

บทที่ 4

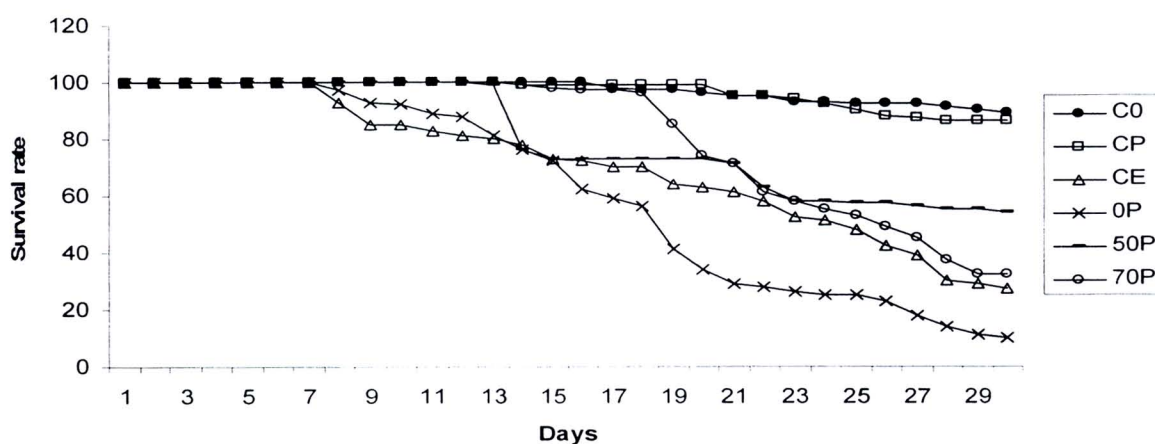
ผลการศึกษา

Results

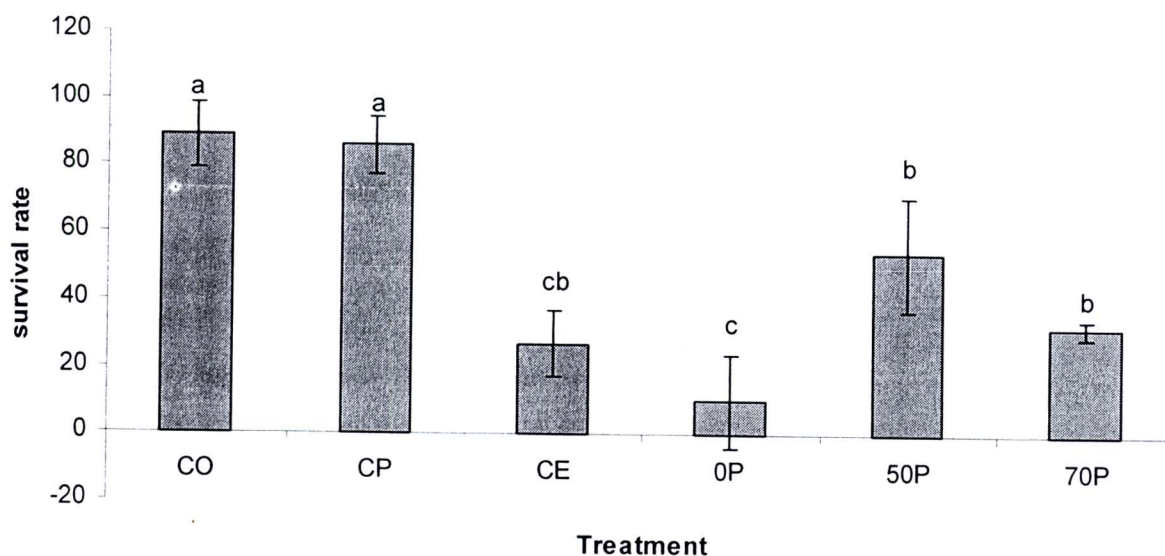
4.1 ผลของพรอปอลิสที่มีต่ออัตราการรอดชีวิต การติดเชื้อ ร้อยละการติดเชื้อภายในเซลล์ และค่าโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งมัม (Effect of propolis on honeybee survival rate, infectivity, infection rate, infection ratio and protein content of hypopharyngeal glands of *Apis florea*)

4.1.1 อัตราการรอดชีวิตของผึ้งมัม (Survival rate of *A. florea*)

การรอดชีวิตของผึ้งมัม คือ $89\% \pm 9.89$ $86\% \pm 8.48$ $27\% \pm 9.89$ $10\% \pm 14.14$ $54\% \pm 16.97$ และ $32\% \pm 2.8$ ในกลุ่ม CO CP CE OP 50P และ 70P ตามลำดับ กลุ่มที่ให้พรอปอลิส 50P มีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่ม OP และ CE ส่วน 70P มีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่ม OP แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่ม CE กลุ่มที่มีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุดคือ OP อย่างไรก็ตามกลุ่มที่มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดคือ CO ซึ่งไม่แตกต่างกับกลุ่ม CP ($F_5=16.60$, $P<0.0019$) ดังรูปที่ 4.1 และ รูปที่ 4.2



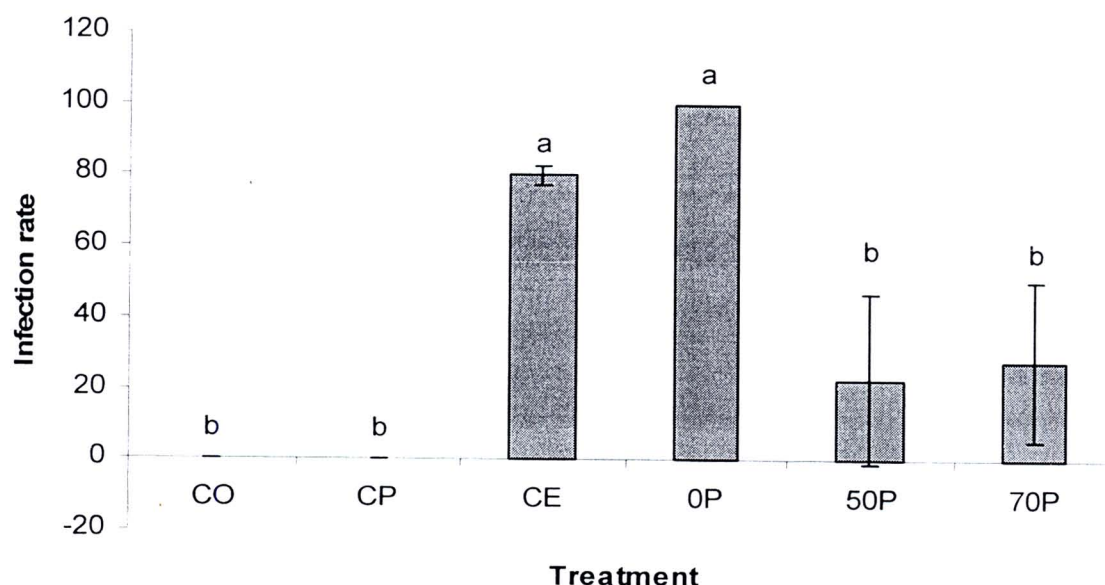
รูปที่ 4.1 แสดงอัตราการรอดชีวิตผึ้งมัม (*A. florea*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอปอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพรอปอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพรอปอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP เป็นระยะเวลา 30 วัน (ANOVA- Duncan's multiple range test, ($F_5=16.60$, $P<0.0019$))



รูปที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของผึ้งมัม (*A. florea*) หลังจากทำการบ่อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพอร์พอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพอร์พอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพอร์พอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP เป็นระยะเวลา 30 วัน (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5 = 16.60$, $P < 0.0019$)

4.1.2 อัตราการติดเชื้อของผึ้งมัม (Infection rate of *A. florea*)

