

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในเกสรผึ้งและการพัฒนาอาหารเสริมสำหรับผึ้ง

ผู้เขียน

นายชัยณรงค์ สิ้นภู

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. ภาณุวรรณ จันทวรรณกุล

บทคัดย่อ

ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera* L.) เป็นสายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงกันทั่วโลก เป็นอาชีพทางการเกษตรที่น่าสนใจ สำหรับเกษตรกรเป็นอย่างมาก สร้างรายได้ให้แก่ประเทศ มูลค่าหลายร้อยล้านบาทต่อปี แต่ปัจจุบันการเลี้ยงผึ้ง ได้ประสบปัญหา การขาดแคลนแหล่งอาหารที่สมบูรณ์จากธรรมชาติ ส่งผลให้เกิดการทิ้งร้าง ทำให้ผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยงผึ้งมีมูลค่าน้อยเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงได้ทำการศึกษาติดตามการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ของเกสรผึ้ง ที่อายุต่าง ๆ กัน: เริ่มจากสัปดาห์ที่ 0 (corbicular pollen) ถึงสัปดาห์ที่ 1, 2, 3, 4, และ 6 เกสรที่ผึ้งบ่มในรัง (bee bread) และนำผลการศึกษามาปรับปรุงพัฒนาอาหารเสริมโปรตีนสำหรับผึ้ง โดยเทคนิค PCR-DGGE โดยการใช้ไพรเมอร์ 968F/1401R ของยีน 16S rRNA และ ไพรเมอร์ NS1/Fung ของยีน 18S rRNA ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ โดยเทคนิค Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) และ Dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างเกสรผึ้งในรังเป็นเกสรของไมยราบ *Mimosa pudica* พบจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (gram positive endospore forming) และไม่สร้างเอนโดสปอร์ (gram positive non endospore forming) แบคทีเรียแกรมลบ (gram negative) เชื้อรา (fungal) ยีสต์ (yeast) โดยจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 51.1%, เชื้อรา 45.2%, แบคทีเรียแกรมลบ 5.5 % และ ยีสต์ 4.1 % ตามลำดับ และการศึกษาการเปรียบเทียบลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ จากตัวอย่างเกสรผึ้งในสัปดาห์ที่ต่าง ๆ กัน ได้รูปแบบของลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ ที่มีความแตกต่างกัน จากการเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความเหมือนกับลำดับเบสของ *Zygosaccharomyces mellis* AF339891 และ *Cladosporium bruhnei* AY251096 เปรียบเทียบความเหมือนอยู่ที่ 99 % เชื้อส่วนใหญ่ที่ได้มีความสอดคล้องกับการเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ในตัวอย่างเกสรผึ้งที่สัปดาห์ต่างๆ ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (culture dependent) และ การศึกษาแบบ metagenome (culture independent) พบยีสต์ ในกลุ่ม *Zygosaccharomyces*, spore-forming bacteria ในกลุ่มของ *Bacillus*, แบคทีเรียในกลุ่มของ *Lactobacillus* และเชื้อราในกลุ่ม *Cladosporium*, *Aspergillus* ซึ่งจะ มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนเกสร เป็น bee bread และได้พัฒนาอาหารเสริม โปรตีนสำหรับเลี้ยงผึ้ง ประกอบด้วย เกสรกับแป้งถั่วเหลือง จัดเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญสำหรับผึ้ง น้ำตาลแหล่งพลังงาน หรือ แหล่งของคาร์โบไฮเดรต พงยีสต์ น้ำ โปรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์กับ ระบบทางเดินอาหารของผึ้ง

