31

ภาพที่ 26 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งพันธุ์หลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นมะลิและสารละลายซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....32

ภาพที่ 27 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งพันธุ์เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิ (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....34

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 28 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งพันธุ์หลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นบิวทานอลและสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....35

ภาพที่ 29 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งพันธุ์เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นบิวทานอล (Memory retention) 37

ภาพที่ 30 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งพันธุ์หลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....38

ภาพที่ 31 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งพันธุ์เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....40

ภาพที่ 32 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งโพรงหลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....42

ภาพที่ 33 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งโพรงเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งโพรงถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....44

ภาพที่ 34 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) โดยที่ผึ้งทั้งสองชนิดนี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ) 45

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 35 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่น DNT เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงของระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ).....46

ภาพที่ 36 อัตราการตายระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ก่อนที่จะนำมาศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT 47

ภาพที่ 37 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นบิวทานอล ของการศึกษาของ Reinhard และคณะในปี ค.ศ. 2010 (ซ้าย) และการศึกษาในครั้งนี้ (ขวา).....49

ภาพที่ 38 การเรียกกลับคืนมาของพฤติกรรม PER ที่ตอบสนองต่อกลิ่นในงานวิจัยของ Sandoz และ Pham-Delègue ในปี 2004.....51

ภาพที่ 39 แนวโน้มการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่นของผึ้งพันธุ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขโดยมีระยะเวลา ITI ที่ 30 วินาที 3 นาทีและ 10 นาที 53

ภาพที่ 40 ดัชนีชี้วัดความชอบและการตอบสนองต่อน้ำตาลของผึ้ง (ซ้าย) กราฟแสดงแนวโน้มพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขของผึ้งโดยให้น้ำตาลหลากหลายชนิดเป็นรางวัลแก่ผึ้ง (ขวา) 56

ภาพที่ 41 การเปรียบเทียบ sucrose responsiveness ระหว่างผึ้งพันธุ์ (ตัวย่อ AM) และผึ้งโพรง (ตัวย่อ AC) ในการศึกษาของ Raza และคณะ (2019).....57

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

แมลงเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ถูกใช้เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบ (model organism) สำหรับการศึกษาทางด้านการเรียนรู้และการจดจำของสัตว์ เนื่องจากแมลงมีจำนวนเซลล์ประสาทที่น้อยและมีโครงสร้างสมองที่ไม่ซับซ้อนเมื่อเทียบกับสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง (Menzel and Giurfa, 2001) ผึ้งให้น้ำหวาน (honey bee) ในสกุล *Apis* จัดเป็นแมลงที่มีการรายงานและการศึกษาทางด้านความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำอย่างแพร่หลาย เนื่องจากผึ้งให้น้ำหวานมีรูปแบบการดำรงชีวิตแบบสังคมและมีพฤติกรรมการแสดงออกที่ซับซ้อน (von Frisch, 1967; Sandoz et al., 2007) รวมไปถึงมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำเรื่องราวและวัตถุได้ (Menzel 1990, 2001; Giurfa et al., 1996, 2001; Zhang et al., 1996; Giurfa, 2007) ผึ้งมีความสามารถในการเรียนรู้เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างอาหารและสิ่งเร้าได้หลายรูปแบบ เช่น กลิ่น สี รูปแบบการมองเห็น การสัมผัส และอุณหภูมิของแหล่งอาหารหรือดอกไม้ เนื่องจากผึ้งต้องอาศัยปัจจัยหรือสิ่งเร้าเหล่านี้เพื่อใช้ในการหาอาหารและดำรงชีวิต (Menzel, 1999; Giurfa, 2007) วิธีการที่นิยมมากที่สุดในการศึกษาการเรียนรู้ของผึ้งคือ การเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อการได้รับกลิ่น (olfactory conditioning) โดยศึกษาผ่านทางพฤติกรรมการแลบลิ้นของผึ้ง (Proboscis Extension Response, PER) ซึ่งเป็นการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขแบบดั้งเดิม (classical conditioning) หรือที่รู้จักกันดีในชื่อ Pavlovian conditioning (Takeda, 1961; Bitterman et al., 1983; Giurfa and Sandoz, 2012)

พฤติกรรมการแลบลิ้นหรือ PER เป็นพฤติกรรมรีเฟล็กซ์ของผึ้งที่อยู่ในสภาวะหิวและกระหายน้ำตาล ซึ่งพฤติกรรมนี้จัดเป็นส่วนหนึ่งของพฤติกรรมการกินอาหารทั้งการออกหาอาหารภายนอกรังและกินอาหารภายในรัง (Frings, 1944; Frings and Frings, 1949) พฤติกรรม PER นี้จะเกิดขึ้นเมื่อที่บริเวณหนวดหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของปากผึ้งเกิดการสัมผัสกับสารละลายน้ำตาลซูโครส ผึ้งจะเกิดพฤติกรรมรีเฟล็กซ์แลบลิ้นออกมาเพื่อกินหรือดื่มสารละลายน้ำตาลนั้น โดยปกติในธรรมชาติกลิ่น (Conditioned Stimulus, CS) เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการหาน้ำหวาน (Unconditioned Stimulus, US) จากดอกไม้ของผึ้งและเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้ผึ้งเกิดการแสดงพฤติกรรมเข้าหาและแสดงพฤติกรรม PER (Seeley, 1995; Scheiner et al., 2004) การเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อการได้รับกลิ่น (olfactory conditioning) ถูกใช้อย่างกว้างขวางเพื่อทดความสามารถในการเรียนรู้และจดจำของผึ้งและแมลงอื่น ๆ (Giurfa, 2007) โดยผึ้งจะถูกจับลงมาในหลอดพลาสติกและผึ้งสามารถขยับได้เพียงส่วนหัวและส่วนปากเท่านั้น นักวิจัยทำให้ผึ้งเกิดพฤติกรรมการเรียนรู้โดยการปล่อยกลิ่นซึ่งเป็นสิ่งเร้าที่ผึ้งไม่มีการตอบสนอง (CS) ไปที่บริเวณหนวดและเอาสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) แตะไปที่บริเวณหนวดของผึ้ง ผึ้งจะเกิดพฤติกรรม PER เมื่อทำซ้ำหลาย ๆ ครั้ง จะทำให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้และจดจำต่อกลิ่นนั้น เมื่อผึ้งได้รับกลิ่น (CS) ผึ้งจะเกิดการพฤติกรรม PER โดยที่ไม่ต้องกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส (Bitterman et al., 1983; Scheiner et al., 2013)

ศูนย์วิจัย Los Alamos National Laboratory ประเทศสหรัฐอเมริกา เห็นถึงความสำคัญในการนำผึ้งมาใช้ตรวจสอบวัตถุระเบิดแทนสุนัขดมกลิ่นหรือเครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบระเบิดที่มีราคาแพง (Bogue, 2015) โดยนำผึ้งมาทำการฝึกผ่านวิธีการ olfactory conditioning โดยการใช้น้ำตาลซูโครส (US) และสาร 2,4,6-Trinitrotoluene

(TNT) ซึ่งเป็นสารประกอบวัตถุระเบิดเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข (CS) และพบว่าผึ้งสามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อสารประกอบวัตถุระเบิดหรือ TNT ได้ (Taylor-mccabe et al., 2008) แต่อย่างไรก็ตามในงานวิจัยดังกล่าวผู้วิจัยใช้ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งเป็นผึ้งที่มีต้นกำเนิดในภูมิภาคยุโรป แอฟริกา และตะวันออกกลาง ในขณะที่ผึ้งโพรง (*A. cerana*) ที่มีรูปแบบการดำรงชีวิตที่คล้ายกับผึ้งพันธุ์และสามารถพบได้ในเขตร้อนชื้นเช่นในประเทศไทยและยังเป็นผึ้งที่มีต้นกำเนิดในภูมิภาคเอเชีย (Ruttner, 1988; Oldroyd and Wongsiri, 2006) กลับยังมีการศึกษาอยู่น้อยมากและยังไม่มีการศึกษาถึงความสามารถในการตอบสนองต่อสารประกอบวัตถุระเบิดหรือสารที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิดเลย

ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและดูความสามารถของทั้งผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงในการตอบสนองต่อสาร DNT ซึ่งเป็นสารที่เป็นผลผลิตข้างเคียงที่ได้จากการสังเคราะห์ระเบิด TNT (Urbanski, 1964) และ DNT ยังเป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจสอบวัตถุระเบิดที่ใช้ตรวจสอบหาระเบิดในปัจจุบัน (Naddo et al., 2007) และอีกวัตถุประสงค์หนึ่งก็คือเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อสาร DNT ระหว่างผึ้งให้น้ำหวานทั้งสองชนิดทั้งผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 อนุกรมวิธานของผึ้งให้น้ำหวาน

ผึ้งให้น้ำหวาน (honey bee) จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในอาณาจักร Animalia ไฟลัม Arthropoda เป็นกลุ่มสัตว์ที่มีลำตัวเป็นข้อปล้องสองหรือสามส่วนและในแต่ละข้อปล้องจะประกอบไปด้วยขาที่เป็นคู่ ๆ และมีเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกาย (exoskeleton) ผึ้งถูกจัดอยู่ในชั้น Insecta หรือกลุ่มของแมลงที่ถูกคาดการณ์ว่าน่าจะมีมากกว่า 30 ล้านชนิด โดยมีลักษณะโดยทั่วไปประกอบด้วยขา 3 คู่ มีรยางค์และลำตัวเป็นข้อปล้อง มีหนวด 1 คู่และมีตาประกอบ 1 คู่ ผึ้งยังถูกจัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera คือ มีลักษณะปีกที่เฉพาะตัว โดยจะมีลักษณะเป็นปีกใสและประกอบด้วยปีกทั้งหมด 2 คู่ ตามรากศัพท์ของกลุ่มของคำว่า hymen- ที่แปลว่าเยื่อบาง ๆ มีลักษณะใสมองผ่านได้ และ -ptera ที่แปลว่าปีก นอกจากผึ้งที่จัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera แมลงจำพวกผึ้ง ต่อ แตน มด ปลวก ก็จัดอยู่ในอันดับนี้เช่นกัน ผึ้งจัดอยู่ในมหาวงศ์ (superfamily) Apoidea อยู่ในวงศ์ Apidae และจัดอยู่ในวงศ์ย่อย Apinae ซึ่งมีลักษณะสำคัญ คือ มีลิ้นยาว (long-tongue) นอกจากนี้ผึ้งบางกลุ่มในวงศ์ Apidae มีลักษณะการดำรงชีวิตแบบสังคม (eusocial) คือมีลักษณะการแบ่งวรรณะและแบ่งหน้าที่กันทำงานของผึ้งที่อยู่ภายในรังและผึ้งที่จัดอยู่ในวงศ์นี้จะการปรากฏลักษณะทางสัณฐานที่สำคัญคือ corbiculum หรือ pollen baskets หรือที่เก็บเกสร ที่พบได้ที่ขาคู่หลัง (hind leg) ที่บริเวณ tibia ของผึ้ง นอกจากนี้พฤติกรรมการเลี้ยงดูตัวอ่อนของผึ้งในวงศ์ Apidae จะเป็นแบบ progressive provisioner หรือเป็นการให้อาหารแก่ตัวอ่อนแบบค่อย ๆ ให้และให้จนตัวอ่อนเจริญพันธุ์ (Michener, 2007) นอกจากผึ้งให้น้ำหวานจัดอยู่ในสกุล *Apis* ที่มีลักษณะเด่นและจำเพาะคือ ภายในรังมีการเก็บน้ำหวานจากดอกไม้ (nectar) และถูกเก็บในรูปของน้ำผึ้ง (honey) จากการศึกษาในปัจจุบันสามารถจำแนกผึ้งในสกุลนี้ได้ 7 ถึง 11 ชนิดและชนิดย่อยกว่า 44 ชนิด (Caron and Connor, 2013; Michener, 2007)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ผึ้งให้น้ำหวานที่สำคัญในปัจจุบันมีอยู่ 9 ชนิด ได้แก่ *Apis florea*, *Apis andreniformis*, *Apis dorsata*, *Apis nigrocincta*, *Apis koschavnikovi*, *Apis nuluensis*, *Apis cerana* และ *Apis mellifera* ในประเทศไทยมีรายงานการพบและการกระจายของผึ้งให้น้ำหวานทั้งหมด 5 ชนิด (4 ชนิดเป็นผึ้งพื้นถิ่น และ 1 ชนิดถูกนำเข้ามาจากต่างประเทศ) ดังนี้ (สิริวัฒน์ และ สุรีรัตน์, 2555; Oldroyd and Wongsiri, 2006)

1. ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) เป็นผึ้งให้น้ำหวานที่มีขนาดเล็ก ทำรังเป็นแบบรวงรังเดี่ยวหรือคอนเดี่ยวและอยู่บริเวณในที่เปิด พบได้ทั่วไปในประเทศไทยและพบในทุกประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ขึ้นไปจนถึงทางตอนใต้ของจีน แต่ไม่พบในอินโดนีเซีย บอร์เนียวและฟิลิปปินส์ (เกาะปาลาวัน) (Guzman et al., 1992; Wongsiri et al., 1997)

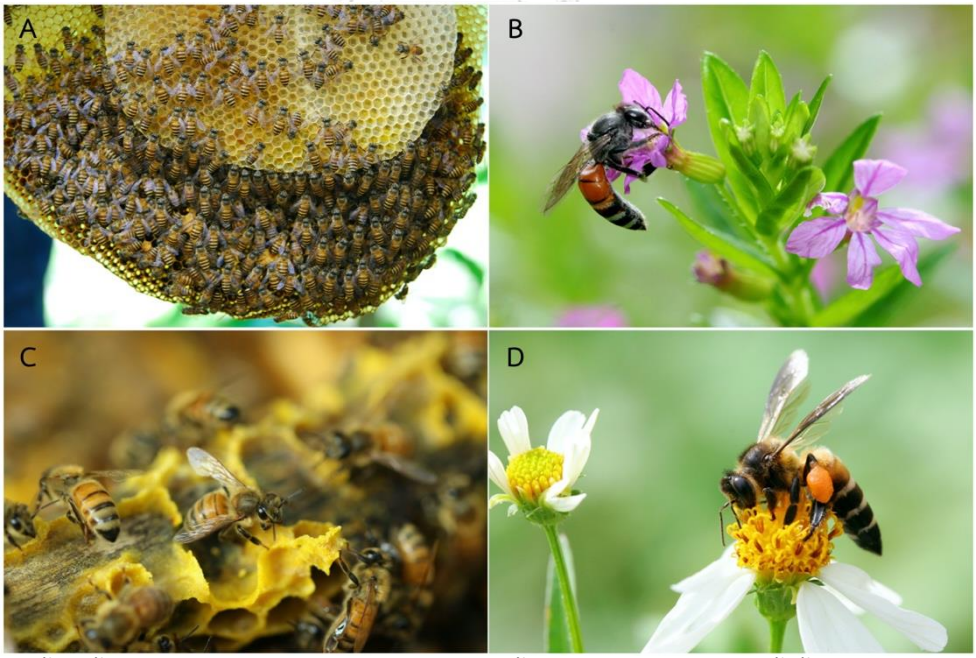
2. ผึ้งม้าน หรือผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*) เป็นผึ้งที่มีขนาดเล็กเล็กที่สุดเมื่อเทียบกับผึ้งให้น้ำหวานชนิดอื่น ในบางพื้นที่อาจจะเรียกผึ้งชนิดนี้ว่าผึ้งมิ้มดำเพราะเนื่องจากมีลำตัวสีดำ ผึ้งชนิดนี้ทำรังเป็นแบบรวงรังเดี่ยวหรือคอนเดี่ยวและอยู่บริเวณในที่เปิด ผึ้งม้านสามารถพบได้ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และพบได้ในประเทศไทย

ในหลายจังหวัด รวมไปถึงพบได้ทางตอนใต้ของจีน อินเดีย พม่า ลาว เวียดนาม และฟิลิปปินส์ (Wongsiri et al., 1997)

3. ผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) เป็นผึ้งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในกลุ่มผึ้งให้น้ำหวาน นอกจากขนาดตัวมีขนาดใหญ่แล้ว รังของผึ้งชนิดนี้ก็มีขนาดใหญ่ที่สุดด้วยเช่นกัน และมักจะทำรังบนต้นไม้สูงหรือบริเวณหน้าผาที่มีความสูงจากระดับพื้นดิน การทำรังเป็นแบบคอนเดี่ยวและอยู่บริเวณในที่เปิด ผึ้งหลวงพบได้ในทุกประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ไปจนถึงทางตอนใต้ของจีน พม่า ศรีลังกา ไปจนถึงสุดเขตทางด้านตะวันตกของอินเดีย

4. ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) มีขนาดลำตัวใหญ่กว่าผึ้งมิ้ม แต่มีขนาดเล็กกว่าผึ้งหลวง ผึ้งชนิดนี้มักจะทำรังในโพรงไม้หรือในที่ที่ปิดมิดชิดและมีสร้างรวงรังหรือคอนแบบหลาย ๆ ชั้นเรียงขนานกัน ในบางประเทศมีการนำผึ้งโพรงมาเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรมเพื่อผลผลิตจำพวกน้ำผึ้งและไขผึ้ง เช่น ในประเทศจีนและไทย ผึ้งโพรงมีการกระจายตัวทั่วทั้งเอเชียรวมถึงพบได้ทั่วไปในประเทศไทย

5. ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) มีขนาดลำตัวใกล้เคียงกับผึ้งโพรงแต่มีขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย การทำรังมีลักษณะคล้ายกับผึ้งโพรงเช่นกัน คือมีการทำรังลักษณะการทำในโพรงไม้หรือในที่ที่ปิดมิดชิดและมีสร้างรวงรังหรือคอนแบบหลาย ๆ ชั้นเรียงขนานกัน การกระจายตัวของผึ้งพันธุ์พบได้แทบจะได้ทั่วโลกเพราะถูกนิยมใช้เป็นผึ้งเศรษฐกิจเพื่อผลผลิตทางด้านน้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับผึ้ง



ภาพที่ 1 ผึ้งให้น้ำหวานที่สามารถพบได้ในประเทศไทย (A) ผึ้งโพรง *Apis cerana* (B) ผึ้งมิ้ม *Apis florea* (C) ผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* (D) ผึ้งหลวง *Apis dorsata*

ภาพจาก : ประพันธ์ ไตรยสุทธิ์

2.2 ผึ้งให้น้ำหวานที่สนใจและศึกษาในครั้งนี้

2.2.1 ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*)

2.2.1.1 การกระจายตัวและต้นกำเนิด

เนื่องจากผึ้งพันธุ์เป็นที่นิยมในการเลี้ยงในทางเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมเพื่อนำผลิตภัณฑ์มาจำหน่ายและบริโภค ผึ้งพันธุ์จึงถูกนำมาเลี้ยงอย่างแพร่หลายทั่วโลก แต่ต้นกำเนิดของผึ้งพันธุ์ถูกคาดการว่าน่าจะเกิดขึ้นที่บริเวณทวีปยุโรป ตะวันออกกลางและทวีปแอฟริกา โดยผึ้งพันธุ์มีการกระจายตัวที่กว้างละดำรงชีวิตในที่ที่แตกต่างกันตามลักษณะของระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อม จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ผึ้งชนิดนี้มีการวิวัฒนาการจนทำให้เกิดความแตกต่างภายในชนิดและเกิดเป็นชนิดย่อยอย่างน้อย 24 ชนิด (Ruttner, 1988) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อแบ่งชนิดย่อยโดยการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาสามารถแบ่งชนิดย่อยของผึ้งพันธุ์ได้เป็นกลุ่ม ดังนี้ กลุ่มแอฟริกา กลุ่มยุโรป และกลุ่มตะวันออกเฉียงใต้ของยุโรป (Ruttner, 1988) นอกจากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาแล้ว ข้อมูลทางพันธุกรรมก็สนับสนุนการแบ่งกลุ่มชนิดย่อยแบบนี้เช่นเดียวกัน (Garnery et al., 1992; Franck et al., 2000)

2.2.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะสัณฐานภายนอกของผึ้งพันธุ์เหมือนแมลงทั่วไป คือประกอบด้วย ส่วนหัว ส่วนอกและส่วนท้อง ที่บริเวณส่วนหัวจะประกอบด้วยตาประกอบ 1 คู่ และตาเดี่ยว (ocelli) 3 ดวง ที่อยู่บริเวณตรงกลางระหว่างตาประกอบทั้งสอง บริเวณส่วนอกของผึ้งพันธุ์ประกอบไปด้วยส่วนปีกและขา ปีกประกอบด้วยปีก 2 คู่ โดยที่ปีกคู่หน้าจะมีขนาดใหญ่กว่าคู่หลังและที่บริเวณปีกขอบด้านหน้าของปีกคู่หลังมี hamuli หรือตะขอเพื่อใช้ในการเกี่ยวปีกคู่หน้าเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบิน ที่บริเวณส่วนท้องมี 6 ข้อปล้อง (7 ข้อปล้องในตัวผู้) มีแถบสีเหลืองสลับสีดำ มีต่อมที่สำคัญที่อยู่ด้านใต้บริเวณข้อปล้องที่ 3 ถึง 6 สำหรับสร้างไขผึ้ง (wax) เรียกว่า wax gland ที่บริเวณขาคู่หลังมีส่วนที่เรียกว่า corbicular หรือที่เรียกกันว่า pollen basket เพื่อใช้ในการเก็บเกสรระหว่างหาอาหาร

2.2.1.3 ชีววิทยาและพฤติกรรมของผึ้งพันธุ์

ในประเทศไทยผึ้งพันธุ์ถูกนำมาใช้เพื่อผลิตน้ำผึ้งและเป็นแมลงช่วยผสมเกสรแก่พืชเศรษฐกิจ เช่น ลิ้นจี่ ทุเรียน เงาะ เป็นต้น (Suwannapong et al., 2012) ผึ้งพันธุ์มักสร้างรวงรัง (comb) แบบหลายรวงในโพรงไม้หรือช่องโพรงที่เป็นบริเวณปิดและมืด ซึ่งมีความแตกต่างจากผึ้งในกลุ่มของผึ้งมิ้มและผึ้งหลวงที่มีการสร้างรวงรังแบบเดี่ยวและในพื้นที่เปิด (open-air nest) นอกจากนี้ผึ้งพันธุ์มักจะสร้างรังในโพรงไม้ที่มีความคล้ายคลึงกับการทำรังของผึ้งโพรงแต่จะมีขนาดของรังและขนาดของโพรงที่ใหญ่กว่าผึ้งโพรง การทำรังจะทำในลักษณะรวงรังห้อยซ้อนกันลงมา มีการอุดช่องว่างและเชื่อมรวงรังด้วยยางไม้ (propolis) ผึ้งพันธุ์จะมีประชากรประมาณผึ้งงานประมาณ 15,000–30,000 ตัวต่อรัง แต่ปริมาณประชากรจะขึ้นอยู่กับจำนวนรวงรังและขนาดของรัง

พฤติกรรมการหาอาหารเป็นหนึ่งในพฤติกรรมที่น่าสนใจของผึ้งให้น้ำหวาน เมื่อผึ้งงานพบแหล่งอาหาร ผึ้งจะมีการสื่อสารและบอกข้อมูลเกี่ยวกับแหล่งอาหารนั้นสู่ผึ้งงานตัวอื่นภายในรัง หรือที่เรียกกันโดยทั่วไปว่า การเต้นของผึ้ง (bee dance) การเต้นของผึ้งของผึ้งพันธุ์จะมีรูปแบบเหมือนกับผึ้งโพรงและผึ้งหลวงโดยมีการเต้นในแนวระนาบบนรวงรังและเป็นแนวดิ่งกับพื้นดิน ซึ่งจะมีความแตกต่างจากการเต้นของผึ้งมิ้ม โดยที่ผึ้งมิ้มจะมีการเต้นสื่อสารบนลานของรวงรังที่อยู่ในแนวขนานกับพื้นดิน (Ruttner, 1988)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

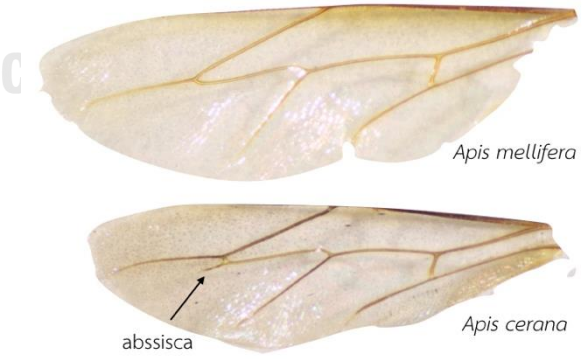
2.2.2 ผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

2.2.2.1 การกระจายตัวและต้นกำเนิด

จุดกำเนิดของผึ้งโพรงถูกคาดการณ์ว่าเกิดขึ้นในทวีปเอเชีย โดยครอบคลุมพื้นที่กว่า 30 ล้านตารางกิโลเมตร การกระจายตัวของผึ้งชนิดนี้ครอบคลุมพื้นที่สภาพแวดล้อมหลายส่วน ได้แก่ ป่าเขตร้อนชื้น ทุ่งหญ้าสะวันน่าทั้งแห้งและชื้น ทุ่งหญ้าส่วนเขตอบอุ่น รวมไปถึงป่าผลัดใบบริเวณยุโรปกลางและบริเวณไทก้า (Müller, 1982) Ruttner (1988) ได้จำแนกชนิดย่อยผึ้งโพรงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวแบ่งได้เป็น 4 ชนิดย่อย ได้แก่ *Apis cerana cerana* ทางตอนเหนือของเอเชีย *A. c. indica* ทางตอนใต้ของเอเชีย *A. c. japonica* ในประเทศญี่ปุ่น และ *A. c. himalaya* ในบริเวณหิมาลัย (Ruttner, 1988) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลทางโมเลกุลและทางพันธุกรรมไม่ได้สนับสนุนข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยา โดยการวิเคราะห์จาก mtDNA พบว่า สามารถแบ่งผึ้งโพรงได้เป็น 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มแรกคือของพื้นที่หลักในเอเชีย (mainland Asia) ที่ประกอบด้วยประเทศญี่ปุ่น ไทย มาเลเซีย บอร์เนียวและของอินเดีย กลุ่มที่สองคือ Sundaland และกลุ่มสุดท้ายประเทศฟิลิปปินส์ (Smith, 1996; Deowanish et al., 1996)

2.2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานภายนอกของผึ้งโพรงมีลักษณะค่อนข้างคล้ายกับผึ้งพันธุ์แต่จะมีขนาดโดยรวมเล็กกว่า (Oldroyd and Wongsiri, 2009) ที่บริเวณขาคู่หลังมีส่วนที่เรียกว่า corbicular หรือที่เรียกกันว่า pollen basket เพื่อใช้ในการเก็บเกสรระหว่างหาอาหารเช่นเดียวกับในผึ้งพันธุ์ ส่วนท้องของผึ้งโพรงมีลักษณะลายสลับสีระหว่างสีเหลืองและสีดำคล้ายกับในผึ้งพันธุ์เช่นเดียวกัน แต่ลายที่ท้องของผึ้งโพรงจะเห็นได้ชัดกว่าผึ้งพันธุ์โดยที่ผึ้งโพรงมักจะมีแถบลายที่ท้อง 4 แถบในขณะที่ผึ้งพันธุ์มี 3 แถบ นอกจากนี้ที่เส้นปีกคู่หลังของผึ้งโพรงจะพบ abssisca พบเส้นปีก vein M ในขณะที่ผึ้งพันธุ์จะไม่พบลักษณะนี้ (Ruttner, 1988) และขนาดของปีกคู่หน้าของผึ้งโพรงจะมีขนาดสั้นกว่าในผึ้งพันธุ์ (ความยาวน้อยกว่า 9 มิลลิเมตร) (Oldroyd and Wongsiri, 2006)



ภาพที่ 2 ลักษณะที่แตกต่างระหว่างปีกคู่หลังของผึ้งพันธุ์ (บน) และผึ้งโพรง (ล่าง) พบการปรากฏของ abssisca ที่ปลายเส้นปีกของผึ้งโพรง (ปลายลูกศร) ในขณะที่ผึ้งพันธุ์ไม่ปรากฏที่ปลายเส้นปีก

2.2.2.3 ชีววิทยาและพฤติกรรมของผึ้งโพรง

การทำรังผึ้งโพรงเลือกที่จะทำรังในที่ที่มีลักษณะเป็นช่องหรือเป็นโพรงที่ปิด เช่น โพรงไม้ ส่วนใหญ่แล้วโคโลนีของผึ้งโพรงจะมีขนาดเล็กกว่าผึ้งพันธุ์รวมไปถึงขนาดของรังก็มีขนาดเล็กกว่าด้วยเช่นกัน (Koeniger, 1979) ด้วยการที่มีขนาดเล็กกว่าจึงทำให้ประชากรของผึ้งโพรงมีน้อยกว่าผึ้งพันธุ์ โดยที่ผึ้งโพรงมีประชากรประมาณ 10,000-15,000 ตัวต่อรัง ส่วนลักษณะรูปแบบการทำรังของผึ้งทั้งสองชนิดจะคล้ายกันแต่ผึ้งโพรงจะไม่มีการใช้ยางไม้ (propolis) ในการติดหรืออุดช่องโหว่ภายในรัง นอกจากนี้ลักษณะที่เด่นชัดของ drone cell หรือช่องตัวอ่อนของตัวผู้ จะมีรูตรงกลางเซลล์ในขณะที่ drone cell ของผึ้งพันธุ์จะไม่มีรูตรงกลาง (Sakagami, 1960)

พฤติกรรมของผึ้ง พฤติกรรมของผึ้งโพรงมีความคล้ายกับผึ้งพันธุ์จนบางครั้งไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสองชนิดนี้ได้ ผึ้งโพรงมีแนวโน้มที่จะอพยพและหนีรังเมื่อถูกรบกวนหรือสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะมากกว่าผึ้งพันธุ์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าผึ้งโพรงมีความสามารถต้านทานต่อไร *Varroa jacobsoni* และศัตรูธรรมชาติอย่างเช่น พวกต่อ ได้ดีกว่าในผึ้งพันธุ์ (Peng et al., 1987; Ruttner, 1988; Suwannapong et al., 2012: Tan et al., 2012) และทนต่อสภาพอากาศที่รุนแรงได้มากกว่าผึ้งพันธุ์ (Tan et al., 2012)

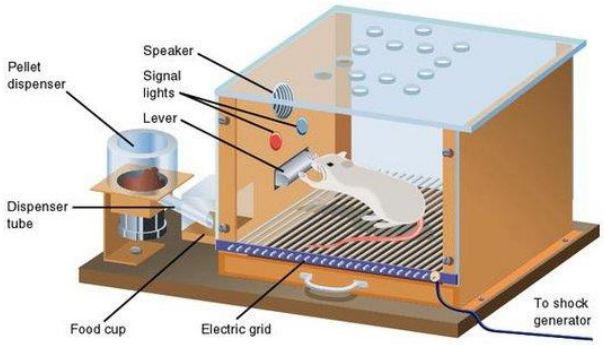
2.3 พฤติกรรมการเรียนรู้ในสิ่งมีชีวิต

ในขณะที่วิวัฒนาการมุ่งเน้นเรื่องการปรับตัวของสปีชีส์และถ่ายทอดต่อไปยังรุ่นถัดไป แต่การเรียนรู้แสดงให้เห็นถึงกระบวนการการปรับตัวของรายบุคคล การเรียนรู้มุ่งเน้นต่อพฤติกรรมของสิ่งมีชีวิตที่มีเปลี่ยนแปลงเพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าหรือสิ่งแวดล้อมในช่วงทั้งหมดของชีวิต นิยามของการเรียนรู้ คือ กระบวนการในการได้รับความรู้หรือทักษะจากประสบการณ์ โดยในทางวิทยาศาสตร์การวัดความสามารถในการเรียนรู้จะวัดจากพฤติกรรมการแสดงออกของสัตว์ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยการเรียนรู้สามารถแบ่งบอกได้เป็นแบบพื้นฐานได้ 4 รูปแบบคร่าว ๆ ดังนี้ (Passer and Smith, 2007)

1. Habituation หรือ พฤติกรรมการเรียนรู้แบบความคุ้นชิน พฤติกรรมการเรียนรู้นี้เกิดจากการตอบสนองต่อสิ่งเร้าใดสิ่งเร้าหนึ่งที่ลดลงเรื่อย ๆ อันเนื่องมาจากสิ่งเร้านั้นได้เกิดซ้ำ ๆ หลาย ๆ ครั้งจนสิ่งมีชีวิตนั้นเริ่มเรียนรู้และคุ้นชิน ซึ่งพฤติกรรมการเรียนรู้แบบความคุ้นชินจัดเป็นพฤติกรรมการเรียนรู้ที่ซับซ้อนน้อยที่สุดและพบได้ในสิ่งมีชีวิตแทบทุกชนิด ตั้งแต่มนุษย์จนไปถึงสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ยกตัวอย่างเช่นการเกิดพฤติกรรมคุ้นชิน เช่น การอาศัยของผู้คนที่อยู่ใกล้สนามบิน ในช่วงแรก ๆ ที่เข้ามาอยู่อาศัย เสียงของเครื่องบินส่งผลให้ผู้คนแถวนั้นตื่นหรือถูกปลุกด้วยเสียง แต่สุดท้ายแล้วคนที่อาศัยบริเวณนั้นจะเริ่มชินกับเสียงของเครื่องบินและสามารถเพิกเฉยต่อเสียงนี้ได้จนสามารถดำเนินชีวิตได้อย่างปกติ

2. Operant conditioning เป็นพฤติกรรมการเรียนรู้รูปแบบหนึ่ง ที่เกิดจากพฤติกรรมที่ได้รับอิทธิพลจากผลลัพธ์ที่ตามมาหลังจากแสดงพฤติกรรมนั้น ๆ (Skinner, 1938) โดย Burrhus Frederic Skinner นักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกา ได้ทำการทดลองพฤติกรรมการเรียนรู้ในหนูและได้ออกแบบกล่องไว้เพื่อสังเกตพฤติกรรมการเรียนรู้ของหนูที่มีชื่อว่า Skinner box โดยกรงนี้ออกแบบพิเศษสำหรับให้หนูอาศัยอยู่ภายในกรง ภายในจะมีกลไกการทำงานให้อาหารแก่หนูโดยอัตโนมัติเมื่อคานที่อยู่ภายในกรงถูกกดลง อาหารจะถูกลำเลียงใส่ถ้วยให้แก่หนูโดยอัตโนมัติ เมื่อ

เวลาผ่านไปหนูจะเริ่มเรียนรู้ว่าเมื่อคานถูกกดลงหนูจะได้รับอาหาร จากการศึกษาทำให้พบว่าพฤติกรรมการกดคานของหนูจะมีความถี่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และยิ่งเกิดพฤติกรรมนี้มากยิ่งขึ้นเมื่อหนูเกิดความหิว



ภาพที่ 3 Skinner box หรือกล่องเพื่อสังเกตพฤติกรรมการเรียนรู้แบบ operant conditioning ในหนู
ภาพจาก : https://www.simplypsychology.org/operant-conditioning.html

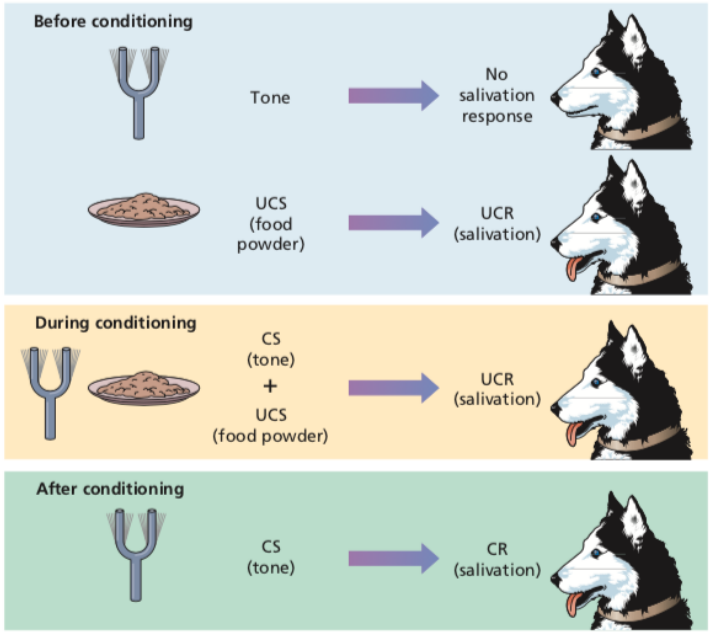
3. Observation learning หรือการเรียนรู้ที่เกิดจากสังเกต เป็นพฤติกรรมการเรียนรู้รูปแบบหนึ่งที่เกิดจากการสังเกตจากพฤติกรรมของตัวต้นแบบ (model) พฤติกรรมการเรียนรู้นี้เป็นพฤติกรรมซึ่งถูกปรับตัวได้สูง ซึ่งสิ่งมีชีวิตสามารถเรียนรู้ได้ว่าเหตุการณ์ใดสำคัญ สัญญาณของสิ่งเร้าที่จะทำให้เกิดเหตุการณ์นั้นและเรียนรู้ได้ว่าพฤติกรรมใดที่ทำให้เกิดผลลัพธ์ที่ดีหรือผลลัพธ์ที่ไม่ดีจากการสังเกตจากสิ่งมีชีวิตตัวอื่น ๆ ยกตัวอย่างเช่น ลิงตัวหนึ่งกลัวงูเพราะเกิดจากการสังเกตลิงตัวอื่นที่ตอบสนองและแสดงพฤติกรรมกลัวงู หรืออาจจะเรียนรู้จากการเห็นลิงตัวอื่นที่ตายจากการถูกงูฉก (Öhman and Mineka, 2001)

4. Classical conditioning หรือพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข เกิดขึ้นโดยสิ่งมีชีวิตเรียนรู้ถึงความเกี่ยวข้องหรือความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งเร้าสองอย่าง สิ่งมีชีวิตจะเริ่มตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่หนึ่ง (ทั้งที่ไม่เคยตอบสนองมาก่อน) คล้ายกับการตอบสนองต่อสิ่งเร้าอีกชนิดหนึ่ง (Pavlov, 1927) โดยเราสามารถยกตัวอย่างให้เห็นภาพอย่างง่าย ๆ เช่น พฤติกรรมแมวหรือสุนัขวิ่งเข้าหาเจ้าของเมื่อได้ยินเสียงเขย่ากล่องอาหาร เนื่องจากสัตว์เหล่านี้เรียนรู้ว่าเมื่อได้ยินเสียงเขย่ากล่องอาหาร มันกำลังจะได้รับอาหารที่เจ้าของกำลังจะเทให้มันนั่นเอง

