



รายงานฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยเรื่อง

การทดสอบประสิทธิภาพของไอระเหยจากพืชในการควบคุม
โรคชอล์คบรู๊ดในผึ้งพันธุ์

Effects of Plants Extracts Vapors on *Ascosphaera apis* Causal Agent
of Chalkbrood Disease in Honey Bee (*Apis mellifera*)

จัดทำโดย

พัชรินทร์ ครุฑเมือง และคณะ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๗

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ผ่านสถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาภูมิวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโครงการย่อย บัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ อ.ดร. สรัญญา วัลยะ เสวี ที่ให้คำแนะนำ ให้ข้อเสนอแนะ การทดลองจะไม่สามารถดำเนินการและสำเร็จไปได้ ด้วยดี หากขาดผู้ช่วยวิจัยในโครงการ ได้แก่ นางสาวธนาวดี คำชู นางสาวกฤติมา บัณฑิตะ มา และนางสาวจันทร์ฉาย จันธิมา คณะผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ที่นี้ เกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้ง ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้เข้าเก็บตัวอย่างผึ้งและให้การช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่ง นอกจากนี้บุคคลที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์

คณะผู้วิจัย

สิงหาคม 2557

Abstract

The present study was undertaken to determine the antifungal activities from medicinal plant extracts against chalkbrood disease in honey bee caused by the fungus *Ascosphaera apis* under laboratory condition. Plant extracts are great interest for apply to use in bee production for control bee disease due to non toxicity and friendliness to the environment. The objectives of this study, screening potential of 32 plants antifungal activity by means of solvent with ethyl acetate were conducted by vapor contact method. Vapor from all plants were treated on the lip of PDA plate and the diameter of the colony were recorded. For screening result showed that four plant extracts from citronella, bay indian, palmarosa and oregano at concentration 12.5 and 25 % (v/v) were efficient in inhibiting the growth of fungal ranges from 51.11 to 76.48 %. Then 4 selected plant extracts were determined again to confirm the efficiency for antifungal activities. Oregano with the minimum inhibitory concentration 4% was found most effective inhibition colony growth with 100 % control. By the solution contact method for control chalkbrood disease, 0.5 % of oregano showed strong activity against *A. apis* inhibition levels of mycelium growth (100%). Among the vapor method of cinnamon, oregano1 and oregano2 tested with adult honeybee (*Apis mellifera*) in terms of bee behavior after exposed to vapor of plant extracts at 10 % concentration in experimental box. The effect of bee behavior of plant extracts was observed as locomotor activity displaying abnormal movements of wings, legs, which can be paralyzed, muscle twitching and unconsciousness, finally increased cumulative mortality. For the median lethal concentration (LC₅₀) during 5 h. of cinnamon, oregano1 and oregano2 were 85, 142 and 55 % respectively.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านเชื้อราของสารสกัดจากพืช ต่อเชื้อราสาเหตุโรคซอสต์ครูดของผึ้งที่เกิดจากเชื้อ *Ascosphaera apis* ภายใต้สภาพของห้องปฏิบัติการ สารสกัดที่ได้จากพืช กำลังเป็นที่สนใจและนิยม เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคในผึ้ง สำหรับอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้ง เนื่องจากไม่มีความเป็นพิษ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จุดประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อหาคุณสมบัติในการต้านเชื้อราของไธเรเฮยของสารสกัดจากพืชจำนวน 32 ชนิด โดยใช้ ethyl acetate เป็นตัวทำละลาย วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อรา ผลการทดสอบในเบื้องต้น พบว่าสารสกัดจากพืชจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจาก ตะไคร้หอม ใบกระวานอินเดีย พาลมาโรชา และออริกาโน สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* ได้สูงสุด ที่ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยอยู่ในช่วง 51.11 – 76.48 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น 4 สารดังกล่าวได้ถูกทดสอบอีกครั้งหนึ่งเพื่อยืนยันผลการต้านเชื้อรา ขณะที่การทดสอบประสิทธิภาพของไธเรเฮยจากสารออริกาโน เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไธเรเฮยจากสารออริกาโนที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา พบว่าสารสกัดจากออริกาโนความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากออริกาโน ลงบนเชื้อเชื้อราสาเหตุ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคซอสต์ครูดของผึ้ง พบว่าในการหยดสารออริกาโนความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบไธเรเฮยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ ไธเรเฮยจากอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 กับตัวเต็มวัยผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สารทดสอบเหล่านี้มีผลทำให้ผึ้งเกิดอาการตื่นเต้น วิ่งรอบบริเวณหลอดทดลอง จากนั้นทรงตัวไม่อยู่ และมีการชักตามอวัยวะส่วนขา จากนั้นหยุดนิ่งอยู่กับที่คล้ายอาการเป็นอัมพาตและตายในที่สุด จากการคำนวณค่า LC_{50} เวลาที่ 5 ชั่วโมงของผึ้ง ไธเรเฮยจากอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 มีค่าเท่ากับ 85, 142 และ 55 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	25
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	43
บทที่ 5 สรุปผล	76
เอกสารอ้างอิง	78

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. รายชื่อสารสกัดจากพืชที่นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์คbruchของผึ้ง	26
2. ประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน	44
3. ประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน	50
4. ประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารสกัดจากออริกานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน	52
5. ประสิทธิภาพไธราเฮยของสารผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน	54
6. ประสิทธิภาพไธราเฮยของสารผสมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน	56
7. ประสิทธิภาพของการหยดสารสกัดจากออริกานที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน	61
8. ระยะเวลาของการตอบสนองของผึ้งพันธุ์ที่มีต่อไธราเฮย 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์	66
9. แสดงการคำนวณค่า LC_{50} เวลาที่ 5 ชั่วโมง	69
10. บันทึกพฤติกรรมของผลการทดสอบไธราเฮยกับผึ้ง	71

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
11. ค่าเฉลี่ยสะสมของจำนวนตัวตายเมื่อทดสอบกับไธระเหยจากสารสกัดจากพืช ที่เวลา 72 ชั่วโมง	74
12. เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวตายทั้งหมดหลังจากทดสอบกับไธระเหยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย ออริกานาโน1 และออริกานาโน2 ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	75

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. การทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮียจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Ascosphaera apis</i> สาเหตุโรคชอล์ค บรุตในฝังบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar	27
2. แผนผังการทดสอบประสิทธิภาพของการหยดสารสกัดจากใบกระวาน และออริกานอ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคชอล์คบรุตของฝังบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar	30
3. แผนการทดสอบประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดจากพืชหยดลงบนชิ้นเชื้อ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคชอล์คบรุตของฝังบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar	31
4. วิธีการนับจำนวนตัวฝังบในรวงฝังบก่อนทดสอบกับไธราเฮีย โดยการถ่ายรูปแล้วนับจำนวนตัวฝังบทั้งสองด้าน	32
5. ขั้นตอนการเตรียมสารให้ได้ไธราเฮีย เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับทดสอบกับประชากรฝังบในรวงฝังบ	33
6. แสดงการทดสอบปฏิกิริยาการตอบสนองของฝังบต่อสารในรูปของไธราเฮีย	33
7. วิธีการนับจำนวนตัวฝังบในรวงฝังบหลังจากที่ฝังบได้รับสาร โดยการถ่ายรูปแล้วนับจำนวนตัวฝังบทั้งสองด้าน	34
8. แสดงการเตรียมฝังบก่อนทดสอบกับไธราเฮียแบบตัวต่อตัว	35
9. วิธีการเตรียมสารให้ได้ไธราเฮีย โดยนำกระดาษกรองที่มีไธราเฮีย ไปใส่ในหลอดทดลอง	36
10. การเตรียมฝังบก่อนทดสอบกับไธราเฮียแบบตัวต่อตัว	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
11. แสดงการเตรียมสารให้ได้ไธราเฮีย โดยหยดสารละลายลงบนกระดาษกรอง 20 ไมโครลิตร ปลอຍให้ตัวทำระเหย	38
12. แสดงการจัดฟุ้งตัวเต็มวัยจำนวน 10 ตัวต่อชุดทดสอบ ปรับตัวให้เข้ากับสภาพในกล่องทดลอง เป็นเวลา 1 คืน เพื่อทดสอบไธราเฮียที่ความเข้มข้นต่างๆ	39
13. แสดงการหยดไธราเฮียที่ถูกหยดบนกระดาษกรองตามความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อเตรียมไปติดในกล่องทดลอง	41
14. การแสดงตำแหน่งการวางแผนไธราเฮีย พร้อมภาชนะบรรจุ น้ำหวานเพื่อให้ผึ้งพันธุ์ได้กินขณะที่อยู่ในกล่องทดลอง	41
15. สังเกตพฤติกรรมของผึ้ง และบันทึกผลเปอร์เซ็นต์การตายหลังทดสอบ ไธราเฮียในช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง	42
16. ประสิทธิภาพของไธราเฮียจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอสต์ครูดของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	47
17. ประสิทธิภาพของไธราเฮียจากสารสกัดจากตะไคร้ ใบกระวาน พาลมาโรชา และออริกานา ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรค ซอสต์ครูดของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	51
18. ประสิทธิภาพของไธราเฮียจากสารสกัดจากออริกานา ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคของ ซอสต์ครูดผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
19. ประสิทธิภาพของการไธระเหยผสมสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรค ซอส์คบุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	55
20. ประสิทธิภาพของไธระเหยของการผสมสารสเปียร์มินท์กับอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์คบุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน	57
21. ประสิทธิภาพของไธระเหยของการผสมสารตะไคร้กับอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์คบุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	57
22. ประสิทธิภาพของไธระเหยของการผสมสารพาลมาโรซากับอบเชยในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์ค บุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	58
23. ประสิทธิภาพของไธระเหยของการผสมสารเจอรานิยมกับอบเชยในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์ค บุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	58
24. ประสิทธิภาพของไธระเหยของอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์คบุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน	59
25. ประสิทธิภาพของการหยดสารสกัดใบกระวานและออริกานอ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคซอส์คบุตรของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน	60

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
26. ประสิทธิภาพของการหยดสารสกัดจากออริกาโน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคขอล้คบุตรของฝรั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน	61
27. ประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดหยดลงบนชิ้นเชื้อ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา <i>A. apis</i> สาเหตุโรคขอล้คบุตรของฝรั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน	62
28. เปรียบเทียบน้ำหนักฝรั่งฝั่ ก่อนทดสอบ กับหลังทดสอบไอร่เหย โดยวางฝรั่งฝั่ทดสอบไว้ในอาคาร	63
29. เปรียบเทียบน้ำหนักฝรั่งฝั่ ก่อนทดสอบ กับหลังทดสอบไอร่เหย โดยวางฝรั่งฝั่ทดสอบไว้ในนอกอาคาร	64
30. จำนวนประชากรต่อรวงฝั่ภายในโรงฝั่ก่อนทดสอบกับไอร่เหย เปรียบเทียบกับจำนวนประชากรที่ได้รับไอร่เหย ทดสอบภายในอาคาร	64
31. จำนวนประชากรต่อรวงฝั่ภายในโรงฝั่ก่อนทดสอบกับไอร่เหย เปรียบเทียบกับจำนวนประชากรที่ได้รับไอร่เหย ทดสอบภายนอกอาคาร	65
32. ผลความเป็นพิษในรูปเปอร์เซ็นต์การตาย และค่าโพรบิท (Probit) ของไอร่เหยจากอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของฝั่ ในเวลา 5 ชั่วโมง	68
33. คราบสีเหลืองที่พบในซากฝั่ที่ตาย หลังจากได้รับสารในหลอดทดลอง	70
34. คราบสีเหลืองที่สันนิษฐานว่าเป็นมูลที่ฝั่ขับถ่ายออกจากร่างกาย	74

บทนำ

โรคชอล์คบรูต (Chalkbrood disease) เป็นเชื้อสาเหตุของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งจะเข้าทำลายเฉพาะช่วงที่ผึ้งอยู่ในระยะตัวหนอนที่มีอายุประมาณ 3-4 วัน โดยเกิดจากเชื้อรา *Ascosphaera apis* ตัวหนอนจะอ่อนแอต่อการติดเชื้อของโรคชอล์คบรูตมากที่สุด การแพร่ระบาดของโรคเกิดจากสปอร์ของเชื้อราปนเปื้อนไปกับอาหาร โดยการป้อนอาหารของผึ้งงานตัวเต็มวัยที่ทำหน้าที่เลี้ยงดูตัวหนอนผึ้ง ทำให้สปอร์ของเชื้อราเข้าสู่ท่อทางเดินอาหาร เมื่อปัจจัยทางเคมี และสรีระภายในท่อทางเดินอาหารเหมาะสม สปอร์ของเชื้อราจะดำรงชีวิตโดยการดูดซับธาตุอาหารภายในตัวหนอน จากนั้นเจริญเติบโตโดยการสร้างเส้นใยเชื้อรา และแทงทะลุผ่านลำตัวออกมาเป็นจำนวนมากจนปกคลุมทั่วตัวหนอน จากนั้นตัวหนอนจะแห้งตาย และกลายเป็นมัมมี่ หรือซากสีขาวคล้ายชอล์ค กรณีเกิดการระบาดของโรคอย่างรุนแรง สังเกตได้จากผึ้งงานที่มีหน้าที่ทำความสะอาดรังจะนำตัวหนอนที่ตายเป็นซากมัมมี่ออกมาทิ้งนอกรังเป็นจำนวนมาก โดยเชื้อราโรคชอล์คบรูตไม่สามารถเข้าทำลายผึ้งตัวเต็มวัยได้ ถึงแม้ว่าระยะแรกจะไม่เกิดความเสียหายมากนัก เมื่อไม่ได้รับการควบคุม และป้องกันจะทำให้เกิดการแพร่ระบาดอย่างรุนแรง ซึ่งทำให้จำนวนตัวเต็มวัยของผึ้งงานในอนาคตมีอัตราการลดลง และส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ผึ้งลดลงด้วย นอกจากนี้โรคชอล์คบรูตสามารถแพร่กระจายด้วยสปอร์ของเชื้อรา และสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานหลายปี ในสภาพที่ไม่มีโฮสต์ ได้แก่ อุปกรณ์เลี้ยงผึ้ง หรือวัสดุทำรัง และหลอดรวงผึ้งที่ติดเชื้อ (Fairey *et al.*, 1985) มีรายงานพบว่าโรคชอล์คบรูตส่งผลให้การผลิตน้ำผึ้งของผึ้งงานลดลง 5-37 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากโรคนี้เกษตรกรไม่สามารถทราบได้ทันที จนกระทั่งสังเกตได้จากการนำซากของตัวหนอนผึ้งออกมาทิ้งที่หน้ารัง (Goodwin, 2002) ทำให้มักแก้ไขได้ไม่ทันการ เพราะสปอร์ของเชื้อราได้ปนเปื้อนไปทั่วรังผึ้งแล้ว ดังนั้นจึงมีการพยายามที่จะศึกษา และคิดค้นวิธีการป้องกันการระบาดของโรคนี้ แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการรายงานที่แน่ชัด ถึงวิธีการที่ให้ผลในการป้องกันกำจัดได้ดีที่สุด โดยเป็นที่ยอมรับของเกษตรกร เนื่องจากการจัดการใด ๆ ก็ตามกับรังผึ้งนั้น มีข้อคำนึงที่สำคัญอยู่หลายประการ คือ วิธีการที่เลือกใช้ต้องให้ผลที่ดีและมีประสิทธิภาพ อีกทั้งต้องไม่ส่งผลกระทบต่อประชากรผึ้งภายในรัง รวมไปถึงสารพิษที่จะตกค้างภายในรังผึ้ง และต้องคำนึงถึงผลเสียที่จะเกิดกับผลิตภัณฑ์ผึ้งด้วย การศึกษา

