

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. โรคที่เกิดในผึ้ง (สิริวัฒน์, 2532)

1.1 โรคที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคตัวอ่อนเน่าอเมริกันหรือโรคอเมริกันฟาวล์ บรูด (American foulbrood) โรคตัวอ่อนเน่ายุโรป (European Foulbrood) และโรคเซปติซีเมีย (septicaemia) โรคตัวอ่อนเน่าอเมริกันเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Paenibacillus larvae* สามารถสังเกตอาการได้จากกลิ่นที่เหม็นเน่าก่อนข้างรุนแรง ตัวอ่อนที่ตายจากโรคนี้จะเน่าสลายและมีลักษณะเป็นยางเหนียว หากใช้ปลายไม้เล็กๆ เขี่ยและดึงออกมาจะยืดยาวได้ประมาณ 1 - 2.5 เซนติเมตร (Bailey, 1981; Gojmerac, 1980; Jaycox, 1976; Morse, 1975) และโรคที่เกิดจากแบคทีเรียและพบในประเทศไทยอีกหนึ่งโรค คือ โรคตัวอ่อนเน่ายุโรปเกิดจากเชื้อ *Melissococcus pluton* เป็นเชื้อที่ไม่สร้างสปอร์ รูปร่างกลมอยู่รวมกันเป็นสายเหมือนลูกปัดมีชีวิตได้ยาวนานประมาณ 3 ปี และสามารถเพิ่มจำนวนรวดเร็วในสภาพที่ไร้ออกซิเจน เช่น บริเวณช่องทางเดินอาหารของตัวอ่อนที่ได้รับเชื้อเข้าไปโดยการกิน (Bailey, 1981) ตัวอ่อนที่ตายด้วยโรคนี้ส่วนใหญ่มีอายุไม่เกิน 4 วัน นับจากฟักออกจากไข่ซึ่งเป็นระยะที่ยังคงขดตัวที่ก้นหลอดรวง แต่อาจพบตัวอ่อนในระยะที่กำลังจะปิดหลอดรวง และระยะดักแด้ก็เป็นโรคได้เช่นกัน (Jaycox, 1976) ตัวอ่อนของผึ้งบางตัวที่ได้รับเชื้อนี้อาจมีชีวิตรอดได้จนถึงระยะตัวเต็มวัยแต่จะไม่แข็งแรงและเป็นแหล่งแพร่เชื้อระบาดไปยังตัวอ่อนที่ไม่เป็นโรคได้โดยติดไปกับมูลของตัวที่เป็นโรคในขณะที่ผึ้งงานทำหน้าที่เคลื่อนย้ายตัวอ่อนที่ตายหรือในขณะที่ทำความสะอาดหลอดรวง ตัวอ่อนที่เป็นโรคเน่ายุโรปจะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองเทา หรือน้ำตาล มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวแต่ไม่มีลักษณะเป็นยางเหนียว เมื่อใช้ไม้เขี่ยลงบนหนอนที่กำลังเน่าสลายแล้วยกขึ้นช้า ๆ หนอนจะไม่ยืดติดออกมาเหมือนตัวอ่อนที่เน่าด้วยโรคเน่าอเมริกัน สำหรับโรคเซปติซีเมียนั้น เป็นโรคที่ไม่ค่อยมีความรุนแรงมากนัก สาเหตุมาจากการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียพวกซูดโมแนส (*Pseudomonas apisepitica*) ในเลือดและอาจพบเชื้อในท่อลมของตัวเต็มวัย ผึ้งที่เป็นโรคนี้จะมีอาการงอแงเปลี่ยน

1.2 โรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา ได้แก่ โรคชอล์คบรูด (chalkbrood disease) เกิดจากเชื้อรา *Ascosphaera apis* มีสปอร์สีเข้ม กระจุกสปอร์สีน้ำตาลเขียว โดยสปอร์จะงอกในสภาพเกือบไร้ออกซิเจน เช่น ช่องทางเดินอาหารของตัวอ่อน แต่เส้นใยของรา (mycelium) เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน สปอร์ปกติจะไม่ทำให้เกิดโรคนอกจากจะมีการเจริญ และเจริญได้ดีในอุณหภูมิตั้งแต่ 30 -

