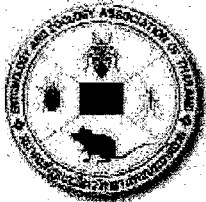


2

วารสาร

วารสารสัตวศาสตร์

ISSN 0125-3794



ปีที่ 30 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2555

Volume 30 No. 1, January - June 2012

ผลงานวิจัย

ประสิทธิภาพของไอระเหยจากสารสกัดจากพืช
ในการควบคุมโรคขอล์คบุตรของผึ้ง

Efficacy of Vapours from Plants Extracted against Chalkbrood Disease in Honey bee

พัชรินทร์ ทรัพย์เมือง¹ ศิริรัตน์ มั่นคง¹ และ มาลี ตั้งระเบียบ²

Patcharin Krutmuang¹ Sirirat Mankung¹ and Malee Thungrabeab²

Abstract

The objective of this research was to find out the efficacy of plant crude extracts and their vapourous activity or essential oil (EO) against chalkbrood disease (*Ascosphaera apis*) in honey bee under laboratory conditions by using the spot on agar test. The screening phase showed that 100 % of cinnamon crude extracted, geranium oil, lavender oil, citronella oil, spearmint oil, peppermint oil and eucalyptus oil could inhibit fungal growth. The influence of varying concentrations of essential oils exhibiting antifungal effect was also monitored by diluting concentrations to 25, 50, and 75 % (v/v). It was found that, all of essential oils vapours completely inhibited fungal growth. In addition, 100 % of cinnamon crude extracted vapours also could inhibit fungal growth for 72 hours.

Key words: *Ascosphaera apis*, chalkbrood disease, plants extracts vapours, honey bee

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์การวิจัยนี้เพื่อให้ได้ชนิดของสารสกัดจากพืชและไอระเหยของสารสกัดจากพืช ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Ascosphaera apis* สาเหตุโรคขอล์คบุตรของผึ้งพันธุ์ ในห้องปฏิบัติการ โดยการสกัดกรองสารสกัดจากพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าสารสกัดยาจากอบเชยและไอระเหยที่ให้ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำมันหอมจากจิงเจอร์ เบย์ม สเปียร์มินต์ ตะไคร้หอม สเปียร์มินต์

¹ภาควิชาวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

²ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ต.พิจัย อ.เมือง จ.ลำปาง 52000

Chiangmai Agricultural Research and Training Center, Rajamangala University of Technology, Lamphang 52000

สระระแหง และยูคาริปีตัส สามารถการยับยั้งการเจริญ
การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราด้วยไฮดรอกซีเบนซิล
และ 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไฮดรอกซีเบนซิลจากน้ำกินหอมระเหย
ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนไฮดรอกซีเบนซิล
ขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถการยับยั้งการเจริญเติบโต

คำหลัก: โรคขอล้คบุตร เชื้อราสาเหตุโรคขอล้คบุตร

คำนำ

โรคขอล้คบุตร (Chalkbrood) ในผึ้งพันธุ์
เกิดจากเชื้อรา *Ascosphaera apis* ทำให้ผลผลิต
น้ำผึ้งลดลง 5-37 เปอร์เซ็นต์ (Goodwin, 2002)
โดยเชื้อราดังกล่าวทำให้ผึ้งในระยะตัวหนอนเกิด
โรคและตายเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ประชากร
ของผึ้งตัวเต็มวัยในอนาคดลดลง และทำให้
ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของผึ้งลดลง การเกิดโรคใน
ช่วงแรกเกษตรกรจะไม่สามารถทราบได้ จน
กระทั่งผึ้งงานนำซากตัวหนอนที่แห้งตายออกมา
ทิ้งภายนอกรัง หากไม่ได้รับการแก้ไขจะทำให้เกิด
การระบาดที่รุนแรงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในปัจจุบัน
ยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดถึงวิธีการที่มี
ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดได้ดีที่สุดและ
เป็นที่ยอมรับของเกษตรกร เนื่องจากการจัดการ
เกี่ยวกับรังผึ้งนั้น มีข้อคำนึงที่สำคัญอยู่หลาย
ประการ คือ วิธีการที่เลือกใช้ต้องให้ผลดีและมี
ประสิทธิภาพ อีกทั้งต้องไม่ส่งผลกระทบต่อ
ประชากรผึ้งภายในรัง รวมไปถึงสารพิษที่จะ
ตกค้างภายในรังผึ้ง และต้องคำนึงถึงผลเสียที่
จะเกิดกับผลิตภัณฑ์ผึ้งด้วย (ภาณุวรรณ และ
คณะ, 2547) การศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรค
ขอล้คบุตรนั้น มีหลากหลายวิธีการ ไม่ว่าจะเป็น
การใช้น้ำกินหอมระเหยคือ การใช้พาร์เม็ทตามาทา