ค้นคว้าเกี่ยวกับการควบคุมโรคซอส์คบุตรนั้น มีหลากหลายวิธีการ ไม่ว่าจะเป็นการจัดการ
 ดูแลรังผึ้ง การใช้พันธุ์ผึ้งต้านทาน การใช้เทคโนโลยีต่าง ๆ เช่น การใช้รังสี การใช้คลื่น
 ความร้อน การใช้คลื่นเสียง เป็นต้น (ศิริรัตน์, 2555) ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการนำไอระเหย
 จากพืชรวมทั้งจากพืชสมุนไพรที่มีการจำหน่ายหรือมีการพัฒนามาจากหน่วยงานต่าง ๆ
 มาทดสอบหาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคซอส์คบุตรใน
 ระดับห้องปฏิบัติการ และในรังผึ้งทดสอบ ทั้งนี้เพื่อประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มี
 จำหน่ายตามท้องตลาด หรือผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตและพัฒนาเพื่อประโยชน์ด้านการ
 ป้องกันกำจัดโรคในผึ้ง นอกจากนี้มีการทดสอบผลกระทบของไอระเหยที่มีต่อพฤติกรรม
 ของประชากรผึ้งในรังผึ้งด้วย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ยังใช้เป็นฐานข้อมูลที่เป็น
 ประโยชน์ต่อผู้ที่ศึกษา ตลอดจนถึงเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้ง และผู้ประกอบการผึ้งที่ให้ความ
 สนใจต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคซอส์คบุตรให้เหมาะสมกับสภาพภายในรัง
 และสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ลานเลี้ยงรังผึ้ง สำหรับการทดลองครั้งนี้ได้ใช้ไอระเหยของน้ำมัน
 หอมระเหยจากพืชธรรมชาติ ซึ่งมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังมี
 ราคาไม่สูงมาก เหมาะกับเกษตรกรที่ต้องการลดต้นทุนในการบริหารจัดการ สำหรับ
 ประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคในอนาคต เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรลดการใช้
 สารเคมีกำจัดโรคซอส์คบุตรในผึ้ง เนื่องจากปัจจุบันมีการตรวจพบสารตกค้างในอุปกรณ์
 การเลี้ยง และผลิตภัณฑ์ผึ้ง ซึ่งมีผลต่อระบบนิเวศน์ ดังนั้นผลการศึกษานี้จะได้ข้อมูล
 เบื้องต้น สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ป้องกันโรคซอส์คบุตรในอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้ง
 ไทยในภายภาคหน้า

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของไอระเหยจากพืชชนิดต่าง ๆ ในการยับยั้งการระบาดของ
 โรคซอส์คบุตร ในสภาพห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อผึ้งตัวเต็มวัย กับไอระเหยที่มีประสิทธิภาพที่คัดเลือก
 ได้จากห้องปฏิบัติการ ในสภาพในรังผึ้ง

การตรวจเอกสาร

โรคซอสต์คอบรูต

ซอสต์คอบรูต เป็นโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายในฝัองพันธุ์ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Ascosphaera apis* โดยจะทำให้เกิดความเสียหายให้กับฝัองตัวอ่อนที่อยู่ในหลอดรวงฝัอง ถึงแม้ว่าอัตราการตายจะเกิดกับตัวหนอนบางตัว โรคนี้ส่วนใหญ่แล้วไม่ทำให้เกิดความเสียหายอย่างร้ายแรงกับกลุ่มประชากรฝัอง อย่างไรก็ตามโรคนี้ส่งผลกระทบต่อกลุ่มประชากร และผลผลิตของฝัองในอนาคต ซึ่งทำให้ผลผลิตของฝัองลดลง 5-37 เปอร์เซ็นต์ โรคซอสต์คอบรูต ปัจจุบันพบในแหล่งที่มีการเลี้ยงฝัองทั่วโลก ซึ่งบ่งบอกว่าโรคซอสต์คอบรูต ยังเป็นโรคที่สำคัญอีกโรคหนึ่งในอุตสาหกรรมการเลี้ยงฝัอง

โรคซอสต์คอบรูต ได้ถูกค้นพบตั้งแต่ปี ค.ศ. 1900 โรคนี้ยังไม่แพร่กระจายออกจากประเทศในกลุ่มยุโรป มีรายงานโรคนี้ในประเทศเยอรมนี ประเทศในกลุ่มสแกนดิเนเวีย รัสเซีย รวมถึงประเทศในสหราชอาณาจักร ต่อมาในปี ค.ศ. 1977 มีรายงานว่าเกิดการระบาดของโรคซอสต์คอบรูตอย่างรุนแรงในประเทศนอร์เวย์ หลังจากนั้นได้แพร่กระจายไปยังประเทศนิวซีแลนด์ และแพร่ระบาดไปยังอุตสาหกรรมการเลี้ยงฝัองเป็นการค้า หลังจากนั้น มีรายงานโรคซอสต์คอบรูต จากประเทศอื่น ๆ ทั่วโลกในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงฝัอง รวมไปถึงประเทศออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา

การจำแนกชนิด เชื้อ *Ascosphaera* มีความสัมพันธ์กับฝัองงาน นอกจากนี้ ปัจจุบันได้จำแนกกลุ่มของโรคซอสต์คอบรูต อยู่ในเชื้อรากลุ่ม Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Ascosphaeraceae; *Ascosphaera apis*

การแพร่ระบาดของโรคซอสต์คอบรูต ส่วนใหญ่แล้วความชุกของโรคจะเกิดในช่วง Spring ซึ่งส่งเสริมให้เชื้อราเจริญเติบโตได้อย่างดี รวมถึงการถ่ายเทอากาศที่ไม่ดีในรังฝัอง โดยปกติแล้วปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมจะมีความสัมพันธ์กับ Biotic factor เช่น สายพันธุ์ของเชื้อรา และ Genetic background ของฝัอง อาจจะส่งผลต่ออุบัติการณ์การเกิดโรค และความรุนแรงของโรคได้ มีรายงานว่าสายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อ *A. apis* มีระดับความรุนแรงในการเข้าทำลายโฮสต์ต่างกันถึง 20 เท่า ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อราที่ผลิต Ascospore อัตราการงอกของสปอร์ และประสิทธิภาพของสปอร์ที่แพร่กระจาย

สำหรับพันธุกรรมของผึ้งนั้น ผึ้งที่อ่อนแอมีโอกาสเกิดโรคอย่างรุนแรง มีการศึกษาวิจัยในการปรับปรุงสายพันธุ์ของผึ้งให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ การเข้าใจถึงการระบาดของโรคซอสต์บรูต การปรับปรุงเทคนิคการจัดการในรังผึ้งให้มีประสิทธิภาพในการต้านทานโรคให้ดีขึ้น โดยการกำจัดเศษซากที่คาดว่าจะมีสปอร์ของเชื้อปนเปื้อนอยู่ออกจากรังผึ้ง ใช้อุปกรณ์ที่สะอาดและผ่านขบวนการปลอดเชื้อ การเปลี่ยนรวงใหม่ทุกปี

การสืบพันธุ์ของเชื้อราชนิดนี้ เป็นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยจะสร้างสปอร์ที่เรียกว่า Ascospore เมื่อตัวอ่อนได้รับสปอร์ของเชื้อ โดยการกินเท่านั้น สปอร์ไม่สามารถออกผ่านผนังลำตัวเข้าสู่ตัวอ่อนผึ้งได้ เมื่อตัวอ่อนได้รับสปอร์โดยการกินเชื้อจากการปนเปื้อนของอาหาร จะอ่อนแอภายใน 3-4 วัน ในขณะที่ตัวเต็มวัยจะไม่อ่อนแอ หรือแสดงอาการของโรคนี้ โดยที่ตัวเต็มวัยสามารถรับสปอร์ของเชื้อได้ แต่ไม่แสดงอาการ การแพร่ของโรคส่วนใหญ่มักเกิดจากการปนเปื้อนของอาหารที่ปนอยู่ผึ้งระยะตัวหนอน รวมถึงสามารถปนเปื้อนไปกับผลผลิตของผึ้งในรวงรัง เช่น ไขผึ้ง เกสรผึ้ง และน้ำผึ้ง เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อรา *A. apis* มีชีวิตอยู่ได้นานอย่างน้อย 15 ปี สปอร์ของเชื้อที่เข้าสู่ตัวอ่อนผึ้งจะงอกเส้นใยภายในบริเวณลำไส้ โดยมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวกระตุ้น ผึ้งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะกินอาหารน้อยลง หลังจากนั้นหยุดการกินอาหาร เนื่องจากว่าเชื้อมีการผลิตเอนไซม์หลายชนิดที่มีส่วนช่วยในการทำให้เชื้อแพร่เข้าสู่ผนังลำไส้ของตัวอ่อนผึ้งได้ดีขึ้น หลังจากผ่านผนังลำตัวของแมลงแล้ว เชื้อราสามารถงอกเส้นใยเจริญอยู่ภายในช่องว่างของลำตัว การตายเกิดขึ้นเนื่องจากขบวนการทำลายของเอนไซม์ที่ไปยับยั้ง หรือขัดขวางขบวนการไหลเวียนของเลือด รวมถึงสร้างสารพิษออกมา เมื่อตัวหนอนผึ้งตายเส้นใยจะงอกทะลุผ่านผนังลำตัวของตัวอ่อนเป็นเส้นใยสีขาวปกคลุม หลังจากนั้นเส้นใยจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลจนเป็นจุดสีดำ ซึ่งก็คือส่วนของ Ascomata ตัวอ่อนของผึ้งจะตายภายในรวงรัง เกิดเป็นซากแห้งที่เรียกว่า ซอสต์บรูต มัมมี่ ซึ่งอาจมีสีขาว หรือสีดำก็ได้ ขึ้นอยู่กับเชื้อรา จะการสร้าง Ascospore หรือไม่ โดยทั่วไปแล้วซากมัมมี่ที่มีสีดำ ประกอบไปด้วย Ascospore ปริมาณ 10^8 – 10^9 (Aronstein and Murray, 2010)

ความต้านทานของตัวหนอนผึ้งต่อโรคซอสต์บรูต โดยปกติแล้วสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของผนังลำตัว เช่น กรดไขมันอิ่มตัว และ กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว มีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา และขบวนการภายในร่างกายของผึ้ง มีส่วนช่วยทำให้เชื้อไม่แพร่กระจายไปมาก เช่น การเกิดการแข็งตัวของเลือด การไม่ให้เลือดออกจาก

บาดแผล รวมถึงระบบภูมิคุ้มกันในสิ่งมีชีวิต ซึ่งหมายรวมถึง Cellular และ Humoral immune สำหรับระบบต้านทานแบบ Cellular จะเริ่มขึ้นทันทีหลังจากการติดเชื้อโดยเลือด ซึ่งจะสร้างสารต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ที่เรียกว่า AMPs (Antimicrobial peptides) หลังจากนั้น จะเกิดขบวนการที่เรียกว่า Phagocytosis and encapsulation ซึ่งเป็นขบวนการพื้นฐาน ภายในเซลล์ผึ้งจะต่อต้านกับเชื้อ *A. apis* สำหรับขบวนการของ Humoral immune โดยทั่วไปเกิดการสร้าง AMPs, bacterolytic enzymes และเกิดการกระตุ้นของระบบ Prophenoloxidase

การควบคุมโรค มีการศึกษาสารเคมีหลายชนิดในการควบคุมเชื้อราโรคซอลด์คอบรูต แต่ไม่มีรายงานว่ามีการทดสอบชนิดใดที่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ (Hornitzky, 2001) หลังจากนั้นมีการพยายามหาวิธีการในการควบคุมการระบาดของโรค ซึ่งวิธีการดังกล่าวได้แก่ การพัฒนาสายพันธุ์ของผึ้งให้ต้านทานต่อโรคซอลด์คอบรูต การจัดการรังที่ดี รวมถึงการฆ่าเชื้ออุปกรณ์ในการเลี้ยงผึ้ง อีกทั้งสารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่เป็นอันตรายต่อประชากรของผึ้ง

การควบคุมซอลด์คอบรูตโดยสารสกัดจากธรรมชาติ และเชื้อจุลินทรีย์นั้น จากการค้นหาข้อมูลเกี่ยวกับการป้องกันเชื้อราซอลด์คอบรูตในผึ้ง พบว่ายังไม่มีสารเคมีใด ๆ ที่สามารถต้านทานต่อเชื้อนี้ได้ จึงมีการพัฒนาวิธีการควบคุมอื่น ๆ โดยการใช้สารสกัดจากพืช ซึ่งเป็นทางเลือกอีกแนวทางหนึ่ง เพื่อผลิตเป็นสารควบคุมเชื้อราชนิดนี้ มีการวิจัยองค์ประกอบของสารต่าง ๆ จากพืช เพื่อทดสอบในรังของผึ้ง รวมถึงการเพาะเลี้ยงเชื้อราชนิดนี้ แล้วนำสารสกัดมาควบคุม ส่วนใหญ่แล้วสารสกัดจากพืชธรรมชาติจะมีฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อรา (Aronstein and Hayes, 2004; Mourad *et al.*, 2005) สารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราประกอบด้วยสารสกัดจาก citral, geraniol และ citronellal ที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเชื้อราโรคซอลด์คอบรูตนี้ (Aronstein and Murray, 2010) นอกจากนี้ยังมีสารต่อต้านเชื้อราที่เรียกว่า Lysozyme ซึ่งทำการทดสอบสารนี้ในสภาพฟาร์มผึ้งในประเทศแคนาดา ซึ่งสามารถควบคุมโรคซอลด์คอบรูตได้ดี นอกจากนี้ยังมีเชื้อราปฏิปักษ์ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับผึ้ง เช่น เชื้อ *Penicillium*, *Aspergillus*, *Bacillus* species สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *A. apis* ได้เป็นอย่างดี

น้ำมันหอมระเหยสารสกัดจากพืช

ปัจจุบันได้มีการศึกษา และใช้สารพฤษเคมีกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สมุนไพรหลายชนิดที่มีคุณสมบัติต้านโรคมะเร็ง และต้านจุลชีพรวมทั้งเป็นยารักษาโรค นอกจากนี้ผัก และผลไม้ ล้วนมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น polyphenols, vitamin C และ flavonoids ซึ่งทำให้โอกาสการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคมะเร็งบางชนิดลดลงอีกด้วย นอกจากนี้เครื่องเทศ และสมุนไพรอีกหลายชนิดได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างมาก สำหรับการนำไปใช้ และมีศักยภาพในการรักษาโรค อีกทั้งยังเป็นวิธีการรักษาทางเลือกใหม่ สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อต่าง ๆ

น้ำมันหอมระเหย (Essential Oil; EO) เป็นผลผลิตที่ได้จากองค์ประกอบของสารหอมระเหยจากพืช โดยทั่วไปจะเกิดจากการกลั่นของไอน้ำ เกิดเป็นของเหลวเข้มข้น ถูกนำมาใช้เป็นยา ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และน้ำหอมกันอย่างแพร่หลาย (Doran *et al.*, 2008) ปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยเป็นที่นิยมสำหรับตลาด เนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ ยกตัวอย่างเช่น ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง นอกจากนี้ยังใช้เป็นน้ำหอม และส่วนผสมในเครื่องสำอาง และหลายปีมานี้มีการนำเสนอผลงานวิจัยเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยเป็นจำนวนมาก สำหรับนำไปตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิดมีประสิทธิภาพมากกว่าสารชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบด้วย (Heather *et al.*, 2007) สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากพืช ได้แก่ aliphatic alcohols และ phenols โดยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรคได้ เช่น *A. aegyptiaceus*, *Penicillium cyclopium* และ *Trichoderma viride* (Maurya *et al.*, 2013) นอกจากนี้มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถป้องกัน หรือลดการเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (antioxidant activity) และลดภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูง นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันไวรัส และเชื้อราได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะ และลดความต้านทานของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ (Bigos *et al.*, 2012) ดังนั้นจึงมีพืชสมุนไพรหลายชนิดที่นิยมนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย เช่น โรสแมรี่ การบูร ตะไคร้หอม เปปเปอร์มินท์ หญ้าแฝกหอม ล้ม เจริญเนียม ยูคาลิปตัส ลาเวนเดอร์ สเปียร์มินท์ โพล ตะไคร้ แมงลัก