35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิปกติในรังผึ้ง ผึ้งที่ถูกทำลายมีทั้งระยะตัวอ่อนและระยะดักแด้ ตัวอ่อนที่มีอายุไม่เกิน 4 วัน จะไวต่อการเป็นโรคกว่าที่มีอายุมาก ๆ มีรายงานว่าตัวอ่อนของผึ้งตัวผู้มักเป็นโรคมมากกว่าตัวอ่อนของผึ้งงานอีกด้วย (Bailey, 1981; Furuya *et al.*, 1981) โรคนี้พบในประเทศไทยครั้งแรกในปี พ.ศ. 2530 ที่จังหวัดเชียงใหม่ และระบาดลงมาถึงจังหวัดพิษณุโลก ทำให้ประชากรผึ้งตัวผู้ลดลงมากในฤดูผสมพันธุ์ เป็นอุปสรรคต่อการขยายพันธุ์ผึ้งและขาดประชากรผึ้งเพื่อใช้ในการแยกรัง โดยผึ้งที่เป็นโรคนี้จะถูกปกคลุมด้วยเส้นใยของราสีขาว ด้านบนอาจเป็นจุดสีดำ ซึ่งเป็นสีของถุงสปอร์ ตัวอ่อนที่เป็นโรคของรานี้มีลักษณะคล้ายมัมมี่ หรือคล้ายเศษขี้ผึ้ง มัมมี่หนึ่งตัวมีสปอร์ราประมาณ 3.15×10^3 สปอร์ รังที่ติดโรคอย่างรุนแรงมาก อาจพบตัวอ่อนเป็นก้อนขนาด 0.6 - 0.8 เซนติเมตร วางเกลื่อนบริเวณฐานรังและปากทางเข้าออก

2. โรคของผึ้งที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส

เชื้อไวรัสที่แยกได้จากผึ้งและจากสภาพแวดล้อมของผึ้ง เช่น เกสรในรังผึ้ง ส่วนใหญ่เป็นพวกที่มีสารพันธุกรรมเป็น RNA มีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่มีสารพันธุกรรมเป็น DNA คือ filamentous virus และ *Apis iridescent virus* ผึ้งที่เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสนั้น ส่วนใหญ่มักแสดงอาการคล้ายคลึงกัน คือ เป็นอัมพาต ไม่สามารถเคลื่อนไหวทำกิจกรรมใด ๆ ได้ (ทิพย์วดี, 2549) โดยเชื้อไวรัสในผึ้งที่มีการศึกษาในงานวิจัยนี้มีอยู่ด้วยกัน 6 ชนิด ได้แก่ Acute bee paralysis virus, Black queen cell virus, Chronic bee paralysis virus, Deformed wing virus, Kashmir bee virus และ Sacbrood virus ซึ่งทั้งหมดมีสารพันธุกรรมเป็น Single-stranded positive RNA มีอนุภาคไวรัสเป็นรูปลูกบาศก์ มีขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 30 นาโนเมตร และไม่มี envelope (ตาราง 1 และภาพ 1)

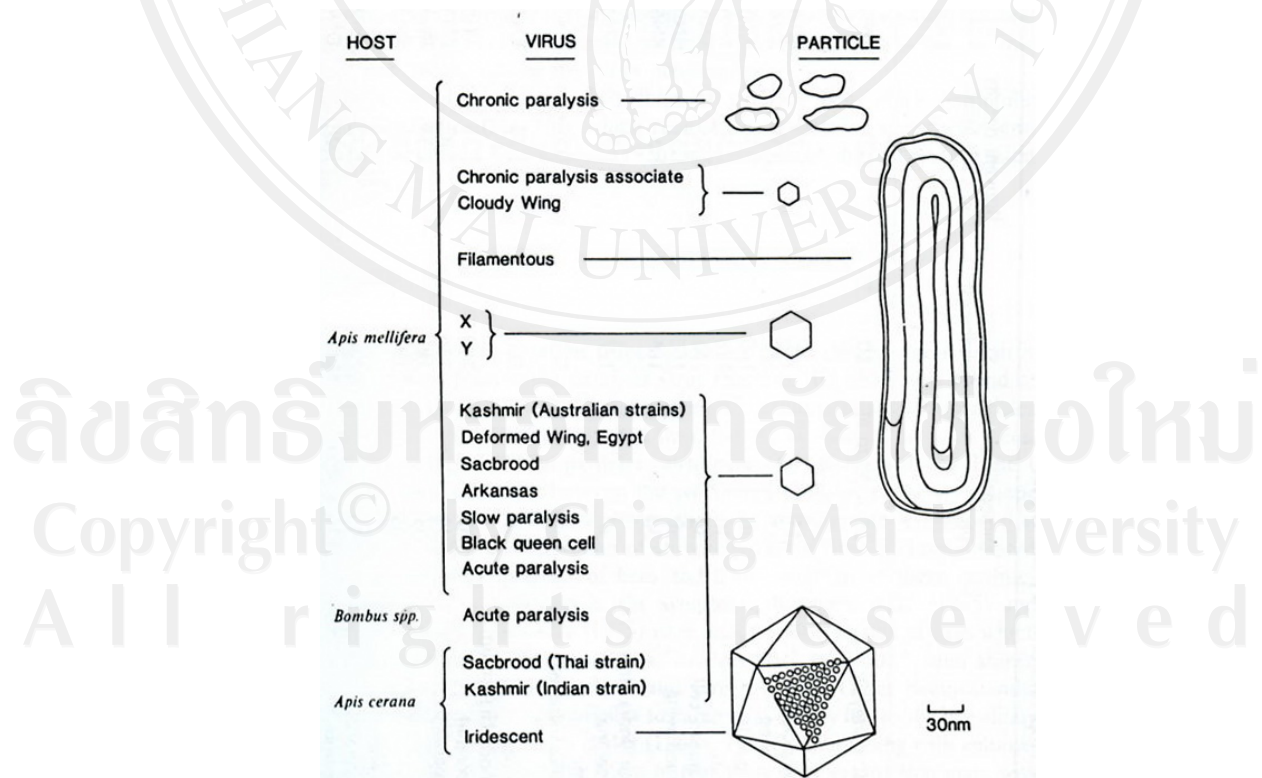
ตาราง 1 คุณสมบัติของไวรัสในผึ้ง (Bailey and Ball, 1991)

