กลไกการป้องกันไร *Tropilaelaps clareae* DELFINADO AND BAKER ของผึ้งหลวง *Apis dorsata* FABRICIUS และผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอส ไพรมอสกี *Apis mellifera* LINNAEUS

นายบุญมี กวินเสกสรรค์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4156-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEFENSE MECHANISMS OF *Apis dorsata* FABRICIUS AND ARS PRIMORSKY HONEY BEE *Apis mellifera* LINNAEUS TO THE BEE MITE *Tropilaelaps clareae* DELFINADO AND BAKER

Mr. Boonmee Kavinseksan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy in Biological Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2003

ISBN 974-17-4156-1

Thesis Title	Defense Mechanisms of *Apis dorsata* Fabricius and ARS Primorsky Honey Bee *Apis mellifera* Linnaeus to the Bee Mite *Tropilaelaps clareae* Delfinado and Baker
By	Mr. Boonmee Kavinseksan
Field of Study	Biological Science
Thesis Advisor	Professor Siriwat Wongsiri, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Professor Thomas E. Rinderer, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctor's Degree

.....Dean of The Faculty of Science
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

.....Chairman
(Associate Professor Kingkaew wattanasirmkit, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Professor Siriwat Wongsiri, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor
(Professor Thomas E. Rinderer, Ph.D.)

.....Member
(Sureerat Deowanish, D.Agr.)

.....Member
(Associate Professor Siriporn Sittipraneed, Ph.D.)

.....Member
(Associate Professor Benjamin P. Oldroyd, Ph.D.)

.....Member
(Assistant Professor Sirinan Aemprapa, Ph.D.)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บุญมี กวินเสกสรรค์ : กลไกการป้องกันไร *Tropilaelaps clareae* DELFINADO AND BAKER ของผึ้งหลวง *Apis dorsata* FABRICIUS และผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกี *Apis mellifera* LINNAEUS อ. ที่ปรึกษา : ศ. ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ อ. ที่ปรึกษาร่วม: Prof. Dr. Thomas E. Rinderer จำนวน 121 หน้า ISBN 974-17-4156 -1

จากการเปรียบเทียบประชากรไร *Tropilaelaps clareae* Delfinado and Baker ในรังของผึ้งหลวง (*Apis dorsata* Fabricius) ที่เพิ่งแยกรัง (ยังไม่มีตัวอ่อนของผึ้งหรือมีตัวอ่อนรุ่นแรก)จำนวน 6 รัง กับรังที่มีตัวอ่อนของผึ้งมากกว่ารุ่นแรกจำนวน 8 รัง ในจังหวัดสมุทรสงคราม ระหว่างเดือนเมษายน 2543 - กันยายน 2545 ผลการศึกษาไม่พบไรในรังที่เพิ่งแยกมา ส่วนรังที่มีตัวอ่อนของผึ้งมากกว่ารุ่นแรกพบไรในหลอดรวงตัวอ่อน 2-119 ตัว และพบไร 1-11 ตัว บนผึ้งตัวเต็มวัยของ 3 รัง จาก 8 รังดังกล่าว และจากการศึกษาประชากรไรในรังผึ้งหลวงที่มีตัวอ่อนมากกว่ารุ่นแรกจำนวน 16 รัง และ รังร้างจำนวน 13 รัง จากหลายพื้นที่ในประเทศไทยระหว่างเดือนมีนาคม 2543 – ตุลาคม 2545 พบว่าในรังที่มีตัวอ่อนมากกว่ารุ่นแรกมีไรอยู่ในหลอดรวง 0-146 ตัว อัตราการแพร่ระบาดของไรในหลอดรวงตัวอ่อนและบนผึ้งตัวเต็มวัยเท่ากับ 1.8 และ 0.3% ตามลำดับ รังร้างพบไรในหลอดรวงตัวอ่อน 0-647 ตัว และอัตราการแพร่ระบาดของไรในหลอดรวงตัวอ่อนเท่ากับ 13.5%

ผลการศึกษาไร *T. clareae* ที่ร่วงตกลงมาจากรังของผึ้งหลวงจำนวน 5 รัง ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2543 - กรกฎาคม 2545 พบว่ารังที่ 1 และ 2 ซึ่งอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่มีไรตกลงมา 9,163 และ 1,806 ตัว ตามลำดับ รังที่ 3, 4 และ 5 ซึ่งอยู่ในจังหวัดสมุทรสงครามมีไรตกลงมา 10, 1 และ 0 ตัว ตามลำดับ โดยเฉลี่ย 93.8% ของจำนวนไรที่ตกลงมาตายได้รับบาดเจ็บมาก่อน โดยผึ้งงานของผึ้งหลวงกัดไรทิ้ง

การเปรียบเทียบจำนวนไรเพศเมียที่สืบพันธุ์ไม่ได้ และจำนวนลูกหลานของไรที่ผลิตโดยไรเพศเมียที่สืบพันธุ์ได้ ในหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้งหลวงจำนวน 11 รัง ผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกี (*A. mellifera*) จำนวน 10 รัง และผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ในประเทศไทยจำนวน 10 รัง พบว่าเปอร์เซ็นเฉลี่ยของจำนวนไรที่สืบพันธุ์ไม่ได้ในหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้งหลวง (65.2±5.1%) สูงกว่าในหลอดรวงของผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกี (48±5.2%) และผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย (50±3.8%) อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของจำนวนไรที่สืบพันธุ์ไม่ได้ในหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกีและผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อัตราจำนวนลูกหลานเฉลี่ยต่อไรเพศเมีย 1 ตัว ในหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้งหลวง (1.7±0.4 ตัว) ผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย (1.8±0.3 ตัว) และผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกี (2±0.3 ตัว) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการเปรียบเทียบความต้านทานต่อไร *T. clareae* ระหว่างผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกีและผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย การทดลองได้ทำขึ้นที่สุภาฟาร์มผึ้งในจังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2544 - กุมภาพันธ์ 2546 โดยใช้ผึ้งสายพันธุ์ละ 10 รัง พบว่าอัตราการแพร่ระบาดเฉลี่ยของไรในหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้งสายพันธุ์เออาร์เอสไพรมอสกี (18.5±2.6%) สูงกว่าของผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย (11.4±1.5%) อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ปัจจัยความต้านทานอื่นๆของผึ้งสองสายพันธุ์นี้ต่อไรได้แก่ อัตราการแพร่ระบาดเฉลี่ยของไรบนผึ้งตัวเต็มวัย (0.5±0.1 - 0.8±0.2%) จำนวนไรภายในรังผึ้งแต่ละรังเฉลี่ยต่อเดือน (871.5±179.5 - 954.9±184.6 ตัว) จำนวนไรเฉลี่ยต่อหลอดรวงตัวอ่อนที่ถูกบุกรุก (2.4±0.2 - 2.9±0.2 ตัว) เปอร์เซ็นต์ของจำนวนไรที่ได้รับบาดเจ็บซึ่งตกลงมาใต้รังผึ้ง (70.3 - 72.7%) อัตราการเอาตัวอ่อนของผึ้งที่ตายแล้วออกจากหลอดรวง(82.6±5.8-85.5±5.4%) และความมีชีวิตยาวนานของรังผึ้งซึ่งถูกไรเข้าทำลาย (4.6±0.5 - 6.2±0.8 เดือน) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

สาขาวิชา..วิทยาศาสตร์ชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....บุญมี กวินเสกสรรค์.....

ปีการศึกษา.. 2546.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4273813223: Major Biological Science
KEY WORDS: Defense Mechanisms, *Apis dorsata*, Primorsky Honey Bee, Thai Commercial Honey Bee, *Apis mellifera*, *Tropilaelaps clareae*

BOONMEE KAVINSEKSAN : DEFENSE MECHANISMS OF *Apis dorsata* FABRICIUS AND ARS PRIMORSKY HONEY BEE *Apis mellifera* LINNAEUS TO THE BEE MITE *Tropilaelaps clareae* DELFINADO AND BAKER. THESIS ADVISOR: PROF. SIRIWAT WONGSIRI, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: PROF. THOMAS E. RINDERER, Ph.D., 121 pp. ISBN 974-17-4156-1

Six new and 8 established colonies of *Apis dorsata* were collected in Samut Songkhram, Thailand, between April 2000 and September 2002 to investigate their infestation by *Tropilaelaps clareae* Delfinado and Baker. No mites were found in the 6 new colonies. The 8 established colonies had 2-119 mites in the sampled sealed brood, and 3 of 8 established colonies had 1-11 mites on the adult bees. Sixteen established and 13 deserted colonies of *A. dorsata* were also collected from different locations in Thailand, from March 2000 to October 2002, to determine for mite infestations. The sixteen established colonies had 0-146 *T. clareae* in the sampled capped brood, and 0-647 mites were found in sealed brood of the 13 deserted colonies. The average infestation rate was 0.3% on the adult bees, and 1.8 and 13.5% in sealed brood cells of the established and deserted colonies, respectively.

Debris from two *A. dorsata* colonies (1 and 2) in Chiang Mai and three *A. dorsata* colonies (3, 4 and 5) in Samut Songkhram was collected between May 2000 and July 2002. A total of 9,163 and 1,806 *T. clareae* were recovered from colonies 1 and 2, respectively, The number of mites collected in the debris of colonies 3, 4 and 5, was 10, 1 and 0, respectively. The percentage of injured mites in the debris from these *A. dorsata* colonies was 93.8%.

Eleven *A. dorsata*, 10 ARS Primorsky (*A. mellifera*) and 10 Thai commercial colonies (*A. mellifera*) were used to investigate rates of non-reproduction by *Tropilaelaps* mites infesting brood and the number of progeny produced by reproductive mites. The mean percentage of non-reproductive mites on the worker pupae of the *A. dorsata* colonies (65.2±5.1%) was significantly higher than that the mites in the Thai (50±3.8%) and Primorsky (48±5.2%) colonies. The mean percentages of non-reproductive mites in the Primorsky and Thai colonies were not significantly different. The numbers of progeny produced by reproductive mites in the *A. dorsata* (1.7±0.4), Thai (1.8±0.3) and Primorsky (2.0±0.3) colonies were not significantly different.

Ten ARS Primorsky and 10 Thai colonies were studied regarding their potential resistance to *T. clareae*. The experiment was conducted in Chiang Mai during November 2001- February 2003. The average infestation rate of *T. clareae* on the Primorsky brood (18.5±2.6%) was significantly higher than that of the Thai brood (11.4±1.5%). The mite infestation rate on the adult bees (0.5±0.1 - 0.8±0.2%), the average number of mites through time in the test colonies (871.5±179.5 - 954.9±184.6), the mite number per infested cell (2.4±0.2 - 2.9±0.2), the injured mite percentage in the debris (70.3 - 72.7%), the rate of removal of freeze-killed brood (82.6±5.8 - 85.5±5.4%) and the colony longevity (4.6±0.5 - 6.2±0.8 months) of the Primorsky and Thai colonies did not significantly differ.

Field of study...Biological Science.....Student's signature.....Boonmee Kavinseksan.....

Academic year...2003.....Advisor's signature.....Siriwat.....

Co-advisor's signature.....T.E.R.....

Acknowledgements

I am grateful to the Thailand Research Fund (TRF) for the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program, National Science and Technology Development Agency of Thailand (grant number CO-B-07-22-09-005) and Bansomdejchaopraya Rajabhat University for financial support.

I would like to thank USDA, ARS Honey Bee Breeding, Genetics and Physiology Laboratory for providing some ARS Primorsky honey bee queens and beekeeping equipment and Supa's apiary for providing some domestic honey bee queens and an experimental place for this study. Also, I would like to thank Maejo University and Center of Excellence in Entomology: Bee Biology, Biodiversity of Insects and Mites, Chulalongkorn University for the use of their facilities.

I would like to thank Professor Dr. Siriwat Wongsiri, Professor Dr. Thomas E. Rinderer, Dr. Lilia De Guzman, Associate Professor Dr. Benjamin P. Oldroyd, Associate Professor Chariya Lekprayoon, Associate Professor Penrat Hongvitayakorn and Dr. Hans Werner Rath for their suggestions on research techniques and their criticism of the written portions of this dissertation. Also, appreciation is directed to Associate Professor Dr. Kingkaew Wattanasirmkit, Dr. Sureerat Deowanish, Associate Professor Dr. Siriporn Sittipraneed, Assistant Professor Dr. Sirinan Aemprapa for their valuable comments.

I would like to thank Mr. Surachai Leephitakrat, Ms. Sucheera Insuan, Ms. Thadsanee Chaiyawong, Ms. Piyamas Nanork, Ms. Mananya Phiancharoen, Mrs. Supa Yawilert and Mr. Somboon Yawilert for their assistance in collecting samples.

Table of Contents

Page

Thai Abstract.....iv

English Abstract.....v

Acknowledgements.....vi

Table of Contents.....vii

List of Tables.....viii

List of Figures.....x

Chapter1: Introduction.....1

Chapter2: Literature Review.....4

Chapter3: *Tropilaelaps clareae* populations in new, established and deserted nests of *Apis dorsata* in Thailand.....28

Chapter4: Population and sex ratio of *Tropilaelaps clareae* in debris and deserted combs of *Apis dorsata* in Thailand.....41

Chapter5: Non-reproduction of the bee mite, *Tropilaelaps clareae*, in *Apis dorsata* and two stocks of *Apis mellifera* in Thailand.....55

Chapter6: Comparison of the hygienic behavior of Thai commercial and ARS Russian honey bees 72

Chapter7: A comparison for resistance of ARS Primorsky honey bee (*Apis mellifera*) and domestic European honey bee (*Apis mellifera*) against *Tropilaelaps clareae*.....82

Chapter8: Conclusions.....103

References.....106

Appendix 118

Biography.....121

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Tables

Table | Page

Table 2.1 Distributions of *T. clareae* and the infested honey bees from countries in Asia.....5

Table 2.2 Duration (days) of developmental stages of *T. clareae* in *A. mellifera* colonies.....10

Table 2.3 Chemicals and applications for controlling *T. clareae* in *A. mellifera* colonies.....15

Table 3.1 Numbers of *T. clareae* adults in new and established colonies of *A. dorsata* in Samut Songkhram, Thailand.....32

Table 3.2 Numbers, infestation rates and sex ratios of *T. clareae* adults in established and deserted nests of *A. dorsata* from different parts of Thailand.....34

Table 4.1 Numbers, sex ratios and injuries of *T. clareae* in debris of *A. dorsata* colonies in Thailand.....46

Table 4.2 Numbers, infestation rates and sex ratios of *T. clareae* adults in *A. dorsata* capped brood from deserted combs of debris collected colonies.....47

Table 5.1 Numbers and percentages of non-reproductive *T. clareae* on worker pupae in dark brown eyes with light pigmented thorax and older developmental stages of *A. dorsata*, ARS primorsky and domestic honey bees in Thailand.....61

Table 5.2 Progeny numbers of reproductive *T. clareae* on worker pupae in dark brown eyes with light pigmented thorax and older developmental stages of *A. dorsata*, ARS Primorsky and domestic honey bees.....62

Table 5.3 Frequency of reproductive *T. clareae* that produced different numbers of progeny.....63

Table 6.1 Rate of brood removal, number of adult workers, number of sealed brood cells, and colony size of Thai and ARS Russian strains of *A. mellifera* 76

List of Tables (Cont.)

Table | Page

Table 7.1 Numbers of *T. clareae*, brood and adult bees through time in ARS Primorsky and domestic colonies and infestation rates of *T. clareae* on brood and adult bees of ARS Primorsky and domestic honey bees.....91

Table 7.2 Longevity of ARS Primorsky and domestic honey bee colonies, numbers of mites and *T. clareae* progeny per infested cell of ARS Primorsky and domestic bees.....93

Table 7.3 Numbers and percentages of dead and injured *T. clareae* in debris of ARS Primorsky and domestic honey bee colonies.....95

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Figures

Figure Page

Figure 2.1 Worldwide distribution of *Tropilaelaps*.....6

Figure 2.2 Adult females and males of *T. clareae*.....8

Figure 2.3 Life cycle of *T. clareae*.....10

Figure 2.4 Stages in the development of *T. clareae*.....11

Figure 2.5 Duration of larval and pupal stages in *A. mellifera* workers.....13

Figure 2.6 Colonies of *A. dorsata* (a) hanging on a tree branch (b) hanging on eaves of a building.....23

Figure 2.7 Distributions of *A. dorsata* in Asia.....25

Figure 2.8 ARS Primorsky honey bees.....27

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย