การเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญา *Tetragonula laeviceps* (Smith) Species Complex ในสภาพกึ่งธรรมชาติ

In Vitro Rearing of Stingless Bee Queen *Tetragonula laeviceps* (Smith) Species Complex

ทักษพร สมมิตร[1] จิราพร กุลสาริน[1*] ไสว บูรณพานิชพันธุ์[1] สมนึก บุญเกิด[2] กนกวรรณ คำยอดใจ[1] และ กฤษณะ เรืองฤทธิ์[3]

Thaksaporn Sommitr[1], Jiraporn Kulsarin[1*], Sawai Buranapanichpan[1], Somnuk Boongird[2], Kanokwan Khamyotchai[1] and Krissana Ruangrit[3]

[1]ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[1]Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง กรุงเทพฯ 10240

[2]Department of Agricultural Technology, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bangkok 10240, Thailand

[3]คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี จ. เพชรบุรี 76120

[3]Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi Information Technology Campus, Phetchaburi 76120, Thailand

**Corresponding author: Email: j.tayuti@gmail.com*

(Received: 18 December 2018; Accepted: 31 January 2019)

Abstract: The keeping of stingless bee, *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex colonies in human made hives is the most common in stingless bee beekeeping industry in Thailand. Nevertheless, to multiply the stingless bee colony for large scale farming, the queen rearing technique is needed to be developed. The present study examines the efficacy of *in vitro* queen–rearing techniques in terms of life cycle, survival rate and rearing technique for newly emerged adult queen. Experiments were carried out under growth chamber conditions at 28 ± 1°C and ambient 70-75% relative humidity. The quantity of larval food intake in each treatment was measured with graduated capillary. The results revealed that the optimal volume of larval food was 64 µl to be reared as queens. The larval survival rate, pupal survival rate, and queen survival rate were 34.28, 39.10 and 62.63% respectively. It also found that the body size of reared queens was smaller than natural queens. The stingless bee queen development has consisted of 4 stages; egg, larva, pupa and adult. The duration of development stage of stingless bee queen from egg to adult emergence was 44.50 ± 0.53 days. After 3 days of virgin queens exposure with no impact on worker aggression in form of biting but fed the prospective queens, the new queens were then introduced into the queenless colonies. Within 12 hours of being released, *in vitro* queens were able to mate and lay viable eggs.

Keywords: Stingless bee queen, *Tetragonula laeviceps, in vitro* rearing, life cycle

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: การเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรง *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex ในรังเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรมอย่างหนึ่งที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงไว้เพื่อเพิ่มขยายจำนวนรังในเชิงการค้า แต่เนื่องจากผึ้งชันโรงนางพญาที่มีจำกัดภายในรังทำให้ขยายรังได้น้อย การทดลองวิจัยในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาในสภาพกึ่งธรรมชาติ วงจรชีวิตและการอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ โดยเพาะเลี้ยงภายใต้ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้น 70-75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณอาหารที่ตัวหนอนได้รับ 64 ไมโครลิตร พบอัตรารอดในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เฉลี่ยอยู่ที่ 34.28, 39.10 และ 62.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขนาดของผึ้งชันโรงนางพญาเล็กกว่าผึ้งชันโรงนางพญาที่เพาะเลี้ยงตามธรรมชาติ การศึกษาวงจรชีวิตของผึ้งชันโรงนางพญา พบว่ามีการเจริญเติบโต 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ระยะเวลาการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ใช้เวลาเฉลี่ย 44.50 ± 0.53 วัน การอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ 3 วัน พบว่าหากผึ้งชันโรงงานยอมรับผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ จะไม่กัดหรือทำร้ายและมีการป้อนอาหารให้ สามารถนำไปปล่อยไว้ในรังที่ไม่มีผึ้งชันโรงนางพญาได้ หลังจากปล่อยเข้าสู่รัง 12 ชั่วโมง พบว่าผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ผสมพันธุ์กับผึ้งชันโรงตัวผู้และวางไข่เพื่อเพิ่มจำนวนประชากร

คำสำคัญ: ผึ้งชันโรงนางพญา *Tetragonula laeviceps* การเพาะเลี้ยงสภาพกึ่งธรรมชาติ วงจรชีวิต

คำนำ

ผึ้งชันโรง *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex เป็นแมลงสังคมแท้จริงขนาดเล็กที่มีลักษณะคล้ายกับผึ้งรวงแต่ไม่มีเหล็กใน ไม่สามารถต่อยได้ จัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera วงศ์ Apidae วงศ์ย่อย Meliponinae และเผ่า Meliponini (Sawatthum, 2013) เป็นแมลงที่พบแพร่กระจายในเขตร้อนชื้น ได้แก่ เขตกึ่งร้อนใต้เส้นรุ้งที่ 23.5 องศาเหนือและใต้ มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและระบบนิเวศการผสมเกสร เนื่องจากเป็นแมลงที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยผสมเกสรพืชดอก ทำรังอยู่กับที่ หาอาหารในรัศมีประมาณ 300 เมตร (Boongird, 2014a) ดำรงชีวิตแบบสังคมชั้นสูง (Boongird, 2014b) รังของผึ้งชันโรงส่วนใหญ่จะสร้างอยู่ในโพรงเทียมและโพรงธรรมชาติ ได้แก่ ในโพรงต้นไม้ แต่โพรงเหล่านั้นต้องอยู่ในร่มเงา และโพรงปูนซีเมนต์ (Khamyotchai *et al*., 2015) ผึ้งชันโรงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านการผสมเกสร (Jaiyen *et al*., 2018) เพราะการติดผลของพืชผลหลายชนิดต้องอาศัยการผสมเกสรที่มีประสิทธิภาพของผึ้งชันโรง อีกทั้งวิธีการเลี้ยงไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถนำมาเลี้ยงในรังไม้ขนาดเล็ก ใช้พื้นที่เพาะเลี้ยงน้อย สามารถเคลื่อนย้ายรังไปตามพื้นที่ที่ต้องการใช้ผึ้งชันโรงผสมเกสรได้ง่าย

การเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในประเทศเขตร้อนชื้น สำหรับประเทศไทยจะพบมากที่จังหวัดจันทบุรี ตราด สมุทรสงคราม และนครปฐม (Theanworrakant, 2015) ก่อให้เกิดการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาเพื่อขยายรังเพิ่มขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่เกษตรกรใช้วิธีการแยกรังโดยนำผึ้งชันโรงงานตัวอ่อนถ้วยอาหารและชันใส่ในรังใหม่ แล้วนำถ้วยตัวอ่อนผึ้งชันโรงนางพญาจากรังอื่นมาใส่ พบว่าเป็นวิธีที่มีข้อจำกัดในเรื่องของการควบคุมพันธุกรรม จำนวนดักแด้ผึ้งชันโรงนางพญาที่เกิดขึ้นน้อยมากและใช้เวลานาน มีคณะผู้วิจัยจากมหาวิทยาลัยรามคำแหงวิจัยและศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหรือการผลิตผึ้งชันโรงนางพญาด้วยวิธีเลียนแบบกึ่งธรรมชาติ (*in vitro*) โดยใช้หลักของเดียร์ซั่น (Dzierzon's Law) คือ ไข่ที่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อมีการพัฒนาและเจริญเติบโตไปเป็นเพศเมีย ซึ่งอาจเป็นผึ้งชันโรงงาน (worker) หรือผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ (virgin queen) หากมีการพัฒนาเป็นผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ต้องได้รับอาหารมากกว่าผึ้งชันโรงที่พัฒนาเป็นผึ้งชันโรงงาน เมื่ออายุได้ 10-12 ชั่วโมงขึ้นไป จนกระทั่งอายุ 3 วัน จึงเป็นผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ แต่ถ้าช่วงวิกฤตอาหารไม่สม่ำเสมอหรือความชื้นในการเพาะเลี้ยงไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสม ตลอดจนอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงสูงหรือต่ำเกินไปก็อาจทำให้ตัวเต็มวัยของ

ผึ้งชันโรงกลายเป็นกึ่งผึ้งชันโรงนางพญากึ่งผึ้งชันโรงงานได้ หรืออาจเป็นผึ้งชันโรงงานตัวใหญ่ (big worker) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับผึ้งชันโรงนางพญาแต่ไม่สามารถวางไข่ได้ (Boongird, 2017) ดังนั้นจุดประสงค์การศึกษาวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาปริมาณอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาในสภาพกึ่งธรรมชาติ วงจรชีวิต และการอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์จนได้ผึ้งชันโรงนางพญาที่ถูกต้องตามลักษณะผึ้งชันโรงนางพญาที่สมบูรณ์

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาในสภาพกึ่งธรรมชาติ

สร้างถ้วยนางพญาเทียม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร สูง 5 มิลลิเมตร และฝาปิดถ้วยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร สูง 3 มิลลิเมตร เพื่อใช้ใส่อาหารเลี้ยงตัวอ่อนและไขผึ้งชันโรง สร้างถ้วยเทียมโดยการละลายไขผึ้งให้อยู่ในรูปของเหลว ใช้ไม้ปลายมนจุ่มลงในน้ำเชื่อม ไขผึ้งและน้ำเย็นทิ้งไว้ให้คงสภาพ สร้างฐานวางถ้วยนางพญาเทียม โดยละลายไขผึ้งให้อยู่ในรูปของเหลว เทลงกล่องพลาสติกมีฝาปิด ขนาด 5.5x5.5x2.3 เซนติเมตร ให้มีความสูงจากระดับฐาน 5 มิลลิเมตร เกลี่ยให้อยู่ในระดับเดียวกัน ทิ้งไว้ให้แข็งตัว ทำหลุม เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ลึก 3 มิลลิเมตร คีบถ้วยนางพญาเทียมที่เตรียมไว้วางบนหลุม เชื่อมติดกับฐานด้วยไขผึ้ง ทิ้งไว้ให้แห้ง ใช้ปิเปตขนาด 20 ไมโครลิตร ดูดอาหารเลี้ยงตัวอ่อนจากถ้วยไข่ภายในรังธรรมชาติ จำนวน 2 ถ้วย แต่ละถ้วยมีปริมาณอาหารเฉลี่ย 16 ไมโครลิตร ใส่ลงในถ้วยนางพญาเทียม 1 ถ้วย เพื่อให้มีปริมาณอาหารเลี้ยงตัวอ่อนในถ้วย 32 ไมโครลิตร จากนั้นใช้เข็มฉีดยาที่ปรับปลายเข็มให้งอเล็กน้อย ช้อนไข่จากกระเปาะไข่ วางไข่ลงในถ้วยนางพญาเทียมให้ตั้งตรงบนผิวอาหาร ถ้วยละ 1 เซลล์ ปิดฝาด้วยไขผึ้ง เพื่อทำการศึกษา ดังนี้

ปริมาณอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาในสภาพกึ่งธรรมชาติ

นำกล่องพลาสติกมีฝาปิด ขนาด 5.5x5.5x2.3 เซนติเมตร ภายในมีถ้วยนางพญาเทียมบรรจุไข่และอาหาร แต่ละถ้วยมีปริมาณอาหารเลี้ยงตัวอ่อนบรรจุถ้วยละ 32 ไมโครลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ที่ความชื้น 70-75 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการของ Baptistella *et al.* (2012) และ Menezes *et al.* (2013) ทำการเพิ่มอาหารเลี้ยงตัวอ่อนลงไปในถ้วย 1 ครั้ง เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนได้ 3 วัน สังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร การเจริญเติบโตของตัวหนอนจนเข้าสู่ระยะดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การรอด วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ถ้วย ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงตัวหนอน 96 ไมโครลิตร
กรรมวิธีที่ 2 เพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงตัวหนอน 64 ไมโครลิตร
กรรมวิธีที่ 3 เพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงตัวหนอน 32 ไมโครลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ไม่เพิ่มปริมาณอาหาร

การศึกษาวงจรชีวิตของผึ้งชันโรงนางพญา

นำกล่องพลาสติกมีฝาปิด ขนาด 5.5x5.5x2.3 เซนติเมตร ภายในมีถ้วยนางพญาเทียมบรรจุไข่และอาหาร แต่ละถ้วยมีปริมาณอาหารเลี้ยงตัวอ่อนบรรจุถ้วยละ 32 ไมโครลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ที่ความชื้น 70-75 เปอร์เซ็นต์ (Baptistella *et al.*, 2012; Menezes *et al.*, 2013) สังเกตการเจริญเติบโตของตัวหนอนทุกวันจนพัฒนาไปเป็นผึ้งชันโรงนางพญาตัวเต็มวัย

การอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์

ทำการอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญา โดยป้อนอาหารเลี้ยงตัวอ่อนที่ดูดจากกระเปาะไข่ ทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน เมื่อผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์แข็งแรง ปล่อยผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ลงกล่องพลาสติกใสทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร ความสูง

11 เซนติเมตร ภายในบรรจุถ้วยน้ำหวานของผึ้งชันโรง 3 กรัม ถ้วยเกสรดอกไม้ 2 กรัม ถ้วยเลี้ยงตัวอ่อน 5 กรัม และใส่ผึ้งชันโรงงาน 15 ตัว สังเกตลักษณะของผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์เปรียบเทียบกับผึ้งชันโรงงาน และพฤติกรรมการตอบสนองระหว่างผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์กับผึ้งชันโรงงาน

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาในสภาพกึ่งธรรมชาติ

การเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาในสภาพกึ่งธรรมชาติ ภายในมีถ้วยนางพญาเทียมบรรจุเซลล์ไข่และอาหาร แต่ละถ้วยมีปริมาณอาหารเลี้ยงตัวอ่อนบรรจุเริ่มต้น ถ้วยละ 32 ไมโครลิตร ภายใต้ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้น 70-75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงตัวอ่อน 32 ไมโครลิตร ส่งผลให้ระยะตัวหนอนรอดชีวิต 34.28 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับการเพิ่มอาหารที่ 64 ไมโครลิตร ที่ระยะตัวหนอนรอดชีวิต 27.95 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการเพิ่มอาหารที่ 96 ไมโครลิตร และไม่เพิ่มปริมาณอาหาร (Table 1) ระยะดักแด้การเพิ่มอาหารที่ 32, 64 และ 96 ไมโครลิตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดเท่ากับ 39.10, 42.11 และ 40.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับระยะตัวเต็มวัยเริ่มต้น การเพิ่มอาหารที่ 32 ไมโครลิตร พบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของผึ้งชันโรงนางพญา 62.63 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าจะให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับการเพิ่มอาหารที่ 64 ไมโครลิตร ที่พบอัตราการรอด 40.13 เปอร์เซ็นต์ แต่เปอร์เซ็นต์การรอดของการเพิ่มอาหารที่ 32 ไมโครลิตร มีค่ามากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการเพิ่มอาหารที่ 32 ไมโครลิตร สามารถเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาได้มากที่สุด แต่ขนาดของผึ้งชันโรงนางพญาจะเล็กกว่าผึ้งชันโรงนางพญาที่เพาะเลี้ยงตามธรรมชาติ ใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญา *Scaptotrigona depilis* ของ Menezes *et al.* (2013) ที่เลี้ยงตัวอ่อนผึ้งชันโรงนางพญาด้วยปริมาณอาหาร 134 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นปริมาณอาหารเฉลี่ยที่พบในถ้วยเลี้ยงตัวอ่อนจากรังธรรมชาติ ส่วนเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของผึ้งชันโรงนางพญาอยู่ที่ 97.9 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกับผลการศึกษาที่พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของผึ้งชันโรงนางพญาอยู่ที่ 62.63 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากว่าระหว่างการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญา พบเชื้อราเจริญบนถ้วยนางพญาเทียม เป็นเชื้อรา *Aspergillus niger* ซึ่งเจริญเติบโตในอากาศ ลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวแกมเขียว พบตุ่มเล็ก ๆ สีดำหรือสีน้ำตาลดำลักษณะเป็นขุยบริเวณปลายของเส้นใย (Tongklib and Kitpreechavanich, 2006) และพบไร *Tyrophagus* sp. เป็นไรศัตรูโรงเก็บที่กินซากของเสียต่าง ๆ ซึ่งพบทั่วไปในสภาวะที่มีความชื้น และเป็นพาหะนำเชื้อจุลินทรีย์ รบกวนระยะตัวหนอน (Menezes *et al.*, 2013) ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การรอดต่ำ ไม่สามารถเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะดักแด้ได้

จากการสังเกตพฤติกรรมการกินและการเจริญเติบโตของตัวหนอนจนเข้าสู่ระยะดักแด้ ดักแด้มีการพัฒนาเป็นทั้งผึ้งชันโรงงานและผึ้งชันโรงนางพญา เนื่องจากปัจจัยภายนอก เช่น การให้ปริมาณอาหารที่

Table 1. Survival rates of various stages of *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex in different volume of larval food in laboratory conditions at 28 ± 1 °C and 70-75 %RH

Volume of larval food	Survival rates (%)[1]			
	Larval stage	Pupal stage	Worker	Queen
128 microliters of larval food added	20.09 bc	40.13 a	45.00 a	0.00 b
96 microliters of larval food added	27.95 ab	42.11 a	40.13 a	40.13 a
64 microliters of larval food added	34.28 a	39.10 a	54.74 a	62.63 a
32 microliters of larval food added	9.32 c	0.00 b	0.00 b	0.00 b

[1] Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at P≥0.05

แตกต่างกัน และปัจจัยภายใน เช่น พฤติกรรมการกิน โดยสังเกตพบว่า เมื่อให้อาหารเพิ่ม หลังจากไข่ฟักเป็นตัวหนอนอายุ 3 วัน สังเกตพฤติกรรมตัวหนอนทุก 3 ชั่วโมง ตัวหนอนมีพฤติกรรมการกินอาหาร โดยดูดอาหารเหลวเข้าทางช่องปากจนอาหารเลี้ยงตัวอ่อนหมด จากนั้นเปลี่ยนการสังเกตพฤติกรรมตัวหนอนทุก 12 ชั่วโมง พบว่าตัวหนอนเริ่มลอกคราบโดยการสร้างเยื่อสีขาวพันรอบตัวเพื่อขยายขนาดลำตัว สร้างปล้องด้านข้างลำตัว ระบบหมุนเวียนเลือด และระบบขับถ่าย ก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ จากการสังเกตเพิ่มเติมพบว่าตัวหนอนที่กินอาหารสม่ำเสมอทุกวัน มีการเจริญเติบโตไปเป็นผึ้งชันโรงนางพญาที่สมบูรณ์แข็งแรง ส่วนตัวหนอนที่ดูดอาหารกินน้อย ส่งผลให้อาหารเหลวเหลืออยู่ก้นถ้วยนางพญาเทียม ก่อให้เกิดเชื้อราบนตัวหนอน ตัวหนอนไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้และตาย อีกประการหนึ่งหากตัวหนอนดูดกินอาหารน้อย ตัวหนอนจะเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์และผิดปกติ หรือเจริญเติบโตไปเป็นผึ้งชันโรงงานแต่ขนาดลำตัวเล็ก

การศึกษาวงจรชีวิตของผึ้งชันโรงนางพญา

จากการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญาภายใต้ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้น 70-75 เปอร์เซ็นต์ สังเกตการเจริญเติบโตของตัวหนอนทุกวันจนพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย พบว่ามีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ 4 ระยะ ได้แก่ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยเริ่มต้น (Figure 1)

ระยะไข่ ไข่มีลักษณะทรงกระบอก สีขาวขุ่น (Figure 2a) หลังจากย้ายไข่ลงถ้วยนางพญาเทียม 12 ชั่วโมง ไข่โค้งงอ ตั้งฉากกับผิวอาหาร (Figure 2b) เพื่อเตรียมฟักเป็นตัวหนอน ใช้เวลาเฉลี่ย 4.13 ± 0.99 วัน

ระยะตัวหนอน หลังจากไข่ฟักเป็นตัวหนอนลอยอยู่บนผิวหน้าอาหาร มีลักษณะลำตัวโค้งงอคล้ายรูปตัว C นอนตะแคงข้าง (Figure 2c) สังเกตพบว่าบริเวณส่วนปลายของแต่ละด้านมีลักษณะแตกต่างกัน ด้านที่มีลักษณะใหญ่กว่าเป็นส่วนหัว มีปากสำหรับดูดกินอาหาร โดยการยืดส่วนหัวออกไปแล้วใช้ปากดูดอาหารเหลวเข้าสู่ร่างกาย ส่วนด้านที่เล็กและเรียวกว่าเป็นส่วนท้าย เริ่มสร้างอวัยวะขับถ่าย สังเกตจากกลุ่มโครงสร้างสีน้ำตาลอ่อนบริเวณส่วนปลายที่อยู่ภายในของลำตัวแต่อวัยวะยังเห็นไม่ชัดเจน เมื่อเวลาผ่านไปเฉลี่ย 1.38 ± 0.52 วัน ตัวหนอนเริ่มสร้างเส้นปล้องลำตัว (Figure 2d) เห็นแถบปล้องแบ่งกันชัดเจนและสังเกตเห็นเยื่อบาง ๆ สีใส รอบ ๆ ตัวหนอนเป็นเยื่อที่เกิดจากการลอกคราบครั้งที่ 1 ซึ่งสังเกตด้วยตาเปล่าไม่เห็นต้องสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ จากนั้นเข้าสู่การลอกคราบครั้งที่ 2 โดยใช้เวลาเฉลี่ย 2.13 ± 0.35 วัน ในระยะนี้ ตัวหนอนมีการสร้างระบบหมุนเวียนเลือด (Figure 2e) เห็นหลอดเลือดและเส้นเลือดสีเหลืองชัดเจนบริเวณกึ่งกลางด้านบนของลำตัวและระบบขับถ่ายบริเวณส่วนท้ายของลำตัวเริ่มชัดเจน เป็นอวัยวะที่ชื่อว่าท่อมัลพิเกียน (Figure 2f) ซึ่งเป็นโครงสร้างระบบขับถ่ายของแมลง (Bee Health, 2010) จากนั้นใช้เวลาเฉลี่ย 2.63 ± 0.74 วัน ตัวหนอนจึงมี