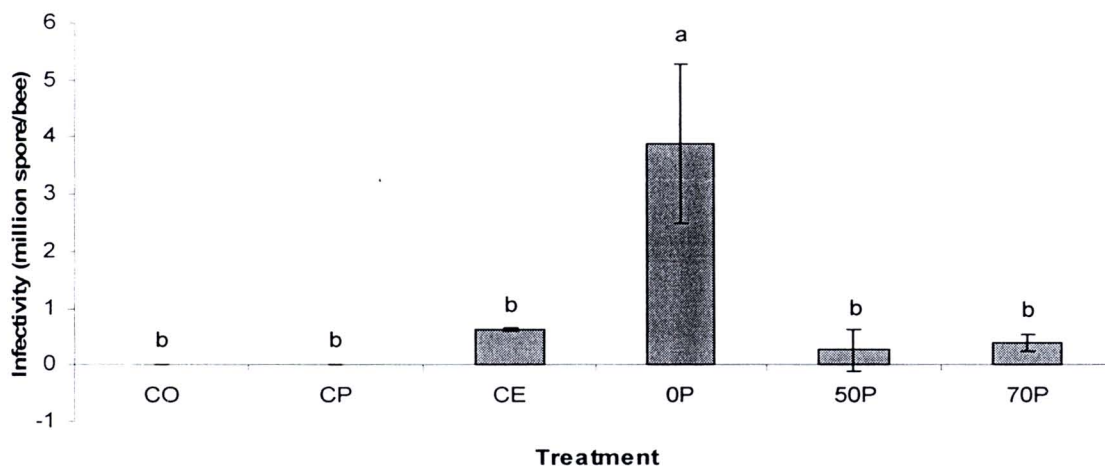
ผึ้งในกลุ่ม CO และ CP ไม่พบติดเชื้อการติดเชื้อตลอดการศึกษาและในกลุ่มทดลองทั้งหมดพบการติดเชื้อโนซีมา อัตราการติดเชื้อในกลุ่ม OP CE 50P และ 70P คือ 100% 80% $\pm$ 2.82 23% $\pm$ 24.04 และ 28% $\pm$ 22.63 ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า กลุ่ม OP และ CE ไม่มีความแตกต่างกันแต่แตกต่างกับกลุ่ม CO CP 50P และ 70P อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5 = 19.28$, $P < 0.0012$) อย่างไรก็ตามอัตราการติดเชื้อสูงที่สุดพบในกลุ่ม OP ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยการติดเชื้อคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของผึ้งมัม (*A. florea*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพอร์พอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพอร์พอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพอร์พอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5 = 19.28$, $P < 0.0012$)

4.1.3 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์/ตัวของผึ้งมัม (Infectivity of *A. florea*)

ผึ้งในกลุ่มควบคุมไม่พบการติดเชื้อตลอดการศึกษา (CO และ CP) ผึ้งในกลุ่มที่ให้เชื้อสามารถตรวจพบได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบค่าเฉลี่ย $0.631 \times 10^6 \pm 0.028$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0.002 \times 10^6 - 2.535 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) $3.896 \times 10^6 \pm 1.403$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0.013 \times 10^6 - 10.695 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) $0.265 \times 10^6 \pm 0.363$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0.002 \times 10^6 - 2.490 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) และ $0.394 \times 10^6 \pm 0.163$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0.003 \times 10^6 - 1.35 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) ผึ้งในกลุ่ม CE OP 50 และ 70P ตามลำดับ กลุ่มที่พบการติดเชื้อต่อตัวสูงที่สุดคือ OP ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5 = 12.76$, $P < 0.0038$) ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมัม (*A. florea*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพอร์พอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพอร์พอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพอร์พอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5 = 12.76$, $P < 0.0038$)

ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมัม ในกลุ่ม CO CP CE 0P 50P และ 70P

ตารางที่ 4.1 กลุ่ม CO คือ ผึ้งมัมที่ป้องกันสารละลายชูโครส 50% (ละลายในน้ำกลั่น) และให้อาหารคือ pollen mix เตรียม pollen 60 กรัม ผสมกับสารละลายชูโครส 50% (ละลายในน้ำกลั่น) ปริมาตร 17 มิลลิลิตร

กลุ่ม	จำนวนสปอร์ต่อตัว (×10 ⁶ สปอร์/ตัว)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CO1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CO2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

ตารางที่ 4.4 กลุ่ม OP คือ ผีที่มีที่ป้อนสารละลายยุงโครส 50% (ละลายในน้ำกลั่น) มีสปอร์ Nosema 80,000 สปอร์ และให้อาหารคือ pollen mix เตรียม pollen 60 กรัม ผสมกับสารละลายยุงโครส 50% (ละลายในน้ำกลั่น) ปริมาตร 17 มิลลิลิตร

กลุ่ม	จำนวนสปอร์ต่อตัว ($\times 10^6$ สปอร์/ตัว)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
OP1	0.034	0.030	0.615	0.370	1.610	0.350	0.965	0.845	8.100	2.245
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	3.165	3.975	0.610	3.895	1.855	0.855	2.860	0.715	2.050	7.990
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	2.445	0.910	0.535	0.230	3.110	5.830	2.015	2.155	3.985	2.270
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	3.535	3.835	2.550	5.565	5.085	4.310	3.520	1.780	1.155	8.095
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	5.810	0.020	2.265	2.615	0.013	2.456	8.225	9.707	1.580	6.400
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
OP2	0.053	0.056	1.820	0.010	2.570	4.425	7.500	2.200	0.485	5.690
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	2.130	2.190	8.800	5.470	2.870	0.395	5.265	7.200	5.865	4.585
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	3.805	2.145	0.820	6.900	2.155	4.690	4.825	13.500	9.385	5.815
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	7.495	3.980	6.630	5.170	5.585	4.440	20.400	8.610	4.485	17.700
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	0.090	10.695	4.595	3.070	1.570	0.985	1.140	9.985	1.725	1.810

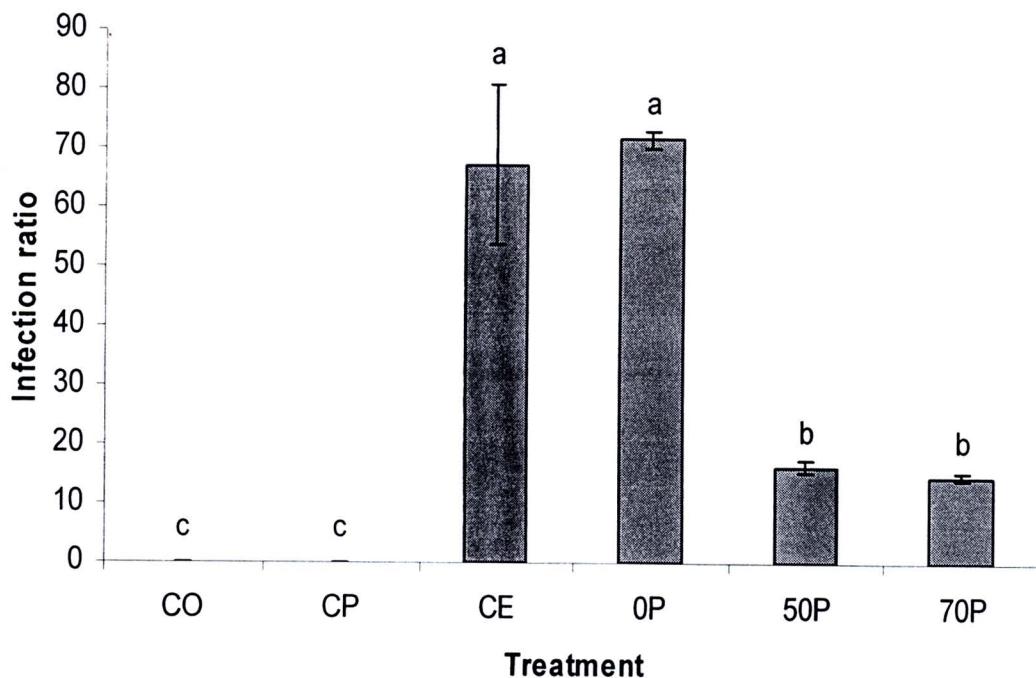


ตารางที่ 4.5 กลุ่ม 50P คือ ผงมิมิที่ป้อนสารละลายซูโครส 50% (ละลายในน้ำกลั่น) มีสปอร์ Nosema 80,000 สปอร์ และให้อาหารคือ pollen mix เตรียม 60 กรัม ผสมกับสารละลายซูโครส 50% (ละลายในพรอพอลิส 50%) ปริมาตร 17 มิลลิลิตร

