โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในเกสรผึ้ง และการระบุชนิดพืชอาหารจากเกสรผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ในพื้นที่การเกษตร ตำบล ตะนาวศรี อำเภอ สวนผึ้ง จังหวัด ราชบุรี
Analysis of pesticide residues and pollen identification in bee pollen from *Apis mellifera* in Ratchaburi province, Thailand

ชื่อนิสิต นางสาวอัชฌาพร เลี้ยงเชื้อ **เลขประจำตัว** 5932060123

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในเกสรผึ้ง และการระบุชนิดพืชอาหารจากเกสรผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ในพื้นที่การเกษตร ตำบล ตะนาวศรี อำเภอ สวนผึ้ง จังหวัด ราชบุรี

Analysis of pesticide residues and pollen identification in bee pollen from *Apis mellifera* in Ratchaburi province, Thailand

นางสาวอัชฌาพร เลี้ยงเชื้อ

อาจารย์ที่ปรึกษา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพจน์ วาฤทธิ์

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ	: การตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในเกสรผึ้ง และ การระบุชนิดพืชอาหารจากเกสรผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ในพื้นที่การทำเกษตร ตำบลตะนาวศรี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	: นางสาวอัชฌาพร เลี้ยงเชื้อ
อาจารย์ที่ปรึกษา	: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพจน์ วาฤทธิ์
ภาควิชา	: ชีววิทยา

บทคัดย่อ

สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้มีการใช้อย่างแพร่หลายในการทำเกษตรกรรมเพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิต ซึ่งการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชมีผลต่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นเป้าหมายและไม่ได้เป็นเป้าหมายของการกำจัด อีกทั้งยังมีการปนเปื้อนไปยังสิ่งแวดล้อม เป็นอันตรายต่อทั้งเกษตรกรผู้ใช้ และสิ่งมีชีวิตอื่นในบริเวณนั้น และยังกระทบต่ออุตสาหกรรมอื่น ตัวอย่างเช่น อุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งที่จะมีการเคลื่อนย้ายรังไปตามแหล่งอาหารในพื้นที่การเกษตร ถ้าหากมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจะส่งผลต่อพฤติกรรมและสุขภาวะของผึ้งภายในรัง และยังสามารถปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์จากผึ้ง เช่น น้ำผึ้ง ไขผึ้ง และเกสรผึ้ง โดยเกสรผึ้งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของผึ้งภายในรังและมีคุณสมบัติในการดูดซับสารเคมี การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในเกสรผึ้ง และศึกษาชนิดของพืชอาหาร โดยทำการศึกษาที่พสุธาราฟาร์ม & วิลเลจ จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 – มีนาคม 2563 ในการตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทำการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS แล้วนำมาวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วยระบบ LC/MS ผลการศึกษาในเบื้องต้น พบสารเคมี imidacloprid ที่เป็นสารเคมีกำจัดแมลง และการศึกษาชนิดของพืชอาหารที่มีสารเคมีตกค้างในเกสรผึ้ง ทำการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Acetolysis แล้วทำการจำแนกและนับจำนวน พร้อมทั้งคำนวณความสัมพันธ์ของจำนวนกับปริมาตรของเกสรพืช โดยพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* เป็นพืชอาหารหลัก คิดเป็นร้อยละ 65.99 ที่เป็นพืชอาหารหลักของผึ้งพันธุ์ที่ทำการเลี้ยงในพื้นที่แห่งนี้ โดยสารเคมีและพืชอาหารที่พบมาจากบริเวณข้างเคียงของพืชที่ศึกษา จากการหาอาหารของผึ้งที่บินหาอาหารได้ในระยะทางที่ไกล และพฤติกรรมการหาอาหารที่ผึ้งเป็น generalist และพฤติกรรม floral constancy ทำให้ครอบคลุมพื้นที่ศึกษาและบริเวณข้างเคียง ผลการศึกษาเบื้องต้นในครั้งนี้จะเป็นจุดเริ่มต้นสำหรับการพัฒนาวิธีทางเลือกในการวิเคราะห์ตรวจสอบการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยใช้เกสรของผึ้งเป็นตัวชี้วัด

คำสำคัญ: เกษตรกรรม, ชนิดของเกสร, นิเวศวิทยา, สวน

Research Title	: Analysis of pesticide residues and pollen identification in bee pollen from *Apis mellifera* in Ratchaburi province, Thailand
Student name	: Miss Achaphorn Liangchuea
Advisor	: Assistant Professor Dr. Natapot Warrit, Ph.D.
Department of	: Biology

Abstract

Pesticides are widely used in agricultural areas to increase product quantity and quality; however, such extensive uses of pesticides also affect non-target organisms and pollute the surrounding environment. Contaminated areas can indirectly affected many human activities including the beekeeping industry that usually move colonies across farms for pollination and honey production. Not only pesticide residues affect honey bee behavior and health, but also can be detected in honey, wax, and pollen. Bee pollen is known to be an important protein source and has high chemical absorption property. In this study, pesticide residues in bee pollen were examined along with identification of dominant pollen types that may carry the chemicals. Three European honey bee (*Apis mellifera*) colonies were placed at the Pasutara Farm & Village, Ratchaburi province. Bees were allowed to forage freely during the experiment, where pollen traps were placed in front of hive entrances to collect pollen samples during October 2019 to March 2020. Pesticide residues in pollen samples were prepared using QuEChERS method, and later analyzed using LC/MS (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry). Pollen components were analyzed using conventional acetolysis method. Pollen types were identified and counted to assess their number and volume ratio. The insecticide, imidacloprid, was found in pollen samples as major chemical residue. Plant in genus *Leucaena* (Fabaceae) is found to be a predominant pollen type accounted for 65.99% of total samples. The preliminary results of this study will be a starting point for the development of alternative methods pesticide contamination analysis by using bee pollen as indicators.

Keywords: Agriculture, Ecology, Farm, Pollen type

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือเป็นอย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพจน์ วาฤทธิ์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ และให้คำแนะนำแนวทางในการศึกษานี้ และเป็นผู้ให้ความช่วยเหลือในการวางแผนการทดลอง การทำงานและการวิเคราะห์ข้อมูล รวมไปถึงสนับสนุนเงินทุนสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ด้วย ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณนายภาณุวุฒิ เสนะวงศ์ ที่ให้ช่วยวางแผนการทดลอง การดำเนินการเก็บตัวอย่าง เตรียมตัวอย่าง การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ การดำเนินเอกสารต่าง ๆ จนสำเร็จลุล่วง ขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณคุณดรุณี วัฒน์นครบัญชา และคุณปรมินทร์ วัฒน์นครบัญชา เจ้าของพสุธาราฟาร์ม & วิลเลจ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษา อีกทั้งยังให้ที่พักและอาหาร ขณะที่ดำเนินการเก็บตัวอย่างในทุก ๆ เดือน ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณดร.จิรารัช กิตนะ ที่ให้ความกรุณาในการใช้ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์เพื่อใช้ในการศึกษา จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์ และผศ.ดร. พร้อมพงศ์ เพียรพินิจธรรม ผู้ให้คำปรึกษาทางด้านเคมี สถานที่และอุปกรณ์ในการปฏิบัติการในการทำโครงการนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ผู้ประสานงานรายวิชา โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ให้คำแนะนำในองค์ประกอบของเอกสารที่เกี่ยวข้องกับโครงการ และนายเตชินท์ จันทร์ชัย ที่ติดต่อประสานงานกับอาจารย์ผู้ประสานงานได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณครอบครัวที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุน และให้กำลังใจจนสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ๆ ใน Cu bee & spider research unit ที่ให้ความช่วยเก็บตัวอย่าง และติดต่อประสานงานต่าง ๆ จนลุล่วงไปได้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ข
Abstract ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญภาพ ..... ซ
บทที่ 1 บทนำ 10
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ 10
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 11
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม 12
2.1 การนำเข้าและการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย 12
2.2 การตกค้างและปนเปื้อนของสารเคมีในธรรมชาติ 14
2.3 ความสำคัญของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ที่มีต่ออุตสาหกรรมการเกษตร 15
2.4 การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ผึ้งเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ 16
2.5 เกณฑ์ชี้วัดคุณภาพของสิ่งแวดล้อมเมื่อใช้ผึ้งเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ 17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน 18
3.1 พื้นที่เก็บตัวอย่าง 18
3.2 การเก็บตัวอย่าง 18
3.3 การตรวจสอบชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้ง 19
3.3.1 การสกัดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้ง ด้วยวิธี QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe) (Oliveira et al., 2016) 19
3.3.2 การวิเคราะห์ชนิดสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ด้วย Liquid chromatography และ Mass spectrometry (LC/MS) 21
3.4 ระบุชนิดพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ 22
3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเกสรผึ้งและเกสรจากพืชที่คาดว่าเป็นแหล่งอาหารของผึ้งพันธุ์ ด้วยวิธี Acetolysis (Moar, 1985) 22
3.4.2 การทำเกสรพืชอ้างอิง (Pollen reference) 23
3.4.3 การวิเคราะห์พืชอาหาร 24
บทที่ 4 ผลการศึกษา 28

4.1 ชนิดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในเกสรของผึ้งพันธุ์ 28
4.2 แหล่งพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ที่พสุธารา 31
4.2.1 พืชอาหารของผึ้งพันธุ์ในแต่ละเดือน 31
4.2.2 พืชอาหารของผึ้งพันธุ์รวมทั้งหมด 37
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา 50
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 52
6.1 สรุปผลการศึกษา 52
6.2 ประโยชน์และข้อเสนอแนะ 52
เอกสารอ้างอิง 53
ภาษาไทย 53
ภาษาอังกฤษ 54
ภาคผนวก 56

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ชื่อสารเคมีที่มีการนำเข้ามากที่สุดในประเทศไทย และชื่อทางการค้าที่มีในท้องตลาด 13
ตารางที่ 2 การตั้งค่าระบบ LC/MS 21
ตารางที่ 3 สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในการศึกษาเบื้องต้นของตัวอย่างเกสรผึ้งที่สวนผลไม้ที่อัมพวาและความเข้มข้นของสารเคมี (ppb) 29
ตารางที่ 4 สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในการศึกษาเบื้องต้นของตัวอย่างเกสรผึ้งที่พสุธาราฟาร์ม & วิลเลจ และความเข้มข้นของสารเคมี (ppb) 29
ตารางที่ 5 พืชที่พบในเดือน ตุลาคม ปี พ.ศ. 2562 38
ตารางที่ 6 พืชที่พบในเดือน พฤศจิกายน ปี พ.ศ. 2562 39
ตารางที่ 7 พืชที่พบในเดือน ธันวาคม ปี พ.ศ. 2562 40
ตารางที่ 8 พืชที่พบในเดือน มกราคม ปี พ.ศ. 2563 42
ตารางที่ 9 พืชที่พบในเดือน กุมภาพันธ์ ปี พ.ศ. 2563 43
ตารางที่ 10 พืชที่พบในเดือน มีนาคม ปี พ.ศ. 2563 44
ตารางที่ 11 พืชอาหารหลักของผึ้งพันธุ์ตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 – มีนาคม พ.ศ. 2563 45
ตารางที่ 12 ดัชนีบ่งชี้สภาพนิเวศของพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง 48
ตารางที่ 13 สัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (Sorensen’s similarity coefficient) ของพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง ระหว่างในแต่ละเดือน 49

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ตัวอย่างสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างไปยังสิ่งแวดล้อม และส่งผลต่อห่วงโซ่อาหารของสัตว์ 14
ภาพที่ 2 ผลิตภัณฑ์จากผึ้ง : น้ำผึ้ง (A), ชันผึ้ง (B), ไขผึ้ง (C) และ เกสรผึ้ง (D) 16
ภาพที่ 3 ภาพถ่ายดาวเทียมโดย ส่วนสีม่วง: พสุธาราฟาร์ม, ส่วนอื่น ๆ: พื้นที่การเกษตรที่คาดว่ามีการใช้สารเคมี (A) และ สภาพพื้นที่ฟาร์ม (B) 18
ภาพที่ 4 รังผึ้งที่ทำการเลี้ยง 3 รัง พร้อมกับดักเกสร 19
ภาพที่ 5 ตัวอย่างเกสรผึ้งใน Extraction kit แล้วทำการปั่นเหวี่ยง จะเกิดการแยกชั้นขึ้น 20
ภาพที่ 6 การระเหยด้วยไนโตรเจน (A), ตัวอย่างสกัดจากเกสรผึ้งในขวดแก้ว (B) 20
ภาพที่ 7 เครื่อง LC/MS (6460 Triple Quadrupole LC/MS) 21
ภาพที่ 8 ดอกไม้ที่บดและต้มด้วย KOH (A) แล้วกรอง (B) 23
ภาพที่ 9 ตัวอย่างการวัดเกสร ของ พืชวงศ์ Acanthaceae สกุล *Asystasia* ในด้าน longitudinal (A) และด้าน equatorial (B) 24
ภาพที่ 10 โครมาโทแกรม ของ Imidacloprid ที่พบในตัวอย่างเกสรผึ้ง เดือน พฤษภาคม รังที่ 1 (จุด peak นาที 7.1) 30
ภาพที่ 11 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Fabaceae : *Leucaena* (A), Imp ได้แก่ Fabaceae : *Bauhinia* และ *Pithecellobium* (B,C) 31
ภาพที่ 12 เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Fabaceae : *Leucaena* 32
ภาพที่ 13 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Lauraceae : *Persea* (A) , imp ได้แก่ Asteraceae : *Tridax* (B,), Solanaceae : *Solanum* (C), Rutaceae : *Citrus* (D), Arecaceae : *Cocos* (E), Malvaceae : *Sida* (F) และ unknown 1 (G) 33
ภาพที่ 14 เดือนมกราคม พ.ศ. 2563 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Rutaceae : *Citrus* (A) , sp ได้แก่ Lauraceae : *Persea* (B) และ imp ได้แก่ Fabaceae : *Pithecellobium* และ *Leucaena* (C,D) 33
ภาพที่ 15 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 (วงศ์ : สกุล) sp ได้แก่ Alangiaceae : *Alangium* (A) และ Rutaceae : *Citrus* (B) และ imp ได้แก่ Minosoideae : *Samanea* (C), Myrtaceae : *Callistemon* (D–E), Arecaceae : *Cocos* (F), Sapotaceae :

Mimusops (G), Fabaceae : *Cassia* (H–I), Lythraceae : *Lagerstroemia* (J–K), และ unknown 2 (L) 35
ภาพที่ 16 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 (วงศ์ : สกุล) sp ได้แก่ Minosoideae : *Samanea* (A) , imp ได้แก่ Fabaceae : *Pithecellobium* และ *Delonix* (B,C–D), Myrtaceae : *Callistemon* (E–F), Rutaceae : *Citrus* (G), Passifloraceae : *Passiflora* (H) , พืช unknown 3, 4 และ 5 (I, J และ K) และ mp ที่เป็นพืช unknown 6 (L).... 36
ภาพที่ 17 พืชที่คาดว่าเป็นพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Fabaceae : *Leucaena* (A), imp ได้แก่ Rutaceae : *Citrus* (B), Lauraceae : *Persea* (C) และ Fabaceae : *Pithecellobium* (D)..... 37

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช (pesticide) คือ สารเคมีที่ได้มาจากการสังเคราะห์ทางเคมีหรือการสกัดสารจากวัตถุดิบธรรมชาติออกมาในรูปของสารเคมี ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดสิ่งมีชีวิตที่มาทำความเสียหายให้กับพืชผลทางการเกษตรส่งผลให้มีการนำเข้าสารเคมีกัดจัดศัตรูพืชเพื่อใช้เพิ่มคุณภาพและปริมาณผลผลิตทางการเกษตรในหลายประเทศ

ในปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าและการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับในอดีตสะท้อนให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงวิถีชีวิตของเกษตรกรจากการทำเกษตรอินทรีย์ไปเป็นการทำเกษตรแบบอุตสาหกรรมที่สามารถสร้างรายได้มากกว่า แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมีความอันตรายต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้จากการสูดดมหรือสัมผัสโดยตรง สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (acute toxicity) หรืออาการเป็นพิษแบบเรื้อรัง (chronic toxicity) ตัวอย่างเช่น สารเคมีกำจัดวัชพืช paraquat ที่มีความอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้โดยตรงเนื่องจากมีความเป็นพิษต่อผิวหนังหรือหากสูดดมเข้าไปจะทำให้เกิดพังผืดที่ปอดส่งผลให้ระบบการหายใจล้มเหลว นอกจากนี้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชสามารถปนเปื้อนและตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้หากใช้ในปริมาณมากและเป็นระยะเวลายาวนาน (สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม, 2557)

นอกจากความอันตรายของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อเกษตรกรผู้ใช้โดยตรงแล้วยังมีความอันตรายจากการตกค้างและปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่การเกษตรที่จะส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่ใช่เป้าหมายในการกำจัด ได้แก่ พืชคลุมดิน สัตว์หน้าดิน สัตว์น้ำ หรือแมลงผสมเกสร โดย ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) เป็นหนึ่งในแมลงผสมเกสรที่มีความสำคัญต่อการเกษตรเป็นอย่างมาก ดังนั้นหากมีการตกค้างและปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่การเกษตรก็จะส่งผลกระทบต่อสุขภาวะผึ้งแม้เพียงในปริมาณเล็กน้อย (Böhme et al., 2018) รวมถึงการตกค้างและปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในผลิตภัณฑ์ที่มาจากผึ้ง เช่น เกสรผึ้งที่เป็นแหล่งโปรตีนสำคัญของผึ้ง (Li et al., 2018) และมีคุณสมบัติคล้ายกับถ่านกัมมันต์ (activated carbon) (Thio et al., 2011) ซึ่งสามารถดูดซับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตามธรรมชาติได้ดี ส่งผลให้มีการศึกษาวิจัยการใช้ผึ้งเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพและการวัดปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างและปนเปื้อนจากเกสรผึ้งเพื่อกำหนดมาตรฐานของผลผลิตในพื้นที่เกษตรกรรม (Celli and Maccagnani, 2003)

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ที่จะตรวจสอบชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในเกสรผึ้ง รวมถึงชนิดของพืชอาหารที่มีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชปนเปื้อนในจังหวัดราชบุรี เนื่องจากเป็นแหล่งเพาะปลูกพืชผักสวนครัวที่ส่งขายให้กับตลาดในกรุงเทพมหานคร

และมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 50 (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2558) ดังนั้นผลการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นจุดเริ่มต้นสำหรับการพัฒนาวิธีทางเลือกในการวิเคราะห์ตรวจสอบการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชโดยใช้เกสรของผึ้งเป็นดัชนีชี้วัด

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อตรวจสอบชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้งพันธุ์และระบุชนิดพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่เกษตรกรรมของจังหวัดราชบุรี

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

2.1 การนำเข้าและการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช (pesticide) หมายถึง สารหรือส่วนผสมของสารที่มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการป้องกัน ทำลาย ดึงดูด ขับไล่ หรือควบคุมศัตรูทางธรรมชาติทั้งพืชหรือสัตว์ที่ไม่พึงประสงค์ระหว่างขั้นตอนการเพาะปลูก การเก็บรักษา ขนส่ง จำหน่าย หรือกระบวนการผลิตสินค้าเกษตรและอาหาร (สาธร ศรีมุข, 2013) ตัวอย่างสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ สารเคมีกำจัดแมลง สารเคมีกำจัดวัชพืช สารเคมีกำจัดเห็ดรา และสารเคมีกำจัดสัตว์ฟันแทะ ในช่วงปี พ.ศ. 2551–2556 ประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีกำจัดแมลงและสารเคมีกำจัดวัชพืชมากถึง 146,848,000 กิโลกรัม โดยสารเคมีกำจัดแมลงและสารเคมีกำจัดวัชพืช 5 ชนิดที่มีการนำเข้ามากที่สุด ได้แก่ 1) Atrazine 2) Paraquat 3) Carbaryl 4) Chlorpyrifos และ 5) Imidacloprid (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2554)