การเรียนรู้ที่ผู้วิจัยสนใจในครั้งนี้ คือ การเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (Pavlovian conditioning หรือ Classical conditioning) การเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขได้มีการริเริ่มโดย Ivan Petrovich Pavlov (1927) เขาได้ทำการทดลองกับสุนัข ซึ่งมีอาหารเป็นสิ่งเร้าไม่แท้จริง (Unconditioned Stimuli, US) ที่ทำให้สุนัขตอบสนองด้วยการเกิดพฤติกรรมน้ำลายไหล ในขณะที่จะมีกระดิ่ง (Conditioned Stimuli, CS) เป็นสิ่งเร้าที่แท้จริงที่จะถูกใช้เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขที่สุนัขจะไม่เกิดการตอบสนองใด ๆ Pavlov ได้ทำการทดลองโดยการสั่นกระดิ่งทุกครั้งก่อนให้อาหารเป็นระยะเวลาประมาณ 30 วัน ทำซ้ำเช่นเดิมแบบนี้เรื่อย ๆ จนทำให้สุนัขเริ่มเกิดพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างอาหาร (US) และเสียงกระดิ่ง (CS) เมื่อสุนัขสามารถเรียนรู้ระหว่างเสียงกระดิ่งและอาหารแล้ว Pavlov ได้ทำการทดลองโดยการสั่นกระดิ่งเพียงอย่างเดียวโดยที่ไม่มีอาหารให้แก่สุนัขและพบว่าสุนัขสามารถตอบสนองต่อกระดิ่งได้

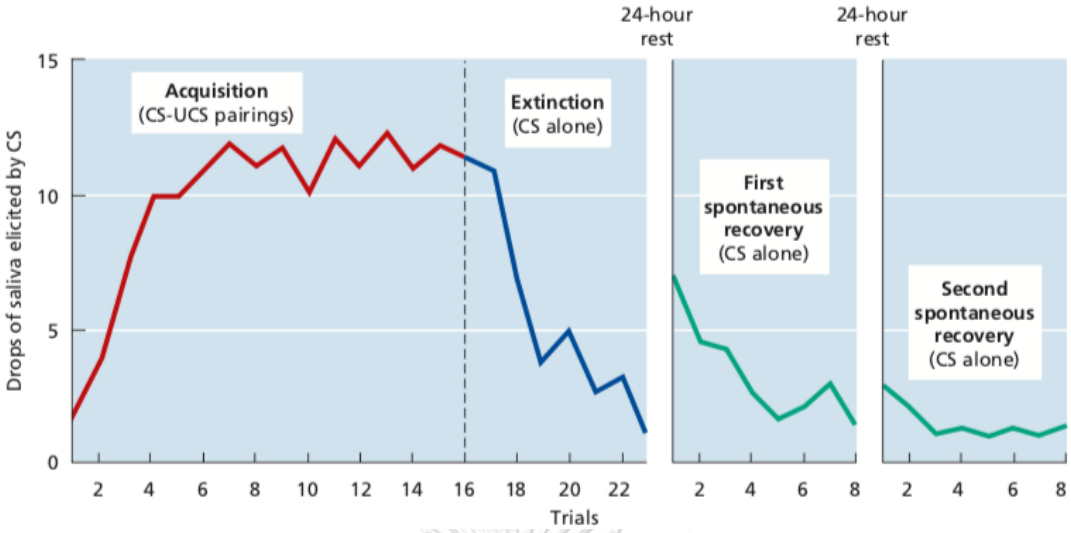
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โดยการเกิดพฤติกรรมน้ำลายไหลโดยที่ไม่ได้รับอาหารหรือไม่มีอาหารมากระตุ้นแต่อย่างใด ซึ่งการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสุนัขมีความสามารถในการเรียนรู้แบบเงื่อนไขและจดจำสิ่งเร้าเงื่อนไขนั้นได้แต่จำเป็นจะต้องมีการกระตุ้นพฤติกรรมนี้ให้เกิดซ้ำ ๆ จึงจะทำให้เกิดสุนัขเกิดการเรียนรู้และจดจำสิ่งเร้านั้นได้ อย่างไรก็ตามหากสุนัขถูกกระตุ้นด้วยเสียงกระดิ่งซ้ำ ๆ แต่ไม่มีการให้อาหารแก่สุนัข จะทำให้สุนัขเริ่มเกิดความคุ้นชินและสุดท้ายจะมีการตอบสนองต่อเสียงกระดิ่งลดลง (Pavlov, 1927; Passer and Smith, 2007)



ภาพที่ 4 กระบวนการทำให้เกิดการเรียนรู้แบบ classical conditioning ของ Pavlov หลังจากที่กระดิ่ง (conditioned stimulus) ถูกชักนำให้สุนัขเกิดการเรียนรู้ระหว่างกระดิ่งและอาหาร (unconditioned stimulus) ในท้ายที่สุดสุนัขตอบสนองต่อเสียงกระดิ่งโดยเกิดพฤติกรรมน้ำลายไหล (conditioned response)
ภาพจาก : Passer and Smith, 2007

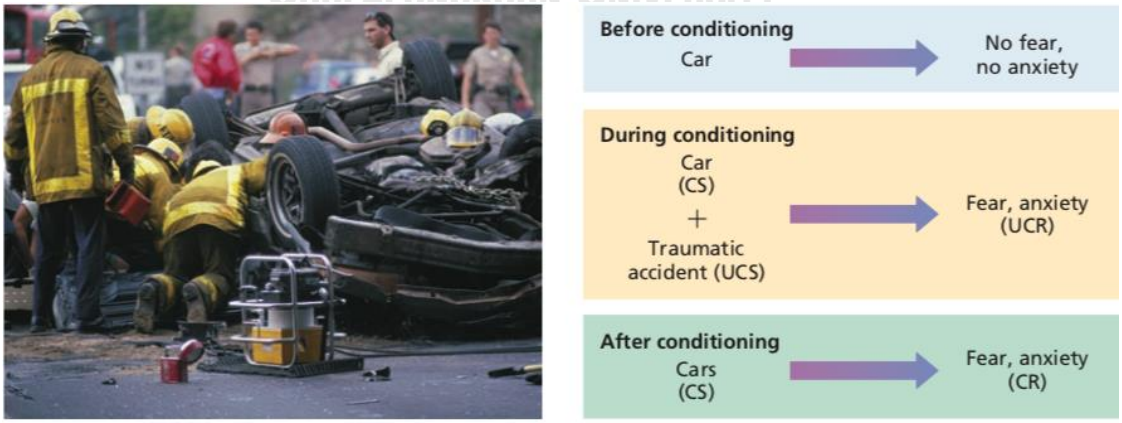
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณหยดน้ำลายของสุนัข (แกนตั้ง) กับจำนวนในการฝึกของสิ่งเร้าระหว่างกระดิ่งและอาหาร (แกนนอน) ของ Ivan Pavlov

ภาพจาก : Passer and Smith, 2007

อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงแล้วการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขไม่จำเป็นจะต้องกระตุ้นให้สิ่งมีชีวิตเกิดการเรียนรู้ระหว่างสิ่งเร้าแท้จริง (CS) และสิ่งเร้าไม่แท้จริง (US) ซ้ำ ๆ หลายครั้ง สิ่งมีชีวิตก็สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขได้แม้ว่าจะเกิดขึ้นเพียงแค่ครั้งเดียว แต่สิ่งเร้านั้นจะต้องส่งผลที่มีความรุนแรงหรือส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิต (Richard et al., 2000) กรณีนี้สามารถเกิดขึ้นได้ในกรณีของ Carol หญิงสาวที่เคยประสบอุบัติเหตุทางรถยนต์ Carol ได้รับบาดเจ็บสาหัสกระดูกเชิงกรานหักและร่างกายของเธอถูกไฟไหม้ครึ่งตัว หลังจากเหตุการณ์ครั้งนี้ทำให้เธอเกิดอาการกลัวและวิตกกังวลเมื่อเธอต้องเดินทางด้วยรถยนต์ (พาหนะอื่น เช่น เรือ รถไฟ เป็นปกติ) ถึงแม้ว่าจะเคยเกิดเหตุการณ์อุบัติเหตุกับเธอแค่เพียงครั้งเดียวแต่สุดท้ายก็ทำให้เธอเป็นโรคกลัวรถยนต์มาจนถึงปัจจุบัน หรือที่รู้จักกันว่าในชื่อว่า Carol’s car phobia (Passer and Smith, 2007)



ภาพที่ 6 Carol’s car phobia ที่มีสาเหตุเกิดจากอุบัติเหตุทางรถยนต์ซึ่งเป็นผลมาจากการเรียนรู้แบบ classical conditioning ของ Carol หญิงสาวผู้ซึ่งที่ประสบอุบัติเหตุทางรถยนต์

ภาพจาก : Passer and Smith, 2007

2.4 ความเป็นมาของการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้ในผึ้งให้น้ำหวาน

จุดเริ่มต้นและความน่าสนใจในการศึกษาพฤติกรรมในผึ้งให้น้ำหวานในปัจจุบันได้ริเริ่มโดย Karl von Frisch นักศึกษาพฤติกรรมชาวออสเตรียผู้ซึ่งได้รับรางวัลโนเบล (Nobel prize) สาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ในปี ค.ศ. 1973 พร้อมกับ Nikolaas Tinbergen และ Konrad Lorenz จากการศึกษาพฤติกรรมในผึ้งให้น้ำหวาน การค้นพบที่สำคัญและมีชื่อเสียงโด่งดังของ Karl von Frisch ประกอบไปด้วย 2 การค้นพบ คือ เขาได้ทำการทดลองและพบว่าผึ้งให้น้ำหวานสามารถเรียนรู้ตำแหน่งของอาหารหรือน้ำหวานในดอกไม้โดยอาศัยจากการมองสีของดอกไม้ (von Frisch, 1956) และอีกการค้นพบหนึ่งคือ ผึ้งให้น้ำหวานมีการสื่อสารกันในระหว่างผึ้งตัวอื่นภายในรัง เมื่อผึ้งที่มีหน้าที่หาอาหารเจอแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ผึ้งที่พบแหล่งอาหารนั้นจะนำข้อมูลนั้นกลับมาสื่อสารแก่ผึ้งตัวอื่นภายในรังผ่านทางพฤติกรรมการเต้นส่ายท้อง (waggle dance) เป็นพฤติกรรมที่จะกระตุ้นให้ผึ้งงานตัวอื่นออกไปหาอาหาร โดยลักษณะการเต้นของผึ้งนั้นจะบ่งบอกถึงทิศทาง ระยะทางและปริมาณของแหล่งอาหารนั้น (von Frisch, 1967)

เป็นที่ทราบกันดีว่าเมื่อผึ้งออกหาอาหารและพบดอกไม้ที่มีน้ำหวานอยู่ภายในดอก ผึ้งจะแสดงพฤติกรรม Proboscis Extension Response (PER) หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นเพื่อที่จะกินน้ำหวานที่อยู่ภายในดอก พฤติกรรมนี้จะเกิดขึ้นเมื่อที่บริเวณอวัยวะรับสัมผัสหรืออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการรับรสชาติ เช่น หนวด ขา และส่วนของปากของแมลงถูกกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาล ซึ่งพฤติกรรมนี้สามารถพบได้ในผึ้ง (Frings 1944; Frings and Frings ,1949) แมลงวัน (Minnich, 1926) และผีเสื้อ (Minnich, 1921) เป็นต้น พฤติกรรมนี้นอกจากจะเกิดขึ้นในระหว่างที่ผึ้งหาอาหารแล้ว ยังสามารถพบพฤติกรรมนี้ภายในรังได้เช่นกัน (Frings, 1944) เนื่องจากรูปแบบการเกิดพฤติกรรมนี้เป็นแบบ dichotomous response หรือการเกิดพฤติกรรมแค่สองลักษณะ (แสดงหรือไม่แสดงพฤติกรรม) นักวิทยาศาสตร์จึงสนใจในรูปแบบการเกิดพฤติกรรมนี้และใช้พฤติกรรมนี้เป็นดัชนีชี้วัดการแสดงในการเรียนรู้และจดจำของผึ้งและแมลง (Bitterman et al., 1983)

ภาพที่ 7 (A) การแสดงพฤติกรรม Proboscis extension ของผึ้งให้น้ำหวาน (*Apis mellifera*) (B) ผีเสื้อนิลวรรณธรรมดา (*Notocrypta paralysos asawa*) และ (C) แมลงวันดอกไม้ (syrphid fly) ที่พบได้ในธรรมชาติที่กำลังกินน้ำหวานที่อยู่ภายในดอกไม้

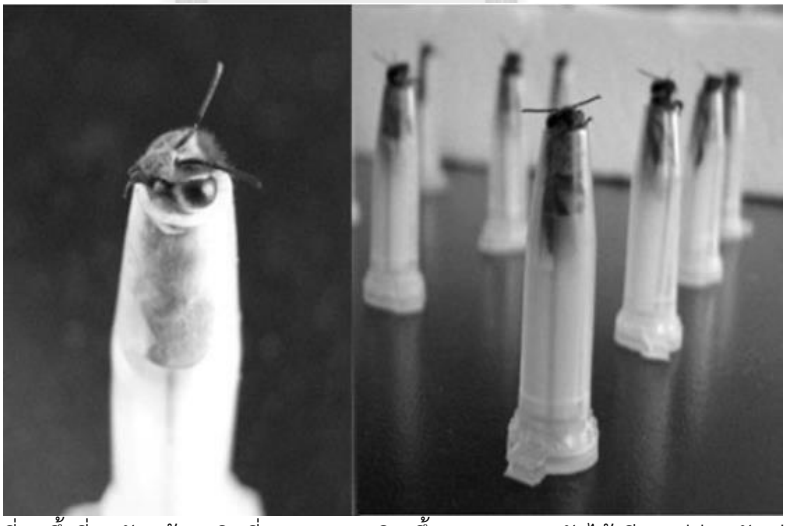
ภาพจาก : https://rcannon992.com/2018/03/20/the-butterfly-proboscis-sucking-tube-and-mopping-sponge/

ภาพจาก : https://www.wikiwand.com/en/Honey

ภาพจาก : https://en.wikipedia.org/wiki/Proboscis#/media/File:Eristalinus_October_2007-6.jpg

หลังจากที่การศึกษาของ Pavlov ที่ศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขในสุนัขได้ถูกตีพิมพ์และเผยแพร่ Matsutaro Kuwabara นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น ผู้ซึ่งทำงานร่วมวิจัยร่วมกับ Karl von Frisch ค้นพบว่า ผึ้งก็สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขเช่นเดียวกับในสุนัขได้ โดยการใช้แสงเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข (conditioned stimulus) ให้แก่ผึ้งโดยวัดการตอบสนองของผึ้งโดยผ่านทางพฤติกรรมการแลบลิ้นของผึ้ง (Kuwabara, 1957) แต่อย่างไรก็ตาม 10 ปีต่อมา Karl von Frisch ได้เผยแพร่การศึกษาและตีพิมพ์หนังสือ “The dance language and orientation of bees” เป็นหนังสือที่อธิบายเกี่ยวกับการค้นพบภาษาของผึ้งหรือการสื่อสารของผึ้งและได้กล่าวถึงเกี่ยวกับพฤติกรรมการเรียนรู้ในผึ้งพันธุ์ที่เขาได้ค้นพบเช่นกัน แต่การค้นพบและการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้งของ Kuwabara ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องและไม่ได้รับการกล่าวถึงในหนังสือเล่มนี้เลย (von Frisch, 1967)

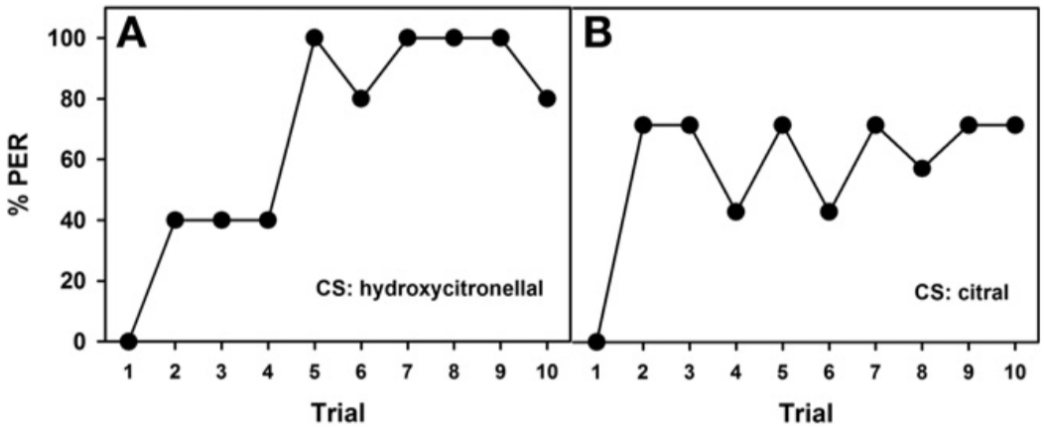
Kuwabara (1957) รายงานว่า ผึ้งที่ถูกจับมาและทำให้หยุดการเคลื่อนไหวสามารถทำให้เกิดพฤติกรรม PER หรือ พฤติกรรมแลบลิ้นออกมาได้เมื่อใช้สีของแสงเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข (CS) และใช้สารละลายน้ำตาล (US) กระตุ้นที่บริเวณขาของผึ้ง อย่างไรก็ตามการศึกษาของเขาไม่ได้เป็นที่รับการยอมรับสักเพียงใดเพราะไม่มีนักวิทยาศาสตร์คนอื่นสามารถทำการทดลองนี้ซ้ำได้เลยเป็นเวลาหลายปี แต่หลังจากงานนี้ได้เผยแพร่ออกไป 50 ปีให้หลัง ก็มีนักวิทยาศาสตร์และนักวิจัยที่สามารถทำซ้ำและได้ผลตามที่ Kuwabara เคยได้รายงานเอาไว้ (Hori et al., 2006, 2007) โดย Hori นักวิจัยชาวญี่ปุ่นและคณะ ได้ทำการทดลองซ้ำตามวิธีการของ Kuwabara แต่เปลี่ยนแปลงการทดลองเล็กน้อย โดยการตัดหนวดของผึ้งออกเพราะเป็นที่ทราบกันดีว่าที่บริเวณของหนวดของผึ้งนั้นมีอวัยวะรับกลิ่นหรือสารเคมี (chemoreceptor) เป็นจำนวนมาก (Marshall, 1935) แต่อย่างไรก็ตาม Hori และคณะก็เสนอแนะว่า การที่ผึ้งถูกตัดหนวดทำให้ประสิทธิภาพในการตอบสนองและการเรียนรู้ของผึ้งก็ลดลงเมื่อเทียบกับผึ้งที่สมบูรณ์ที่ไม่ได้ถูกตัดหนวด



ภาพที่ 8 ผึ้งที่ถูกจับแล้วมาติดที่หลอดพลาสติก ผึ้งจะสามารถขยับได้เพียงแค่ส่วนหัวเท่านั้น

ภาพดัดแปลงจาก : Wang and Tan, 2014

ผู้ที่ตระหนักได้ว่าการใช้กลิ่นเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข (CS) หรือ olfactory conditioning แก่ผึ้งเป็นคนแรก คือ นักวิจัยชาวญี่ปุ่นชื่อว่า Keni Takeda ได้กล่าวถึงการศึกษาของ Kuwabara พอสังเขปว่า การคิดริเริ่มที่ใช้สัตว์ในกลุ่มของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหรือพวกแมลงมาใช้ทดสอบพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขนั้นมีคุณค่าและประโยชน์ทางด้านการศึกษาพฤติกรรมเพราะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมีระบบประสาทที่ไม่ซับซ้อนเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์พวกมีกระดูกสันหลัง โดยการทดลองของ Takeda เริ่มต้นจากการจับผึ้งมาตัดปีกออกเพื่อลดการเคลื่อนไหวของผึ้ง แล้วทำการปล่อยกลิ่นโดยใช้หลอดแก้วขนาดเล็กไปจ่อที่บริเวณหนวดเพื่อเป็นตัวส่งนำกลิ่น ในขณะที่ปล่อยกลิ่นนั้น ผึ้งจะได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ไปแตะที่บริเวณขาหรือส่วนที่เรียกว่า tarsi ผึ้งจะเกิดพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมา แล้วจึงให้ผึ้งได้รับสารละลายน้ำตาลนั้นโดยผ่านทางการป้อนโดยตรงที่ลิ้นของผึ้งเป็นรางวัล ทำการทดลองเช่นนี้ซ้ำหลาย ๆ ครั้งจะทำให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครส ผึ้งจะสามารถเริ่มเรียนรู้ได้ว่าเมื่อใดก็ตามที่ได้รับกลิ่น ผึ้งจะได้รับอาหารหรือได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสเป็นรางวัล โดยผึ้งจะสามารถการแสดงพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาได้เองโดยที่กระตุ้นแค่เพียงกลิ่นเท่านั้นไม่จำเป็นต้องกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสแต่อย่างใด (Takeda, 1961) อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Takeda นั้นไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับเนื่องจาก รายงานของเขามีการนำเสนอผลแค่เพียงข้อมูลดิบและไม่ได้มีการแสดงถึงการวิเคราะห์ผลทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นข้อมูลที่เขาบันทึกยังมีบางส่วนที่ยังไม่เสร็จสมบูรณ์และจำนวนของตัวอย่างการทดลองค่อนข้างน้อย มีเพียง 5 ตัวอย่างการทดลองสำหรับการใช้กลิ่น hydroxycitronellal และ 7 ตัวอย่างสำหรับการใช้กลิ่น citral ซึ่งถ้าเมื่อเทียบกับการทดลองในปัจจุบันจะใช้ตัวอย่างการทดลองอย่างน้อย 40 ตัวอย่าง (Giurfa and Sandoz, 2012)



ภาพที่ 9 การทดลองพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขครั้งแรกของ Takeda (1961) กราฟแสดงถึงพฤติกรรม PER ตอบสนองต่อกลิ่น hydroxycitronellal (A) และกลิ่น citral (B) โดยทำการทดลองให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขเป็นจำนวน 10 รอบและในแต่ละครั้งใช้ผึ้งในการทดลองเพียงแค่ 5–7 ตัวเท่านั้น

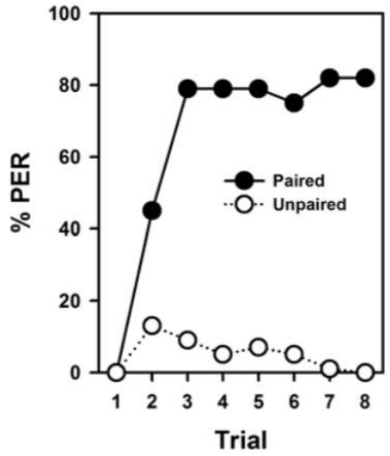
ภาพจาก : Giurfa and Sandoz, 2012

อย่างไรก็ตามงานของ Takeda ได้ชี้จุดประเด็นสำคัญให้กับวงการวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับการทดลองในผึ้ง ที่ทำให้เห็นถึงความสำคัญสองประการ คือ เป็นรากฐานของการค้นพบว่าแมลงมีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อสิ่งเร้าได้ และอีกประการหนึ่งคือ ผึ้งไม่ได้เพียงแต่มีความสามารถในการเรียนรู้แต่ผึ้งยังมีความสามารถ

ในการจดจำและสามารถจดจำได้เป็นระยะเวลามากกว่า 48 ชั่วโมง ผึ้งจึงควรจะนำมาใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับการจดจำและการเรียกคืนความจำของสัตว์

เมื่องานวิจัยของ Takeda ได้เผยแพร่ออกไป เริ่มมีนักวิจัยเริ่มหันมาสนใจวิธีการทดลองพฤติกรรมการเรียนรู้ของแมลงมากขึ้น จนทำให้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการทดลองให้เหมาะสมและให้ได้ผลดีมากยิ่งขึ้น โดย Jeff Bitterman และ Randolf Menzel นักวิจัยผู้ซึ่งสนใจและเป็นผู้ที่รอบรู้ในด้านการชีววิทยาของการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งให้น้ำหวานและใช้ผึ้งในการทดสอบพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขโดยการใช้กลิ่น (Olfactory conditioning) (Menzel, 1999) และนักวิจัยชาวออสเตรีย Ekkehard Vareschi ผู้ซึ่งสนใจในการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้และการแยกกลิ่นของผึ้งให้น้ำหวาน เขาได้ใช้วิธีการทดลองคล้ายกับของ Takeda แต่ว่ามีการแก้ไขวิธีการทดลองบางส่วนเพื่อทดสอบว่า ผึ้งมีความสามารถในการแยกกลิ่นหรือสิ่งเร้าเงื่อนไขที่เป็นกลิ่นหลังจากที่ผึ้งได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้ต่อกลิ่นนั้นได้หรือไม่ (Vareschi, 1971) โดยนักวิจัยทั้งสามรวมไปถึงผู้ร่วมวิจัยท่านอื่น ได้ร่วมกันจัดตั้งวิธีการทดลองที่เป็นมาตรฐาน (standard method) ทางด้านการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้และการจดจำในผึ้งเป็นครั้งแรก (Bitterman et al., 1983) เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการทดลองทางพฤติกรรมด้านนี้ อาทิ จำนวนของตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองรวมไปถึงชุดควบคุมการทดลองที่จำเป็นและรองรับด้วยสถิติที่ใช้ทดสอบตัวแปรต่าง ๆ เพื่อพิสูจน์ว่าพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขนั้นมีความเป็นธรรมชาติและอยู่บนพื้นฐานของการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขแบบ Pavlovian ไม่ใช่เป็นการเรียนรู้แบบอื่น ๆ

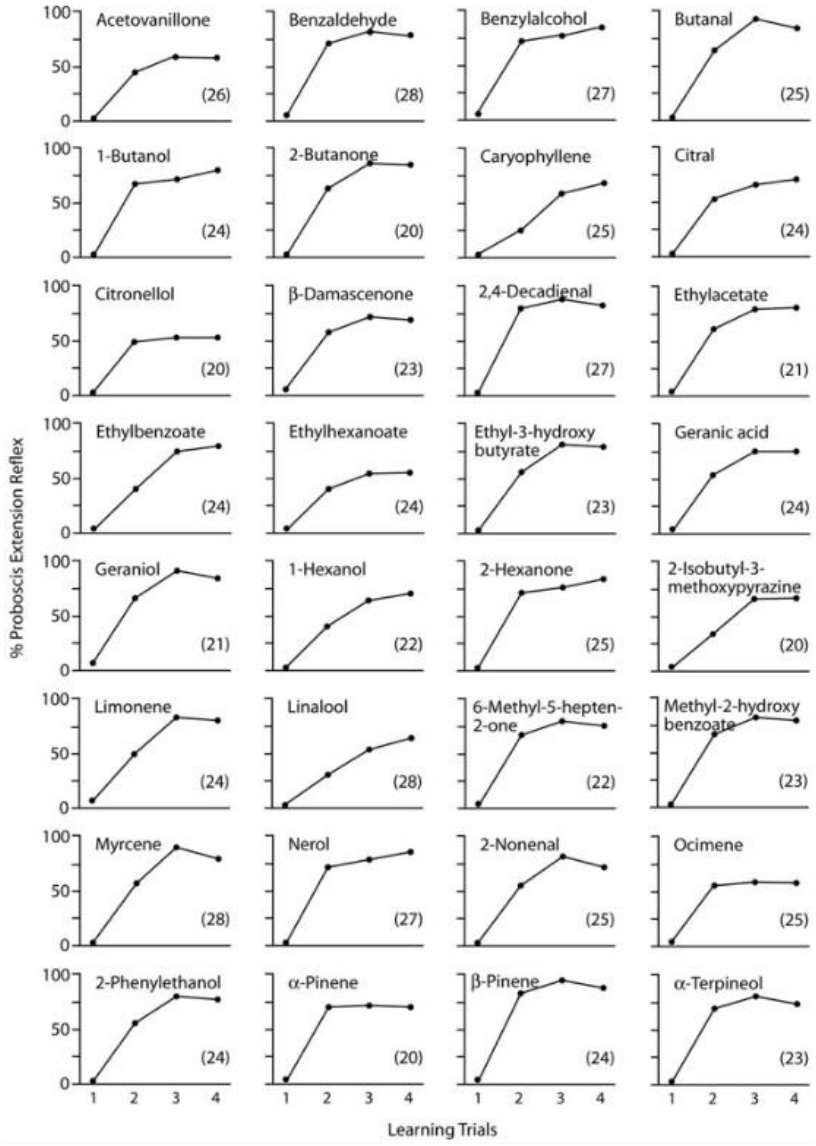
วิธีการทดลองที่เป็นมาตรฐานถูกดัดแปลงและแก้ไขจากวิธีการทดลองของ Takeda โดยเปลี่ยนจากการนำสารละลายน้ำตาลซูโครสแตะที่บริเวณขา เปลี่ยนมาแตะที่บริเวณหนวดแทนเพราะเนื่องจากที่บริเวณของหนวดของผึ้งนั้นมีอวัยวะรับกลิ่นและรับสารเคมีเป็นจำนวนมาก (Marshall, 1935) และออกแบบเพิ่มชุดควบคุมเข้าไปในการทดลอง โดยชุดควบคุมผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสเช่นเดียวกับชุดทดลอง แต่สิ่งเร้าที่เป็นกลิ่นจะถูกให้แยกกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเพื่อไม่ให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้ระหว่างสิ่งเร้าทั้งสองชนิด ในขณะที่ผึ้งในชุดทดลองสิ่งเร้าทั้งสองระหว่างกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสจะถูกให้พร้อมกัน เพื่อให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขตามหลักของ classical conditioning ที่สิ่งเร้าทั้งสองจะต้องถูกเชื่อมโยงกันและนำไปกระตุ้นแก่สิ่งมีชีวิตพร้อมกัน (paired conditioning)



ภาพที่ 10 ผลการทดลองเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (Unpaired) และชุดทดลอง (Paired)
ภาพจาก : Giurfa and Sandoz, 2012

2.5 การศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นในผึ้งให้น้ำหวานในปัจจุบัน

กลิ่นเป็นสิ่งเร้าที่เป็นหนึ่งพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการรับความรู้สึกของแมลงพวกที่ช่วยผสมเกสรหรือแมลงในกลุ่มที่หากินจากพืชดอก โดยเฉลี่ยแล้วกลิ่นจากดอกไม้ประกอบไปด้วย 20-60 กลิ่นที่แตกต่างกัน แต่กลิ่นส่วนใหญ่ที่พบในดอกไม้จะเป็นสารจำพวกเทอร์พีนหรืออนุพันธ์ของเทอร์พีน สารจำพวกแอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ คีโตน และเอสเตอร์ (Knudsen et al., 2006) ผึ้งให้น้ำหวานมีหนวดสองข้างที่ประกอบไปด้วย 3,000 หน่วยรับสัมผัสและด้วยประสาทสัมผัสที่ดีเหล่านี้เองจึงทำให้ผึ้งสามารถเรียนรู้และจำแนกกลิ่นได้มากกว่า 100 กลิ่น (Halter, 2011) ทั้งที่เป็นกลิ่นเฉพาะตัวและกลิ่นทั่วไป โดยยึดหลักพื้นฐานของโครงสร้างทางโมเลกุลของกลิ่น ได้แก่ ความยาวของสายคาร์บอน รวมไปถึงหมู่ฟังก์ชันและจำนวนหมู่ฟังก์ชันที่ต่อบนสายคาร์บอนนั้น ๆ (Laska and Teubner, 1999: Laska M and Galizia, 2001) และกลิ่นยังเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการหาอาหารไม่ว่าจะเป็นเกสร น้ำหวาน ยางไม้ รวมไปถึงฟีโรโมนอีกด้วย (Halter, 2011) รายงานการศึกษาของ Reinhard และคณะพบว่าเมื่อผึ้งให้น้ำหวานชนิด *A. mellifera* ได้รับฝึกให้เกิดการเรียนรู้แก่กลิ่นเป็นจำนวน 4 ครั้งในระยะเวลา 2 วัน (ฝึก 3 ครั้งแรกในวันที่หนึ่งและฝึกอีก 1 ครั้งในวันที่สอง) พบว่าผึ้งสามารถเกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นได้มากถึง 32 กลิ่น โดยที่เขาใช้ทดลองส่วนใหญ่เป็นสารประเภท เทอร์พีน เอสเตอร์ แอลกอฮอล์ คีโตน และแอลดีไฮด์ เป็นต้น (Reinhard et al, 2010) (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 แนวโน้มการตอบสนองและการเกิดพฤติกรรม PER ในผึ้งพันธุ์ 32 กลุ่มตัวอย่างต่อกลิ่น 32 ชนิด โดยที่ผึ้งเหล่านี้ถูกนำมาฝึกเป็นจำนวน 4 ครั้ง (learning trials) ในระยะเวลาสองวัน (ตัวเลขในวงเล็บแสดงถึงจำนวนตัวที่ถูกนำมาทดลองในแต่ละกลิ่น)

ภาพจาก : Reinhard et al., 2010

จากงานศึกษาของ Reinhard และคณะ แสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองและเรียนรู้ต่อสารได้หลายชนิดไม่จำเป็นจะต้องเป็นเพียงแค่กลิ่นหรือสารจากดอกไม้ในธรรมชาติเท่านั้น แต่ยังสามารถใช้กลิ่นหรือสารเคมีสังเคราะห์อื่นได้ และในปัจจุบันนอกจากการทดลองพฤติกรรมการเรียนรู้ในผึ้งพันธุ์แล้วยังมีรายงานและการศึกษาในผึ้งให้น้ำหวานชนิดอื่นด้วย เช่น ชันโรง (Henske et al., 2015) ผึ้งโพรง (Wang and Tan, 2014) ผึ้งมิ้ม (Kaspi and Shafir, 2013) ยังมีรายงานว่าผึ้งในกลุ่มอื่นนอกจากผึ้งให้น้ำหวานแล้วก็สามารถเกิดการเรียนรู้ได้ เช่น ผึ้งหึ่ง (bumble bee) (Laloi et al., 1999; Laloi and Pham-Dele`gue, 2004) อย่างไรก็ตามการทดลอง

PER หรือความสามารถในการเรียนรู้ไม่ได้สามารถทำได้ในผึ้งทุกชนิดจะมีผึ้งบางชนิดหรือบางกลุ่มไม่สามารถทำได้ ตัวอย่างเช่น ผึ้งกัดใบ (Megachilid) (Vorel and Pitts-Singer, 2010) เป็นต้น

2.6 การประยุกต์ใช้ผึ้งจากพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น

Los Alamos National Laboratory เป็นองค์กรวิจัยทางทหารแห่งประเทศสหรัฐอเมริกาเห็นถึงความสามารถในการเรียนรู้ของผึ้งและได้นำผึ้งพันธุ์มาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบวัตถุระเบิดที่ประกอบขึ้นจากสาร 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) ที่คล้ายกับการใช้สุนัขตรวจหาวัตถุระเบิดหรือยาเสพติด เนื่องจากว่าผึ้งมีจำนวนปริมาณมากและยังสามารถจัดการเลี้ยงดูได้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับสุนัข โดยทำการทดสอบพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขกับผึ้งพันธุ์ด้วยวิธี olfactory conditioning โดยดูจากพฤติกรรม PER พบว่า ผึ้งพันธุ์สามารถเกิดพฤติกรรมการเรียนรู้และการจดจำแบบมีเงื่อนไขได้ โดยสามารถเกิดพฤติกรรม PER ได้หลังจากที่ได้รับกลิ่น TNT โดยงานวิจัยของ Taylor-mccabe และคณะ (2008) รายงานเพิ่มเติมว่า ผึ้งพันธุ์สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น TNT ได้ที่อุณหภูมิในช่วงระหว่าง 5–43 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบความสามารถในการจดจำหลังเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงพบว่า ผึ้งยังคงสามารถตอบสนองต่อกลิ่น TNT ได้ แต่การตอบสนองหรือการแสดงพฤติกรรม PER จะลดลง (ตารางที่ 2) (Taylor-mccabe et al., 2008) และเนื่องด้วยความสามารถของผึ้งพันธุ์นี้ ทางองค์กร Defense Advanced Research Projects Agency (DARPA) ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้คิดค้นเครื่องมือ Vasor 136 ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ภายในมีผึ้งพันธุ์บรรจุอยู่ ผึ้งพันธุ์เหล่านี้จะถูกฝึกให้เกิดพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและจะเกิดการตอบสนองแบบ PER เมื่อได้รับสิ่งเร้าที่มีองค์ประกอบเป็นสารประกอบวัตถุระเบิดที่สังเคราะห์จาก TNT (ภาพที่ 12) (Bajić, 2014) นอกจากการตรวจสอบระเบิดจาก TNT แล้วผึ้งพันธุ์ยังสามารถตรวจสอบระเบิดจากสาร 2,4-Drinitrotoluene (DNT) ได้ เนื่องจาก DNT เป็น byproduct จากการสังเคราะห์ระเบิด TNT อีกด้วย (Pennigton et al., 2006) (Urbanski, 1964) จึงสามารถใช้ DNT เป็นตัวชี้วัดการพบระเบิด TNT ได้

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของการพฤติกรรม PER ในผึ้งพันธุ์ที่ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ TNT ที่อุณหภูมิต่าง ๆ (ดัดแปลงจาก Taylor-mccabe et al., 2008)

Temperature (°C)	N		% Exhibition PER
43	79		72.15
	36		44.44
	40		87.50
	29		79.31
	31		35.48
		Mean	**63.78±22.63**
25	22		77.27
	55		41.82
	26		38.46
	20		85.00
	17		64.71
	20		85.00
		Mean	**65.38±20.94**
5	25		84.00
	29		75.86
	26		53.85
	27		33.33
		Mean	**61.76±22.83**

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของการพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ที่ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ TNT ในวันแรกเปรียบเทียบกับวันที่สองเพื่อดูความสามารถในการจดจำเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Taylor-mccabe et al., 2008)

Temperature (°C)	N	% Exhibition PER on Day 1	% Exhibition PER after 24 hr.
43	29	79.31	55.56
43	31	35.48	44.44
43	79	72.15	26.76
25	22	77.27	10.00
15	29	75.86	50.00
5	26	53.85	19.05
5	27	33.33	20.00
5	29	75.86	50.00
	Mean	62.89±19.29	Mean 34.38±17.45