Virus	Dimensions (nm)	S_{20W} (Svedbergs)	Buoyant density in CsCl (g/ml)	Nucleic acid		Proteins Molecular wts ($\times 10^{-3}$)
				Type	Molecular wts ($\times 10^{-6}$)	
Chronic paralysis	20 x 30 to 60	80 to 130	1.33	RNA	1.35, 0.9, 0.35 ^a	23.5
Chronic paralysis virus associate	17	41	1.38	RNA	0.35 ^a	15
Cloudy wing	17	49	1.38	RNA	0.45	19

ตาราง 1 (ต่อ)

Virus	Dimensions (nm)	S_{20W} (Svedbergs)	Buoyant density in CsCl (g/ml)	Nucleic acid		Proteins Molecular wts ($\times 10^{-3}$)
				Type	Molecular wts ($\times 10^{-6}$)	
Sacbrood	30	160	1.35	RNA	2.8	26, 28, 31
Sacbrood (Thai strain : <i>Apis cerana</i>)	30	160	1.35	RNA	2.8	30, 34, 39
Slow paralysis	30	176	1.37	RNA	N.D.	27, 29, 46
X	35	187	1.35	RNA	N.D.	52
Y	35	187	1.35	RNA	N.D.	50
Iridescent (<i>Apis cerana</i>)	150	2216	1.32	DNA	N.D.	N.D.
Filamentous	150 x 450	N.D.	1.28	DNA	12.0	13 to 70 ^c

^a Overton *et al.* (1982); ^b Ball (1985); ^c About 12 proteins, Bailey *et al.* (1981b). N.D. = not determined.



ภาพ 1 รูปร่างและลักษณะของอนุภาคไวรัสที่เข้าทำลายผึ้ง (Bailey and Ball, 1991)

ในงานวิจัยนี้จะอธิบายถึงลักษณะของไวรัส 6 ชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญในผึ้ง โดยมีลักษณะและรายละเอียดที่แตกต่างกันดังต่อไปนี้

2.1 Acute bee paralysis virus (ABPV) และ Chronic bee paralysis virus (CBPV)

เชื้อไวรัสทั้งสองทำให้ผึ้งมีอาการ “พาราไลซิส” คือ ผึ้งจะแสดงอาการปีกและตัวที่ลั่นจนผิดปกติไปจากเดิม และไม่สามารถบินได้ สังเกตได้จากการคลานอยู่ตามพื้นและบนใบหญ้าเป็นกลุ่ม ๆ บางครั้งกองรวมกันเป็นกลุ่มบนรังผึ้ง โดยจะมีช่วงท้องที่บวมพองและมีปีกที่ผิดปกติไป ช่วงท้องที่บวมเกิดจากการบวมน้ำของถุงเก็บน้ำผึ้ง (honey sac) ซึ่งจะทำให้เกิดผลต่อระบบลำไส้ และก่อให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ (dysentery) ผึ้งที่ป่วยจะตายภายใน 2 - 3 วัน รังที่ผึ้งติดเชื้อมาก ๆ จะทรุดลงภายใน 1 สัปดาห์ นอกจากนั้นแล้วยังมีอาการที่เรียกว่า “black disease” อาจเรียกว่าโรค black robbers หรือ little blacks การเรียกเช่นนี้เนื่องจากอาการของโรคที่สังเกตเห็นว่าผึ้งจะมีสีดำ และมีช่วงท้องที่ขยายมากขึ้น (Bailey and Ball, 1991) โรคอัมพาตในผึ้งพบเฉพาะในผึ้งตัวเต็มวัย เกิดจากเชื้อไวรัส 2 ชนิด ซึ่งแยกตามการแสดงอาการของโรคที่เกิดขึ้น คือ ไวรัสชนิดที่ทำให้เกิดอัมพาตเฉียบพลัน (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV) และไวรัสชนิดที่ทำให้เกิดอัมพาตเรื้อรัง (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV)