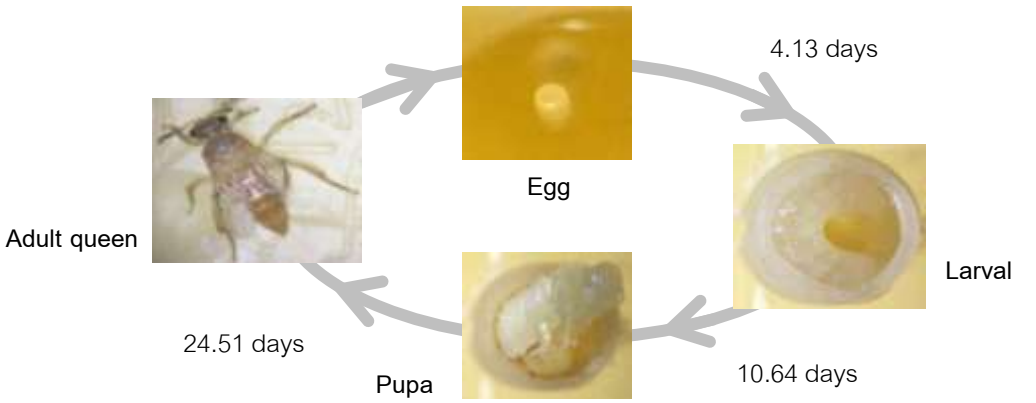

Figure 1. Life cycle of *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex queen

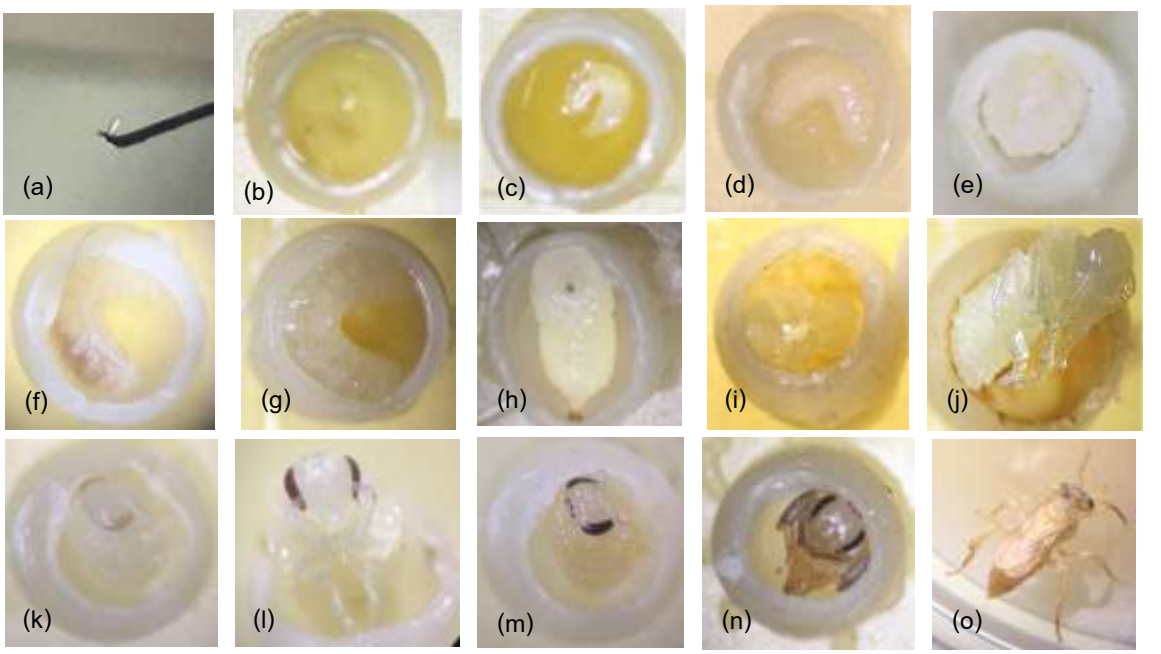

Figure 2. Egg (a), shape of egg after 12 hours ago (b), C-shape of larva in first instar (c), white web in first molting of larva (d), circulatory system (e), excretory system (f), lateral segments (g), thoracic segments and legs (h), pupa (i), pupa (white eyes) (j), pupa (light brown eyes) (k), pupa (dark brown eyes) (l), pupa (black eyes) (m), pupa (build wings) (n), newly emerged stingless bee (o)

การลอกคราบครั้งที่ 3 เพื่อสร้างปล้องด้านข้างลำตัวเห็นเป็นข้อปล้องชัดเจน (Figure 2g) ลักษณะนูนออกมาจากด้านข้างลำตัว ผิวหนังเริ่มแห้ง เต่งตึงและมันวาว จากนั้นเข้าสู่การลอกคราบครั้งที่ 4 ใช้เวลาเฉลี่ย 2.25 ± 0.71 วัน และเข้าสู่การลอกคราบครั้งสุดท้ายใช้เวลาเฉลี่ย 2.25 ± 0.46 วัน เพื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ ตัวหนอนจะสร้างเยื่อลักษณะหนา ห่อหุ้มลำตัวเพื่อปรับขนาดลำตัวให้พร้อมเพื่อสร้างอวัยวะอื่น ๆ ใช้เวลาเฉลี่ย 2.63 ± 0.52 วัน จากนั้นเริ่มสร้างหนวดซึ่งเป็นอวัยวะส่วนหัว เริ่มสร้างกราม (mandible) ซึ่งเป็นอวัยวะส่วนปาก และสร้างปล้องอก (Figure 2h)