จากที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนั้นจะเห็นได้ว่าผึ้งมีบทบาทสำคัญในการเรียนรู้เรื่องของพฤติกรรมและสามารถใช้เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบในการศึกษาพฤติกรรม แต่อย่างไรก็ดีผึ้งที่นิยมศึกษาและทดลองมักจะเป็นผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งเป็นผึ้งที่มีการกระจายตัวอยู่ทั่วโลกเพราะเป็นผึ้งที่ถูกเลี้ยงไว้เพื่อผลผลิต เช่น น้ำผึ้ง ไขผึ้ง เป็นต้น แต่ในประเทศไทยมีผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ซึ่งเป็นผึ้งให้น้ำหวานที่มีการดำรงชีวิตและรูปร่างลักษณะเหมือนกับในผึ้งพันธุ์แต่กลับมีรายงานและการศึกษาที่ยังคงน้อยอยู่ หากเราสามารถนำผึ้งโพรงมาทดสอบความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อสารได้ อย่างเช่นการนำมาตรวจระเบิด ผึ้งโพรงเหล่านี้ก็จะมีประโยชน์มากยิ่งขึ้นและจะทำให้ได้รับความสนใจทั้งทางด้านการวิจัยและการศึกษาเพิ่มมากขึ้น เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลให้กับผึ้งโพรงในประเทศไทยมากยิ่งขึ้นด้วย

ภาพที่ 12 เครื่องตรวจระเบิด Vasor 136 ภายในจะมีผึ้งที่สามารถตอบสนองและจะแสดงพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมาได้เมื่อผึ้งเหล่านี้ได้รับสารที่เกี่ยวข้องกับระเบิด

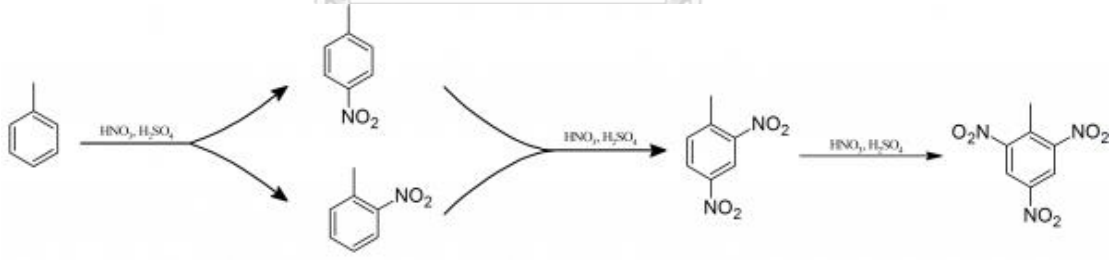
ภาพจาก : https://phys.org/news/2010-03-bee-sniffing-technology-dangerous-vapors.html

2.7 สารตั้งต้นในการทำระเบิดและชนิดของระเบิดที่ใช้ในปัจจุบัน

สารตั้งต้นในการทำระเบิดเป็นได้ทั้งของแข็งหรือของเหลวหรือสารผสมระหว่างของแข็งและของเหลว โดยสารเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้เอง โดยเกิดปฏิกิริยาทางเคมีทำให้เกิดโมเลกุลของแก๊สที่มีอุณหภูมิและความดันสูงที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่สภาพแวดล้อม กลุ่มสารเคมีที่นิยมนำมาทำเป็นระเบิดปัจจุบันมี 5 ชนิด เช่น TNT (2,4,6-Trinitrotoluene), TATP (Triacetone triperoxide), RDX (Cyclotrimethylenetrinitramine) PETN (Pentaerythriol tetranitrate) และ Aziroazide azide สาเหตุที่นิยมนำสารเคมีเหล่านี้มาทำระเบิดเนื่องจากว่าปฏิกิริยาทางเคมีของสารเหล่านี้ให้พลังระเบิดที่มีอำนาจทำลายล้างสูง อันเกิดมาจากการปลดปล่อยอนุภาคของแก๊สออกมาปริมาณมหาศาลและสารเคมีเหล่านี้เองจำเป็นจะต้องมีตัวจุดชนวนระเบิดถึงจะทำให้ระเบิดทำงานได้ ทั้งนี้ก็เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้ใช้ (Urbanski, 1964; Ketchell ,2017)

2.8 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาร 2,4-ไดไนโตรโทลูอีน (DNT)

DNT เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีรูปร่างเป็นผลึกสีเหลืองใส เป็นสารที่ละลายน้ำได้ไม่ดี มีค่าการละลาย 270 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีจุดหลอมเหลวที่ 71 องศาเซลเซียส มีสูตรโครงสร้างเป็น $C_7H_6N_2O_4$ และจัดเป็นสารชนิดไนโตรอะโรมาติกที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ระเบิดและยังใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตโฟมและพลาสติก โดย DNT มีรูปแบบโครงสร้างโมเลกุลทั้งหมด 6 ไอโซเมอร์ แต่ส่วนมากจะพบเพียงแค่ 2 โครงสร้าง ได้แก่ 2,4-DNT และ 2,6-DNT โดยปกติแล้ว DNT จะไม่สามารถพบได้ในธรรมชาติได้ แต่จะพบได้ที่บริเวณที่เป็นเขตทหาร ท่อน้ำทิ้งและบริเวณดินที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมการผลิตอาวุธ (Clausen et al., 2011) โดยปกติ DNT จะถูกสร้างขึ้นจากการรวมตัวกันของโทลูอีน (toluene) กรดไนตริกและซัลฟิวริก และจะได้เป็นสาร intermediate หรือสารตัวกลางที่จะนำไปสังเคราะห์ 2,4,6-ไตรไนโตรโทลูอีน หรือ 2,4,6-TNT ที่เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับระเบิด จึงทำให้พบสาร 2,4-DNT และ 2,6-DNT ในระหว่างการสังเคราะห์ TNT และใช้เป็นตัวชี้วัดระเบิดได้ (Han et al., 2011)



ภาพที่ 13 การสังเคราะห์ 2,4,6-ไตรไนโตรโทลูอีน (TNT) ที่ถูกใช้ในการทำระเบิด โดยผ่านกระบวนการเติมกรดไนตริกและซัลฟิวริก ที่ตำแหน่ง 2, 4 และ 6 บนโครงสร้างของวงเบนซีน

ภาพจาก : https://www.prepchem.com/synthesis-of-2-4-6-trinitrotoluene

บทที่ 3

วิธีการศึกษา

3.1 การค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

3.2 การเตรียมสารละลายน้ำตาลซูโครส สารละลายกลิ่นและเครื่องควบคุมกลิ่นที่จะนำมาทดสอบพฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้ง

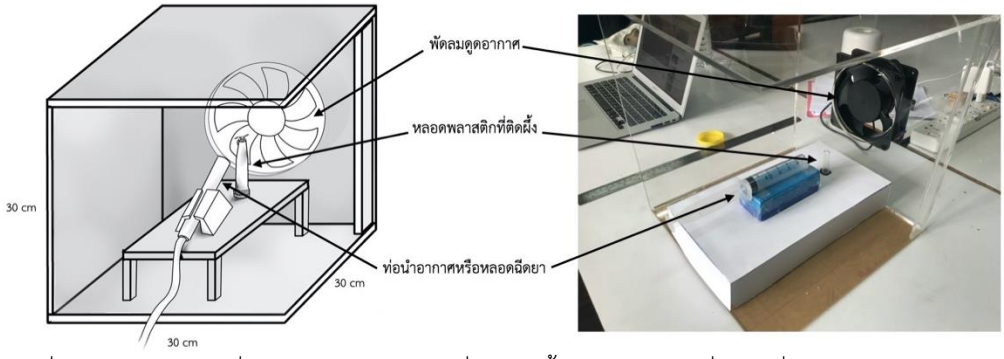
3.2.1 สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v เพื่อใช้เป็นสิ่งเร้าที่ไม่แท้จริง (Unconditioned stimulus, US) และใช้เป็นอาหารสำหรับผึ้ง เตรียมโดยการนำน้ำตาลซูโครส 500 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วคนให้สารละลายเข้ากันที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2.2 สารละลายที่จะใช้นำมาเป็นกลิ่นสำหรับการศึกษาเบื้องต้น (preliminary study) และเพื่อใช้เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขแก่ผึ้ง (Conditioned stimulus, CS) โดยสารละลายกลิ่นที่ใช้มี 2 ชนิด ได้แก่ กลิ่นมะลิสังเคราะห์ (ส่วนประกอบ โพรพิลีนไกลคอล 40%, น้ำ 25.43%, กลิ่นมะลิ 24.57% และเอทิลแอลกอฮอล์ 10%) และบิวทานอล สารทั้งสองชนิดจะนำมาละลายและเจือจางกับเอทิลแอลกอฮอล์ด้วยอัตราส่วน 1:5

3.2.3 สารละลาย 2,4 Dinitrotoluene (DNT) เพื่อใช้เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขแก่ผึ้ง (Conditioned stimulus, CS) เตรียมโดยนำสาร DNT ปริมาณ 250 มิลลิกรัมละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายใสสีเหลืองและใช้สารละลายเพียงส่วนใสเท่านั้น ส่วนตะกอนหรือสารที่ละลายไม่หมดจะไม่นำมาใช้ในการทดลอง (Phelan and Barnett, 2001)

3.2.4 เครื่องควบคุมและปล่อยกลิ่น ทำจากพลาสติกอะคริลิคใส ที่มีขนาดความกว้าง 30 เซนติเมตร ความยาว 30 เซนติเมตร และความสูง 30 เซนติเมตร หลอดฉีดยาให้ผลักอากาศภายในด้วยความเร็ว 4 มิลลิลิตรต่อวินาที (ภาพที่ 14)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



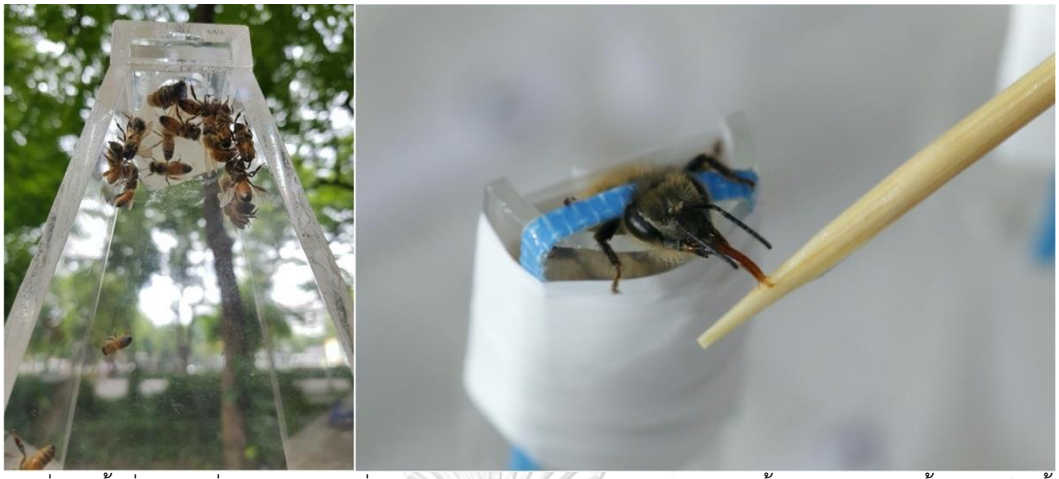
ภาพที่ 14 แบบจำลองเครื่องควบคุมและปล่อยกลิ่นให้กับผึ้ง (ซ้าย) ภาพเครื่องมือที่ใช้ทดลองจริง (ขวา) เป็นรูปทรงลูกบาศก์ทำจากพลาสติกอะคริลิคใสที่เปิดทางเดินหน้าและด้านข้าง

3.3 การจับผึ้ง การเตรียมผึ้งและการคัดเลือกผึ้งก่อนที่จะนำมาทดลอง (วิธีดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012)

การทดลองทำในช่วงระหว่าง เดือนพฤษภาคม 2561 ถึงเดือนมีนาคม 2563 ผึ้งที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นผึ้งให้น้ำหวาน (honey bee) สายพันธุ์ยุโรป (European honey bee) หรือผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* และสายพันธุ์เอเชีย (Asian-cavity nesting honey bee) หรือผึ้งโพรง *Apis cerana* ชนิดละ 3 รัง มีประชากรภายในรังประมาณ 9,000 ถึง 10,000 ตัว โดยที่ผึ้งพันธุ์ได้นำมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยงที่จังหวัดลพบุรีและผึ้งโพรงได้จากสวนของชาวบ้านที่เพาะเลี้ยงผึ้งโพรงจากจังหวัดราชบุรี ผึ้งเหล่านี้ถูกนำมาเลี้ยงและดูแลในพื้นที่ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย เพื่อให้แน่ใจว่าผึ้งที่จะนำมาทดลองมีช่วงอายุใกล้เคียงกัน ผู้วิจัยจึงเลือกจับผึ้งด้วยสวิงที่บริเวณหน้ารังหรือผึ้งที่บินออกจากรัง ซึ่งพวกเหล่านี้เป็นผึ้งในกลุ่มของผึ้งที่มีหน้าที่หาอาหาร (foragers) จะมีอายุใกล้เคียงกัน ผู้วิจัยจับผึ้งในช่วงเช้าช่วงเวลาประมาณ 10.00–12.00 น. ผึ้งที่จับได้จะถูกนำมาที่ห้องปฏิบัติการและนำไปใส่หลอดแก้วขนาด 15 มิลลิลิตร แยกแต่ละตัวไว้ หลอดแก้วที่มีผึ้งอยู่ภายในจะถูกนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลาประมาณ 3–5 นาที เพื่อให้ผึ้งสลบและหยุดการเคลื่อนไหว หลังจากนั้นนำผึ้งที่สลบไปติดหลอดพลาสติกขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร โดยทำการติดเทปกาวที่บริเวณระหว่างส่วนอกและส่วนหัวของผึ้ง ผึ้งที่ถูกติดเทปจะสามารถขยับได้เพียงแค่ส่วนหัวและปากเท่านั้น (ภาพที่ 15) ผึ้งเหล่านี้จะได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v อย่างเต็มอิ่มโดยการนำไม้จิ้มฟันจุ่มลงในสารละลายน้ำตาลซูโครสแล้วไปแตะที่บริเวณหนวดผึ้ง ผึ้งจะเกิดพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมา แล้วจึงทำการป้อนสารละลายน้ำตาลให้แก่ผึ้งได้กิน หลังจากนั้นนำผึ้งไปปรับสภาพที่ห้องมืดเป็นเวลาอย่างน้อย 20–22 ชั่วโมงก่อนที่จะนำมาทดลอง

นำผึ้งที่ปรับสภาพแล้วมาทดสอบพฤติกรรม PER ก่อนที่จะนำไปทดลองจริง โดยการนำสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 50% w/v แตะไปที่บริเวณที่หนวดของผึ้ง 3 ครั้ง ผึ้งจะต้องมีการตอบสนองโดยการแลบลิ้นออกมาทั้งหมด 3 ครั้ง (ภาพที่ 16) นอกจากนี้ผึ้งจะถูกทดสอบการได้รับกลิ่นมะลิ โดยทำการปล่อยกลิ่นมะลิให้แก่ผึ้งเป็นเวลา 6 วินาที (ดูดสารละลาย 6 ไมโครลิตรหยดลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร แล้วนำกระดาษกรองไปใส่หลอดฉีดยาขนาดปริมาตร 20 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นแหล่งกำเนิดและปล่อยกลิ่นแก่ผึ้ง) ผึ้งจะต้องไม่เกิดการแสดงพฤติกรรมใด ๆ ทั้งสิ้น รวมไปถึงพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาหรือ PER ต้องไม่เกิดด้วยเช่นกัน ผึ้งที่ผ่านการทดสอบทั้งสองขั้นตอนที่ได้กล่าวมานี้จะถูกเลือกนำมาทำการทดลองในลำดับถัดไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



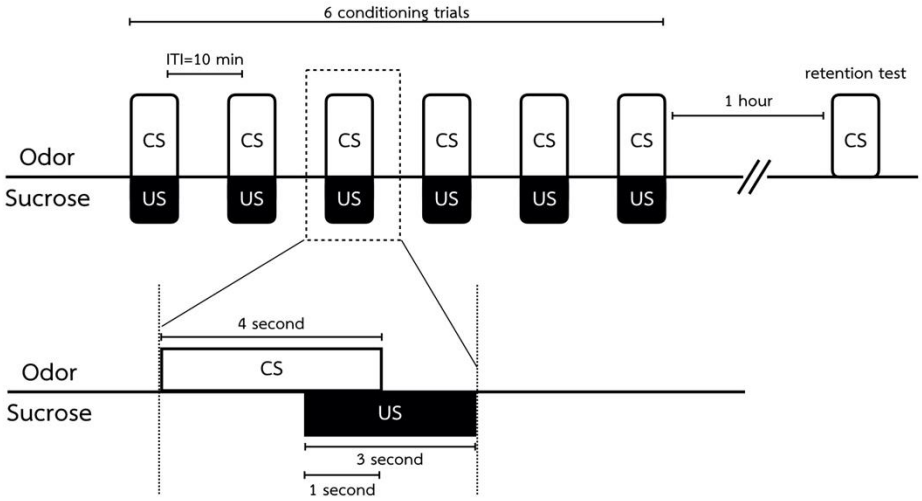
ภาพที่ 15 ผึ้งที่ถูกจับเพื่อเตรียมนำมาที่ห้องปฏิบัติการ (ซ้าย) การให้สารละลายน้ำตาลซูโครสแก่ผึ้ง โดยใช้ไม้จิ้มฟันจุ่มลงในสารละลายน้ำตาลซูโครสแล้วนำไปแตะที่บริเวณหนวดของผึ้งแล้วให้ผึ้งจะเกิดการตอบสนองโดยการแลบลิ้นแล้วจึงให้ผึ้งกินสารละลายน้ำตาลซูโครส (ขวา)

ภาพที่ 16 ผึ้งที่ถูกจับเพื่อที่จะนำมาทดลอง (ซ้าย) ผึ้งถูกติดเทปกาวที่บริเวณส่วนหัวและส่วนอก ผึ้งสามารถขยับบริเวณส่วนหัวได้และสามารถเกิดการแสดงพฤติกรรมการแลบลิ้นหรือพฤติกรรม PER ได้ โดยกลิ่น (CS) จะถูกกระตุ้นที่บริเวณหนวด (ปลายลูกศร) ในขณะที่สารละลายน้ำตาลซูโครส (US) จะกระตุ้นที่ลิ้นของผึ้ง (proboscis) (ขวา)

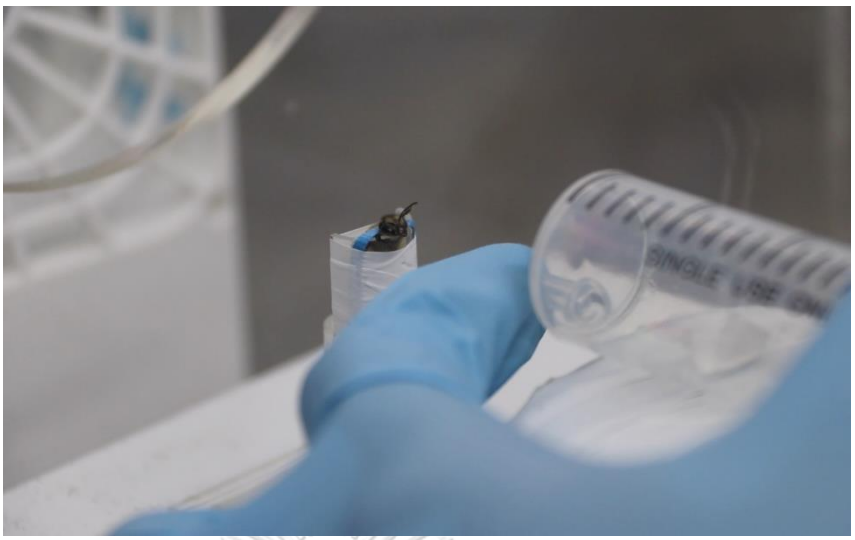
3.4 การศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นของผึ้งพันธุ์จากพฤติกรรม Proboscis Extension Response (PER) (วิธีดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012 และ Scheiner et al., 2013)

3.4.1 ชุดทดลอง (treatment, training) ในการสร้างการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขให้แก่ผึ้ง โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าระหว่างกลิ่นเงื่อนไข (ได้แก่ มะลิ Butanol และ DNT) (CS) และสารละลายน้ำตาลซูโครส 50% w/v (US) ไปพร้อม ๆ กัน (ภาพที่ 17) และการทดลองนี้ทำในช่วงเวลา 13.00 ถึง 14.00 น. ทำการทดลองโดยการปล่อยกลิ่นเงื่อนไขแก่ผึ้งเป็นเวลา 4 วินาที (อัตราเร็วในการปล่อยกลิ่น 4 มิลลิลิตรต่อวินาที) (ภาพที่ 19) หลังจากปล่อยกลิ่นเงื่อนไข แล้ว 3 วินาที นำสารละลายน้ำตาลซูโครส 50% w/v ไปแตะที่บริเวณ

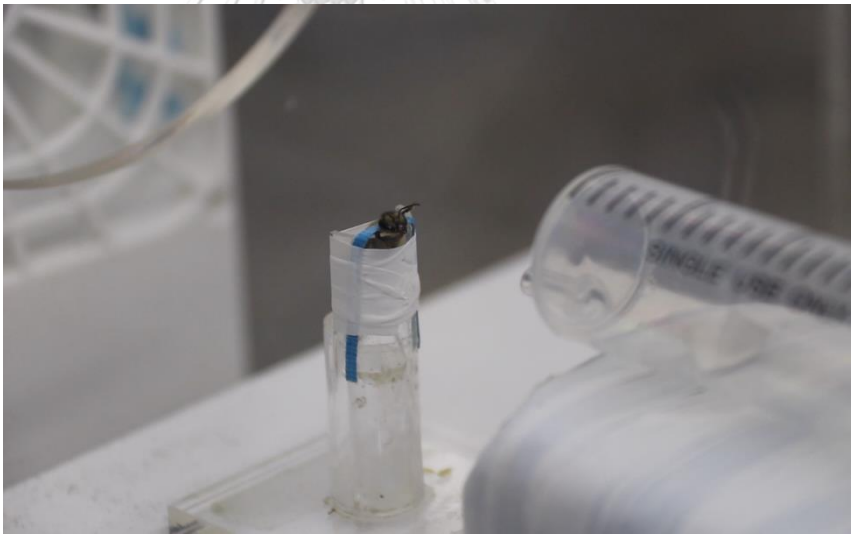
หนวดของผึ้งในขณะที่กำลังปล่อยกลิ่นอยู่ (ภาพที่ 20) ซึ่งผึ้งจะเกิดพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมา แล้วจึงป้อนสารละลายน้ำตาลซูโครส ให้แก่ผึ้งเป็นเวลา 3 วินาทีเพื่อเป็นรางวัลให้แก่ผึ้ง (ภาพที่ 21) ทำซ้ำเช่นเดิม 6 ครั้ง โดยแต่ละครั้งให้เว้นช่วงห่างกันเป็นเวลา 10 นาที (Interval Time, ITI) ทำการจดบันทึกทุกครั้งในขณะที่กำลังปล่อยกลิ่น 3 วินาทีแรกก่อนที่จะมีการให้สาระละลายน้ำตาลซูโครสแก่ผึ้ง ถ้าผึ้งมีการแสดงพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมาให้บันทึกว่าเป็นผลบวก (positive) แต่ถ้าหากผึ้งไม่ได้เกิดตอบสนองพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาจะบันทึกว่าเป็นผลลบ (negative) การทำซ้ำเช่นเดิมจะทำให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้และการจดจำกลิ่นมะลิ



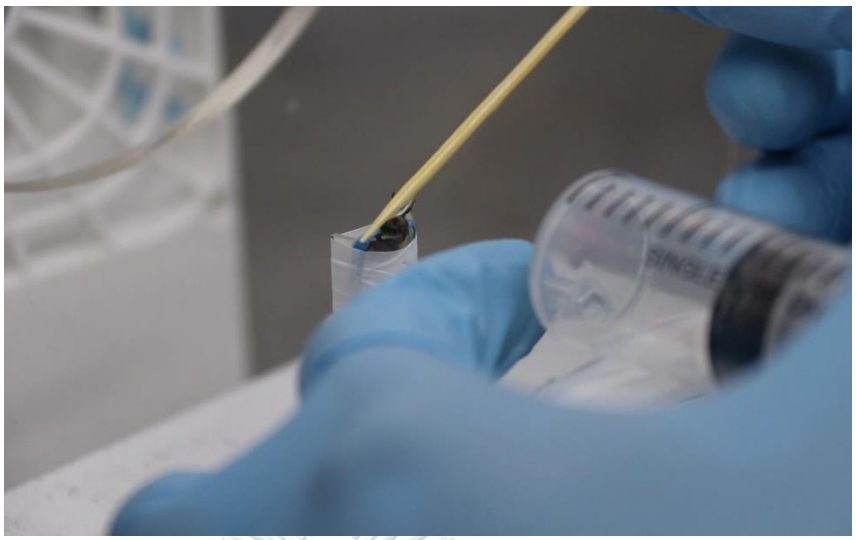
ภาพที่ 17 แผนภาพการทดลองให้กลิ่น (CS, แท่งสีขาว) และการให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครส (US, แท่งสีดำ) โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสพร้อมกัน การฝึกผึ้งในแต่ละครั้งหรือการให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition) จะทำทั้งหมด 6 ครั้ง และในแต่ละครั้งมีช่วงเวลาห่างกัน 10 นาที (Interval Time, ITI) และผึ้งถูกพัก 1 ชั่วโมงจึงถูกนำมาทดสอบความสามารถในการตอบสนองและความจำอีกครั้ง (retention test) (แผนภาพดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012)



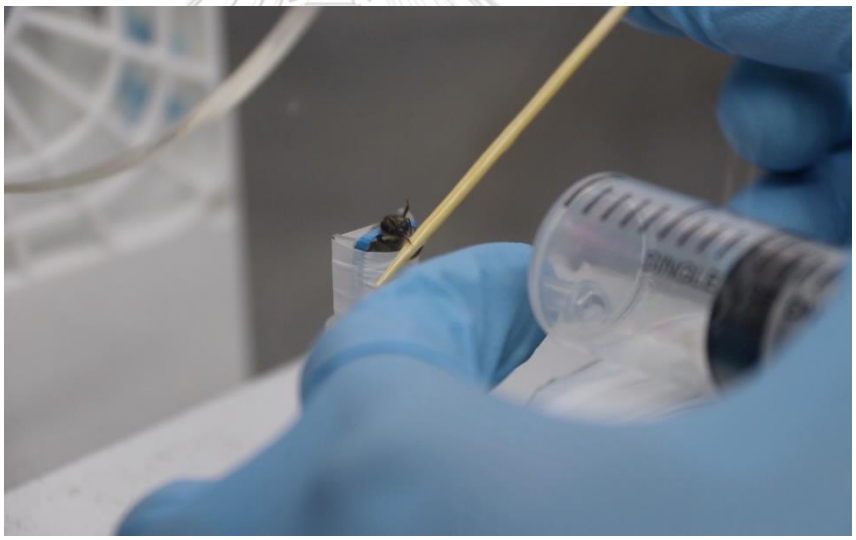
ภาพที่ 18 ผึ้งที่ถูกนำมาวางที่แท่นวางให้ห่างจากปลายหลอดฉีดยาเป็นระยะ 3 เซนติเมตร และใช้นิ้วอัดที่ปลายหลอดฉีดยาเพื่อยับยั้งกลิ่นที่อยู่ภายในหลอดฉีดยาและให้ผึ้งได้พักและปรับสภาพอย่างน้อย 10 วินาทีก่อนทำการฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น



ภาพที่ 19 ผึ้งได้รับกลิ่นโดยการดันหลอดฉีดยาอย่างช้า ๆ ไปที่บริเวณหนวดและส่วนหัวของผึ้งที่ถูกจับด้วยอัตราเร็ว 4 มิลลิลิตรต่อวินาที เป็นเวลาทั้งหมด 4 วินาที



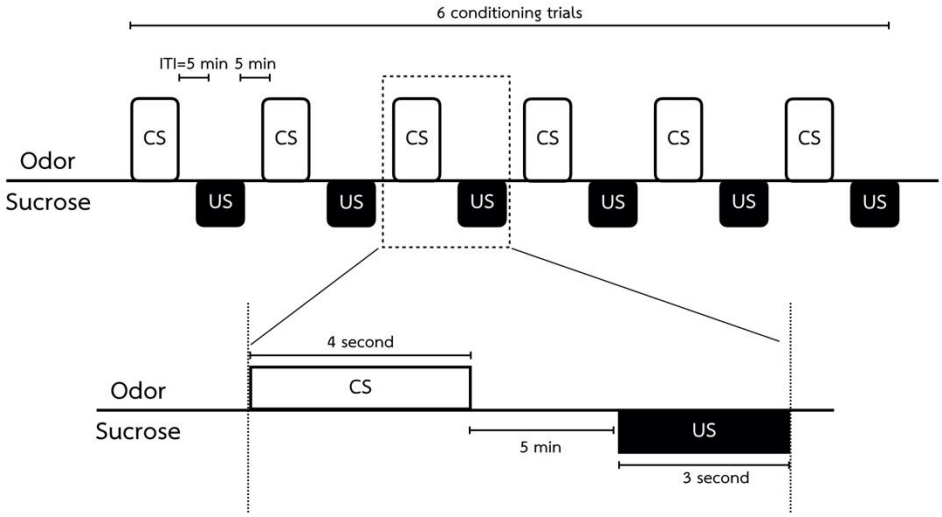
ภาพที่ 20 ผึ้งถูกกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสโดยการนำไม้จิ้มฟันที่จุ่มในสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v มาแตะที่บริเวณหนวดของผึ้ง หลังจากที่ผึ้งได้รับกลิ่นเป็นเวลา 3 วินาที



ภาพที่ 21 ผึ้งเกิดการแสดงพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมา ผึ้งจะได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสโดยการนำไม้จิ้มฟันที่จุ่มในสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v เป็นเวลาอย่างน้อย 3 วินาที ก่อนจะดึงไม้จิ้มฟันออก และในขณะเดียวกันระหว่างให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครสกลิ่นจะถูกยับยั้งไม่ให้ออกมาจากปลายหลอดฉีดยาด้วยการอุดและปิดด้วยนิ้วมือ

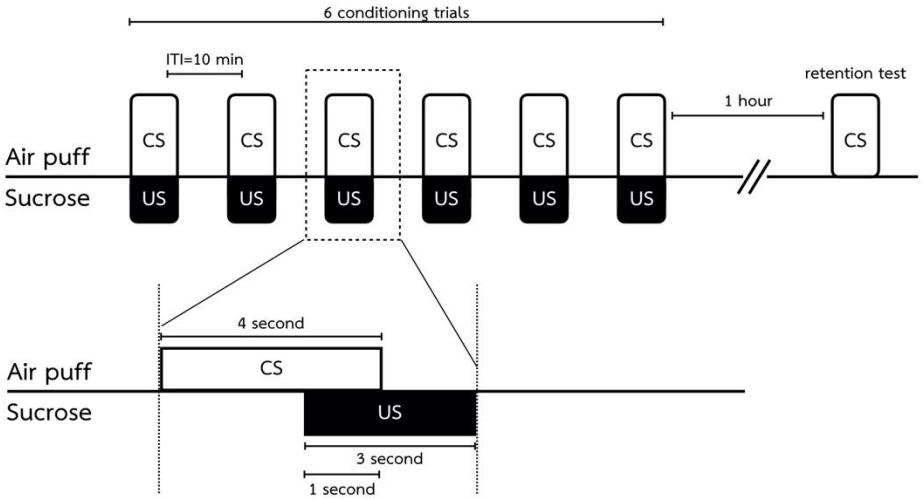
3.4.2 ชุดควบคุม (control, non-training) ทำการทดลองคล้ายเช่นเดียวกับในชุดทดลอง 3.4.1 โดยการปล่อยกลิ่น (CS) และการให้สารละลายน้ำตาลซูโครสแก่ผึ้ง (US) เช่นเดิม แต่สิ่งเร้าทั้งสองอย่างจะถูกให้แยกออกจากกัน ไม่ได้ให้พร้อมกันเหมือนอย่างในชุดทดลอง เพื่อไม่ให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้ระหว่างสิ่งเร้าทั้งสองอย่างนี้ (ภาพที่ 22) แล้วทำการบันทึกผลเช่นเดียวกับชุดทดลอง โดยในขั้นแรกผึ้งจะได้รับกลิ่นเป็น

เวลา 4 วินาที หลังจากนั้นนำผึ้งไปพักเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำผึ้งมากระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสที่หนวดแล้วให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครสเป็นเวลา 3 วินาที แล้วปล่อยให้ผึ้งได้พักอีกเป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำเช่นเดิมจนครบทั้งหมด 6 รอบและการทดลองนี้ทำในช่วงเวลา 13.00 ถึง 14.00 น. เช่นเดียวกับในชุดทดลอง



ภาพที่ 22 แผนภาพการทดลองให้กลิ่น (CS, แท่งสีขาว) และการให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครส (US, แท่งสีดำ) โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสจะถูกให้แยกออกจากกัน การฝึกผึ้งในแต่ละครั้งหรือการให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition) จะทำทั้งหมด 6 ครั้ง และในแต่ละครั้งมีช่วงเวลาห่างกัน 5 นาที (Interval Time, ITI) (แผนภาพดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012)

3.4.3 ชุดทดลองพิเศษ (treatment, air-puff training) เพื่อดูความสามารถในการตอบสนองต่อแรงลมของผึ้งโดยการปล่อยแรงลมจะใช้ความดันและแรงลมในอัตราเร็วที่เท่ากับการปล่อยกลิ่นในหัวข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 (4 มิลลิลิตรต่อวินาที) จุดประสงค์หลักของชุดทดลองนี้เพื่อดูว่าแรงลมส่งผลต่อการเรียนรู้ของผึ้งหรือไม่และผึ้งจะสามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อแรงลมได้มากน้อยเพียงใด โดยชุดทดลองนี้ทำคล้ายกับในชุดทดลองในหัวข้อ 3.4.1 แต่จะมีเพียงแค่ลมเท่านั้น ไม่ได้ใส่สารละลายให้กลิ่นใด ๆ ในหลอดฉีดยาที่เป็นตัวปล่อยกลิ่น (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 แผนภาพการทดลองให้ลมบริสุทธิ์ (CS, แท่งสีขาว) และการให้ผึ้งได้กินสารละลายน้ำตาลซูโครส (US, แท่งสีดำ) โดยผึ้งจะได้รับสิ่งเร้าทั้งลมและสารละลายน้ำตาลซูโครสพร้อมกัน การฝึกผึ้งในแต่ละครั้งหรือการให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition) จะทำทั้งหมด 6 ครั้ง และในแต่ละครั้งมีช่วงเวลาห่างกัน 10 นาที (Interval Time, ITI) (แผนภาพดัดแปลงจาก Matsumoto et al., 2012)

3.5 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่น เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งได้รับการฝึกให้เรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น

เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาทีหลังจากที่ผึ้งได้ถูกฝึกให้เรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นแล้ว ผึ้งเหล่านี้จะถูกทดสอบว่ามีความสามารถการเรียนรู้และการจดจำแบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นหรือไม่ โดยทำการปล่อยกลิ่นเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 6 วินาที โดยที่ไม่ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสเป็นรางวัลและไม่มีการกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส แล้วสังเกตว่าผึ้งมีพฤติกรรมการตอบสนองโดยการแลบลิ้นออกมาหรือไม่ ถ้าผึ้งมีการแสดงพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมา แสดงว่าผึ้งมีการเรียนรู้ต่อกลิ่นที่ใช้เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข แต่ถ้าผึ้งไม่แสดงพฤติกรรมแลบลิ้นออกมา แสดงว่าผึ้งไม่มีความสามารถในการเรียนรู้ต่อกลิ่นสิ่งเร้าเงื่อนไข แล้วทำการจดบันทึกจำนวนผึ้งตัวที่มีการแสดงพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาและไม่แลบลิ้นออกมาในขณะที่ปล่อยกลิ่น ถ้าผึ้งมีการเกิดพฤติกรรมแลบลิ้นออกมาให้บันทึกว่าเป็นผลบวก (positive) แต่ถ้าหากผึ้งไม่ได้เกิดตอบสนองพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาจะบันทึกว่าเป็นผลลบ (negative) ทำการทุดลองเช่นนี้ทั้งในชุดทดลองและชุดควบคุม เพื่อดูความสามารถในการตอบสนองและการเรียนรู้ของผึ้ง ว่าผึ้งสามารถเรียนรู้และจดจำกลิ่นได้หรือไม่

ผึ้งเหล่านี้จะได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครส 50% w/v อย่างเต็มอิ่มและถูกนำไปเก็บไว้ที่ห้องมืดดังเดิม เพื่อให้ผึ้งลดความเครียด ผึ้งถูกเก็บและพักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำกลับมาทดสอบความสามารถในเรียนรู้และการจดจำอีกครั้งหนึ่ง (retention test) เมื่อทดสอบความสามารถในการจดจำเสร็จเรียบร้อยก็จะนำไปเก็บและพักเป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำกลับมาทดสอบความสามารถในการจดจำอีกครั้ง เพื่อดูความสามารถในการจดจำเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง

3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การแสดงพฤติกรรม PER หรือการที่ผึ้งแลบลิ้นออกมาในระว่างที่ผึ้งได้รับกลิ่นจะถูกบันทึกในช่วงระหว่างการทดลองทั้งหมด 6 ครั้งและบันทึกหลังจากที่ผึ้งได้พักเป็นเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง การบันทึกจะเป็นในรูปแบบ Binary คือ ถ้ามีการแสดงพฤติกรรม PER จะบันทึกเป็นเลข 1 ในขณะที่ถ้าไม่มีการแสดงพฤติกรรมจะบันทึกเป็นเลข 0 การคำนวณจะนำเสนอในรูปของเปอร์เซ็นต์สัดส่วนที่ได้จาก จำนวนผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER ต่อจำนวนผึ้งทั้งหมดที่ทดลอง โดยการวิเคราะห์สถิติทั้งหมดจะใช้โปรแกรม SPSS ver. 22.0 และใช้โปรแกรม GraphPad Prism 6 ในการทดสอบความแตกต่างของค่าหรือปัจจัยอื่น ๆ และใช้สร้างกราฟเพื่อแสดงผลการทดลอง

$$\%\ \text{การแสดงพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้น} = \frac{\text{จำนวนผึ้งที่แสดงพฤติกรรมการแลบลิ้น}}{\text{จำนวนผึ้งทั้งหมด}} \times 100$$

3.6.1 การทดสอบการกระจายตัวของข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งหมดจะถูกทดสอบด้วย Kolmogorov–Smirnov test และ Shapiro-Wilk test เพื่อดูการกระจายตัวของข้อมูลว่ามีการกระจายตัวเป็นแบบพาราเมตริก (parametric) หรือแบบนอนพาราเมตริก (non-parametric) เพื่อให้ใช้สถิติทดสอบได้ตรงกับรูปแบบการกระจายตัวของข้อมูลและทุกการทดสอบสถิติจะใช้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6.2 การทดสอบความสามารถในการเรียนรู้ต่อกลิ่นในผึ้งให้น้ำหวานแต่ละชนิด

ความสามารถในการเรียนรู้ การตอบสนองต่อกลิ่นต่าง ๆ และอัตราการเรียนรู้ของผึ้งแต่ละชนิดจะถูกทดสอบด้วย ANOVA และ Post-Hoc test โดยใช้ Tukey’s test เพื่อทดสอบความแตกต่างความสามารถในการเรียนรู้ในแต่ละ trial ของการฝึกเมื่อข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวปกติ หรือใช้ Cochran’s Q test และ McNemar Test เพื่อทดสอบความแตกต่างความสามารถในการเรียนรู้ในแต่ละ trial เมื่อข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวไม่ปกติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.6.3 การทดสอบความสามารถในการจดจำต่อกลิ่นที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงในผึ้งให้น้ำหวานแต่ละชนิด

ความสามารถในการจดจำของผึ้งหลังจากที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข หลังจากการฝึกให้เกิดการเรียนรู้ทั้งหมด 6 ครั้ง ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง โดยใช้ Wilcoxon Signed-Ranked test หากข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ หรือใช้ McNemar test หากข้อมูลมีการกระจายตัวไม่ปกติ

3.6.4 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่นระหว่างผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง

ถ้าข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวปกติจะใช้ Independent t-test แต่ถ้าหากข้อมูลมีการกระจายตัวไม่ปกติจะใช้ Mann-Whitney U test เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้ระหว่างผึ้งทั้งสองชนิด โดยจะทำการเปรียบเทียบทุก ๆ trial ของการฝึก และเปรียบเทียบความสามารถในการจดจำที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากการฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

บทที่ 4

ผลการศึกษา

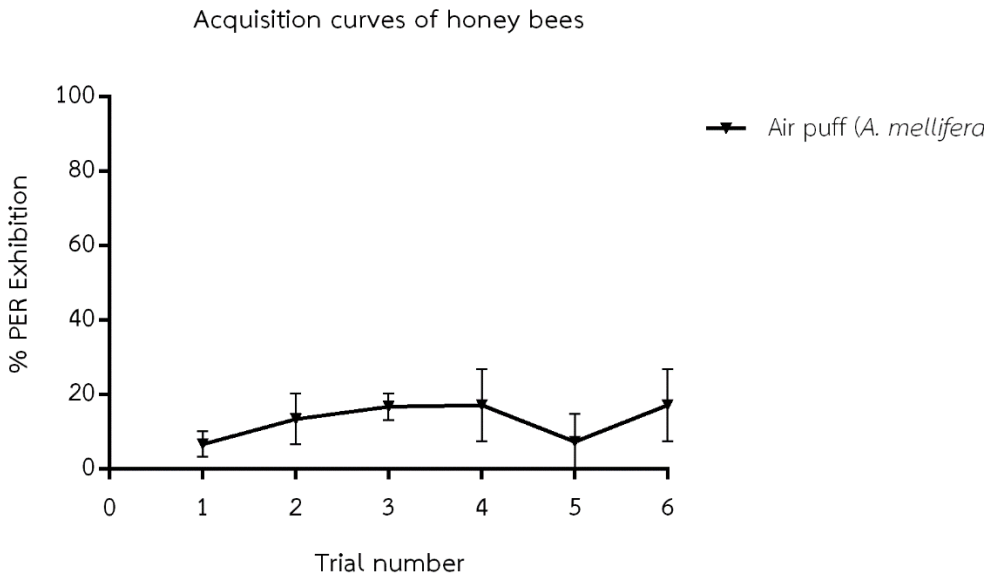
4.1 การศึกษาเบื้องต้น Preliminary study

เนื่องด้วยวิธีการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Bittermann et al. (1983) และงานวิจัยของ Matsumoto et al. (2012) ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของกระบวนการและวิธีการทดลองทางพฤติกรรมในผึ้ง โดยใช้สิ่งเร้าเงื่อนไขที่เป็นกลิ่นสองชนิด ได้แก่ กลิ่นมะลิสังเคราะห์ซึ่งเป็นกลิ่นที่ใช้ในการผสมอาหารและบิวทานอลที่เป็นเคมีสังเคราะห์ และในการศึกษาเบื้องต้นครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดลองกับผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) เพียงชนิดเดียวเท่านั้น

4.1.1 ผลของแรงลมที่มีผลต่อการเรียนรู้และการจดจำของผึ้ง

การปล่อยกลิ่นให้แก่ผึ้งที่ถูกจับในแต่ละครั้งของการทดลอง ลมเป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจจะส่งผลโดยตรงหรือโดยอ้อมต่อการเรียนรู้ของผึ้งได้ เพื่อให้แน่ใจว่าผึ้งที่ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นนั้น ได้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขกับกลิ่นที่เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขจริง ผู้วิจัยจึงออกแบบการทดลองนี้ เพื่อดูว่าแรงลมที่ปล่อยไปนั้นส่งผลต่อการเรียนรู้ของผึ้งหรือไม่ และผึ้งจะสามารถที่จะเรียนรู้และตอบสนองได้มากน้อยเพียงใด โดยสิ่งเร้าเงื่อนไขในการศึกษานี้จะมีเพียงแค่ลมเปล่า ๆ เท่านั้น และจะใช้อัตราการปล่อยลมเช่นเดียวกับในการทดลองกลิ่นอื่น

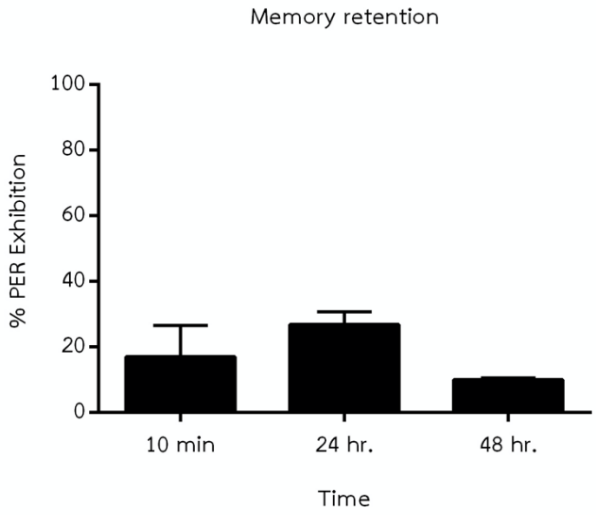
การศึกษานี้ทำเพียงแค่ในผึ้งพันธุ์ชนิดเดียวเท่านั้น โดยใช้จำนวนผึ้งทั้งหมด 30 ตัว จากผึ้งพันธุ์ทั้งหมด 2 รัง ทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อลมทั้งหมด 6 ครั้ง ผลการศึกษาพบว่า ผึ้งเกิดการตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER ในครั้งแรก 6.67±4.63% หลังจากผ่านการฝึกให้เกิดการเรียนรู้หนึ่งครั้ง ผึ้งสามารถตอบสนองต่อลมได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเป็น 13.33±6.31%, 16.67±6.92%, 16.67±6.92% ใน trial 2, 3 และ 4 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อทำซ้ำเช่นเดิมผลปรากฏว่าการตอบสนองและการแสดงพฤติกรรม PER ลดลงใน trial 5 เหลือเพียง 6.67±4.63% และกลับมาเกิดการแสดงพฤติกรรมนี้เพิ่มอีกครั้งเป็น 16.67±6.92% ในการฝึกครั้งสุดท้าย เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวไปทดสอบสถิติเพื่อดูความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อลมพบว่า ในการตอบสนองต่อลมของผึ้งในแต่ละ trial ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.063$, Cochran's $Q=10.484$, $df=5$, $N=30$) แสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์ไม่สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อแรงลมได้ ถึงแม้ว่าจากกราฟจะแสดงแนวโน้มว่ามีการเรียนรู้และการตอบสนองก็ตาม (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อลมของผึ้งพันธุ์

นอกจากนี้ยังดูความสามารถในการจดจำ (memory retention) ที่มีต่อแรงลม ผลปรากฏว่าเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาทีหลังจากที่ผึ้งให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อลมทั้งหมด 6 ครั้ง ผึ้งยังคงสามารถตอบสนองต่อแรงลมและเกิดพฤติกรรม PER เล็กน้อย 16.67±6.92% และมีการแสดงพฤติกรรมและตอบสนองเพิ่มสูงขึ้นเป็น 26.67±8.21% หลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงหลังจากการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข พบว่า การแสดงพฤติกรรม PER และการตอบสนองต่อลมนั้นลดลงเหลือเพียง 10.00±5.57% เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติก็พบว่า ทั้งสามช่วงเวลาหลังจากการฝึกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด (P=0.121, Cochran's Q=4.222, df=2, N=30) (ภาพที่ 25)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 25 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อลม เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) (Memory retention)

4.1.2 กลิ่นมะลิสังเคราะห์

การศึกษานี้อยู่ในช่วงระหว่าง เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม 2562 ผึ้งพันธุ์ที่มีหน้าที่หาอาหารหรือผึ้งที่พบบริเวณหน้ารังทั้งหมด 58 ตัว จากรังผึ้งพันธุ์ทั้งหมด 3 รัง ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อที่จะใช้ในการทดลอง โดยทำการแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ประกอบด้วยชุดทดลอง (treatment) จำนวน 33 ตัวและชุดควบคุม (control) จำนวน 25 ตัวโดยผึ้งที่จัดอยู่ในชุดทดลองจะถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิ (CS) ในขณะที่ผึ้งที่อยู่ในชุดควบคุมจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) เช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง แต่สิ่งเร้าที่ได้จะไม่ทำถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข ซึ่งทั้งกลิ่นมะลิและสารละลายน้ำตาลซูโครสจะถูกให้แยกจากกันอย่างอิสระ

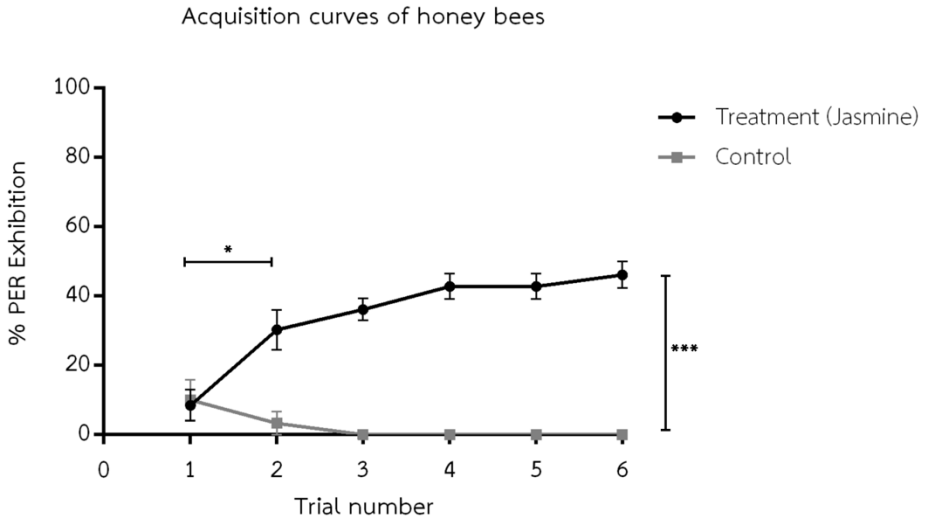
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.1.2.1 ความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิของผึ้งพันธุ์ (Acquisition performance)

หลังจากที่ผึ้งได้ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นมะลิและสารละลายซูโครสครั้งที่ 1 (trial 1) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ผึ้งในกลุ่มทดลองมีการตอบสนองโดยการแสดงพฤติกรรม PER 9.09±5.08% หลังจากนั้นผลปรากฏว่าผึ้งชุดเดิมเกิดการแสดงพฤติกรรม PER ในครั้งที่ 2 (trial 2) เพิ่มขึ้นเป็น 30.30±8.12%, 36.36±8.50%, 42.42±8.74%, 42.42±8.74% และ 45.45±8.80% ตามลำดับตั้งแต่การฝึกครั้งที่ 1 จนไปถึงครั้งที่ 6 (trial 1–6) และเมื่อการตอบสนองและการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งในกลุ่มทดลองตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 มาทดสอบสถิติด้วย Cochran's Q test พบว่าผึ้งมีการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิเพิ่มสูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.0001$, Cochran's $Q=26.607$, $df=5$, $N=33$) นั่นแสดงให้เห็นว่าผึ้งมีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นมะลิได้ (ภาพที่ 26) นอกจากนี้การเกิดพฤติกรรม PER ที่ตอบสนองต่อกลิ่นมะลิของผึ้งนั้นเริ่มมีการตอบสนองที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากที่ทำการฝึกไป 1 ครั้งใน trial 1 ($P<0.05$, $N=33$, McNemar test) และหลังจากนั้นการตอบสนองและการแสดงพฤติกรรม PER ก็ยังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนไปถึง trial 6 ($P<0.01$, $N=33$, McNemar Test) แต่อย่างไรก็ตามการแสดงพฤติกรรม PER ที่

เพิ่มขึ้นตั้งแต่ trial 2 จนถึง trial 6 ไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05, N=33, McNemar Test) (ตารางที่ 3)

ผึ้งพันธุ์ในกลุ่มชุดควบคุมนั้นได้รับสิ่งเร้าและเงื่อนไขเช่นเดียวกัน แต่สิ่งเร้าระหว่างกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสถูกให้แยกออกจากกัน จากผลการทดลองพบว่า ใน trial 1 ผึ้งเกิดการแสดงพฤติกรรม PER 12.00±6.63% และลดลงใน trial 2 เป็น 4.00±4.00% และยังคงลดลงไปจนถึง 0% หรือไม่เกิดการแสดงพฤติกรรม PER เลยตั้งแต่ trial 4 จนไปถึง trial 6 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปทดสอบสถิติของชุดควบคุมนี้พบว่า ผึ้งไม่เกิดการเรียนรู้และการตอบสนองกลิ่นมะลิ ไม่พบความแตกต่างของการเกิดพฤติกรรม PER ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (P=0.056, Cochran's Q=10.789, df=5, N=25) นั่นแสดงให้เห็นว่าผึ้งในกลุ่มชุดควบคุมนั้นไม่มีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นมะลิ อันมีสาเหตุมาจากการที่ผึ้งชุดนี้ไม่ได้ถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 26 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งพันธุ์หลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นมะลิและสารละลายซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

ตารางที่ 3 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นมะลิระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

Test Statistics Exact Sig. (2-tailed)						
	Trial1	**Trial2**	**Trial3**	**Trial4**	**Trial5**	**Trial6**
Trial1	-	0.016*	0.004*	0.004*	0.001*	0.002*
Trial2	-	-	0.625	0.344	0.125	0.18
Trial3	-	-	-	0.727	0.5	0.453
Trial4	-	-	-	-	1	1
Trial5	-	-	-	-	-	1
Trial6	-	-	-	-	-	-

เมื่อนำข้อมูลทั้งสองกลุ่มระหว่างกลุ่มชุดทดลองและชุดควบคุมมาเปรียบเทียบกันเพื่อดูความสามารถในการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิและเพื่อดูประสิทธิภาพของวิธีการทดลอง พบว่า การเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิในชุดทดลองและชุดควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ trial 2 เป็นต้นไป ($P<0.05$, Mann-Whitney U test, $N_C=25$, $N_T=33$) แต่อย่างไรก็ตามการเรียนรู้ใน trial 1 นั้นการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิของผึ้งทั้งสองกลุ่มไม่ได้มีความแตกต่างกันแต่อย่างไร อันเนื่องมาจากการที่ผึ้งทั้งสองกลุ่มเพิ่งจะเริ่มให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขการแสดงพฤติกรรม PER ของทั้งสองกลุ่มจึงไม่มีความแตกต่างกัน ($P=0.721$, Mann-Whitney U test, $N_C=25$, $N_T=33$)

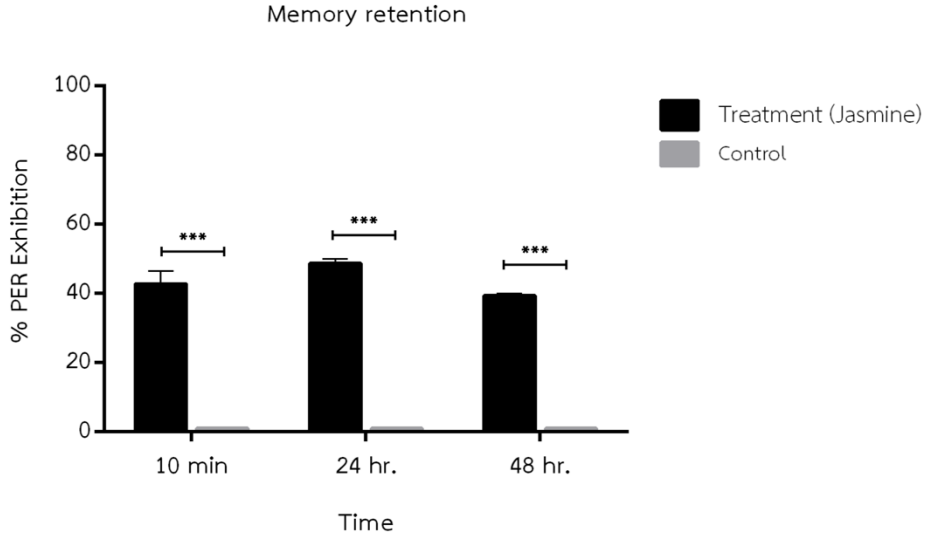
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.1.2.2 ความสามารถในจดจำกลิ่นมะลิของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention)

หลังจากที่ผึ้งชุดทดลองในหัวข้อ 4.1.2.1 ได้ถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นมะลิและสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้งแล้ว ผึ้งเหล่านี้จะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการจดจำกลิ่นมะลิที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ผึ้งยังคงสามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER ได้ โดยมีการแสดง PER 42.42$\pm$8.74% และที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากการฝึกผึ้งยังคงมีการตอบสนองและเกิดการแสดงพฤติกรรม PER 42.82$\pm$3.62% แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิของผึ้งยังคงมีการแสดงอยู่แต่มีการแสดงพฤติกรรม PER เช่นเดิมแต่การแสดงนั้นลดลงเป็น 39.49$\pm$0.51% และเมื่อนำความสามารถในการจดจำทั้งสามช่วงเวลามาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Cochran's Q test โดยทำการเปรียบเทียบทีละคู่ทีละช่วงเวลาพบว่า ทั้งสามช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.368$, Cochran's $Q=2.000$, $df=2$, $N=33$) นั่นแสดงให้เห็นว่าผึ้งยังคงสามารถตอบสนอง

และจดจำกลิ่นมะลิได้มากถึง 48 ชั่วโมง ถึงแม้ว่าแนวโน้มจะลดลงหลังจากเมื่อเวลาผ่านไปแล้ว 48 ชั่วโมงก็ตาม (ภาพที่ 27)

นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มชุดทดลองและชุดควบคุม พบว่า ผึ้งในกลุ่มชุดทดลองมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำต่อกลิ่นมะลิได้ดีกว่าชุดควบคุมทุกช่วงเวลาตั้งแต่ 10 นาที ไปจนถึง 48 ชั่วโมง โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$, Mann-Whitney U test, $N_C=25$, $N_T=33$) จากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่า ผึ้งในชุดทดลองหรือผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิ สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและจดจำต่อกลิ่นมะลิ นอกจากนี้ยังสามารถสรุปได้ว่าการใช้วิธีการทดลองดังกล่าวสามารถให้ผลที่มีประสิทธิภาพได้



ภาพที่ 27 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งพันธุ์เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิ (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

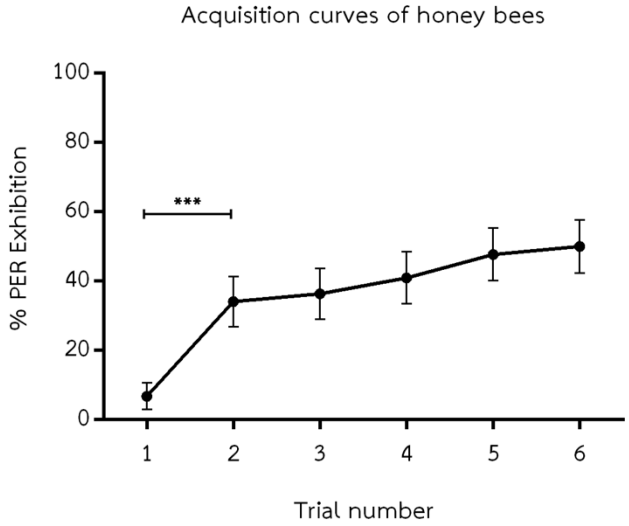
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.1.3 กลิ่นบิวทานอล

ในส่วนของผลการทดลองนี้จะทำเช่นเดียวกับในการทดลองของกลิ่นมะลิ และจะใช้กลิ่นบิวทานอลเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขแทน ในการศึกษาเบื้องต้นนี้จะไม่มีชุดควบคุมเพื่อนำมาเปรียบเทียบ เพราะเนื่องจากเป็นเพียงแค่การศึกษาเบื้องต้นเพื่อดูความสามารถของการตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลของผึ้งและเพื่อดูประสิทธิภาพของวิธีการทดลอง เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับรายงานและการศึกษาก่อนหน้าที่ของ Reinhard et al. (2010) ที่ศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นของผึ้งพันธุ์ ผู้วิจัยจึงไม่ได้ทำกลุ่มชุดควบคุมสำหรับกลิ่นบิวทานอลและผู้วิจัยยังคงทำการทดลองแค่ในชนิดผึ้งพันธุ์เท่านั้น

4.1.3.1 ความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลของผึ้งพันธุ์ (Acquisition performance)

การศึกษานี้อยู่ในช่วงระหว่าง เดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม 2561 ผึ้งพันธุ์ที่มีหน้าที่หาอาหารหรือผึ้งที่พบบริเวณหน้ารังทั้งหมด 44 ตัว จากรังผึ้งพันธุ์ทั้งหมด 3 รัง ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อที่จะใช้ในการทดลอง ผึ้งเหล่านี้ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขเช่นเดียวกับการทดลองในกลิ่นมะลิในหัวข้อ 4.1.1 เพียงแต่ไม่มีชุดควบคุมเท่านั้น ผึ้งเหล่านี้ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้ต่อกลิ่นบิวทานอลทั้งหมด 6 ครั้ง ผลการศึกษาพบว่า ผึ้งเกิดการตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER 6.82±3.84% ใน trial 1 นอกจากนี้ยังเพิ่มสูงขึ้นเป็น 34.09±7.23% ใน trial 2 และมีการแสดงพฤติกรรม PER นี้เพิ่มสูงสุดขึ้นเป็น 50.00±7.62% ใน trial 6 ซึ่งแนวโน้มการเรียนรู้ของผึ้งต่อกลิ่นบิวทานอลนั้นมีความคล้ายคลึงกับการเรียนรู้ต่อกลิ่นมะลิ คือ มีอัตราการเรียนรู้ที่สูงเพิ่มมากขึ้นใน trial 2 ($P<0.001$, N=44, McNemar test) (ตารางที่ 4) และจะเพิ่มสูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนถึง trial 6 ($P<0.001$, Cochran's Q=45.570, df=2, N=44) (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งพันธุ์หลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นบิวทานอลและสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

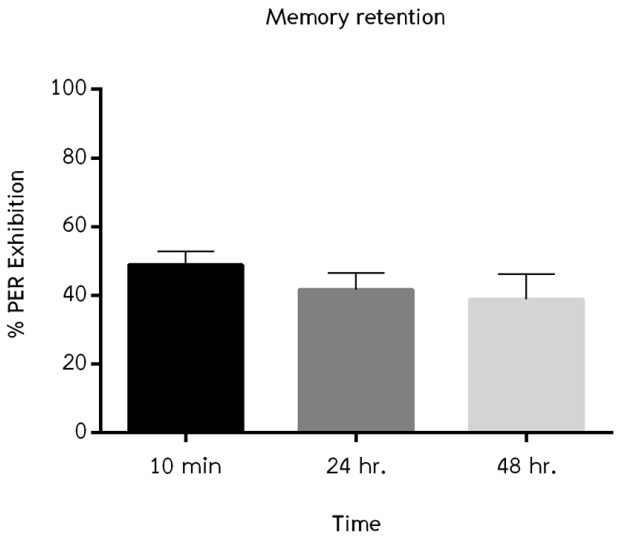
ตารางที่ 4 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นบิวทานอลระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

Test Statistics Exact Sig. (2-tailed)						
	Trial1	**Trial2**	**Trial3**	**Trial4**	**Trial5**	**Trial6**
Trial1	-	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
Trial2	-	-	1	0.289	0.109	0.65
Trial3	-	-	-	0.453	0.227	0.109
Trial4	-	-	-	-	0.687	0.453
Trial5	-	-	-	-	-	1
Trial6	-	-	-	-	-	-

4.1.3.2 ความสามารถในจดจำกลิ่นบิวทานอลของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention)

หลังจากที่ผึ้งในหัวข้อ 4.1.3.1 ได้ถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นบิวทานอลและสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้งแล้ว ผึ้งเหล่านี้จะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการจดจำกลิ่นบิวทานอลที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองในกลิ่นมะลิ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ผึ้งยังคงสามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER ได้ โดยมีการแสดง PER 48.89±3.89% และที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากการฝึก ผึ้งยังคงมีการตอบสนองและเกิดการแสดงพฤติกรรม PER 41.67±4.81% แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงการตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลของผึ้งยังคงมีการแสดงอยู่แต่มีการแสดงพฤติกรรม PER เช่นเดิมแต่การแสดงนั้นลดลงเป็น 38.89±7.35% และเมื่อนำความสามารถในการจดจำทั้งสามช่วงเวลามาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Cochran's Q test โดยทำการเปรียบเทียบทีละคู่ทีละช่วงเวลาพบว่า ทั้งสามช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.223, Cochran's Q=3.000, df=2, N=44) นั่นแสดงให้เห็นว่าผึ้งยังคงสามารถตอบสนองและจดจำกลิ่นบิวทานอลได้มากถึง 48 ชั่วโมง ถึงแม้ว่าแนวโน้มจะลดลงหลังจากเมื่อเวลาผ่านไปแล้ว 48 ชั่วโมงก็ตาม ซึ่งผลการศึกษานี้จึงสอดคล้องเช่นเดียวกับการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิที่ได้ทำมาก่อนหน้านี้ตามที่ได้กล่าวไว้ (ภาพที่ 29)

CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ 29 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งพันธุ์เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง หลังจากที่ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นบิวทานอล (Memory retention)

4.2 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ในผึ้งให้น้ำหวาน *Apis mellifera* และ *Apis cerana*

หลังจากที่ได้ทำการศึกษาในเบื้องต้นไปแล้ว เพื่อดูประสิทธิภาพของวิธีการทดลองและผลจากการเรียนรู้จากกลิ่นที่เป็นเสมือนกลิ่นดอกไม้ (มะลิ) และกลิ่นสังเคราะห์เคมี (บิวทานอล) รวมไปถึงได้ทดสอบว่าแรงลมไม่ได้มีส่วนทำให้ผึ้งเกิดการตอบสนองและเรียนรู้ต่อกลิ่น ผู้วิจัยจึงทำการทดลองกับกลิ่นหรือสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิด เพื่อทดสอบว่าผึ้งสามารถเกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อสารที่เป็นสารตั้งต้นในการทำระเบิดได้หรือไม่ โดยทำให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น 2,4-Dinitrotoluene (DNT)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

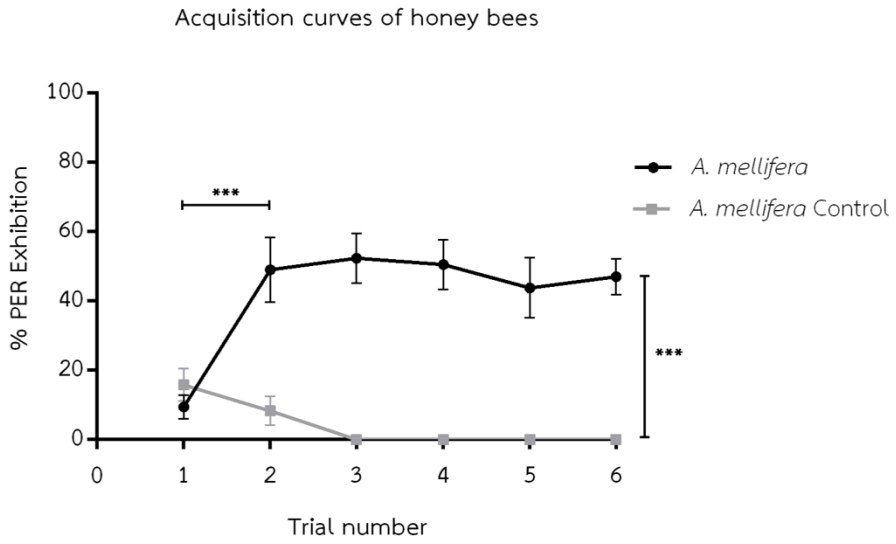
4.2.1 ผลการศึกษาในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*)

4.2.1.1 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) (Acquisition performance)

การศึกษานี้อยู่ในช่วงระหว่าง เดือนมีนาคมถึงเดือนสิงหาคม 2562 ผึ้งพันธุ์ที่มีหน้าที่หาอาหารหรือผึ้งที่พบบริเวณหน้ารังทั้งหมด 87 ตัว จากรังผึ้งพันธุ์ทั้งหมด 3 รัง ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อที่จะใช้ในการทดลอง โดยทำการแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ประกอบด้วยชุดทดลอง (treatment) จำนวน 61 ตัวและชุดควบคุม (control) จำนวน 26 ตัวโดยผึ้งที่จัดอยู่ในชุดทดลองจะถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นสารละลาย DNT (CS) ในขณะที่ผึ้งที่อยู่ในชุดควบคุมจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) เช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง แต่สิ่งเร้าที่ได้จะไม่ทำถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข ซึ่งทั้งกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสจะถูกให้แยกจากกันอย่างอิสระ ทำการทดลองนี้เช่นเดียวกับที่ทำในกลิ่นมะลิในหัวข้อ 4.1.1

หลังจากที่ผึ้งพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกมาถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้งแล้ว ผลการศึกษาพบว่า ผึ้งพันธุ์มีการตอบสนองและการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่น DNT จากเริ่มต้น 9.84±3.84% ใน trial 1 และมีการแสดงพฤติกรรม PER เพิ่มสูงขึ้นหลังจากผ่านการฝึกครั้งแรกเป็น 49.18±6.45% หลังจากนั้นผึ้งมีแนวโน้มการตอบสนองและแสดงพฤติกรรมนี้คงที่ โดยเกิดการแสดง PER 52.46±6.45%, 50.82±6.45%, 44.26±6.41% และ 47.54±6.44% ใน trial 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์สถิติพบว่า ผึ้งพันธุ์มีการตอบสนองและอัตราการเรียนรู้ต่อกลิ่น DNT ที่เพิ่มสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$, Cochran's $Q=68.568$, $df=5$, $N=61$) โดยเฉพาะที่ช่วงรอยต่อระหว่างการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขใน trial 1 และ trial 2 ($P<0.001$, $N=61$, McNemar Test) แต่อย่างไรก็ตามการแสดงพฤติกรรม PER ที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ trial 2 จนถึง trial 6 ไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$, $N=61$, McNemar Test) (ตารางที่ 5)

ผึ้งพันธุ์ในกลุ่มชุดควบคุมนั้นได้รับสิ่งเร้าและเงื่อนไขเช่นเดียวกัน แต่สิ่งเร้าระหว่างกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสถูกให้แยกออกจากกัน จากผลการทดลองพบว่า ใน trial 1 ผึ้งเกิดการแสดงพฤติกรรม PER 15.38±7.22% และลดลงใน trial 2 เป็น 7.69±5.33% และยังคงลดลงไปจนถึง 0% หรือไม่เกิดการแสดงพฤติกรรม PER เลยตั้งแต่ trial 4 จนไปถึง trial 6 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปทดสอบสถิติของชุดควบคุมนี้พบว่า ผึ้งพันธุ์ไม่เกิดการเรียนรู้และการตอบสนองกลิ่น DNT เพราะเนื่องจากการเกิดการแสดงพฤติกรรม PER และตอบสนองต่อกลิ่น DNT ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.032$, Cochran's $Q=12.222$, $df=5$, $N=26$) นั่นจึงแสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์ในกลุ่มชุดควบคุมนั้นไม่มีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT อันมีสาเหตุมาจากการที่ผึ้งชุดนี้ไม่ได้ถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข จึงทำให้การแสดงพฤติกรรม PER ลดลงและไม่เกิดการแสดงพฤติกรรมนี้อีก (ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งพันธุ์หลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และ

สารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

ตารางที่ 5 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

Test Statistics Exact Sig. (2-tailed)						
	Trial1	**Trial2**	**Trial3**	**Trial4**	**Trial5**	**Trial6**
Trial1	-	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
Trial2	-	-	0.754	1	0.508	1
Trial3	-	-	-	1	0.227	0.549
Trial4	-	-	-	-	0.125	0.727
Trial5	-	-	-	-	-	0.687
Trial6	-	-	-	-	-	-

เมื่อนำข้อมูลทั้งสองกลุ่มระหว่างกลุ่มผึ้งพันธุ์ที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (ชุดทดลอง) และกลุ่มผึ้งพันธุ์ที่ไม่ได้ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (ชุดควบคุม) มาเปรียบเทียบกันเพื่อดูความสามารถในการตอบสนองต่อกลิ่น DNT พบว่า การเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ในชุดทดลองและชุดควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ trial 2 จนไปถึง trial 6 ($P<0.001$, Mann-Whitney U test, $N_C=26$, $N_T=61$) ผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองต่อกลิ่น DNT และยังคงแสดงพฤติกรรมนี้อย่างคงที่จนถึงการฝึกครั้งที่ 6 แต่อย่างไรก็ตามการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ใน trial 1 ของผึ้งพันธุ์ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ทั้งสองกลุ่มไม่ได้มีความแตกต่างกันแต่อย่างไร อันเนื่องมาจากการที่ผึ้งทั้งสองกลุ่มเพิ่งจะเริ่มให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขจึงทำให้การแสดงพฤติกรรม PER ของทั้งสองกลุ่มนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ($P=0.46$, Mann-Whitney U test, $N_C=26$, $N_T=61$) ด้วยผลการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าผึ้งพันธุ์สามารถเกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้

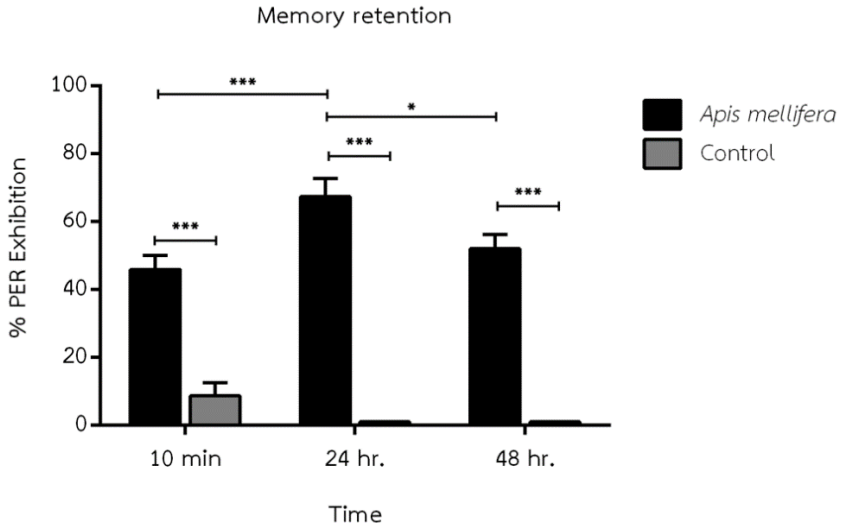
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.1.2 ความสามารถในจดจำกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention)

หลังจากที่ผึ้งพันธุ์ในหัวข้อ 4.2.1.1 ได้ถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT (CS) และสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) ทั้งหมด 6 ครั้งเรียบร้อยแล้ว ผึ้งเหล่านี้จะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการจดจำกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ผึ้งพันธุ์ยังคงสามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER ได้ โดยมีการแสดงพฤติกรรม PER 46.00±3.68% และที่

เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากการฝึก ผึ้งมีการตอบสนองและเกิดการแสดงพฤติกรรม PER เพิ่มขึ้นเป็น 67.34±4.83% แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งยังคงมีการแสดงอยู่แต่มีการแสดงพฤติกรรม PER เช่นเดิมแต่การแสดงนั้นลดลงเป็น 52.03±3.77% และเมื่อนำความสามารถในการจดจำทั้งสามช่วงเวลามาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Cochran's Q test โดยทำการเปรียบเทียบทีละคู่ทีละช่วงเวลาพบว่าความสามารถในการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ในแต่ละช่วงเวลาหลังจากการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.001, Cochran's Q=13.300, df=2, N=61) โดยเกิดการแสดงพฤติกรรม PER ตอบสนองต่อกลิ่น DNT เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปแล้ว 24 ชั่วโมงหลังจากการทดลอง (P=0.001, N=61, McNemar Test) และจากการวิเคราะห์ทางสถิติหลังจากผ่านไป 48 ชั่วโมงยังพบว่า ผึ้งพันธุ์ยังคงเกิดการตอบสนองต่อกลิ่น DNT อยู่ แต่การตอบสนองต่อกลิ่น DNT กลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเวลาที่ 24 ชั่วโมง (P=0.022, N=61, McNemar Test) ด้วยผลที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์มีการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ที่เพิ่มสูงขึ้นหลังจากที่ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT แล้ว แต่การเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT จนลดลงเมื่อเวลาผ่านไปอีก 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 31)

นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลระหว่างกลุ่มผึ้งพันธุ์ชุดทดลองที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ DNT และชุดควบคุมหรือกลุ่มผึ้งพันธุ์ที่ไม่ได้รับการถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข พบว่า ผึ้งพันธุ์ในกลุ่มชุดทดลองมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำต่อกลิ่น DNT ได้ดีกว่าชุดควบคุมทุกช่วงเวลาตั้งแต่ 10 นาที ไปจนถึง 48 ชั่วโมง โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001, Mann-Whitney U test, N_C=26, N_T=61) จากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่า ผึ้งพันธุ์ในชุดทดลองหรือผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและจดจำต่อกลิ่น DNT ได้ ในขณะที่ผึ้งพันธุ์ในกลุ่มชุดควบคุมไม่สามารถจดจำและตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้เลยแม้แต่ช่วงเวลาเดียว (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งพันธุ์เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากที่ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

4.2.2 ผลการศึกษาในผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

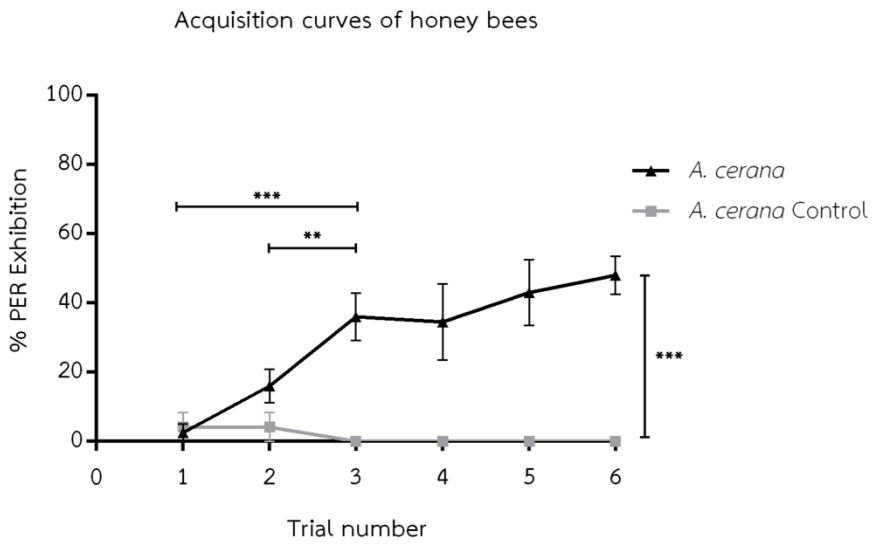
4.2.2.1 การศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ในผึ้งโพรง (*Apis cerana*) (Acquisition performance)

การศึกษาผึ้งโพรงนี้จะใช้วิธีการศึกษาเช่นเดียวกับในผึ้งพันธุ์และทำการศึกษาในช่วงเวลาเดียวกัน การศึกษานี้อยู่ในช่วงระหว่าง เดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคม 2562 ผึ้งโพรงที่มีหน้าที่หาอาหารหรือผึ้งที่พบบริเวณหน้ารังทั้งหมด 56 ตัว จากรังผึ้งโพรงทั้งหมด 3 รัง ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อที่จะใช้ในการทดลอง โดยทำการแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ประกอบด้วยชุดทดลอง (treatment) จำนวน 36 ตัวและชุดควบคุม (control) จำนวน 20 ตัวโดยผึ้งโพรงที่จัดอยู่ในชุดทดลองจะถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นสารละลาย DNT (CS) ในขณะที่ผึ้งโพรงที่อยู่ในชุดควบคุมจะได้รับสิ่งเร้าทั้งกลิ่นและสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) เช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง แต่สิ่งเร้าที่ได้จะไม่ทำถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข ซึ่งทั้งกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสจะถูกให้แยกจากกันอย่างอิสระ ทำการทดลองนี้เช่นเดียวกับที่ทำในกลิ่นมะลิในหัวข้อ 4.1.1 และเช่นเดียวกับกลิ่น DNT ในผึ้งพันธุ์ในหัวข้อ 4.2.1.1

หลังจากที่ผึ้งโพรงที่ถูกคัดเลือกมาถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้งแล้ว ผลการศึกษาพบว่า ผึ้งโพรงมีการตอบสนองและการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่น DNT ใน trial 1 จากเริ่มต้น 2.78$\pm$2.78% และมีการแสดงพฤติกรรม PER เพิ่มสูงขึ้นหลังจากผ่านการฝึกครั้งแรกเป็น 16.67$\pm$6.30% หลังจากนั้นผึ้งมีแนวโน้มการตอบสนองและแสดงพฤติกรรมนี้เพิ่มขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย โดยเกิดการแสดง PER 38.89$\pm$8.24%, 38.89$\pm$8.24%, 44.44$\pm$8.40% และ 47.22$\pm$8.44% ใน trial 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์สถิติพบว่า ผึ้งโพรงมีการตอบสนองและอัตราการเรียนรู้ต่อกลิ่น DNT ที่เพิ่มสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$, Cochran's $Q=47.656$, $df=5$, $N=36$) โดยเฉพาะที่ช่วงรอยต่อระหว่างการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขใน trial 2 และ trial 3 ($P<0.001$, $N=36$, McNemar Test) แต่อย่างไรก็ตาม การแสดงพฤติกรรม PER ที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ trial 3 จนถึง trial 6 ไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$, $N=36$, McNemar Test) (ตารางที่ 6) ผึ้งยังคงสามารถตอบสนองต่อ DNT ได้แต่อัตราการตอบสนองยังคงเท่าเดิม (ภาพที่ 32)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผึ้งโพรงในกลุ่มชุดควบคุมนั้นได้รับสิ่งเร้าและเงื่อนไขเช่นเดียวกัน แต่สิ่งเร้าระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสถูกให้แยกออกจากกัน จากผลการทดลองพบว่า ใน trial 1 ผึ้งโพรงเกิดการแสดงพฤติกรรม PER 5.00$\pm$5.00% และยังคงแสดงพฤติกรรม PER เท่าเดิมใน trial 2 หลังจากนั้นจึงเกิดการแสดงพฤติกรรม PER ลดลงจะเหลือ 0% หรือไม่เกิดการแสดงพฤติกรรม PER เลยตั้งแต่ trial 3 จนไปถึง trial 6 และเมื่อนำข้อมูลชุดควบคุมที่ได้ไปทดสอบสถิติพบว่า ผึ้งโพรงไม่เกิดการเรียนรู้และการตอบสนองกลิ่น DNT ($P=0.416$, Cochran's $Q=5.000$, $df=5$, $N=20$) สาเหตุเนื่องมาจากการที่ผึ้งโพรงชุดนี้ไม่ได้ถูกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT จึงทำให้การแสดงพฤติกรรม PER ลดลงและไม่เกิดการตอบสนองหรือแสดงพฤติกรรมนี้ต่อกลิ่น DNT อีก (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาของผึ้งโพรงหลังจากที่ผึ้งเหล่านี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

ตารางที่ 6 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เพื่อเทียบความแตกต่างของการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่น DNT ของผึ้งโพรงระหว่าง trial ตั้งแต่ trial 1 จนถึง trial 6 (เครื่องหมายดอกจัน * แสดงถึงค่า P-value ที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

Test Statistics Exact Sig. (2-tailed)

	Trial1	**Trial2**	**Trial3**	**Trial4**	**Trial5**	**Trial6**
Trial1	-	0.063	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
Trial2	-	-	0.008*	0.008*	0.002*	0.001*
Trial3	-	-	-	1	0.625	0.375
Trial4	-	-	-	-	0.687	0.453
Trial5	-	-	-	-	-	1
Trial6	-	-	-	-	-	-

เมื่อนำข้อมูลทั้งสองกลุ่มระหว่างกลุ่มผึ้งโพรงที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (ชุดทดลอง) และกลุ่มผึ้งโพรงที่ไม่ได้ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (ชุดควบคุม) มาเปรียบเทียบกันเพื่อดูความสามารถในการตอบสนองต่อกลิ่น DNT พบว่า การเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ในชุดทดลอง

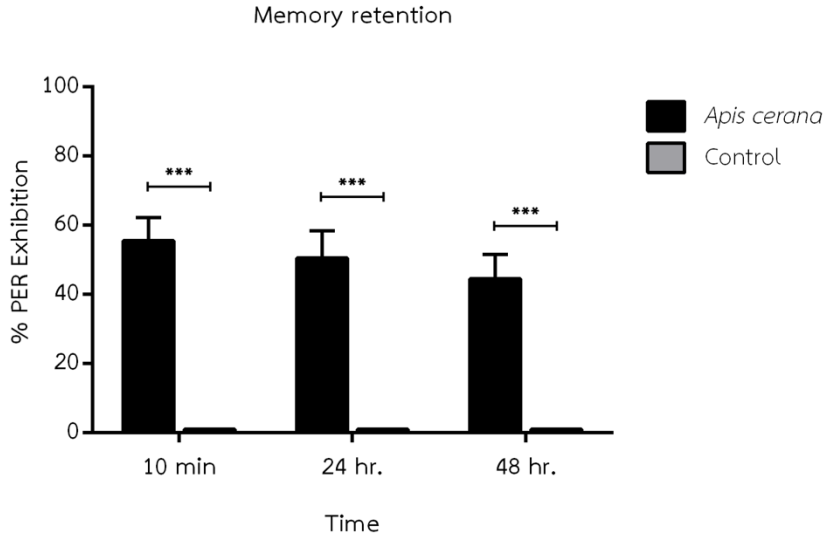
และชุดควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ trial 3 จนไปถึง trial 6 ($P<0.05$, Mann-Whitney U test, $N_C=20$, $N_T=36$) ผึ้งโพรงสามารถตอบสนองต่อกลิ่น DNT และยังคงแสดงพฤติกรรมนี้อย่างคงที่จนถึงการฝึกครั้งที่ 6 แต่อย่างไรก็ตามการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งโพรงใน trial 1 และ 2 ของผึ้งโพรงระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ทั้งสองกลุ่มไม่ได้มีความแตกต่างกันแต่อย่างไร อันเนื่องมาจากการที่ผึ้งทั้งสองกลุ่มเพิ่งจะเริ่มให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขจึงทำให้การแสดงพฤติกรรม PER ของทั้งสองกลุ่มนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ($P=0.670$ และ $P=0.210$, Mann-Whitney U test, $N_C=20$, $N_T=36$) ด้วยผลการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าผึ้งโพรงสามารถเกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้

4.2.2.2 ความสามารถในจดจำกลิ่น DNT ของผึ้งโพรงที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention)

หลังจากที่ผึ้งโพรงในหัวข้อ 4.2.2.1 ได้ถูกฝึกทำให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT (CS) และสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) ทั้งหมด 6 ครั้งเรียบร้อยแล้ว ผึ้งเหล่านี้จะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการจดจำกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ เช่นเดียวกับในผึ้งพันธุ์ ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ผึ้งโพรงยังคงสามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER ได้ โดยมีการแสดงพฤติกรรม PER เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 55.50$\pm$6.10% และที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากการฝึก ผึ้งมีการตอบสนองและเกิดการแสดงพฤติกรรม PER ลดลงเป็น 50.50$\pm$7.09% และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งยังคงมีการแสดงอยู่แต่มีการแสดงพฤติกรรม PER ลดลงเป็น 44.50$\pm$6.37% และเมื่อนำความสามารถในการจดจำทั้งสามช่วงเวลามาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Cochran's Q test โดยทำการเปรียบเทียบทีละคู่ทีละช่วงเวลาพบว่า ความสามารถในการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งพันธุ์ในแต่ละช่วงเวลาหลังจากการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.311$, Cochran's $Q=2.333$, $df=2$, $N=36$) อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการจดจำและตอบสนองต่อกลิ่น DNT ของผึ้งโพรงมีแนวโน้มที่จะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 33)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลระหว่างกลุ่มผึ้งโพรงชุดทดลองที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ DNT และชุดควบคุมหรือกลุ่มผึ้งโพรงที่ไม่ได้รับการถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข พบว่า ผึ้งโพรงในกลุ่มชุดทดลองมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำต่อกลิ่น DNT ได้ดีกว่าชุดควบคุมทุกช่วงเวลาตั้งแต่ 10 นาที ไปจนถึง 48 ชั่วโมง โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$, Mann-Whitney U test, $N_C=20$, $N_T=36$) จากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่า ผึ้งโพรงในชุดทดลองหรือผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและจดจำต่อกลิ่น DNT ได้ ในขณะที่ผึ้งโพรงในกลุ่มชุดควบคุมไม่สามารถจดจำและตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้เลยแม้แต่ช่วงเวลาเดียว ซึ่งผลการศึกษานี้จึงสอดคล้องกับการศึกษาความสามารถในการจดจำกลิ่น DNT ในผึ้งพันธุ์ (ภาพที่ 33)



ภาพที่ 33 ความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งโพรงเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง หลังจากที่ผึ้งโพรงถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

4.2.3 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

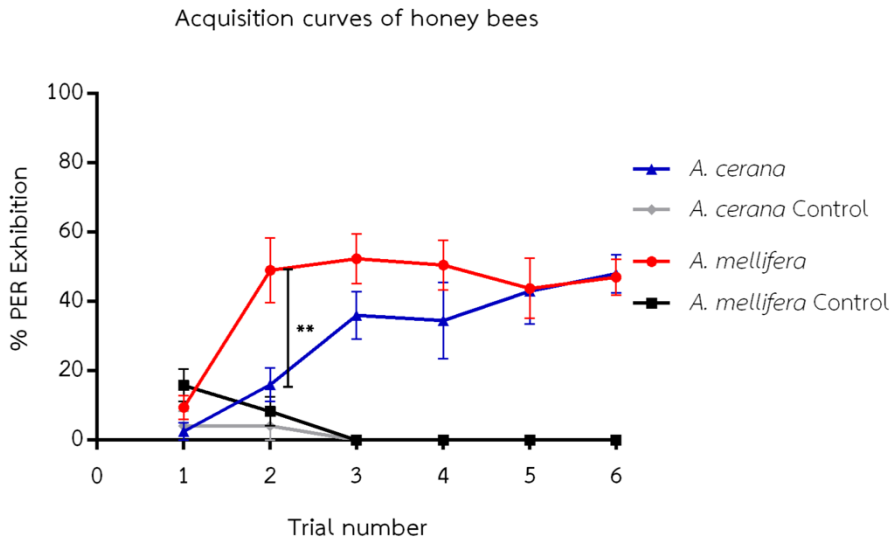
ผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าผึ้งทั้งสองชนิดสามารถเกิดการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้เช่นเดียวกับการตอบสนองในกลิ่นของมะลิและบิวทานอลในการศึกษาเบื้องต้น ซึ่งวัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้คือ เปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งให้น้ำหวานสองชนิด ได้แก่ ผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง โดยแบ่งแยกการเปรียบเทียบความสามารถในการตอบสนองและการเรียนรู้ต่อ DNT ดังหัวข้อต่อไปนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.3.1 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) (Acquisition performance)

จากผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2.1.1 และ 4.2.2.1 แสดงให้เห็นว่าผึ้งทั้งสองชนิดทั้งผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้ และมีอัตราการตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER สูงถึง 52.46±6.45% ในผึ้งพันธุ์และ 47.22±8.44% ในผึ้งโพรง อย่างไรก็ตามการแสดงพฤติกรรมของทั้งสองชนิดนี้จะดูใกล้เคียงกัน แต่ผลการวิเคราะห์ทางสถิติบ่งชี้ว่า การเรียนรู้และการตอบสนอง DNT ของทั้งสองชนิดใน trial 1,3,4,5 และ 6 ของการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขของทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$, Mann-Whitney U test, $N_{Apis\ mellifera}=61$, $N_{Apis\ cerana}=36$) แต่ใน trial 2 หรือฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ครั้งที่ 2 พบว่าการแสดงพฤติกรรม PER ของทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.0014$, Mann-Whitney U test, $N_{Apis\ mellifera}=61$, $N_{Apis\ cerana}=36$) ด้วยผลวิเคราะห์นี้แสดงให้เห็นว่า ผึ้งพันธุ์สามารถเรียนรู้และตอบสนอง

ต่อ DNT ได้สูงกว่าผึ้งโพรง หรือจะกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ ผึ้งพันธุ์มีอัตราการเรียนรู้และตอบสนองต่อ DNT มากกว่าในผึ้งโพรง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อผึ้งทั้งสองชนิดนี้ถูกทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขครบทั้ง 6 ครั้งก็พบว่าการเรียนรู้และการตอบสนองต่อ DNT ใน trial 6 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.976, Mann-Whitney U test, $N_{Apis\ mellifera}$=61, $N_{Apis\ cerana}$=36) (ภาพที่ 34)

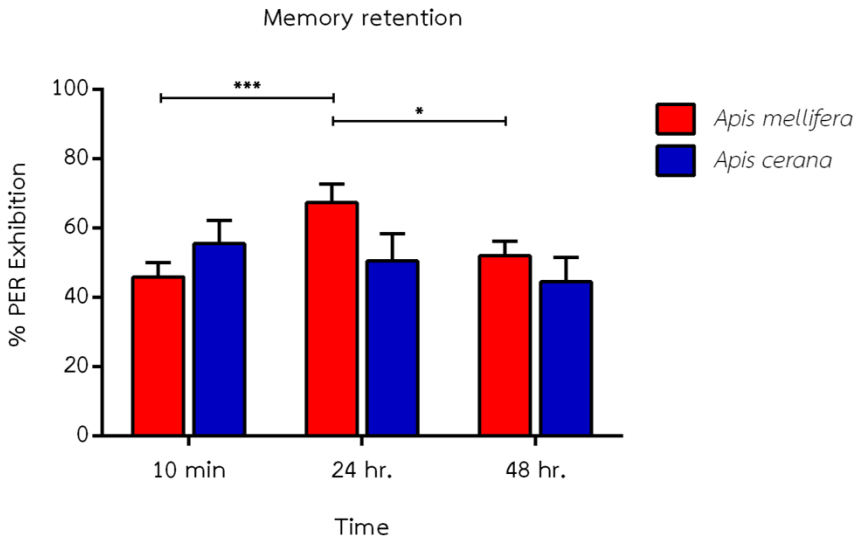


ภาพที่ 34 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองต่อกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) โดยที่ผึ้งทั้งสองชนิดนี้ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่น DNT และสารละลายน้ำตาลซูโครสทั้งหมด 6 ครั้ง (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

4.2.3.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในจดจำกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง (Memory retention)

จากผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้ทราบว่าทั้งผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์มีความสามารถในการจดจำและยังคงสามารถตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้ แม้ว่าจะผ่านไป 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงหลังจากทำการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของทั้งสองชนิดมีแนวโน้มที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่า ผึ้งโพรงมีแนวโน้มที่สามารถจดจำในระยะสั้นหรือสามารถจดจำหลังจากผ่านไปแล้ว 10 นาทีได้ดีกว่าผึ้งพันธุ์ ในขณะที่ผึ้งพันธุ์สามารถจดจำและตอบสนองต่อ DNT ได้ดีกว่าผึ้งโพรงที่เวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามเมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาวิเคราะห์และทดสอบทางสถิติแล้วพบว่าความสามารถในการจดจำและตอบสนองต่อ DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 โมงหลังจากฝึกให้ผึ้งทั้งสองชนิดเกิดเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT แล้วนั้นไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.361 ที่เวลา 10 นาที, P=0.160 ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ P=0.620 ที่เวลา 48 ชั่วโมง, Mann-Whitney U test, $N_{Apis\ mellifera}$=61, $N_{Apis\ cerana}$=36) หรือกล่าวอีกนัยนึงก็คือ ผึ้งทั้งสองชนิดมีความสามารถในการจำจดและตอบสนองต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 โมง ได้ดีเท่า ๆ กัน อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงหลังจาก

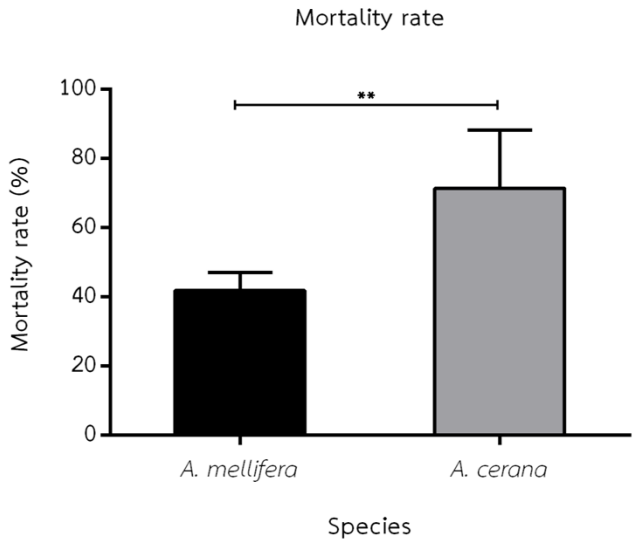
การทดลอง ผึ้งทั้งสองชนิดมีแนวโน้มที่จะตอบสนองต่อกลิ่น DNT ลดลงและความสามารถในการจดจำจึงลดลงไปด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 35)



ภาพที่ 35 การเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่น DNT เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมงของระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) (Memory retention) (เครื่องหมายดอกจัน *,** และ *** แสดงถึงค่า P-value ที่มีค่าน้อยกว่า 0.05, 0.01 และ 0.001 ตามลำดับ)

4.3 อัตราการตายของผึ้งระหว่างที่จับมาทำการทดลอง (Mortality rate)

การทดลองศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้จำเป็นที่จะต้องจับผึ้งและคงสภาพให้อยู่ภายในหลอดพลาสติก ซึ่งผึ้งจะสามารถขยับได้เพียงแค่ส่วนหัวและส่วนปากเท่านั้นและยังถูกนำไปปรับสภาพให้คุ้นชินกับห้องปฏิบัติการอีกเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จึงเป็นสาเหตุให้ผึ้งไม่ได้อยู่ในสภาวะปกติที่ควรดำรงชีพ ทำให้ผึ้งบางตัวตายก่อนที่จะนำมาทดลอง โดยผู้วิจัยได้ทำการเก็บข้อมูลสำหรับผึ้งพันธุ์จำนวน 5 ครั้งและในผึ้งโพรงจำนวน 6 ครั้ง พบว่า ผึ้งโพรงมีอัตราการตายที่สูงกว่าผึ้งพันธุ์ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ยสูงถึง 71.43±16.77% ในขณะที่ผึ้งพันธุ์มีอัตราการตายเฉลี่ย 41.91±5.22% อย่างไรก็ดีเมื่อนำข้อมูลการตายของผึ้งทั้งสองชนิดมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพบว่า อัตราการตายของผึ้งโพรงนั้นสูงกว่าผึ้งพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.005, t-test, df=9, $N_{Apis\ mellifera}$=5, $N_{Apis\ cerana}$=6) (ภาพที่ 36) จึงเป็นสาเหตุทำให้ผู้วิจัยมีตัวอย่างสำหรับการทดลองในผึ้งโพรงน้อยกว่าผึ้งพันธุ์



ภาพที่ 36 อัตราการตายระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ก่อนที่จะนำมาศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

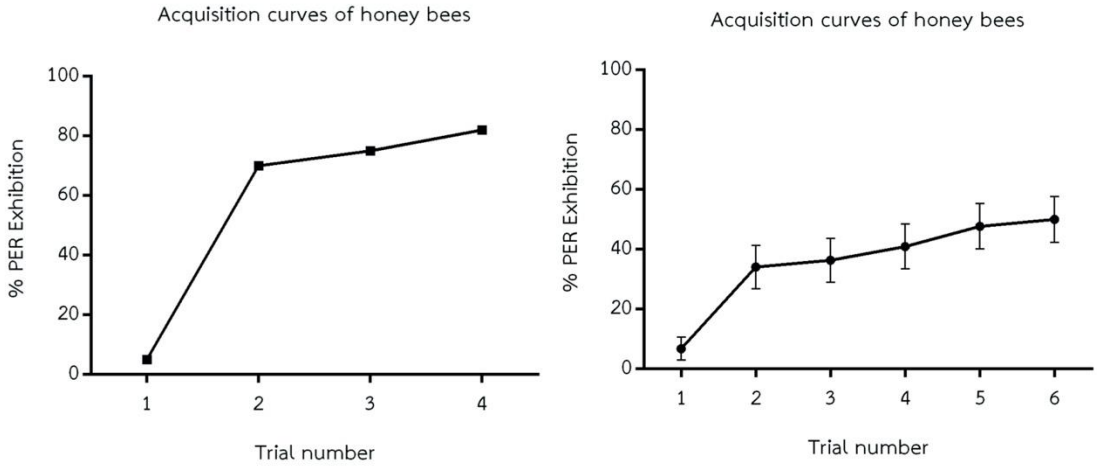
อภิปรายผลการศึกษา

5.1 การเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นของผึ้งหลังจากที่ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น

มีรายงานและการศึกษามากมายที่บ่งชี้ว่าผึ้งพันธุ์สามารถเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและสามารถตอบสนองต่อกลิ่นได้หลายชนิด (Menzel et al., 2001; Reinhard et al., 2010; Giurfa and Sandoz, 2012) เนื่องจากกลิ่นเป็นสิ่งเร้าหนึ่งที่มีผลต่อการดำรงชีวิตทั้งในเรื่องของการหาอาหารและสื่อสารระหว่างกันด้วยฟีโรโมน (Halter, 2011) และผึ้งสามารถเรียนรู้ต่อกลิ่นของดอกไม้หรือกลิ่นต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอาหารได้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้ผึ้งเหมาะที่จะเป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบในการศึกษาเรื่องพฤติกรรมการเรียนรู้และการจดจำ (Bitterman et al., 1983; Eisenhardt, 2014; Stollhoff et al., 2008) จากผลการศึกษาของผู้วิจัยแสดงให้เห็นว่า วิธีการศึกษา Olfactory conditioning หรือการศึกษาพฤติกรรมแบบ Classical conditioning ที่ถูกดัดแปลงและปรับให้เป็นรูปแบบมาตราฐานโดย Bitterman และคณะ (1983) สามารถนำมาใช้ทดลองได้จริงในผึ้งให้น้ำหวานที่พบในประเทศไทยได้ ผึ้งสามารถแสดงพฤติกรรมการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น (CS) ที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นได้ ผึ้งให้น้ำหวานแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการตอบสนองต่อกลิ่นมะลิ บิวทานอล และสารประกอบวัตถุระเบิดตัวอย่างเช่น DNT ได้ ผึ้งสามารถเกิดการแสดงพฤติกรรมแลบลิ้นออกมาหรือพฤติกรรม PER หลังจากที่ถูกกระตุ้นด้วยกลิ่นที่บริเวณหนวดของผึ้งและไม่ได้มีการกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสแต่อย่างใด นอกจากกลิ่นที่ผู้วิจัยใช้ในการศึกษาครั้งนี้แล้ว ยังมีสารและกลิ่นอื่น ๆ ที่มีการรายงานและศึกษามาแล้วพบว่าผึ้งก็สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อสารเหล่านั้นทั้งที่เป็นกลิ่นจากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ได้ เช่น กลิ่นจากดอกคาร์เนชัน (Bitterman et al., 1983) ลาเวนเดอร์ (Morgan et al., 1998) และซินนามอน (Abramson et al., 2008) หรือสารเคมีสังเคราะห์ เช่น Hexanol, Nonanol และ Octanone เป็นต้น (Guerrieri et al., 2005)

บิวทานอลเป็นหนึ่งในสารที่ Reinhard และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำกลิ่นของผึ้งพันธุ์ พบว่า ผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลและจดจำกลิ่นบิวทานอลได้ แต่ในการศึกษาของเขาให้ผึ้งได้เกิดการเรียนรู้และจดจำกลิ่นเป็นระยะเวลาสองวัน โดยวันแรกให้ผึ้งได้เรียนรู้ต่อกลิ่นจำนวน 3 ครั้ง และในวันที่สองอีกเป็นจำนวน 1 ครั้ง การฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นบิวทานอลจึงรวมทั้งหมด 4 ครั้ง จากผลการศึกษาพบว่า ผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองต่อบิวทานอลจากเริ่มต้น 0% จนผึ้งสามารถตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลได้ถึง 75–80% ในวันที่สอง ในขณะที่การศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้ ผึ้งพันธุ์ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขทั้งหมด 6 ครั้งภายในหนึ่งวัน ผลปรากฏว่า ผึ้งสามารถตอบสนองและมีการแสดงพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นของบิวทานอลสูงสุดได้เพียง 50.00±7.62% เท่านั้น นั่นแสดงให้เห็นว่าการตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลหรือการแสดงพฤติกรรมของผึ้งพันธุ์ในงานของ Reinhard ได้ผลที่ชัดเจนกว่า ผึ้งสามารถตอบสนองต่อบิวทานอลได้ดีกว่า (Reinhard et al., 2010) แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าการศึกษาของ Reinhard จะได้ผลการตอบสนองของผึ้งที่สูงกว่า แต่การศึกษาของผู้วิจัยครั้งนี้ก็ได้ผลสอดคล้องในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Reinhard ผึ้งสามารถตอบสนองต่อกลิ่นบิวทานอลได้และจะมีการตอบสนองเพิ่มสูงขึ้นเมื่อผ่านการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมี

เงื่อนไขมากขึ้น (ภาพที่ 37) แต่การศึกษาของ Reinhard ไม่ได้ทำการศึกษาในเรื่องของความสามารถในการจดจำของผึ้ง (memory retention) จึงทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถเปรียบเทียบงานในส่วนนี้ได้



ภาพที่ 37 แนวโน้มการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการตอบสนองของพฤติกรรม PER ต่อกลิ่นบิวทานอลของการศึกษาของ Reinhard และคณะในปี ค.ศ. 2010 (ซ้าย) และการศึกษาในครั้งนี้ (ขวา)

แนวคิดริเริ่มที่จะนำผึ้งมาใช้ในการตรวจระเบิดหรือสารที่เกี่ยวข้องกับระเบิดถูกริเริ่มจากนักวิจัยจาก Los Alamos National Laboratory องค์กรณ์วิจัยแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา นักวิทยาศาสตร์เล็งเห็นถึงความสามารถในการเรียนรู้และจดจำกลิ่นของผึ้ง จึงนำมาประยุกต์ใช้กับสารอื่นที่เกี่ยวข้องกับสาระประกอบวัตถุระเบิดและนำไปตรวจระเบิดในที่สุด ผลการศึกษาค้นพบว่าผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อสารที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิดได้ (TNT, DNT และ RDX) และยิ่งไปกว่านั้นผึ้งพันธุ์ไม่ได้เพียงแต่สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อสารระเบิดแค่ในห้องปฏิบัติการ แต่ยังสามารถใช้ได้จริงในภาคสนาม (Rodacy et al., 2002) และผลการรายงานของ Taylor-mccabe และคณะ (2008) ก็แสดงให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้นว่า ผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองต่อระเบิด (TNT) ได้ที่สภาวะหลายอุณหภูมิและยังสามารถจดจำสารระเบิด TNT ที่อุณหภูมิแตกต่างกันได้ถึงแม้เวลาจะผ่านไป 24 ชั่วโมงก็ตาม (Taylor-mccabe et al., 2008) อย่างไรก็ดีนักวิจัยส่วนใหญ่ยังมุ่งเน้นศึกษาเพียงแค่ในผึ้งชนิดเดียว แต่ผึ้งชนิดอื่นกลับยังมีการศึกษาน้อยมาก งานวิจัยในครั้งนี้จึงช่วยเพิ่มข้อมูลให้กับผึ้งให้น้ำหวานชนิดที่ใกล้เคียงกับผึ้งพันธุ์และมีรูปแบบการดำรงชีวิตที่เหมือนกัน แต่มีการกระจายตัวและกำเนิดที่เอเชีย และผลการศึกษาก็สนับสนุนว่าผึ้งโพรง (*Apis cerana*) สามารถเรียนรู้และจดจำต่อสารประกอบวัตถุระเบิด DNT ได้เช่นเดียวกับในผึ้งพันธุ์

อย่างไรก็ดีรูปแบบสารที่ใช้ในการทดลองและการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นของผึ้งก่อนหน้ามักจะเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกลิ่นที่เป็นสิ่งเร้าสำหรับการหาอาหาร เช่น ดอกไม้ (คาร์เนชัน (Bitterman et al. 1983) ลาเวนเดอร์ (Morgan et al., 1998) และซินนามอน (Abramson et al., 2008)) และสารจำพวกโมเลกุลมีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์และคีโตน (Reinhard et al., 2010; Giurefa and Sandoz, 2012) ในขณะที่การศึกษาครั้งนี้ ใช้สารที่เกี่ยวข้องกับสารตั้งต้นในการทำวัตถุระเบิด 2,4-ไดไนโตรโทลูอีน เป็นสารประกอบแอโรมาติก ที่มีลักษณะโมเลกุลเป็นวงเบนซีน ที่มีหมู่ NO_2 ประกอบที่ตำแหน่ง 2 และ 4 ของวงเบนซีน เป็นสารที่มี

โมเลกุลแบบไม่มีขั้ว (Phelan and Barnett, 2001) จึงอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ผึ้งเกิดพฤติกรรมการตอบสนองและแสดงพฤติกรรมการแลบลิ้นน้อยกว่าการศึกษาที่ผ่าน ๆ มา (Giurefa and Sandoz, 2012; Wang and Tan, 2014)

5.2 การเปรียบเทียบการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการจดจำต่อกลิ่นระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์

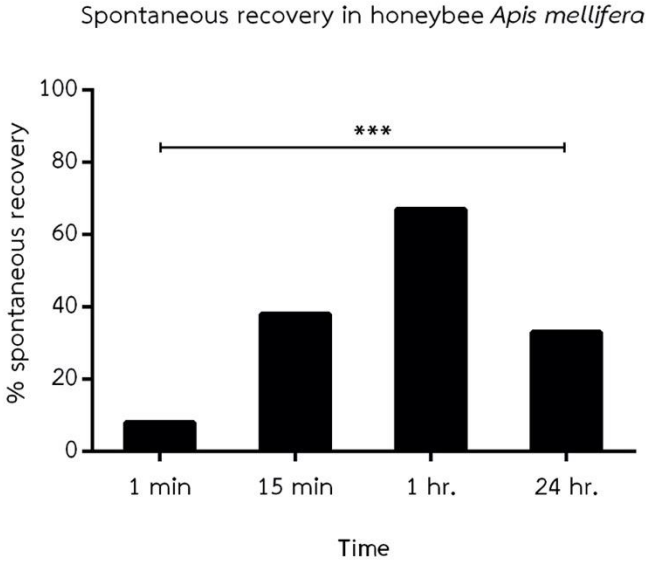
การศึกษาและการเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่นระหว่างผึ้งทั้งสองชนิดนี้ไม่ได้เป็นการศึกษาครั้งแรก แต่มีนักวิจัยและนักวิทยาศาสตร์ที่สนใจได้ทำการศึกษาเรียบร้อยแล้ว การศึกษามีทั้งรูปแบบที่สนับสนุนว่าทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเรียนรู้เท่ากัน (Zhang et al., 1992; Srinivasan et al., 1994; Giurfa et al., 2001; Wang and Tan, 2014) และบางการศึกษากล่าวว่าผึ้งทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเรียนรู้ที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะในงานวิจัยของ Qin และคณะ (2012) ที่พบว่าผึ้งโพรงสามารถเรียนรู้และจดจำได้ดีกว่าผึ้งพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าผึ้งโพรงมีความไวในด้านของกลิ่นมากกว่าผึ้งพันธุ์และผลที่ได้ก็สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า (Chen, 2001; Qin et al., 2012) นอกจากนี้มีการศึกษาและรายงานว่า โคโลนีของผึ้งที่ถูกเลี้ยงผสมระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ ทั้งสองชนิดนี้สามารถเรียนรู้ภาษาและการสื่อสารของการเต้นบอกตำแหน่งหาอาหาร (Dance language) ของกันและกันได้หรืออีกความหมายหนึ่งก็คือ ผึ้งโพรงสามารถเรียนรู้และถอดรหัสภาษาเต้นของผึ้งพันธุ์ได้ และสามารถเรียนรู้ได้เร็วกว่าและถูกต้องมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผึ้งพันธุ์ จึงอาจจะเป็นไปได้ว่า ผึ้งโพรงน่าจะมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำได้ดีกว่าผึ้งพันธุ์ (Su et al., 2008) จากคำแนะนำของ Zeng (2009) เมื่อพิจารณาถึงประสาทสัมผัสแค่สองอย่าง คือ จากการรับรู้จากกลิ่นและการมองเห็น จากผลการศึกษาพบว่า ผึ้งโพรงสามารถแยกและคัดทิ้งตัวอ่อนปลอมที่ทำจากพาราฟินผสมกับฟีโรโมนของตัวอ่อนผึ้ง ในขณะที่ผึ้งพันธุ์จะปิดเซลล์ตัวอ่อนนั้นเหมือนเป็นตัวอ่อนปกติ จากผลที่กล่าวมาจึงแสดงให้เห็นว่า ผึ้งโพรงมีความสามารถในการแยกตัวอ่อนปลอมได้ดีกว่าผึ้งพันธุ์ ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากความสามารถของประสาทสัมผัสรับกลิ่นและการมองเห็นของผึ้งโพรงดีกว่าผึ้งพันธุ์ (Zeng, 2009)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ผึ้งทั้งสองชนิดมีความสามารถในการจดจำต่อกลิ่น DNT ได้ แต่ความสามรถในการจดจำกลิ่น DNT ของทั้งสองชนิดนี้ไม่ได้มีความแตกต่างกันและอัตราการเรียนรู้ของทั้งสองชนิดนี้ไม่เท่ากัน ในช่วงแรก trial 1 ผึ้งสองชนิดทั้งผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงเกิดการแสดงพฤติกรรม PER ก่อนที่จะได้รับสิ่งเร้ากลิ่น DNT 15.38±7.22% และ 2.78±2.78% ตามลำดับ ซึ่งผึ้งอาจจะสามารถเกิดพฤติกรรม PER ขึ้นเองได้ก่อนที่จะได้รับสิ่งเร้า (Sandoz and Pham-Delègue, 1995) แต่ใน trial 2 พบว่า ผึ้งพันธุ์เกิดการตอบสนองต่อ DNT ที่เพิ่มสูงขึ้นและแสดงพฤติกรรม PER สูงกว่าในผึ้งโพรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีรายงานการศึกษาที่สนับสนุนว่า ผึ้งพันธุ์มีความสามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้าและมีอัตราการเรียนรู้ที่สูงกว่าผึ้งโพรงในช่วง 3 การฝึกแรก (trial 1–3) เนื่องจากข้อสันนิษฐานว่า ผึ้งพันธุ์เป็นผึ้งที่ถูกนำเข้ามาเลี้ยงจากต่างประเทศและยังถูกคัดสายพันธุ์ให้เชื่องมากกว่าผึ้งโพรง ในขณะที่ผึ้งโพรงเป็นผึ้งที่นำมาเลี้ยงจากธรรมชาติแทบจะไม่ได้มีการคัดเลือกสายพันธุ์แต่อย่างใด เมื่อผึ้งทั้งสองชนิดถูกจับมาให้อยู่ในสภาพที่ไม่ปกติเพื่อใช้ในการทดลอง จึงอาจจะเป็นสาเหตุทำให้ผึ้งทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองที่แตกต่างกัน (Wang and Tan, 2014) แต่อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาอื่นที่ระบุว่าผึ้งทั้งสองชนิดนี้ไม่ได้มีความสามารถการเรียนรู้และอัตราการเรียนรู้ต่อกลิ่นที่แตกต่างกันในช่วงการฝึก 6