กลุ่ม	จำนวนสปอร์ต่อตัว ($\times 10^6$ สปอร์/ตัว)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
50P1	0.008	0.007	0.005	0	0.003	0.002	0.005	0	1.285	0
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	0	0	1.760	0	0	0.005	0.012	2.490	0	0
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	3.600	0	0	0.015	0.004	0	0.009	0	0.009	0
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	0	0.005	0	0	0	0	0	0	0	0
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	0	0	0.002	0	0	0	0.003	0	1.185	0
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
50P2	0	0	0	0	0	0.013	0	0	0	0
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	0.008	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	0	0	0	0	0.003	0	0	0	0	0
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

4.1.4 ร้อยละของเซลล์ที่ติดเชื้อและเซลล์ไม่ติดเชื้อ (Infection ratio) วันที่ 14 หลังจากให้เชื้อของ ผีเสื้อ (Infection ratio of *A. florea*)

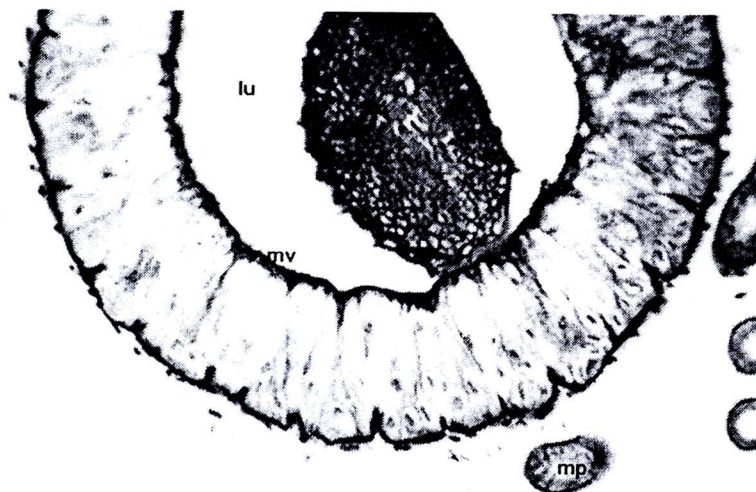
กลุ่ม CO และ CP ไม่พบการติดเชื้อภายในเซลล์ และพบการติดเชื้อภายในเซลล์ ในกลุ่ม CE OP 50P และ 70P คือ $67.23\% \pm 13.68$ $71.53\% \pm 1.6$ $16.40\% \pm 0.98$ และ $14.73\% \pm 0.62$ ตามลำดับ กลุ่ม OP ติดเชื้อภายในเซลล์สูงที่สุดและไม่แตกต่างกันกับกลุ่ม CE ทั้ง OP และ CE แตกต่างกับกลุ่ม 50P และ 70P อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5 = 66.69$, $P < 0.0001$) อย่างไรก็ตามเซลล์ที่ติดเชื้อระหว่าง 50P และ 70P ไม่แตกต่างกัน



รูปที่ 4.5 แสดงร้อยละของเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของผีเสื้อ (*A. florea*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมา (วันที่ 14) ที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพวพอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพวพอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5 = 66.69$, $P < 0.000$)

ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopic study) ผังมีมในลุ่มควบคุม (CO)

ไม่พบการติดเชื้อในชีมาในผังกลุ่มควบคุม เซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของผังมีรูปร่างเป็นแท่งทรงกระบอก (columnar) และบริเวณส่วนยอดของเซลล์มี microvilli อยู่หนาแน่น ส่วนรูปร่างของนิวเคลียสเป็นรูปไข่อยู่บริเวณฐานของเซลล์ จะสังเกตเห็นทางเดินอาหารส่วนกลางมีลักษณะโค้งงอขึ้นลง (folding)



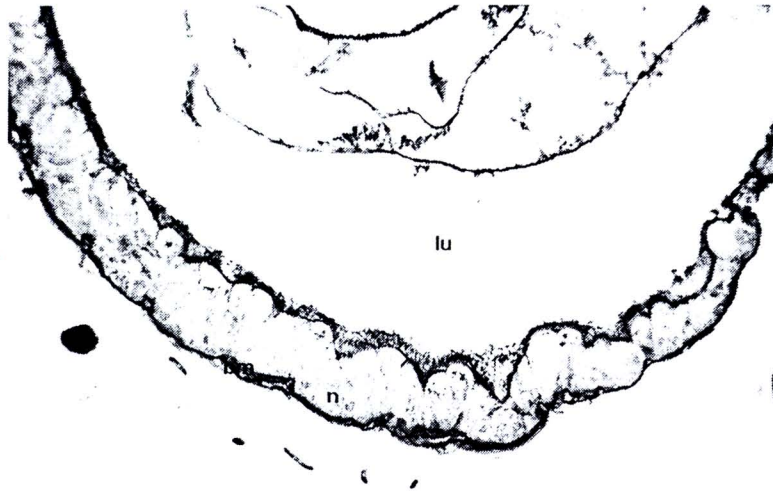
รูปที่ 4.6 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผังงานของผังมีมกลุ่มควบคุมในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; mv, microvilli; mp, malpighian tubule)



รูปที่ 4.7 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผังงานของผังมีมกลุ่มควบคุมในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 1000x) (lu, lumen; mv, microvilli; bm, basement membrane; n, nucleus)

ผังมิมในกลุ่มควบคุม (CP)

ไม่พบการติดเชื้อโนซีมาในผังมิมกลุ่ม CP เซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของผังมิมมีรูปร่างเป็นแท่งทรงกระบอก (columnar) และบริเวณส่วนยอดของเซลล์มี microvilli อยู่หนาแน่น ลักษณะเหมือนกับกลุ่ม CO ส่วนรูปร่างของนิวเคลียสเป็นรูปไข่อยู่บริเวณฐานของเซลล์



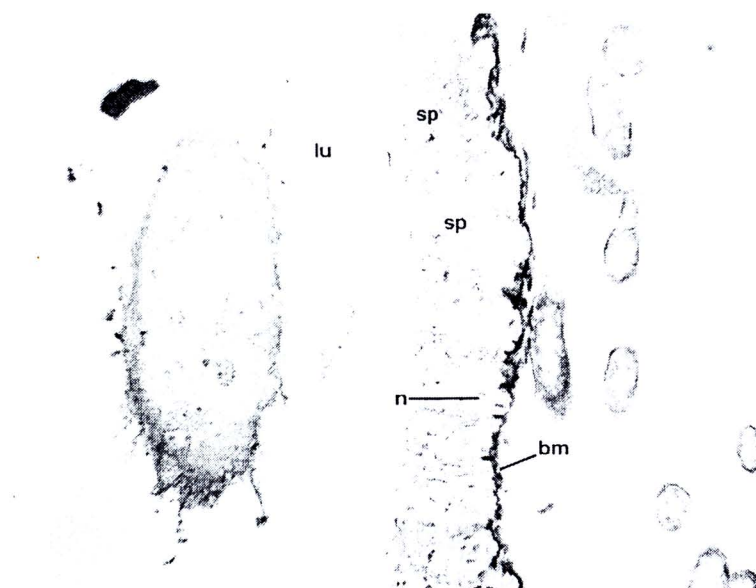
รูปที่ 4.8 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผังมิมงานของผังมิมกลุ่ม CP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; n, nucleus)