2.1.1) Atrazine

Atrazine เป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลาย ใช้สำหรับกำจัดวัชพืชใบกว้างและวัชพืชใบแคบ มีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงและทำให้เซลล์พืชตาย มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ โดยตรงสามารถก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อทางเดินหายใจ การระคายเคืองผิวหนัง การระคายเคืองต่อดวงตา หากรับประทานเข้าไปก็จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง และเป็นอันตรายต่อไต (อุดมพันธุ์การเกษตร, 2561)

2.1.2) Paraquat

Paraquat dichloride เป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Dipyridyl ใช้สำหรับกำจัดวัชพืชในแปลงเกษตร ร่องสวน คันนา หรือใช้กำจัดวัชพืชเพื่อเตรียมดินก่อนเพาะปลูก เป็นที่นิยมอย่างมากในหมู่เกษตรกรเนื่องจากสามารถกำจัดวัชพืชสีเขียวได้แทบทุกชนิด ออกฤทธิ์เร็วจัดได้ว่าเป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพดีมากชนิดหนึ่ง มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ขึ้นกับปริมาณที่ได้รับ ส่งผลให้เกิดอาการ คลื่นไส้ อาเจียน เป็นแผลในทางเดินอาหาร ตับวาย ไตวาย ตับอ่อนอักเสบ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ กล้ามเนื้อลายสูญสภาพ ความดันโลหิตต่ำ จนถึงเสียชีวิต และหากได้รับสารพิษเป็นเวลานานสามารถทำให้เกิดโรคเรื้อรังได้ (ดาริกา วอทอง, 2561)

2.1.3) Carbaryl

Carbaryl เป็นสารเคมีกลุ่ม คาร์บาเมต (carbamate) ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลิตผลทางการเกษตร เช่น ผัก ผลไม้ และเมล็ดพืชที่เป็นอาหาร นอกจากนี้ยังใช้กับสัตว์ปีก ปศุสัตว์และสัตว์เลี้ยง เพื่อกำจัดแมลงรบกวน หอยทากและหนอนตัวกลมบางชนิดได้ มีความเป็นพิษต่อ

ร่างกายมนุษย์ผ่านการสัมผัสโดยตรงทางผิวหนัง โดย Carbaryl จะทำให้สารสื่อประสาทแอซีทิลโคลีนลดลงส่งผลให้ระบบสื่อประสาทโคลิเนอร์จิคทำงานเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติและก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อตาเป็นอย่างมาก หากรับประทานเข้าไปก็อาจจะก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา)

2.1.4) Chlorpyrifos

Chlorpyrifos เป็นสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate compound) มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โคลีนเอสเทอเรสแบบถาวร ใช้สำหรับกำจัดตัวหนอน เพลี้ย มอด และด้วง มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์เมื่อได้รับสารเคมีผ่านการสัมผัสทางผิวหนังและการสูดดม ส่งผลให้เกิดอาการ คลื่นไส้ วิงเวียนอ่อนเพลีย กล้ามเนื้อหดตัว แน่นหน้าอก อาเจียน ปวดท้อง ตาพร่า น้ำลายออกมากกว่าปกติ ถ้าอาการรุนแรงจะมีอาการหมดสติ น้ำลายฟูมปาก หายใจลำบาก จนถึงเสียชีวิต (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา)

2.1.5) Imidacloprid

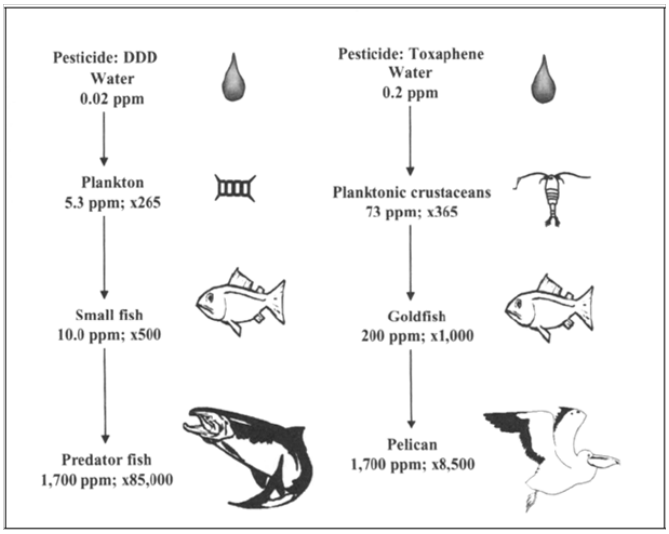
Imidacloprid เป็นสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนีโอนิโคทินอยด์ (Neonicotinoids) มีโครงสร้างสารที่คล้ายกับนิโคติน ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท ใช้สำหรับควบคุมแมลงที่มีปากแบบดูด ปลวก แมลงในดินบางชนิดและหมัดบนสัตว์เลี้ยง แต่ไม่มีความเป็นพิษต่อนกและปลา มีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ ดังนี้ ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง เวียนศีรษะ หงุดหงิด หรืออาเจียน นอกจากนี้พืชยังสามารถดูดซับ Imidacloprid ที่ตกค้างในดินผ่านทางรากและกระจายไปทั่วทั้งลำต้นของพืชส่งผลให้แมลงมีประโยชน์ในพื้นที่เกษตรกรรมกินพืชที่ได้รับสารเคมีถูกกำจัดด้วยเช่นกัน (มณฑลอานฮุยเซลลิ่งอะโกรเคมิคอล จำกัด)

ตารางที่ 1 ชื่อสารเคมีที่มีการนำเข้ามากที่สุดในประเทศไทย และชื่อทางการค้าที่มีในท้องตลาด

ชื่อสารเคมี	**ชื่อทางการค้า**
Atrazine	ไวซีน, ซุปเปอร์ไวเพล็กซ์ 80, ซุปเปอร์ไวซีน 90, เอเทร็ก 90, เอราวัณ-คอมบี, คาลารีส, ไดพิม 90, อะทราซีน 50 เอสซี, นิโกะพลัส อาทราซีน 80 : ตรา AGSIN ,หมาแดง
Paraquat	กรัมม็อกโซน, ลิงค์น๊อกโซน, วอร์โซน, โพลีโซน, พาราควอต, พีวายโซน
Carbaryl	คาร์บาริล 85, เซฟวิน 85, คาร์บาริล 85% ดับบลิวพี, เอส-85, เซฟทริน 85
Chlorpyrifos	คลอไพริฟอส, บูซาท็อก 5 จี, ซูโนครอส 40
Imidacloprid	อิมิดาโคลพริด, ดาแลบ, อาร์ตี้ 70, ไซมิดา โกลด์, เซอร์มิดา, ดักโกรฟ, โปรวาโด, นิโคน่า

2.2 การตกค้างและปนเปื้อนของสารเคมีในธรรมชาติ

ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชอย่างแพร่หลายเพื่อใช้สำหรับเพิ่มปริมาณและควบคุมคุณภาพของผลผลิตให้ได้ตรงตามความต้องการของตลาดโดยไม่คำนึงถึงผลลัพธ์จากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเกินขนาดก่อให้เกิดการตกค้างและปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในดินและแหล่งน้ำตามธรรมชาติเป็นจำนวนมาก โดยการศึกษาในอดีตพบว่าสารเคมีกำจัดวัชพืชสามารถกำจัดศัตรูพืชได้น้อยกว่าร้อยละ 1 และอีกร้อยละ 99 นั้นกระจายปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม (Pimentel, 1995) เมื่อพิจารณาถึงผลกระทบของการตกค้างและปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดวัชพืชต่อระบบนิเวศจะพบว่าก่อให้เกิดอันตรายกับสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายในการกำจัด เช่น พืชคลุมดิน สัตว์หน้าดิน สัตว์น้ำ หรือแมลงผสมเกสร อีกทั้งความเข้มข้นของสารเคมีกำจัดวัชพืชที่ตกค้างและปนเปื้อนจะถูกสะสมเพิ่มขึ้นตามระดับของห่วงโซ่อาหาร (ภาพที่ 1) นอกจากนี้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชบางชนิด เช่น DDT, glyphosate และ paraquat มีอัตราการสลายตัวที่ยาวนานส่งผลให้พื้นที่ดังกล่าวเสื่อมโทรมและไม่สามารถฟื้นฟูได้อีกต่อไป (Deer Howard, 1999)



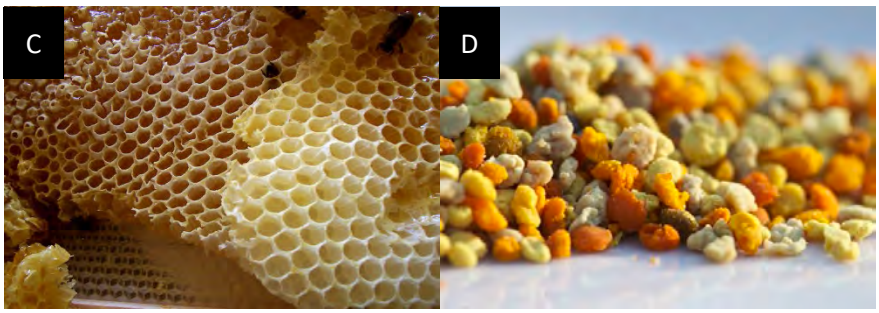
ภาพที่ 1 ตัวอย่างสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างไปยังสิ่งแวดล้อม และส่งผลต่อห่วงโห่อาหารของสัตว์ (จาก https://biothai.net/node/8688)

2.3 ความสำคัญของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ที่มีต่ออุตสาหกรรมการเกษตร

ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) เป็นผึ้งให้น้ำหวานที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปยุโรป แอฟริกา และเอเชียตะวันออกกลาง จัดเป็นแมลงที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อสิ่งแวดล้อมและการทำเกษตรกรรมของมนุษย์มาอย่างยาวนานเนื่องจากความสามารถในการผสมเกสรที่สูง มีพฤติกรรมการหาอาหารแบบ generalist ซึ่งสามารถหาอาหารได้หลากหลายชนิด สามารถหาอาหารได้ภายในรัศมีรอบรัง 3 – 12 กิโลเมตร (British Columbia, 2015) และสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี (Delaplane and Mayer, 2000; Michener, 2007) ด้วยเหตุนี้มนุษย์จึงมีการศึกษาชีววิทยาของผึ้งพันธุ์และสามารถสร้างรังที่มีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ได้สำเร็จเป็นครั้งแรกโดยบาทหลวงชาวอเมริกานามว่า Lorenzo Lorraine Langstroth ในปี ค.ศ. 1852 และหลังจากมนุษย์สามารถนำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงในพื้นที่เกษตรกรรมได้สำเร็จก็มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงผึ้งพร้อมกับปรับปรุงพันธุ์ผึ้งพันธุ์ให้เหมาะสมต่อการทำเกษตรกรรมในระดับอุตสาหกรรม

ในอดีตมีการประเมินถึงมูลค่าทางเศรษฐกิจของผลผลิตทางการเกษตรจากการผสมเกสรของผึ้งพันธุ์ในหลายประเทศ เช่น ประเทศแคนนาดาสามารถสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นมูลค่า 433 ล้านดอลลาร์แคนนาดา ในปี ค.ศ. 1995 จากผลผลิตทางการเกษตรที่มีผึ้งพันธุ์เป็นแมลงผสมเกสรโดยมีผลผลิตหลักเป็น บูลเบอรี่และแอปเปิ้ล หรือทวีปยุโรปสามารถสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นมูลค่า 137.8 ล้านยูโร ในปี ค.ศ. 1998 จากผลผลิตทางการเกษตรที่มีผึ้งพันธุ์เป็นแมลงผสมเกสรโดยมีผลผลิตหลักเป็น เมล็ดของต้น rapeseed และถั่วปากอ้า (Delaplane and Mayer, 2000; Scott-Dupree et al., 1995) เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์จากผึ้งหลายชนิดที่เป็นผลพลอยได้จากการเลี้ยงผึ้ง ได้แก่ 1) น้ำผึ้งที่สามารถนำมาบริโภคแทนน้ำตาลและใช้สำหรับทาแผลในอดีต 2) ขันผึ้ง ที่สามารถนำมาใช้ทาแผลทำความสะอาดได้เนื่องจากมีคุณสมบัติ antioxidant หรือผสมในเครื่องสำอางเพื่อเพิ่มมูลค่าของสินค้า 3) ไขผึ้ง ที่สามารถหล่อขึ้นรูปเป็นเทียนไขและเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว และ 4) เกสรผึ้ง ที่สามารถนำมาเป็นบริโภคเป็นอาหารเสริมของมนุษย์ เป็นต้น (ภาพที่ 2) (Michener, 2007)



ภาพที่ 2 ผลิตภัณฑ์จากผึ้ง : น้ำผึ้ง (A), ชันผึ้ง (B), ไขผึ้ง (C) และ เกสรผึ้ง (D) (จาก https://www.foodanddrinking.co.th/content/10050/honey-น้ำผึ้ง- , https://ieltsnc.wordpress.com/โปรพอลิส/ , https://www.facebook.com/352975365114419/photos/a.352975365114419/352975345114421/?type=3&theater และ https://quillentries.wordpress.com/2014/05/09/bee-pollen-my-battle-with-allergies/)

2.4 การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ผึ้งเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ

จากการศึกษาใน ปี ค.ศ. 1962 ได้มีการใช้ผึ้งมาตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โลหะหนัก และสารกำมันตรังสีในสิ่งแวดล้อม โดยผึ้งเป็นตัวตรวจจับมลภาวะในสิ่งแวดล้อมโดย 1) อัตราการตายที่สูง เมื่อได้รับสารพิษโดยตรงหรือการตกค้างในผลิตภัณฑ์จากผึ้ง ได้แก่ น้ำผึ้ง และเกสรผึ้ง 2) ตัวอ่อนในรังที่ออกมาก่อนเวลา เป็นผลมาจากมีการปนเปื้อนของโลหะหนักสารฆ่าเชื้อราและสารกำจัดวัชพืชที่ไม่เป็นอันตราย (Celli and Maccagnani, 2003)

นอกจากนี้ในอดีตยังพบการศึกษาการใช้เกสรผึ้งเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพเนื่องจากเกสรผึ้งมีคุณสมบัติในการใช้เป็นตัวดูดซับที่มีคุณสมบัติคล้ายถ่านกัมมันต์ (Activated carbon) ซึ่งสามารถดูดซับสารอินทรีย์ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic organic compounds: HOCs) เช่น สารเคมีกำจัดแมลง และสารเคมีที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้ โดยสามารถอธิบายความสามารถในการดูดซับสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกสรผึ้งได้ว่าน่าจะเกิดจากแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interaction) ที่เกิดขึ้นระหว่างสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและบริเวณที่ไม่มีขั้วของเกสรผึ้ง (Thio et al., 2011) จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเกสรผึ้งเป็นตัวอย่างที่ดีในการศึกษาการปนเปื้อนของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่ตกค้างในพื้นดิน แหล่งน้ำ อากาศในบริเวณที่มีการใช้สารเคมีจากพืชและชีววัตถุ (กรมการควบคุมมลพิษ, 2541)

2.5 เกณฑ์ชี้วัดคุณภาพของสิ่งแวดล้อมเมื่อใช้ผึ้งเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ

การศึกษาก่อนหน้าของ Böhme และคณะ (2018) ศึกษาการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช โดยใช้เกสรผึ้งเช่นเดียวกัน ในพื้นที่การเกษตรที่ต่างกันในประเทศเยอรมัน โดยแบ่งเป็นทุ่งหญ้า ทุ่งธัญพืช และสวนผลไม้ ซึ่งสามารถตรวจพบการปนเปื้อนสารเคมีมากที่สุดในเดือนเมษายนและพฤษภาคม พบการปนเปื้อนน้อยที่สุดในช่วงเดือนมิถุนายนและกรกฎาคมในเกสรผึ้งจากทุ่งหญ้าและทุ่งธัญพืช แต่ในขณะที่เกสรผึ้งจากสวนผลไม้กลับพบการปนเปื้อนของสารเคมีมากในทุกเดือน และพบสารเคมีกำจัดวัชพืชหลายชนิดที่ปนเปื้อนอยู่ในเกสรผึ้งจากสวนผลไม้นั้นที่เกินมาตรฐานปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ (MRLs) ของผลิตภัณฑ์จากการเลี้ยงผึ้ง

Maximum Residue Levels: MRLs เป็นค่ามาตรฐานข้อกำหนดการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชซึ่งเป็นค่าตัวเลขที่บ่งบอกถึงระดับปริมาณสารพิษซึ่งเป็นอันตรายทางเคมี (chemical hazard) เช่น สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างสูงสุดในอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ โดยข้อกำหนดการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในอาหารรวมถึงผลิตภัณฑ์จากผึ้งมีปริมาณข้อกำหนดที่แตกต่างกันตามชนิดของสารเคมี ซึ่งค่า MRLs ของสารเคมีที่สนใจศึกษาในการศึกษานี้ 5 ชนิด ได้แก่ Chlorpyrifos, Imidacloprid, Carbaryl และ Atrazine โดยมีค่า MRLs ไม่เกิน 0.05mg/kg. (50 ppb) ส่วน paraquat ยังไม่มีกำหนดปริมาณ MRLs (European Commission, 2018)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 พื้นที่เก็บตัวอย่าง

ศึกษาที่พสุธาราฟาร์ม & วิลเลจ ตั้งอยู่ที่ตำบล ตะนาวศรี อำเภอ สวนผึ้ง จ.ราชบุรี เป็นพื้นที่ทำการเกษตรสวนเลมอน โรสแมรี่ และผักสวนครัวที่เป็นออแกนิค ที่ล้อมรอบด้วยพื้นที่ทำการเกษตรอื่น ๆ ที่คาดว่าจะมีการใช้สารเคมี โดยทำการศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 – มีนาคม พ.ศ. 2563

ภาพที่ 3 ภาพถ่ายดาวเทียมโดย ส่วนสีม่วง: พสุธาราฟาร์ม, ส่วนอื่น ๆ: พื้นที่การเกษตรที่คาดว่ามีการใช้สารเคมี (A) และ สภาพพื้นที่ฟาร์ม (B)
(จาก https://www.thaiemarket.com/th/news/detail/61/พสุธารา% 20%27Purifying%20Life'%20ตอบโจทย์ไลฟ์สไตล์เฮลท์ตี้)

3.2 การเก็บตัวอย่าง

โดยผู้ศึกษาจะทำการติดอุปกรณ์ดักเกสร (pollen trap) ไว้หน้ารังผึ้งพันธุ์จำนวน 3 รัง ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ เดือน เป็นเวลา 6 เดือน ได้แก่ เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2562 – มีนาคม พ.ศ. 2563 ซึ่งจะทำการเก็บเกสรผึ้งเดือนละ 1 ครั้ง โดยที่เกสรผึ้งจากแต่ละรังจะแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไประบุชนิดพืชอาหารจากเกสรผึ้ง ประมาณ 1 กรัม อีกส่วนนำไปวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ประมาณ 5 กรัม เก็บไว้ใน centrifuge tube ขนาด 30 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 3 หลอด แล้วเก็บในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ยังได้ทำการสำรวจและเก็บพืชที่คาดว่าจะเป็นแหล่งอาหารของผึ้งพันธุ์ในทุก ๆ เดือน เพื่อนำมาทำพืชเกสรอ้างอิง (pollen reference) ในการระบุชนิดพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง

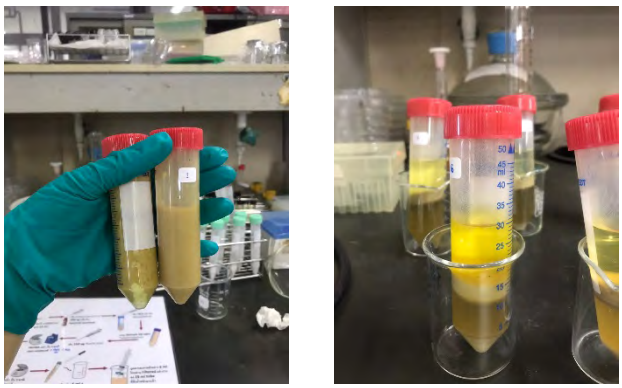
ภาพที่ 4 รังผึ้งที่ทำการเลี้ยง 3 รัง พร้อมกับดักเกสร