ครั้งแรก (Jung et al., 2017) แต่ในงานวิจัยนี้พบว่าหลังจากที่ผึ้งทั้งสองชนิดนี้ถูกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขครบทั้งหมด 6 ครั้ง ผึ้งทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อ DNT ไม่แตกต่างกัน

ความสามารถในการจดจำ (memory retention) ของผึ้งให้น้ำหวานทั้งสองชนิดมีแนวโน้มเช่นเดียวกันและไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สิ่งหนึ่งที่เป็นข้อสงสัยของผู้วิจัยคือ หลังจากที่ผึ้งพันธุ์ได้รับการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิและ DNT ทั้งหมด 6 ครั้งในวันแรกแล้ว และผึ้งเหล่านี้ไม่ได้รับการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขระหว่างกลิ่นกับสารละลายน้ำตาลซูโครสเพิ่มอีกเลย แต่ทำไมเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงหลังจากการฝึก ผึ้งเหล่านั้นกลับมีแนวโน้มสามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรมต่อกลิ่นได้เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการศึกษาที่เกิดขึ้นนี้อาจจะเกิดจากปรากฏการที่เรียกว่า spontaneous recovery คือรูปแบบหนึ่งของพฤติกรรมที่สามารถเกิดขึ้นได้เองหลังจากที่เคยได้รับการเรียนรู้ของความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งเร้าเงื่อนไขและรางวัล (สารละลายน้ำตาลซูโครส) (Sandoz and Pham-Delègue, 2004) โดยผึ้งสามารถเกิดการจดจำและตอบสนองต่อกลิ่นได้เพิ่มขึ้นถึงแม้ว่าจะไม่มีการกระตุ้นด้วยกลิ่นหรือสิ่งเร้าเงื่อนไขก็ตาม โดยการศึกษา spontaneous recovery ถูกศึกษาโดย Sandoz และ Pham-Delègue (2004) พบว่า เมื่อผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นแล้วหลังจากนั้นผึ้งเหล่านี้จะได้รับสิ่งเร้ากลิ่นซ้ำ ๆ หลายครั้งโดยที่ไม่ได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสเป็นรางวัลและแน่นอนว่าผึ้งเหล่านี้จะเกิดพฤติกรรมคุ้นชินต่อกลิ่น (Habituation) และการตอบสนองต่อกลิ่นนั้นจะเริ่มลดลง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อผึ้งเหล่านี้ได้ถูกนำไปพักเป็นระยะเวลา 15 นาที 1 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 38) ผึ้งสามารถเกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นหรือสิ่งเร้านั้นได้อีกครั้งหนึ่ง (Sandoz and Pham-Delègue, 2004) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นว่าการที่ผึ้งพันธุ์มีการตอบสนองที่เพิ่มสูงขึ้นหลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมงนั้นอาจจะเกิดจากปรากฏการณ์ spontaneous recovery ที่สามารถเกิดขึ้นได้ในสิ่งมีชีวิต



ภาพที่ 38 การเรียกกลับคืนมาของพฤติกรรม PER ที่ตอบสนองต่อกลิ่นในงานวิจัยของ Sandoz และ Pham-Delègue ในปี 2004

ภาพดัดแปลงจาก : Sandoz and Pham-Delègue, 2004

อย่างไรก็ตามถึงแม้ทั้งสองชนิดนี้จะมีความสามารถในการจดจำ (memory retention) ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่แนวโน้มของทั้งสองชนิดกลับแตกต่างกันเล็กน้อย ที่เวลา 10 นาทีหลังจากการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข ผึ้งโพรงมีแนวโน้มที่จดจำและตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้มากกว่าผึ้งพันธุ์ แต่ผึ้งพันธุ์มีแนวโน้มที่จะจดจำและตอบสนองต่อ DNT ได้ดีกว่าผึ้งโพรงที่เวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งผลสอดคล้องกับข้อมูลการศึกษาของ Jung และคณะ (2017) เขาพบว่า 1 ชั่วโมงหลังจากการฝึกผึ้งให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข ผึ้งโพรงจะตอบสนองต่อกลิ่นได้ดีกว่า ในขณะที่เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ผึ้งพันธุ์กลับมีการตอบสนองที่เพิ่มสูงขึ้นและมากกว่าผึ้งโพรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Jung et al., 2017; Raza et al., 2019) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Wang และ Tan ไม่พบความแตกต่างของความสามารถในการจดจำหลังจากเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงระหว่างผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง (Wang and Tan, 2014)

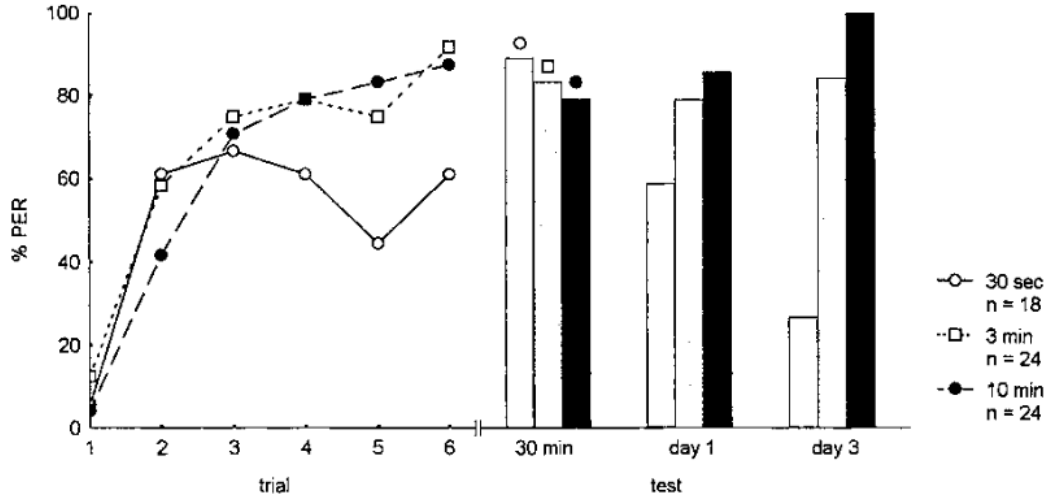
5.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการจดจำต่อกลิ่นของผึ้ง

5.3.1 ชนิดและสายพันธุ์ของผึ้ง

วิธีการทดลองพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขของ Bitterman และคณะถูกนำไปประยุกต์และใช้อย่างแพร่หลายในผึ้งและแมลงหลายชนิด เช่น ชันโรง (Frasnelli et al., 2011; Henske et al., 2015) ผึ้งมิ้ม (Kaspi and Shafir, 2013) ผึ้งหึ่ง (bumble bee) (Laloi et al., 1999; Laloi and Pham-Dele`gue, 2004) ผีเสื้อ (*Helicoverpa armigera)* (Zhang et al., 2010) ผึ้งสวนยุโรป (*Osmia cornut*) (Anfora et al., 2010) แต่ไม่ใช่แมลงทุกชนิดที่จะสามารถทดสอบพฤติกรรมการเรียนรู้นี้ได้หรือผลของการตอบสนองไม่ได้ดีเทียบเท่ากับที่การทดลองในผึ้งพันธุ์ อย่างผึ้งที่ดำรงชีวิตแบบ Solitaliy bee หรือผึ้งโดดเดี่ยวในกลุ่มของผึ้งกัดใบ (Megachilid) ก็ไม่สามารถเกิดพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขนี้ได้ (Vorel and Pitts-Singer, 2010) อย่างไรก็ตามความสามารถในการเรียนรู้ของแต่ละชนิดของสิ่งมีชีวิตที่นำมาใช้ทดลองมีความสามารถแตกต่างกัน และความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขนี้ก็ยังมีความแตกต่างกันในระดับ subspecies ถึงแม้จะเป็นผึ้งในสกุลเดียวกันและชนิดเดียวกันก็ตาม subspecies ต่างกันความสามารถในการเรียนรู้ก็แตกต่างกันได้ (Shakib and Mehdi, 2016) ในการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้ระหว่างผึ้งชนิด *Apis mellifera ligustica* และ *Apis mellifera scutellate* ที่ถูกเลี้ยงในสภาวะแวดล้อมแบบเดียวกัน ผลปรากฏว่าทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเรียนรู้ที่แตกต่างกัน (Couvillion et al., 2010) อย่างเช่นในการศึกษาครั้งนี้ใช้ผึ้งพันธุ์ชนิด *Apis mellifera ligustica* และใช้ผึ้งโพรง *Apis cerana indica* โดยเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นที่ทำการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการตอบสนองแบบ PER ในผึ้งพันธุ์ชนิด *Apis mellifera ligustica* และผึ้งโพรง *Apis cerana cerana* พบว่าผึ้งทั้งสองชนิดสามารถแสดงพฤติกรรม PER ได้ 50% และ 30% ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์ที่มี subspecies เดียวกันเกิดการแสดงพฤติกรรม PER ที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ผึ้งโพรงที่มี subspecies ต่างกันก็ส่งผลให้เกิดการแสดงพฤติกรรม PER ที่แตกต่างกัน (Raza et al., 2019) อย่างไรก็ดียังมีการศึกษาอื่นที่ระบุว่าผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER ได้สูงถึง 80% แต่การศึกษานั้นไม่ได้ระบุ subspecies ของผึ้งทั้งสองชนิด (Wang and Tan, 2014) นอกจากนี้สายพันธุ์ (strain) ที่ถูกคัดเลือกมาต่างกันก็ส่งผลต่อการเรียนรู้ของผึ้งได้เช่นกัน อย่างเช่นตัวอย่างของการศึกษาของ Scheiner, Page และ Erber พบว่าผึ้งที่มีสายพันธุ์ที่เลือกที่จะเก็บสะสมและหาอาหารประเภทเกสรมักจะมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำได้ดีกว่าผึ้งที่เก็บสะสมอาหารประเภทอื่น (Scheiner et al., 2001)

5.3.2 ระยะเวลาที่เว้นช่วงในการฝึกแต่ละครั้ง (Interval time, ITI)

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกใช้เวลา 10 นาที สำหรับการเว้นช่วงฝึกในแต่ละครั้ง หรือการเว้นช่วงให้ผึ้งได้พักก่อนที่จะเริ่มใน trial ถัด ๆ ไปจนครบทั้งหมด 6 ครั้ง (6 trials) อย่างไรก็ตามเวลา Interval time หรือ ITI นั้นส่งผลต่อการเรียนรู้และการจดจำกลิ่นของผึ้งโดยตรง ยิ่งใช้ระยะเวลา ITI น้อยจะยิ่งส่งผลให้ผึ้งเกิดการตอบสนองและเรียนรู้ต่อกลิ่นในระยะเริ่มต้นของการฝึกได้มาก แต่จะส่งผลทำให้เกิดการเรียนรู้และการจดจำนี้เป็นแบบความจดจำระยะสั้น (short-term memory) ในขณะที่การใช้ ITI มากในระหว่างการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขในผึ้ง จะส่งผลให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นในช่วงแรกช้าแต่การเรียนรู้จะยังคงเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ และยิ่งไปกว่านั้นการใช้ ITI มากจะส่งผลโดยตรงต่อการเรียนรู้และการจดจำของผึ้ง ทำให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้และจดจำในรูปแบบความจำระยะยาว (long-term memory) หรือกล่าวอีกนัยนึงก็คือ ผึ้งสามารถจดจำและตอบสนองต่อกลิ่นได้แม้ว่าเวลาจะผ่านไปแล้วมากกว่า 24 และ 48 ชั่วโมงก็ตาม (Menzel et al., 2001) โดยการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า การใช้ ITI ที่เวลา 30 วินาทีเปรียบเทียบกับการใช้ ITI ที่เวลา 10 นาที ผลปรากฏว่า เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาทีหลังจากการฝึกให้เกิดการเรียนรู้ ผึ้งในกลุ่มที่ถูกฝึกด้วย ITI ระยะเวลา 30 วินาทีสามารถจดจำและตอบสนองต่อกลิ่นได้ดีกว่าผึ้งที่ถูกฝึกด้วย ITI ระยะเวลา 10 นาที แต่หลังจากเวลาผ่านไป 24 และ 48 ชั่วโมงกลับพบว่า ผึ้งที่ถูกฝึกด้วย ITI ระยะเวลา 10 นาที ยังคงสามารถจดจำและตอบสนองต่อกลิ่นได้เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่กลุ่มที่ฝึกด้วย ITI ระยะเวลา 30 วินาทีกลับมีการตอบสนองที่ลดลงเมื่อเวลายิ่งผ่านไป (ภาพที่ 39)



ภาพที่ 39 แนวโน้มการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่นของผึ้งพันธุ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขโดยมีระยะเวลา ITI ที่ 30 วินาที 3 นาทีและ 10 นาที

ภาพจาก : Menzel et al., 2001

อย่างไรก็ตามการตัดสินใจเลือกใช้เวลา ITI ก็มีผลต่อรูปแบบการทดลองเนื่องจากผู้วิจัยทำการทดลองในแต่ละครั้งของการฝึกผึ้งในแต่ละชุดการทดลอง ผู้วิจัยใช้ผึ้งจำนวนประมาณ 20 ตัวและมีขั้นตอนในกระบวนการทำให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นโดยใช้เวลาประมาณ 30 วินาทีต่อตัว ถ้าใช้เวลา ITI น้อย ดังเช่น 30 วินาที หรือ 1 นาทีจะไม่สามารถทำได้ทัน และเนื่องด้วยงานวิจัยในครั้งนี้ต้องการศึกษาความสามารถในการจดจำแบบ

ความจำระยะยาวด้วย (มากกว่า 24 ชั่วโมง) ผู้วิจัยจึงตัดสินใจเลือกใช้ ITI ที่เวลา 10 นาที ซึ่งมีความเหมาะสมกับจำนวนผึ้ง 20 ตัวพอดีในแต่ละรอบ (Matsumoto et al., 2012)

5.3.3 จำนวนครั้งในการฝึกผึ้งให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (condition trial)

จำนวนครั้งในการฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นก็ส่งผลต่อการเรียนรู้ของผึ้งและการจดจำของผึ้ง การที่ผึ้งได้รับสิ่งเร้าเงื่อนไขและรางวัลซ้ำหลายครั้ง ย่อมส่งผลให้ผึ้งเกิดพฤติกรรมที่มากขึ้นและเกิดการจดจำที่มากขึ้นด้วย (Sandoz and Pham-Delègue, 2004) แต่อย่างไรก็ตามหากสิ่งเร้านั้นถูกให้ซ้ำ ๆ การตอบสนองต่อสิ่งเร้านั้นก็อาจจะลดลง (Braun and Bicker, 1992) โดยการศึกษาของ Sandoz และคณะ (1995) ได้ออกแบบการทดลองเพื่อทดสอบผลของจำนวนครั้งในการฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข ผลการศึกษาสรุปว่า การฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นนั้นสามารถทำเพียงแค่ 1 ครั้งหรือ 1 condition trial ก็ได้ แต่การเรียนรู้และการจดจำของกลิ่นนั้นจะเป็นในรูปแบบของความจดจำระยะสั้นคือสามารถเกิดการตอบสนองได้ดีแค่ภายในช่วง 24 ชั่วโมงแรก แต่หลังจากนั้นการตอบสนองและการจดจำต่อกลิ่นจะลดลง ในขณะที่ผึ้งที่ถูกฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขทั้งหมด 3 ครั้งสามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นได้ดีกว่าและเป็นรูปแบบความจำในระยะยาว (Sandoz et al., 1995; Menzel and Müller, 1996) แต่ถ้าหากจำนวนครั้งในการฝึกมากเกินไป จะส่งผลให้ผึ้งจะตอบสนองต่อสารละลายน้ำตาลซูโครสน้อยลงเพราะผึ้งจะเกิดการอิ่มอาหารและจะไม่แสดงพฤติกรรมการแลบลิ้นออกมาเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส (Menzel et al., 2001)

5.3.4 ปัจจัยหรือสิ่งเร้าที่อาจจะเกิดขึ้นและผึ้งอาจจะเรียนรู้ในระหว่างการทดลอง

ในการทดลองแต่ละครั้ง แสงเป็นหนึ่งปัจจัยที่อาจจะมีความเกี่ยวข้องต่อการเรียนรู้ เนื่องจากผึ้งที่ถูกจับมาทดลองนั้นยังสามารถที่จะใช้ประสาทรับสิ่งเร้าได้จากทางดวงตา มีรายงานและการศึกษามากมายที่บ่งบอกว่าผึ้งสามารถเรียนรู้ต่อแสงและเรียนรู้ภาพที่เห็นได้ (Hateren et al., 1990; Giurfa et al., 2001; Hori et al., 2006; Qin et al., 2012) การศึกษาในครั้งนี้ทางผู้วิจัยไม่สามารถตัดปัจจัยที่มาจากแสงออกไปได้ และการที่จะให้ผึ้งสามารถเกิดพฤติกรรมและตอบสนองได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น ผึ้งควรจะอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์และเป็นธรรมชาติมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่รายงานว่าการใช้สิ่งเร้ากลิ่นเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขผึ้งจะสามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นได้เร็วและไวกว่าการตอบสนองสิ่งเร้าที่เป็นแสง (Vareschi, 1971; Masuhr and Menzel, 1972; Menzel et al., 1974) ผู้วิจัยจึงคาดการณ์ว่าผึ้งน่าจะตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่เป็นกลิ่นมากกว่าตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่เป็นแสง อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นของผึ้งให้น้ำหวานทั้งสองชนิด ซึ่งผึ้งทั้งสองชนิดนี้ก็ได้รับการทดลองเหมือนกันและได้รับปริมาณแสงที่เท่ากันในระหว่างการฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น

5.3.5 ปัจจัยที่อยู่ภายในของผึ้งแต่ละตัว

5.3.5.1 ความหิว

เป็นปัจจัยอย่างแรกที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรม PER เมื่อผึ้งถูกกระตุ้นด้วยน้ำตาลซูโครสที่บริเวณหนวด ผึ้งจะเกิดพฤติกรรม PER หรือการแลบลิ้นออกมาเพื่อกินสารละลายน้ำตาลนั้น แน่นอนว่าผึ้งที่อยู่ในสภาวะหิวโหยจะตอบสนองได้เร็วและรุนแรงกว่าและจะส่งผลให้มีความสามารถในการตอบสนองที่ดีกว่าด้วย (Menzel et al.,

1989) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองเพื่อให้ผึ้งทุกตัวได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสที่เท่ากันและได้รับอย่างเต็มที่จนอิ่มก่อนที่จะนำมาทดลองเป็นเวลาอย่างน้อย 20 ชั่วโมง ผู้วิจัยจึงแน่ใจได้ว่าผึ้งทุกตัวจะอยู่ในสภาวะที่ได้รับอาหารและหิวเท่ากัน

5.3.5.2 ความคุ้นชินต่อสิ่งเร้า (Habituation)

ผึ้งที่ถูกฝึกจะได้รับกลิ่นเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข (CS) และจะได้รับรางวัลซึ่งเป็นสารละลายน้ำตาลซูโครส (US) อาจจะเป็นไปได้ว่า ยิ่งผึ้งได้รับสิ่งเร้าและอาหารซ้ำ ๆ หลาย ๆ ครั้งอาจจะทำให้ผึ้งเกิดพฤติกรรมความคุ้นชินต่อสิ่งเร้านั้นได้ แต่จากการศึกษาของ Braun และ Bicker (1992) ได้ระบุว่าผึ้งที่อยู่ในสภาวะอิ่มจากอาหาร (ได้รับอาหารอย่างเต็มอิ่มก่อนหน้า 2 ชั่วโมง) มีแนวโน้มที่จะเกิดพฤติกรรมความคุ้นชินต่อสิ่งเร้าสูงกว่าผึ้งที่อยู่ในสภาวะหิวโหย (ได้รับอาหารอย่างเต็มอิ่มก่อนหน้า 12 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Braun and Bicker, 1992) ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ให้อาหารแก่ผึ้งก่อนที่จะนำมาทดลองในช่วงเวลา 17.00 น. ก่อนที่จะนำมาทดลองและผึ้งได้รับอาหารอีกครั้งในเวลา 13.00 น. อย่างไรก็ดีแสดงให้เห็นว่าผึ้งทุกตัวอยู่ในสภาวะที่กำลังหิวเท่า ๆ กัน จึงให้ผลการทดลองมาในทิศทางเดียวกัน และ Braun ยังเสนอแนะอีกว่าการที่ผึ้งได้รับสารละลายน้ำตาลซูโครสกระตุ้นที่หนวดซ้ำ ๆ จะทำให้เกิดพฤติกรรมที่คุ้นชินมากยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ดีพฤติกรรมการคุ้นชินต่อสารละลายน้ำตาลซูโครสจะเกิดขึ้นได้ไวถ้าเกิดใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้นต่ำ (5% w/v สารละลายน้ำตาลซูโครส) (Braun and Bicker, 1992; Menzel and Müller, 1996) แต่การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงถึง 50% w/v

5.3.5.3 Sucrose responsiveness หรือความสามารถในการตอบสนองต่อน้ำตาล

ผึ้งแต่ละตัวจะมีความสามารถในการตอบสนองต่อน้ำตาลได้แตกต่างกัน ผึ้งที่มีความสามารถในการตอบสนองต่อน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่ำ (high sucrose responsiveness) จะสามารถตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER เมื่อถูกกระตุ้นด้วยน้ำตาลที่มีความเข้มข้นต่ำจนไปถึงความเข้มข้นสูงได้ แต่ในขณะที่ผึ้งที่มีความสามารถในการตอบสนองต่อน้ำตาลที่ความเข้มข้นสูง (low sucrose responsiveness) จะตอบสนองและเกิดพฤติกรรม PER ต่อเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลความเข้มข้นสูงเท่านั้น (Scheiner et al., 2004) ผึ้งที่มีความสามารถในการตอบสนองต่างกันย่อมส่งผลถึงการแสดงพฤติกรรม PER ที่แตกต่างกัน จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ผึ้งในกลุ่ม high sucrose responsiveness จะมีความสามารถในการเรียนรู้ที่ดีกว่ากลุ่ม low sucrose responsiveness (Scheiner et al., 2004; Mujagic et al., 2010) จากผลการศึกษาจึงกล่าวได้ว่าผึ้งแต่ละตัวมีความสามารถในการเรียนรู้ที่แตกต่างกันแม้ว่าจะอยู่ภายในรังเดียวกันและมีพันธุกรรมคล้ายกันก็ตาม อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50% w/v ซึ่งเป็นสารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้นที่สูงที่ผึ้งที่มี low และ high sucrose responsiveness สามารถตอบสนองต่อสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นนี้ได้

5.3.5.4 อายุขัยและวรรณะหน้าที่ภายในรัง

ผึ้งที่อาศัยอยู่ภายในรังเดียวกันจะมีอายุและหน้าที่แตกต่างกันไป ผึ้งที่มีอายุมากจะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการหาอาหาร (forager bee) และปกป้องรัง (guard bee) ในขณะที่ผึ้งที่เพิ่งจะออกจากระยะดักแด้จะเป็นผึ้งที่อายุน้อยและมีหน้าที่ดูแลภายในรัง (nurse bee) (Caron and Connor, 2013) ผึ้งที่มีอายุต่างกันก็จะที่มีหน้าที่ต่างกันด้วย ทั้งสองปัจจัยนี้ล้วนแล้วแต่ส่งผลต่อพฤติกรรมการเรียนรู้ของผึ้ง ผึ้งที่มีหน้าที่ออกหาอาหารจำเป็นที่จะต้อง

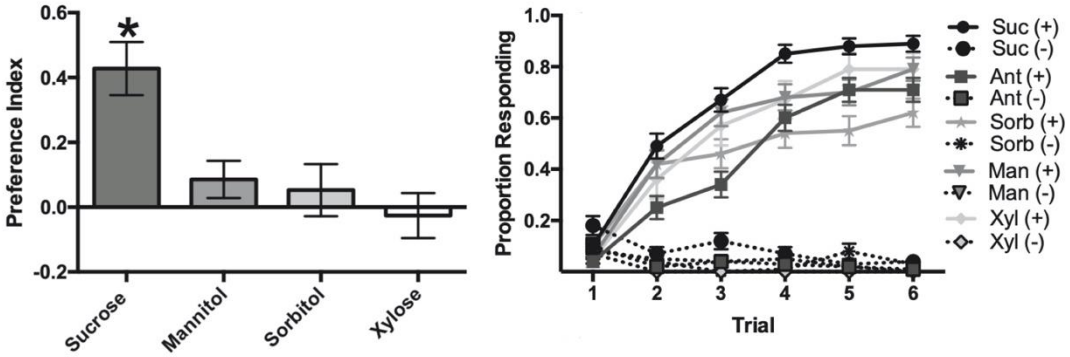
เรียนรู้และจดจำถึงแหล่งอาหารนั้น (Scheiner et al., 2004) จึงทำให้ความสามารถในการเรียนรู้นั้นแตกต่างกัน ผึ้งที่มีอายุและประสบการณ์มากกว่าจะมีความสามารถในการเรียนรู้และจดจำได้ดีกว่า (Ray and Ferneyhough, 1997; Pankiw and Page, 1999) อย่างไรก็ดีในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกจับและใช้ทดลองกับผึ้งที่มีหน้าที่หาอาหารที่มีอายุใกล้เคียงกันเพื่อตัดปัจจัยความแตกต่างในเรื่องของอายุของผึ้ง ซึ่งผึ้งที่มีหน้าที่หาอาหารเหล่านี้จะมีอายุเฉลี่ยโดยประมาณ 28–30 วัน หลังออกจากระยะดักแด้ (Wagener-Hulme et al., 1999)

5.3.6 ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลซูโครสและชนิดของน้ำตาลที่เลือกใช้ (US)

ในดอกไม้ธรรมชาติปกติภายในจะมีน้ำต้อยหรือน้ำหวานที่อยู่ภายในดอก (nectar) องค์ประกอบหลักที่อยู่ภายในน้ำหวานได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรัคโตส (Beutler, 1935; Seeley, 1995; Corbet, 2003) แต่ผึ้งในธรรมชาตินั้นจะเลือกที่จะเข้าหาน้ำตาลซูโครสมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น (Barker and Lehner, 1974) น้ำตาลซูโครสไม่เป็นเพียงแต่แหล่งคาร์โบไฮเดรตและแหล่งพลังงานหลักของผึ้ง แต่ยังเป็นตัวแปรสำคัญที่เป็นรางวัลแก่ผึ้งที่มีหน้าที่หาอาหาร และเป็นปัจจัยหลักที่ผึ้งจะเลือกและตัดสินใจในการหาอาหาร ณ ที่นั้น ๆ (Scheiner et al., 2004) ดังนั้นการศึกษาในเรื่องพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข การศึกษาส่วนใหญ่จึงเลือกใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสเป็นรางวัลแก่ผึ้ง

ชนิดของน้ำตาลนั้นก็มีผลต่อการตอบสนองต่อการแลบลิ้นของผึ้งหรือการเกิดพฤติกรรม PER ของผึ้งเช่นเดียวกัน โดยค่าดัชนีชี้วัดการตอบสนอง PER ของผึ้ง พบว่า ผึ้งตอบสนองต่อน้ำตาลซูโครสมากที่สุด (0.4) ในขณะที่น้ำตาลประเภทอื่น เช่น แมนนิทอล ซอบิลทอลและไซโรส มีค่าดัชนีชี้วัดการตอบสนอง PER น้อยกว่า 0.2 ทั้งหมด และการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นรางวัลให้แก่ผึ้งยังแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองผ่านทางพฤติกรรม PER สูงกว่าน้ำตาลแมนนิทอล ซอบิลทอลและไซโรสด้วย (Mustard et al., 2018) (ภาพที่ 40) และน้ำตาลซูโครสได้ผลดีกว่าน้ำตาลฟรัคโตสและกลูโคส (Simcock et al., 2018) นอกจากชนิดของน้ำตาลแล้วความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลก็มีผลต่อการเรียนรู้ของผึ้งเช่นกัน ยิ่งสารละลายน้ำตาลซูโครสมีความเข้มข้นมากเท่าไหร่จะยิ่งส่งผลให้การตอบสนองและแสดงพฤติกรรม PER มากขึ้นเท่านั้น (Scheiner et al., 2004; Yang et al., 2013; Simcock et al., 2018; Raza et al., 2019)

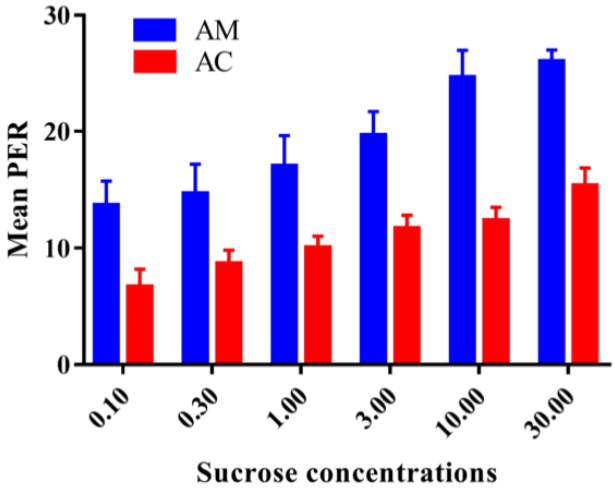
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 40 ดัชนีชี้วัดความชอบและการตอบสนองต่อน้ำตาลของผึ้ง (ซ้าย) กราฟแสดงแนวโน้มพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขของผึ้งโดยให้น้ำตาลหลากหลายชนิดเป็นรางวัลแก่ผึ้ง (ขวา)

ภาพจาก : Mustard et al., 2018

ในงานวิจัยของ Raza และคณะ (2019) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบ sucrose responsiveness ของระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ พบว่าผึ้งพันธุ์มีแนวโน้มสามารถตอบสนองต่อสารละลายน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 0.1 ,0.3, 1, 3, 10 และ 30% w/v ได้ดีกว่าผึ้งโพรง แต่จากผลทดสอบทางสถิติพบว่า ผึ้งทั้งสองชนิดมีความแตกต่างของ sucrose responsiveness ที่สารละลายน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10% และ 30% w/v และผลยังสอดคล้องกับ Yang (2013) ที่พบว่าผึ้งพันธุ์จะมีความสามารถในการตอบสนองต่อน้ำตาลซูโครสได้ดีกว่าผึ้งโพรง (ภาพที่ 41) หรืออาจจะเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นที่ใช้ในระหว่างทั้งสองชนิดอาจจะแตกต่างกัน ผึ้งพันธุ์มักจะตอบสนองต่อน้ำตาลความเข้มข้นสูงได้ดีกว่า ในขณะที่ผึ้งโพรงนั้นตอบสนองต่อน้ำตาลความเข้มข้นสูงได้น้อยกว่า อาจจะเกิดจากสาเหตุการเลี้ยงของผึ้งพันธุ์มักจะถูกเลี้ยงด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง ในขณะที่ผึ้งโพรงมักจะถูกปล่อยให้อาหารเองตามธรรมชาติ



ภาพที่ 41 การเปรียบเทียบ sucrose responsiveness ระหว่างผึ้งพันธุ์ (ตัวย่อ AM) และผึ้งโพรง (ตัวย่อ AC) ในการศึกษาของ Raza และคณะ (2019)

ภาพจาก : Raza et al., 2019

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.3.7 ปัจจัยอื่น

นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว อาจจะมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขและการจดจำของผึ้งมีได้หลายปัจจัย หนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลโดยตรงได้แก่ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Frost et al., 2012) เช่น สภาพอากาศ ฤดูกาล อุณหภูมิ เป็นต้น รวมไปถึงเวลาการออกหาอาหารของผึ้งก็มีผลเช่นเดียวกัน (Hadar and Menzel, 2010; Scheiner et al., 2013) การที่ภายในรังของผึ้งอยู่ในสภาวะเครียดอันเกิดมาจากการขาดแคลนอาหาร โรคภัย ก็ล้วนแล้วแต่ส่งผลต่อการเรียนรู้ของผึ้ง ทำให้ผึ้งเกิดการตอบสนองที่ลดลง (Smith and Burden, 2014) การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงภายในฤดูกาลนั้นหรือการเปลี่ยนแปลงในระหว่างวันล้วนแต่ส่งผลต่อการแสดงพฤติกรรม PER และการเรียนรู้ของผึ้ง การทดลองจึงควรทำหลาย ๆ วัน เพื่อลดปัจจัยที่ส่งผลจากการเปลี่ยนแปลงของวันนั้น และที่สำคัญที่สุดคือชุดทดลองและชุดควบคุมจำเป็นจะต้องทำในวันและเวลาเดียวกัน เพื่อที่ว่าทุกกลุ่มการทดลองจะได้รับผลกระทบจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมเหมือน ๆ กัน

5.4 รูปแบบการดำรงชีวิตและนิเวศวิทยาของผึ้งที่อาจจะส่งผลต่อพฤติกรรมการเรียนรู้ระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างผึ้งหรือแมลงผสมเกสรกับพืชส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับปริมาณพลังงานที่แมลงต้องการและปริมาณพลังงานที่พืชจะมีให้ (Heinrich and Raven, 1972; Heinrich, 1975; Heinrich, 1983) ผึ้งไม่ได้เพียงแต่เรียนรู้และจดจำต่อสี รูปร่างและกลิ่นของดอกไม้ แต่ผึ้งยังต้องพิจารณาถึงความคุ้มค่าของพลังงานที่จะได้รับในการออกหาอาหารแต่ละครั้ง (Heinrich and Raven, 1972; Heinrich, 1975; Abrol 1985; Abrol, 1993) จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้แมลงผสมเกสรที่ต้องการพลังงานมากอาจจะไม่หาอาหารกับดอกไม้ที่ให้ปริมาณพลังงานน้อย และเป็นไปตาม Optimal foraging theory กล่าวคือ สิ่งมีชีวิตจะปรับตัวในการหาอาหารเพื่อที่จะให้คุ้มค่ากับพลังงานและเวลาที่สูญเสียไป (MacArthur and Pianka, 1966; Heinrich, 1983; Abrol, 1992)

Yang (2009) รายงานว่าหากมีการพบผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์อาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกัน อาจจะพบผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์แย่งชิงอาหารกัน (Suryanarayana et al., 1992; Nagamitsu and Inoue, 1999) ผึ้งแต่ละชนิดก็จะมีกลไกและการลดการแข่งขันทางด้านอาหารที่แตกต่างกัน ผึ้งโพรงปรับตัวที่จะไปเก็บน้ำหวานจากดอกไม้ที่กระจัดกระจายหรือดอกไม้ที่พบได้น้อยและเก็บที่บริเวณใกล้รัง รวมไปถึงผึ้งโพรงจะหาอาหารกับพืชชนิดที่เป็นต้นไม้สูง ในขณะที่ผึ้งพันธุ์เลือกที่จะหาอาหารในทุ่งดอกไม้ขนาดใหญ่ที่มีดอกไม้เป็นจำนวนมากและผึ้งพันธุ์เลือกที่จะหาอาหารกับพืชที่ไม้เป็นไม้พุ่ม (Nagamitsu and Inoue, 1999; Yang, 2009) โดยเฉพาะในช่วงขาดแคลนอาหาร Wang และ Tan (2014) พบว่ารังของผึ้งพันธุ์จะมีการเก็บน้ำหวานที่น้อยกว่าในผึ้งโพรง เป็นสาเหตุมาจากการที่ผึ้งโพรงนั้นสามารถหาอาหารในพื้นที่ที่มีอาหารน้อยและใกล้รังได้ดีกว่าผึ้งพันธุ์ ผึ้งโพรงจะสามารถหาอาหารได้ง่ายและรวดเร็วกว่า ผึ้งโพรงจึงได้รับ selective pressure ที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และเกี่ยวข้องกับกลิ่นและรางวัลของอาหารน้อยกว่าในผึ้งพันธุ์ ซึ่งอาจจะเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ผึ้งโพรงมีการแสดงพฤติกรรม PER และตอบสนองต่อกลิ่นได้น้อยกว่าผึ้งพันธุ์ (Wang and Tan, 2014) ยังมีรายงานที่เกี่ยวข้องกับ Floral constancy หรือพฤติกรรมการเข้าหาดอกไม้ชนิดเดิม ๆ ของแมลง มีรายงานว่าสามารถพบพฤติกรรมนี้ได้ทั้งในผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ แต่ผึ้งโพรงมักจะนิยมหาอาหารจากดอกไม้ชนิดเดิม ๆ ในแต่ละครั้งของการออกหาอาหารมากกว่าผึ้งพันธุ์ และอาจจะเป็นดอกไม้ชนิดเดิมตลอดทั้งวัน (Choudary, 1978; Naim and Bisht, 1989) นอกจากนี้ยังพบว่า ในหนึ่งรอบการหาอาหารผึ้งโพรงมีแนวโน้มที่จะเก็บอาหารระหว่างน้ำหวานและเกสรอย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น จะไม่เลือกเก็บทั้งสองพร้อมกัน (Bakker, 1999; Corlett, 2011) จากที่กล่าวมาข้างต้น ในความเห็นของผู้วิจัยคาดว่า ผึ้งทั้งสองชนิดมักจะนิยมหาอาหารจากดอกไม้ชนิดเดิม แต่ในผึ้งโพรงจะแสดงพฤติกรรมนี้มากกว่าจึงทำให้ความหลากหลายในการหาอาหารจึงน้อยกว่า อาจจะเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่อพฤติกรรมการเรียนรู้ ผึ้งโพรงหาอาหารแต่ดอกไม้ชนิดเดิมจึงใช้ทักษะการหาอาหารและความสามารถในการเรียนรู้น้อยกว่าผึ้งพันธุ์ ในขณะที่ผึ้งพันธุ์หาอาหารกับดอกไม้หลากชนิดจึงจำเป็นต้องใช้ทักษะและความสามารถในการหาอาหารมากกว่า จึงส่งผลให้ผึ้งพันธุ์มีความสามารถในการเรียนรู้มากกว่าผึ้งโพรง