ABPV มีอนุภาครูปหอกเหลี่ยม ขนาด 30 นาโนเมตร หากมีไวรัสในเลือด (haemolymph) ของผึ้งมากกว่า 100 อนุภาค จะทำให้ผึ้งตายภายใน 2 - 3 วัน พบในปมประสาทของผึ้งที่เป็นโรค ผึ้งที่มีไวรัสชนิดนี้ทำให้อวัยวะส่วนสมองที่เรียกว่า คอร์ปอรา พีดันคูลาตา (corpora pedunculata) ผิดปกติไป และอาจกล่าวได้ว่า ABPV มีผลในการทำลายประสาทส่วนกลางได้มากกว่า CBPV จึงแสดงอาการอัมพาตได้รวดเร็วกว่า ABPV เพิ่มจำนวนในต่อมไฮโปฟาริงจ (Hypopharyngeal gland) โดยไม่ทำอันตรายโดยตรงต่อตอมนี้ แต่เป็นจุดที่ทำให้เชื้อแพร่กระจายออก จากผึ้งที่เป็นโรคไปยังผึ้งที่ปกติได้ (Gochnauer and Furgala, 1981; Gochnauer *et al.* 1975)

CBPV มีอนุภาคที่มีลักษณะรูปทรงไม่แน่นอน มีขนาดกว้าง 20 นาโนเมตร และยาว 30 - 65 นาโนเมตร (Bailey *et al.*, 1968) เป็นเชื้อที่มีผลต่อระบบประสาทโดยจะพบอนุภาคไวรัสหลายล้านอนุภาคในผึ้งที่เป็นโรค และครึ่งหนึ่งของอนุภาคไวรัสพบที่ส่วนหัวซึ่งเป็นส่วนที่มีน้ำหนักประมาณหนึ่งในสิบของน้ำหนักตัวผึ้ง (Ball, 1999) เชื้อไวรัสทำให้ผึ้งตายหลังจากได้รับเชื้อไม่ต่ำกว่า 5 วัน เชื้อไวรัสสามารถเข้าสู่ผึ้งตัวเต็มวัยได้ทั้งการฉีด ทางปากโดยปะปนกับอาหาร และการฉีดผ่านอนุภาคไวรัสบนตัวของผึ้ง ผึ้งจะติดเชื้อมากด้วยไวรัสหลายล้านอนุภาค และจะเป็นอัมพาตในที่สุด หากติดเชื้อผ่านทางกระแสเลือด ไวรัสเพียงไม่กี่ร้อยอนุภาคก็สามารถทำให้ผึ้งเป็นโรคได้ นอกจากนี้ไวรัสยังสามารถเข้าสู่ตัวผึ้ง โดยผ่านรูของคิวติเคิล (cuticle) (Rinderer and

Rothenbuhler, 1975; Bailey *et al.*, 1983a) ส่วนมากเชื้อไวรัส CBPV จะอยู่ในถุงน้ำผึ้ง (honey sac) ที่บวมและในเกสรที่ผึ้งติดเขื่อนนำมาเก็บ ดังนั้นเชื้อไวรัสอาจจะถูกปล่อยจากผึ้งผ่านต่อมอาหาร (food gland) เป็นของเหลวรวมอยู่ในถุงเก็บน้ำผึ้ง ซึ่งจะไปผสมกับเกสรที่ผึ้งเก็บไว้ ผึ้งที่ติดเชื้อไวรัสนี้มักไม่แสดงอาการชัดเจนทำให้ผู้เลี้ยงผึ้งไม่สังเกตเห็นอาการผิดปกติ จนกระทั่งมีปัจจัยอื่นมากระตุ้น เช่น สภาพภูมิอากาศ แหล่งอาหารทำให้มีการแสดงอาการของโรคในผึ้งที่มีเชื้อไวรัสอยู่ขึ้น โดย Kulinčević *et al.* (1973) สังเกตเห็นว่าอาการของโรคจะปรากฏขึ้นอย่างรวดเร็ว ถ้าภายในรังไม่มีผึ้งนางพญา

2.2 Sacbrood virus (SBV)

ไวรัสแซคบริดถูกค้นพบครั้งแรกโดย White (1913) รูปร่างของอนุภาคมีลักษณะหกเหลี่ยม ขนาด 28 นาโนเมตร มีกรดนิวคลีอิกแบบ RNA เมื่อเกิดการติดเชื้อ สามารถเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่อของตัวอ่อนผึ้งและทำลายต่อมผิวหนังจึงทำให้เกิดความผิดปกติในกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์ไคตินเนส เอนไซม์นี้มีหน้าที่ย่อยเปลือกหุ้มตัวอ่อนในกระบวนการลอกคราบ ตัวอ่อนจึงไม่สามารถลอกคราบได้และตายในลักษณะคล้ายถุง (Bailey, 1976) โดยมีของเหลวที่เรียกเอกไคเซียล (ecdysial) บรรจุอยู่ระหว่างตัวอ่อนก่อนเข้าดักแด้ (prepupa) กับคราบของดักแด้ (pupal skin) สีของหนอนที่ตายเปลี่ยนไปตั้งแต่สีเหลืองน้ำตาลจนถึงน้ำตาลดำ และมักแห้งเปราะ เลื่อนออกจากหลอดรวงได้ง่าย หนอนจะไม่เน่าเหมือนโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย (Gochnauer *et al.*, 1975) นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนในบริเวณต่อมไฮโปฟารินจ์ (hypopharyngeal gland) ซึ่งอยู่ในส่วนหัวของตัวเต็มวัยของผึ้งงานและผึ้งตัวผู้ โดยจะทำให้ผึ้งงานหยุดเก็บเกสร ผึ้งจึงมีอายุสั้นกว่าผึ้งที่ไม่ติดเชื้อ (Bailey and Ball, 1991; Warhurst, 2000) แต่อย่างไรก็ตามอาการของโรคจะแสดงออกอย่างชัดเจนเฉพาะในผึ้งระยะตัวอ่อนเท่านั้น (Bailey, 1981) โดยปกติแล้วมักไม่ค่อยมีการตรวจพบเชื้อ SBV ภายในรัง เนื่องจากผึ้งงานจะทำการเคลื่อนย้ายตัวอ่อนที่ติดเชื้อออกจากรังเมื่อพบการติดเชื้อขึ้น (Bailey and Woods, 1977) นอกจากอาการดังกล่าวแล้ว เชื้อไวรัสยังสามารถเพิ่มจำนวนอนุภาคโดยไม่แสดงอาการใด ๆ ทำให้ผึ้งงานไม่สามารถเคลื่อนย้ายหรือกำจัดได้ จึงเป็นสาเหตุให้เชื้อไวรัสยังคงอยู่ในรังผึ้งได้มากกว่าหนึ่งปี (Bailey and Fernando, 1972)

2.3 Deformed wing virus (DWV)

เชื้อไวรัสชนิดนี้พบครั้งแรกจากผึ้งพันธุ์ตัวเต็มวัยที่เป็นโรคในประเทศญี่ปุ่น และพบการระบาดของเชื้อไวรัสชนิดนี้ในผึ้งพันธุ์หลายประเทศ เช่น ประเทศแถบยุโรป ชาติอาหรับ อิหร่าน เวียดนาม และอาร์เจนตินา และยังพบในผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ของประเทศจีนอีกด้วย มักพบ

DWV ในตัวอ่อนที่เป็นโรค ผีเสื้อตัวเต็มวัยที่ตาย และผึ้งที่แสดงอาการปีกผิดปกติ ร่วมกับการพบไรวารริว (*Varroa destructor*) จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการและภาคสนามพบว่า เมื่อเข้าสู่ผึ้งแล้ว เชื้อ DWV จะเพิ่มจำนวนอย่างช้า ๆ ตัวดักแด้ที่ติดเชื้อในระยะ white-eye stage จะสามารถอยู่รอดได้ แต่จะกลายเป็นผึ้งที่มีปีกเจริญไม่เต็มที่และตายในที่สุด เชื้อไวรัสชนิดนี้จะมีความแตกต่างของโปรตีนที่ห่อหุ้ม (coat protein) บางชนิดระหว่างสายพันธุ์ แต่จะมีความใกล้ชิดกันทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา (Bailey and Ball, 1991)

2.4 Black queen cell virus (BQCV)

พบเชื้อ BQCV ครั้งแรกในผึ้งระยะตัวหนอนและดักแด้ที่ตายแล้วซึ่งจะเจริญไปเป็นผึ้งนางพญาต่อไป เชื้อ BQCV จะทำให้เซลล์ของผึ้งนางพญาเป็นสีน้ำตาลดำถึงดำ สำหรับในระยะดักแด้พบว่าจะตายและมีไวรัสชนิดนี้จำนวนมากในตัว โดยในระยะแรกตัวดักแด้ที่ติดเชื้อจะเป็นสีเหลืองซีดและผนังที่กลายงูที่เหนียวคล้ายกับ propupa ที่ตายด้วยโรคแซคบริด จะสังเกตเห็นได้ง่ายเมื่อรวงเซลล์ของนางพญาถูกเล็งด้วยกัน นอกจากนั้นเชื้อ BQCV จะไม่แบ่งตัวง่าย ๆ เหมือนกับ SBV เมื่อตัวหนอนของผึ้งงานหรือผึ้งตัวผู้กินเข้าไปหรือเมื่อจืดเข้าสู่ตัวเต็มวัยของผึ้งงานและผึ้งตัวผู้ (Bailey and Woods, 1977) แต่ในธรรมชาติสามารถพบผึ้งตัวเต็มวัยติดเชื่อนี้ พบว่าไวรัสชนิดนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับโปรโตซัวชนิดหนึ่งซึ่งก่อโรคในผึ้งได้แก่ *Nosema apis* (Bailey *et al*, 1981a; 1983b) โดยมีผลทำให้ภูมิคุ้มกันของผึ้งลดลง อนุภาคไวรัสจึงสามารถทะลุผ่านผนังทางเดินอาหารได้โดยง่าย

2.5 Kashmir bee virus (KBV)

ไวรัสชนิดนี้ค้นพบครั้งแรกจากการแยกเชื้อในผึ้งโพรงตัวเต็มวัย (*Apis cerana*) จากแคว้นแคชเมียร์ (Kashmir) (Bailey and Woods, 1977) และจาก Mahableshwar ประเทศอินเดีย (Bailey *et al*, 1979) บางสายพันธุ์ของไวรัสชนิดนี้พบในผึ้งพันธุ์ตัวเต็มวัย (*Apis mellifera*) ในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ การเข้าก่อโรคสามารถพบได้ทั้งในระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัย โดยในตัวเต็มวัยที่ถูกไวรัสเข้าทำลายมักตายภายในระยะเวลาอันสั้น สำหรับผึ้งในระยะตัวหนอนนั้นมีความสามารถในการต้านทานเชื้อไวรัสได้ โดยตัวหนอนผึ้งสามารถมีชีวิตรอดหลังจากได้รับเชื้อไวรัสทางปาก และบางตัวกลายเป็นพาหะเมื่อเจริญเป็นผึ้งตัวเต็มวัย (Anderson and Gibbs, 1989)

นอกจากโรคที่เกิดในผึ้งแล้ว ยังมีศัตรูของผึ้งชนิดอื่นที่ก่อปัญหาในอุตสาหกรรมเลี้ยงผึ้งอีก ได้แก่ ไรของผึ้ง ซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากไวรัสหลายชนิดมีความสัมพันธ์กับไรของผึ้งในแง่ของการเป็นพาหะของการถ่ายทอดอนุภาคของไวรัสอีกด้วย (Ball, 1989)

3. ไรของผึ้ง (ลิวิคณ, 2532)

ไรจำพวกที่ก่อให้เกิดอันตรายแก่ผึ้งคือ ไรตัวเบียน ซึ่งจะดูดกินของเหลวภายในลำตัวผึ้ง การเลี้ยงผึ้งในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีการประสบปัญหาเกี่ยวกับไรค่อนข้างรุนแรง ฟาร์มเลี้ยงผึ้งเกือบทุกแห่งในประเทศไทยมีไรตัวเบียนทำลายอยู่มาก ทำให้รังผึ้งมีสภาพอ่อนแอ นอกจากนี้ จะไม่สามารถแพร่ขยายประชากรผึ้งได้แล้ว ยังทำให้สูญเสียผึ้งอีกเป็นจำนวนมาก ไรที่ก่อปัญหาอย่างมากให้แก่เกษตรกรได้แก่

3.1 ไรวาร์ว (Varroa destructor) การเลี้ยงผึ้งในแถบเอเชียประสบกับปัญหาเกี่ยวกับไรวาร์วามาก รวมถึงประเทศไทยที่พบการทำลายของไรชนิดนี้ตั้งแต่ พ.ศ. 2517 (พงษ์เทพ, 2526) เป็นศัตรูธรรมชาติของผึ้งโพรงที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียเท่านั้น ไรวาร์วขนาดกว้างประมาณ 1.5 - 1.6 มิลลิเมตร ยาว 1.1 - 1.2 มิลลิเมตร สีน้ำตาลแดง เคลื่อนที่ได้รวดเร็วสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ไรชนิดนี้เกาะกับตัวผึ้งได้ดี โดยปกติจะเกาะอยู่ตรงรอยต่อปล้องท้องปล้องแรกหรืออาจพบตรงรอยต่อระหว่างหัวกับอก หรือรอยต่อระหว่างหัวกับท้อง ซึ่งเป็นบริเวณที่ทำให้ไรสามารถเจาะผ่านเข้าไปดูดของเหลวภายในลำตัวของผึ้งได้อย่างสะดวก รอยแผลที่เกิดขึ้นอาจทำให้เชื้อโรคเข้าไปสู่ระบบหมุนเวียนเลือดของผึ้งอีกด้วย สำหรับในประเทศไทยนั้นพบว่าไรวาร์วก่อให้เกิดปัญหาต่อรังผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงกันอยู่ทั่วไป ผึ้งที่ถูกทำอันตรายโดยการที่ไรเจาะดูดกินของเหลวหรือเลือดนั้น อาจทำให้ผึ้งตายก่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัย หรือถ้าผึ้งสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ มักจะพิการ ปีกไม่สมบูรณ์ ไม่สามารถบินออกหาอาหารได้ ในบางกรณีผึ้งที่ถูกทำลาย อาจมีขนาดลำตัวแคระแกรน รังผึ้งที่ถูกไรคุกคามอย่างหนักจะอ่อนแอ ให้ผลผลิตลดลงและอาจทิ้งร้างไปในที่สุด

3.2 ไรทรอฟิลีแลปส์ (Tropilaelaps clareae) ไรชนิดนี้มีสีน้ำตาลอ่อน มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างจากไรวาร์ว โดยที่ไรทรอฟิลีแลปส์มีขนาดตัวเล็กกว่ามากและยาวกว่า มีวิธีการเบียดเบียนผึ้งที่คล้ายกับไรวาร์ว ถ้าพิจารณาจากความเสียหายหรืออาการพิการที่เกิดขึ้นกับผึ้งโดยไม่เห็นตัวไร จะไม่สามารถบอกได้ว่าเกิดจากไรชนิดใด ไรชนิดนี้เป็นศัตรูธรรมชาติของผึ้งหลวง เมื่อมีการนำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงในทวีปเอเชีย ไรจึงเข้ามาทำอันตรายผึ้งพันธุ์ด้วย

4. การแพร่ของเชื้อไวรัสก่อโรคในผึ้ง

ในช่วงที่ผ่านมามีการศึกษาด้านไวรัสในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera* L.) มากขึ้น โดยมีการค้นพบเชื้อไวรัสอย่างน้อย 18 ชนิดในผึ้ง ซึ่งเชื้อไวรัสส่วนใหญ่ที่ถูกค้นพบนั้นมักทำให้ผึ้งที่ติดเชื้อไม่แสดงอาการใดๆ ออกมา แต่จะพบเพียงการลดลงของประชากรผึ้งหรือการตายโดยไม่ทราบสาเหตุเท่านั้น (Allen and Ball, 1996; Ball and Allen, 1988; Ball and Bailey, 1997) โดยเชื้อไวรัสชนิดแรกที่มีการตรวจพบคือ Sacbrood virus (SBV) โดย White (1913) หลังจากนั้นมีการศึกษาเรื่อยมา แต่เนื่องจากอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสสังเกตได้ยาก ดังนั้นการศึกษาและการตรวจสอบจึงต้องเกี่ยวข้องกับด้านภูมิคุ้มกันวิทยา เช่น gel immunodiffusion assays และ ELISA (Anderson, 1984) ภายหลังเมื่อมีค้นพบลำดับเบสทั้งหมดของเชื้อไวรัส ได้แก่ Acute bee paralysis virus (ABPV) (Govan *et al.*, 2000; GenBank Accession No. AF150629), Black queen cell virus (BQCV) (Leat *et al.*, 2000; GenBank Accession No. AF183905), Deformed wing virus (DWV) (Lanzi *et al.*, 2006; GenBank Accession No. NC004830), Kashmir bee virus (KBV) (de Miranda *et al.*, 2004; GenBank Accession No. NC004807), Sacbrood virus (SBV) (Ghosh *et al.*, 1999; GenBank Accession No. AF092924) and Chronic bee paralysis virus (CBPV) (Olivier *et al.*, 2008; GenBank Accession No. NC010711) จึงมีการนำเทคนิค Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) เข้ามาเกี่ยวข้อง Tentcheva *et al.* (2004b) ได้ทำการศึกษาการติดเชื้อไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ในผึ้งพันธุ์จากประเทศฝรั่งเศสจำนวน 36 ตัวอย่างทั้งในฤดูใบไม้ผลิ ฤดูร้อน และฤดูใบไม้ร่วง ในผึ้งตัวเต็มวัยตรวจพบเชื้อ DWV, SBV, CBPV, ABPV, BQCV และ KBV ในตัวอ่อนตรวจพบเชื้อ DWV, SBV, ABPV, BQCV และ KBV ไม่พบ CBPV นอกจากนี้มีการตรวจสอบในตัวอย่างของไรวาร์วพบเชื้อไวรัส 4 ชนิด คือ DWV, SBV, ABPV และ KBV จากผลการทดลองที่ได้ทำให้ทราบว่าเชื้อไวรัสคงอยู่ในผึ้งโดยไม่มีการแสดงการออกมาและจะเกิดการระบาดขึ้นเมื่อมีปัจจัยจากภายนอกเป็นตัวกระตุ้นให้ไวรัสมีการเพิ่มจำนวนในผึ้ง ซึ่งได้แก่ การแพร่กระจายของเชื้อไวรัสระหว่างผึ้งในรังเดียวกันและระหว่างผึ้งต่างรัง และการแพร่กระจายและเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสจากบริเวณที่มีการติดเชื้อเริ่มต้น (เช่น gut epithelial cell) ไปสู่บริเวณที่จำเพาะต่อเชื้อ (เช่น ระบบประสาท) อีกทั้งยังพบว่าไรวาร์วอาจมีส่วนทำให้เกิดการระบาดของเชื้อไวรัสโดยเป็นพาหะของเชื้อหรือช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนอนุภาคของไวรัสได้ ต่อมาได้มีการสำรวจการติดเชื้อไวรัสในประเทศออสเตรเลีย (Berényi *et al.*, 2006) เช่นเดียวกัน ผลที่ได้ทำให้ทราบว่าพบเชื้อไวรัส 5 ชนิด แต่ไม่พบ KBV ในประเทศนี้โดยพบการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ DWV และ ABPV มากที่สุด นอกจากนี้ในการทดลองนี้ได้มีการเปรียบเทียบปริมาณไวรัสในผึ้งและพบว่าผึ้งที่แสดงอาการของโรคจะมีสารพันธุกรรมของไวรัสมากกว่าผึ้งที่ไม่แสดงอาการถึง 10 เท่า และจาก

การศึกษานี้พบว่านอกเหนือจากเชื้อไวรัสแล้วยังพบไรวาร์ริว *Nosema apis* และ *Malpighamoeba mellifica* ซึ่งเป็นปรสิตและเชื้อก่อโรคชนิดอื่นที่ไม่ใช่ไวรัสร่วมกันอีกด้วย

นอกจากการสำรวจการติดเชื้อไวรัสแล้วเทคนิค RT-PCR นี้ยังถูกนำมาใช้ในการศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสในผึ้งอีกด้วย (Chen *et al.*, 2006b) โดยใช้ศึกษาการถ่ายทอดแบบ vertical transmission ของเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ จากผึ้งนางพญาไปสู่ผึ้งรุ่นลูก พบว่าเมื่อพบเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อของนางพญา จะพบเชื้อไวรัสชนิดเดียวกันนี้ในรุ่นลูกด้วย ซึ่งได้แก่ไข่ ตัวอ่อน และผึ้งงานตัวเต็มวัย ต่อมามีการศึกษาเพิ่มเติม (Chen *et al.*, 2006a) ผลที่ได้จากการศึกษาคือการถ่ายทอดเชื้อไวรัสในผึ้งเกี่ยวข้องกับ food-borne transmission, venereal transmission, vector-borne transmission และ mother-to-offspring transmission ทั้ง vertical และ horizontal มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับกลไกการอยู่รอดของเชื้อไวรัสในผึ้ง ไม่เพียงแต่การอยู่รอดเท่านั้นยังรวมถึงการเพิ่มจำนวนในธรรมชาติด้วย ซึ่งเป็นรูปแบบการก่อโรคของเชื้อไวรัส โดยเมื่อผึ้งอยู่ในภาวะร่างกายแข็งแรง เชื้อไวรัสจะอยู่ในผึ้งและส่งผ่านทาง vertical transmission โดยเจริญและก่อโรคแบบแฝงทำให้ผึ้งไม่แสดงอาการออกมา แต่เมื่อมีปัจจัยอื่นมากระตุ้น เช่น การถูกรบกวนโดยไรวาร์ริว การติดเชื้อชนิดอื่น การขาดแคลนอาหาร สิ่งเหล่านี้ส่งผลให้ผึ้งลดจำนวนลง และไวรัสจะแสดงอาการออกมา อนุภาคไวรัสที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เกิดการถ่ายทอดแบบ horizontal transmission ทำให้ผึ้งตายและทำให้รังทั้งรังเสียหาย

การใช้เทคนิค RT-PCR ศึกษาเชื้อไวรัสไม่ได้ทำเพียงแต่ในผึ้งพันธุ์เท่านั้น Genersch *et al.* (2006) ทำการศึกษา DWV ในผึ้ง *Bombus terrestris* และ *Bombus pascuorum* โดยทำการสกัด RNA ของนางพญาของผึ้ง bumble bees และทำการตรวจสอบพบ DWV ในตัวอย่างที่มีการแสดงอาการอย่างชัดเจน ผลที่ได้แสดงว่า DWV สามารถติดเชื้อในผึ้งได้หลายสายพันธุ์ อีกทั้งแสดงให้เห็นว่าผึ้งพันธุ์ถ่ายทอดเชื้อ DWV ไปสู่ bumble bees และทำให้เกิดความรุนแรงของโรคมามากกว่าที่เกิดในผึ้งพันธุ์ และจากการศึกษาก่อนหน้านี้ทำให้ทราบข้อมูลเพิ่มเติมว่าเชื้อไวรัสในผึ้งสามารถก่อโรคได้ในแมลงชนิดอื่น ตัวอย่างเช่น KBV ที่ตรวจพบใน German wasp (*Vespa germanica*) (Anderson, 1991), ABPV ตรวจพบการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการใน *Bombus* spp. (Bailey and Gibbs, 1964) และเชื้อไวรัสชนิดอื่นของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ที่พบการติดเชื้อในผึ้งสายพันธุ์อื่น (Allen and Ball, 1996; Grabensteiner *et al.*, 2001; Morse and Flottum, 1997)