ผักชี กระชาย โหระพา ชิง ใบกระวานอินเดีย ใบฝรั่ง ลูกจันทน์เทศ ต้นมาเจอแรม มะกรูด ตะไคร้พาลมาโรซ่า ต้นชา ขมิ้น ออริกานโอ โหระพาขาว เปลือกอบเชย พริกไทยดำ โป๊ยกั๊ก และใบเสมา เป็นต้น

โรสแมรี่; Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) จัดอยู่ในวงศ์ Labiatae เป็นไม้ยืนต้นพุ่มเตี้ย ตระกูลเดียวกับมินต์ และเป็นพืชสมุนไพรและเครื่องปรุงที่มีกลิ่นหอม ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านเภสัชกรรม อุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง (Boutekedjiret et al., 2003) นอกจากนี้ในงานการแพทย์ และวงการวิจัยได้ยืนยันว่าโรสแมรี่ มีสารสำคัญที่ให้ผลในการกำจัดสารอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี มีความปลอดภัย เนื่องจากเป็นสารที่สกัดได้จากธรรมชาติ นอกจากนี้การศึกษาของ Matsuzaki et al. (2013) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราในช่องปาก (*Candida albicans*) โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่ จากองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่ เมื่อเพิ่มปริมาณของสาร CINEOL ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีในโรสแมรี่ พบว่าสามารถยับยั้ง *C. albicans* ในระยะเวลาอันสั้น ดังนั้นสรุปได้ว่าองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่จะมีผลกระทบต่อกิจกรรมการเจริญของเชื้อรา *C. albicans*

การบูร; Camphorwood (*Cinnamomum camphora*) การบูรมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว และมีกลิ่นฉุน ซึ่งผลิตมาจากการบูร โดยทั่วไปการบูรนำมาใช้เป็นยาแก้ปวดเฉพาะ ยาฆ่าเชื้อโรค ใช้ระงับการทำงานของกล้ามเนื้อ เป็นยาแก้คัน ยาต่อต้านการอักเสบ (Hamidpour et al., 2013) ต้นการบูรมีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศจีน โปรตุเกส และญี่ปุ่น การสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยในสมัยอดีตนั้น นิยมใช้เนื้อไม้ และเปลือกไม้ของต้นการบูรซึ่งมีส่วนของน้ำมันอยู่มาก นอกจากนี้การบูรมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ การบูรมีหลายชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีภายในแตกต่างกัน ทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยต่างกัน โดยทั่วไปมี 2 ชนิด ที่นิยมนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ *C. camphora* Nees & Eberm และอีกชนิดคือ *C. camphora* Nees & Eberm var. *linaloolifera* Fujita ซึ่งมีปริมาณความเข้มข้นของสาร linalool สูง ทั้ง 2 ชนิดนี้มีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน (Frizzo et al., 1999)

ตะไคร้หอม; Citronella (*Citronella citratus*) จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae สามารถเจริญเติบโต พบได้ทั่วไปในประเทศของทวีปเอเชีย อเมริกา และแอฟริกา สำหรับการประยุกต์ใช้เป็นน้ำมันหอมระเหย ตะไคร้หอมนิยมนำมาใช้กันมาเป็นเวลานาน โดยส่วนใหญ่นำไปใช้ไล่แมลง และสัตว์ที่รบกวน โดยเฉพาะใช้ในการขับไล่ยุง เช่น ยุงลาย (*Aedes aegypti*) ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงได้ดีที่สุด อีกทั้งยังสามารถป้องกันเห็บโคได้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมมีสารสำคัญ เช่น Citronellal และ geranial ซึ่งมีฤทธิ์ในการไล่แมลง นอกจากนี้เป็นสารเดิมแต่งรสชาติสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร แม้กระทั่งผลิตเป็นยา มิงานวิจัยพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้หอมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Eurotium* spp. (Silva et al., 2011)

เปปเปอร์มินท์; Peppermint (*Mentha piperita*) วงศ์ Lamiaceae สำหรับการนำ เปปเปอร์มินท์มาทำเป็นน้ำมันหอมระเหย สามารถใช้เปปเปอร์มินท์ได้อยู่ 2 ชนิด ได้แก่ *Mentha piperita* L. และ *M. arvensis* var. *piperascens* มีกลิ่นเฉพาะตัว และมีส่วนประกอบของเอทานอลอยู่ 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบสารต่าง ๆ น้ำมันหอมระเหยเปปเปอร์มินท์ ได้แก่ limonene ประมาณ 1.0–5.0 เปอร์เซ็นต์ cineole ประมาณ 3.5–14.0 เปอร์เซ็นต์ menthone ประมาณ 14.0–32.0 เปอร์เซ็นต์ menthofuran ประมาณเท่ากับ 1.0–9.0 เปอร์เซ็นต์ isomenthone เท่ากับ 1.5–10.0 เปอร์เซ็นต์ menthyl acetate มีอยู่ประมาณ 2.8–10.0 เปอร์เซ็นต์ isopulegol สูงสุดเท่ากับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ menthol เท่ากับ 30.0–55.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ pulegone สูงสุดเท่ากับ 4.0 เปอร์เซ็นต์ และ carvone สูงสุดเท่ากับ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (Alankar, 2009) ในประเทศจีนมีการนำน้ำมันหอมระเหยเปปเปอร์มินท์ เป็นส่วนประกอบของยาหม่องยี่ห้อ “Po Sum On” เนื่องจากมีส่วนผสมของเมนทอลจึงนิยมนำมาใช้เป็นสารประกอบของยาลดไข้ และยาฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* และมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย อีกทั้งมีคุณสมบัติทำให้เกิดการผ่อนคลาย ระบายเคือง และปรับปรุงการไหลเวียนของระบบเลือด (Neeraj et al., 2013)

หญ้าแฝกหอม; Vetiver (*Vetiveria zizanioides* หรือ *Chrysopogon zizanioides* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae สำหรับน้ำมันหอมระเหยจากหญ้าแฝกหอม เรียกว่า vetivert น้ำมันหอมระเหยจากหญ้าแฝกหอมมีองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อน ซึ่งมีมากกว่า 150 ชนิด อย่างไรก็ตามส่วนประกอบทางเคมีหลัก ได้แก่ sesquiterpene alcohol สารเคมีในหมู่ ketones คือ vetivone ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และ khusimol คิดเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ของสารทั้งหมด (Thara Saraswathi *et al.*, 2011) จากการศึกษาของ Hammer *et al.* (1999) โดยทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากพืชอื่น ๆ ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากหญ้าแฝกหอมสามารถต้านทานเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ในปริมาณสาร 0.008 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

ส้ม; Orange (*Citrus sinensis*) วงศ์ Rutaceae นำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย เพื่อประยุกต์ใช้กับงานด้านอุตสาหกรรม เช่น แต่งกลิ่น และรสชาติ อีกทั้งใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นที่ยอมรับสำหรับใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดในครัวเรือน การศึกษาของ Celikel and Kavas (2008) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากส้มมีสารสำคัญ ได้แก่ Limonene 84 เปอร์เซ็นต์ Linalool 1.1 เปอร์เซ็นต์ Sabinene 4.2 เปอร์เซ็นต์ *p*-Cymene 1.3 เปอร์เซ็นต์ และ Myrcene 1.3 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากส้มมีศักยภาพในการต้านทานเชื้อโรค *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* และ *Candida albicans* ได้

เจอราเนียม; Geranium (*Pelargonium spp.*) ที่สกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยได้จากใบ ดอก และก้านของเจอราเนียม จัดอยู่ในวงศ์ Geraniaceae ซึ่งมีหลายชนิดที่นำไปผลิตเป็นน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ *P. graveolens*, *P. odoratissimum*, *P. zonale* และ *P. roseum* ส่วนใหญ่นำไปใช้สำหรับรักษาโรคบิด ท้องร่วง แผลในกระเพาะอาหาร โรคเบาหวาน โรคเมหะเร็งและโรคผิวหนัง ในน้ำมันหอมระเหยเจอราเนียมมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ citronellol, geraniol, linalool, isomenthone, nerol and citronellyl formate ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Bigos *et al.*, 2012) มีรายงานว่า *P. graveolens* มีประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ (MIC) เท่ากับ 0.72 mg/mL ขณะที่เชื้อ *Bacillus cereus* สามารถยับยั้งได้ในปริมาณที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.36

mg/mL และสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ได้ในความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.72 mg/mL (Rosato *et al.*, 2007)

ยูคาลิปตัส; *Eucalyptus* (*Eucalyptus globulus*) วงศ์ Myrtaceae ยูคาลิปตัส มีมากกว่า 500 ชนิด โดยบางชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ และโรคอื่น ๆ ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จากการศึกษาของ Damjanovic *et al.* (2011) น้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัสมีสารสำคัญหลัก ๆ ได้แก่ 1.8 cineole (85.8 เปอร์เซ็นต์) α -pinene (7.2 เปอร์เซ็นต์) และ β -myrcene (1.5 เปอร์เซ็นต์) และยังพบว่าสามารถต้านทานเชื้อก่อโรคในคน *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* และ *Klebsiella pneumonia* โดยเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella Infantis* สามารถยับยั้งเชื้อในความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่เชื้อ *S. aureus*, *E. coli*, และ *S. pyogenes* ต้องใช้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ลาเวนเดอร์; *Lavender* (*Lavendula angustifolia*) วงศ์ Lamiaceae สำหรับชนิดมาทำเป็นน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดคือ *L. angustifolia*, *L. latifolia*, *L. stoechas* และน้ำมันหอมระเหยลาเวนเดอร์ที่ผสมระหว่างชนิด *L. angustifolia* กับ *L. latifolia* (*Lavandula x intermedia*) ถึงแม้ว่าคุณสมบัติของสารเหล่านี้ยังไม่ได้ได้รับการยืนยันจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์หรือทางการแพทย์ สำหรับประสิทธิภาพของการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นยากล่อมประสาท และประสิทธิภาพในการขับไล่แมลง ต่อมา Cavanagh and Wilkinson (2002) ได้ศึกษาจากรายงานต่าง ๆ เกี่ยวกับความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยได้อธิบายว่าน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ มีประสิทธิภาพต่อการต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ทั้งนี้อาจมีประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะ ยกตัวอย่างเช่น น้ำมันหอมระเหยจาก *L. angustifolia* มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ 2 ชนิดได้แก่ MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) และ VRE (vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*) ที่ ความเข้มข้นต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อไม่นานมานี้ Heather *et al.*, (2007) ได้ทดสอบการตอบสนองของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 5 ชนิด ได้แก่ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE), *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus*

pyogenes และ *Candida albicans* ต่อไธระเหยของน้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ (*L. angustifolia*) พบว่าเชื้อ *Ps. aeruginosa* ไม่มีความอ่อนแอต่อการทดสอบ ผลงานวิจัยจำนวนมากยืนยันว่า *Ps. aeruginosa* มีความคงทนต่อ EOS (น้ำมันหอมระเหย) เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อมีความแข็งแรง ขณะที่ *C. albicans* เป็นเชื้อเดียวที่มีความอ่อนแอต่อการทดสอบกับน้ำมันหอมระเหยหลังจากได้สัมผัสสาร 6 ชั่วโมง

สเปียร์มินท์; Spearmint (*Mentha spicata*) วงศ์ Lamiaceae มีมากกว่า 30 ชนิด เป็นพืชที่อุดมไปด้วย polyphenols และมีสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก เป็นพืชที่ปลูกได้หลายพื้นที่ และนิยมปลูกกันเพื่อนำไปสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย ซึ่งนิยมนำมาแต่งกลิ่น และเป็นสมุนไพรรักษาโรค น้ำมันหอมระเหยจากสเปียร์มินท์มีสารที่สำคัญทั้งหมด 19 ชนิด โดยคิดเป็นสัดส่วน 98.0 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ carvone (51.7 เปอร์เซ็นต์), cis-carveol (24.3 เปอร์เซ็นต์), limonene (5.3 เปอร์เซ็นต์), 1,8 cineole (4.0 เปอร์เซ็นต์), cis-dihydrocarvone (2.2 เปอร์เซ็นต์), carvyl acetate (2.1 เปอร์เซ็นต์) และ germacrene D (1.5 เปอร์เซ็นต์) น้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่ประกอบด้วย oxygenated monoterpenes มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก และต้านเชื้อรา ได้แก่เชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.07 และ 0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ต้านทานต่อเชื้อ *E. coli* ในความเข้มข้นต่ำสุดที่ 0.21 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เนื่องจากมีสาร ciscarveol และ carvone ในน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบหลักของ *M. spicata* สำหรับคุณสมบัติในการต้านทานเชื้อรา พบว่า สามารถต้านทานต่อกิจกรรมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* ได้ในความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.07 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ *B. theobromae* สามารถต้านทานได้ 0.11 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Hussain et al., 2010)

โพล; Plai (*Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ปัจจุบันพบการเพาะปลูก และแพร่หลายในแถบเอเชีย โดยปกติถูกนำไปใช้เป็นยาสามัญประจำบ้าน สำหรับการรักษาโรคไวรัส Cassumunar ginger oil มีการรายงานเกี่ยวกับพิษเคมีของโพลนานกว่า 10 ปี ว่ามีประโยชน์ทางโภชนเภสัช (Nutraceutical) และเภสัชอุตสาหกรรม (drug industries) รวมถึงการนำไปใช้แต่งกลิ่น และ

ใช้เพื่อถนอมอาหาร (preservatives) นอกจากนี้โพลีเมทรีด้านอนุมูลอิสระเนื่องจากมีส่วนสารประกอบฟีนอล ซึ่งอาจลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง โรคหัวใจ กับหลอดเลือด และโรคอื่น ๆ อีกมากมาย ตลอดจนถึงลดความเสียหายของสารต้านอนุมูลอิสระภายในส่วนประกอบของเซลล์ สำหรับน้ำมันหอมระเหยจากโพลีนัน (Cassumunar Ginger oil) เป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนใหญ่เป็นยาขับลมและกระตุ้นกระเพาะอาหาร และต่อต้านโรคท้องร่วงและอาการจุกเสียด สำหรับเหง้า เมื่อนำไปการบริโภคจะบรรเทาอาการโรคหอบหืด กล้ามเนื้อ และปวดข้อ โพลีมีส่วนประกอบหลัก คือ terpinen-4-ol และ (E)-1(3, 4-dimethylphenyl) butadiene (DMPBD) พบว่าจะมีผลในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ด้านการอักเสบ ป้องกันอาการแพ้ เนื่องจากมีส่วนประกอบของเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) (Bua-in and Paisooksantivatana, 2009) งานวิจัยของ Leelapornpisid *et al.* (2008) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากโพลี (*Z. montanum*) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.0599 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ Phonsena *et al.* (2006) พบว่าสามารถใช้เป็นสารกำจัดเห็บสุนัข (*Rhipicephalus sanguineus*) ได้ดี