การศึกษาของ Abrol (2007) เกี่ยวกับการใช้พลังงานระหว่างผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ พบว่า ผึ้งโพรงจะออกหาอาหารและใช้เวลาในภาคสนามมากกว่าผึ้งพันธุ์ โดยผึ้งโพรงใช้เวลาเฉลี่ยในการออกหาอาหารประมาณ 300 นาทีต่อวัน กิจกรรมภายในรัง 336.78 นาทีต่อวัน และใช้เวลาพักผ่อนประมาณ 803.21 นาทีต่อวัน ในขณะที่ผึ้งพันธุ์ใช้

เวลาในการออกหาอาหารน้อยกว่า โดยใช้เวลาเพียง 284.28 นาทีต่อวัน และใช้เวลาสำหรับกิจกรรมภายในรัง 222.5 นาทีต่อวัน นอกจากนี้ยังพบว่าผึ้งพันธุ์ยังใช้เวลาในการพักผ่อน 933.21 นาทีต่อวัน ซึ่งมีสูงกว่าผึ้งโพรง ยิ่งไปกว่านั้นจำนวนรอบในการหาอาหารของทั้งสองชนิดก็แตกต่างกัน ผึ้งโพรงจะออกหาอาหาร 10–15 ครั้งต่อวัน ในขณะที่ผึ้งพันธุ์จะออกหาอาหารเพียง 10–12 ครั้งต่อวัน (Abrol, 2007) อย่างไรก็ดี ระยะทางในการหาอาหารของผึ้งทั้งสองชนิดก็มีความแตกต่างกัน ระยะทางของการหาอาหารของผึ้งโพรงมีรายงานว่า โดยปกติผึ้งโพรงจะหาอาหารใกล้รังโดยมีขอบเขตการหาอาหารประมาณ 200–300 เมตรห่างจากรัง (Partap, 2011) และการศึกษาเกินกว่าครึ่งหนึ่งรายงานว่าผึ้งโพรงหาอาหารภายในรัศมี 250 เมตร แต่อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาอื่นที่รายงานว่าผึ้งโพรงที่มีหน้าที่หาอาหารอย่างน้อย 95% ในระยะทาง 500–900 เมตร (Dhaliwai and Sharma, 1974; Bakker, 1999; Dyer and Seeley, 1991; Bhuyan et al., 2002) และระยะทางมากที่สุดที่สังเกตได้พบว่า ผึ้งโพรงสามารถหาอาหารในช่วงระยะทางประมาณ 1,500–2,000 เมตรได้เช่นกัน แต่เมื่อนำระยะทางของการอาหารในผึ้งโพรงไปเปรียบเทียบกับในผึ้งพันธุ์กลับพบว่า ผึ้งพันธุ์มีแนวโน้มมีระยะทางในการหาอาหารมากกว่าผึ้งโพรงอย่างมาก โดยระยะทางที่ไกลที่สุดที่ที่เคยรายงานพบว่ามีระยะทางมากกว่า 10 กิโลเมตร (Visscher and Seeley, 1982; Beekman and Ratnieks, 2000) และพบว่าผึ้งพันธุ์ที่มีหน้าที่หาอาหารครึ่งนึงมักพบระยะทางหาอาหารอยู่ในช่วงประมาณ 1,650 เมตร และกว่า 95% ของผึ้งหาอาหารทั้งหมดหาอาหารที่ระยะทางมากกว่า 6 กิโลเมตรในป่าผลัดใบในตะวันออกเฉียงเหนือของอเมริกา (Visscher and Seeley, 1982) จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า ผึ้งพันธุ์ใช้เวลาสำหรับการอาหารและจำนวนการออกหาอาหารน้อยกว่าผึ้งโพรงและยังมีระยะทางในการหาอาหารมากกว่าผึ้งโพรงด้วย ดังนั้นอาจจะเป็นไปได้ว่า ผึ้งพันธุ์จึงจำเป็นต้องหาแหล่งอาหารที่มีปริมาณพลังงานมากเพียงพอสำหรับการดำรงชีวิต และจึงทำให้ผึ้งพันธุ์จึงมีความสามารถในการหาอาหารที่ดีกว่าและใช้ทักษะในการเรียนรู้มากกว่า ด้วยสาเหตุข้างต้นที่กล่าวมาทั้งหมดจึงอาจจะเป็นไปได้ว่า ผึ้งทั้งสองชนิดมีรูปแบบการดำรงชีวิตในการหาอาหารที่แตกต่างกัน จึงทำให้มีความสามารถในการหาอาหารที่แตกต่างกันและจึงส่งผลต่อรูปแบบการเรียนรู้ของผึ้งทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน เพราะการเรียนรู้และการจดของผึ้งจะเกิดขึ้นตอนช่วงระหว่างการหาอาหารของผึ้ง น้ำหวานเปรียบเสมือนเป็นทั้งแหล่งอาหารให้แก่ผึ้งและยังเป็นรางวัลแก่ผึ้งที่ทำหน้าที่หาอาหาร น้ำหวานจึงเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการตัดสินใจในการหาอาหาร และส่งผลต่อการการเรียนรู้ของผึ้งให้เกิดความแตกต่างกัน (Scheiner et al., 2004)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ชนิดต่าง ๆ ของผึ้งให้น้ำหวานเกิดจากการวิวัฒนาการที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่ผึ้งดำรงชีวิตที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากการคัดเลือกทางธรรมชาติ (natural selection) ของแต่ละถิ่นฐานของแต่ละชนิด จึงทำให้ผึ้งให้น้ำหวานแต่ละชนิดมีความแตกต่างทางด้านพฤติกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน (Ruttner, 1975) ผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์มีต้นกำเนิดที่แตกต่างกัน ผึ้งพันธุ์มีต้นกำเนิดในทวีปยุโรป แอฟริกา และตะวันออกกลาง (Ruttner, 1988) ในขณะที่ผึ้งโพรงกำเนิดในทวีปเอเชีย (Müller, 1982) จึงทำให้ทั้งสองชนิดดำรงชีวิตในระบบนิเวศที่แตกต่างกัน ส่งผลให้มีวิวัฒนาการที่แตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นพฤติกรรรมทางสังคมที่อยู่ภายในรังและพฤติกรรมการสืบพันธุ์ที่แตกต่างกัน (ช่วงเวลาในการผสมพันธุ์ ตำแหน่งและความสูงของการผสมพันธุ์) (Wongsiri and Deowanish, 2012) ถึงแม้ว่าในปัจจุบันผึ้งทั้งสองชนิดนี้จะดำรงชีวิตกันแบบ sympatric หรือภายในสภาวะแวดล้อมแบบเดียวกัน ผึ้งพันธุ์จากยุโรปถูกนำเข้ามาเลี้ยงในเอเชียรวมไปถึงประเทศไทยด้วย ซึ่งเป็นเวลาผ่านมาแล้วเกือบ 80 ปี (Wongsiri et al., 1988; Yang, 2005; Suppasat et al., 2007) ผึ้งพันธุ์ที่เคย

ดำรงชีวิตในเขตอบอุ่นในทวีปยุโรปมีการดำรงชีวิตและหาอาหารที่แตกต่างจากผึ้งในเขตบริเวณเส้นศูนย์สูตร ผึ้งพันธุ์จำเป็นจะต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ จากเดิมที่หาอาหารในพื้นที่ราบและป่าในเขตยุโรป (Fan and Zhou, 2005) ก็จะต้องเปลี่ยนแปลงจากการอาหารในพื้นที่ราบและเป็นป่าผลัดใบเป็นการหาอาหารในป่าเขตร้อนชื้นและสภาพที่เป็นภูเขา อีกทั้งผึ้งพันธุ์ยังต้องเผชิญกับอุณหภูมิ ความชื้น และปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่นที่เปลี่ยนแปลงไป ในขณะที่ผึ้งโพรงเป็นผึ้งพื้นถิ่นและมีต้นกำเนิดในเอเชีย ผึ้งโพรงจะคุ้นชินกับสภาวะแวดล้อมและระบบนิเวศเดิม (Qin et al., 2012) จากความเห็นของผู้วิจัยจึงเป็นไปได้ว่า ผึ้งพันธุ์จำเป็นจะต้องปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงและมีทักษะรูปแบบการหาอาหารที่เหมาะสมต่อสภาวะแวดล้อมใหม่ จึงทำให้ผึ้งพันธุ์มีความสามารถในการเรียนรู้ไวกว่าในช่วงการฝึกครั้งแรกตามผลการศึกษาเช่นเดียวกับของ Wang และ Tan (2014) อย่างไรก็ตามเมื่อกล่าวถึงในระดับของวิวัฒนาการของผึ้งพันธุ์ เวลาเพียงแค่ 100 ปียังน้อยเกินไปที่จะส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงและการวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต การที่ผึ้งทั้งสองชนิดมีความสามารถในการเรียนรู้ที่เท่ากันหรือจะแตกต่างกันนั้นอาจจะเป็นผลมาจากพันธุกรรมที่ผึ้งทั้งสองชนิดมีจุดกำเนิดและวิวัฒนาการที่แตกต่างกันอันเกิดมาจากสภาวะแวดล้อมและภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม Qin (2012) กล่าวว่า ผึ้งโพรงน่าจะมีความสามารถในการเรียนรู้ที่ดีกว่า อันเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมและระบบนิเวศของผึ้งโพรงที่อาศัยอยู่เดิมนั้น อยู่ในเขตป่าร้อนชื้น สลับด้วยภูเขา จึงทำให้มีความซับซ้อนมากกว่าระบบนิเวศในเขตยุโรป จึงส่งผลให้ผึ้งโพรงอาจจะได้รับความกดดันจากสิ่งแวดล้อมมากกว่าผึ้งพันธุ์ จึงทำให้ผึ้งโพรงมีความสามารถในการเรียนรู้ที่ดีกว่าผึ้งพันธุ์ (Qin et al., 2012) อย่างไรก็ตามการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้ของระหว่างผึ้งให้น้ำหวานทั้งสองชนิดยังมีอยู่เพียงเล็กน้อยเท่านั้น หากจะตอบคำถามว่าผึ้งให้น้ำหวานชนิดใดมีความสามารถเรียนรู้ได้ดีกว่ากัน จึงจำเป็นต้องศึกษาและพิสูจน์ต่อไปในอนาคต

5.5 การนำผึ้งให้น้ำหวานไปประยุกต์ใช้ในการตรวจระเบิดหรือวัตถุที่เกี่ยวข้องกับระเบิด

ผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าทั้งผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์สามารถตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ Trinitrotoluene (TNT) หรือระเบิด และเป็นรายงานครั้งแรกที่พบว่าผึ้งโพรงสามารถตอบสนองและเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อ DNT ได้ ผึ้งโพรงไม่เพียงแต่ตอบสนองต่อ DNT ได้ในระยะเวลาอันสั้น แต่สามารถจดจำและตอบสนองต่อ DNT ได้ในระยะยาวและมากถึง 48 ชั่วโมง จึงแสดงให้เห็นว่าผึ้งโพรงที่เป็นผึ้งพื้นถิ่นในประเทศไทยก็สามารถนำมาใช้ศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลิ่นที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิด ซึ่งองค์กร Defence Advanced Research Projects Agency (DARPA) ทำงานร่วมกับ Los Alamos National Laboratory ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้พบว่าผึ้งพันธุ์สามารถถูกฝึกและนำมาใช้ในการตรวจระเบิดที่เกี่ยวข้องกับสาร DNT และ TNT ได้ ไม่เพียงแต่ศึกษาในห้องปฏิบัติการแต่ยังสามารถนำไปใช้ได้จริงในภาคสนาม (Taylor-mccabe et al., 2008; Bogue, 2015) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังทำแค่ในเพียงผึ้งพันธุ์ชนิดเดียวเท่านั้นและยังไม่สามารถใช้กับผึ้งที่บินหาอาหารได้อย่างอิสระ ในการศึกษาครั้งนี้จึงช่วยเติมเต็มข้อมูลสำหรับผึ้งให้น้ำหวานที่มีความใกล้ชนิดทางสายวิวัฒนาการกับผึ้งพันธุ์และยังได้เปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำของผึ้งทั้งสองชนิด ถึงแม้ว่าความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อ DNT ของผึ้งทั้งสองชนิดจะไม่แตกต่างกัน แต่ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่านอกจากผึ้งพันธุ์แล้วเรายังสามารถนำผึ้งชนิดอื่นอย่างเช่น ผึ้งโพรง มาประยุกต์ใช้ในศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้ต่อกลิ่นและนำไปใช้ในการเรียนรู้และตอบสนองต่อสารที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิดได้ หากในอนาคตมีการศึกษาเพิ่มเติมในผึ้งหรือแมลงชนิดอื่น ก็จะยิ่งช่วยเติมเต็มข้อมูลการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ทางด้านการเรียนรู้และจดจำของแมลงได้ และอาจจะนำสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบวัตถุระเบิดได้ในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น (olfactory conditioning) ของผึ้งให้น้ำหวาน โดยศึกษาผ่านทางพฤติกรรม Proboscis Extension Respond (PER) หรือพฤติกรรมการแลบลิ้นของผึ้งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารละลายน้ำตาลซูโครส ที่วิธีการถูกดัดแปลงมาจากการศึกษาของ Bitterman et al., 1983 และ Matsumoto et al., 2012 สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับผึ้งให้น้ำหวานทั้งผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ได้

โดยในการศึกษานี้ผู้วิจัยสนใจผึ้งให้น้ำหวานสองชนิดที่พบและเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ได้แก่ ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) หรือผึ้งให้น้ำหวานที่มีต้นกำเนิดจากภูมิภาคยุโรป และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) หรือผึ้งให้น้ำหวานที่มีต้นกำเนิดจากภูมิภาคเอเชีย ซึ่งผึ้งเหล่านี้ได้มีการศึกษาถึงพฤติกรรมการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นมากมาย แต่ยังไม่มีงานวิจัยใดที่กล่าวถึงการเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้ต่อกลิ่นที่เกี่ยวข้องกับระเบิดของผึ้งให้น้ำหวานทั้งสองชนิดนี้ งานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาความสามารถในการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่นของผึ้งทั้งสองชนิดนี้

จากผลการศึกษาเบื้องต้น ผึ้งพันธุ์สามารถฝึกให้เกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นของมะลิ (ตัวแทนกลิ่นธรรมชาติ) และกลิ่นบิวทานอล (ตัวแทนสารเคมีสังเคราะห์) ได้ ผึ้งพันธุ์สามารถเกิดการตอบสนองโดยการแลบลิ้นเมื่อได้รับกลิ่นที่เป็นสิ่งเร้าและเมื่อนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบและทดสอบทางสถิติกับผึ้งที่ถูกฝึกในชุดควบคุมแล้ว ยิ่งแสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์มีความสามารถในการเรียนรู้และการตอบสนองต่อกลิ่นเหล่านั้นได้ รวมไปถึงยังคงสามารถในการจดจำและตอบสนองต่อกลิ่นเดิมได้แม้ว่าเวลาจะผ่านไป 48 ชั่วโมงแล้วก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่าผึ้งพันธุ์มีแนวโน้มที่จะสามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อแรงลมได้เล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำข้อมูลเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าผึ้งพันธุ์ไม่ได้เรียนรู้และตอบสนองต่อแรงลม ผู้วิจัยจึงสรุปได้ว่าการที่ฝึกตอบสนองต่อกลิ่นใด ๆ ไม่ได้มีผลมาจากการเรียนรู้และตอบสนองต่อแรงลมที่ปล่อยกลิ่น

จากผลการศึกษาพบว่า ผึ้งทั้งสองชนิดสามารถนำมาฝึกให้เกิดเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT หรือสารที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิดได้ ผึ้งทั้งสองชนิดมีแนวโน้มการตอบสนองต่อกลิ่น DNT เพิ่มสูงขึ้นหลังจากการฝึกตั้งแต่ครั้งที่ 1 จนถึงไปถึงครั้งที่ 6 และเมื่อนำข้อมูลนี้ไปเปรียบเทียบกับผึ้งในกลุ่มชุดควบคุมยิ่งแสดงให้เห็นว่าผึ้งทั้งสองชนิดมีความสามารถในการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาพบว่า ความสามารถของการเรียนรู้ของทั้งสองชนิดนี้มีแนวโน้มไม่เท่ากัน ผึ้งพันธุ์สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้สูงกว่าผึ้งโพรงในช่วงการฝึก 1–3 ครั้งแรก แต่หลังจากการฝึกให้ผึ้งเกิดกาเรียนรู้ต่อกลิ่น DNT ในช่วงการฝึกครั้งที่ 4–6 กลับพบว่าความสามารถของการเรียนรู้ของทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ผึ้งทั้งสองชนิดไม่เพียงแต่ตอบสนองและเรียนรู้ต่อกลิ่นของ DNT หลังจากการฝึกได้เท่านั้น แต่ผึ้งทั้งสองชนิดยังคงสามารถจดจำและตอบสนองต่อกลิ่น DNT ได้แม้ว่าเวลาจะผ่านไปแล้วถึง 48 ชั่วโมงก็ตาม อย่างไรก็ดีจากผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

แสดงให้เห็นว่ายังมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการเรียนรู้และการจดจำต่อกลิ่น DNT ได้ และหนึ่งในปัจจัยนั้นก็คือ แรงลม ในขณะที่ปล่อยกลิ่น ถึงแม้ว่าจากการวิเคราะห์ทางสถิตินั้นผึ้งไม่ได้จดจำกลิ่น DNT เพราะแรงลม แต่จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์สามารถเรียนรู้และตอบสนองต่อแรงลมได้เล็กน้อย

6.2 ข้อเสนอแนะ

ถึงแม้ว่าการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นของผึ้งให้น้ำหวานจะมีการศึกษาและรายงานมาแล้วอย่างมากมาย แต่การศึกษาพฤติกรรมนี้ถือเป็นการศึกษาครั้งแรกในประเทศไทย ยังไม่เคยมีรายงานของการศึกษาพฤติกรรมนี้มาก่อน จึงเป็นสาเหตุที่ผู้วิจัยจำเป็นจะต้องหาวิธีการศึกษาที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ซึ่งผลที่มีประสิทธิภาพสูงสุด รวมไปถึงแก้ไขวิธีการให้เหมาะสมกับผึ้งให้น้ำหวานในประเทศไทย ในการศึกษาพฤติกรรมนี้ไม่จำเป็นต้องศึกษาในผึ้งให้น้ำหวานเท่านั้น แต่ยังสามารถศึกษาในผึ้งหรือแมลงชนิดอื่นได้ เช่น มด ผีเสื้อ เป็นต้น และประเทศไทยก็เป็นจุด biodiversity hot spot ของทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพอุดมไปด้วยพืชและสัตว์นานาพันธุ์ หากนำวิธีการศึกษานี้ไปประยุกต์ใช้กับผึ้งหรือแมลงชนิดอื่นก็จะทำให้มีข้อมูลการศึกษาทางด้านพฤติกรรมนี้เพิ่มมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้จากผลการศึกษาจึงทำให้ทราบว่า ผึ้งสามารถนำมาฝึกให้เกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นที่เป็นสารเคมีหรือสารสังเคราะห์ได้ ไม่จำเป็นต้องเป็นสารหรือกลิ่นที่พบในธรรมชาติ ถ้าหากเรานำไปประยุกต์ใช้ในเรียนรู้ต่อกลิ่นอื่น เช่น การนำผึ้งไปฝึกให้เกิดการเรียนรู้และตอบสนองต่อกลิ่นของวัตถุต้องสงสัยหรือการนำผึ้งไปใช้ตรวจสอบวัตถุต้องสงสัย เช่น ระเบิด หรือยาเสพติด ผึ้งก็จะกลายเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพิ่มขึ้นมาและอาจจะนำไปใช้แทนสุนัขดมกลิ่น ซึ่งการฝึกผึ้งและการเลี้ยงผึ้งสามารถทำได้ทั่วทุกภูมิภาคในประเทศไทยและราคาค่าใช้จ่ายสำหรับดูแลผึ้งก็น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้สุนัขดมกลิ่น

อย่างไรก็ตามการศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นของผึ้งในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรก จึงทำให้อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองและศึกษายังไม่มีประสิทธิภาพมากเท่าที่ผู้วิจัยคาดหวังไว้ ถ้าหากทำการศึกษาในอนาคตแล้วพัฒนาอุปกรณ์เหล่านี้ให้มีประสิทธิภาพและทันสมัยมากขึ้น ก็จะทำให้ผลได้ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นตาม รวมไปถึงยังทำให้สามารถเพิ่มจำนวนของผึ้งที่ใช้ในการทดลองในแต่ละครั้งได้เพิ่มมากยิ่งขึ้น เพื่อจะได้ใช้เวลาให้น้อยลงและได้ผลการศึกษาเหมือนการศึกษาในต่างประเทศที่เคยรายงานมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นมะลิในผึ้งพันธุ์

ตารางผนวกที่ 1 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1	33	0	1	.09	.051	.292
Trial2	33	0	1	.30	.081	.467
Trial3	33	0	1	.36	.085	.489
Trial4	33	0	1	.42	.087	.502
Trial5	33	0	1	.42	.087	.502
Trial6	33	0	1	.45	.088	.506
Min_10	33	0	1	.42	.087	.502
Hr_24	33	0	1	.48	.088	.508
Hr_48	33	0	1	.39	.086	.496
Valid N (listwise)	33					

ตารางผนวกที่ 2 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1	.531	33	.000	.328	33	.000
Trial2	.439	33	.000	.579	33	.000
Trial3	.408	33	.000	.610	33	.000
Trial4	.377	33	.000	.629	33	.000
Trial5	.377	33	.000	.629	33	.000
Trial6	.361	33	.000	.635	33	.000
Min_10	.377	33	.000	.629	33	.000
Hr_24	.345	33	.000	.638	33	.000
Hr_48	.392	33	.000	.621	33	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 3 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1	30	3
Trial2	23	10
Trial3	21	12
Trial4	19	14
Trial5	19	14
Trial6	18	15

ตารางผนวกที่ 4 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	33
Cochran's Q	26.607[a]
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. 0 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 5 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิ ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10	19	14
Hr_24	17	16
Hr_48	20	13

ตารางผนวกที่ 6 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	33
Cochran's Q	2.000[a]
df	2
Asymp. Sig.	.368

a. 0 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 7 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่นมะลิระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics[a]

	Min_10 & Hr_24	Min_10 & Hr_48	Hr_24 & Hr_48
N	33	33	33
Exact Sig. (2-tailed)	.500[b]	1.000[b]	.375[b]

a. McNemar Test

b. Binomial distribution used.

ตารางผนวกที่ 8 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trail1_Ct	25	0	1	.12	.066	.332
Trail2_Ct	25	0	1	.04	.040	.200
Trail3_Ct	25	0	1	.04	.040	.200
Trail4_Ct	25	0	1	.04	.040	.200
Trail5_Ct	25	0	1	.04	.040	.200
Trail6_Ct	25	0	1	.04	.040	.200
Min_10	33	0	1	.42	.087	.502
Hr_24	33	0	1	.48	.088	.508
Hr_48	33	0	1	.39	.086	.496
Valid N (listwise)	25					

ตารางผนวกที่ 9 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trail1_Ct	.521	25	.000	.384	25	.000
Trail2_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Trail3_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Trail4_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Trail5_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Trail6_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Min_10_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Hr_24_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000
Hr_48_Ct	.539	25	.000	.203	25	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 10 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trail1_Ct	22	3
Trail2_Ct	24	1
Trail3_Ct	24	1
Trail4_Ct	24	1
Trail5_Ct	24	1
Trail6_Ct	24	1

ตารางผนวกที่ 11 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	25
Cochran's Q	4.545[a]
df	5
Asymp. Sig.	.474

a. 1 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 12 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิ ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10_Ct	24	1
Hr_24_Ct	24	1
Hr_48_Ct	24	1

ตารางผนวกที่ 13 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่นมะลิระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	25
Cochran's Q	.000[a]
df	2
Asymp. Sig.	1.000

a. 1 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 14 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลมรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่นมะลิ

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PER_T1	Control	25	29.98	749.50
	Treatment	33	29.14	961.50
	Total	58		
PER_T2	Control	25	25.16	629.00
	Treatment	33	32.79	1082.00
	Total	58		
PER_T3	Control	25	24.16	604.00
	Treatment	33	33.55	1107.00
	Total	58		
PER_T4	Control	25	22.50	562.50
	Treatment	33	34.80	1148.50
	Total	58		
PER_T5	Control	25	22.50	562.50
	Treatment	33	34.80	1148.50
	Total	58		
PER_T6	Control	25	22.00	550.00
	Treatment	33	35.18	1161.00
	Total	58		
PER_Min_10	Control	25	22.50	562.50
	Treatment	33	34.80	1148.50
	Total	58		
PER_Hr_24	Control	25	21.50	537.50
	Treatment	33	35.56	1173.50
	Total	58		
PER_Hr_48	Control	25	23.00	575.00
	Treatment	33	34.42	1136.00
	Total	58		

ตารางผนวกที่ 15 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่นมะลิ

Test Statistics[a]

	PER_T1	PER_T2	PER_T3	PER_T4	PER_T5	PER_T6	PER_Min_10	PER_Hr_24	PER_Hr_48
Mann-Whitney U	400.500	304.000	279.000	237.500	237.500	225.000	237.500	212.500	250.000
Wilcoxon W	961.500	629.000	604.000	562.500	562.500	550.000	562.500	537.500	575.000
Z	-.357	-2.509	-2.902	-3.707	-3.707	-3.881	-3.707	-4.056	-3.532
Asymp. Sig. (2-tailed)	.721	.012	.004	.000	.000	.000	.000	.000	.000

a. Grouping Variable: Group

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 2 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่นบิวทานอลในผึ้งพันธุ์

ตารางผนวกที่ 16 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1	44	0	1	.07	.038	.255
Trial2	44	0	1	.34	.072	.479
Trial3	44	0	1	.36	.073	.487
Trial4	44	0	1	.43	.076	.501
Trial5	44	0	1	.48	.076	.505
Trial6	44	0	1	.50	.076	.506
Min_10	44	0	1	.50	.076	.506
Hr_24	44	0	1	.45	.076	.504
Hr_48	44	0	1	.41	.075	.497
Valid N (listwise)	44					

ตารางผนวกที่ 17 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1	.537	44	.000	.276	44	.000
Trial2	.421	44	.000	.599	44	.000
Trial3	.409	44	.000	.609	44	.000
Trial4	.374	44	.000	.630	44	.000
Trial5	.350	44	.000	.636	44	.000
Trial6	.339	44	.000	.637	44	.000
Min_10	.339	44	.000	.637	44	.000
Hr_24	.362	44	.000	.634	44	.000
Hr_48	.386	44	.000	.625	44	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 18 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1	41	3
Trial2	29	15
Trial3	28	16
Trial4	25	19
Trial5	23	21
Trial6	22	22

ตารางผนวกที่ 19 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	44
Cochran's Q	45.570[a]
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. 1 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 20 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10	22	22
Hr_24	24	20
Hr_48	26	18

ตารางผนวกที่ 21 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	44
Cochran's Q	3.000[a]
df	2
Asymp. Sig.	.223

a. 1 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 22 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อกลิ่นบิวทานอล ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics[a]

	Min_10 & Hr_24	Min_10 & Hr_48	Hr_24 & Hr_48
N	44	44	44
Exact Sig. (2-tailed)	.625[b]	.219[b]	.687[b]

a. McNemar Test

b. Binomial distribution used.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก 3 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อแรงลมในผึ้งพันธุ์

ตารางผนวกที่ 23 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1	30	0	1	.07	.046	.254
Trial2	30	0	1	.13	.063	.346
Trial3	30	0	1	.17	.069	.379
Trial4	30	0	1	.17	.069	.379
Trial5	30	0	1	.07	.046	.254
Trial6	30	0	1	.17	.069	.379
Min_10	30	0	1	.17	.069	.379
Hr_24	30	0	1	.27	.082	.450
Hr_48	30	0	1	.10	.056	.305
Valid N (listwise)	30					

ตารางผนวกที่ 24 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1	.537	30	.000	.275	30	.000
Trial2	.517	30	.000	.404	30	.000
Trial3	.503	30	.000	.452	30	.000
Trial4	.503	30	.000	.452	30	.000
Trial5	.537	30	.000	.275	30	.000
Trial6	.503	30	.000	.452	30	.000
Min_10	.503	30	.000	.452	30	.000
Hr_24	.457	30	.000	.554	30	.000
Hr_48	.528	30	.000	.347	30	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 25 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1	28	2
Trial2	26	4
Trial3	25	5
Trial4	25	5
Trial5	28	2
Trial6	25	5

ตารางผนวกที่ 26 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	30
Cochran's Q	10.484[a]
df	5
Asymp. Sig.	.063

a. 0 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 27 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลม ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10	25	5
Hr_24	22	8
Hr_48	27	3

ตารางผนวกที่ 28 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลมระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	30
Cochran's Q	4.222[a]
df	2
Asymp. Sig.	.121

a. 0 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 29 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ต่อแรงลมระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics[a]

	Min_10 & Hr_24	Min_10 & Hr_48	Hr_24 & Hr_48
N	30	30	30
Exact Sig. (2-tailed)	.453[b]	.625[b]	.125[b]

a. McNemar Test

b. Binomial distribution used.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 4 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ในผึ้งพันธุ์

ตารางผนวกที่ 30 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1_Am	61	0	1	.10	.038	.300
Trial2_Am	61	0	1	.49	.065	.504
Trial3_Am	61	0	1	.52	.064	.504
Trial4_Am	61	0	1	.51	.065	.504
Trial5_Am	61	0	1	.44	.064	.501
Trial6_Am	61	0	1	.48	.064	.504
Min_10_Am	61	0	1	.46	.064	.502
Hr_24_Am	61	0	1	.67	.061	.473
Hr_48_Am	61	0	1	.52	.064	.504
Valid N (listwise)	61					

ตารางผนวกที่ 31 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1_Am	.530	61	.000	.340	61	.000
Trial2_Am	.344	61	.000	.637	61	.000
Trial3_Am	.352	61	.000	.636	61	.000
Trial4_Am	.344	61	.000	.637	61	.000
Trial5_Am	.369	61	.000	.632	61	.000
Trial6_Am	.352	61	.000	.636	61	.000
Min_10_Am	.361	61	.000	.634	61	.000
Hr_24_Am	.428	61	.000	.592	61	.000
Hr_48_Am	.352	61	.000	.636	61	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 32 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1_Am	55	6
Trial2_Am	31	30
Trial3_Am	29	32
Trial4_Am	30	31
Trial5_Am	34	27
Trial6_Am	32	29

ตารางผนวกที่ 33 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	61
Cochran's Q	68.568[a]
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. 0 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 34 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10_Am	33	28
Hr_24_Am	20	41
Hr_48_Am	29	32

ตารางผนวกที่ 35 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	61
Cochran's Q	13.300[a]
df	2
Asymp. Sig.	.001

a. 1 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 36 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics[a]

	Min_10_Am & Hr_24_Am	Min_10_Am & Hr_48_Am	Hr_24_Am & Hr_48_Am
N	61	61	61
Exact Sig. (2-tailed)	.001[b]	.388[b]	.022[b]

a. McNemar Test

b. Binomial distribution used.

ตารางผนวกที่ 37 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1_Am_Ct	26	0	1	.15	.072	.368
Trial2_Am_Ct	26	0	1	.08	.053	.272
Trial3_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Trial4_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Trial5_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Trial6_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Min_10_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Hr_24_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Hr_48_Am_Ct	26	0	1	.04	.038	.196
Valid N (listwise)	26					

ตารางผนวกที่ 38 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1_Am_Ct	.508	26	.000	.436	26	.000
Trial2_Am_Ct	.535	26	.000	.301	26	.000
Trial3_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000
Trial4_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000
Trial5_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000
Trial6_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000
Min_10_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000
Hr_24_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000
Hr_48_Am_Ct	.539	26	.000	.198	26	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 39 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1_Am_Ct	22	4
Trial2_Am_Ct	24	2
Trial3_Am_Ct	25	1
Trial4_Am_Ct	25	1
Trial5_Am_Ct	25	1
Trial6_Am_Ct	25	1

ตารางผนวกที่ 40 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	26
Cochran's Q	12.222[a]
df	5
Asymp. Sig.	.032

a. 1 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 41 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10_Am_Ct	25	1
Hr_24_Am_Ct	25	1
Hr_48_Am_Ct	25	1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 42 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	26
Cochran's Q	.000[a]
df	2
Asymp. Sig.	1.000

a. 1 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 43 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PER_T1_Am	Control	26	45.69	1188.00
	Treatment	61	43.28	2640.00
	Total	87		
PER_T2_Am	Control	26	31.35	815.00
	Treatment	61	49.39	3013.00
	Total	87		
PER_T3_Am	Control	26	28.00	728.00
	Treatment	61	50.82	3100.00
	Total	87		
PER_T4_Am	Control	26	28.50	741.00
	Treatment	61	50.61	3087.00
	Total	87		
PER_T5_Am	Control	26	30.50	793.00
	Treatment	61	49.75	3035.00
	Total	87		
PER_T6_Am	Control	26	29.50	767.00
	Treatment	61	50.18	3061.00
	Total	87		
PER_Min_10_Am	Control	26	30.00	780.00
	Treatment	61	49.97	3048.00
	Total	87		
PER_Hr_24_Am	Control	26	24.67	641.50
	Treatment	61	52.24	3186.50
	Total	87		
PER_Hr_48_Am	Control	26	29.17	758.50
	Treatment	61	50.32	3069.50
	Total	87		

ตารางผนวกที่ 44 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT

Test Statistics[a]

	PER_T1_Am	PER_T2_Am	PER_T3_Am	PER_T4_Am	PER_T5_Am	PER_T6_Am	PER_Min_10_Am	PER_Hr_24_Am	PER_Hr_48_Am
Mann-Whitney U	749.000	464.000	377.000	390.000	442.000	416.000	429.000	290.500	407.500
Wilcoxon W	2640.000	815.000	728.000	741.000	793.000	767.000	780.000	641.500	758.500
Z	-.738	-3.652	-4.618	-4.505	-4.061	-4.281	-4.171	-5.383	-4.253
Asymp. Sig. (2-tailed)	.460	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000

a. Grouping Variable: Group

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 5 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ในผึ้งโพรง

ตารางผนวกที่ 45 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1_Ac	36	0	1	.03	.028	.167
Trial2_Ac	36	0	1	.17	.063	.378
Trial3_Ac	36	0	1	.39	.082	.494
Trial4_Ac	36	0	1	.39	.082	.494
Trial5_Ac	36	0	1	.44	.084	.504
Trial6_Ac	36	0	1	.47	.084	.506
Min_10_Ac	36	0	1	.56	.084	.504
Hr_24_Ac	36	0	1	.53	.084	.506
Hr_48_Ac	36	0	1	.47	.084	.506
Valid N (listwise)	36					

ตารางผนวกที่ 46 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1_Ac	.538	36	.000	.158	36	.000
Trial2_Ac	.504	36	.000	.451	36	.000
Trial3_Ac	.395	36	.000	.619	36	.000
Trial4_Ac	.395	36	.000	.619	36	.000
Trial5_Ac	.367	36	.000	.633	36	.000
Trial6_Ac	.352	36	.000	.636	36	.000
Min_10_Ac	.367	36	.000	.633	36	.000
Hr_24_Ac	.352	36	.000	.636	36	.000
Hr_48_Ac	.352	36	.000	.636	36	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 47 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1_Ac	35	1
Trial2_Ac	30	6
Trial3_Ac	22	14
Trial4_Ac	22	14
Trial5_Ac	20	16
Trial6_Ac	19	17

ตารางผนวกที่ 48 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	36
Cochran's Q	47.656[a]
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. 1 is treated as a success.

ตารางผนวกที่ 49 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10_Ac	16	20
Hr_24_Ac	17	19
Hr_48_Ac	19	17

ตารางผนวกที่ 50 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNTระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	36
Cochran's Q	2.333[a]
df	2
Asymp. Sig.	.311

a. 1 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 51 การทดสอบสถิติด้วย McNemar test เปรียบเทียบการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดทดลอง (treatment) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics[a]

	Min_10_Ac & Hr_24_Ac	Min_10_Ac & Hr_48_Ac	Hr_24_Ac & Hr_48_Ac
N	36	36	36
Exact Sig. (2-tailed)	1.000[b]	.375[b]	.500[b]

a. McNemar Test

b. Binomial distribution used.