ระยะดักแด้ เป็นระยะเปลี่ยนแปลงจากตัวหนอนไปสู่ตัวเต็มวัย ระยะนี้จะไม่มีการให้อาหาร ดักแด้อยู่นิ่งจนกว่าเป็นตัวเต็มวัย (Figure 2i) ก่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ดักแด้มีการพัฒนาสีตารวม เริ่มจากตารวมสีขาว (Figure 2j) ใช้เวลาเฉลี่ย 6.13 ± 0.99 วัน เปลี่ยนเป็นตารวมสีน้ำตาลอ่อนจนเป็นสีน้ำตาลเข้ม (Figures 2k, 2l) ใช้เวลาเฉลี่ย 8.75 ± 0.71 วัน จากนั้นตารวมเปลี่ยนเป็นสีดำ (Figure 2m) เริ่มสร้างปีกบริเวณตุ่มปีกตรงส่วนอก ปีกที่สร้างยังไม่มีขนปีก ลักษณะปีกสีน้ำตาลแกมดำ (Figure 2n)ใช้เวลาเฉลี่ย 9.63 ± 0.74 วัน

ระยะตัวเต็มวัย เมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเริ่มต้นเริ่มเดิน แต่สภาพยังอ่อนแรง (Figure 2o) เนื่องจากขายังไม่แข็งแรงต้องทำการอนุบาล 2.63 ± 0.52 วัน ระยะเวลาการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเริ่มต้นอยู่ที่ 44.50 ± 0.53 วัน (Table 2)

การอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์

จากการอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ 3 วัน เมื่อผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์แข็งแรงสมบูรณ์ สังเกตลักษณะผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์เทียบกับผึ้งชันโรงงาน พบว่าส่วนหัวของผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์แคบกว่าส่วนอก หน้าสอบ เมื่อเทียบกับผึ้งชันโรงงานที่ส่วนหัวใหญ่กว้างเท่ากับส่วนอก และหน้าค่อนข้างกลม (Figure 3, a) ขาหลังของผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์มีลักษณะลีบ เมื่อเทียบกับผึ้งชันโรงงานที่

Table 2. Durations of various developmental stages of *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex

Developmental stages	Mean ± S.D. (days)	Range (days)
Egg	4.13 ± 0.99	3-6
First instar larva	1.38 ± 0.52	1-2
Second instar larva	2.13 ± 0.35	2-3
Third instar larva	2.63 ± 0.74	2-4
Fourth instar larva	2.25 ± 0.71	1-3
Fifth instar larva	2.25 ± 0.46	2-3
Pre-pupa	2.63 ± 0.52	2-3
Pupa (white eyes)	6.13 ± 0.99	4-7
Pupa (brown eyes)	8.75 ± 0.71	8-10
Pupa (black eyes)	9.63 ± 0.74	9-11
Newly emerged adult	2.63 ± 0.52	2-3
Egg to adult emergence	44.50 ± 0.53	44-45

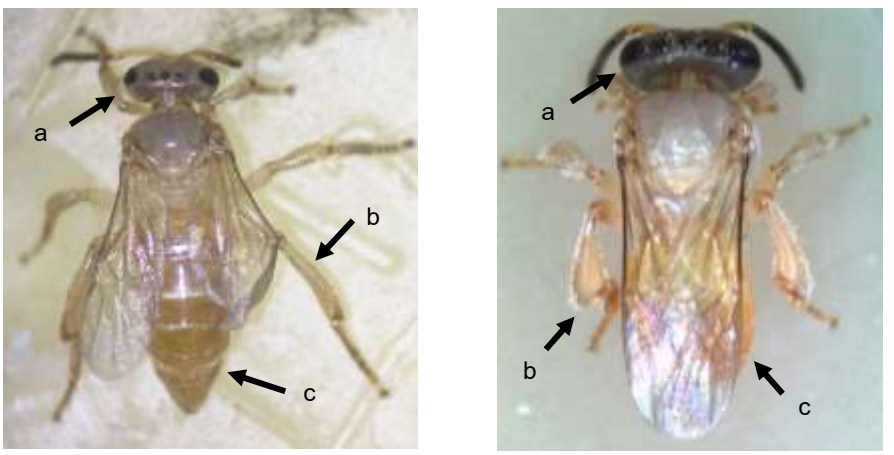

Figure 3. External structure of virgin stingless bee queen (left) compare with worker (right); head and thorax (a), hind legs (b), abdomen (c)

ขาหลังจะใหญ่กว่าและมีอวัยวะสำหรับเก็บเกสรดอกไม้ (Figure 3, b) ปล้องท้องผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์เรียวสอบไปยังส่วนปลาย ความยาวเลยปีก เมื่อเทียบกับผึ้งชันโรงงานที่ปล้องท้องมีลักษณะทรงกระบอก ไม่เรียวแหลม (Figure 3, c)

สำหรับผึ้งชันโรงที่มีการเจริญเติบโตไปเป็นผึ้งงานตัวใหญ่ (big worker หรือ Intermediate caste) ส่วนหัวมีลักษณะใหญ่เท่ากับส่วนอกเหมือนผึ้งชันโรงงาน เมื่อเทียบกับส่วนหัวของผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ที่มีลักษณะแคบกว่าส่วนอกและหน้าสอบ (Figure 4)

ส่วนของ tibia บริเวณขาคู่ที่ 3 ของ big worker มีขนเห็นได้ชัดเจนเหมือนผึ้งชันโรงงาน ซึ่งบริเวณเป็นที่ตั้งของตะกร้าเก็บเกสรที่พบในผึ้งชันโรงงาน (Figure 5)

ส่วนท้องของ big worker มีลักษณะกึ่งผึ้งชันโรงงาน กึ่งผึ้งชันโรงนางพญา คือ ส่วนท้องยาวเลยปีกแต่ไม่เรียวสอบไปยังส่วนปลาย มีลักษณะก้ำกึ่งว่าจะเป็นผึ้งชันโรงงานหรือผึ้งชันโรงนางพญา (Figure 6)

Figure 4. Head of big worker (left) compare with virgin stingless bee queen (right)

Figure 5. Tibia of worker (left) compare with big worker (right)

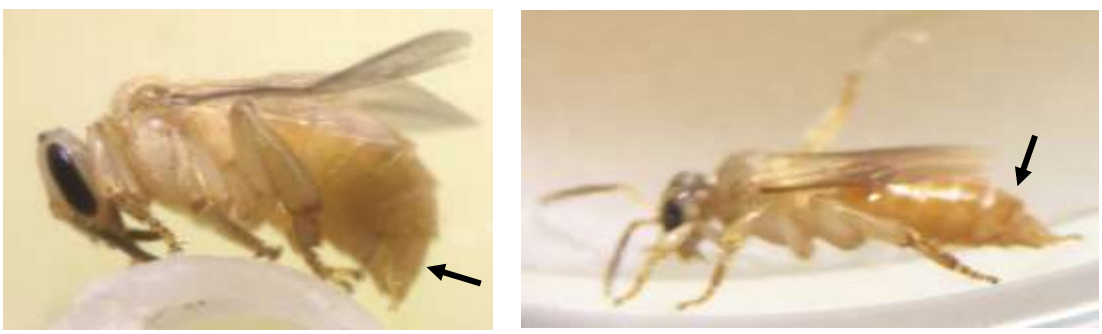

Figure 6. Abdomen of big worker (left) compare with virgin stingless bee queen (right)

ลักษณะ big worker ที่เพาะเลี้ยงได้จากการทดลอง มีลักษณะใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Boongird (2018) ที่รายงานว่าผึ้งงานตัวใหญ่ หรือ big worker ส่วนของ tibia มีขนเหมือนผึ้งชันโรงงาน (Figure 7a) ฟันกรามมีลักษณะเหมือนผึ้งชันโรงงาน (Figure 7b) เนื่องจากเนื้อเยื่อที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงในช่วงระหว่างการพัฒนาการเจริญเติบโต ไม่ได้รับสารอาหารในปริมาณที่เหมาะสม อีกทั้งรังไข่ฝ่อ ถุงเก็บน้ำเชื้อไม่พัฒนา จึงไม่สามารถทำหน้าที่แทนนางพญาได้

สังเกตพฤติกรรมระหว่างผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์และผึ้งชันโรงงานพบว่า หากผึ้งชันโรงงานยอมรับ ไม่ทำร้ายหรือกัดผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ มีการป้อนอาหาร (Figure 8) สามารถนำผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ปล่อยสู่รังที่ไม่มีผึ้งชันโรงนางพญาได้ หลังจากปล่อยเข้าสู่รัง 12 ชั่วโมง พบว่าผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ผสมพันธุ์กับผึ้งชันโรงตัวผู้และวางไข่เพื่อเพิ่มจำนวนประชากรภายในรัง สำหรับพฤติกรรมของผึ้งชันโรงงานที่ไม่ยอมรับผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ในขณะที่ทำการอนุบาล เนื่องจากผึ้งชันโรงงานทุกตัวมีกลิ่นของผึ้งชันโรงนางพญาแม่รังตัวเก่าติดอยู่ ผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ตัวใหม่ที่ได้ไม่ว่าจะมีกลิ่นหรือไม่มีกลิ่น ผึ้งชันโรงงานไม่สามารถตรวจสอบได้ ดังนั้นความแตกต่างของกลิ่นผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ที่ไม่เหมือนกลิ่นของผึ้งชันโรงงานนั้น ก่อให้เกิดพฤติกรรมการทำร้ายหรือไม่ยอมรับผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ตัวใหม่

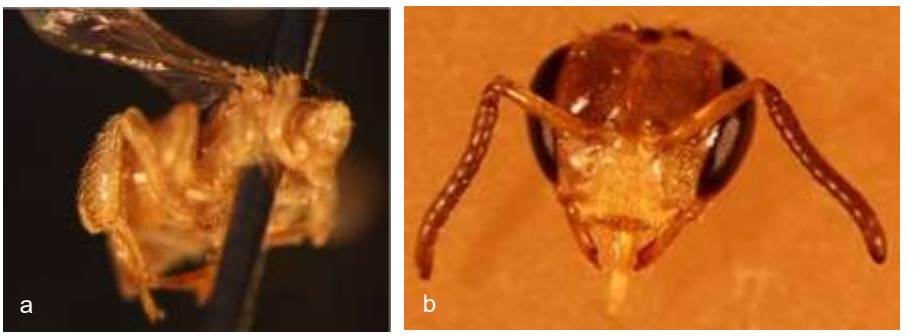

Figure 7. Tibia of big worker (a), mandible of big worker (b)