การทดสอบผล
คือ 25, 50
เส้นใยเชื้อรา
ความเข้ม

การใช้
เป็นดิน
Hornitzky,
จากพืช
การเจริญ
ระดับห้อง
ทดลองเป็น
ประโยชน์ใน
ปลอดกับ
ไม่สูงมาก
หากได้มี
ควบคุมโรค
กรรมการ
จากผึ้งมี
รัง

ใช้ในการ
ตัวหนอน
สารรมผึ้ง
เชื้อราที่
ของเส้นใย

อาหารเลี้ยง
ในภา
Potato Dext
(PDAY) (A
ปริมาตร 20
ผ่านศูนย์กลาง
สารสกัดจาก
สารสกัด
(สกัดด้วยแ
การทดลอง
ห้องดินของ
หยวก ใบพลู
กานพลู ยูคา
น้ำมี
ใช้ในการทดสอบ
สารเร่งโต
สเปียร์มินต์
การคัดกรอง
เติบโตของ
ออก
ทำการแบ่งที่
เท่า ๆ กัน
ราโดยใช้ ๙๐
ย้ายเส้นใย
ลักษณะของ
พืชความเข้
อาหารเลี้ยง
ไม่ใคร่ดีตร
เจริญเติบโต
ศึกษาในชั้น

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

ในการทดลองใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Potato Dextrose Agar + 0.4 % yeast extract (PDAY) (Aronstein and Murray, 2010) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

สารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากพืชจำนวน 10 ชนิด (สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์) ที่ใช้ในการทดลองประกอบไปด้วย แมะพะบีโต๊ะ (พืชท้องถิ่นของชาวเขา) ดาวกระชาย หนอนตายหยาก ใบพลู ยาลูบ มะเข็ญน้ำ สาบแร้งสาบกา กานพลู ยูคาลิปตัส และอบเชย

น้ำมันหอมระเหยจากพืชจำนวน 9 ชนิดที่ใช้ในการทดลองประกอบไปด้วย เจอราเนียม ลาเวนเดอร์ ตะครีหอม ยูคาลิปตัส ส้มสเปียร์มินต์ สะระแหน่ พญาแฝก และโรสแมรี่ การคัดกรองสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราด้วยไฮระเหย

ออกแบบการทดลองดัง Figure 1 โดยทำการแบ่งพื้นที่ของจานทดลองออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน ทำการเจาะส่วนปลายของเส้นใยเชื้อราโดยใช้ cork borer ขนาด 2 มิลลิเมตร แล้วย้ายเส้นใยมาวางบนจานทดลองที่ตำแหน่ง B ในลักษณะหงายเส้นใยขึ้น จากนั้นหยดสารสกัดจากพืชความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ตำแหน่ง A จำนวน 10 ไมโครลิตร คัดเลือกสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราในตำแหน่ง B เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

