หัวข้อวิทยานิพนธ์ การตรวจสอบโรคโนซีมาในผึ้งพันธุ์ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่

พอลิเมอเรส

**ผู้เขียน** นางสาวกฤติมา ป้อต๊ะมา

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) กีฏวิทยา

**คณะกรรมการที่ปรึกษา** อาจารย์ ดร. พัชรินทร์ ครุฑเมือง อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รองศาสตราจารย์ คร. ศุภมิตร เมฆฉาย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้คำเนินการตรวจสอบความชุกของโรคโนซีมาในผึ้งพันธุ์ (Apis mellifera L.) ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และแพร่ ระหว่างช่วงเคือนกรกฎาคม พ.ศ. 2556 ถึงเคือนมิถุนายน พ.ศ. 2557 โดยสุ่มเลือกผึ้งงานจำนวนทั้งหมด 1,010 ตัวอย่างเพื่อนำไป วินิจฉัย โดยเป็นผึ้งงานที่บินกลับเข้ารัง และตัวอย่างผึ้งที่ตายหน้ารัง โดยผึ้งเหล่านี้ถูกตรวจพบสปอร์ โนซีมาจำนวน 164 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นผึ้งตายหน้ารังจำนวน 50 ตัวอย่าง และผึ้งที่บินออกหาอาหาร จำนวน 114 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ตรวจสอบสปอร์จะนำไปตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อจำแนกชนิดของ Nosema apis และ Nosema ceranae

ตัวอย่างคีเอ็นเอที่ถูกจำแนกด้วย Multiplex PCR สามารถแสดงผลวิธีพีซีอาร์มาตรฐาน ซึ่ง แสดงตำแหน่งคีเอ็นเอขนาด 321 คู่เบส และ 218-219 คู่เบส เพื่อระบุเชื้อชนิด N. apis และ N. ceranae ตามลำดับ ตัวอย่างที่พบการติดเชื้อจำนวน 106 ตัวอย่างถูกตรวจสอบ โดยการวิเคราะห์คีเอ็นเอ แบ่งเป็นผึ้งตายหน้ารังจำนวน 50 ตัวอย่าง และผึ้งที่ออกหาอาหารจำนวน 56 ตัวอย่าง พบเชื้อชนิด N. ceranae ในตัวอย่างผึ้งทุกจังหวัด ส่วนเชื้อชนิด N. apis พบเฉพาะในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่เท่านั้น ซึ่งตัวอย่างผึ้งที่ออกหาอาหารที่พบการติดเชื้อ โนซีมาคิดเป็น 92.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตัวอย่างผึ้งที่ตาย หน้ารัง คิดเป็น 94 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบการติดเชื้อ โนซีมา

**Thesis Title** Detection of Nosema Disease in Honey Bee (Apis mellifera) by

Polymerase Chain Reaction Technique

**Author** Miss Kritimar Portama

**Degree** Master of Science (Agriculture) Entomology

Advisory Committee Lect. Dr. Patcharin Krutmuang Advisor

Assoc. Prof. Dr. Supamit Mekchay Co-advisor

## **Abstract**

This study was carried out to determine the prevalence of nosemosis in honey bees (*Apis mellifera* L.) in worker bees in Chiang Mai, Lamphun and Phrae provinces in northern Thailand, during the period July 2013 to June 2014. A total of 1,010 honey worker bees were collected for analysis. Samples were collected from returning forager bees and from dead bees in front of the colonies. All bees sampled were examined by microscopy for the presence of nosema spores. Total of 164 worker bees were found to be infected; 50 bees from dead bees in front of the colonies and 114 forager worker bees. All infected bees underwent DNA analysis to separate *Nosema apis* from *Nosema ceranae*.

DNA samples, identified by Multiplex PCR were positively supported by standard PCR 321 bp and 218-219 bp for present *N. apis* and *N. ceranae* respectively. A total 106 infested worker bees were examined by DNA analysis: 50 workers from dead bees in front of the colonies and 56 foraging worker bees. *N. ceranae* was present in bee samples from all three provinces. *N. apis* was identified only in the Chiang Mai province. Of the older forager bee samples, 92.9% expressed nosema infection. Of the dead bees sampled taken in front of the colonies, a nosema infection rate of 94% was observed.