



245660

รายงานโครงการวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

ประจำปีงบประมาณ 2554 (ปีที่ 2)

เรื่อง

อัตราการติดเชื้อและผลของพรอพอลิสต่อการติดเชื้อ *Nosema ceranae* ของทางเดิน
อาหารส่วนกลางและต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งในประเทศไทย

Infection Ratio and Effect of propolis on the infectivity of *Nosema ceranae* of Midgut
and Hypopharyngeal Glands of Honeybees in Thailand.

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กันทิมา สุวรรณพงศ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

2554



รายงานโครงการวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

ประจำปีงบประมาณ 2554 (ปีที่ 2)

เรื่อง

อัตราการติดเชื้อและผลของพรอพอลิสต่อการติดเชื้อ *Nosema ceranae* ของทางเดิน
อาหารส่วนกลางและต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งในประเทศไทย

Infection Ratio and Effect of propolis on the infectivity of *Nosema ceranae* of Midgut
and Hypopharyngeal Glands of Honeybees in Thailand.

โดย



ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กันทิมา สุวรรณพงศ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

2554

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องนี้สำเร็จได้ด้วยดี โดยได้รับการสนับสนุนเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ 2554 ปีที่ 2 จากโครงการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากสภာวิจัยแห่งชาติที่กรุณาให้คำแนะนำการในเสนอโครงการวิจัย เจ้าหน้าที่ฝ่ายวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพาที่กรุณาให้ความสะดวกในการดำเนินการโครงการวิจัย ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้อ่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้วิจัยขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วยและยินดีรับข้อเสนอแนะด้วยความยินดี

กันทิมา สุวรรณพงศ์

หัวหน้าโครงการฯ

สิงหาคม 2554

บทคัดย่อ

245660

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของ *Nosema ceranae* ที่มีต่อผึ้งหลังติดเชื้อและสารสกัดพรอพอลิสจากชันโรง *Trigona apicallis* ที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดจันทบุรี ต่อการติดเชื้อโนซีมา ปริมาณเชื้อต่อตัว ร้อยละการติดเชื้อในเซลล์ อัตราการรอดชีวิต ปริมาณโปรตีนของต่อมไฮโปฟาริงค์ในผึ้งงานของผึ้งสองชนิดคือ ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) และผึ้งมิม (*Apis florea*) โดยให้สารสกัดพรอพอลิสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 50 (50P) และ ร้อยละ 70 (70P) หลังจากป้อนเชื้อโนซีมาที่ละลายในสารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50 (w/v) ด้วยเข็มฉีดยา (Dose) 40,000 สปอร์ ปริมาตร 2 ไมโครลิตรต่อตัว นำมาเลี้ยงในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ $33 \pm 2^\circ \text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 50 ± 5 พบว่าอัตราการติดเชื้อ ร้อยละการติดเชื้อภายในเซลล์ อัตราการตายของผึ้งทั้งสองชนิดในกลุ่มทดลองที่ป้อนเชื้อโนซีมาแต่ไม่ได้รับสารสกัดพรอพอลิส คือ กลุ่ม OP และกลุ่ม CE สูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม CO CP และกลุ่มที่ป้อนเชื้อแต่ได้รับสารสกัดพรอพอลิส คือ กลุ่ม 50P และ 70P แต่จากการศึกษาพบว่าระดับความเข้มข้นของพรอพอลิส ที่ร้อยละ 50 และ ร้อยละ 70 ให้ผลไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้จากการศึกษาปริมาณโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งทั้งสองชนิดหลังจากป้อนเชื้อโนซีมาและให้สารสกัดพรอพอลิส พบว่าเชื้อโนซีมาส่งผลให้ปริมาณโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์ในผึ้งทั้งสองชนิดลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ (กลุ่มควบคุม CO CP) และกลุ่มที่ป้อนเชื้อแต่ได้รับสารสกัดพรอพอลิส นอกจากนี้อัตราการติดเชื้อยังเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาหลังได้รับเชื้อด้วย จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดพรอพอลิสจากชันโรงชนิด *T. apicallis* ทำให้ลดอัตราการติดเชื้อ ร้อยละการติดเชื้อในเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางและลดอัตราการตายของผึ้งทั้งสองชนิด นอกจากนี้ทำให้ปริมาณโปรตีนจากต่อมไฮโปฟาริงค์สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ป้อนเชื้อแต่ไม่ได้รับสารสกัดพรอพอลิส