3.3 การตรวจสอบชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้ง

3.3.1 การสกัดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้ง ด้วยวิธี QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe) (Oliveira et al., 2016)

Extraction

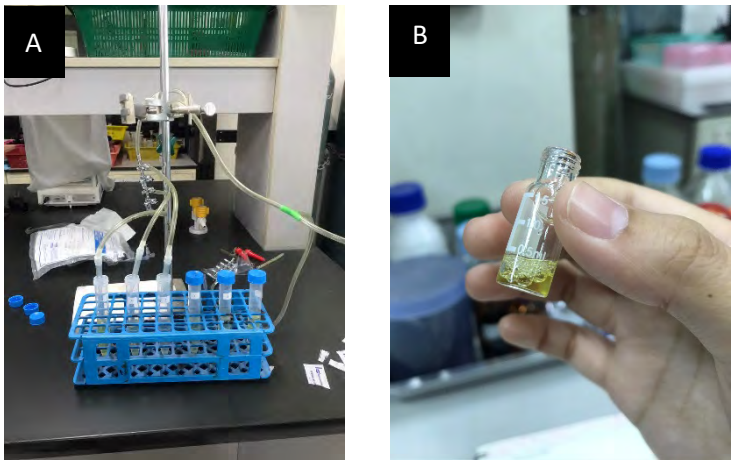
นำเกสรประมาณ 5 กรัม ที่เก็บใน centrifuge tube ขนาด 30 มิลลิลิตร เติมน้ำ (Milli Q) จนได้ปริมาตร 15 มิลลิลิตร แล้วเติม imidacloprid D-4 250 นาโนกรัม เพื่อเป็น internal standard แล้วเติม acetonitrile (ACN) 15 มิลลิลิตร นำไป vortex ให้เข้ากัน แล้วเทลงในหลอด Extract kit ที่ประกอบด้วย anhydrous magnesium sulfate 4 กรัม, sodium chloride 1 กรัม, sodium citrate 1 กรัม และ sodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม นำไป vortex ให้เข้ากัน เติม Acetic acid 150 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifugation) ที่ความเร่ง 1500 g เป็นเวลา 1 นาที



ภาพที่ 5 ตัวอย่างเกสรผึ้งใน Extraction kit แล้วทำการปั่นเหวี่ยง จะเกิดการแยกชั้นขึ้น

Clean up

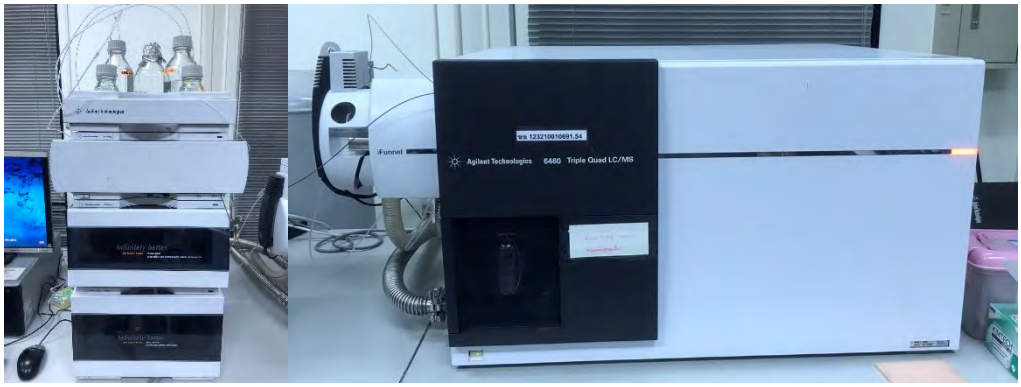
ถ่ายส่วนของเหลวด้านบนจากขั้นตอน extraction 10 มิลลิลิตร ลงใน Clean up kit ที่ประกอบด้วย Primary-secondary amine sorbent (PSA sorbent) 0.5 กรัม, anhydrous magnesium sulfate 0.5 กรัม และ C-18 silica 0.5 กรัม ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร่ง 1500 g เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นทำการดูดสารละลายด้านบน 6 มิลลิลิตร ลงกระบอกฉีดยาที่มีตัวกรอง (PTFE ขนาด 13 มิลลิเมตร,0.2 ไมครอน) ถ่ายลงหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วระเหยด้วยไนโตรเจน (N-purge) จนหมด แล้วละลายกลับด้วย MeOH: H_2O 0.5 มิลลิลิตร แล้วถ่ายตัวอย่างที่สกัดได้ลงขวดแก้ว แล้วเก็บรักษาในตู้แช่เย็น -20 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 6 การระเหยด้วยไนโตรเจน (A), ตัวอย่างสกัดจากเกสรผึ้งในขวดแก้ว (B)

3.3.2 การวิเคราะห์ชนิดสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ด้วย Liquid chromatography และ Mass spectrometry (LC/MS)

นำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการสกัดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรด้วยวิธี QuEChERs แล้วนำมาเข้าเครื่อง LC/MS เพื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช



ภาพที่ 7 เครื่อง LC/MS (6460 Triple Quadrupole LC/MS)

ตารางที่ 2 การตั้งค่าระบบ LC/MS

Instrument	6460 Triple Quadrupole LC/MS		
Column	ZORBAX Eclipse XDB-C18 2.1X150mm. 3.5 µm.		
Mobile phase	A: 0.1% Formic acid in H2O		
	B: 0.1% Formic acid in MeOH		
Gradient	**เวลา (นาที)**	**A (%)**	**B (%)**
	0.00	90.0	10.0
	3.00	90.0	10.0
	10.00	0	100.0
	14.50	0	100.0
	14.60	90.0	10.0
	18.00	90.0	10.0
Flow rate	0.3 mL/min		
Injection volume	5.0 µl		

3.4 ระบุชนิดพืชอาหารของผึ้งพันธุ์

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเกสรผึ้งและเกสรจากพืชที่คาดว่าเป็นแหล่งอาหารของผึ้งพันธุ์ ด้วยวิธี Acetolysis (Moar, 1985)

ทำการเตรียม acetic mixture (9:1) ในกระบอกตวง โดยการเติม acetic anhydride ใน 9 ส่วน ลงในกระบอกตวงก่อน แล้วค่อย ๆ เติม sulfuric acid 1 ส่วน ลงไปทีละหยดจนมีอุณหภูมิสูงขึ้น

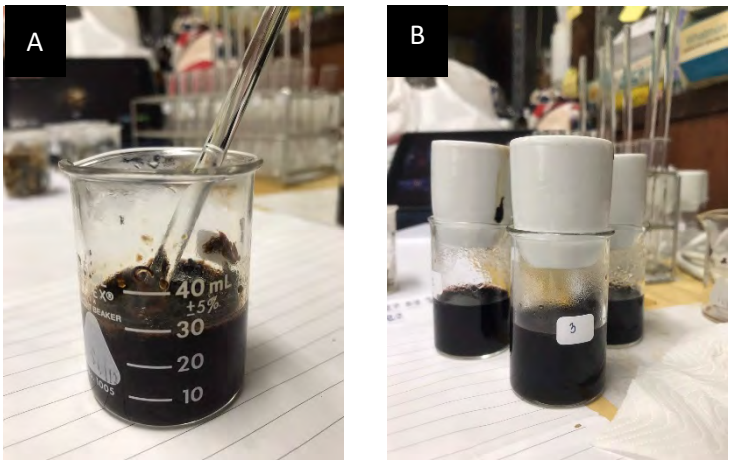
นำตัวอย่างเกสรผึ้งหรือเกสรจากพืชใส่ในบีกเกอร์ เติม 10% potassium hydroxide (KOH) ให้ท่วม ทำการคนหรือบดด้วยแท่งแก้ว แล้วตั้งบีกเกอร์บนเตาให้พอเดือด สำหรับเกสรจากพืชจะทำการกรอง โดยการเทส่วนผสมจากบีกเกอร์ลงกรวยกรองที่รองด้วยอีกบีกเกอร์หนึ่ง เพื่อกรองเศษชิ้นส่วนของพืช แล้วเทส่วนที่กรองแล้วลงในหลอดทดลองและสำหรับเกสรผึ้งไม่ต้องผ่านการกรอง สามารถเทใส่หลอดทดลองได้เลย แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วด้วย 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูด KOH ทิ้ง ล้าง KOH ออกจากตัวอย่างโดยการเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดแล้วทำการ vortex และปั่นเหวี่ยงด้วย 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดน้ำกลั่นออกทำซ้ำจนครบจำนวน 3 ครั้ง

หลังจากนั้นทำการปรับให้ตัวอย่างมีความเป็นกรดอ่อนโดยเต็ม acetic acid 2 มิลลิลิตร vortex แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นดูด acetic acid ทิ้ง

เติม acetolysis mixture ที่ได้เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตร นำไปอังในอ่างน้ำร้อน เป็นเวลา 1 นาที หรือตามความเหมาะสมของเกสร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูด acetic mixture ทิ้ง ปรับให้เป็นกรดอ่อนด้วย acetic acid อีกครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง แล้วทำการล้าง acetic acid ออกจากตัวอย่างโดยการเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอด นำไป vortex และปั่นเหวี่ยงด้วย 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดน้ำกลั่นออก ทำซ้ำจนครบจำนวน 3 ครั้ง

จากนั้นทำการดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วย 70%, 95% และ 100% ethanol ตามลำดับ แต่ละความเข้มข้นของ ethanol จะทำการ vortex และปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที และดูด ethanol ออกด้วยในแต่ละความเข้มข้น

ทำการดูดตัวอย่างใน 100% ethanol ครึ่งหนึ่งมาแบ่งเก็บใส่ขวดเพื่อนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แล้วอีกส่วนที่เหลือนำไปปั่นเหวี่ยงด้วย 3600 rpm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูด 100% ethanol ออกมากที่สุด ทำการระเหย ethanol ออกไปจนหมด เติม benzene 1 มิลลิลิตร แล้วถ่ายตัวอย่างเกสรใน benzene ลงในขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่าง เติม silicone oil ลงไป นำตัวอย่างเกสรไปตั้งไว้ใน fume hood รอจน benzene ระเหยออกจนหมด โดยใช้เวลาประมาณ 2–3 วัน แล้วจึงปิดฝา แล้วนำไปเตรียมสไลด์ต่อไป



ภาพที่ 8 ดอกไม้ที่บดและต้มด้วย KOH (A) แล้วกรอง (B)

3.4.2 การทำเกสรพืชอ้างอิง (Pollen reference)

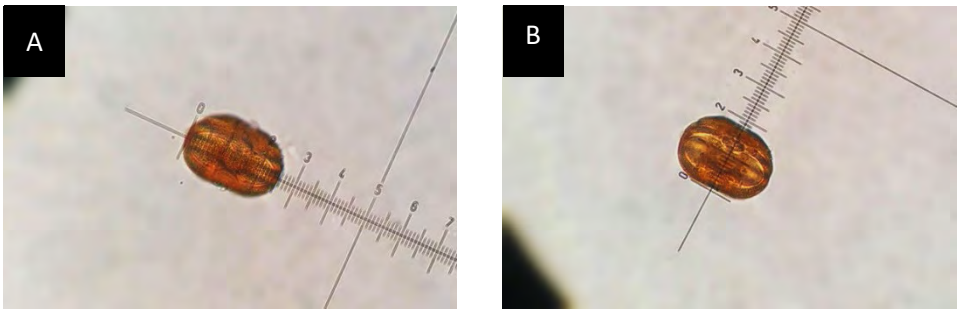
การเตรียมตัวอย่างเกสรจากพืชได้มาจากการสำรวจและเก็บในพื้นที่พสุธาราฟาร์ม & วิลเลจ และบริเวณใกล้เคียง ด้วยวิธี Acetolysis โดยตัวอย่างเกสรจะถูกเก็บไว้ในทั้ง 100% ethanol และ silicone oil

<u>ตัวอย่างที่เก็บไว้ใน Silicone oil</u>

นำตัวอย่างที่เก็บไว้ใน silicone oil มาทำสไลด์ โดยดูดตัวอย่างมาหยดบนสไลด์ประมาณ 1–2 หยด หรือให้พอดีกับกระจกปิดสไลด์ แล้วทาน้ำยาเคลือบเล็บรอบ ๆ ขอบของกระจกปิดสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง หลังจากนั้นนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM : Light microscope) รุ่น Carl Zeiss Primo Star ที่มี ocular micrometer เพื่อทำการวัดขนาดของเกสร ซึ่งทำการวัด 2 ด้าน คือ ด้าน longitudinal (p) และ equatorial (e) ทั้งหมด 30 เมล็ด ทำการหาค่าเฉลี่ยของด้าน p และ e และคำนวณหาปริมาตร (v)

p เท่ากับ e เกสรรูปทรงกลม (sphere) คำนวณได้จาก $\frac{1}{6}\P p^3$ ($\times 10^{-7}$ cm^3)

p ไม่เท่ากับ e เกสรรูปทรงรี (elliptic) คำนวณได้จาก $\frac{1}{6}\P \mathrm{e}^2\mathrm{p}$ ($\times 10^{-7}$ cm^3)



ภาพที่ 9 ตัวอย่างการวัดเกสร ของ พืชวงศ์ Acanthaceae สกุล *Asystasia* ในด้าน longitudinal (A) และด้าน equatorial (B)

และบันทึกภาพเกสรพืชจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง รุ่น Zeiss Axio Scope A1 ด้วยกล้องดิจิตอล รุ่น Cannon EOS 7D

<u>ตัวอย่างที่เก็บไว้ใน 100% ethanol</u>

นำเกสรพืชที่เก็บไว้ใน 100% ethanol มาหยดลงบนแผ่นสไลด์ แล้วระเหย ethanol ออกให้หมด จนเกสรพืชแห้งติดกับแผ่นสไลด์ แล้วส่งตัวอย่างไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM : Scanning Electron Microscope) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (STREC : Scientific and Technological Research Equipment Centre)

แต่เนื่องจากสถานการณ์ Covid–19 จึงไม่สามารถถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.3 การวิเคราะห์พืชอาหาร

การวิเคราะห์พืชอาหารจะนำตัวอย่างจาก silicone oil มาหยดบนสไลด์ ประมาณ 1–2 หยด หรือให้พอดีกับกระจกปิดสไลด์ ขนาด 40×22 มิลลิเมตร เป็นจำนวน 3 สไลด์ ต่อ 1 ตัวอย่าง หลังจากนั้นทำการถ่ายภาพเกสรพืชจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง รุ่น Zeiss Axio Scope A1 ด้วยกล้องดิจิตอล รุ่น Cannon EOS 7D แล้วทำจำแนกชนิดเกสรและการนับจำนวนโดยใช้โปรแกรม ImageJ ซึ่งจะนับทั้งหมด 300 เมล็ดต่อ 1 สไลด์ รวมทั้งสิ้น 900 เมล็ดต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วทำการวิเคราะห์พืชอาหารโดยคำนวณหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของเกสรกับจำนวนเกสรของชนิดนั้น (Hongjamrassilp and Warrit, 2014)

คำนวณ

ร้อยละของจำนวนเกสร (Percentage of pollen grains) = $\frac{\text{จำนวนเกสรชนิดนั้นเกสรที่นับได้}}{\text{จำนวนเกสรทั้งหมด}} \times 100$

ปริมาตรโดยรวมของเกสรของพืชชนิดนั้น (Total pollen volume by taxon) = $\frac{\text{ปริมาตรเกสรชนิดนั้น} \times \text{จำนวนเกสรชนิดนั้น}}{100}$

ร้อยละของปริมาตรของเกสรชนิดนั้น (Percentage of total pollen volume) = $\frac{\text{ปริมาตรโดยรวมของเกสรของพืชชนิดนั้น}}{\text{ปริมาตรทั้งหมดของเกสร}} \times 100$

แล้วแบ่งกลุ่มเกสรดังนี้ (Louvrux et al., 1978)

i. พบเกสร จำนวนมากกว่าร้อยละ 45 จะถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Predominant pollen ; pp
ii. พบเกสร จำนวนร้อยละ 16–45 จะถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Secondary pollen ; sp
iii. พบเกสร จำนวนร้อยละ 3–15 จะถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Important minor pollen ; imp
iv. พบเกสร จำนวนน้อยกว่าร้อยละ 3 จะถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Minor pollen ; mp

นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสังคม (Community analysis) ซึ่งจะเป็นการจำแนกประชากรที่เกี่ยวข้องและระดับการอยู่ร่วมกัน ได้แก่ ความหลากหลายทางชีวภาพของพืชจากเกสรผึ้ง พืชมีความหลากหลายที่คงที่ถ้าไม่ถูกทำลาย และพืชไม่สามารถเคลื่อนที่โยกย้ายด้วยตนเอง ความหลายหลายชนิดประกอบด้วย 2 ส่วนที่ต้องพิจารณา คือ จำนวนชนิดหรือความร่ำรวยของชนิด (species richness) ใช้ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดกับจำนวนตัวทั้งหมดที่ทำการสำรวจ และความสม่ำเสมอของชนิด (species evenness) เป็นความมากมาย (abundance) ของจำนวนตัวในแต่ละชนิด ที่จะบ่งบอกถึงความสม่ำเสมอของแต่ละชนิดว่ามีการกระจายเข้าครอบครองพื้นที่ในสังคมได้เท่าเทียมกันหรือไม่ และค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของชนิดของเกสรที่พบในแต่ละเดือน (ดอกรัก มารอด, 2554)

<u>คำนวณ</u>

Shannon-Wiener Index (H') = $-\sum_{i=1}^{s} pi \ln pi$

H' คือ ค่าดัชนีความหลากหลายทางชนิด

S คือ จำนวนชนิดของเกสร

Pi คือ สัดส่วนของจำนวนหอยของชนิดที่ i ต่อจำนวนตัวอย่างทั้งหมดทุกชนิดที่พบในสถานีนั้น

คำนวณจาก $pi = \frac{ni}{N}$

ni คือ จำนวนเกสรชนิดที่

N คือ ผลรวมของจำนวนเมล็ดทั้งหมดของเกสรทุกชนิดที่พบในเดือนนั้น

Richness index (d) = $\frac{S-1}{\log N}$

d คือ ค่าดัชนีความมากชนิด

S คือ จำนวนชนิดทั้งหมดที่พบ

N คือ จำนวนตัวทั้งหมดที่พบ

evenness index (J) = $\frac{H'}{\ln s}$

H' คือ ดัชนีความหลากหลาย

J คือ ค่าดัชนีความสม่ำเสมอ

S คือ จำนวนชนิดที่พบในสถานีนั้น

Sorensen's Similarity Coefficient (Ss) = $\frac{2a}{2a+b+c}$

Ss คือ สัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของ Sorensen (Sorensen's Similarity Coefficient)

a คือ จำนวนชนิดเกสรที่พบในเดือน A และ B

b คือ จำนวนชนิดเกสรทั้งหมดในเดือน B แต่ไม่พบในเดือน A

c คือ จำนวนชนิดเกสรทั้งหมดในเดือน A แต่ไม่พบในเดือน B

บทที่ 4
ผลการศึกษา

ผลการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 หัวข้อหลัก ดังนี้

4.1 ชนิดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในเกสรของผึ้งพันธุ์

ในการวิเคราะห์สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้งที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี QuEChERS แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC/MS โดยมีสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่เป็นเป้าหมาย 5 ชนิด ได้แก่ Atrazine และ Paraquat ที่เป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชและ Carbaryl, Chlorpyrifos และ Imidacloprid ที่เป็นสารเคมีกำจัดแมลง