การศึกษาผลของไฮระเหยต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ทำการปรับระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ให้ได้ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยใช้ Tween 80 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ออกแบบการทดลอง (Figure 2) โดยทำการแบ่งพื้นที่ของจานทดลองออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน ทำการเจาะส่วนปลายของเส้นใยเชื้อราโดยใช้ cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร แล้วย้ายเส้นใยมาวางบนจานทดลองตามตำแหน่งที่กำหนดไว้ในลักษณะหงายเส้นใยขึ้น จากนั้นวางจานทดลองในลักษณะที่คว่ำจานลง แล้ววางกระดาษเพื่อซึมซับสารสกัดจากพืชที่บริเวณฝาของจานทดลอง จากนั้นหยดสารสกัดแต่ละชนิดแต่ละความเข้มข้นในปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษดังกล่าว ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ทำการสังเกตและบันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 2 เดือน

ผลการทดลองและวิจารณ์

การคัดกรองสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราด้วยไฮระเหย

จากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (ยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 100 เปอร์เซ็นต์) มี 6 ชนิด คือ น้ำมันหอมระเหยจากเจอราเนียม ลาเวนเดอร์ ตะครีหอม ยูคาลิปตัส สเปียร์มินต์ และสะระแหน่ และพบว่าสารสกัดหยาบจากอบเชย สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ ดังนั้นจึงทำการศึกษาต่อ

ของสารสกัดหยาบจากอบเชยที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

การศึกษาผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

จากการศึกษาความสามารถของไอระเหยของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคของสับรูดในฝั่งพันธุ์ พบว่าไอระเหยของสารสกัดหยาบจากอบเชยที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ 72 ชั่วโมง หลังจากเริ่มพบว่าเส้นใยสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ส่วนผลการทดสอบความสามารถของไอระเหยจากน้ำมันหอมระเหยทั้ง 6 ชนิด ที่ทุกระดับความเข้มข้น พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ (Figure 3 และ Table 1)

ในการทดสอบความสามารถของไอระเหยของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคของสับรูดในฝั่งพันธุ์ในครั้งนี้ ได้ทำการทดสอบในสภาพปิด คือ ไม่มีการเปิดจานเลี้ยงเชื้อหลังจากการหยดสารสกัดลงบนกระดาษ ทำให้พบว่าในสภาพเดียวกัน ไอระเหยของสารสกัดหยาบจากอบเชยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตได้เพียง 72 ชั่วโมงแรกเท่านั้น ในขณะที่ไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากพืช สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

การออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราของสารสกัดแต่ละชนิด เป็นผลจากสารประกอบที่แตกต่างกันออกไปซึ่ง Kloucek et al. (2012) ได้รายงานข้อมูลส่วนประกอบสำคัญในสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดลองไว้ว่า

(E)-Cinnamaldehyde ส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันตะไคร้หอมคือ Citronellal, Geraniol, Citronellol, Citral และ Neral น้ำมันยูคาลิปตัสคือ 1, 8-Cineol น้ำมันลาเวนเดอร์คือ Linalyl acetate, Linalool, Campholenal และ 1, 8-Cineol น้ำมันสะระแหน่คือ Menthol และ Menthone น้ำมันเปปเปอร์มินต์คือ Carvone และ Limonene และในน้ำมันเจอรานิยมคือ Citronellol, Geraniol และ Citral นอกจากนี้ Kloucek et al. (2012) ได้ทำการทดสอบความสามารถของไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราพบว่าระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไอระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากเจอรานิยม ลาเวนเดอร์ สเปียร์มินต์ และ สะระแหน่ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้คือ 250-500 ppm ส่วนอบเชยเท่ากับ 125 ppm และตะไคร้หอมเท่ากับ 63 ppm ซึ่งพบว่าระดับความเข้มข้นต่ำดังกล่าวผลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ เป็นชนิดที่มีจำหน่ายทั่วไป อาจมีการผสมส่วนผลอื่น ๆ เพื่อประโยชน์เชิงพาณิชย์ อีกทั้งสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดอาจมีกระบวนการในการสกัดที่แตกต่างกัน ทำให้ผลการทดลองที่ได้ใช้ความเข้มข้นในระดับที่สูงกว่ารายงานฉบับอื่น ๆ ซึ่งเมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบบสัมผัสพบว่า น้ำมันเจอรานิยม ลาเวนเดอร์ ตะไคร้หอม สเปียร์มินต์ และ สะระแหน่ ต้องใช้สารละลายความเข้มข้นสูงถึง 8 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันยูคาลิปตัสต้องใช้สารละลายความเข้มข้นสูงกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ในการทดสอบไอระเหยจึงออกแบบการทดลองที่ระดับความเข้มข้นใน