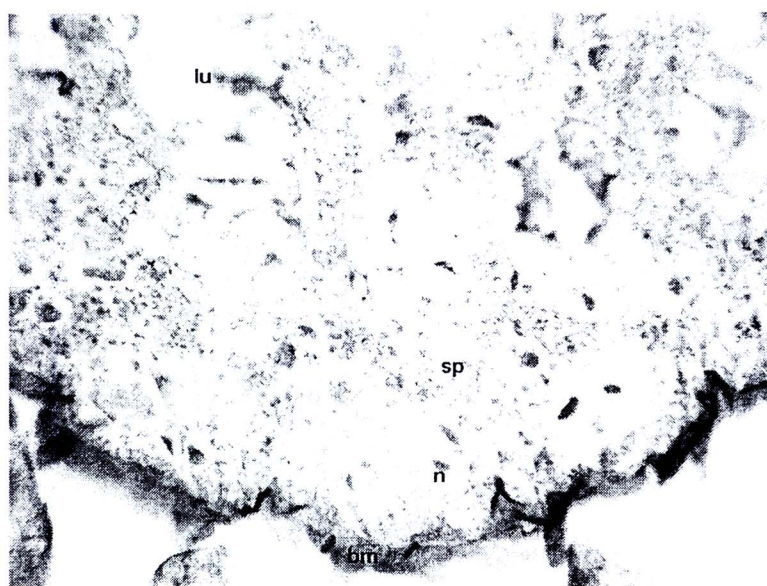
รูปที่ 4.9 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผังมิมงานของผังมิมกลุ่ม CP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 1000x) (lu, lumen; mv, microvilli; bm, basement membrane; n, nucleus)

ผนังม้ามในกลุ่ม (CE)

โครงสร้างของเซลล์ได้รับความเสียหายจากการติดเชื้อสามารถพบสปอร์โนซีมาได้ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของผนังและที่บริเวณปลายอิสระของเซลล์เสียหาย บริเวณส่วนยอดของเซลล์เยื่อบุผิวที่ติดเชื้อได้รับความเสียหาย และไซโตพลาสซึมขยายใหญ่ขึ้น



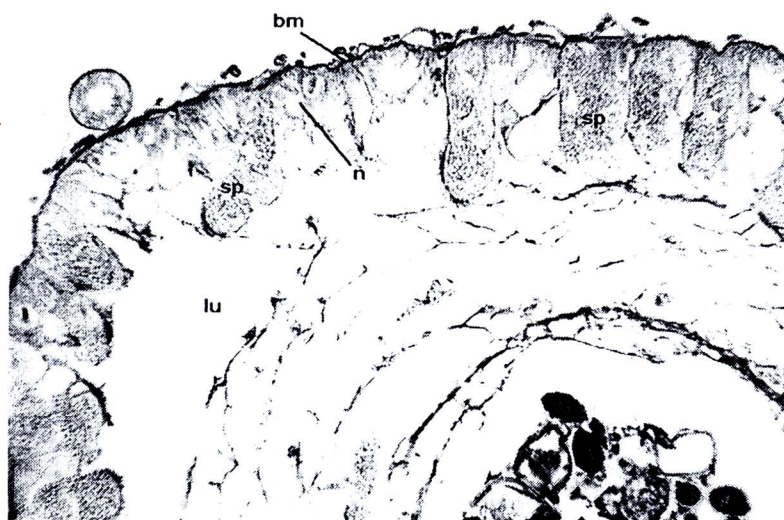
รูปที่ 4.10 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผนังงานของผนังม้ามกลุ่ม CE ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)



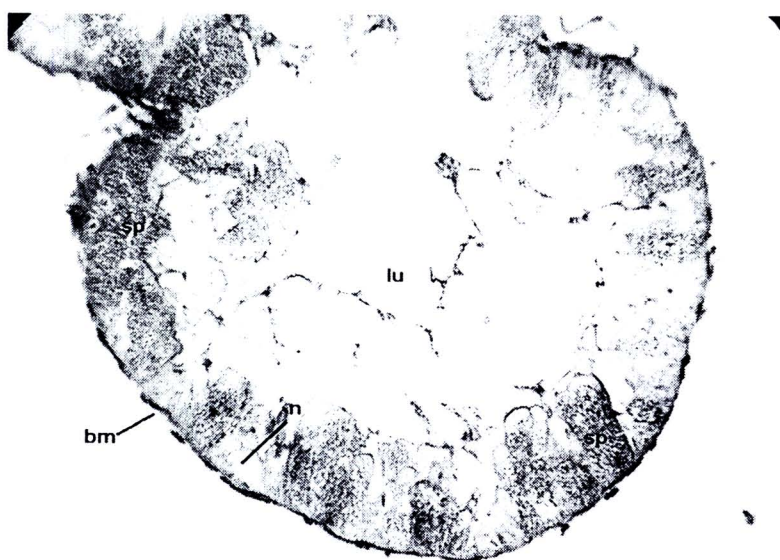
รูปที่ 4.11 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผนังงานของผนังม้ามกลุ่ม CE ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 1000x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)

ฝั่มมิมในกลุ่ม (OP)

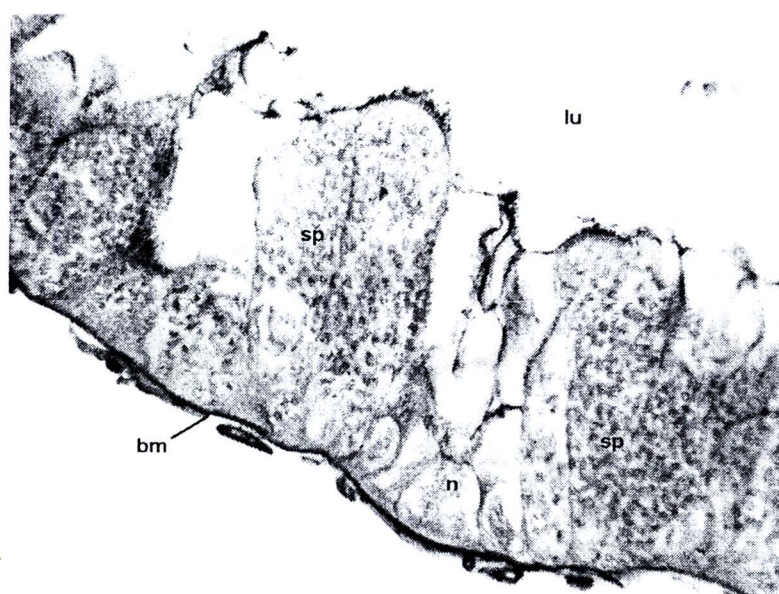
สามารถพบสปอร์โนซีมาได้ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มมิม สังเกตเห็นสปอร์ที่เจริญเต็มที่แล้ว (mature spores) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ทางเดินอาหารของฝั่มมิมที่ติดเชื้อมาก่อน นอกจากนี้ยังพบว่า microvilli ที่บริเวณปลายอิสระของเซลล์เสียหาย บริเวณส่วนยอดของเซลล์เยื่อบุผิวที่ติดเชื้อมีความเสียหาย และไซโตพลาสซึมขยายใหญ่ขึ้นซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับกลุ่ม CE อย่างไรก็ตามตามเซลล์ทางเดินอาหารบางเซลล์ไม่ติดเชื้อมีพบได้ใกล้กับกลุ่มเซลล์ที่ติดเชื้อ



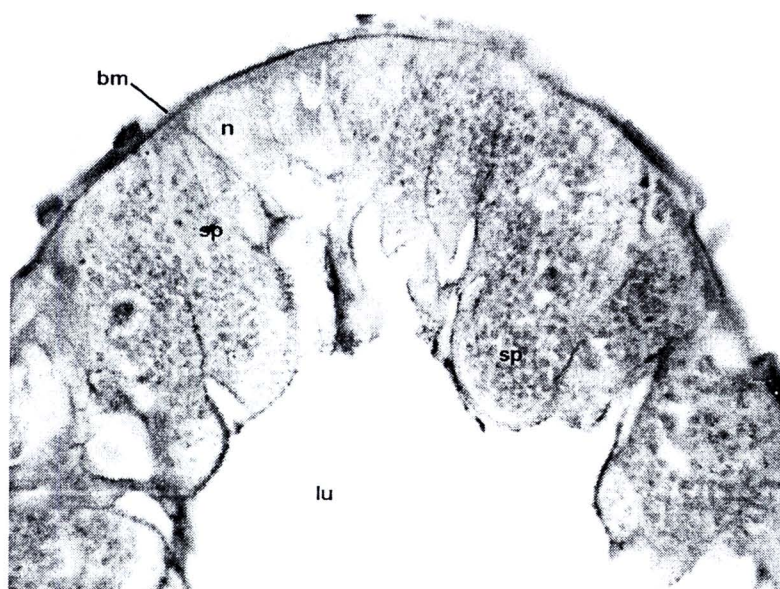
รูปที่ 4.12 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มมิมกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)