ตะไคร้; Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) วงศ์ Poaceae มีประมาณ 660 สกุล 9,000 ชนิด มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย และศรีลังกา จัดเป็นพืชล้มลุก ใบเรียวยาว และจัดอยู่ในพืชตระกูลหญ้า โดยทั่วไปมีหลายชนิดได้แก่ *Cymbopogon bombycinus*, *Cymbopogon ambiguus*, *Cymbopogon oblectus*, *Cymbopogon refractus*, *Cymbopogon citrate*, *Cymbopogon nardus* และ *Cymbopogon schoenanth* ในอดีตนิยมนำตะไคร้ใช้สำหรับการรักษาความผิดปกติของระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ยาแก้ปวด ด้านเชื้อแบคทีเรีย ลดไข้ ขับปัสสาวะ และยากล่อมประสาท สำหรับน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* และเชื้อราสารพิษในอาหาร (Nambiar and Matela, 2012) จากการศึกษาของ Hammer *et al.* (1999) โดยได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากพืชอื่น ๆ ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ ที่ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ขึ้นไป จะสามารถต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii* biogroup *sobria*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium*, *Serratia marcescens* และ *Staphylococcus aureus*

ผักชี; Coriander (*Coriandrum sativum* L.) วงศ์ Umbelliferae เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกกันแพร่หลาย นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุ และองค์ประกอบทางโภชนาการ เนื่องจากมีไขมันอิ่มตัวต่ำมาก เป็นแหล่งของ α -tocopherol และ vitamin K อีกทั้งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันโรคเบาหวาน มีคุณสมบัติในการต้านทานการกลายพันธุ์ เป็นยาคลายกังวล (antianxiety) และมีคุณสมบัติในการต้านทานเชื้อโรคบางชนิดได้เป็นอย่างดี *Salmonella choleraesuis* นอกจากนี้ยังพบว่า Aliphatic (2E)-alkenals และ alkanals ที่เป็นองค์ประกอบของสารในผักชีมีความสามารถในการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella choleraesuis* spp. อีกทั้งยังสามารถยับยั้งเชื้อราชนิด *Penicillium expansum*, *Penicillium stoloniferum*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* และ *Monilia sitophila* ที่พบทั่วไปในผัก และเบเกอรี่ เนื่องจากความชื้น และความชื้นเป็นกรด-ด่าง เป็นปัจจัยทางชีววิทยาที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพที่สำคัญของเชื้อรา (Bhat et al., 2013)

กระชาย; Finger root (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.) วงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชที่กระจายอย่างกว้างขวางในพื้นที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ของจีน ซึ่งมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เกิดในอาหาร ได้แก่ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella enterica* (Pattaratana-wadee et al., 2006) รวมทั้งแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก และเชื้อรา (Kingchaiyaphum and Rachtanapun, 2012) ในการศึกษาของ Soikam et al. (2014) ได้ทดสอบน้ำมันหอมระเหยจากกระชาย (fingerroot essential oil: EOF) ที่มีคุณสมบัติในการถนอมอาหาร แต่เมื่อนำไปใช้ในการถนอมอาหารมักเกิดปัญหา คือ มีกลิ่นแรง และไม่สามารถละลายได้ในน้ำ ซึ่งปัญหาเหล่านี้จะแก้ไขโดยการผ่านกระบวนการ encapsulation (encapsulated EOF: EEOF) โดยมีคุณสมบัติในการรักษารสชาติ และกลิ่น นอกจากนี้ยังส่งเสริมการกระจายตัวของน้ำมันในน้ำได้ การป้องกันการสูญเสียจากการอบกวนการทำงานของส่วนประกอบภายในอาหาร และเพิ่มคุณสมบัติต้านแบคทีเรียได้จากการทดลอง พบว่า EEOF มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เกิดในเนื้อหมู

โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเชื้อ coliform bacteria และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งแสดงความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า EOF สำหรับ EEOF ในปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ (wt) สามารถยืดอายุการเน่าเสียของเนื้อหมูได้นานถึง 13 วัน ขณะที่ EOF ยืดเวลาการเน่าได้ 7 วัน

โหระพา; Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) วงศ์ Labiatae จัดเป็นไม้ล้มลุกปีเดียว ที่สามารถปลูกได้ทั่วทุกที่ของโลก มีมากกว่า 65 ชนิด ในสกุล *Ocimum* โหระพาเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ สำหรับนำไปใช้สกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยในหลายประเทศ โหระพามีกลิ่น และรสชาติเฉพาะตัว ปัจจุบันนำไปใช้แต่งกลิ่นในอุตสาหกรรมอาหาร น้ำหอมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมทางการแพทย์ ใบและยอดของดอกใช้เป็นยาขับลม ยาที่มีผลกระตุ้นต่อการหลั่งน้ำนมของแม่ ช่วยเจริญอาหาร และยาคลายกล้ามเนื้อของแพทย์พื้นบ้าน เมื่อไม่นานมานี้ โหระพาถูกนำมาใช้เป็นน้ำมันหอมระเหย โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรค และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Moghaddam et al., 2011)

จากรายงานผลการทดสอบของ Hanif et al. (2011) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาสามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียชนิด *Streptococcus pneumonia*, *Hemophilus influenza*, *Candida albicans*, *S. pneumoniae* และ *Aspergillus niger* เนื่องจากมีองค์ประกอบของ linalool คิดเป็น 69.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า linalool ที่มีอยู่ในยาปฏิชีวนะ ขณะที่ Moghaddam et al. (2011) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* อีกทั้งยังต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ได้ในสภาพห้องปฏิบัติการ

แมงลัก; Hairy Basil (*Ocimum basilicum* L.f. var. *citratum* Back) วงศ์ Apiaceae เป็นพืชล้มลุก แมงลักมีสาร Linalool ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในแมงลัก (Maurya et al., 2013) สำหรับเมล็ด มีฤทธิ์เป็นยาระบาย เนื่องจากทำให้เกิดกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ ขณะที่ ใบ เป็นยาขับลม เมื่อกจากเมล็ด พบ D-xylos, D-glucose, D-galactose, D-mannose, L-arabinose, L-rhamnose, uronic acid, oil, polysaccharide และ mucilage ใบ มีน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ borneol L-B-cadinene, 1-8-cineol, B-

caryophyllene, eugenol ใบแมงลักมีน้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากแมงลัก สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรม บวก และแบคทีเรียแกรมลบ โดยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejunii* และ *Clostridium perferingens* ได้ และมีรายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากแมงลัก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* TISTR 888, *E. faecalis* JCM 5803 ได้ดี (เบญจมาศ และ ปรัชญากร, 2553)

ขิง; Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) วงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชล้มลุก มี เหง้าใต้ดิน สามารถเจริญเติบโตได้ในแถบ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศจีน และ ญี่ปุ่น เป็นต้น ขิงได้ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องเทศ และยารักษาโรค ในประเทศอินเดีย และจีน มาตั้งแต่สมัยโบราณ นอกจากนี้ยังนำไปรักษาอาการเลือดออกตามไรฟัน ขิงมี สารประกอบต่าง ๆ มากมาย ในน้ำมัน ที่มีคุณสมบัติต้านทานต่อเชื้อโรค สารเหล่านี้ ได้แก่ thymol, eugenol, 1,8- cineole, α - and β - pinenes, linalool และ α - terpineol ฯลฯ อีกทั้งยังมี camphene และ β -phellandrene เป็นองค์ประกอบหลัก รวมถึง p-cymene, และ สารในกลุ่ม terpenoids เช่น 1,8-cineole และ camphor เป็นต้น (Maurya et al., 2013) มี รายงานพบว่าขิงมีองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ น้ำมันจากขิงยังมียุทธสมบัติในการต้านเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma spp.*, *Pencillium spp.* และ *Mycoderma sp.* และเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus cereus* และ *Bacillus subtilis* (Sasidharan and Menon, 2010)

ใบกระวานอินเดีย; BAY W. INDIAN (*Pimenta racemosa* (Mill.) J. W. Moore. ชื่อพ้อง *Pimenta acris* Kostel, *Syzygium racemosum* DC) จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae โดยทั่วไปนิยมปลูกในประเทศเวเนซุเอลา รัฐเปอร์โตริโกของสหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐโดมินิกัน และประเทศจาไมกา เพื่อผลิตเป็นน้ำมันหอมระเหย ซึ่งโดยทั่วไป เรียก bay oil หรือ Myrcia oil สามารถนำไปประกอบเป็นเครื่องปรุงในอาหาร ใน สาธารณรัฐเบนินของแอฟริกาตะวันตกนิยมนำเอาเปลือกของกระวานอินเดียมาใช้รักษา ความดันโลหิตสูง สำหรับน้ำมันหอมระเหยสามารถนำไปยับยั้งเชื้อโรคได้ และนิยมนำไป เป็นส่วนผสมของการผลิตครีม โลชั่น และ ผงซักฟอก อีกทั้งใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม

ส่วนคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อโรคนั้น มีรายงานว่าสามารถยับยั้งกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Mycobacterium-smegmatis* ขณะที่สามารถยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Abisidia corymbifera*, *Penicillium verrucosum* และ *Cladosporium cladosporioides* เนื่องจากมีสารประกอบของฟีนอลสูง จึงสามารถต้านทานต่อเชื้อโรคได้ดี (Alitonou et al., 2012)

ใบฝรั่ง; Guava Leaf (*Psidium guajava* Linn (Thailand)) วงศ์ Myrtaceae สกุล *Psidium* ซึ่งมีประมาณ 100 สายพันธุ์ในสมัยโบราณนิยมนำไปรักษาโรคของแพทย์พื้นบ้านในประเทศไนจีเรีย และหลาย ๆ ประเทศทั่วโลก โดยนำไปเป็นยาแก้อาการไอ ยาแก้ท้องร่วง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ควบคุมความดันโลหิตสูง โรคอ้วน โรคเบาหวาน เป็นยาใช้รักษาคนเป็นโรคมะเร็ง เป็นยาระงับอาการปวด และเป็นยาป้องกันการเกิดเนื้อร้ายต่าง ๆ เป็นต้น ใบฝรั่งมีสารสำคัญที่ประกอบด้วย flavonoids และ quercetin มีรายงานว่าใบฝรั่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *Salmonella spp.* และเชื้อรา *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ได้ดี (Ofodile et al., 2013)

จันทน์เทศ; Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) วงศ์ Myristicaceae ในแต่ละประเทศมีชื่อเรียกต่าง ๆ กันไป เช่น ในประเทศอินโดนีเซีย เรียกว่า pala สำหรับไทยเรียกจันทน์เทศ หรือ ลูกจันทร์ และประเทศญี่ปุ่น เรียกว่า nikuzuku เป็นต้น นิยมใช้เป็นยาขับลม ยาต้านเกล็ดเลือด จากผลการวิจัยพบว่าลูกจันทน์เทศมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 20–30 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยอยู่ประมาณ 5–15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วย camphene, elemicin, eugenol, isoelemicin, isoeugenol, methoxyeugenol, pinene, sabinene, safrol และอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีสารอื่น ๆ เช่น dihydroguaiaietic acid, elimicin, elimicin, myristicin และ lignan compounds นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจากลูกจันทน์เทศมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปาก และใช้บรรเทาอาการเจ็บปวดจากการผ่าตัดในช่องฟัน (Chung et al., 2006) มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากลูกจันทน์เทศมีผลยับยั้งเชื้อ *Fusarium graminearum* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Maurya et al., 2013) นอกจากนี้การศึกษาของ Pand and Srivastava (2010) ได้ทดสอบน้ำมันหอมระเหยจาก *Myristica*

fragrans ต่อการยับยั้งเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *A. flavus* และ *A. niger* ปรากฏว่าน้ำมันหอมระเหยจากลูกจันทน์เทศสามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้ดี

มาร์จอรัม; Marjoram, Sweet (*Origanum majorana*) วงศ์ Lamiaceae เป็นพืชสมุนไพรที่นิยมนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย สามารถนำไปรักษาโรคต่าง ๆ ของมนุษย์ มาร์จอรัมเป็นพืชที่มีกลิ่นฉุน รสชาติขม เติบโต มีประโยชน์ต่อหัวใจ และเลือด บรรเทาอาการไข้หวัด และอาการอักเสบ นอกจากนี้ยังมีประโยชน์สำหรับคนที่ เป็นโรค หอบหืด โรคฮิสทีเรีย และอัมพาตอีกด้วย มีรายงานว่ามาร์จอรัมมีผลต่อการยับยั้งต่อ กระบวนการต่าง ๆ ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และเชื้อราได้ดี เนื่องจากมีความเป็นพิษ สูงต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Fusarium solani* (Leeja and Thoppil, 2007) สำหรับผลการทดสอบของน้ำมันหอมระเหยจากมาร์จอรัมรายงานว่าสามารถ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราได้ดีเช่นกัน อีกทั้งยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมี องค์ประกอบของสาร terpinen-4-ol, α - and γ -terpinenes, linalool และ carvacrol ซึ่งเป็นสารที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่าง ๆ เช่น มีผลไปลดการเจริญเติบโตของ เชื้อ *Photobacterium phosphoreum* ที่ทำให้เกิดการเน่าของเนื้อปลา เป็นต้น (Kozłowska et al., 2010)

มะกรูด; Leech lime (*Citrus hystrix* DC.) วงศ์ Rutaceae พบได้ในเอเชีย ตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งใบ และผลของมะกรูด สามารถนำไปสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยได้ มะกรูดมีรสชาติทั้งใบ และกลิ่นเฉพาะตัว มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Salmonella* จำนวน 20 serotypes และแบคทีเรียใน วงศ์ enterobacteria อีก 5 ชนิด (Srisukh et al., 2012) นอกจากนี้มีรายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดมีคุณสมบัติในการยับยั้งกินอาหาร และยับยั้งการเจริญเติบโตที่รุนแรง ของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* fabricius) (Loh et al., 2011) จากการศึกษาของ Srisukh et al. (2012) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากใบ และผลของมะกรูด ที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในทางเดินหายใจ จำนวน 411 ไอโซเลทใน กลุ่ม A, B, C, F, G streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant และ -sensitive *S. aureus*) และ *Acinetobacter baumannii* พบว่ามีผลต่อการยับยั้งเชื้อเหล่านี้ได้ทั้งหมด โดยใช้ความเข้มข้น

ต่ำสุด (minimal inhibitory concentration: MIC) ที่ได้จากน้ำมันหอมระเหยของใบมะกรูด เท่ากับ 0.06–68 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และจากน้ำมันหอมระเหยของผลมะกรูด เท่ากับ 0.03–17.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่ามีสาร Citronellal เป็นสารประกอบหลัก โดยคิดเป็น 80.04 เปอร์เซ็นต์ ในองค์ประกอบของน้ำมันประกอบด้วย limonene 40.65 เปอร์เซ็นต์ terpinene-4-ol 13.71 เปอร์เซ็นต์ และ α -terpineol 13.20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารเหล่านี้อาจไปรบกวนกิจกรรมในการดำรงชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย

ตะไคร้พาลมาโรซ่า; Palmarosa (*Cymbopogon martini*) วงศ์ Poaceae สกุล *Cymbopogon* มีประมาณ 140 ชนิดในสกุลนี้ เนื่องจากตะไคร้พาลมาโรซ่านำไปเป็นวัตถุดิบในการผสมเป็นน้ำหอมซึ่งมีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นกุหลาบ ซึ่งเป็นผลผลิตที่มีความสำคัญของอุตสาหกรรมน้ำหอม เนื่องจากมีสารประกอบของ geraniol อยู่สูง และเป็นส่วนผสมในการทำเครื่องสำอาง เช่น น้ำหอม สบู่ และผงซักฟอก อีกทั้งยังนำไปใช้เป็นเครื่องปรุงอาหาร เครื่องดื่มไร้แอลกอฮอล์ และผลิตภัณฑ์ไล่ยุง ในวงการแพทย์น้ำมันหอมระเหยตะไคร้พาลมาโรซ่า ใช้รักษาอาการปวดแหว ตามข้อต่อข้อพับ รักษาโรคผิวหนัง แห้งน้ำมันมีอยู่ตามลำต้น ใบ กาบใบ แผ่นใบ และช่อดอกของตะไคร้พาลมาโรซ่า โดยมีน้ำมันอยู่ประมาณ 95.6–97.1 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบสำคัญ ได้แก่ (E)-b-Ocimene ประมาณ 1.2–4.3 เปอร์เซ็นต์ มีสาร linalool เท่ากับ 0.8–2.0 เปอร์เซ็นต์ มีสารประกอบของ geraniol อยู่ประมาณ 70.1–85.3 เปอร์เซ็นต์ สารประกอบ geranyl acetate เท่ากับ 4.3–14.8 เปอร์เซ็นต์ และ (E,Z)-farnesol ประมาณ 1.6–3.4 เปอร์เซ็นต์ (Rajeswara Rao *et al.*, 2009) น้ำมันหอมระเหยจาก *C. martinii* (palmarosa) มีคุณสมบัติทางชีวภาพหลายด้าน เช่น นำไปใช้ควบคุมตัวด้วงชนิด *Callosobruchus chenesis* และ *Tribolium castaneum* ในโรงเก็บเมล็ดพันธุ์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการขับไล่แมลงรบกวนได้ดี เช่น สามารถไล่ยุงก้นปล่องได้ (*Anopheles sundaicus*) นอกจากนี้มีสารสำคัญมากมาย ได้แก่ citral, geraniol, citronellol, citronellal, linalool, limonene, piperitone, borneol, bisabolol และรวมถึงมีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ เช่น สามารถยับยั้งยีสชนิด *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้เวลาเข้มข้นต่ำสุดเพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีสารประกอบของ Geraniol อยู่ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ (Ganjewala, 2009)

ต้นชา; Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) วงศ์ Myrtaceae เป็นพืชที่ปลูกกันมากในประเทศอังกฤษ ทั้ง ใบ และกิ่งก้านของต้นชา สามารถนำไปสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย มีคุณสมบัติในการกำจัดแมลง ยับยั้งเชื้อรา และไล่เดือนฝอย เนื่องจากมีคุณสมบัติของสารประกอบของ terpinen-4-ol ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์สำหรับยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีสารสำคัญของ monoterpenes ประมาณ 76.4 เปอร์เซ็นต์ และส่วนใหญ่จะประกอบด้วยสาร p-cymene เท่ากับ 24.2 เปอร์เซ็นต์ α -terpinene ประมาณ 12.8 เปอร์เซ็นต์ และ α -pinene อยู่เท่ากับ 11.3 เปอร์เซ็นต์ (Fuselli et al., 2010) มีรายงานว่าสามารถยับยั้งพยาธิอนิสซาคิส (*Anisakis simplex*) ซึ่งเป็นหนอนพยาธิในปลาทะเลได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในความเข้มข้นระหว่าง 7 และ 10 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยจากต้นชาอาจจะมีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรค anisakiasis (Gomez-Rincon et al., 2014)

ขมิ้น; Turmeric root (*Curcuma longa* L.) วงศ์ Zingiberaceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย ใช้เป็นเครื่องเทศ ประกอบการปรุงอาหาร และเป็นพืชสมุนไพรรักษาโรคที่เกิดความผิดปกติของตับ อาการเบื่ออาหาร การติดเชื้อพยาธิโรคไขข้อ โรคเบาหวาน แผล อาการไซนัสอักเสบ ไข้หวัด และไข้หวัดใหญ่ มีหลายข้อมูลเผยว่า ขมิ้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการอักเสบ ป้องกันโรคเอดส์ (เอชไอวี) ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย มีสารต้านอนุมูลอิสระ และฆ่าพยาธิหนอนตัวกลม ใช้รักษาอาการที่เกิดจากเนื้องอก รักษาอาการปวดบวมที่เกิดจากบาดแผล รักษาโรคผิวหนังต่าง ๆ เช่น โรคเรื้อน เป็นต้น (Shawket, 2013) เนื่องจากขมิ้นมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ Ar-turmerone และ α -turmerone ซึ่งบรรจุอยู่ในสารประกอบอโรมาติก เช่น p-cymene, terpenoids 1,8-cineole และ caryophylleneoxide นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *S. aureus* และ *C. diphtheria* ได้ดี (Maurya et al., 2013) จากผลการศึกษาของ Shawket (2013) พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* สาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษได้ดี

ออริกาโน; Oregano (*Origanum vulgare*) วงศ์ Lamiaceae เป็นพืชพื้นเมืองในเขตอบอุ่นและทางตะวันตกและตะวันตกเฉียงใต้ของยูเรเชีย และทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ออริกาโนเป็นเครื่องปรุงสำคัญในอาหารอิตาลี นิยมใส่ในพิซซ่า ซอส และอาหารจานหลัก

สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากออริกาโน สามารถใช้รักษาอาการขับเหงื่อออกมาก ผิดปกติ ขับลม เป็นยาคลายกล้ามเนื้อ เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อ และยาฆ่าล้าง ในวงการแพทย์ แผนปัจจุบันของหลาย ๆ ประเทศ นอกจากนี้ยังถูกใช้ในอุตสาหกรรมเกษตร อุตสาหกรรม เครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย (Mitchell et al., 2010) จากการศึกษาของ Hammer et al. (1999) โดยได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากพืชอื่น ๆ ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน ที่ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ขึ้นไป จะสามารถต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii* biogroup *sobria*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium*, *Serratia marcescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ นอกจากนี้มี รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราชนิด *A. flavus*, *A. ochraceus* และ *A. niger* (Maurya et al., 2013)

โหระพาขาว; Thyme white (*Thymus vulgaris*) วงศ์ Lamiaceae เป็นพืช สมุนไพรที่นิยมนำมาใช้เป็นยารักษาโรค ฆ่าเชื้อโรค และใช้สำหรับถนอมอาหารมาตั้งแต่ สมัยโบราณ ปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาขาวนิยมนำมาใช้ในการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา อื่นๆ อีกหลาย ๆ ชนิด เนื่องจากมี องค์ประกอบสำคัญของสาร thymol และ carvacrol ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Kon and Rai, 2012) จากการศึกษาของ Hammer et al. (1999) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากพืชอื่น ๆ ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันหอม ระเหยจากโหระพาขาวสามารถต้านทานเชื้อ *Candida albicans* และ *Escherichia coli* ได้ใน ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์ (v/v) นอกจากนี้ Celikel and Kavas (2008) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากโหระพาขาวสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าน้ำมันหอม ระเหยจากส้ม ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* และ *Candida albicans* ได้ทุกความเข้มข้น ขณะที่ Maurya et al. (2013) พบว่าน้ำมันหอมระเหย โหระพาขาวสามารถยับยั้งการทำงานของโปรตีนของแบคทีเรียชนิด *Listeria monocytogenes* และ *Salmonella enteritidis*

อบเชย; Cinnamon Bark (*Cinnamomum zeylanicum*) วงศ์ Lauraceae เป็นเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอม มีถิ่นกำเนิดในแอฟริกาตะวันตก มีประมาณ 2,500 ชนิด สำหรับน้ำมันหอมระเหยอบเชยใช้เป็นสารเติมแต่งในซอสมะเขือเทศ และเป็นสารกันบูดในการถนอมอาหาร นอกจากนี้มีคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ และต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (Boniface *et al.*, 2012) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย สามารถยับยั้งเชื้อ *Aspergillus flavus* ได้ เนื่องจากไปยับยั้งการเจริญของเส้นใย นอกจากนี้มีรายงานที่น้ำมันหอมระเหยอบเชยสามารถยับยั้งการทำงานของโปรตีนของแบคทีเรียชนิด *Listeria monocytogenes* และ *Salmonella enteritidis* ได้ อีกทั้งสามารถ (Maurya *et al.*, 2013) เนื่องจากมีสารสำคัญที่ใช้ยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ trans-cinnamaldehyde, eugenol, และ linalool รวมกันมีประมาณ 82.5 เปอร์เซ็นต์ของสารประกอบทั้งหมด ทั้งนี้สารประกอบ Trans-cinnamaldehyde มีอยู่ประมาณ 49.9–62.8 เปอร์เซ็นต์ของสารประกอบทั้งหมด (Ranasinghe *et al.*, 2013)

พริกไทยดำ; Black Pepper (*Piper nigrum* L.) วงศ์ Piperaceae เป็นพืชมีผลเป็นพวงเม็ดขนาดเล็ก และเป็นเครื่องเทศที่ให้รสเผ็ดร้อน เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศอินเดีย นิยมใช้ในการรักษาโรคหอบหืด อาการของกระเพาะอาหารไม่ย่อยเรื้อรัง กำจัดสารพิษลำไส้ใหญ่ โรคอ้วน ไชนัส และไข้หวัด เป็นต้น (Ghori and Ahmad, 2009) เนื่องจากพริกไทยดำมี β -caryophyllene และ caryophyllene oxide เป็นสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่าง ๆ มีรายงานว่าสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมีผลยับยั้งเชื้อ *Fusarium graminearum* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Maurya *et al.*, 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากพริกไทยดำ แสดงผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 22 สายพันธุ์ที่มีทั้งแกรมบวก และแกรมลบ ภายใต้การทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการ *Acinetobacter calcoacetic*, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Beneckea natriegens*, *Brevibacterium linens*, *Brocothrix thermosphacta*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Erwinia carotovora*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium suaveolens*, *Leuconostoc cremoris*, *Micrococcus luteus*, *Moraxella sp.*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella pullorum*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* (Dorman and Deans, 2000)

โป๊ยกั๊ก; Anis Star (*Illicium verum* Hook. f.) วงศ์ Illiciaceae เป็นพืชสมุนไพรพื้นเมืองปีเดียว ที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียน รวมทั้งเม็กซิโกและชิลี และพื้นที่ใกล้เคียง ถูกใช้เป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม และเป็นเครื่องเทศมาตั้งแต่สมัยอียิปต์โบราณ จากนั้นมีการกระจายไปยังทวีปอเมริกาเหนือ และโซนมหาสมุทรแอตแลนติกเขตร้อน และกึ่งเขตร้อนของทวีปเอเชีย โป๊ยกั๊กถูกนำไปใช้ในการรักษาโรคในแพทย์พื้นบ้านของประเทศอิหร่าน ซึ่งมีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้ได้รับการยืนยัน และตรวจสอบโดยรายงานผลมาหลายฉบับ (Yazdani et al., 2009) น้ำมันหอมระเหยโป๊ยกั๊กมี trans-anethole และ methyl-chavicol เป็นองค์ประกอบหลัก (Maurya et al., 2013) มีรายงานว่าสารสกัดจากโป๊ยกั๊กสามารถยับยั้งเชื้อรา (*Aspergillus niger* PTTC 5011, *Candida albicans* PTCC 5027 และ *Microsporum canis*) ในความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่สามารถยับยั้งเชื้อรา (*Epidermaphyton floccosum* และ *Trichophyton mentagrophytes* PTTC 5054) ในความเข้มข้นต่ำสุดเพียง 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในสภาพห้องปฏิบัติการ (Yazdani et al., 2009)

ใบเสม็ด; Cajuput Tree (*Melaleuca leucadendron* Linn. var. *cajuputi*) วงศ์ Myrtaceae สำหรับน้ำมันหอมระเหยชนิดนี้ได้มาจากการสกัดจากใบ และกิ่ง ทางเภสัชนิยมใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังเป็นยาฆ่าแมลงได้อีกด้วย (Budiadi Ishii et al., 2005) มีรายงานว่ามีการประกอบสำคัญทั้งหมด 44 สาร ซึ่งมีประมาณ 98.90 เปอร์เซ็นต์ของสารประกอบทั้งหมด โดยส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่ม monoterpenoids จำนวน 86.63 เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งเป็น 1,8-cineole คิดเป็น 77.40 เปอร์เซ็นต์ และ α -terpineol ประมาณ 7.72 เปอร์เซ็นต์ (Padalia et al., 2014) คุณภาพของน้ำมันหอมระเหยนั้น ขึ้นอยู่กับสาร 1,8-cineole ซึ่งมีอยู่ตามกิ่ง ต้น และใบเสม็ด นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอายุของต้น กับใบ และช่วงฤดูในการเก็บเกี่ยว (Budiadi Ishii et al., 2005) มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากเสม็ดมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* และ *Bacillus subtilis* อีกทั้งยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* (MTCC 2940), *S. aureus* (MTCC 96), และ *Streptococcus mutans* เนื่องจากมีสารประกอบ 1,8-cineole สูงกว่า >75.0 เปอร์เซ็นต์ (Padalia et al., 2014)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับการใช้ไธราเฮนจากสารสกัดจากพืชมีการรายงานดังนี้ ผลการวิจัยของทิตียา และคณะ (2540) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. apis* เมื่อทดสอบใช้พืชในประเทศไทยมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา ในตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95% พบว่าพืชที่ใช้ทดสอบนั้น สามารถยับยั้งเชื้อราได้ทุกชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งพืชที่มีผลในการควบคุมเชื้อราได้ดีที่สุดคือ พลุ ทองพันชั่ง สาบเสือ เหงือกปลาหมอ กกูป ประดู่ และรากของว่านกับแรด ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการทดสอบการใช้กล้วยไม้กำจัดเชื้อรา *A. apis* ในประเทศออสเตรเลีย โดยการวางไว้ในรัง แต่ไม่ได้รายงานชื่อของสารออกฤทธิ์ที่ได้มาจากกล้วยไม้ (Hornitzky, 2001) ต่อมาในการศึกษาของ David and Ward (2003) ได้คัดเลือกมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหย โดยพบว่าสารสกัดจาก Nepalese lemon grass oil, Lemon scented eucalyptus, Lemon scented tea tree และ New Zealand manuka oil สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. apis* ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 250 ppm. ส่วนใหญ่ Nepalese lemon grass oil, Lemon scented eucalyptus และ Lemon scented tea tree มีสาร citral เป็นองค์ประกอบ ส่วน New Zealand manuka oil นั้นพบว่ามีสารที่เรียกว่า terpenoid เป็นองค์ประกอบ ในปีต่อมา ภาณุวรรณ และคณะ (2547) ทำการทดสอบการใช้สารสกัดจากพืช กับตัวทำละลายต่าง ๆ เพื่อยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุตร พบว่า สารจากอบเชยที่สกัดด้วย hexane (%) ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารจาก อบเชยที่สกัดด้วย dichloromethane ที่ความเข้มข้น 2% ต่อมาคือพลูที่สกัดด้วย ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 3.5% ต่อมา สุรัชย์ (2549) ได้รายงานผลการทดสอบพืช พบว่าอบเชย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีเยี่ยม ขณะเดียวกันงานวิจัยของ Bailac et al. (2006) ใช้สารสกัดจากพืชมาควบคุมการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* โดยเทียบกับ Ketoconazol 1 mg./ml. โดยพบว่า พืชสกุล *Lippia* ซึ่งเป็นไม้เลื้อยคลุมดินได้แก่ชนิด *Lippia juneliana*, *L. integrifolia* และ *L. turbinata* มีความสามารถในการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* ได้ดีที่สุด คิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Tessaria absinthioides* และ *Hetheroteca latifolia* ซึ่งยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 62.5% และ *Aloysia gratissima* ให้ผลยับยั้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ หลายปีต่อมา Aronstein and Murray (2010) ได้เผยแพร่ข้อมูลในผลการทดสอบน้ำมันหอมระเหย กับเชื้อรา *A. apis* พบว่า

citral, geraniol, และ citronellal สามารถที่ยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราดังกล่าวได้ดีที่สุด และยับยั้งเชื้อ *Penicillium*, *Aspergillus*, *Bacillus* sp. ได้ ต่อมา Kloucek et al. (2012) ได้ศึกษา 70 EOs ในรูปแบบของไอระเหยในการควบคุมโรคซอสต์บรุต จำนวน 2 สายพันธุ์ พบว่า 39 ชนิด สามารถควบคุมโรคซอสต์บรุต ได้ทั้งสองสายพันธุ์ ไอระเหยจาก *Armoracia rusticana* ตามด้วย *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon flexosus*, *Origanum vulgare* และ *Allium sativum* จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางสารเคมีส่วนใหญ่ประกอบไปด้วย allyl isothiocyanate, citral, carvacrol และ diallyl sulfides เป็นต้น

บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพไอร์อะเหยจากพืชในการควบคุมเชื้อรา *Ascosphaera apis* โรคขอล้คบุตรในผึ้ง ภายในห้องปฏิบัติการ

1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของไอร์อะเหยจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุตรของผึ้ง

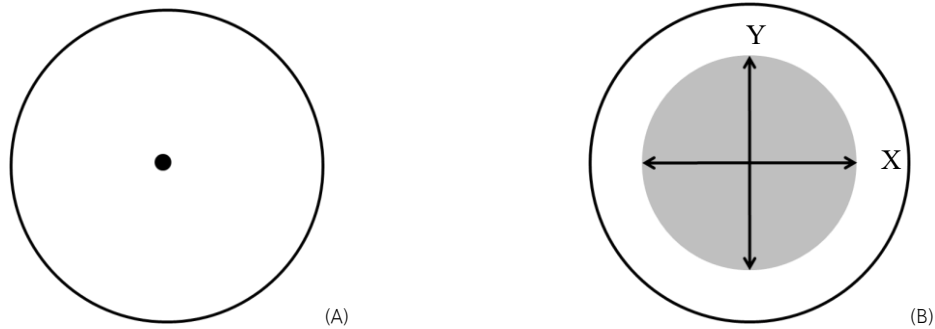
ทดสอบประสิทธิภาพของไอร์อะเหยสารสกัดจากพืช จำนวน 32 ชนิด ได้แก่ โรสแมรี่ การบูร ตะไคร้หอม เปปเปอร์มินท์ หญ้าแฝกหอม ส้ม เจอรานิยม ยูคาลิปตัส ลาเวนเดอร์ สเปียร์มินท์ ไพล ตะไคร้ แมงลัก ผักชี กระชาย โหระพา ขิง ใบกระวาน อินเดีย ใบฝรั่ง ลูกจันทน์เทศ ต้นมาเจอแรม มะกรูด ตะไคร้พาลมาโรชา ต้นชา ชมิ้น ออริกานา โหระพาขาว plai เปลือกอบเชย พริกไทยดำ โป๊ยกั๊ก และใบเสม็ด (ตารางที่ 1) ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุตรของผึ้ง ซึ่งสารสกัดจากพืชเหล่านี้ได้สั่งซื้อจากโครงการหลวง สำนักงานเชียงใหม่ และ บริษัท BOTANICESSENCE โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บริเวณกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเตรียมสารสกัดจากพืชที่ได้มาละลายในตัวทำละลาย คือ ethyl acetate จำนวน 2 ระดับความเข้มข้น คือ 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วหยดสารละลายลงบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 20 ไมโครลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อรอบจนตัวทำละลายระเหย จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลงกับฝาที่หยดสารละลาย ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และหยดตัวทำละลาย ethyl acetate ในตำแหน่งเดียวกับชุดทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราสาเหตุเจริญเป็นเวลา 7 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ โดยวัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทั้งในแกน X และแกน Y แล้วหาค่าเฉลี่ยการเจริญเส้นใยของเชื้อรา (ภาพที่ 1) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (percent inhibition of radical growth; PIRG) (เกษม, 2532)

จากนั้นทำการทดสอบไอร์อะเหยจากสารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ตะไคร้ ใบกระวาน พาลมาโรชา และออริกานา ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นอีกครั้ง

หนึ่ง ตามการทดสอบข้างต้น โดยทำการวางเชื้อราสาเหตุพร้อมกับให้ไธระเหยพร้อมกัน
แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ตารางที่ 1 รายชื่อสารสกัดจากพืชที่นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย
เชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้ศบรุดของผึ้ง

สารสกัดจากพืช	ชื่อสามัญ	วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์
1) โรสแมรี่	Rosemary	Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
2) การบูร	Camphorwood	Lauraceae	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J.Presl
3) ตะไคร้หอม	Citronella	Poaceae	<i>Cymbopogon nardus</i> (Linn.) Rendle
4) เปปเปอร์มินท์	Peppermint	Lamiaceae	<i>Mentha piperita</i>
5) หญ้าแฝกหอม	Vetiver	Gramineae	<i>Vetiveria zizanioides</i>
6) ส้ม	Orange	Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>
7) เจอรานิยม	Geranium	Geraniaceae	<i>Pelargonium graveolens</i>
8) ยูคาลิปตัส	Eucalyptus	Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i>
9) ลาเวนเดอร์	Lavender	Lamiaceae	<i>Lavendula angustifolia</i> Lamiaceae
10) สเปียร์มินท์	Spearmint	Labiatae	<i>Mentha spicata</i>
11) โพล	Cassumunar ginger	Zingiberaceae	<i>Zingiber montanum</i> (Koenig) Link ex Dietr
12) ตะไคร้	Lemongrass	Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i>
13) ผักชี	Coriander	Umbelliferae	<i>Coriandrum sativum</i> L.
14) กระชาย	Finger root	Zingiberaceae	<i>Boesenbergia pandurata</i> (Roxb.) Schltr.
15) โหระพา	Sweet basil	Labiatae	<i>Ocimum basilicum</i> L.
16) แมงลัก	Hairy basil	Apiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> L.f. var. <i>citratum</i> Back
17) ขิง	Ginger	Zingiberaceae	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe
18) ใบกระวานอินเดีย	BAY W. INDIAN	Myrtaceae	<i>Pimenta racemosa</i>
19) ใบฝรั่ง	Guava leaf	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> Linn (Thailand)
20) จันทน์เทศ	Nutmeg	Myristicaceae	<i>Myristica fragrans</i> Houtt
21) มาร์จอรัม	Marjoram, Sweet	Lamiaceae	<i>Origanum majorana</i>
22) มะกรูด	Leech lime	Rutaceae	<i>Citrus hystrix</i> DC.
23) ตะไคร้พาลมาโรซ่า	Palmarosa	Poaceae	<i>Cymbopogon martini</i>
24) ต้นชา	Tea tree	Myrtaceae	<i>Melaleuca alternifolia</i>
25) ขมิ้น	Turmeric root	Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i> L.
26) ออริกาโน	Oregano	Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i>
27) โหระพาขาว	Thyme white	Lamiaceae	<i>Thymus vulgaris</i>
28) โพล	Plai	Zingiberaceae	<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb
29) อบเชย	Cinnamon bark	Lauraceae	<i>Cinnamomum barmani</i>
30) พริกไทยดำ	Black pepper	Piperaceae	<i>Piper nigrum</i> L.
31) โป๊ยกั๊ก	Anis star	Illiciaceae	<i>Illicium verum</i> Hook. f.
32) ใบเสม็ด	Cajuput tree	Myrtaceae	<i>Melaleuca leucadendron</i> Linn. var. <i>cajuputi</i>



$$\text{ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ} = \frac{X + Y}{2}$$

ภาพที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของไอระเหยจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคชอล์คบูดในฝรั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar

A: ลักษณะการวางเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

B: การประเมินค่าการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค (percent inhibition of radical growth; PIRG)

$$\text{PIRG} = \frac{(R_1 - R_2) \times 100}{R_1}$$

โดยที่ R_1 : ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุม

R_2 : ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

โดยประมาณค่าการยับยั้งดังนี้ (เกษม, 2532)

> 75 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก
61 – 75 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง
51 – 60 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง
≤ 50 เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮยจากอริกาโน ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุตรในผึ้ง

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากอริกาโน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของผึ้ง โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บริเวณกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเตรียมสารสกัดจากอริกาโนที่ได้มาละลายในตัวทำละลาย คือ ethyl acetate จำนวน 4 ระดับความเข้มข้น คือ 4.5, 4, 3.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แล้วหยดสารละลายลงบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 20 ไมโครลิตร บนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รอจนตัวทำละลายระเหย จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลงกับฝาที่หยดสารละลาย ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และหยดตัวทำละลาย ethyl acetate ในตำแหน่งเดียวกับชุดทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตเป็นเวลา 10 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ โดยวัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทั้งในแกน X และแกน Y แล้วหาค่าเฉลี่ยการเจริญเส้นใยของเชื้อรา (ภาพที่ 1) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (percent inhibition of radical growth; PIRG) (เกษม, 2532)

1.3 การทดสอบประสิทธิภาพไธราเฮยของการผสมจากสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุของโรคขอล้คบุตรในผึ้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดจากสเปียร์มินท์กับตะไคร้ สเปียร์มินท์กับเจอรานิยม สเปียร์มินท์กับพาลมาโรชา เจอรานิยมกับตะไคร้ เจอรานิยมกับพาลมาโรชา พาลมาโรชากับตะไคร้ อบเชยกับสเปียร์มินท์ อบเชยกับตะไคร้ อบเชยกับเจอรานิยม และอบเชยกับพาลมาโรชา ลงบนเชื้อราสาเหตุ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของผึ้ง โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บริเวณกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเตรียมสารสกัดจากการผสมสารสกัดต่าง ๆ มาละลายในตัวทำละลาย คือ ethyl acetate จำนวน 2 ระดับความเข้มข้น คือ 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการหยดสารละลายลงบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 20 ไมโครลิตร บนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รอจนตัวทำละลายระเหย จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลงกับฝาที่หยดสารละลาย ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุวางบน

ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และหยดตัวทำละลาย ethyl acetate ในตำแหน่งเดียวกับชุดทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราสาเหตุเจริญเติบโต เป็นเวลา 7 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ โดยวัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทั้งในแกน X และแกน Y แล้วหาค่าเฉลี่ยการเจริญเส้นใยของเชื้อรา (ภาพที่ 1) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (percent inhibition of radical growth; PIRG) (เกษม, 2532)

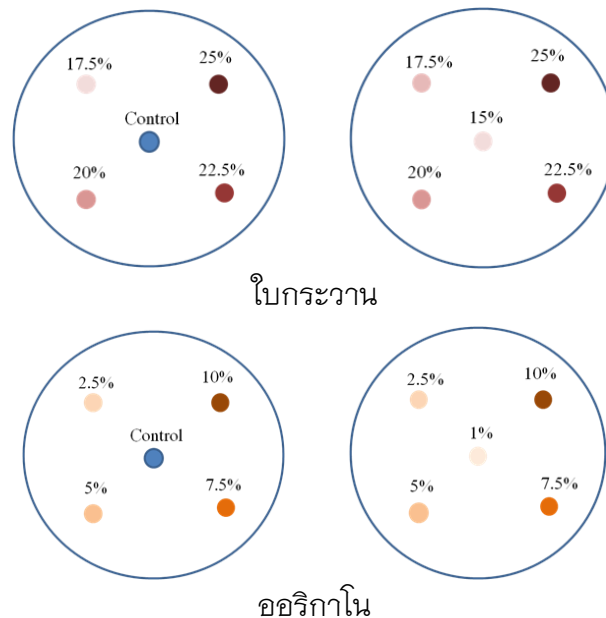
1.4 การทดสอบประสิทธิภาพไธเรเหยจากการผสมสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำลง ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอล์ค บรูดในผึ้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดจากสเปียร์มินท์กับอบเชย ตะไคร้กับอบเชย พาลมาโรซากับอบเชย เจอราเนียมกับอบเชย และอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของผึ้ง โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บริเวณกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเตรียมสารสกัดจากการผสมสารสกัดจากพืชละลายใน ethyl acetate จำนวน 4 ระดับความเข้มข้น คือ 10, 7.5, 5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วหยดสารละลายลงบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 20 ไมโครลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อรอจนตัวทำละลายระเหย จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลงกับฝาที่หยดสารละลาย ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และหยดตัวทำละลาย ethyl acetate ในตำแหน่งเดียวกับชุดทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ โดยวัดความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทั้งในแกน X และแกน Y แล้วหาค่าเฉลี่ยการเจริญเส้นใยของ เชื้อรา จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (percent inhibition of radical growth; PIRG) (เกษม, 2532)

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชลงบนเส้นใยเชื้อราโรคซอส์คอบรูตในฝั่ ภายในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบหดยดสารสกัดจากพืชลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc)

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระวาน และออริกานอ ลงบนเชื้อราสาเหตุ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอส์คอบรูตของฝั่ โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 1 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเตรียมสารสกัดจากพืชที่ได้มาละลายในตัวทำละลายคือ ethyl acetate จำนวน 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ สารสกัดจากใบกระวานที่ความเข้มข้น 25.0, 22.5, 20.0, 17.5 และ 15.0 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากออริกานอที่ความเข้มข้น 10.0, 7.5, 5.0, 2.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการหดยดสารละลายลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ จำนวน 20 ไมโครลิตร ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุขึ้นเชื้อที่ไม่หดยดสารสกัด บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราสาเหตุเจริญเติบโต เป็นเวลา 10 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ (ภาพที่ 2)



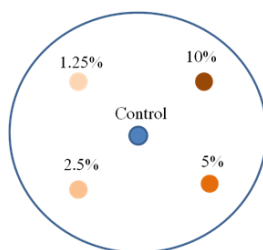
ภาพที่ 2 แผนผังการทดสอบประสิทธิภาพของการหดยดสารสกัดจากใบกระวาน และออริกานอ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอส์คอบรูตของฝั่ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar

2.2 การทดสอบหดยดสารสกัดจากออริกาโนลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc)

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระวาน และออริกาโน ลงบนเชื้อเชื้อราสาเหตุ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคโรคชอล์คบรูดของฝักร โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 1 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเตรียมสารสกัดจากออริกาโนที่ได้มาละลายในตัวทำละลาย คือ ethyl acetate จำนวน 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 0.25, 0.125 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการหดยดสารละลายลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ จำนวน 20 ไมโครลิตร ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุขึ้นเชื้อที่ไม่หดยดสารสกัด ปุ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราสาเหตุ เป็นเวลา 10 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ (ภาพที่ 1)

2.3 การทดสอบการผสมสารสกัดชนิดต่าง ๆ กับ ออริกาโน โดยการหดยดลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc)

ทดสอบประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดจากออริกาโนกับตะไคร้ ออริกาโนกับพาลมาโรชา และออริกาโนกับใบกระวาน ลงบนเชื้อราสาเหตุ ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของฝักร โดยเตรียมเชื้อราสาเหตุเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นเตรียมสารสกัดจากพืชที่ได้มาละลายใน ethyl acetate จำนวน 4 ระดับความเข้มข้น คือ 10, 5, 2.5 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ แล้วหดยดสารละลายลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ จำนวน 20 ไมโครลิตร ส่วนชุดควบคุมเชื้อราสาเหตุขึ้นเชื้อที่ไม่หดยดสารสกัด ปุ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราสาเหตุ เป็นเวลา 10 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แผนผังการทดสอบประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดจากพืชหดยดลงบนชิ้นเชื้อ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคชอล์คบรูดของฝักร บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar

การทดลองที่ 3 การทดสอบไธระเหยสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*)

3.1 ทดสอบไธระเหยจากสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ในรัง ผึ้งแบบกลุ่มประชากร