การรายงานการพบสารเคมีจะต้องเทียบความเข้มข้นที่พบกับค่า LoD (Limit of Detection) เป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถบอกได้ว่าพบสารนี้จริง ด้วยความเชื่อมั่น 95% (Palang Chotshiri, 2016) โดยการรายงานว่าพบ Chlorpyrifos, Imidacloprid และ Atrazine มีค่าความเข้มข้นที่พบสูงกว่าค่า LoD ที่ 1 ppb ส่วน Carbaryl และ Paraquat มีค่าความเข้มข้นที่พบสูงกว่าค่า LoD ที่ 10 ppb

ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นของตัวอย่างเกสรผึ้งที่สวนมะพร้าว ซึ่งตั้งอยู่ที่ อ.อัมพวา จ. สมุทรสงคราม ในระหว่างเดือนสิงหาคม – พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 โดยการนำตัวอย่างเกสรผึ้งจากรังผึ้งที่ใช้ในการทดลองหมายเลข 7 (AM7) และ 8 (AM8) ในพื้นที่ดังกล่าวมาผ่านวิธีการสกัดสารเคมีด้วยวิธี QuEChERS และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC/MS ซึ่งเป็นวิธีเดียวกับที่จะใช้กับตัวอย่างในการศึกษานี้ โดยพบ Paraquat และ Carbaryl ซึ่งมีค่าความเข้มข้นสูงกว่าค่า LoD (≥10 ppb) ในทุกเดือนของรังหมายเลข 7 และ 8 และยังพบ Imidacloprid ในเดือนกันยายน จากตัวอย่างของรังหมายเลข 7 ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าค่า LoD (≥1 ppb) และไม่พบ Atrazine และ Chlorpyrifos จากตัวอย่างเกสรทั้งหมดจากรังหมายเลข 7 และ 8 ในช่วงเวลาดังกล่าว (ตารางที่ 3)

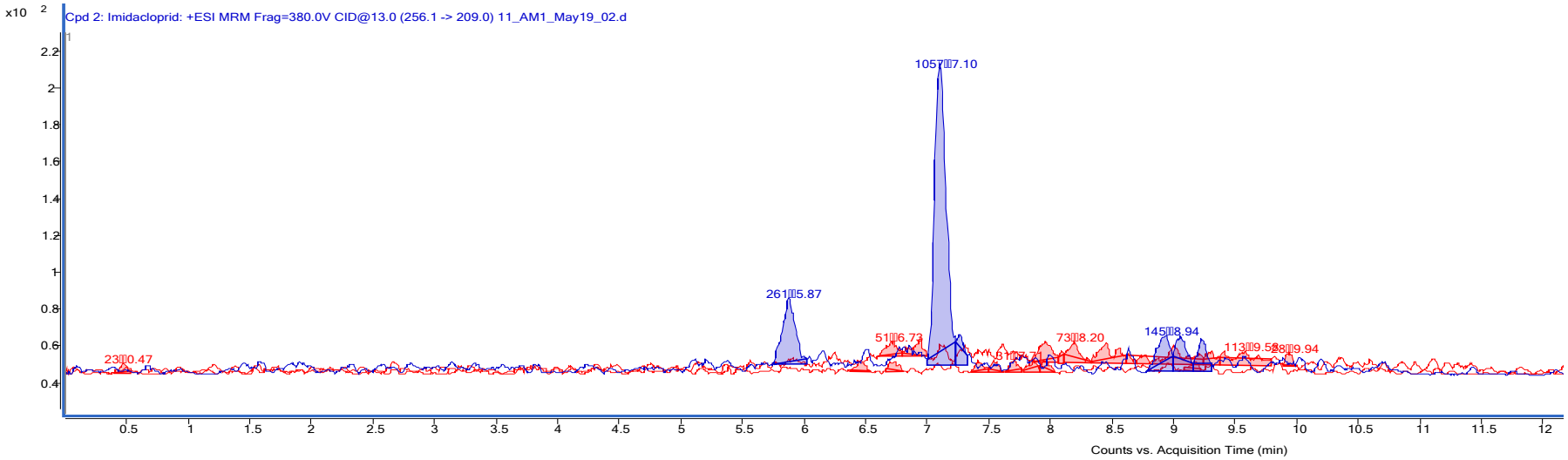
ตารางที่ 3 สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในการศึกษาเบื้องต้นของตัวอย่างเกสรผึ้งที่สวนผลไม้ที่อัมพวา และความเข้มข้นของสารเคมี (ppb)

ชื่อสารเคมี	ส.ค. 62		ก.ย. 62		ต.ค. 62		พ.ย. 62	
	AM7	AM8	AM7	AM8	AM7	AM8	AM7	AM8
Atrazine	-	-	-	-	-	-	-	-
Paraquat	41.24	25.45	17.41	16.04	28.51	18.45	17.64	16.66
Carbaryl	104.65	143.24	126.22	62.84	66.62	36.92	148.16	166.32
Chlorpyrifos	-	-	-	-	-	-	-	-
Imidacloprid	-	-	1.54	-	-	-	< Lod	-

จากผลการศึกษาเบื้องต้นของตัวอย่างเกสรผึ้งที่สวนมะพร้าวที่ตั้งอยู่ใน อ.อัมพวา จ. สมุทรสงคราม ผ่านวิธีการสกัดสารเคมีด้วยวิธี QuEChERS และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC/MS แสดงให้เห็นว่าวิธีที่เลือกมาใช้กับตัวอย่างในการศึกษานี้สามารถตรวจพบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ จึงได้นำมาใช้กับตัวอย่างเกสรผึ้งในการศึกษานี้ โดยเป็นการทดลองเบื้องต้นกับตัวอย่างเกสรจากรังผึ้งหมายเลข 1 (AM1) ในเดือนพฤษภาคม รังหมายเลข 2 (AM2) ในเดือนพฤศจิกายน และรังผึ้งหมายเลข 3 (AM3) ในเดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2562 โดยพบ Atrazine, Paraquat, Chlorpyrifos, และ Imidacloprid แต่เนื่องจากความเข้มข้นของ Atrazine และ Chlorpyrifos ที่พบในเกสรผึ้งต่ำกว่าค่า LoD (<1 ppb) จึงไม่สามารถรายงานได้ว่าพบมีการพบสารเคมี 2 ชนิดนี้ในเกสรผึ้ง ดังนั้นสารเคมีที่พบเบื้องต้นจึงเหลือเพียง Imidacloprid ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าค่า LoD (≥1 ppb) จากตัวอย่างเกสรผึ้งของ AM1 และ Paraquat ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าค่า LoD (≥10 ppb) จากตัวอย่างเกสรผึ้งของ AM1, AM2 และ AM3

ตารางที่ 4 สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่พบในการศึกษาเบื้องต้นของตัวอย่างเกสรผึ้งที่พสุธาราฟาร์ม & วิลเลจ และความเข้มข้นของสารเคมี (ppb)

ชื่อสารเคมี	AM1	AM2	AM3
	พ.ค. 62	พ.ย. 62	ต.ค. 62
Atrazine	< Lod	-	< Lod
Paraquat	19.75	15.63	14.97
Carbaryl	-	-	-
Chlorpyrifos	< Lod	< Lod	< Lod
Imidacloprid	5.18	-	-



ภาพที่ 10 โครมาโทแกรม ของ Imidacloprid ที่พบในตัวอย่างเกสรผึ้ง เดือน พฤษภาคม รังที่ 1 (จุด peak นาที 7.1)

4.2 แหล่งพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ที่พสุธารา

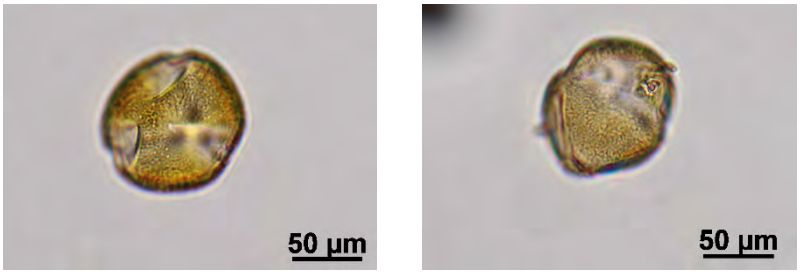
การศึกษาแหล่งพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง ของรังเลี้ยงผึ้งพันธุ์จำนวน 3 รัง ที่พสุธารา ฟาร์ม & วิลเลจ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 – มีนาคม พ.ศ. 2563 มีตัวอย่างทั้งหมด 16 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างทั้งหมดผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี Acetolysis แล้วทำการจำแนกและนับจำนวน โดยเทียบกับภาพเกสรจาก Plant reference ที่จัดทำขึ้น จากการนับจำนวนและจำแนกตัวอย่างเกสรทั้งหมด 14,400 เมล็ด พบพืชที่คาดว่าเป็นพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ 40 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยพืช 21 วงศ์ 33 สกุล และพืชที่ไม่สามารถระบุวงศ์และสกุลได้ (unknown) 6 ชนิด หลังจากที่นับจำนวนแล้วจะทำการระบุประเภทพืชอาหาร โดยการคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสรพืชในแต่ละเดือน และเกสรทั้งหมด รวมทั้งข้อมูลดัชนีบ่งชี้สภาพนิเวศของเกสรในพื้นที่

4.2.1 พืชอาหารของผึ้งพันธุ์ในแต่ละเดือน

พืชอาหารที่พบในเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2562 (ตารางที่ 5) หลังจากที่ได้ทำการนับและจำแนกชนิดของพืชแล้วคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) พบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* คิดเป็นร้อยละ 77.50 2) (sp) ไม่พบในเดือนนี้ 3) (imp) พบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Bauhinia* และ *Pithecellobium* คิดเป็นร้อยละ 5.70 และ 4.82 ตามลำดับ และ 4) (mp) พบร้อยละ 11.98

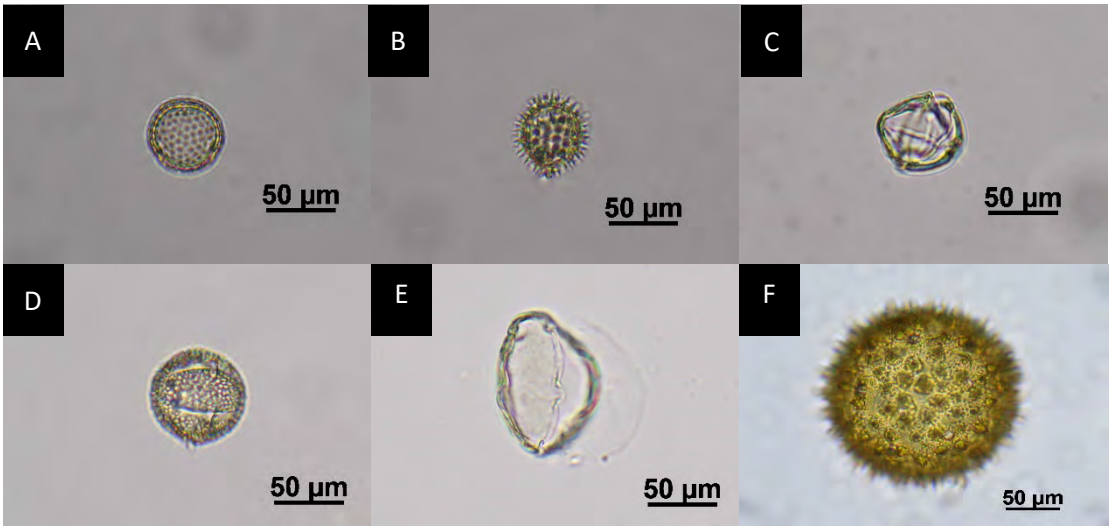
ภาพที่ 11 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Fabaceae : *Leucaena* (A), Imp ได้แก่ Fabaceae : *Bauhinia* และ *Pithecellobium* (B,C)

เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 (ตารางที่ 6) หลังจากที่ได้ทำการนับและจำแนกชนิดของพืชแล้วคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) พบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* คิดเป็นร้อยละ 99.54 ซึ่งไม่พบพืชที่เป็น 2) (sp) และ 3) (imp) แต่พบพืชอาหาร 4) (mp) คิดเป็นร้อยละ 0.46



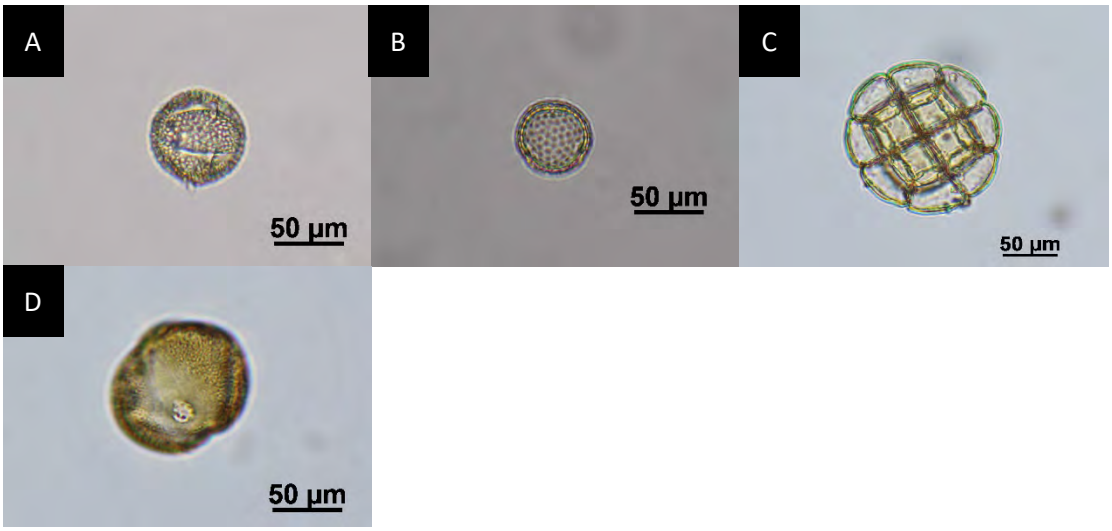
ภาพที่ 12 เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Fabaceae : *Leucaena*

เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 (ตารางที่ 7) หลังจากที่ได้ทำการนับและจำแนกชนิดของพืชแล้วคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) พบพืชวงศ์ Lauraceae สกุล *Persea* คิดเป็นร้อยละ 52.63 2) (sp) ไม่พบในเดือนนี้ 3) (imp) พบพืชวงศ์ Asteraceae สกุล *Tridax* คิดเป็นร้อยละ 13.94 พืชวงศ์ Solanaceae สกุล *Solanum* คิดเป็นร้อยละ 6.29 พืชวงศ์ Rutaceae สกุล *Citrus* คิดเป็นร้อยละ 4.98 พืชวงศ์ Arecaceae สกุล *Cocos* คิดเป็นร้อยละ 3.58 พืชวงศ์ Malvaceae สกุล *Sida* คิดเป็นร้อยละ 3.44 และ unknown 1 ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปทรงกลมขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 46.75 ไมโครเมตร และมีช่องเปิดแบบแนวยาว 3 ช่องเปิด (tricolpate) โดยคิดเป็นร้อยละ 8.42 4) (mp) พบร้อยละ 6.71



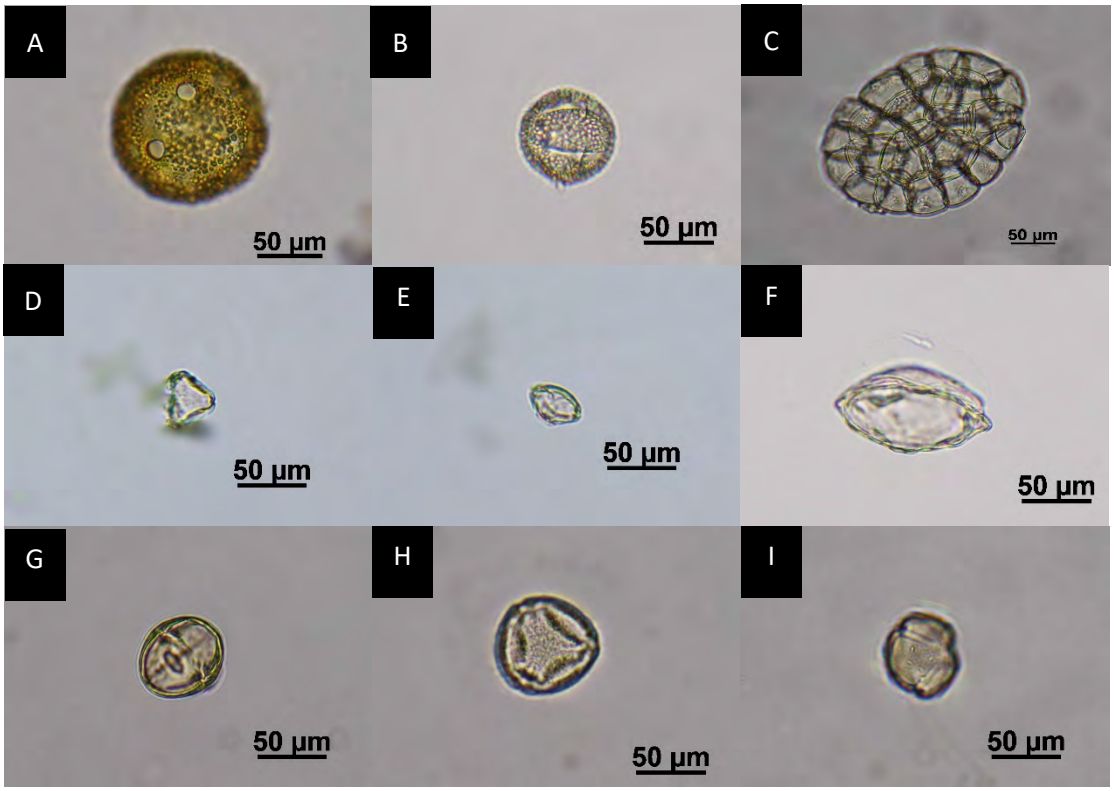
ภาพที่ 13 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Lauraceae : *Persea* (A) , imp ได้แก่ Asteraceae : *Tridax* (B,), Solanaceae : *Solanum* (C), Rutaceae : *Citrus* (D), Arecaceae : *Cocos* (E), Malvaceae : *Sida* (F) และ unknown 1 (G)

ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2563 (ตารางที่ 8) เมื่อคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) พบพืชวงศ์ Rutaceae สกุล *Citrus* คิดเป็นร้อยละ 48.14 2) (sp) พบพืชวงศ์ Lauraceae สกุล *Persea* คิดเป็นร้อยละ 27.39 3) (imp) พบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Pithecellobium* และ *Leucaena* เป็นร้อยละ 15.37 และ 4.97 ตามลำดับ 4) (mp) คิดเป็นร้อยละ 4.13



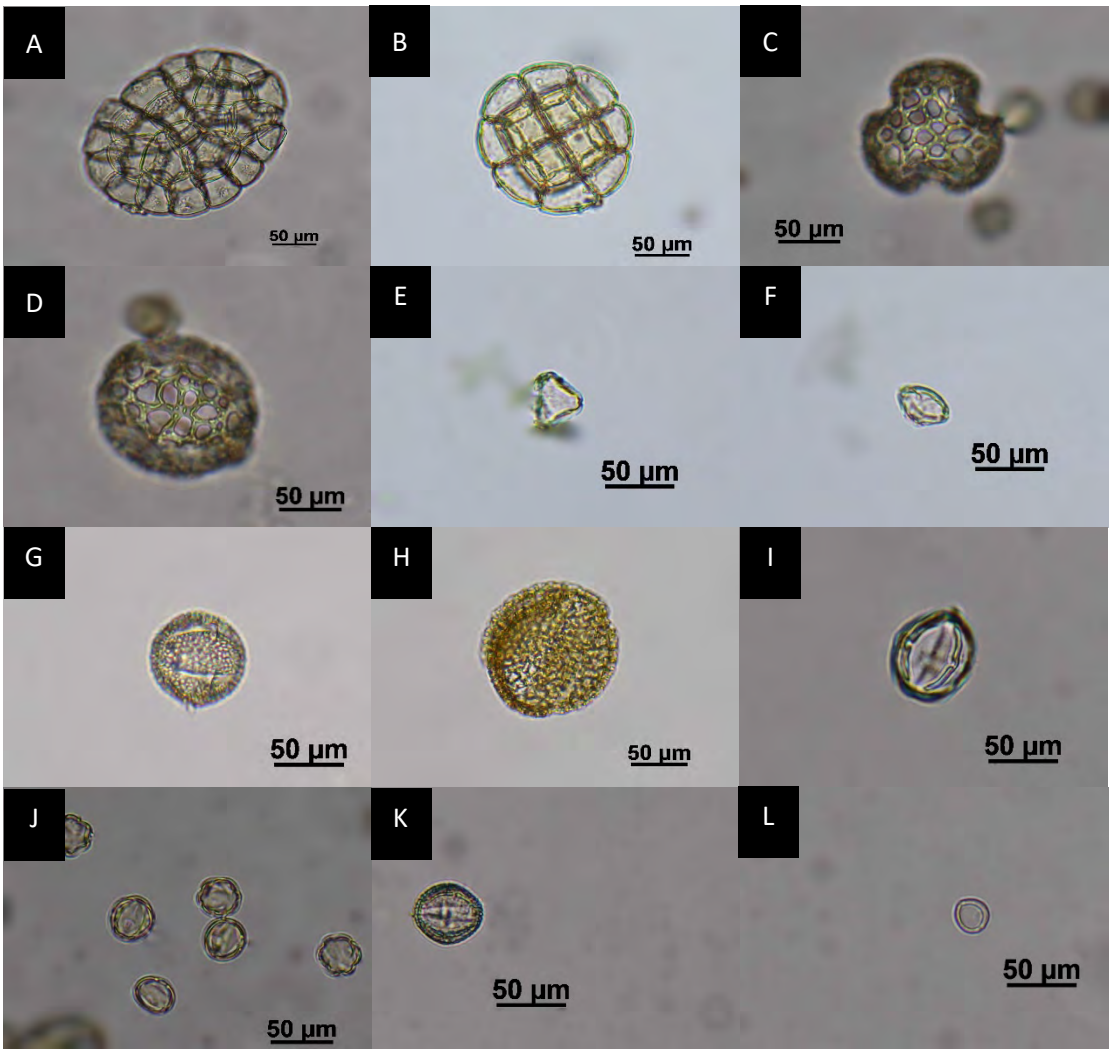
ภาพที่ 14 เดือนมกราคม พ.ศ. 2563 (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Rutaceae : *Citrus* (A) , sp ได้แก่ Lauraceae : *Persea* (B) และ imp ได้แก่ Fabaceae : *Pithecellobium* และ *Leucaena* (C,D)

เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 (ตารางที่ 9) หลังจากที่นับและจำแนกชนิดของพืชแล้วคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) ไม่พบพืชในเดือนนี้ 2) (sp) พบพืชวงศ์ Alangiaceae สกุล *Alangium* คิดเป็นร้อยละ 29.80 และพืชวงศ์ Rutaceae สกุล *Citrus* คิดเป็นร้อยละ 25.66 3) (imp) ได้แก่ พืชวงศ์ Minosoideae สกุล *Samanea* เป็นร้อยละ 13.61 พืชวงศ์ Myrtaceae สกุล *Callistemon* คิดเป็นร้อยละ 6.28 พืชวงศ์ Arecaceae สกุล *Cocos* คิดเป็นร้อยละ 5.50 พืชวงศ์ Sapotaceae สกุล *Mimusops* คิดเป็นร้อยละ 4.87 พืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Cassia* คิดเป็นร้อยละ 3.90 พืชวงศ์ Lythraceae สกุล *Lagerstroemia* คิดเป็นร้อยละ 3.39 ซึ่งพบพืชที่ไม่สามารถจำแนกได้ 1 ชนิด ที่เป็น (imp) โดยให้เป็นพืช unknown 2 ซึ่งมีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 25.92 ไมโครเมตร และมีช่องเปิดแบบยาว 1 ช่อง (monocolpate) คิดเป็นร้อยละ 3.71 4) (mp) คิดเป็นร้อยละ 3.29



ภาพที่ 15 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 (วงศ์ : สกุล) sp ได้แก่ Alangiaceae : *Alangium* (A) และ Rutaceae : *Citrus* (B) และ imp ได้แก่ Minosoideae : *Samanea* (C), Myrtaceae : *Callistemon* (D–E), Arecaceae : *Cocos* (F), Sapotaceae : *Mimusops* (G), Fabaceae : *Cassia* (H–I), Lythraceae : *Lagerstroemia* (J–K), และ unknown 2 (L)

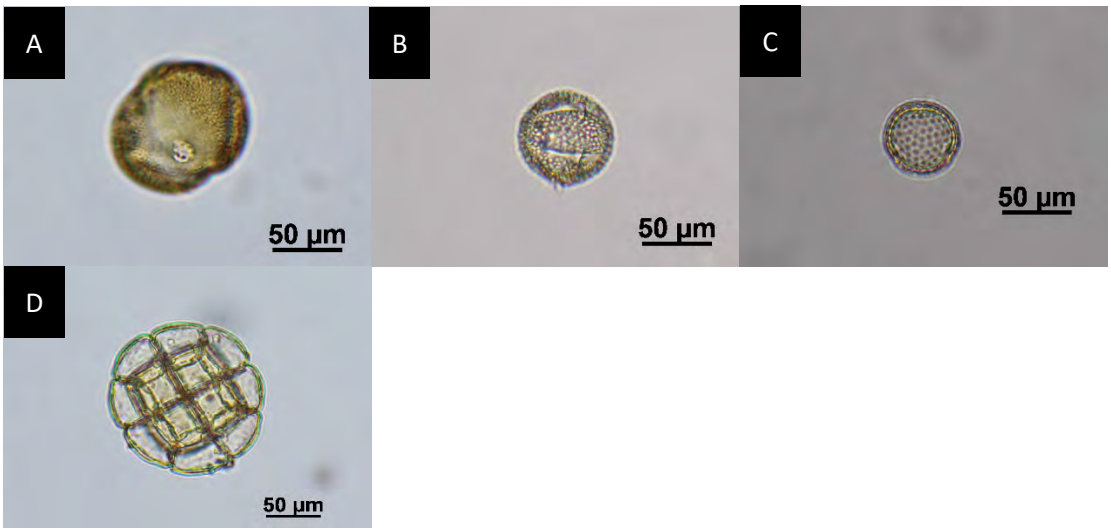
และสุดท้ายเดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 (ตารางที่ 10) จากการคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) ไม่พบพืชในเดือนนี้ 2) (sp) พบพืชวงศ์ Minosoideae สกุล *Samanea* คิดเป็นร้อยละ 20.17 3) (imp) ได้แก่ พืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Pithecellobium* และ *Delonix* คิดเป็นร้อยละ 13.37 และ 12.60 ตามลำดับ พืชวงศ์ Myrtaceae สกุล *Callistemon* คิดเป็นร้อยละ 10.83 พืชวงศ์ Rutaceae สกุล *Citrus* เป็นร้อยละ 6.15 และพืชวงศ์ Passifloraceae สกุล *Passiflora* คิดเป็นร้อยละ 4.92 นอกจากนี้ยังพบพืชที่เป็น (imp) ที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ประกอบด้วยพืช unknown 3, 4 และ 5 คิดเป็นร้อยละเฉลี่ย 9.50, 10.83 และ 4.05 ตามลำดับ โดยที่พืช unknown 3 มีลักษณะเป็นรูปทรงรีที่มีความยาวเฉลี่ย 27.58 ไมโครเมตร และความกว้างเฉลี่ย 23.83 ไมโครเมตร มีช่องเปิดแบบยาว 3 ช่อง (tricolpate) ส่วนพืช unknown 4 มีลักษณะที่คล้ายกับดอกไม้ 6 กลีบขนาดเล็กเมื่อมองจากด้าน polar และเมื่อมองจากด้าน equatorial จะเป็นรูปวงรี มีรูปทรงของเกสรเป็นรูปทรงรีที่มีความยาวเฉลี่ย 15.08 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ย 13.75 ไมโครเมตร และมีช่องเปิดแบบยาว 3 ช่อง (tricolpate) และสุดท้ายพืช unknown 5 มีลักษณะที่คล้ายกับดอกไม้ 4 กลีบเมื่อมองจากด้าน polar และเป็นรูปวงรีเมื่อมองจากด้าน equatorial มีรูปทรงของเกสรเป็นรูปทรงรีที่มีความยาวเฉลี่ย 20.95 ไมโครเมตร และมีความกว้างของเกสรเฉลี่ย 18.50 ไมโครเมตร และมีช่องเปิดแบบยาว 4 ช่อง (multicolpate) ส่วนเกสรพืชชนิดอื่นอีกร้อยละ 0.47 4) (mp) คิดเป็นร้อยละ 7.93 นอกจากนี้ในพืชอาหาร (mp) ยังพบพืชที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้อีก 1 ชนิด โดยให้เป็นพืช unknown 6 คิดเป็นร้อยละ 0.24 มีลักษณะเป็นวงกลมที่มีขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 10.29 ไมโครเมตร มีช่องเปิดแบบยาวแต่ไม่ทราบจำนวนช่องเปิด



ภาพที่ 16 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 (วงศ์ : สกุล) sp ได้แก่ Minosoideae : *Samanea* (A) , imp ได้แก่ Fabaceae : *Pithecellobium* และ *Delonix* (B,C–D), Myrtaceae : *Callistemon* (E–F), Rutaceae : *Citrus* (G), Passifloraceae : *Passiflora* (H) ,พืช unknown 3, 4 และ 5 (I, J และ K) และ mp ที่เป็นพืช unknown 6 (L)

4.2.2 พืชอาหารของผึ้งพันธุ์รวมทั้งหมด

พืชที่คาดว่าเป็นพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ทั้งหมด ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 – มีนาคม พ.ศ. 2563 (ตารางที่ 11) จากเกสรพืชทั้งหมด 14,400 เมล็ด จากการคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนและปริมาตรของเกสร มีสัดส่วนดังนี้ 1) (pp) พบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* คิดเป็นร้อยละ 65.99 2) (sp) ไม่พบ 3) (imp) ได้แก่ พืชวงศ์ Rutaceae สกุล *Citrus* เป็นร้อยละ 8.23 พืชวงศ์ Lauraceae สกุล *Persea* เป็นร้อยละ 5.26 และพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Pithecellobium* คิดเป็นร้อยละ 4.05 4) (mp) ประกอบด้วยพืช 36 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 16.46



ภาพที่ 17 พืชที่คาดว่าเป็นพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ (วงศ์ : สกุล) pp ได้แก่ Fabaceae : *Leucaena* (A), imp ได้แก่ Rutaceae : *Citrus* (B), Lauraceae : *Persea* (C) และ Fabaceae : *Pithecellobium* (D)

ตารางที่ 5 พืชที่พบในเดือน ตุลาคม ปี พ.ศ. 2562

family	Genus/Species	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อ taxon	% ปริมาตรรวมต่อ taxon	จัดกลุ่ม
Acanthaceae	*Asystasia gangetica*	67	elliptic	57.57	35.17	37,285.47	2.48	24,981.26	2.55	Minor pollen
Arecaceae	*Cocos*	5	elliptic	44.25	26.08	15,758.94	0.19	787.95	0.08	Minor pollen
Asteraceae	*Tridax*	15	elliptic	20.25	21.92	5,094.54	0.56	764.18	0.08	Minor pollen
	Ageratina	29	elliptic	15.25	17.83	2,538.46	1.07	736.15	0.08	Minor pollen
Bignoniaceae	*Millingtonia*	12	elliptic	30.42	35.92	20,550.88	0.44	2,466.11	0.25	Minor pollen
	Spathodea	1	elliptic	31.88	35.92	21,537.22	0.04	215.37	0.02	Minor pollen
Cleomaceae	*Cleome*	32	elliptic	16.33	12.42	1,318.95	1.19	422.06	0.04	Minor pollen
Convolvulaceae	*Camonea*	5	sphere	59.08	NA	107,974.22	0.19	5,398.71	0.55	Minor pollen
Fabaceae	*Leucaena*	2,091	elliptic	36.92	43.33	36,294.24	77.44	758,912.53	77.50	Predominant pollen
	Bauhinia	64	elliptic	61.42	52.08	87,226.89	2.37	55,825.21	5.70	Important minor pollen
	Pithecellobium	42	elliptic	53.75	63.17	112,304.94	1.56	47,168.07	4.82	Important minor pollen
	Mimosa	6	sphere	8.81	NA	358.04	0.22	21.48	0.00	Minor pollen
Lauraceae	*Persea*	34	sphere	24.83	NA	8,015.47	1.26	2,725.26	0.28	Minor pollen
Minosoideae	*Samanea*	26	elliptic	102.75	38.42	79,413.65	0.96	20,647.55	2.11	Minor pollen
Myrtaceae	*Callistemon*	20	elliptic	15.96	11.25	1,057.64	0.74	211.53	0.02	Minor pollen
Passifloraceae	*Passiflora*	52	elliptic	43.08	50.00	56,391.59	1.93	29,323.63	2.99	Minor pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	191	sphere	30.33	NA	14,608.84	7.07	27,902.89	2.85	Minor pollen
	Citrus maxima	8	sphere	25.92	NA	9,118.08	0.30	729.45	0.07	Minor pollen
		2,700					100.00	979,239.40	100.00	

ตารางที่ 6 พืชที่พบในเดือน พฤศจิกายน ปี พ.ศ. 2562

family	genus	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อ taxon	% ปริมาตรรวมต่อ taxon	จัดกลุ่ม
Asteraceae	*Mikania*	16	elliptic	12.67	14.58	1,410.23	0.59	225.64	0.02	Minor pollen
Fabaceae	*Leucaena*	2,606	elliptic	36.92	43.33	36,294.24	96.52	945,827.86	99.54	Predominant pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	6	sphere	30.33	NA	14,608.84	0.22	876.53	0.09	Minor pollen
Salicaceae	*Flacourtia*	11	elliptic	10.21	9.88	521.84	0.41	57.40	0.01	Minor pollen
Solanaceae	*Solanum*	61	elliptic	23.88	20.42	5,213.68	2.26	3,180.35	0.33	Minor pollen
		2,700					100.00	950,167.78	100.00	

ตารางที่ 7 พืชที่พบในเดือน ธันวาคม ปี พ.ศ. 2562

family	genus	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อ taxon	% ปริมาตรรวมต่อ taxon	จัดกลุ่ม
Amaranthaceae	*Amaranthus*	4	elliptic	21.17	23.17	5,950.75	0.22	238.03	0.21	Minor pollen
Anacardiaceae	*Mangifera*	1	elliptic	17.72	18.08	3,032.91	0.06	30.33	0.03	Minor pollen
Arecaceae	*Cocos*	26	elliptic	44.25	26.08	15,758.94	1.44	4,097.33	3.58	Important minor pollen
Asteraceae	*Tridax*	313	elliptic	20.25	21.92	5,094.54	17.39	15,945.90	13.94	Important minor pollen
	Ageratina	58	elliptic	15.25	17.83	2,538.46	3.22	1,472.31	1.29	Minor pollen
	Praxelis	33	elliptic	16.25	17.42	2,581.95	1.83	852.04	0.74	Minor pollen
	Chromolaena	12	elliptic	18.08	19.08	3,446.31	0.67	413.56	0.36	Minor pollen
	Mikania	25	elliptic	12.67	14.58	1,410.23	1.39	352.56	0.31	Minor pollen
	Bidens	6	sphere	15.04	NA	1,781.32	0.33	106.88	0.09	Minor pollen
	Ageratum	4	elliptic	16.17	17.42	2,569.24	0.22	102.77	0.09	Minor pollen
Bignoniaceae	*Spathodea*	6	elliptic	31.88	35.92	21,537.22	0.33	1,292.23	1.13	Minor pollen
	Millingtonia	3	elliptic	30.42	35.92	20,550.88	0.17	616.53	0.54	Minor pollen
Fabaceae	*Mimosa*	323	sphere	8.81	NA	358.04	17.94	1,156.46	1.01	Minor pollen
Lauraceae	*Persea*	751	sphere	24.83	NA	8,015.47	41.72	60,196.15	52.63	Predominant pollen
Malvaceae	*Sida*	2	sphere	72.17	NA	196,819.78	0.11	3,936.40	3.44	Important minor pollen
Myrtaceae	*Callistemon*	36	elliptic	15.96	11.25	1,057.64	2.00	380.75	0.33	Minor pollen
Passifloraceae	*Passiflora*	1	elliptic	43.08	50.00	56,391.59	0.06	563.92	0.49	Minor pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	39	sphere	30.33	NA	14,608.84	2.17	5,697.45	4.98	Important minor pollen
Sapotaceae	*Mimusops*	1	elliptic	29.00	24.83	9,361.60	0.06	93.62	0.08	Minor pollen
Solanaceae	*Solanum*	138	elliptic	23.88	20.42	5,213.68	7.67	7,194.88	6.29	Important minor pollen

Unknown 1: prolate, tricolpate		18	sphere	46.75	NA	53,498.73	1.00	9,629.77	8.42	Important minor pollen
		2,700					100.00	114,369.84	100.00	

ตารางที่ 8 พืชที่พบในเดือน มกราคม ปี พ.ศ. 2563

family	genus	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อ taxon	% ปริมาตรรวมต่อ taxon	จัดกลุ่ม
Amaranthaceae	*Amaranthus*	2	elliptic	21.17	23.17	5,950.75	0.07	119.01	0.04	Minor pollen
Asteraceae	*Ageratina*	144	elliptic	15.25	17.83	2,538.46	5.33	3,655.39	1.35	Minor pollen
	Mikania	1	elliptic	12.67	14.58	1,410.23	0.04	14.10	0.01	Minor pollen
Fabaceae	*Pithecellobium*	37	elliptic	53.75	63.17	112,304.94	1.37	41,552.83	15.37	Important minor pollen
	Leucaena	37	elliptic	36.92	43.33	36,294.24	1.37	13,428.87	4.97	Important minor pollen
	Mimosa	35	sphere	8.81	NA	358.04	1.30	125.31	0.05	Minor pollen
Lauraceae	*Persea*	924	sphere	24.83	NA	8,015.47	34.22	74,062.91	27.39	Secondary pollen
Lythraceae	*Lagerstroemia*	6	elliptic	28.33	25.58	9,706.13	0.22	582.37	0.22	Minor pollen
Myrtaceae	*Callistemon*	619	elliptic	15.96	11.25	1,057.64	22.93	6,546.77	2.42	Minor pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	891	sphere	30.33	NA	14,608.84	33.00	130,164.80	48.14	Predominant pollen
Salicaceae	*Flacourtia*	2	elliptic	10.21	9.88	521.84	0.07	10.44	0.00	Minor pollen
Solanaceae	*Solanum*	2	elliptic	23.88	20.42	5,213.68	0.07	104.27	0.04	Minor pollen
		1,800					100.00	270,367.07	100.00	

ตารางที่ 9 พืชที่พบในเดือน กุมภาพันธ์ ปี พ.ศ. 2563

family	genus	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อ taxon	% ปริมาตรรวมต่อ taxon	จัดกลุ่ม
Alangiaceae	*Alangium*	59	elliptic	50.58	55.83	82,549.17	3.28	48,704.01	29.80	Secondary pollen
Anacardiaceae	*Mangifera*	9	elliptic	17.72	18.08	3,032.91	0.50	272.96	0.17	Minor pollen
Arecaceae	*Cocos*	57	elliptic	44.25	26.08	15,758.94	3.17	8,982.60	5.50	Important minor pollen
Asteraceae	*Tridax*	4	elliptic	20.25	21.92	50,94.54	0.22	203.78	0.12	Minor pollen
	Bidens	2	sphere	15.04	NA	1,781.32	0.11	35.63	0.02	Minor pollen
Compositae	*Cosmos*	5	sphere	18.17	NA	3,140.97	0.28	157.05	0.10	Minor pollen
Convolvulaceae	*Camonea*	2	sphere	59.08	NA	107,974.22	0.11	2,159.48	1.32	Minor pollen
Fabaceae	*Cassia bakeriana*	96	elliptic	21.00	24.58	6,643.27	5.33	6,377.54	3.90	Important minor pollen
Lythraceae	*Lagerstroemia*	57	elliptic	28.33	25.58	9,706.13	3.17	5,532.50	3.39	Important minor pollen
Malvaceae	*Sida*	1	sphere	72.17	NA	196,819.78	0.06	1,968.20	1.20	Minor pollen
Minosoideae	*Samanea*	28	elliptic	102.75	38.42	79,413.65	1.56	22,235.82	13.61	Important minor pollen
Myrtaceae	*Callistemon*	970	elliptic	15.96	11.25	1,057.64	53.89	10,259.08	6.28	Important minor pollen
Passifloraceae	*Passiflora*	1	elliptic	43.08	50.00	56,391.59	0.06	563.92	0.35	Minor pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	287	sphere	30.33	NA	14,608.84	15.94	41,927.38	25.66	Secondary pollen
Salicaceae	*Flacourtia*	4	elliptic	10.21	9.88	521.84	0.22	20.87	0.01	Minor pollen
Sapotaceae	*Mimusops*	85	elliptic	29.00	24.83	9,361.60	4.72	7,957.36	4.87	Important minor pollen
Unknown 2: monocolpate		133	half sphere	25.92	NA	4,559.04	7.39	6,063.53	3.71	Important minor pollen
		1,800					100.00	163,421.70	100.00	

ตารางที่ 10 พืชที่พบในเดือน มีนาคม ปี พ.ศ. 2563

family	genus	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อ taxon	% ปริมาตรรวมต่อ taxon	จัดกลุ่ม
Alangiaceae	*Alangium*	4	elliptic	50.58	55.83	82,549.17	0.15	3,301.97	2.62	Minor pollen
Asteraceae	*Ageratina*	5	elliptic	15.25	17.83	2,538.46	0.19	126.92	0.10	Minor pollen
Bignoniaceae	*Spathodea*	9	elliptic	31.88	35.92	21,537.22	0.33	1,938.35	1.54	Minor pollen
Fabaceae	*Pithecellobium*	15	elliptic	53.75	63.17	112,304.94	0.56	16,845.74	13.37	Important minor pollen
	Delonix	26	elliptic	53.17	46.83	61,053.93	0.96	15,874.02	12.60	Important minor pollen
	Mimosa	2	sphere	8.81	NA	358.04	0.07	7.16	0.01	Minor pollen
Lythraceae	*Lagerstroemia*	13	elliptic	28.33	25.58	9,706.13	0.48	12,61.80	1.00	Minor pollen
Minosoideae	*Samanea*	32	elliptic	102.75	38.42	79,413.65	1.19	25,412.37	20.17	Secondary pollen
Myrtaceae	*Callistemon*	1,248	elliptic	15.96	11.25	1,057.64	46.22	13,199.31	10.48	Important minor pollen
Passifloraceae	*Passiflora*	11	elliptic	43.08	50.00	56,391.59	0.41	6,203.07	4.92	Important minor pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	53	sphere	30.33	NA	14,608.84	1.96	7,742.69	6.15	Important minor pollen
Sapotaceae	*Mimusops*	31	elliptic	29.00	24.83	9,361.60	1.15	2,902.10	2.30	Minor pollen
Solanaceae	*Solanum*	3	elliptic	23.88	20.42	5,213.68	0.11	156.41	0.12	Minor pollen
Unknown 3: prolate, tricolpate		146	elliptic	27.58	23.83	8,200.51	5.41	11,972.75	9.50	Important minor pollen
Unknown 4: prolate, tricolpate		914	elliptic	15.08	13.75	1,492.81	33.85	136,44.31	10.83	Important minor pollen
Unknown 5: prolate, multicolpate		136	elliptic	20.95	18.50	3,754.28	5.04	5,105.81	4.05	Important minor pollen
Unknown 6: spheroidal		52	sphere	10.29	NA	570.49	1.93	296.65	0.24	Minor pollen
		2,700					100.00	125,991.43	100.00	

ตารางที่ 11 พืชอาหารหลักของผึ้งพันธุ์ตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 – มีนาคม พ.ศ. 2563

family	genus	จำนวน	รูปร่าง	p	e	v	% เมล็ด	ปริมาตรรวมต่อtaxon	%ปริมาตรรวมต่อtaxon	จัดกลุ่ม
Acanthaceae	*Asystasia gangetica*	67	elliptic	57.58	35.17	37,291.94	0.47	24,985.60	0.96	Minor pollen
Alangiaceae	*Alangium*	63	elliptic	50.58	55.83	82,549.17	0.44	52,005.98	2.00	Minor pollen
Amaranthaceae	*Amaranthus*	6	elliptic	21.17	23.17	5,950.75	0.04	357.04	0.01	Minor pollen
Anacardiaceae	*Mangifera*	10	elliptic	17.72	18.08	3,032.91	0.07	303.29	0.01	Minor pollen
Arecaceae	*Cocos*	88	elliptic	44.25	26.08	15,758.94	0.61	13,867.87	0.53	Minor pollen
Asteraceae	*Tridax*	332	elliptic	20.25	21.92	5,094.54	2.31	16,913.86	0.65	Minor pollen
	Ageratina	236	elliptic	15.25	17.83	2,538.46	1.64	5,990.78	0.23	Minor pollen
	Praxelis	33	elliptic	16.25	17.42	2,581.95	0.23	852.04	0.03	Minor pollen
	Mikania	42	elliptic	12.67	14.58	1,410.23	0.29	592.30	0.02	Minor pollen
	Chromolaena	12	elliptic	18.08	19.08	3,446.31	0.08	413.56	0.02	Minor pollen
	Bidens	8	sphere	15.04	NA	1,781.32	0.06	142.51	0.01	Minor pollen
	Ageratum	4	elliptic	16.17	17.42	2,569.24	0.03	102.77	0.00	Minor pollen
Bignoniaceae	*Spathodea*	16	elliptic	31.88	35.92	21,537.22	0.11	3,445.95	0.13	Minor pollen
	Millingtonia	15	elliptic	30.42	35.92	20,550.88	0.10	3,082.63	0.12	Minor pollen
Cleomaceae	*Cleome*	32	elliptic	16.33	12.42	1,318.95	0.22	422.06	0.02	Minor pollen
Compositae	*Cosmos*	5	sphere	18.17	NA	3,140.97	0.03	157.05	0.01	Minor pollen
Convolvulaceae	*Camonea*	7	sphere	59.08	NA	107,974.22	0.05	7,558.20	0.29	Minor pollen
Fabaceae	*Leucaena*	4,734	elliptic	36.92	43.33	36,294.24	32.88	1,718,169.27	65.99	Predominant pollen

	Pithecellobium	94	elliptic	53.75	63.17	112,304.94	0.65	105,566.64	4.05	Important minor pollen
	Bauhinia	64	elliptic	61.42	52.08	87,226.89	0.44	55,825.21	2.14	Minor pollen
	Delonix	26	elliptic	53.17	46.83	61,053.93	0.18	15,874.02	0.61	Minor pollen
	Cassia bakeriana	96	elliptic	21.00	24.58	6,643.27	0.67	6,377.54	0.24	Minor pollen
	Mimosa	366	sphere	8.81	NA	358.04	2.54	1,310.41	0.05	Minor pollen
Lauraceae	*Persea*	1,709	sphere	24.83	NA	8,015.47	11.87	136,984.32	5.26	Important minor pollen
Lythraceae	*Lagerstroemia*	76	elliptic	28.33	25.58	9,706.13	0.53	7,376.66	0.28	Minor pollen
Malvaceae	*Sida*	3	sphere	72.17	NA	196,819.78	0.02	5,904.59	0.23	Minor pollen
Minosoideae	*Samanea*	86	elliptic	102.75	38.42	79,413.65	0.60	68,295.74	2.62	Minor pollen
Myrtaceae	*Callistemon*	2,893	elliptic	15.96	11.25	1,057.64	20.09	30,597.43	1.18	Minor pollen
Passifloraceae	*Passiflora*	65	elliptic	43.08	50	56,391.59	0.45	36,654.53	1.41	Minor pollen
Rutaceae	*Citrus limon*	1,467	sphere	30.33	NA	14,608.84	10.19	214,311.74	8.23	Important minor pollen
	Citrus maxima	8	sphere	25.92	NA	9,118.08	0.06	729.45	0.03	Minor pollen
Salicaceae	*Flacourtia*	17	elliptic	10.21	9.88	521.84	0.12	88.71	0.00	Minor pollen
Sapotaceae	*Mimusops*	117	elliptic	29	24.83	9,361.60	0.81	10,953.07	0.42	Minor pollen
Solanaceae	*Solanum*	204	elliptic	23.88	20.42	5,213.68	1.42	10,635.91	0.41	Minor pollen
Unknown 1: prolate, tricolpate		18	sphere	46.75	NA	53,498.73	0.13	9,629.77	0.37	Minor pollen
Unknown 2: monocolpate		133	half sphere	25.92	NA	4,559.04	0.92	6,063.53	0.23	Minor pollen
Unknown 3: prolate, tricolpate		146	elliptic	27.58	23.83	8,200.51	1.01	11,972.75	0.46	Minor pollen
Unknown 4: prolate, tricolpate		914	elliptic	15.08	13.75	1,492.81	6.35	13,644.31	0.52	Minor pollen
Unknown 5: prolate, multicolpate		136	elliptic	20.95	18.50	3,754.28	0.94	5,105.81	0.20	Minor pollen
Unknown 6: spheroidal		52	sphere	10.29	NA	570.49	0.36	296.65	0.01	Minor pollen

	14,400					100	2,603,561.56	100	

<u>การวิเคราะห์ดัชนีบ่งชี้สภาพนิเวศ</u>

จากการวิเคราะห์ค่าดัชนีบ่งชี้สภาพนิเวศของพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง ได้แก่ ค่าดัชนีความหลากชนิด (species diversity index) ค่าดัชนีความมากชนิด (richness index) และค่าดัชนีความสม่ำเสมอ (evenness index) พบว่าเดือนตุลาคม มีค่าดัชนีเป็น 1.05, 5.25 และ 0.36 ตามลำดับ ซึ่งพบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* เป็นจำนวนมากที่สุด จัดเป็นพืชอาหาร pm และยังเป็นพืชที่พบมากในเดือนพฤศจิกายน จัดเป็นพืชอาหาร pm เช่นเดียวกัน โดยเดือนพฤศจิกายน มีค่าดัชนีเป็น 0.19, 1.46 และ 0.12 ตามลำดับ เดือนธันวาคม มีค่าดัชนีเป็น 1.82, 6.45 และ 0.60 ตามลำดับ โดยพบมีพืชวงศ์ Lauraceae สกุล *Persea* จำนวนมากที่สุด จัดเป็นพืชอาหาร pp และยังพบพืชชนิดนี้เป็นจำนวนมากที่สุดในเดือนมกราคมเช่นเดียวกัน แต่เป็นเพียงพืชอาหาร sp โดยเดือนมกราคมนี้มีค่าดัชนีเป็น 1.43, 3.50 และ 0.58 ตามลำดับ เดือนกุมภาพันธ์ มีค่าดัชนีเป็น 1.61, 5.22 และ 0.57 ตามลำดับ โดยพบพืชวงศ์ Myrtaceae สกุล *Callistemon* มากที่สุดของเดือนนี้ โดยเป็นพืชอาหาร sp และพบมากในเดือนมีนาคมเช่นกัน แต่ถูกจัดเป็นพืชอาหาร imp โดยเดือนมีนาคม มีค่าดัชนีเป็น 1.46, 4.95 และ 0.52 ตามลำดับ

ตารางที่ 12 ดัชนีบ่งชี้สภาพนิเวศของพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง

ดัชนี	**เดือน**					
	ต.ค. 62	**พ.ย. 62**	**ธ.ค. 62**	**ม.ค. 63**	**ก.พ. 63**	**มี.ค. 63**
ดัชนีความหลากชนิด	1.05	0.19	1.82	1.43	1.61	1.46
ดัชนีความมากชนิด	5.25	1.46	6.45	3.50	5.22	4.95
ดัชนีความสม่ำเสมอ	0.36	0.12	0.60	0.58	0.57	0.52

ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (Sorensen's similarity coefficient)

จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของพืชจากเกสรผึ้งในแต่ละเดือน พบว่าเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 กับเดือนมกราคม พ.ศ. 2563 มีความคล้ายคลึงกันมากกว่าเดือนอื่น ๆ ที่สุด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันอยู่ที่ 0.59 พบพืชอาหารชนิดเดียวกันในระหว่าง 2 เดือนนี้มากกว่าเดือนอื่น ๆ และเดือนตุลาคม กับพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันน้อยที่สุด คิดเป็น 0.17 ซึ่งพบพืชอาหารชนิดเดียวกันน้อยกว่าเดือนอื่น

ตารางที่ 13 สัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (Sorensen's similarity coefficient) ของพืชอาหารของผึ้งพันธุ์จากเกสรผึ้ง ระหว่างในแต่ละเดือน

เดือน	ต.ค. 62	พ.ย. 62	ธ.ค. 62	ม.ค. 63	ก.พ. 63	มี.ค. 63
ต.ค. 62		0.17	0.51	0.40	0.40	0.46
พ.ย. 62			0.23	0.59	0.27	0.18
ธ.ค. 62				0.48	0.37	0.32
ม.ค. 63					0.28	0.34
ก.พ. 63						0.29
มี.ค. 63						

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาเบื้องต้นที่พบสารเคมี imidacloprid ในเกสรผึ้ง ที่มีค่าความเข้มข้นสูงกว่าค่า LoD (≥1 ppb) แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีชนิดอื่นที่พบแต่มีค่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า LoD จากรายงานของสหภาพยุโรป ปี ค.ศ. 2018 ได้มีค่ามาตรฐานข้อกำหนดการปนเปื้อนสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Maximum Residue Levels : MRLs) ซึ่งค่า MRLs ของสารเคมีในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ Chlorpyrifos, Imidacloprid, Carbaryl และ Atrazine ที่มีค่า MRLs ไม่เกิน 0.05mg/kg. (50 ppb) ส่วน paraquat ยังไม่มีกำหนดปริมาณ MRLs ซึ่งจากการทดลองเบื้องต้นที่พบสารเคมี imidacloprid มีความเข้มข้น 5.18 ppb ซึ่งน้อยกว่าปริมาณ MRLs ที่กำหนด ดังนั้นสารเคมีที่พบในเกสรผึ้งจึงไม่เป็นอันตรายต่อผึ้งที่เลี้ยงและผู้บริโภค ถึงแม้ว่าจะพบสารเคมีในความเข้มข้นต่ำ แต่ถ้าหากได้รับสารเคมีเป็นระยะเวลานานก็อาจส่งกระทบต่อสุขภาวะในรูปแบบอาการเป็นพิษเรื้อรังได้ โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ร่วมกันของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากกว่า 1 ชนิดต่อมนุษย์ตัวอย่างเช่น pyrethroids ร่วมกับ sterol biosynthesis inhibiting fungicides (SBD – fungicides) หรือการใช้ SBI – fungicides ร่วมกับ neonicotinoids (Böhme et al., 2018) แต่ก็ยังไม่มีข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ร่วมกันของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช 5 ชนิดที่สนในการศึกษานี้

นอกจากนี้ในการศึกษาในเบื้องต้นยังพบ paraquat ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดวัชพืช มีความเข้มข้นสูงกว่าค่า Lod ที่มากกว่า (≥10 ppb) แต่ไม่สามารถรายงานได้ว่ามีการพบ paraquat ในเกสรผึ้ง โดยจากรายงานของบริษัท restek ปี พ.ศ. 2561 ได้รายงานว่า paraquat และ diquat สามารถวิเคราะห์ด้วย LC/MS ได้ แต่ต้องใช้วิธีที่จำเพาะกับสาร 2 ชนิดนี้ เนื่องจากสาร 2 ชนิดนี้คงอยู่บน column C-18 ได้ไม่ดี ซึ่งสารมารถใช้ Ion-paring reagents ในการเพิ่มประสิทธิภาพได้ แต่การใช้ Ion-paring reagents จะไปรบกวนกระบวนการ ionization นอกจากนี้ยังปนเปื้อนภายในระบบ LC-MS/MS ได้ ทำให้ต้องเสียค่าบำรุงรักษาอุปกรณ์ในราคาสูง

ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ที่มีรูพรุนหรือรอยแตกขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจำนวนมหาศาล โดยขนาดรูพรุนของถ่านกัมมันต์ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซับเพิ่มขึ้นเมื่อมีรูพรุนขนาดเล็กและมีจำนวนมากที่สามารถส่งผลต่อการดูดซับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (ฉวีวรรณ เพ็งพิทักษ์, 2562) ซึ่งเป็นคุณสมบัติอย่างหนึ่งของเกสรผึ้งเช่นเดียวกัน แต่ยังไม่มีข้อมูลถึงประสิทธิภาพในการดูดซับสารเคมีของเกสรพืชแต่ละชนิด เนื่องจากเกสรพืชในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งรูปร่าง ขนาด ลักษณะของช่องเปิด รวมถึงลักษณะผิวของผนังเกสรที่มีความหลากหลายมาก (วงศ์กฎ ภู่ภูมิรัตน์, 2559)

จากการที่ตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากเกสรผึ้งที่เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ได้รับจากผึ้ง โดยที่พืชอาหารที่พบจากเกสรผึ้งนั้นมาจากพืชหลายชนิดที่ทั้งในพื้นที่ศึกษาและบริเวณข้างเคียง แสดงให้เห็นว่าการหาอาหารของผึ้งนั้นครอบคลุมเป็นบริเวณกว้าง สามารถบินหาอาหารได้ในระยะที่ไกลถึง 12 กิโลเมตร แต่โดยปกติถ้าบริเวณที่ตั้งรังมีพืชอาหารที่เพียงพอ แล้วการหาอาหารจะจำกัดอยู่ที่แหล่งอาหารภายใน 3 กิโลเมตร เนื่องจากผึ้งมีพฤติกรรมการหาอาหารที่เกี่ยวข้องกับเศรษฐศาสตร์ในเรื่องความคุ้มค่าในการใช้พลังงานในการออกไปหาอาหาร โดยมีปัจจัยดังนี้ 1) สภาพอากาศ เช่น อุณหภูมิ และแสงแดด 2) ระยะทางระหว่างแหล่งอาหารและรัง 3) คุณภาพอาหาร หมายถึง ความเข้มข้นน้ำหวานและโปรตีนในเกสรพืช 4) ปริมาณน้ำหวานและเกสร ตัวอย่างเช่น พืชอาหารคุณภาพสูงแต่อยู่ไกลต้องเสียพลังงานในการบินสูงกว่าพลังงานที่จะได้จากแหล่งพืชอาหาร ดังนั้นผึ้งจะเลือกเก็บพืชอาหารจากแหล่งอื่นที่ยอบรับได้เพื่อรักษาพลังงาน (British Columbia, 2015) และผึ้งยังมีพฤติกรรมการหาอาหารแบบ generalist ซึ่งสามารถหาอาหารได้หลากหลายชนิด ทำให้แต่ละเดือนมีจำนวนชนิดของพืชอาหารที่ต่างกัน และพฤติกรรม floral constancy เป็นพฤติกรรมการหาน้ำหวาน และเกสร ที่เกิดจากการเรียนรู้และจดจำของผึ้งที่มุ่งเน้นไปที่ดอกไม้ที่ต้องการเพียงชนิดเดียว (Sinu and Shivanna, 2016) ซึ่งสอดคล้องกับผลทดลองที่ในบางเดือนพบจำนวนชนิดพืชอาหารน้อย เช่น เดือนพฤศจิกายน ปี พ.ศ. 2562 พบพืชจำนวนชนิดน้อย แต่พบพืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* เป็นจำนวนมาก

นอกจากนี้ฤดูการบานของดอกไม้ มีผลต่อชนิดพืชอาหารและมีปริมาณเกสร ดังนั้นตลอดทั้งปีจะพบชนิดพืชอาหารที่ต่างกันขึ้นกับช่วงการบานของดอกไม้ชนิดนั้นที่จะส่งผลต่อมีปริมาณเกสรด้วย นอกจากนี้พฤติกรรมของมนุษย์ยังส่งผลต่อจำนวนและชนิดของพืชอาหาร เนื่องจากการจัดการพื้นที่สำหรับการทำเกษตรกรรมที่ต้องมีการเตรียมพื้นที่ก่อนการเพาะปลูก มีการตัดพืชที่ไม่ต้องการในพื้นที่ เช่น วัชพืช และพืชล้มลุก ทำให้พืชอาหารบางชนิดของผึ้งหายไป ตัวอย่างเช่น พืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* ที่หายไปในเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2562

การใช้ผึ้งเป็นตัวชี้วัดการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในพื้นที่ทางการเกษตรได้จากระยะรัศมีการอาหาร ที่ครอบคลุมพื้นที่เกษตรกรรมและบริเวณข้างเคียง และพฤติกรรมการหาอาหารของผึ้งจากที่กล่าวข้างต้น จึงทำให้สามารถตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนอยู่ในพื้นที่การเกษตรและบริเวณข้างเคียงเช่นเดียวกับการศึกษานี้ได้

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาเบื้องต้นพบสารเคมี imidacloprid ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดแมลงเพียงชนิดเดียวในเกสรผึ้ง โดยมีค่าความเข้มข้นที่ 5.18 ppb จากรังผึ้งหมายเลข 1 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562 นอกจากนี้ยังสามารถพบสารเคมีชนิดอื่นที่ไม่สามารถรายงานได้เนื่องจากพบในปริมาณความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า Lod แสดงว่าเกสรผึ้งสามารถดูดซับสารเคมีในปริมาณที่ต่ำได้ และพืชอาหารหลัก (predominant pollen) ได้แก่ พืชวงศ์ Fabaceae สกุล *Leucaena* ที่พบในเดือนตุลาคมและพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 พืชวงศ์ Lauraceae สกุล *Persea* ในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 และพืชวงศ์ Rutaceae สกุล *limon* ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2563 ส่วนเดือนกุมภาพันธ์และมีนาคม พ.ศ. 2563 ไม่พบพืชที่เป็นพืชอาหารหลัก เนื่องจากพฤติกรรมของผึ้งที่เป็น generalist และ floral constancy ประกอบกับช่วงหรือฤดูกาลบานของดอกไม้ที่จะส่งผลต่อปริมาณเกสร ทำให้ในบางเดือนไม่พบพืชที่เป็นพืชอาหารหลัก แต่พบจำนวนชนิดที่มีความหลากหลาย ซึ่งพืชอาหารที่พบมีทั้งพืชอาหารที่อยู่ในบริเวณพื้นที่ศึกษาและบริเวณข้างเคียง

6.2 ประโยชน์และข้อเสนอแนะ

<u>ประโยชน์</u>

การพบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในเกสรผึ้ง ทำให้สามารถใช้เกสรผึ้งในการตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ในความเข้มข้นที่ต่ำได้ ซึ่งอาจจะเป็นวิธีทางเลือกในการตรวจสอบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในนที่เกษตรกรรม

การทราบชนิดพืชอาหารของผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในพื้นที่อาจช่วยให้สามารถระบุแหล่งที่มาของการปนเปื้อนได้ อีกทั้งยังได้เกสรอ้างอิงจากพืชที่สามารถเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาเกสรหรือเรณูวิทยา

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

ในการศึกษาเบื้องต้นนี้ไม่สามารถรายงานว่าพบ paraquat ได้ เนื่องจากมีการใช้ Ion-paring reagents ในการวิเคราะห์ด้วย LC/MS ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งไอออน ของสาร paraquat และ diquat และตกค้างภายในระบบ ซึ่งก็ได้มีการแนะนำให้ใช้ CORTECS® HILIC Column แทนการใช้ column C18 (Michael et al., 2013)

บริเวณที่ทำการตั้งรังที่ใช้เป็นตัวชี้วัดสารเคมีควรตั้งรังให้อยู่ที่บริเวณที่มีแหล่งพืชอาหาร เพื่อตรวจสอบการตกค้างสารเคมีกำจัดพืชในบริเวณนั้น

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมควบคุมมลพิษ. 2541. พาราควอท (paraquat). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ฝ่ายศูนย์ข้อมูลอันตรายและอณุสัญญากองจัดการสารอันตรายและกากของเสีย กรมควบคุมมลพิษ.

ฉวีวรรณ เพ็งพิทักษ์. 2562. ถ่านกัมมันต์. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_knowledge/chem-2-62-charcoal.pdf. [1 กรกฎาคม 2563]

ดาริกา วอทอง. 2561. Paraquat. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.summacheeva.org/occtox/paraquat [20 มิถุนายน 2563]

ดอกรัก มารอด. 2554. เทคนิคการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์สังคมพืช (Sampling technique and plant Community analysis). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://bioff.forest.ku.ac.th/PDF_FILE/MAY_2011/DOKRAK_2011.pdf?fbclid=IwAR0R3K2-wXa3ryfx695oW1Ev9ZORPcfXcPD1Zh6eCdPairxOumic0xUUIE [1 กรกฎาคม 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. Carbaryl / คาร์บาริล. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2171/carbaryl-คาร์บาริล [1 กรกฎาคม 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. Chlorpyrifos / คลอร์ไพริฟอส. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2169/chlorpyrifos-คลอร์ไพริฟอส [1 กรกฎาคม 2563]

มณฑลอานฮุยเซลลิ่งอะโกรเคมิคอล จำกัด. imidacloprid คืออะไร. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://th.sailagro.com/info/what-is-imidacloprid-28943718.html

สาธร ศรีมุข. 2557. ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรของประเทศไทย (The impact of the use of agricultural chemicals in Thailand). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://library.senate.go.th /document/Ext6409/6409657_0002.PDF [25 มีนาคม 2563]

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. เมืองเกษตรสีเขียวต้นแบบจังหวัดราชบุรี. [ออนไลน์].แหล่งที่มา: http://www.acfs.go.th/read_news.php?id=12657&ntype=09&fbclid=IwAR2_oV2SzupB5922ni_UfyL7yrXhOYrsnS7aYXKty_KUjGLEzVfbOL5cQ7QVsk [19 มีนาคม 2562]

สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม. สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและผลกระทบต่อสุขภาพ. [ออนไลน์].แหล่งที่มา: http://envocc.ddc.moph.go.th/contents/view/405 [20 กุมภาพันธ์ 2562]

อุดมพันธุ์การเกษตร. สารอาทราซีน. [ออนไลน์].แหล่งที่มา: https://udpcenter.com/shop-ร้านค้า/เคมีเกษตร/สารเคมีกำจัดวัชพืช/สารเคมีกำจัดวัชพืชอื่นๆ/อะทราซีน/

ภาษาอังกฤษ

Böhme, F., Bischoff, G., Zebitz, C.P., Rosenkranz, P. and Wallner, K. 2018. Pesticide residue survey of pollen loads collected by honeybees (*Apis mellifera*) in daily intervals at three agricultural sites in South Germany. PloS one, 13(7), e0199995.

British Columbia. 2015. Bee behaviour during foraging. [online]. From: https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/farming-natural-resources-and-industry/agriculture-and-seafood/animal-and-crops/animal-production/bee-assets/api _fs111.pdf. [July 9, 2020]

Carreck, N. and Williams, I. 1998. The economic value of bees in the UK. Bee world, 79(3), 115–123.

Celli, G. and Maccagnani, B. 2003. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. Bulletin of Insectology, 56(1), 137–139.

De Oliveira, R. C., Do Queiroz, S.C.N., Da Luz, C.F.P., Porto, R.S. and Rath, S. 2016. Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. Chemosphere. 163: 525–534.

Deer, H.M. 1999. Pesticide adsorption and half-life. AG/Pesticides, 15, 1.

Delaplane, K.S., Mayer, D.R. and Mayer, D.F. 2000. Crop pollination by bees. Cabi.

European Commission. 2018. Technical guidelines for determining the magnitude of pesticide residues in honey and setting Maximum Residue Levels in honey.

Michael S.Y., Jeremy C.S. and Kim V.T. 2013. UPLC-MS/MS Determination of Paraquat and Diquat in Potato and Wheat Using the CORTECS UPLC HILIC Column. Library Number: APNT134776789.

Michener, C.D. 2007. The bees of the world (No. 595.799 M53/2007).

Moar, N.T. 1985. Pollen analysis of New Zealand honey. Journal of Agricultural Research. 28: 39–70.

Pimentel, D. (1995). Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. Journal of agricultural and environmental Ethics, 8(1), 17-29.

Palang Chotsiri. Handling data under limit of quantification. [online] from: https://pharmetrx.wordpress.com/2016/08/26/limit-of-quantification/#more-1697. [June 27, 2020]

Restek Corporation. LC-MS/MS Analysis of Paraquat and Diquat without Ion-Pairing Reagents. [online] from: https://m.restek.com/pdfs/EVSS2791A-UNV.pdf. [July 4 2020]

Sinu, P.A., and Shivanna, K.R. 2016. Mutualistic interactions between flowering plants and animals. Manipal universal press.

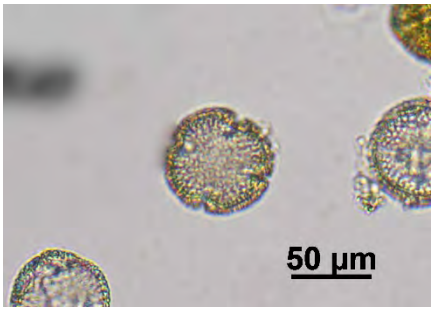
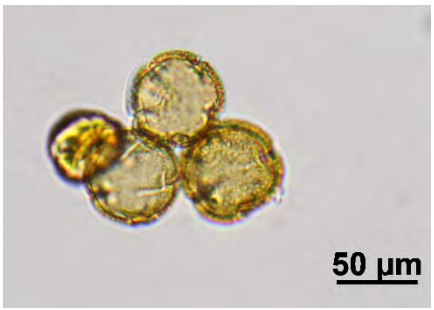
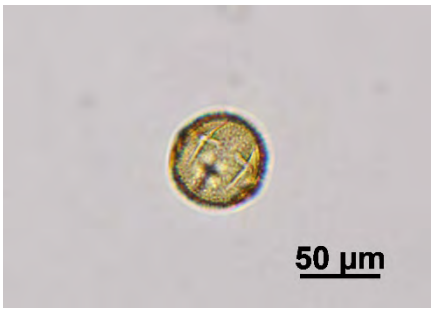
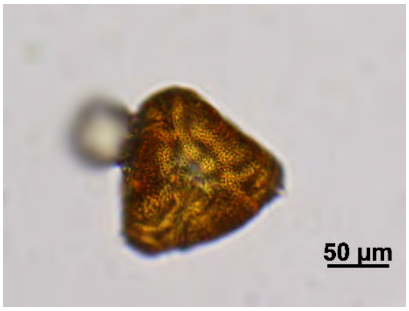
Dupree, S.C., Winston, M., Hergert, G., Jay, S. C., Nelson, D., Gates, J., Termeer, B. and Otis, G. 1995. A guide to managing bees for crop pollination. Canadian Association of Professional Apiculturists. British Columbia, Canada.

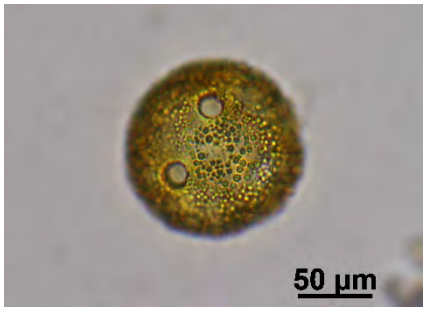
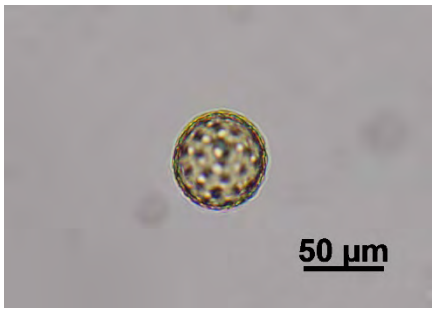
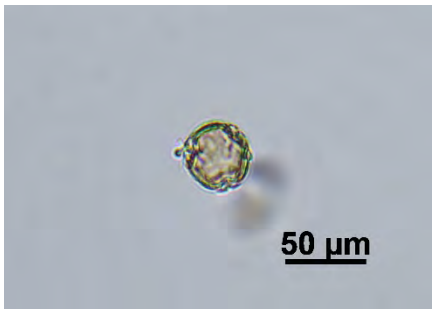
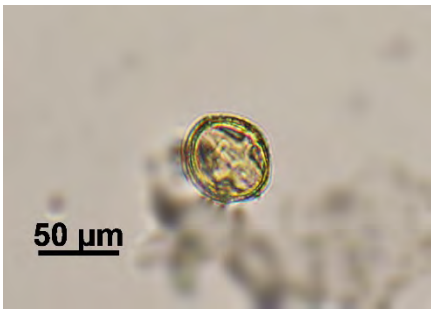
Thio, B.J., Clark, K.K., Keller, A.A., 2011. Magnetic pollen grains as sorbents for facile removal of organic pollutants in aqueous media. J. Hazard. Mater. 194, 53e61.

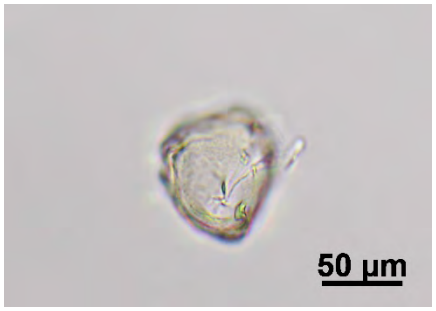
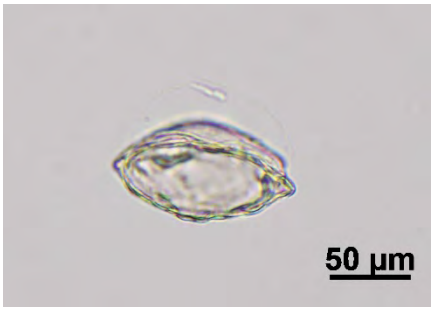
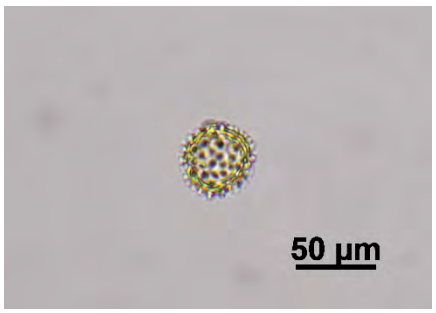
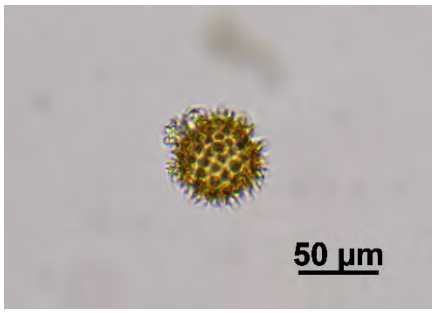
ภาคผนวก

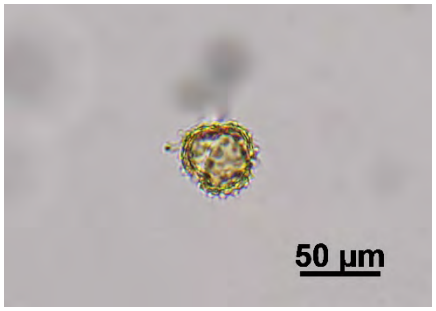
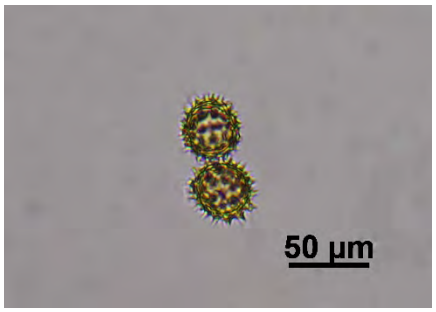
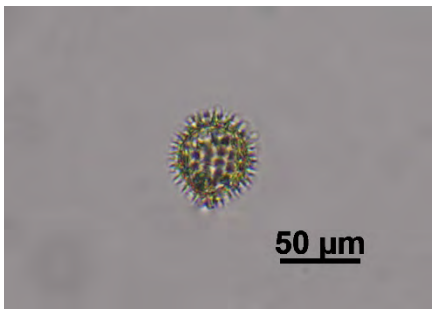
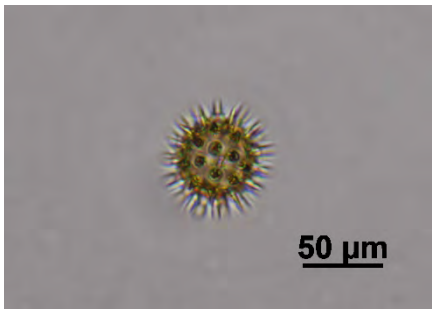
เกสรจากพืช (pollen plant references)

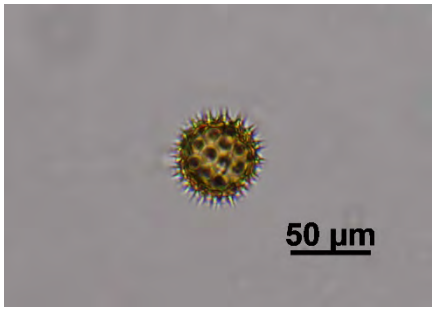
จากการเก็บพืชดอกที่คาดว่าจะเป็นแหล่งอาหารของผึ้งพันธุ์ มาผ่านกระบวนการ Acytolysis ได้เป็นเกสรของพืชแต่ละชนิด โดยมีเกสรจากพืช 57 ชนิดที่ได้จัดทำขึ้น ประกอบด้วยพืช 33 วงศ์ 54 สกุล

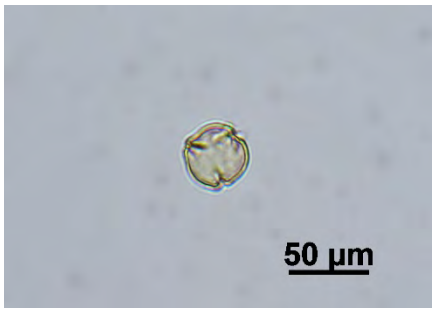
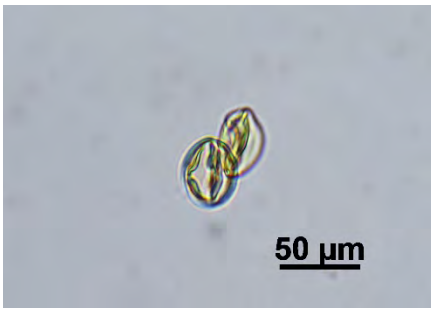
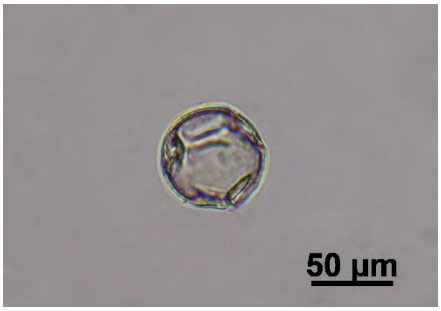
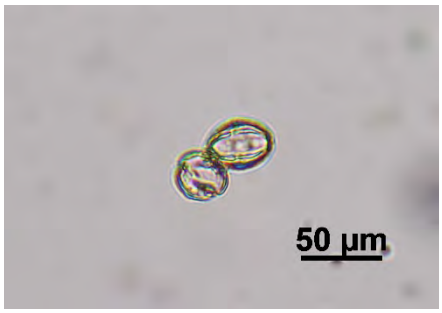
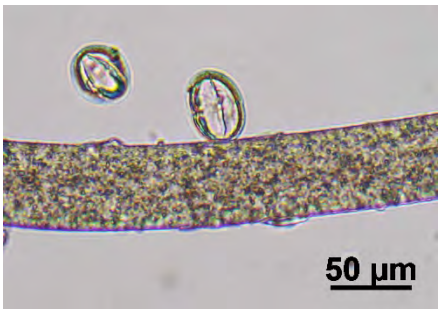
	Family	Genus/Species	polar view	equatorial view
1	Rutaceae	*Citrus limon*		
2	Rutaceae	*Citrus maxima*		
3	Acanthaceae	*Asystasia gangetica*		