ตารางผนวกที่ 52 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
Trial1_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Trial2_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Trial3_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Trial4_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Trial5_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Trial6_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Min_10_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Hr_24_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Hr_48_Ac_Ct	20	0	1	.05	.050	.224
Valid N (listwise)	20					

ตารางผนวกที่ 53 การทดสอบค่าการกระจายตัวของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trial1_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Trial2_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Trial3_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Trial4_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Trial5_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Trial6_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Min_10_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Hr_24_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000
Hr_48_Ac_Ct	.538	20	.000	.236	20	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ตารางผนวกที่ 54 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Trial1_Ac_Ct	19	1
Trial2_Ac_Ct	19	1
Trial3_Ac_Ct	19	1
Trial4_Ac_Ct	19	1
Trial5_Ac_Ct	19	1
Trial6_Ac_Ct	19	1

ตารางผนวกที่ 55 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่าง trial 1 จนถึง trial 6

Test Statistics

N	20
Cochran's Q	.000[a]
df	5
Asymp. Sig.	1.000

a. 0 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 56 ตารางแสดงความถี่ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ที่เวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข (“0” หมายถึง ผึ้งที่ไม่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่ไม่ตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า และ “1” หมายถึง ผึ้งที่แสดงพฤติกรรม PER หรือผึ้งที่สามารถตอบสนองต่อกลิ่นสิ่งเร้า)

Frequencies

	Value	
	0	1
Min_10_Ac_Ct	19	1
Hr_24_Ac_Ct	19	1
Hr_48_Ac_Ct	19	1

ตารางผนวกที่ 57 การทดสอบสถิติด้วย Cochran’s Q test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงในชุดควบคุม (control, Ct) ต่อกลิ่น DNT ระหว่างเวลา 10 นาที 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง หลังจากฝึกให้ผึ้งเกิดการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไข

Test Statistics

N	20
Cochran's Q	.000[a]
df	2
Asymp. Sig.	1.000

a. 1 is treated as a success.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 58 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลมรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรงระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PER_T1_Ac	Control	20	28.90	578.00
	Treatment	36	28.28	1018.00
	Total	56		
PER_T2_Ac	Control	20	26.40	528.00
	Treatment	36	29.67	1068.00
	Total	56		
PER_T3_Ac	Control	20	21.50	430.00
	Treatment	36	32.39	1166.00
	Total	56		
PER_T4_Ac	Control	20	21.50	430.00
	Treatment	36	32.39	1166.00
	Total	56		
PER_T5_Ac	Control	20	20.50	410.00
	Treatment	36	32.94	1186.00
	Total	56		
PER_T6_Ac	Control	20	20.00	400.00
	Treatment	36	33.22	1196.00
	Total	56		
PER_Min_10_Ac	Control	20	18.50	370.00
	Treatment	36	34.06	1226.00
	Total	56		
PER_Hr_24_Ac	Control	20	19.00	380.00
	Treatment	36	33.78	1216.00
	Total	56		
PER_Hr_48_Ac	Control	20	20.00	400.00
	Treatment	36	33.22	1196.00
	Total	56		

ตารางผนวกที่ 59 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งโพรง ระหว่างชุดทดลอง (treatment) ชุดควบคุม (control) ต่อกลิ่น DNT

Test Statistics[a]

	PER_T1_Ac	PER_T2_Ac	PER_T3_Ac	PER_T4_Ac	PER_T5_Ac	PER_T6_Ac	PER_Min_10_Ac	PER_Hr_24_Ac	PER_Hr_48_Ac
Mann-Whitney U	352.000	318.000	220.000	220.000	200.000	190.000	160.000	170.000	190.000
Wilcoxon W	1018.000	528.000	430.000	430.000	410.000	400.000	370.000	380.000	400.000
Z	-.426	-1.254	-3.191	-3.191	-3.496	-3.650	-4.120	-3.961	-3.650
Asymp. Sig. (2-tailed)	.670	.210	.001	.001	.000	.000	.000	.000	.000

a. Grouping Variable: Group

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 6 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขต่อกลิ่น DNT ระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

ตารางผนวกที่ 60 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ต่อกลิ่น DNT

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
PER_T1	97	.07	.260	0	1
PER_T2	97	.37	.486	0	1
PER_T3	97	.47	.502	0	1
PER_T4	97	.46	.501	0	1
PER_T5	97	.44	.499	0	1
PER_T6	97	.47	.502	0	1
PER_Min_10	97	.49	.503	0	1
PER_Hr_24	97	.62	.488	0	1
PER_Hr_48	97	.51	.503	0	1
Group	97	.63	.486	0	1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 61 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลมรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ต่อกลิ่น DNT

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PER_T1	*Apis cerana*	36	46.85	1686.50
	Apis mellifera	61	50.27	3066.50
	Total	97		
PER_T2	*Apis cerana*	36	39.08	1407.00
	Apis mellifera	61	54.85	3346.00
	Total	97		
PER_T3	*Apis cerana*	36	44.86	1615.00
	Apis mellifera	61	51.44	3138.00
	Total	97		
PER_T4	*Apis cerana*	36	45.36	1633.00
	Apis mellifera	61	51.15	3120.00
	Total	97		
PER_T5	*Apis cerana*	36	49.06	1766.00
	Apis mellifera	61	48.97	2987.00
	Total	97		
PER_T6	*Apis cerana*	36	48.90	1760.50
	Apis mellifera	61	49.06	2992.50
	Total	97		
PER_Min_10	*Apis cerana*	36	51.94	1870.00
	Apis mellifera	61	47.26	2883.00
	Total	97		
PER_Hr_24	*Apis cerana*	36	44.60	1605.50
	Apis mellifera	61	51.60	3147.50
	Total	97		
PER_Hr_48	*Apis cerana*	36	47.40	1706.50
	Apis mellifera	61	49.94	3046.50
	Total	97		

ตารางผนวกที่ 62 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของ PER ของระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง *(Apis cerana*)

Test Statistics[a]

	PER_T1	PER_T2	PER_T3	PER_T4	PER_T5	PER_T6	PER_Min_10	PER_Hr_24	PER_Hr_48
Mann-Whitney U	1020.500	741.000	949.000	967.000	1096.000	1094.500	992.000	939.500	1040.500
Wilcoxon W	1686.500	1407.000	1615.000	1633.000	2987.000	1760.500	2883.000	1605.500	1706.500
Z	-1.291	-3.186	-1.286	-1.132	-.017	-.030	-.914	-1.407	-.496
Asymp. Sig. (2-tailed)	.197	.001	.198	.257	.986	.976	.361	.160	.620

a. Grouping Variable: Group

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 7 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการเรียนรู้แบบมีเงื่อนไขของผึ้งพันธุ์ระหว่างการใช้กลิ่น DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขและการใช้ลมเปล่าเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข

ตารางผนวกที่ 63 สถิติพรรณนาของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์ระหว่างการใช้กลิ่น DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไขและการใช้ลมเปล่าเป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
PER_T1	91	.09	.285	0	1
PER_T2	91	.37	.486	0	1
PER_T3	91	.41	.494	0	1
PER_T4	91	.40	.492	0	1
PER_T5	91	.32	.469	0	1
PER_T6	91	.37	.486	0	1
PER_Min_10	91	.36	.483	0	1
PER_Hr_24	91	.54	.501	0	1
PER_Hr_48	91	.38	.489	0	1
Group	91	.67	.473	0	1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางผนวกที่ 64 ค่าเฉลี่ยอันดับ (mean rank) และผลมรวมของอันดับ (sum of rank) ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์กลุ่มที่ได้รับ DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข และกลุ่มของผึ้งพันธุ์ที่ได้รับแรงลม (air puff) เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข

	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PER_T1	Air puff	30	45.03	1351.00
	Apis mellifera	61	46.48	2835.00
	Total	91		
PER_T2	Air puff	30	35.07	1052.00
	Apis mellifera	61	51.38	3134.00
	Total	91		
PER_T3	Air puff	30	35.08	1052.50
	Apis mellifera	61	51.37	3133.50
	Total	91		
PER_T4	Air puff	30	35.58	1067.50
	Apis mellifera	61	51.12	3118.50
	Total	91		
PER_T5	Air puff	30	34.53	1036.00
	Apis mellifera	61	51.64	3150.00
	Total	91		
PER_T6	Air puff	30	36.58	1097.50
	Apis mellifera	61	50.63	3088.50
	Total	91		
PER_Min_10	Air puff	30	37.08	1112.50
	Apis mellifera	61	50.39	3073.50
	Total	91		
PER_Hr_24	Air puff	30	33.63	1009.00
	Apis mellifera	61	52.08	3177.00
	Total	91		
PER_Hr_48	Air puff	30	33.05	991.50
	Apis mellifera	61	52.37	3194.50
	Total	91		

ตารางผนวกที่ 65 การทดสอบสถิติด้วย Mann-Whitney U test ของการแสดงพฤติกรรม PER ของผึ้งพันธุ์กลุ่มที่ได้รับ DNT เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข และกลุ่มของผึ้งพันธุ์ที่ได้รับแรงลม (air puff) เป็นสิ่งเร้าเงื่อนไข

Test Statistics[a]

	PER_T1	PER_T2	PER_T3	PER_T4	PER_T5	PER_T6	PER_Min_10	PER_Hr_24	PER_Hr_48
Mann-Whitney U	886.000	587.000	587.500	602.500	571.000	632.500	647.500	544.000	526.500
Wilcoxon W	1351.000	1052.000	1052.500	1067.500	1036.000	1097.500	1112.500	1009.000	991.500
Z	-.499	-3.305	-3.250	-3.115	-3.598	-2.846	-2.712	-3.627	-3.892
Asymp. Sig. (2-tailed)	.618	.001	.001	.002	.000	.004	.007	.000	.000

a. Grouping Variable: Group

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 8 ตารางแสดงข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการศึกษาและเปรียบเทียบอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง

ตารางผนวกที่ 66 สถิติพรรณนาของอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
A_mellifera	5	33.33	47.62	41.9060	2.33375	5.21843
A_cerana	6	52.38	100.00	71.4267	6.84618	16.76964
Valid N (listwise)	5					

ตารางผนวกที่ 67 การทดสอบค่าการกระจายตัวของอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
A_mellifera	.373	5	.022	.828	5	.135
A_cerana	.245	5	.200*	.871	5	.272

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 68 การทดสอบสถิติด้วย Independent Samples Test ของอัตราการตายของผึ้งในระหว่างการทดลองระหว่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*)

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Mortality_specie	Equal variances assumed	4.318	.067	-3.758	9	.005	-29.52067	7.85643	-47.2931	-11.7481
	Equal variances not assumed			-4.081	6.126	.006	-29.52067	7.23302	-47.1312	-11.9100

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก 9 ตารางแสดงข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในวันที่ทำการศึกษา

ตารางผนวกที่ 69 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่บันทึกในช่วงระหว่างการจับผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์ที่บริเวณหน้ารังก่อนที่จะนำผึ้งมาทดลอง

วัน/เดือน/ปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)
19/3/62	33	56
22/3/62	33	46
27/3/62	33.5	56
30/3/62	35	59
4/4/62	35	59
6/4/62	33	59
29/7/62	32	60
13/8/62	31	62
21/8/62	32	64
22/10/62	33	60
23/10/62	34	59
19/11/62	31	55
5/2/63	31	58
12/2/63	32.5	55
19/2/63	31	40
เฉลี่ย	**32.67**	**56.53**
SD	**1.31**	**5.92**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และ สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์. (2555). *ชีววิทยาของผึ้ง*. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Abramson, C. I., Mixson, T. A., Çakmak, I., Place, A. J., & Wells, H. (2008). Pavlovian conditioning of the proboscis extension reflex in harnessed foragers using paired vs. unpaired and discrimination learning paradigms: tests for differences among honeybee subspecies in Turkey. *Apidologie, 39*(4), 428–435.

Abrol, D. (1985). *Analysis of Bio-physical Interactions in Causing Foraging Behaviour of Some Bees a Study in Bioenergetics.* (Doctoral dissertation, Zoology, Chaudhary Charan Singh Haryana Agricultural University, India).

Abrol, D. (1992). Bioenergetics in bee-flower interrelationship: An analysis of foraging behaviour. *Journal of Apiculture, 7*(1), 39–66.

Abrol, D. (1993). Intervarietal differences in nectar production affecting pollinator attractiveness and fruit set in almond. In *Proceedings of International Symposium on Pollination in Tropics*. Bangalore, India.

Abrol, D. (2007). Differences in sugar metabolism between the honey bees *Apis mellifera* and *Apis cerana* impact floral attractiveness. *Journal of Apicultural Research, 46*(3), 181–190.

Anfora, G., Frasnelli, E., Maccagnani, B., Rogers, L. J., & Vallortigara, G. (2010). Behavioural and electrophysiological lateralization in a social (*Apis mellifera*) but not in a non-social (*Osmia cornuta*) species of bee. *Behavioural Brain Research, 206*(2), 236–239.

Ćosović Bajić, S. (2014). Analysis of the possibility of utalization of honey bees in explosive detection. *Polytechnic and Design, 2*(1), 58–63.

Bakker, D. R. (2001). *Foraging and habitat selection by two species of honey bee near Lore Lindu National Park in Sulawesi*. (Master's thesis, University of Guelph, Canada).

Barker, R. J., & Lehner, Y. (1974). Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Experimental Zoology, 187*(2), 277–285.

Beekman, M., & Ratnieks, F. (2000). Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L. *Functional Ecology, 14*(4), 490–496.

Bernadou, A., Démares, F., Couret-Fauvel, T., Sandoz, J., & Gauthier, M. (2009). Effect of fipronil on side-specific antennal tactile learning in the honeybee. *Journal of Insect Physiology, 55*(12), 1099–1106.

Beutler, R. (1935). Neue Untersuchungen über den Zuckergehalt des Blütennektars. *Leipzig. Bienenztg*, 271-273.

Bhuiyan, M., Hossain, M., & Bari, M. (2002). Rearing and management of *Apis cerana* (F.) and occurence of pests in honeybee colonies. *OnLine Journal of Biological Science, 2*, 14–17.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Bitterman, M., Menzel, R., Fietz, A., & Schäfer, S. (1983). Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Comparative Psychology, 97*(2), 107.

Bogue, R. (2015). Detecting explosives and chemical weapons: a review of recent developments. *Sensor Review, 35*(3), 237–243.

Bonabeau, E., Theraulaz, G., & Deneubourg, J. L. (1996). Quantitative study of the fixed threshold model for the regulation of division of labour in insect societies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 263*(1376), 1565–1569.

Braun, G., & Bicker, G. (1992). Habituation of an appetitive reflex in the honeybee. *Journal of Neurophysiology, 67*(3), 588–598.

Caron, D. M., & Connor, L. J. (2013). *Honey Bee Biology and Beekeeping*. Michigan: Wicwas Press.

Chen, S. (2001). *The Apicultural Science in China*. Beijing: Agriculture Press.

Chen, L., Zhang, S., & Srinivasan, M. V. (2003). Global perception in small brains: Topological pattern recognition in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 100*(11), 6884–6889.

Choudary, R. (1978). Floral fidelity in the Indian honey bee (*Apis cerana indica*). *Indian Bee Journal, 40*(2), 33–35.

Clausen, J. L., Scott, C., & Osgerby, I. (2011). Fate of nitroglycerin and dinitrotoluene in soil at small arms training ranges. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal, 20*(6), 649–671.

Corbet, S. A. (2003). Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie, 34*(1), 1–10.

Couvillon, M. J., DeGrandi-Hoffman, G., & Gronenberg, W. (2010). Africanized honeybees are slower learners than their European counterparts. *Naturwissenschaften, 97*(2), 153–160.

de Guzman, L. I., Forbes, M., Cervancia, C., Rinderer, T. E., & Somera Jr, S. (1992). *Apis andreniformis* Smith in Palawan, Philippines. *Journal of Apicultural Research, 31*(2), 111.

Deowanish, S., Nakamura, J., Matsuka, M., & Kimura, K. (1996). MtDNA variation among subspecies of *Apis cerana* using restriction fragment length polymorphism. *Apidologie, 27*(5), 407–413.

Devkota, F., & Thapa, R. (2005). Foraging preference of *Apis cerana* F. and *Apis mellifera* L. to broccoli under caged and open conditions in Chitwan. *Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science, 26*, 167–168.

Dhaliwal, H., & Sharma, P. (1974). Foraging range of the Indian honeybee. *Journal of Apicultural Research, 13*(2), 137–141.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Dyer, F. C., & Seeley, T. D. (1987). Interspecific comparisons of endothermy in honey-bees (*Apis*): deviations from the expected size-related patterns. *Journal of Experimental Biology, 127*(1), 1–26.

Dyer, F. C., & Seeley, T. D. (1991). Dance dialects and foraging range in three Asian honey bee species. *Behavioral Ecology and Sociobiology, 28*(4), 227–233.

Dyer, A. G., Spaethe, J., & Prack, S. (2008). Comparative psychophysics of bumblebee and honeybee colour discrimination and object detection. *Journal of Comparative Physiology A, 194*(7), 617.

Eisenhardt, D. (2014). Molecular mechanisms underlying formation of long-term reward memories and extinction memories in the honeybee (*Apis mellifera*). *Learning & Memory, 21*(10), 534–542.

Erber, J., Kierzek, S., Sander, E., & Grandy, K. (1998). Tactile learning in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology A, 183*(6), 737–744.

Fan, Y., & Zhou, M. (2005). *World Atlas*. Beijing: China Map Press.

Franck, P., Garnery, L., Solignac, M., & Cornuet, J. M. (2000). Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. *Apidologie, 31*(2), 167–180.

Frasnelli, E., Vallortigara, G., & Rogers, L. (2011). Right-left antennal asymmetry of odour memory recall in three species of Australian stingless bees. *Behavioural Brain Research, 224*(1), 121–127.

Frings, H. (1944). The loci of olfactory end-organs in the honey-bee, *Apis mellifera* Linn. *Journal of Experimental Zoology*, *97*(2),123–134.

Frings, H., & Frings, M. (1949). The loci of contact chemoreceptors in insects. A review with new evidence. *American Midland Naturalist*, *41*(3), 602–658.

Von Frisch, K. (1956). *Bees: Their Vision, Chemical Senses, and Language*. New York: Cornell University Press.

Von Frisch, K. (1967). *The Dance Language and Orientation of Bees*. London: Harvard University Press.

Frohlich, B., Riederer, M., & Tautz, J. (2000). Comb-wax discrimination by honeybees tested with the proboscis extension reflex. *Journal of Experimental Biology, 203*(10), 1581–1587.

Frost, E. H., Shutler, D., & Hillier, N. K. (2012). The proboscis extension reflex to evaluate learning and memory in honeybees (*Apis mellifera*): some caveats. *Naturwissenschaften, 99*(9), 677–686.

Garnery, L., Cornuet, J. M., & Solignac, M. (1992). Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology, 1*(3), 145–154.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Getz, W. M., & Smith, K. B. (1987). Olfactory sensitivity and discrimination of mixtures in the honeybee *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Physiology A, 160*(2), 239–245.

Giurfa, M., Eichmann, B., & Menzel, R. (1996). Symmetry perception in an insect. *Nature, 382*(6590), 458–461.

Giurfa, M., Hammer, M., Stach, S., Stollhoff, N., Müller-Deisig, N., & Mizyrycki, C. (1999). Pattern learning by honeybees: conditioning procedure and recognition strategy. *Animal Behaviour, 57*(2), 315–324.

Giurfa, M., Zhang, S., Jenett, A., Menzel, R., & Srinivasan, M. V. (2001). The concepts of 'sameness' and 'difference'in an insect. *Nature, 410*(6831), 930–933.

Giurfa, M. (2007). Behavioral and neural analysis of associative learning in the honeybee: a taste from the magic well. *Journal of Comparative Physiology A, 193*(8), 801–824.

Giurfa, M., & Sandoz, J. C. (2012). Invertebrate learning and memory: fifty years of olfactory conditioning of the proboscis extension response in honeybees. *Learning & Memory, 19*(2), 54–66.

Guerrieri, F., Schubert, M., Sandoz, J. C., & Giurfa, M. (2005). Perceptual and neural olfactory similarity in honeybees. *PLoS Biology, 3*(4), e60.

Hadar, R., & Menzel, R. (2010). Memory formation in reversal learning of the honeybee. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 4*(186), 1–7.

Halter, R. (2011). *The Incomparable Honeybee & the Economics of Pollination*. Toronto: Rocky Mountain Books.

Hammer, T. J., Hata, C., & Nieh, J. C. (2009). Thermal learning in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Experimental Biology, 212*(23), 3928–3934.

Han, S., Mukherji, S. T., Rice, A., & Hughes, J. B. (2011). Determination of 2, 4- and 2, 6-dinitrotoluene biodegradation limits. *Chemosphere, 85*(5), 848–853.

Heinrich, B., & Raven, P. H. (1972). Energetics and pollination ecology. *Science, 176*(4035), 597–602.

Heinrich, B. (1975). Energetics of pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics, 6*(1), 139–170.

Heinrich, B. (1983). Insect foraging energetics. In C. E. Jone & R. J. Little (Eds.), *Handbook of Experimental Pollination Biology*. New York: Academic Press.

Hepburn, H. R., & Radloff, S. E. (2011). *Honeybees of Asia*. Berlin: Springer Science & Business Media.

Henske, J., Krausa, K., Hager, F., Nkoba, K., & Kirchner, W. (2015). Olfactory associative learning in two African stingless bee species (*Meliponula ferruginea* and *M. bocandei*, Meliponini). *Insectes sociaux, 62*(4), 507–516.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Hori, S., Takeuchi, H., Arikawa, K., Kinoshita, M., Ichikawa, N., Sasaki, M., & Kubo, T. (2006). Associative visual learning, color discrimination, and chromatic adaptation in the harnessed honeybee *Apis mellifera* L. *Journal of Comparative Physiology A, 192*(7), 691–700.

Jung, J., Kim, D. I., Ilyasov, R., Kim, K., & Kwon, H. W. (2017). Comparative study of olfactory learning and memory in *Apis cerana* and *Apis mellifera* foragers. *Journal of Apiculture, 32*(4), 275–280.

Kaspi, R., & Shafir, S. (2013). Associative olfactory learning of the red dwarf honey bee *Apis florea*. *Apidologie, 44*(1), 100–109.

Ketchell, M. (2017). *Five of most explosive non-nuclear chemicals ever made* [online]. Available from : https://theconversation.com/five-of-the-most-explosive-non-nuclear-chemicals-ever-made-72702

Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J., & Ståhl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *The Botanical Review, 72*(1), 1.

Koeniger, N., Weiss, J., & Maschwitz, U. (1979). Alarm pheromones of the sting in the genus *Apis*. *Journal of Insect Physiology, 25*(6), 467–476.

Laloi, D., Sandoz, J., Picard-Nizou, A., Marchesi, A., Pouvreau, A., Taséi, J., . . . Pham-delègue, M. (1999). Olfactory conditioning of the proboscis extension in bumble bees. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 90*(2), 123–129.

Laloi, D., & Pham-Delègue, M. H. (2004). Bumble bees show asymmetrical discrimination between two odors in a classical conditioning procedure. *Journal of Insect Behavior, 17*(3), 385–396.

Laska, M., Galizia, C. G., Giurfa, M., & Menzel, R. (1999). Olfactory discrimination ability and odor structure–activity relationships in honeybees. *Chemical Senses, 24*(4), 429–438.

Laska, M., & Teubner, P. (1999). Olfactory discrimination ability for homologous series of aliphatic alcohols and aldehydes. *Chemical Senses, 24*(3), 263–270.

Laska, M., & Galizia, C. G. (2001). Enantioselectivity of odor perception in honeybees (*Apis mellifera carnica*). *Behavioral Neuroscience, 115*(3), 632.

MacArthur, R. H., & Pianka, E. R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist, 100*(916), 603–609.

Matsumoto, Y., Menzel, R., Sandoz, J. C., & Giurfa, M. (2012). Revisiting olfactory classical conditioning of the proboscis extension response in honey bees: a step toward standardized procedures. *Journal of Neuroscience Methods, 211*(1), 159–167.

Masuhr, T., & Menzel, R. (1972). Learning experiments on the use of side—specific information in

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

the olfactory and visual system in the honey bee (*Apis mellifica*). In R. Wehner (Ed.), *Information Processing in the Visual Systems of Anthropods*. Berlin: Springer.

Menzel, R., Erber, J., & Masuhr, T. (1974). Learning and memory in the honeybee. In L. B. Browne (Ed.), *Experimental Analysis of Insect Behavior*. Berlin: Springer.

Menzel, R., Hammer, M., & Sugawa, M. (1989). Non-associative components of conditioning in honeybees. In E. Joachim & M. Randolf (Eds.), *Neural Mechanisms of Behavior: Proceedings of the 2nd international congress of neuroethology.* Stuttgart: Thieme.

Menzel, R. (1990). Learning, memory, and "cognition" in honey bees. In R. P. Kesner & D. S. Olten (Eds.), *Neurobiology of Comparative Cognition*. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Assocites.

Menzel, R., & Shmida, A. (1993). The ecology of flower colours and the natural colour vision of insect pollinators: the Israeli flora as a study case. *Biological Reviews, 68*(1), 81–120.

Menzel, R., & Müller, U. (1996). Learning and memory in honeybees: from behavior to neural substrates. *Annual Review of Neuroscience, 19*(1), 379–404.

Menzel, R. (1999). Memory dynamics in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology A, 185*(4), 323–340.

Menzel, R., & Giurfa, M. (2001). Cognitive architecture of a mini-brain: the honeybee. *Trends in Cognitive Sciences, 5*(2), 62–71.

Yang, W., Kuang, H., Wang, S., Wang, J., Liu, W., Wu, Z., . . . Miao, X. (2013). Comparative sucrose responsiveness in *Apis mellifera* and *A. cerana* foragers. *PLoS One, 8*(10), e79026.

Morgan, S. M., Huryn, V. M. B., Downes, S. R., & Mercer, A. R. (1998). The effects of queenlessness on the maturation of the honey bee olfactory system. *Behavioural Brain Research, 91*(1–2), 115–126.

Mujagic, S., Sarkander, J., Erber, B., & Erber, J. (2010). Sucrose acceptance and different forms of associative learning of the honey bee (*Apis mellifera* L.) in the field and laboratory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 4*(46), 1–11.

Muller, M. J. (2012). *Selected Climatic Data for a Global Set of Standard Stations for Vegetation Science.* Berlin: Springer Science & Business Media.

Nagamitsu, T., & Inoue, T. (1999). Differences in pollen sources of *Apis cerana* and *Apis mellifera* at a primary beech forest in central Japan. *Journal of Apicultural Research, 38*(1–2), 71–78.

Naim, M., & Bisht, D. (1989). Fidelity and time spent on flowers by *Apis cerana* F. foragers. *Indian Journal of Entomology, 51*(2), 222–223.

Niggebrügge, C., Leboulle, G., Menzel, R., Komischke, B., & de Ibarra, N. H. (2009). Fast learning but coarse discrimination of colours in restrained honeybees. *Journal of Experimental Biology, 212*(9), 1344–1350.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Öhman, A., & Mineka, S. (2001). Fears, phobias, and preparedness: toward an evolved module of fear and fear learning. *Psychological Review, 108*(3), 483.

Oldroyd, B. P., & Wongsiri, S. (2006). *Asian Honey Bees: Biology, Conservation, and Human Interactions*. London: Harvard University Press.

Passer, M. W., & Smith, R. E. (2004). *Psychology: The Science of Mind and Behavior*. Boston: McGraw-Hill.

Pankiw, T., & Page, R. E., Jr. (1999). The effect of genotype, age, sex, and caste on response thresholds to sucrose and foraging behavior of honey bees *(Apis mellifera* L.). *Journal of Comparative Physiology A, 185*(2), 207–213.

Pankiw, T., & Page, R. E., Jr. (2000). Response thresholds to sucrose predict foraging division of labor in honeybees. *Behavioral Ecology and Sociobiology, 47*(4), 265–267.

Partap, U. (2011). The pollination role of honeybees. In H. R. Hepburn & S. E. Radloff (Eds.), *Honeybees of Asia*. Berlin: Springer.

Pennington, J. C., Jenkins, T. F., Ampleman, G., Thiboutot, S., Brannon, J. M., Lynch, J., . . . Lewis, J. (2005). *Distribution and fate of energetics on DoD test and training ranges* (Research Report). Vicksburg, Mississippi, U.S. Army Engineer Research and Development Center.

Peng, Y. S., Fang, Y., Xu, S., & Ge, L. (1987). The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite, *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Invertebrate Pathology, 49*(1), 54–60.

Phelan, J. M., & Barnett, J. L. (2001). Solubility of 2, 4-dinitrotoluene and 2, 4, 6-trinitrotoluene in water. *Journal of Chemical & Engineering Data, 46*(2), 375–376.

Qin, Q. H., He, X. J., Tian, L. Q., Zhang, S. W., & Zeng, Z. J. (2012). Comparison of learning and memory of *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Physiology A, 198*(10), 777–786.

Ray, S., & Ferneyhough, B. (1997). The effects of age on olfactory learning and memory in the honey bee *Apis mellifera*. *Neuroreport, 8*(3), 789–793.

Raza, M., Li, Z., Rizwan, M., Aqai Kalan, H., & Su, S. (2019). Comparison of learning and memory of Eastern (*Apis cerana cerana*) and Western honey bees (*Apis mellifera* L.). *Applied Ecology and Environmental Research, 17*(2), 4971–4984.

Reinhard, J., Sinclair, M., Srinivasan, M. V., & Claudianos, C. (2010). Honeybees learn odour mixtures via a selection of key odorants. *PLoS One, 5*(2), e9110.

Richard, S., Davies, D., & Faure, J. (2000). The role of fear in one-trial passive avoidance learning in Japanese quail chicks genetically selected for long or short duration of the tonic immobility reaction. *Behavioural Processes, 48*(3), 165–170.

Rodacy, P. J., Bender, S., Bromenshenk, J., Henderson, C., & Bender, G. (2002). Training and

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

deployment of honeybees to detect explosives and other agents of harm. In J. T. Broach, R. S. Harmon and G. J. Dobeck (Eds.), *Proceeding of SPIE Volume 4742, the Detection and Remediation Technologies for Mines and Minelike Targets VII*. Bellingham: the international society for optics and photonics.

Ruttner, F. (1988). Morphometric analysis and classification. In F. Ruttner (Ed.), *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Berlin: Springer-Verlag Press.

Sakagami, S. F. (1960). Preliminary report on the specific difference of behaviour and other ecological characters between European and Japanese honeybees. *Acta Hymenopterologica, 1*(2), 171.

Sandoz, J. C., Roger, B., & Pham-Delegue, M. H. (1995). Olfactory learning and memory in the honeybee: comparison of different classical conditioning procedures of the proboscis extension response. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Serie III, 318*(7), 749–755.

Sandoz, J. C., & Pham-Delègue, M. H. (2004). Spontaneous recovery after extinction of the conditioned proboscis extension response in the honeybee. *Learning & Memory, 11*(5), 586–597.

Sandoz, J. C., Deisig, N., de Brito Sanchez, M. G., & Giurfa, M. (2007). Understanding the logics of pheromone processing in the honeybee brain: from labeled-lines to across-fiber patterns. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 1*, 5.

Scheiner, R., Page, R. E., Jr., & Erber, J. (2004). Sucrose responsiveness and behavioral plasticity in honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie, 35*(2), 133–142.

Scheiner, R., Abramson, C. I., Brodschneider, R., Crailsheim, K., Farina, W. M., Fuchs, S., . . . Koeniger, G. (2013). Standard methods for behavioural studies of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research, 52*(4), 1–58.

Seeley, T. (1995). *The Wisdom of the Hive*. Massachusetts: Harvard University Press.

Shakib, V., & Mehdi, S. (2016). Comparison olfactory learning three races of bees (*Apis mellifera meda*, *Apis mellifera carnica* and *Apis cerana* F.) under laboratory conditions and memory recall in drones of hive honeybee species in Iran. *Journal of Entomology and Zoology Studies, 4*(4), 1046–1059.

Simcock, N. K., Gray, H., Bouchebti, S., & Wright, G. A. (2018). Appetitive olfactory learning and memory in the honeybee depend on sugar reward identity. *Journal of Insect Physiology, 106*, 71–77.

Skinner, B. F. (1938). *The Behavior of Organisms: An Experimental Analysis*. New York: Appleton-Century.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Smith, D. R., & Hagen, R. H. (1996). The biogeography of *Apis cerana* as revealed by mitochondrial DNA sequence data. *Journal of the Kansas Entomological Society*, *69*(4), 294–310.

Smith, B. H., & Burden, C. M. (2014). A proboscis extension response protocol for investigating behavioral plasticity in insects: application to basic, biomedical, and agricultural research. *Journal of Visualized Experiments,* 91, e51057.

Srinivasan, M. V., Zhang, S., & Witney, K. (1994). Visual discrimination of pattern orientation by honeybees: performance and implications for'cortical'processing. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 343*(1304), 199–210.

Stollhoff, N., Menzel, R., & Eisenhardt, D. (2008). One retrieval trial induces reconsolidation in an appetitive learning paradigm in honeybees (*Apis mellifera*). *Neurobiology of Learning and Memory, 89*(4), 419–425.

Su, S., Cai, F., Si, A., Zhang, S., Tautz, J., & Chen, S. (2008). East learns from West: Asiatic honeybees can understand dance language of European honeybees. *PLoS One, 3*(6), e2365.

Suppasat, T., Smith, D. R., Deowanish, S., & Wongsiri, S. (2007). Matrilineal origins of *Apis mellifera* in Thailand. *Apidologie, 38*(4), 323–334.

Suryanarayana, M., Rao, G. M., & Singh, T. (1992). Studies on pollen sources for *Apis cerana* Fabr and *Apis mellifera* L bees at Muzaffarpur, Bihar, India. *Apidologie, 23*(1), 33–46.

Suwannapong, G., Benbow, M., & Nieh, J. (2012). Biology of Thai honeybees: natural history and Threats. In R. M. Florio (Ed.), *Bees Biology, Threats and Colonies*. New York: Nova Science Publishers.

Takeda, K. (1961). Classical conditioned response in the honey bee. *Journal of Insect Physiology, 6*(3), 168–179.

Tan, K., Wang, Z., Li, H., Yang, S., Hu, Z., Kastberger, G., & Oldroyd, B. P. (2012). An 'I see you' prey–predator signal between the Asian honeybee, *Apis cerana*, and the hornet, *Vespa velutina*. *Animal Behaviour, 83*(4), 879–882.

Tan, K., Yang, S., Wang, Z. W., Radloff, S. E., & Oldroyd, B. P. (2012). Differences in foraging and broodnest temperature in the honey bees *Apis cerana* and *A. mellifera*. *Apidologie, 43*(6), 618–623.

Taylor-mccabe, K. J., Wingo, R. M., & Haarmann, T. K. (2008). Honey bees (*Apis mellifera*) as explosives detectors: exploring proboscis extension reflex conditioned response to trinitrotolulene (TNT). *Apidologie*, 1–14.

Urbanski, T., Laverton, S., & Ornaf, W. (1964). *Chemistry and Technology of Explosives*. New York: Pergamon Press.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Van Hateren, J., Srinivasan, M., & Wait, P. (1990). Pattern recognition in bees: orientation discrimination. *Journal of Comparative Physiology A, 167*(5), 649–654.

Vareschi, E. (1971). Duftunterscheidung bei der Honigbiene—Einzelzell-Ableitungen und Verhaltensreaktionen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie, 75*(2), 143–173.

Verma, L., & Dulta, P. (1986). Foraging behaviour of *Apis cerana indica* and *Apis mellifera* in pollinating apple flowers. *Journal of Apicultural Research, 25*(4), 197–201.

Visscher, P. K., & Seeley, T. D. (1982). Foraging strategy of honeybee colonies in a temperate deciduous forest. *Ecology, 63*(6), 1790–1801.

Vorel, C. A., & Pitts-Singer, T. L. (2010). The proboscis extension reflex not elicited in megachilid bees. *Journal of the Kansas Entomological Society, 83*(1), 80–83.

Wagener-Hulme, C., Kuehn, J., Schulz, D., & Robinson, G. (1999). Biogenic amines and division of labor in honey bee colonie s. *Journal of Comparative Physiology A, 184*(5), 471–479.

Wang, Z., & Tan, K. (2014). Comparative analysis of olfactory learning of *Apis cerana* and *Apis mellifera*. *Apidologie, 45*(1), 45–52.

Wongsiri, S., Lekprayoon, C., Thapa, R., Thirakupt, K., Rinderer, T., Sylvester, H., . . . Booncham, U. (1997). Comparative biology of *Apis andreniformis* and *Apis florea* in Thailand. *Bee World, 78*(1), 23–35.

Wongsiri, S. (1988). The effect of import of *Apis mellifera* L. to Thailand, In International Bee Research Association (Ed.), *4th International Conference. on Apiculture in Tropical Climates*. Cairo, Egypt: International Bee Research Association.

Yang, G. H. (2005). Harm of introducing the western honeybee *Apis mellifera* L. to the Chinese honeybee *Apis cerana* F. and its ecological impact. *Acta Entomologica Sinica, 3*, 15.

Yang, G. H. (2009). Chinese honeybee *Apis cerana* F. influence on Chinese forestry ecological system. *Apiculture China*, *60*, 5–10.

Yang, W., Kuang, H., Wang, S., Wang, J., Liu, W., Wu, Z., . . . Miao, X. (2013). Comparative sucrose responsiveness in *Apis mellifera* and *A. cerana* foragers. *PLoS One, 8*(10), e79026.

Yun-Feng, Z., Zeng, Z., Yan, W., & Wu, X. (2010). Effects of three aliphatic esters of brood pheromone on worker feeding and capping behavior and queen development of *Apis cerana cerana* and *A. mellifera ligustica*. *Acta Entomologica Sinica, 53*(2), 154–159.

Zhang, S., Srinivasan, M., & Horridge, G. A. (1992). Pattern recognition in honeybees: local and global analysis. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 248*(1321), 55–61.

Zhang, S., Lehrer, M., & Srinivasan, M. (1999). Honeybee memory: navigation by associative grouping and recall of visual stimuli. *Neurobiology of Learning and Memory, 72*(3), 180–201.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Zhang, Y. F., van Loon, J. J., & Wang, C. Z. (2010). Tarsal taste neuron activity and proboscis extension reflex in response to sugars and amino acids in *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Journal of Experimental Biology, 213*(16), 2889–2895.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ศิรัช เลิศจินตนากิจ
วัน เดือน ปี เกิด	28 พฤษภาคม 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี จากคณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตในสาขาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาและทุนวิจัยในระดับบัณฑิตศึกษาจากทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และทุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายทางชีวภาพ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา รวมไปผู้วิจัยยังได้รับทุนการศึกษาสนับสนุนในระดับชั้นปริญญาตรี ปริญญาโท และปริญญาเอกจากทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย นอกจากนี้ผู้วิจัยได้นำผลงานนี้ไปนำเสนอในระดับชาติและได้รับรางวัลนำเสนอผลงานดีเด่นประเภท Poster Presentation ในงานประชุม Biological Science Graduate Congress ครั้งที่ 23 ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และได้รับรางวัลนำเสนอผลงานดีเด่นประเภท Oral Presentation ในงานประชุมระดับชาติ พะเยาวิจัยครั้งที่ 9 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	91/148 ถ.รัตนาธิเบศร์ ต.ไทรม้า อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University