3.1.1 ทำการตั้งรังผึ้งไว้ 2 แหล่ง คือ ภายในอาคาร และนอกอาคาร ก่อนทดสอบไธระเหยกับประชากรในรังผึ้ง ทำการชั่งน้ำหนักรังผึ้ง และ นับจำนวนประชากรผึ้งจำนวน 3 รวง ต่อรัง เพื่อหาค่าเฉลี่ยจำนวนตัวต่อรวง โดยนับในรวงที่ 1, 4 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 วิธีการนับจำนวนตัวผึ้งในรวงผึ้งก่อนทดสอบกับไธระเหย โดยการถ่ายรูปแล้ว
นับจำนวนตัวผึ้งทั้งสองด้าน

3.1.2 ทำการทดสอบไธระเหย 3 ชนิด คือ อบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 มีชุดควบ 1 ชุด และตัวทำละลาย (Positive control) คือ ethyl acetate อีก 1 ชุด ในการทดสอบให้ความเข้มข้นของสาร 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ตัวทำละลาย ethyl acetate มีพิษกับสิ่งมีชีวิต ก่อนนำไปใช้ต้องรอให้ ethyl acetate ระเหยออกไปก่อน เหลือเฉพาะส่วนของไธระเหยของสารสกัดจากพืช (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมสารให้ได้ไอระเหย เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับทดสอบกับประชากรผึ้งในรังผึ้ง

3.1.3 สังเกตพฤติกรรมการตอบสนองของผึ้งเมื่อได้รับไอระเหยของสารทดสอบเป็นเวลา 30 นาทีแรก โดยตั้งข้อสังเกตว่า ผึ้งที่มีความไวต่อสารจะแสดงพฤติกรรมโดยการบินออกนอกรัง เพราะสารนั้นเป็นอันตรายต่อประชากรในรัง (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 แสดงการทดสอบปฏิกิริยาการตอบสนองของผึ้งต่อสารในรูปของไอระเหย

3.1.4 ทำการบันทึกผลการชั่งน้ำหนักรังผึ้งทุกวัน เป็นเวลา 5 วัน โดยชั่งน้ำหนักรังผึ้งหลังจากที่ผึ้งกลับเข้ารังทุกตัว จากนั้นนับจำนวนประชากรผึ้งทุก 3 วัน จำนวน 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยจำนวนตัวต่อรวง โดยนับในรวงที่ 1, 4 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 วิธีการนับจำนวนตัวผึ้งในรวงผึ้งหลังจากที่ผึ้งได้รับสาร โดยการถ่ายรูปแล้วนับจำนวนตัวผึ้งทั้งสองด้าน

3.2 ทดสอบไธระเหยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ในหลอดทดลองแบบตัวต่อตัว ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

3.2.1 ผึ้งที่ใช้ในการทดลองได้จากผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในรังผึ้งในลานเลี้ยงผึ้ง โดยจับตัวผึ้งตัวเต็มวัยที่อยู่ในรังมาใส่ในหลอดทดลองที่ใส่สารละลายน้ำหวานไว้ก้นหลอด พร้อมปิดด้วยผ้าขาวบาง จำนวน 1 ตัวต่อหลอดทดลอง จากนั้นทิ้งให้ผึ้งปรับสภาพในหลอดทดลองเป็นเวลา 1 คืน (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แสดงการเตรียมตัวอย่างผึ้งก่อนทดสอบกับไธเรหยาแบบตัวต่อตัว

3.2.2 เจือจางสารสกัดจากพืช 3 ชนิด คือ อบเชย ออริกาโน 1 และออริกาโน 2 ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ กับตัวละลาย ethyl acetate สารนี้มีพิษกับสิ่งมีชีวิต ก่อนนำไปใช้ต้องรอให้ ethyl acetate ระเหยออกไปก่อน เหลือเฉพาะส่วนของไธเรหยาของสารสกัดจากพืช ทั้งนี้มีชุด Positive control เพื่อตรวจสอบว่า ตัวละลาย ethyl acetate มีผลต่อการทดสอบของผึ้งหรือไม่ โดยแต่ละชุดทดสอบทำทั้งหมด 4 ซ้ำ การละลายสารสกัดสมุนไพรกับตัวทำละลายใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

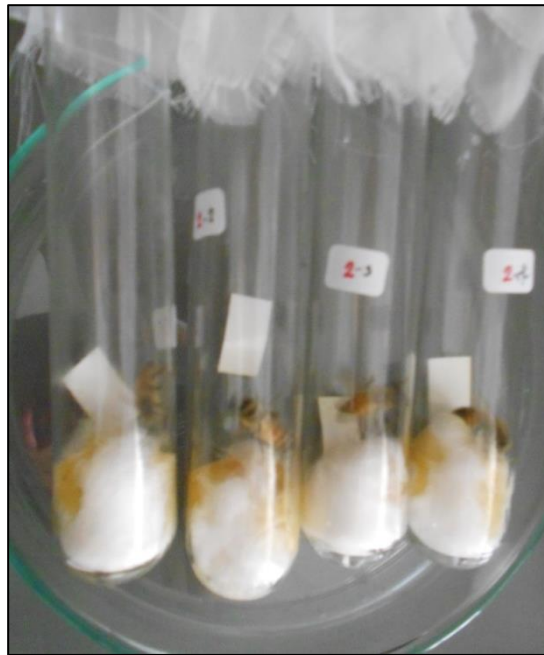
หมายเหตุ; M_1 = ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดตัวอย่าง ก่อนเจือจาง

V_1 = ปริมาตรของสารละลายสารสกัดตัวอย่าง ก่อนเจือจาง

M_2 = ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรของสารละลายสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ

3.2.3 เตรียมสารให้ได้ไอระเหย เพื่อทดสอบกับพืชพันธุ์ในหลอดทดลอง โดยการหยดสารลงในกระดาษกรอง 100 ไมโครลิตร ขนาด 1×2 เซนติเมตร จากนั้นทิ้งให้ตัวทำละลายระเหยออก เหลือแต่ไอระเหยจากพืช โดยรอให้กระดาษกรองแห้งก่อน จากนั้นนำไปใส่ในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ (ภาพที่ 9)

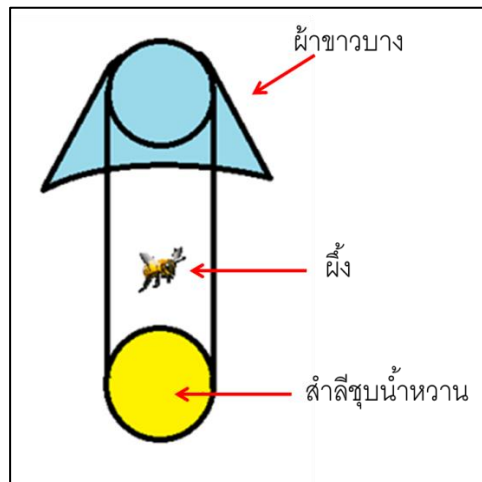


ภาพที่ 9 วิธีการเตรียมสารสกัดจากพืชให้ได้ไอระเหย โดยนำกระดาษกรองที่มีไอระเหย ไปใส่ในหลอดทดลอง

3.2.4 สังเกตพฤติกรรมของพืชหลังจากที่ได้ทดสอบสาร และเปรียบเทียบความแตกต่างการตายของพืชระหว่างที่ทดสอบไอระเหยจากสารสกัดจากพืชกับชุดควบคุม พร้อมทั้งบันทึกผลอัตราการตายของพืชหลังจากทดสอบกับสารภายในระยะ 24 ชั่วโมง

3.3 การลดปริมาณ และความเข้มข้นของไอระเหยที่ได้จากสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์แบบตัวต่อตัว

3.3.1 ผึ้งที่ใช้ในการทดลองได้จากผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในรังผึ้งในลานเลี้ยงผึ้ง โดยจับตัวผึ้งตัวเต็มวัยที่อยู่ในรังมาใส่ในหลอดทดลองที่ใส่สาลี่ชุปน้ำหวานไว้ก้นหลอด พร้อมปิดด้วยผ้าขาวบาง จำนวน 1 ตัวต่อหลอดทดลอง จากนั้นทิ้งให้ผึ้งปรับสภาพในหลอดทดลองเป็นเวลา 1 คืน (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 การเตรียมผึ้งก่อนทดสอบกับไอระเหยแบบตัวต่อตัว

3.3.2 เจือจางสารสกัดจากพืช 3 ชนิด คือ อบเชย ออริกาโน 1 และออริกาโน 2 ที่ความเข้มข้น 10, 7.5, 6 และ 5 เปอร์เซ็นต์ กับตัวละลาย ethyl acetate นอกจากนี้สารนี้มีพิษกับสิ่งมีชีวิต ก่อนนำไปใช้ต้องรอให้ ethyl acetate ระเหยออกไปก่อน เหลือเฉพาะส่วนของไอระเหยของสารสกัดจากพืช ทั้งนี้มีชุด positive control เพื่อตรวจสอบว่า ตัวละลาย ethyl acetate มีผลต่อการทดสอบของผึ้งหรือไม่ ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ การละลายสารสกัดจากพืชกับตัวทำละลายใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

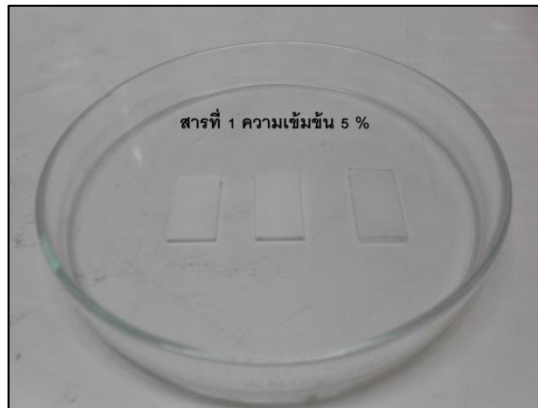
หมายเหตุ: M_1 = ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดตัวอย่าง ก่อนเจือจาง

V_1 = ปริมาตรของสารละลายสารสกัดตัวอย่าง ก่อนเจือจาง

M_2 = ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรของสารละลายสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ

3.3.3 หยดสารลงบนกระดาษกรอง 20 ไมโครลิตร ขนาด 1×2 เซนติเมตร จากนั้นทิ้งให้ตัวทำละลายระเหยออก เหลือแต่ไอระเหย โดยรอให้กระดาษกรองแห้งก่อน (ภาพที่ 11) จากนั้นนำไปใส่ในหลอดทดลองที่เตรียมไว้



ภาพที่ 11 แสดงการเตรียมสารให้ได้ไอระเหย โดยหยดสารละลายลงบนกระดาษกรอง 20 ไมโครลิตร ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหย

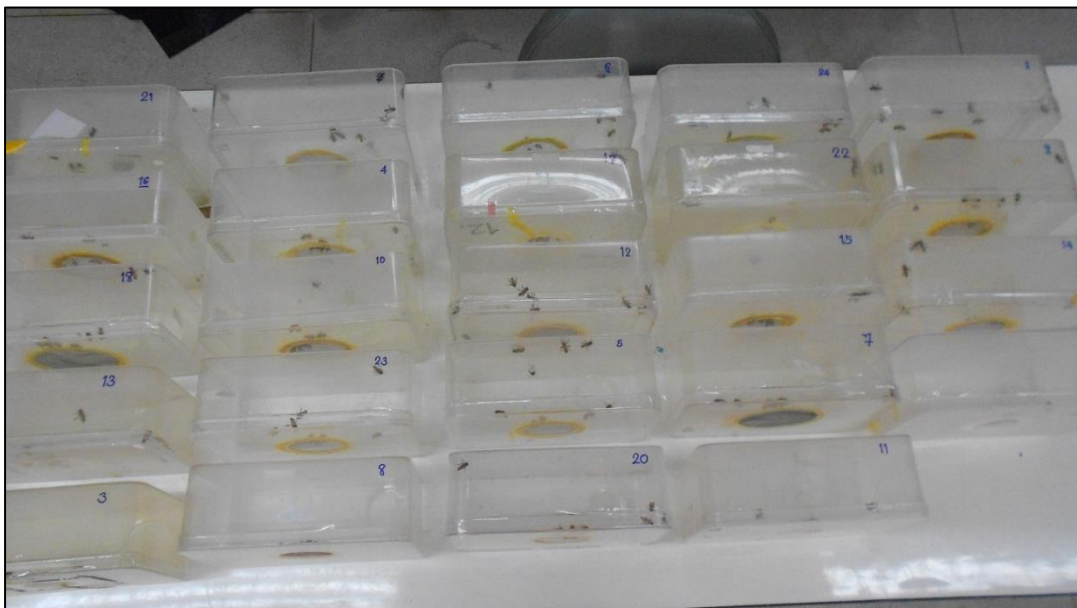
3.3.4 สังเกตพฤติกรรมของผึ้งหลังจากที่ได้ทดสอบสาร และเปรียบเทียบความแตกต่างการตายของผึ้งระหว่างที่ทดสอบไอระเหยจากสกัดจากพืชกับชุดควบคุม พร้อมทั้งบันทึกผลอัตราการตายของผึ้งหลังจากทดสอบกับไอระเหย จากนั้นคำนวณความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน โดยอยู่ในรูปของค่า LC_{50}

หมายเหตุ; LC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารที่ให้กับสัตว์ทดลอง แล้วทำให้สัตว์ทดลองร้อยละ 50 (ครึ่งหนึ่งตายลง)

3.4 ทดสอบไธระเหยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับตัวอย่างผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ในกล่องทดลอง

การเตรียมผึ้งก่อนทดสอบไธระเหย

ผึ้งที่ใช้ในการทดลองได้จากผึ้งพันธุ์ที่เลี้ยงในรังผึ้งในลานเลี้ยงผึ้ง โดยจับตัวผึ้งตัวเต็มวัยที่อยู่ในรังมาใส่ในกล่องที่มีการระบายอากาศ จำนวน 10 ตัวต่อชุดทดสอบ และเติมน้ำหวานลงภาชนะใส่ในกล่องทดลองที่มีผึ้งอยู่ในกล่องเรียบร้อยแล้ว จากนั้นทิ้งให้ผึ้งปรับสภาพกับกล่องทดลองเป็นเวลา 1 คืน (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 แสดงการจัดผึ้งตัวเต็มวัยจำนวน 10 ตัวต่อชุดทดสอบ ปรับตัวให้เข้ากับสภาพในกล่องทดลอง เป็นเวลา 1 คืน เพื่อทดสอบไธระเหยที่ความเข้มข้นต่างๆ

เตรียมสารไอระเหย

1. อบเชย
2. ออริกาโน 1
3. ออริกาโน 2
4. ethyl acetate

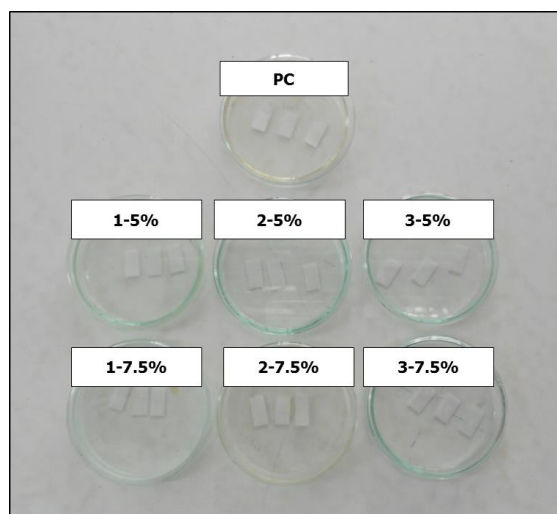
ทำการละลายสารสกัดจากพืชในตัวทำละลายระเหย ซึ่งในการทดสอบนี้ใช้ ethyl acetate โดยละลายสารที่ความเข้มข้น 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ethyl acetate มีพิษกับสิ่งมีชีวิต ก่อนนำไปใช้ต้องรอให้ ethyl acetate ระเหยออกไปก่อน เหลือเฉพาะส่วนของไอระเหยของสารสมุนไพร การละลายสารสกัดสมุนไพรกับตัวทำละลายใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