รูปที่ 4.13 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มมิมกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)



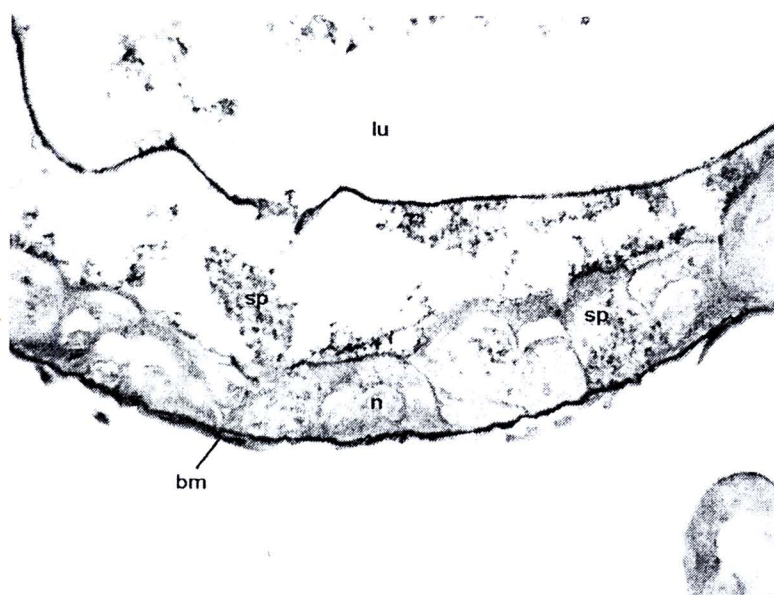
รูปที่ 4.14 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่งงานของฝั่งมี้มกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 1000x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)



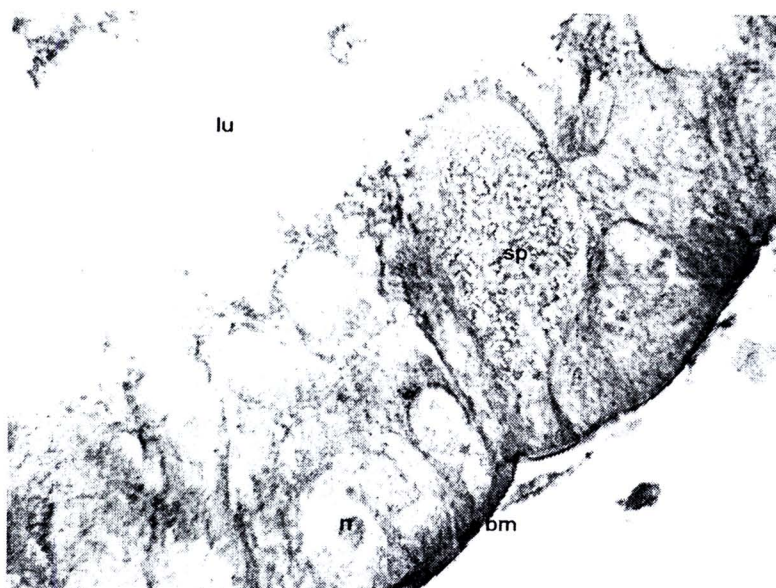
รูปที่ 4.15 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่งงานของฝั่งมี้มกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 1000x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)

ผนังมีมในกลุ่ม (50P)

สามารถพบสปอร์โนซีมาได้ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งบางเซลล์ โครงสร้างของเซลล์ได้รับความเสียหายไม่มากเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม OP



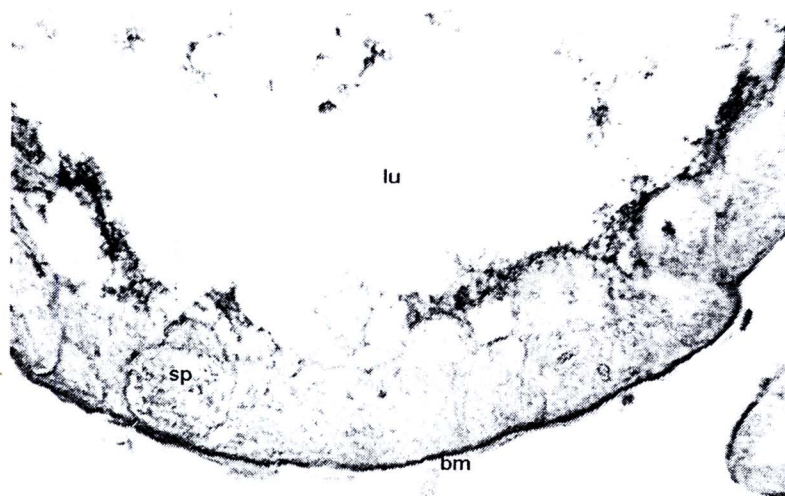
รูปที่ 4.16 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมีมกลุ่ม 50P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)



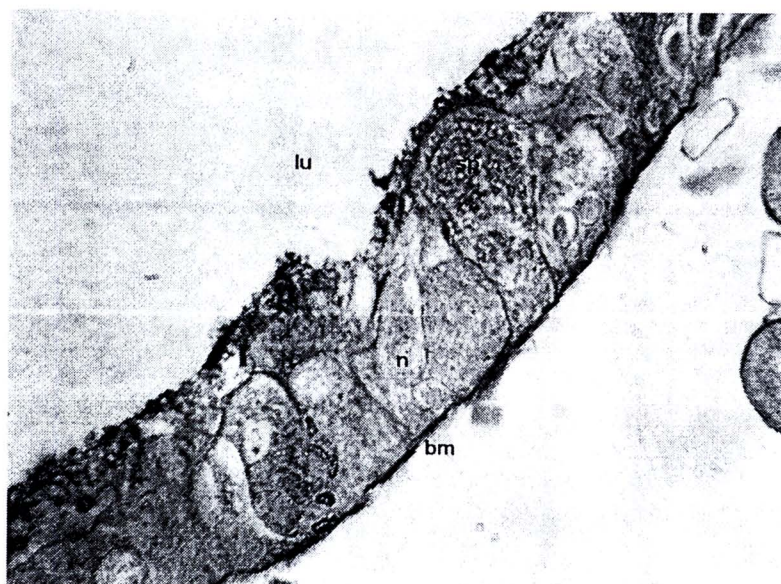
รูปที่ 4.17 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมีมกลุ่ม 50P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 1000x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)

ฝั่มมึ่มในกุ่ม (70P)

พบสปอร์โนซีมาในไซโตพลาสซึมของเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มบางเซลล์เช่นเดียวกับกุ่ม 50P