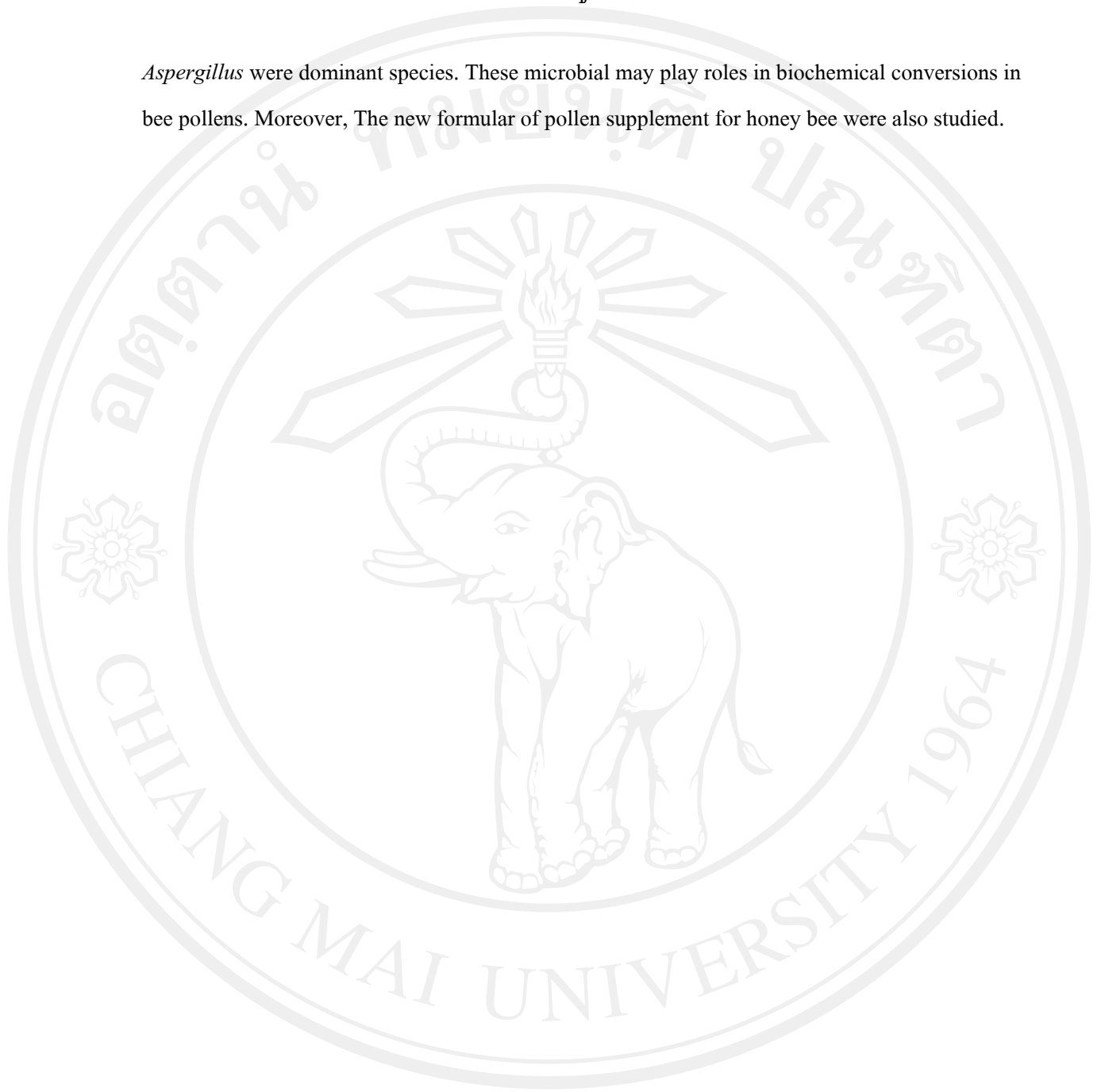
Thesis Title	Microbial Diversity in Honeybee Pollens and Development of Bee Food Supplements
Author	Mr. Chainarong Sinpoo
Degree	Master of Science (Applied Microbiology)
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Panuwan Chantawanakul

Abstract

The European honey bee, *Apis mellifera* L., is the most commonly managed bee in the world. The value of honey production in Thailand has been estimated to worth more than a hundred million baht per year. Recently, there are many factors affecting in beekeeping industry, due to the lack of natural food sources causing the honey bee colony losses and reduce the value of honey production. In this study, the communities of microbial in honey bee pollens in different period of time (corbicular (0) and bee bread stored in comb cells for 1, 2, 3, 4 and 6 weeks) and development of bee food supplement were investigated. The PCR-DGGE techniques were used in this study using 968F/1401R and NS1/Fung primers for amplify variable regions of the 16S rRNA and 18S rRNA genes respectively. Moreover, culturing methods on Nutrient agar (NA) for bacteria and Dichloran rose bengal chloramphenicolagar (DRBC) for fungi were also investigated. The results showed that the floral pollen was the sensitive *plant (Mimosa pudica)* in our pollen samples. The Gram-positive endospore and non endospore forming bacteria (51.1%), Gram-negative bacteria (5.5%), fungi (45.2%) and yeast (4.1%) were found in the samples. However, DGGE patterns were different in bee pollens at different period of storage. The comparisons of sequences with Genbank demonstrated that they were *Zygosaccharomyces mellis* (AF333989) and *Cladosporium bruhnei* (AY251096) with 99% similarities.

The study of microbial communities in bee pollen samples using both of culturing methods and molecular based method found that yeast in genera of *Zygosaccharomyces*, spore forming bacteria in *Bacillus* genus, *Lactobacillus* and fungi in genera of *Cladosporium* and

Aspergillus were dominant species. These microbial may play roles in biochemical conversions in bee pollens. Moreover, The new formular of pollen supplement for honey bee were also studied.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved