

Abstract

Brood diseases in honey bee found in Northern Thailand during 2001-2002 were Chalkbrood and European foulbrood, characterized by their characteristic symptoms. The European foulbrood pathological samples were collected from Chiang Mai, Chiang Rai, Payao, and Phrae Province in Northern Thailand whereas Chalkbrood samples were collected from six apiaries (5 apiaries in Chiang Mai, and one in Payao). Eighty-nine bacterial isolates were grown in aerobic condition and 110 bacterial isolates grown in anaerobic condition. The bacterial isolates were varied from gram positive rods and cocci to gram negative rods and cocci. Six isolates grown in anaerobic condition were *Melissococcus plutonius*. Based on biochemical tests, endospore forming bacilli found in culture were *B. stearothermophilus*, *B. macerans*, *B. laterosporus*, *B. circulans*, *B. firmis*, *B. coagulans*, and *B. licheniformis*. None of them was *Paenibacillus larvae*, a causative agent of American foulbrood. Forty six isolates of fungi were identified as *Ascosphaera apis*. Our aim is to control the diseases by using natural products, the screening of potential compounds from medicinal plants, therefore, was carried out. dichloromethan extract of *Glycyrrhiza glabra* exhibited the best inhibitory effect on all *M. plutonius* strains (both Thai and Australian strains). Hexane *Cinnamomum cassia* extract and Ethyl acetate *Piper betle* extract gave good inhibitory effects on *A. apis* growth. The further analysis of these compounds in Thin Layer Chromatography (TLC) and the stability of these compounds were carried out to seek the alternative method and possibility of its application in the field. The cocktail of these selected herbal plants is proposed to be used as a potential disease control. In parallel to our attempts in finding an alternative approach in combating bee diseases by herbs, a frequency based analysis of open reading frames (ORFs) in honey bee genome has been analysed by using a set of PERL algorithms. The novel exonic regions and amino acid abundances could be fruitful in developing genetic methods to prevent and control of pest and diseases in the future.

บทคัดย่อ

โรคตัวอ่อนเน่าในผึ้งที่พบในภาคเหนือของไทยในช่วงปี 2544-2545 คือโรคชอล์คบรูตและโรคยูโรเปียนฟาวบรูต ได้พบและเก็บตัวอย่างตัวอ่อนเน่าที่คาดว่าเกิดการติดเชื้อโรคยูโรเปียนฟาวบรูตจากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และแพร่ ส่วนโรคชอล์คบรูตได้เก็บตัวอย่างจาก 6 แหล่งในจังหวัดเชียงใหม่และพะเยา เมื่อนำมาเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการได้ เชื้อแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน 89 ไอโซเลทและเจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน 110 ไอโซเลท แบคทีเรีย 6 ไอโซเลทที่พบว่าเป็นเชื้อก่อโรคยูโรเปียนฟาวบรูต(*Melissococcus plutonius*) เชื้อที่สร้างสปอร์ที่พบมีเชื้อ *B. stearothermophilus*, *B. macerans*, *B. laterosporus*, *B. circulans*, *B. firmis*, *B. coagulans* และ *B. licheniformis* โดยที่ไม่พบเชื้อ *Paenibacillus larvae* เชื้อก่อโรคอเมริกันฟาวบรูตในตัวอย่างที่เก็บมาทั้งหมด ส่วนเชื้อราก่อโรคชอล์คบรูตได้บ่งชนิดเป็น *Ascosphaera apis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการควบคุมโรคด้วยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ จึงได้สกัดสารจากสมุนไพร 10 ชนิด พบว่า สารสกัดจากพลูในเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อ *Melissococcus plutonius* สารสกัดอบเชยในเฮกเซนและพลูในเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งเชื้อ *A. apis* ได้ดีที่สุด การวิเคราะห์โดยใช้ Thin Layer Chromatography และการศึกษาความเสถียรของสารต้านเชื้อราและแบคทีเรียกำลังดำเนินการเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ในฟาร์มผึ้ง สารสกัดจากสมุนไพรประเภทผสมจึงเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมโรคในผึ้ง นอกจากนี้ได้ศึกษา Open reading frames ในจีโนมผึ้งเพื่อหาชิ้นใหม่และความสำคัญของกรดอะมิโนบางชนิด โดยวิธี Frequency based analysis novel การศึกษาจีโนมของผึ้งอาจนำไปสู่การควบคุมและป้องกันโรคโดยใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์ในอนาคต