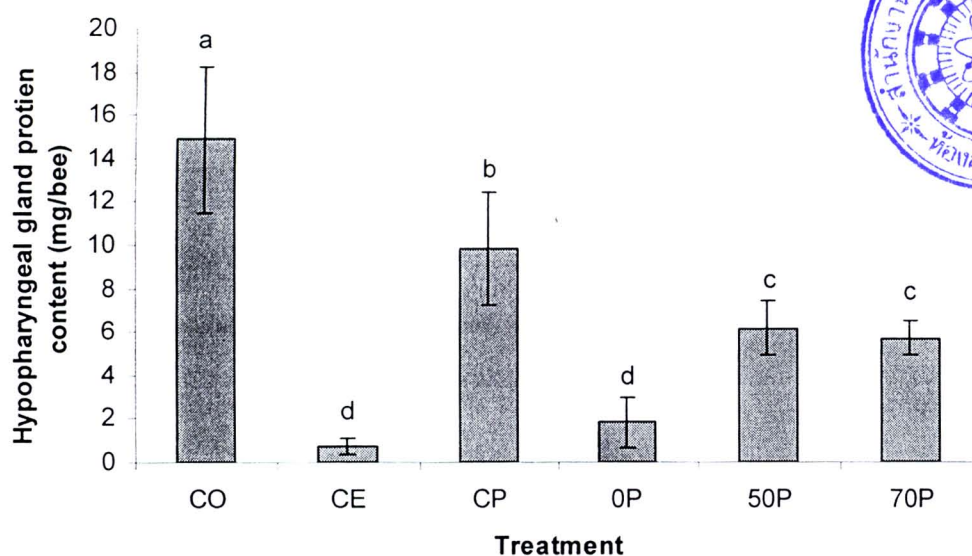
รูปที่ 4.18 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มมึ่มกุ่ม 70P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)



รูปที่ 4.19 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มมึ่มกุ่ม 70P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง (PAS, 400x) (lu, lumen; sp, spores; bm, basement membrane; n, nucleus)

4.1.5 โปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งมัม (Protein contents of hypopharyngeal glands of *A. florea*)

ค่าเฉลี่ยของโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งมัมในวันที่ 14 หลังจากผึ้งติดเชื้อ คือ 14.86 ± 3.35 มิลลิกรัม/ตัว 0.77 ± 0.36 มิลลิกรัม/ตัว 9.88 ± 2.61 มิลลิกรัม/ตัว 1.81 ± 1.16 มิลลิกรัม/ตัว 6.15 ± 1.27 มิลลิกรัม/ตัว และ 5.68 ± 0.76 มิลลิกรัม/ตัว ในกลุ่ม CO CP CE OP 50P และ 70P ตามลำดับ กลุ่ม CO มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด กลุ่ม 50P และ 70P มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันและทั้งสองกลุ่มยังมีปริมาณโปรตีนมากกว่ากลุ่ม CE และ OP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5 = 21.25$, $P < 0.0001$)

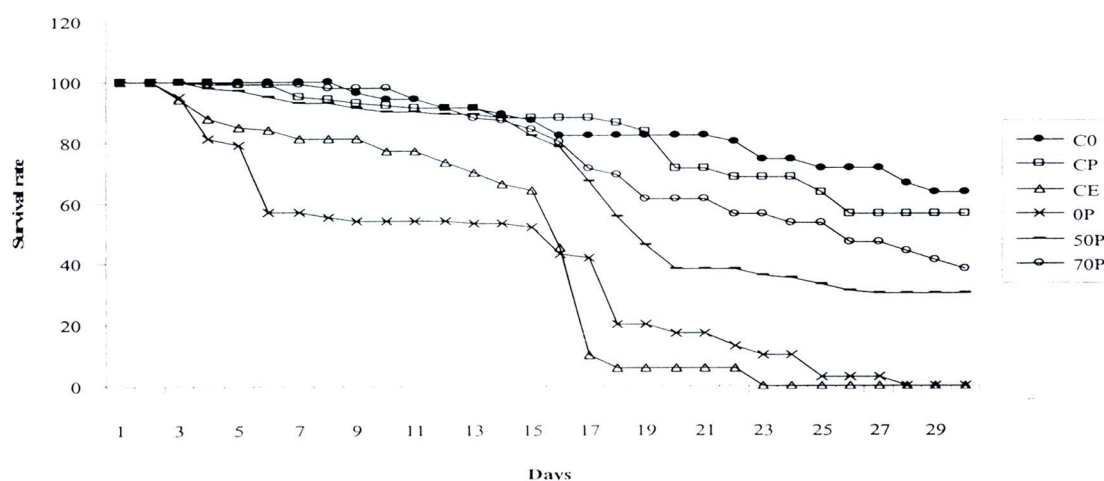


รูปที่ 4.20 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีน (มิลลิกรัมต่อตัว) จากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งมัมในวันที่ 14 หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพวอพอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพวอพอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5 = 21.25$, $P < 0.0001$)

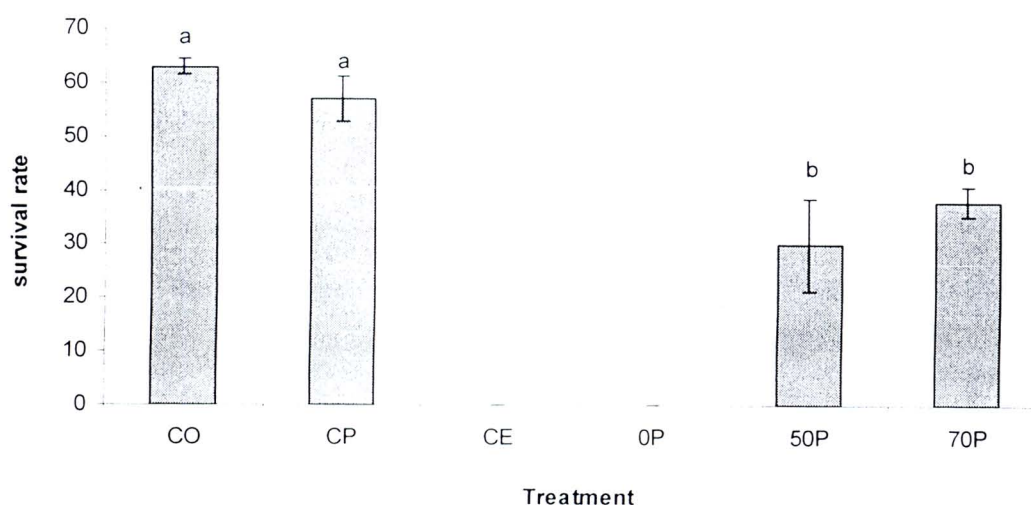
4.2 ผลของพรอพอลิสที่มีต่ออัตราการรอดชีวิต การติดเชื้อ ร้อยละการติดเชื้อภายในเซลล์ และค่าโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งโพรง (Effect of propolis on honeybee survival rate, infectivity, infection rate, infection ratio and protein content of hypopharyngeal glands of *Apis cerana*)

4.2.1 อัตราการรอดชีวิตของผึ้งโพรง (Survival rate of *A. cerana*)

ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตหลังจากการป้อนเชื้อโนซีมาเป็นระยะเวลา 30 วัน จากการทดลองพบว่าผึ้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อโนซีมาจะเริ่มพบการตายเร็วกว่ากลุ่มควบคุม โดยเริ่มพบการตายของผึ้งในวันที่ 3 หลังจากการป้อนเชื้อแล้วในขณะที่กลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม (CO และ CP) เริ่มพบการตายของผึ้งในวันที่ 7 และ 9 นอกจากนี้ยังพบว่าผึ้งในกลุ่มทดลอง CE และ OP ตายหมดทุกตัวในวันที่ 24 และ 28 ของการทดลอง ทั้งสองกลุ่มมีอัตราการรอดชีวิตเป็น 0% ในขณะที่กลุ่ม 50P และ 70P มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่ม CO และ CP โดยมีอัตราการรอดชีวิตดังนี้คือ $30 \pm 8.48\%$ และ $38 \pm 2.42\%$ ตามลำดับ แต่เมื่อนำอัตราการรอดชีวิตของกลุ่ม 50P และ 70P เทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม (CO และ CP) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่า ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิต $63 \pm 1.41\%$ และ $57 \pm 4.24\%$ และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5=88.11, P<0.0001$) ดังรูปที่ 4.21 และ รูปที่ 4.22



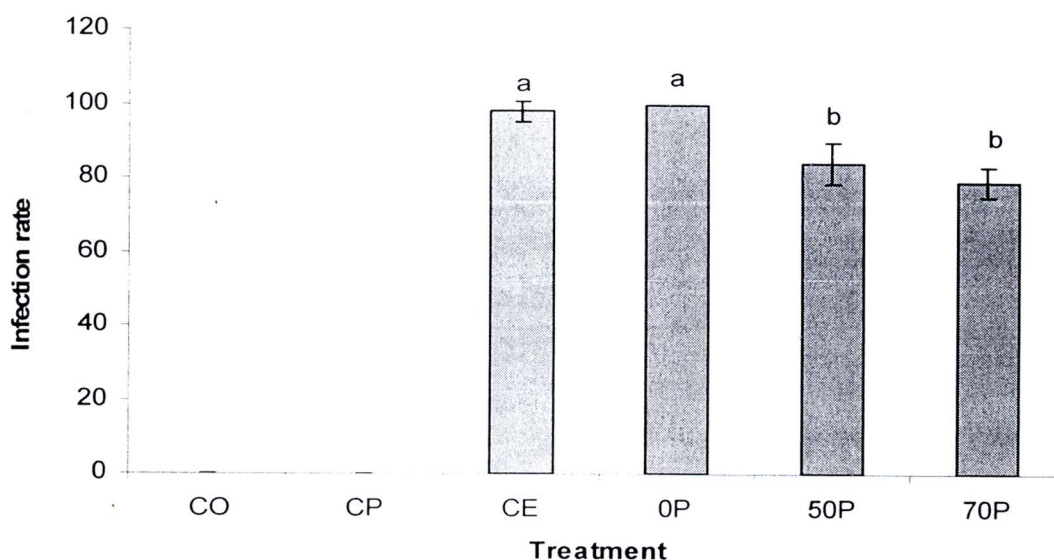
รูปที่ 4.21 แสดงอัตราการรอดชีวิตผึ้งโพรง (*A. cerana*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพรอพอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพรอพอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP เป็นระยะเวลา 30 วัน (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5=88.11, P<0.0001$)



รูปที่ 4.22 แสดงค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของผึ้งโพรง (*A. cerana*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้ สารละลายพวพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพวพอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพวพอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP เป็นระยะเวลา 30 วัน (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5=88.11$, $P<0.0001$)

4.2.2 อัตราการติดเชื้อของผึ้งโพรง (Infection rate of *A. cerana*)

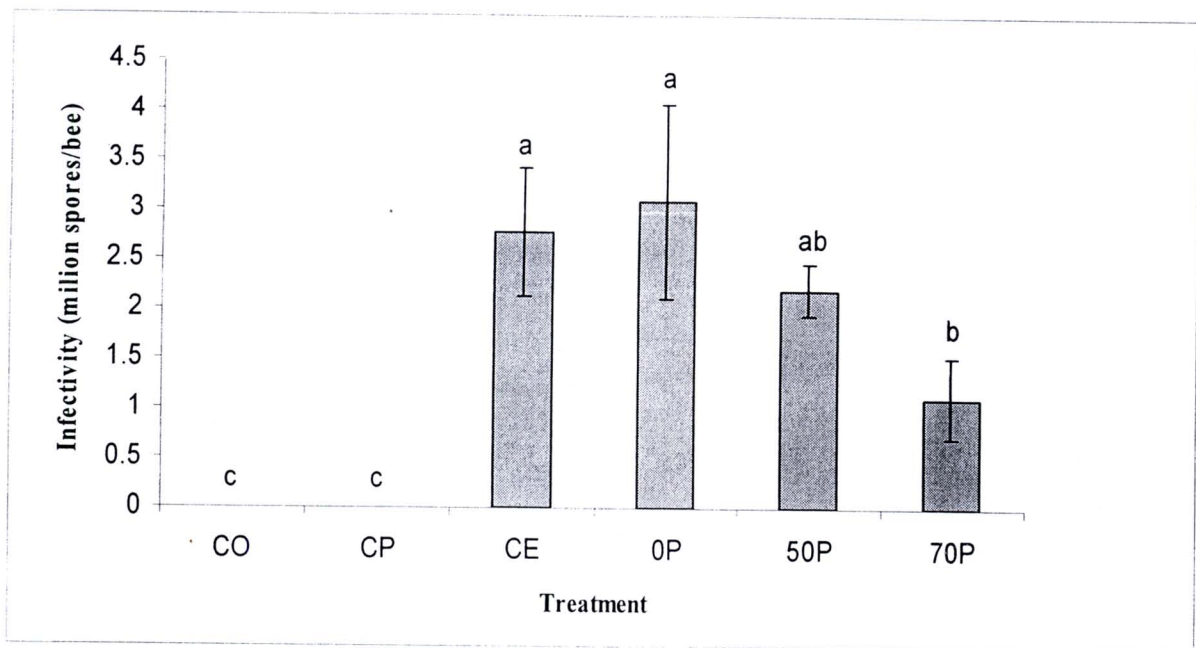
จากการศึกษาอัตราการติดเชื้อพบว่าตลอดระยะการศึกษาผึ้งในกลุ่ม CO และ CP ไม่พบการติดเชื้อ ในขณะที่เดียวกันผึ้งในกลุ่มทดลองที่เหลือทั้งหมด คือกลุ่ม CE OP 50P และ 70P พบการติดเชื้อโนซีมา ทุกกลุ่มโดยมี อัตราการติดเชื้อตามลำดับดังนี้ คือ $98 \pm 2.82\%$ 100% $84 \pm 5.65\%$ และ $79 \pm 4.24\%$ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าในกลุ่ม OP มีอัตราการติดเชื้อสูงสุด แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าอัตราการติดเชื้อของผึ้งในกลุ่ม OP และ CE ไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบทั้งสองกลุ่มนี้กับผึ้งในกลุ่ม 50P และ 70P ที่ได้รับสารสกัดพวพอลิสหลังการติดเชื้อพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5=462.66$, $P<0.0001$) ดังรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.23 แสดงค่าเฉลี่ยการติดเชื้อคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของผึ้งโพรง (*A. cerana*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพอร์พอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพอร์พอลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพอร์พอลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5=462.66$, $P<0.0001$)

4.2.3 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์/ตัวของผึ้งโพรง (Infectivity of *A. cerana*)

จากการศึกษาปริมาณการติดเชื้อหรือจำนวนสปอร์เฉลี่ยต่อตัวบริเวณทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งโพรง (*A. cerana*) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าผึ้งในกลุ่มควบคุมคือ กลุ่ม CO และ CP ไม่พบการติดเชื้อตลอดการศึกษา ส่วนผึ้งในกลุ่มที่ให้เชื้อกลุ่มต่างๆ สามารถตรวจพบจำนวนสปอร์เฉลี่ยต่อตัวได้ตามลำดับดังนี้ คือกลุ่ม CE พบค่าเฉลี่ย $2.77 \times 10^6 \pm 0.64$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0 - 20.325 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) กลุ่ม OP มีค่าเฉลี่ยการติดเชื้ออยู่ที่ $3.08 \times 10^6 \pm 0.98$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0.032 \times 10^6 - 47.70 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) กลุ่ม 50P มีค่าเฉลี่ย $2.19 \times 10^6 \pm 0.26$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0 - 9.88 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) และกลุ่ม 70P มีค่าเฉลี่ย $1.1086 \times 10^6 \pm 0.405$ (ช่วงค่าเฉลี่ยของการติดเชื้อ $0 - 10.175 \times 10^6$ สปอร์/ตัว) ซึ่งพบว่าเป็นกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ยการติดเชื้อน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกับกลุ่ม 50P แต่มีความแตกต่างกับกลุ่ม CE และกลุ่ม OP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_5=13.82$, $P<0.0030$) ส่วนกลุ่มที่พบการติดเชื้อต่อตัวสูงที่สุดคือ OP ดังรูปที่



รูปที่ 4.24 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรง (*A. cerana*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวอพลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพวอพลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพวอพลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5=13.82$, $P<0.0030$)

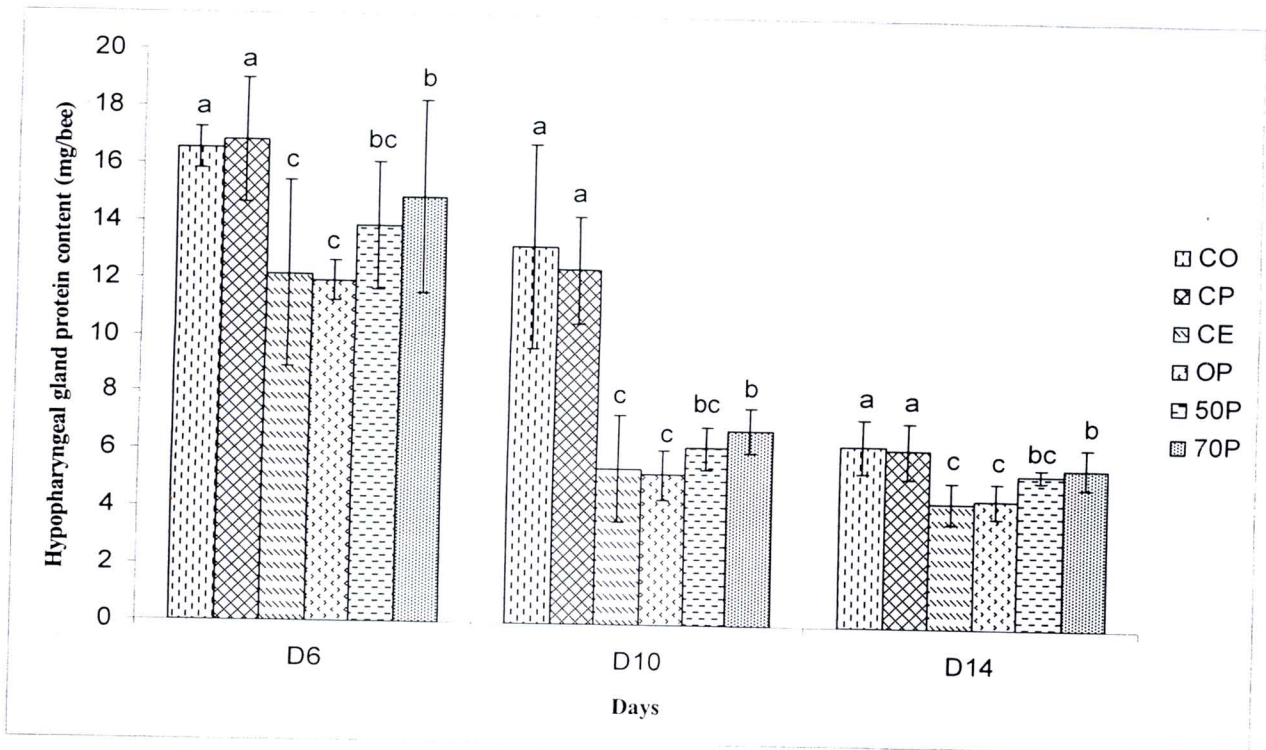
ตารางที่ 4.12 กลุ่ม 70P คือ ผังโครงที่ป้อนสารละลายซูโครส 50% (ละลายในน้ำกลั่น) มีสปอร์ Nosema 80,000 สปอร์ และให้อาหารคือ pollen mix เติรียม pollen 60 กรัม ผสมกับสารละลายซูโครส 50% (ละลายในพรอพอลิส 70%) ปริมาตร 17 มิลลิลิตร

กลุ่ม	จำนวนสปอร์ต่อตัว ($\times 10^6$ สปอร์/ตัว)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
70P1	0.150	1.035	0.045	0.890	4.300	3.730	0	0	0.225	0
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	0.109	0.325	1.305	4.280	0	0.123	1.910	1.320	10.175	0.020
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	0	0.020	0	0.222	0	0.462	0.075	0.525	0.615	0.240
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	0.360	0.055	0.840	1.055	0	0.975	0	0	2.115	0.225
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	1.56	0.028	0	0	0.59	0.108	0.130	0.027	0.212	0.730
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
70P2	3.155	2.285	0.485	5.545	0.560	0.640	0.695	2.505	0.835	2.425
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	5.790	1.815	0.610	6.515	1.185	4.310	0.0625	5.230	0.470	0
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	0	0	0.294	0.540	0.085	0.814	0.220	1.08	0.375	0.130
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	0	1.175	0	0.925	0	0	2.15	12.00	0.30	0.21
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	0.517	0.342	0.016	0	0	2.257	0.017	0.43	0.28	0.475



4.2.4 โปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งโพรง (Protein contents of hypopharyngeal glands of *A. cerana*)

การศึกษาปริมาณโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งโพรงในวันที่ 6 10 และ 14 หลังจากผึ้งติดเชื้อ พบว่าปริมาณโปรตีนของทุกกลุ่มการทดลองมีค่าเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 6 และลดลงเมื่อจำนวนวันเพิ่มขึ้น เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณโปรตีนรวมของทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณสูงกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับวันที่ 10 และ 14 ($F_2=117.54$, $P<0.0001$) และเมื่อแยกวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่พบในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่าในกลุ่มควบคุม CO และ CP มีปริมาณโปรตีนสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ แต่ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันโดยปริมาณโปรตีนเฉลี่ยของต่อมไฮโปฟาริงค์ของ CO มีดังนี้ คือวันที่ 6 มีค่าเฉลี่ย 16.54 ± 0.72 มิลลิกรัม/ตัว วันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย 13.21 ± 3.55 มิลลิกรัม/ตัว และวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 6.34 ± 0.94 มิลลิกรัม/ตัว กลุ่ม CP มีค่าเฉลี่ยในวันที่ 6 16.84 ± 2.117 มิลลิกรัม/ตัว วันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย 12.41 ± 1.87 มิลลิกรัม/ตัว และวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 6.23 ± 0.98 มิลลิกรัม/ตัว ส่วนในกลุ่มผึ้งที่ได้รับสารพรวพอลิสคือกลุ่ม 50P และ 70P มีปริมาณโปรตีนรองลงมาจากกลุ่มควบคุมและสูงกว่ากลุ่ม CE และ OP โดยแต่ละกลุ่มมีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยดังนี้คือ กลุ่ม 50P มีค่าเฉลี่ยในวันที่ 6 13.89 ± 2.23 มิลลิกรัม/ตัว วันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย 6.23 ± 0.75 มิลลิกรัม/ตัว และวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 5.44 ± 0.24 มิลลิกรัม/ตัว กลุ่ม 70P มีค่าเฉลี่ยในวันที่ 6 14.9 ± 3.38 มิลลิกรัม/ตัว วันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย 6.88 ± 0.79 มิลลิกรัม/ตัว และวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 5.64 ± 0.69 มิลลิกรัม/ตัว กลุ่ม CE มีค่าเฉลี่ยในวันที่ 6 12.15 ± 3.26 มิลลิกรัม/ตัว วันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย 5.47 ± 1.89 มิลลิกรัม/ตัว และวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 4.4 ± 0.75 มิลลิกรัม/ตัว และกลุ่มสุดท้ายกลุ่ม OP มีค่าเฉลี่ยในวันที่ 6 11.94 ± 0.68 มิลลิกรัม/ตัว วันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย 5.28 ± 0.87 มิลลิกรัม/ตัว และวันที่ 14 มีค่าเฉลี่ย 4.51 ± 0.24 มิลลิกรัม/ตัว ($F_5=12.64$, $P<0.0001$) ดังแสดงในรูปที่ 4.25



รูปที่ 4.25 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีน (มิลลิกรัมต่อตัว) จากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งโพรงในวันที่ 6 10 และ 14 หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอพออลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ความเข้มข้น 0% (OP) ความเข้มข้น 50% (50P) และความเข้มข้น 70% (70P) และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้สารละลายพรอพออลิส 2 กลุ่ม คือ control (CO) and control ethanol (CE) และกลุ่มที่ให้สารละลายพรอพออลิสแต่ไม่ให้เชื้อคือกลุ่ม CP (ANOVA- Duncan's multiple range test, $F_5=12.64$, $P<0.0001$)