การวิจัยเรื่อง การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราด้วย...

สรุปผล

ไอระเหยของอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสับรูดจากอบเชยได้ 72 ชั่วโมง ส่วนไอระเหยของตะไคร้หอมและอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองไว้ว่า

สารประกอบสำคัญใน essential Geraniol, และ น้ำมันยูคาลิปตัส และลิโมนีน (linalyl alcohol) และ 1, 8- cine Menthol และ cine Camphor และ cine Citronellol, สารใน Klouček et al สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ของเส้นใยเชื้อราได้ การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยลดความชื้นในรังผึ้งได้ 10 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของเชื้อราสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยลดความชื้นในรังผึ้งได้ 10 เปอร์เซ็นต์

ช่วงกว้างคือ 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทราบช่วงของระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต เพื่อศึกษาหาระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไอรระเหยของสารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคของผึ้งในรังผึ้ง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากอบเชย และน้ำมันหอมระเหยจากเจลาเนียม ตะไคร้หอม ลาวานเดอร์ สเปียร์มินต์ ยูคาลิปตัส และสะระแหน่ ไอรระเหยของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 6 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ การทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ ซึ่งควรมีการศึกษาวิจัยประสิทธิภาพของไอรระเหยดังกล่าวเพิ่มเติมในฟาร์มเลี้ยง เพื่อเป็นทางเลือกให้แก่เกษตรกรในการลดการใช้สารเคมี และผู้ประกอบการสามารถนำไปพัฒนาสู่การประยุกต์ใช้จริงในฟาร์มเลี้ยง

เอกสารอ้างอิง

ภาณุวรรณ จันทวรรณกูร, สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, อังชัย ปุชนิย์จันทราเนห์ และ มยุรส ชัยหาญ. 2547. โครงการการศึกษาโรคที่เกิดจากแมลงที่เรื้อรังและเชื้อราในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) และการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการรักษา. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 120 หน้า.

Aronstein, K. A. and K. D. Murray. 2010. Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 103(Supplement 1): 20-29.

Goodwin, R. M. 2002. Animal import risk analysis: Honey bee hive products and used equipment. Ministry of Agriculture and Forestry, New Zealand. 83 p.

Hornitzky, M. 2001. Literature review of chalkbrood - a fungal disease of honey bees. Rural Industries Research & Development Corporation, Barton. 22 p.

Klouček, P., J. Smid, J. Elesar, J. Havlik, D. Tifera, V. Rada, O. Drabek, and L. Kokoska. 2012. *In vitro* Inhibitory activity of essential oil vapors against *Ascosphaera apis*. *Natural Product Communications* 7(2): 253-256.

Table 1. Inhibition of growth rates (%) of fungi exposed to three concentrations of the essential oils from crude plants extracted.

Plant extracts	Concentrations %(v/v)	Day							Weeks							
		1	2	3	4	5	6	7	2	3	4	5	6	7	8	
Geranium	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Citronella	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Spearmint	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Peppermint	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eucalyptus	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lavender	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cinnamon	100	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

- 100 % Inhibition (No growth), + Fungi growth

Figure 1 Test



Figure 2 Test



Figure 3 Test

ini
C