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญภาพ.....	จ-ช
สารบัญตาราง.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และขั้นตอนการวิจัย.....	12
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	24
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา.....	58
บรรณานุกรม.....	60
ภาคผนวก.....	71

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
4.1 แสดงอัตราการรอดชีวิตของฝั่ม (A. florea) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากฝั่มโพรง (A. cerana) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวพอลิสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	24
4.2 ค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของฝั่ม (A. florea) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากฝั่มโพรง (A. cerana) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัวและให้สารละลายพวพอลิสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	25
4.3 แสดงค่าเฉลี่ยการติดเชื้อคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของฝั่ม (A. florea) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากฝั่มโพรง (A. cerana) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวพอลิสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	26
4.4 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อตัวของฝั่ม (A. florea) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากฝั่มโพรง (A. cerana) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวพอลิสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	27
4.5 แสดงร้อยละของเซลล์ทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่ม (A. florea) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมา (วันที่14) ที่สกัดมาจากฝั่มโพรง (A. cerana) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพวพอลิสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	34
4.6 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มกลุ่มควบคุมวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x	35
4.7 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มกลุ่มควบคุมวันที่ 14 หลังจากการทดลอง1,000x	35
4.8 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มกลุ่ม CP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	36
4.9 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มกลุ่ม CP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 1000x.....	36
4.10 แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของฝั่มงานของฝั่มกลุ่ม CE ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	37

4.11	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม CE ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 1000x.....	37
4.12	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	38
4.13	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	38
4.14	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 1000x.....	39
4.15	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม OP ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 1000x.....	39
4.16	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม 50P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	40
4.17	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม 50P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 1000x.....	40
4.18	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม 70P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	41
4.19	แสดงทางเดินอาหารส่วนกลางของผึ้งงานของผึ้งมี้มกลุ่ม 70P ในวันที่ 14 หลังจากการทดลอง 400x.....	41
4.20	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีน (มิลลิกรัมต่อตัว) จากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งมี้มในวันที่ 14 หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรงด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	42
4.21	แสดงอัตราการรอดชีวิตผึ้งโพรง (<i>A. cerana</i>) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (<i>A. cerana</i>) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้ สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	43
4.22	แสดงค่าเฉลี่ยการรอดชีวิตคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของผึ้งโพรง (<i>A. cerana</i>) หลังจากทำการป้อน สปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (<i>A. cerana</i>) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้ สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ.....	44

- 4.23 แสดงค่าเฉลี่ยการติดเชื้อคิดเป็นร้อยละ $\pm$ SD ของผึ้งโพรง (*A. cerana*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 45
- 4.24 ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรง (*A. cerana*) หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 46
- 4.25 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นโปรตีน (มิลลิกรัมต่อตัว) จากต่อมไฮโปฟาริงค์ของผึ้งโพรงในวันที่ 6 10 และ 14 หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง (*A. cerana*) ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว และให้สารละลายพรอพอลิสที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ..... 54
- 5.1 แสดงอัตราการรอดชีวิตผึ้งมัมและผึ้งโพรง หลังจากทำการป้อนสปอร์ของเชื้อโนซีมาที่สกัดมาจากผึ้งโพรง ด้วยความเข้มข้นของสปอร์ 80,000 สปอร์ต่อตัว..... 59

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมิมในกลุ่ม CO.....	28
4.2 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมิมในกลุ่ม CP.....	29
4.3 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมิมในกลุ่ม CE.....	30
4.4 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมิมในกลุ่ม OP.....	31
4.5 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมิมในกลุ่ม 50P.....	32
4.6 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งมิมในกลุ่ม 70P.....	33
4.7 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรงในกลุ่ม CO.....	47
4.8 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรงในกลุ่ม CP.....	48
4.9 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรงในกลุ่ม CE.....	49
4.10 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรงในกลุ่ม OP.....	50
4.11 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรงในกลุ่ม 50P.....	51
4.12 ตารางแสดงจำนวนสปอร์ต่อตัวของผึ้งโพรงในกลุ่ม 70P.....	52
5.1 ผลของ <i>N. ceranae</i> ต่อผึ้งมิม <i>A.florea</i> วรรณะผึ้งงาน.....	58
5.2 ผลของ <i>N. ceranae</i> ต่อผึ้งโพรง <i>A.cerana</i> วรรณะผึ้งงาน.....	59