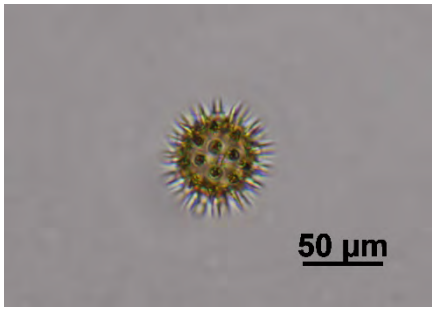
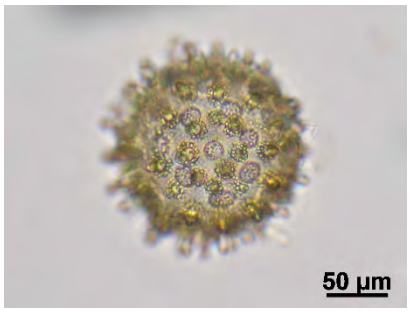
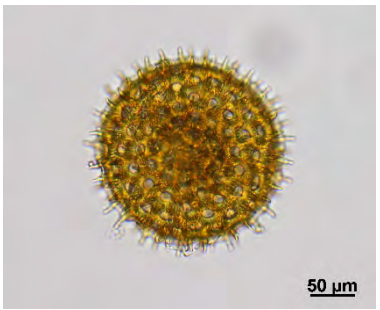
4	Alangiaceae	*Alangium*		
5	Amaranthaceae	*Amaranthus*		
6	Anacardiaceae	*Schinus*		
7	Anacardiaceae	*Mangifera*		

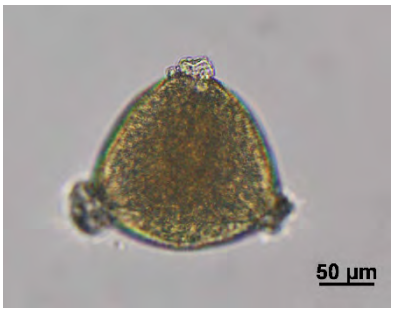
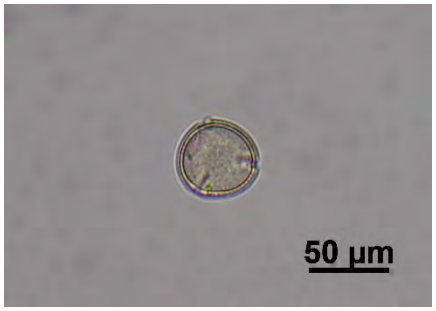
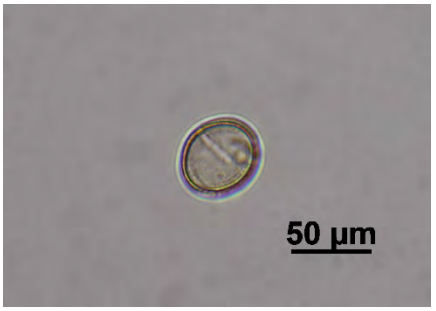
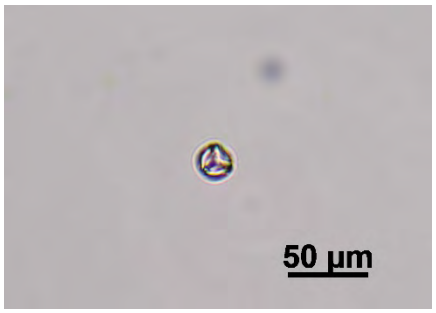
8	Arecaceae	*Cocos nucifera*		
9	Asteraceae	*Ageratum*		
10	Asteraceae	*Ageratina*		
11	Asteraceae	*Praxelis*		

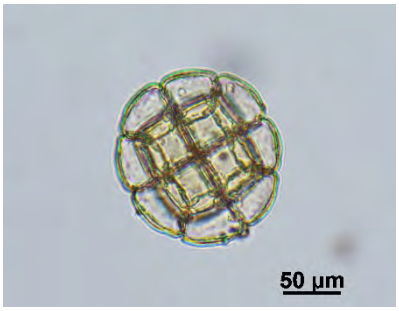
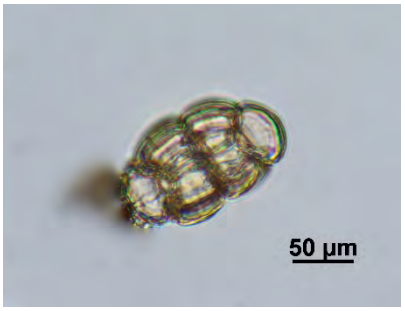
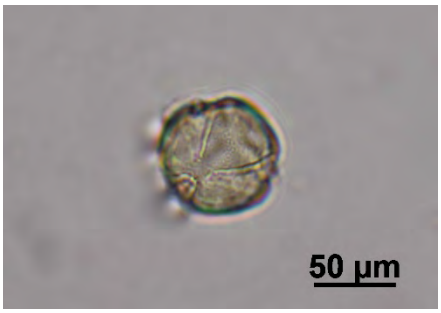
12	Asteraceae	*Chromolaena*		
13	Asteraceae	*Mikania*		
14	Asteraceae	*Tridax*		
15	Asteraceae	*Bidens*		

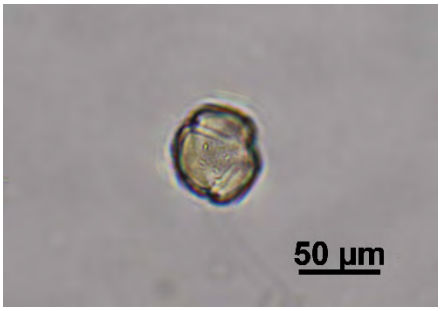
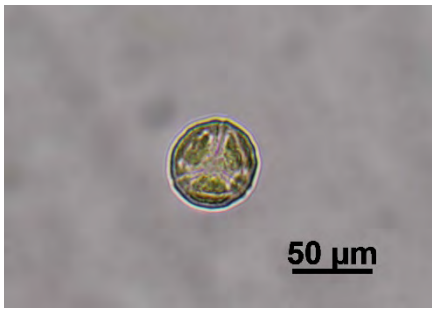
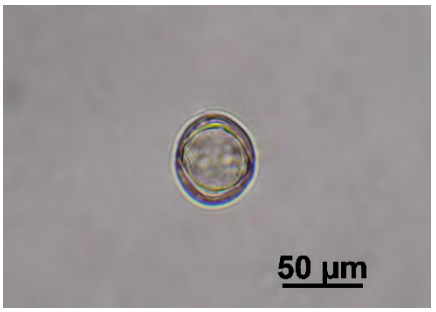
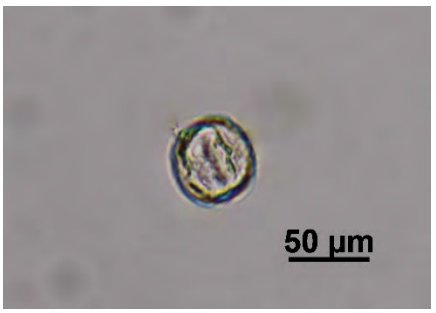
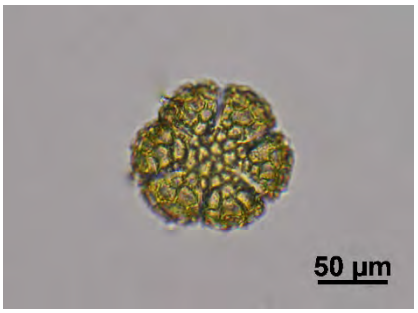
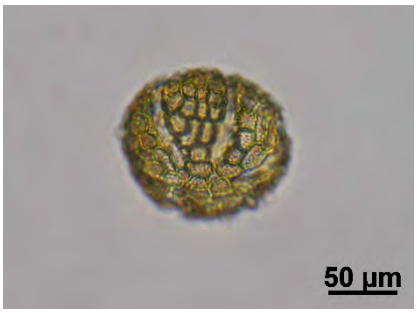
16	Asteraceae	*Zinnia*		
17	Bignoniaceae	*Tecoma*		
18	Bignoniaceae	*Spathodea*		
19	Bignoniaceae	*Crescentia*		

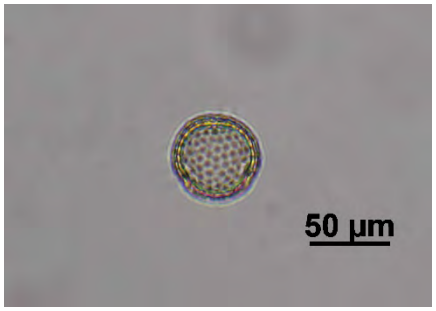
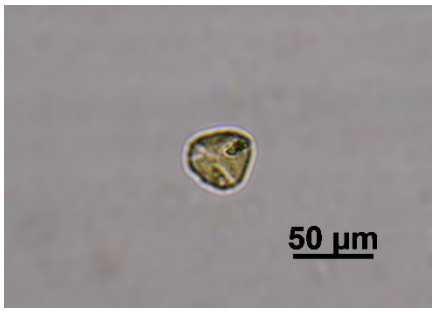
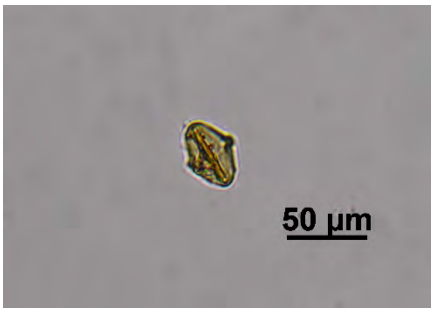
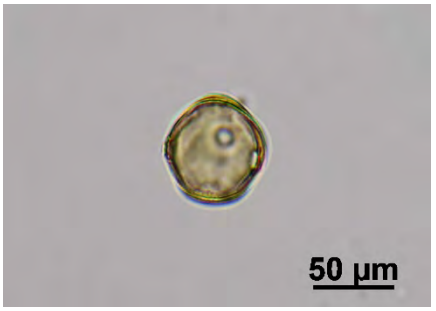
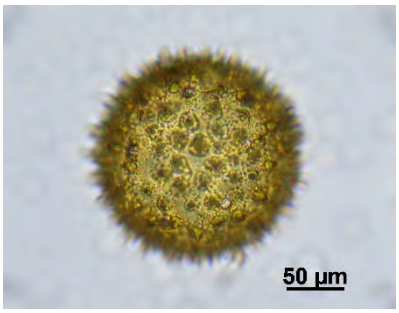
20	Bignoniaceae	*Millingtonia*		
21	Bixaceae	*Cochlospermum*		
22	Caricaceae	*Carica*		
23	Cleomaceae	*Cleome*		\ 

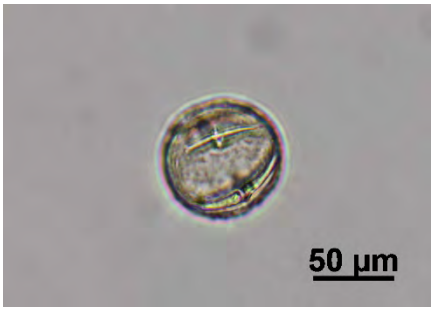
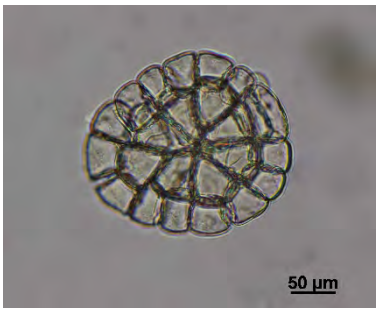
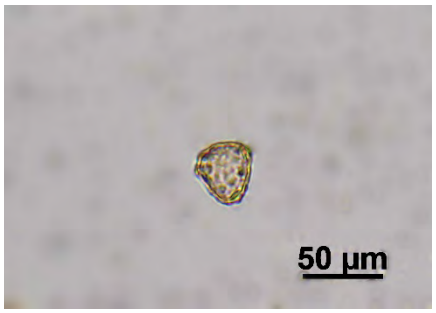
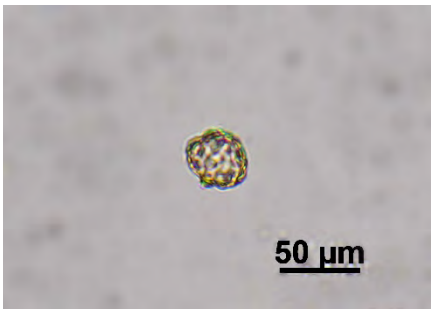
24	Compositae	*Cosmos*		
25	Convolvulaceae	*Camonea*		
26	Convolvulaceae	*Ipomoea alba*		
27	Convolvulaceae	*Ipomoea aquatica*		

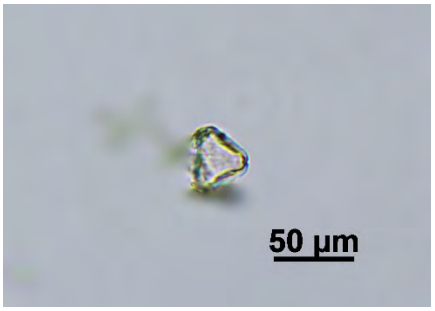
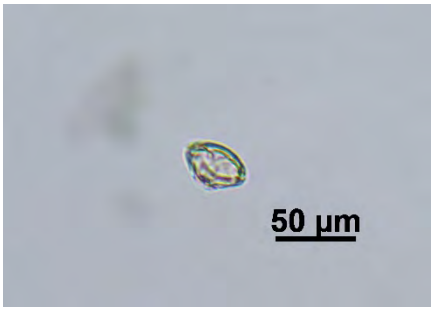
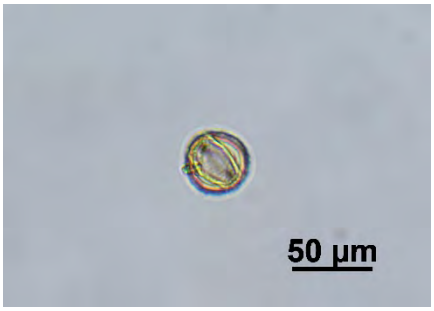
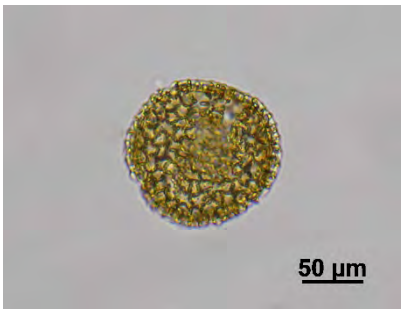
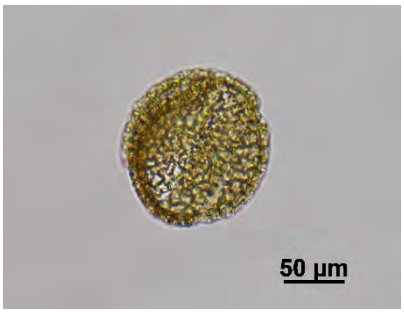
28	Cucurbitaceae	*Benincasa*		
29	Cucurbitaceae	*Luffa*		
30	Dilleniaceae	*Dillenia*		
31	Fabaceae	*Mimosa*		

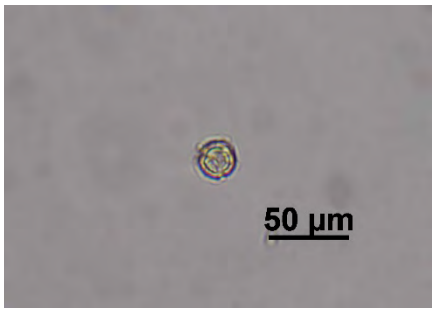
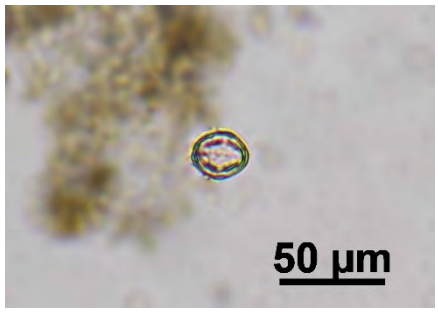
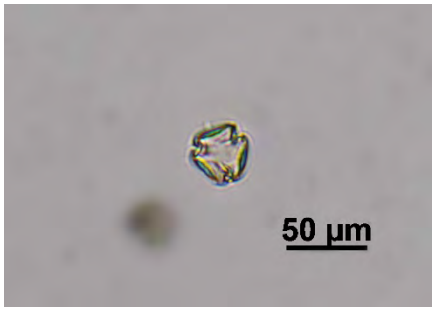
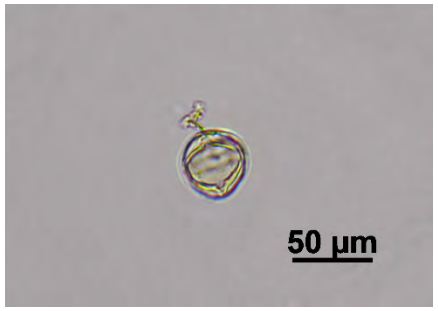
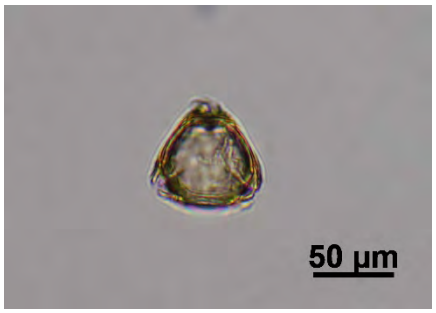
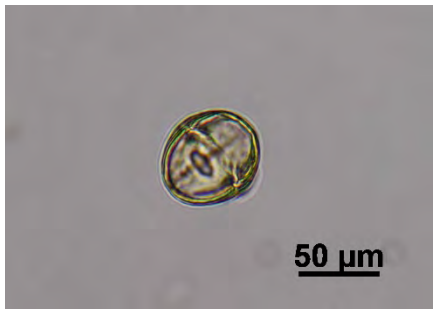
32	Fabaceae	*Leucaena*		
33	Fabaceae	*Bauhinia*		
34	Fabaceae	*Pithecellobium*		
35	Fabaceae	*Phyllocarpus*		

36	Fabaceae	*Cassia bakeriana*		
37	Fabaceae	*Cassia grandis*		
38	Fabaceae	*Millettia*		
39	Labiatae	*Ocimum*		

40	Lauraceae	*Persea*		
41	Lythraceae	*Cuphea*		
42	Lythraceae	*Lagerstroemia*		
43	Malvaceae	*Sida*		

44	Meliaceae	*Azadirachta*		
45	Minosoideae	*Samanea*		
46	Moringaceae	*Moringa*		
47	Myrtaceae	*Psidium*		

48	Myrtaceae	*Callistemon*		
49	Nymphaeaceae	*Nymphaea*		
50	Oxalidaceae	*Averrhoa*		
51	Passifloraceae	*Passiflora*		

52	Polygonaceae	*Antigonon*		
53	Salicaceae	*Flacourtia*		
54	Sapindaceae	*Litchi*		
55	Sapotaceae	*Mimusops*		

56	Solanaceae	*Solanum torvum*		
57	Solanaceae	*Solanum melongena*