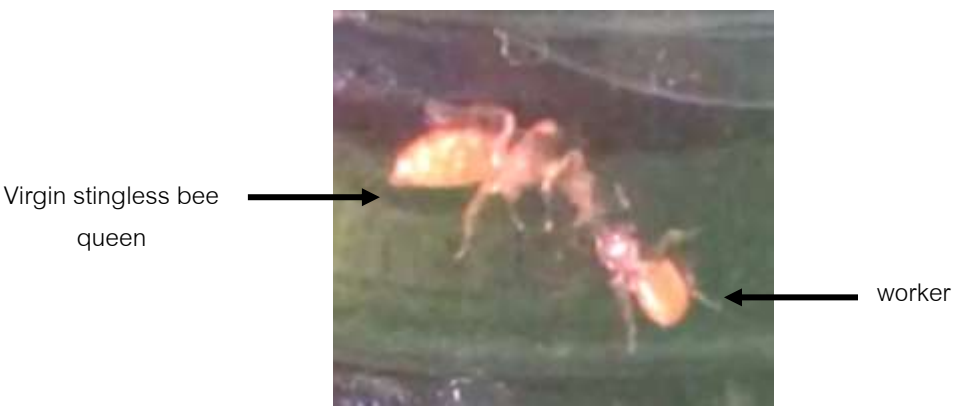

Figure 8. Interaction between virgin stingless bee queen and worker

สรุป

จากการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญา *Tetragonula laeviceps* (Smith) species complex ในสภาพกึ่งธรรมชาติภายใต้ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้น 70-75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอาหารที่ตัวหนอนได้รับ 64 ไมโครลิตร เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงนางพญามากที่สุด พบอัตรารอดในระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยเฉลี่ยอยู่ที่ 34.28, 39.10 และ 62.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผึ้งชันโรงนางพญาที่เพาะเลี้ยงมีลักษณะตรงตามลักษณะของผึ้งชันโรงนางพญา สามารถผสมพันธุ์ขยายรังและวางไข่ได้

การศึกษาวงจรชีวิต พบการเจริญเติบโต 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ระยะเวลาการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ใช้เวลาเฉลี่ย 44.50 ± 0.53 วัน

การอนุบาลผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ 3 วัน สังเกตพฤติกรรมพบว่าหากผึ้งชันโรงงานยอมรับผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ จะไม่กัดหรือทำร้ายและมีการป้อนอาหารให้ แสดงว่ากลิ่นของผึ้งชันโรงนางพญาแม่รังที่ผึ้งชันโรงงานอาศัยอยู่นั้น หมดไปจากตัวผึ้งชันโรงงานตัวนั้นแล้ว จึงจะปล่อยผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ตัวใหม่ลงไปไว้ในรังที่ไม่มีผึ้งชันโรงนางพญา ก่อนการผสมพันธุ์จะเริ่มขึ้น หลังจากปล่อยเข้าสู่รัง 12 ชั่วโมง พบว่าผึ้งชันโรงนางพญาพรหมจรรย์ผสมพันธุ์กับผึ้งชันโรงตัวผู้ และวางไข่เพื่อเพิ่มจำนวนประชากร

เอกสารอ้างอิง

Baptistella, A.R., C.C.M. Souza, W.C. Santana and A.A.E. Soares. 2012. Techniques for the *in vitro* production of queens in stingless bees (Apidae, Meliponini). Sociobiology 59(1): 297-310.

Bee Health. 2010. Illustrations from morphology of the honey bee larva by J.A. Nelson. (Online). Available: https://articles.extension.org/pages/26466/illustrations-from-morphology-of-the-honey-bee-larva-by-ja-nelson (September 21, 2018).

Boongird, S. 2014a. Managing colonies of the fusco bee, *Tetragonula fuscobalteata* (Cameron) (Hymenoptera; Apidae) for the pollination of durian, *Durio zibethinus* Murr., and its impact on honey composition. Ramkhamhaeng Research Journal of Sciences and Technology 17(2) : 23-39. (in Thai)

Boongird, S. 2014b. Taxonomy of Stingless Bees in Thailand. Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bangkok. 135 p. (in Thai)

Boongird, S. 2017. Stingless bees. Paper presented at Workshop on *In Vitro* Rearing of Stingless Bee Virgin Queen. Agricultural Technology Promotion Center (Economic Insects), Chiang Mai Province, Chiang Mai. 12 p. (in Thai)

Boongird, S. 2018. Beekeeping with Fusco Bee. Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bangkok. 116 p. (in Thai)

Jaiyen, S., J. Kulsarin, S. Buranapanichpan and K. Khamyotchai. 2018. Effects of hive patterns on storage pot arrangement of stingless bees, *Tetragonula laeviceps* species complex. Journal of Agriculture 34(2): 215-226. (in Thai)

Khamyotchai, K., H. Bänziger and J. Kulsarin. 2015. Nest entrance architectural types of *Tetragonula laeviceps* (Smith) a stingless bee species complex (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in Thailand and Peninsular Malaysia. Journal of Agriculture 31(1): 1-9. (in Thai)

Menezes, C., A. Vollet-Neto and V.L.I. Fonseca. 2013. An advance in the *in vitro* rearing of

stingless bee queens. Apidologie 44: 491-500.

Theanworrakant, N. 2015. Stingless bee hive types. Paper presented at Workshop on Culture of Stingless Bee. National Science and Technology Development Agency, Pathum Thani. 1 p. (in Thai)

Sawatthum, A. 2013. Miracle of Stingless Bees. Triple Group Co., Ltd., Pathum Thani. 27 p. (in Thai)

Tongklib, C. and V. Kitpreechavanich. 2006. *Aspergillus* isolated from Thailand and their ability on animal feed enzyme production. Paper presented at the 44th Kasetsart University Annual Conference, Bangkok. 8 p.