หมายเหตุ: M_1 = ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดตัวอย่าง ก่อนเจือจาง
 V_1 = ปริมาตรของสารละลายสารสกัดตัวอย่าง ก่อนเจือจาง
 M_2 = ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ
 V_2 = ปริมาตรของสารละลายสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการ

ทดสอบไอระเหย

1. หยดสารที่เตรียมไว้ลงกระดาษกรองขนาด 1x2 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ โดย positive control (PC) ซึ่งเป็นตัวทำละลาย (ethyl acetate) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนในการทดสอบครั้งนี้ ในปริมาณ 20 ไมโครลิตร (ภาพที่ 13) และมี 1 ชุดควบคุมที่ไม่ติดไอระเหยเป็นตัวเปรียบเทียบกับชุดทดสอบ โดยแต่ละชุดทดสอบมีจำนวน 3 ซ้ำ รวมจำนวนหน่วยทดสอบทั้งหมดเป็น 24 ชุดทดสอบ



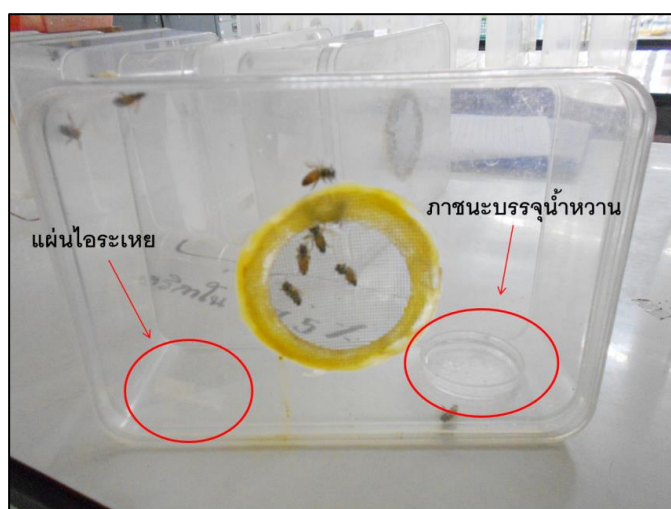
ภาพที่ 13 แสดงการหยุดไธระเหยนกระดาศกรองตามความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเตรียมไปติดในกล่องทดลอง

หมายเลข 1 คือ ไธระเหยนจาก อบเชย

หมายเลข 2 คือ ไธระเหยนจากออริกานโน 1

หมายเลข 3 คือ ไธระเหยนจากออริกานโน 2

2. นำกระดาศที่เตรียมไว้ไปติดในกล่องทดลอง โดยติดตรงบริเวณด้านล่างซ้ายของปากกล่อง (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ภาพแสดงตำแหน่งการวางแผ่นไธระเหยน พร้อมภาชนะบรรจุน้ำหวานเพื่อให้ผึ้งพันธุ์ได้กินขณะที่อยู่ในกล่องทดลอง

3. สังเกตพฤติกรรมของผึ้งหลังจากที่ได้ทดสอบสาร และเปรียบเทียบความแตกต่างการตายของผึ้งระหว่างที่ทดสอบไธราเฮยจากสกัดจากพืชกับชุดควบคุม พร้อมทั้งบันทึกผลอัตราการตายของผึ้งหลังจากทดสอบกับสารภายในระยะ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 15) หลังจากการทดลองแล้วนำมาคำนวณอัตราการตาย (% mortality) ซึ่งมีเงื่อนไขดังนี้

- ถ้าอัตราการตายของชุดควบคุม > 30 เปอร์เซ็นต์ ดำเนินการยกเลิกผลทดสอบทั้งหมดในงานทดสอบครั้งนั้น

- อัตราการตายของชุดควบคุมอยู่ในช่วง 5 – 30 เปอร์เซ็นต์ การตายของผึ้งพันธุ์จะต้องนำอัตราการตายทั้งหมดในการทดสอบมาปรับด้วยสูตรคำนวณ Abbott's formula (Abbott, 1925) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{อัตราการตายของชุดทดลอง} - \text{อัตราการตายของชุดควบคุม} \times 100}{100 - \text{อัตราการตายของกลุ่มควบคุม}}$$



ภาพที่ 15 สังเกตพฤติกรรมของผึ้ง และบันทึกผลเปอร์เซ็นต์การตายหลังทดสอบไธราเฮยในช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพไธราเฮยจากพืชในการควบคุมโรคซอสค์บรุตในฝั้ว ภายในห้องปฏิบัติการ

1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮยจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Ascosphaera apis* สาเหตุโรคซอสค์บรุตของฝั้ว

ทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮยสารสกัดจากพืช จำนวน 32 ชนิด ได้แก่ โรสแมรี่ การบูร ตะไคร้หอม เปเปอ์มินท์ แฝกหอม ส้ม เจอรานิยม ยูคาลิปตัส ลาเวนเดอร์ สเปียร์มินท์ ไพโร ตะไคร้ แมงลัก ผักชี กระชาย โหระพา ขิง ใบกระวานอินเดีย ใบฝรั่ง ลูกจันทน์เทศ ต้นมาเจอแรม มะกรูด ตะไคร้พาลมาโรชา ต้นชา ขมิ้น ออริกาโน โหระพาขาว plai เปลือกอบเชย พริกไทยดำ โป๊ยกั๊ก และใบเสม็ด ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอสค์บรุตของฝั้ว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลโดยวัดโคโลนีของเชื้อรา จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค percent inhibition of radial growth (PIRG) พบว่าสารสกัดจาก ตะไคร้หอม ใบกระวานอินเดีย ต้นตะไคร้พาลมาโรชา และ ออริกาโน ที่ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยอยู่ในช่วง 51.11 - 76.48 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของ เชื้อราในระดับปานกลางถึงสูงมาก (เกษม, 2532) (ตารางที่ 2; ภาพที่ 16)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของไธระเหยจากสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดของสารสกัดจากพืช	ความเข้มข้น (%)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใย ¹
โรสแมรี่	25	14.81 f ²
	12.5	15.37 f
การบูร	25	22.22 de
	12.5	17.04 de
ตะไคร้หอม	25	54.81 bc
	12.5	45.56 c
เปปเปอร์มินท์	25	21.48 de
	12.5	32.22 cd
แฟกหอม	25	9.63 f
	12.5	24.63 de
ส้ม	25	10.93 f
	12.5	13.52 f
เจอรานิยม	25	49.26 bc
	12.5	17.59 de
ยูคาลิปตัส	25	7.04 f
	12.5	9.43 f
ลาเวนเดอร์	25	15.55 f
	12.5	12.96 f
สเปียร์มินท์	25	52.78 bc
	12.5	27.40 de
ไพล์	25	28.15 d
	12.5	21.48 de
ตะไคร้	25	76.48 a
	12.5	61.48 b
แมงลัก	25	28.15 d
	12.5	16.66 de

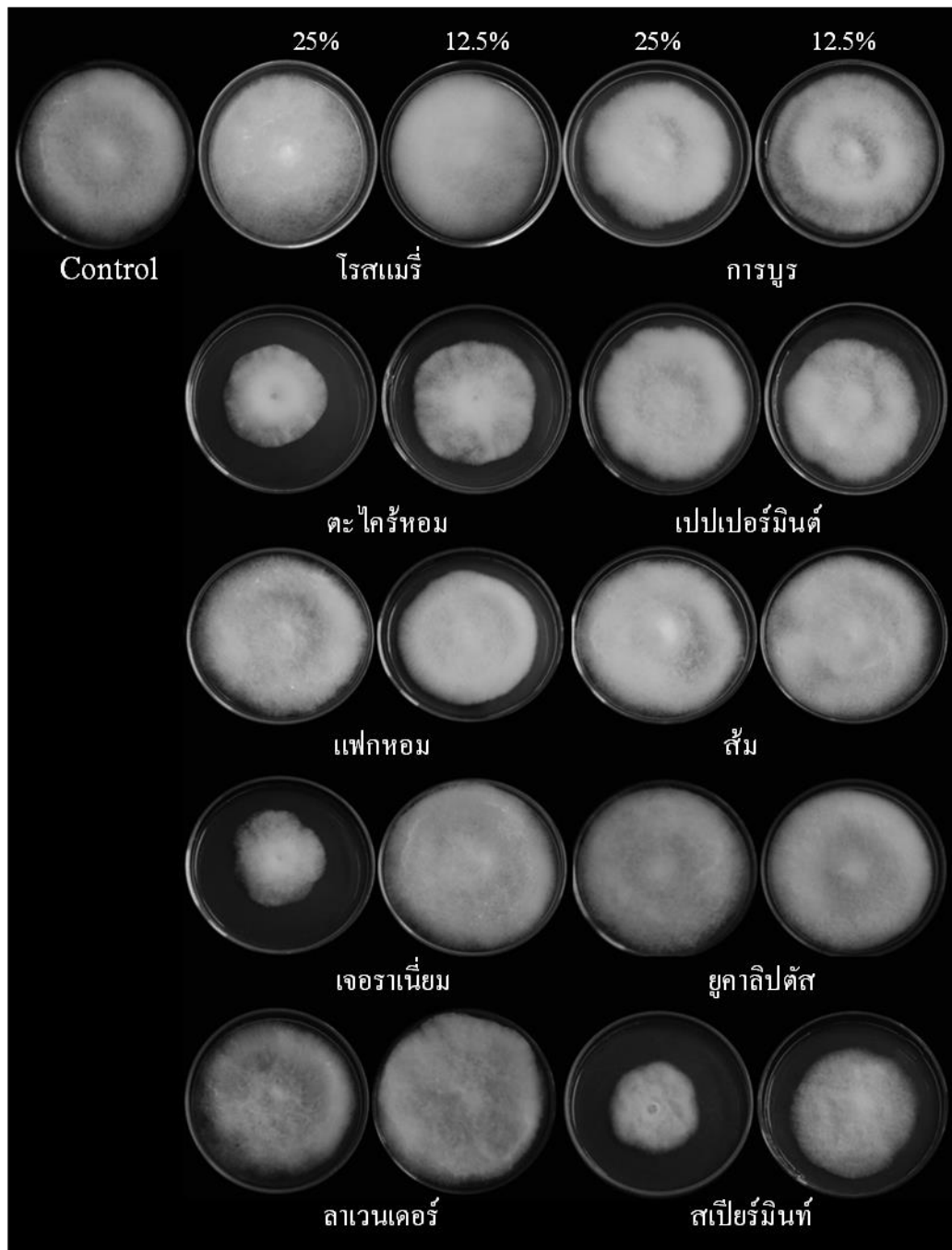
ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารสกัดจากพืช	ความเข้มข้น (%)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใย
ผักชี	25	28.89 d
	12.5	15.61 e
กระชาย	25	33.70 cd
	12.5	33.33 cd
โหระพา	25	42.77 cd
	12.5	35.37 cd
ขิง	25	8.33 f
	12.5	10.93 f
ใบกระวานอินเดีย	25	64.45 ab
	12.5	51.11 bc
ใบฝรั่ง	25	20.37 de
	12.5	17.22 de
ลูกจันทน์เทศ	25	35.00 cd
	12.5	8.15 f
มาเจอแรม	25	19.63 de
	12.5	22.22 de
มะกรูด	25	6.67 f
	12.5	14.26 f
พาลมาโรชา	25	57.41 bc
	12.5	70.93 ab
ต้นชา	25	8.89 f
	12.5	10.93 f
ขมิ้น	25	0.00 g
	12.5	3.33 f
ออริกาโน	25	66.48 ab
	12.5	72.04 ab

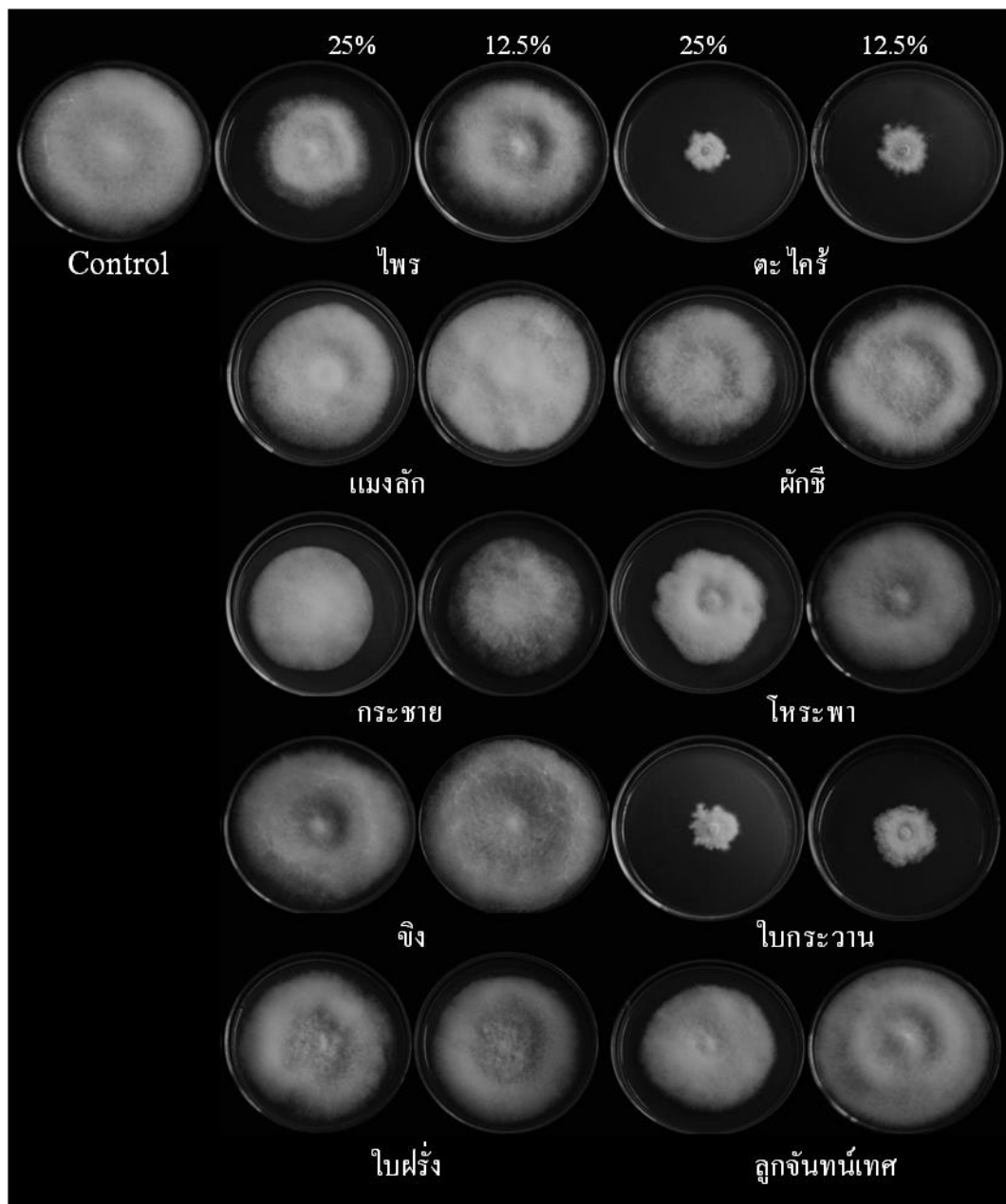
ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารสกัดจากพืช	ความเข้มข้น (%)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใย
โหระพาขาว	25	37.22 cd
	12.5	20.56 de
plai	25	0.00 g
	12.5	0.00 g
เปลือกอบเชย	25	42.78 cd
	12.5	20.56 de
พริกไทยดำ	25	0.00 g
	12.5	0.00 g
โป๊ยกั๊ก	25	38.33 cd
	12.5	21.85 de
ใบเสมา	25	0.00 g
	12.5	0.00 g
F-test		***
CV (%)		29.33
LSD 0.05		12.25

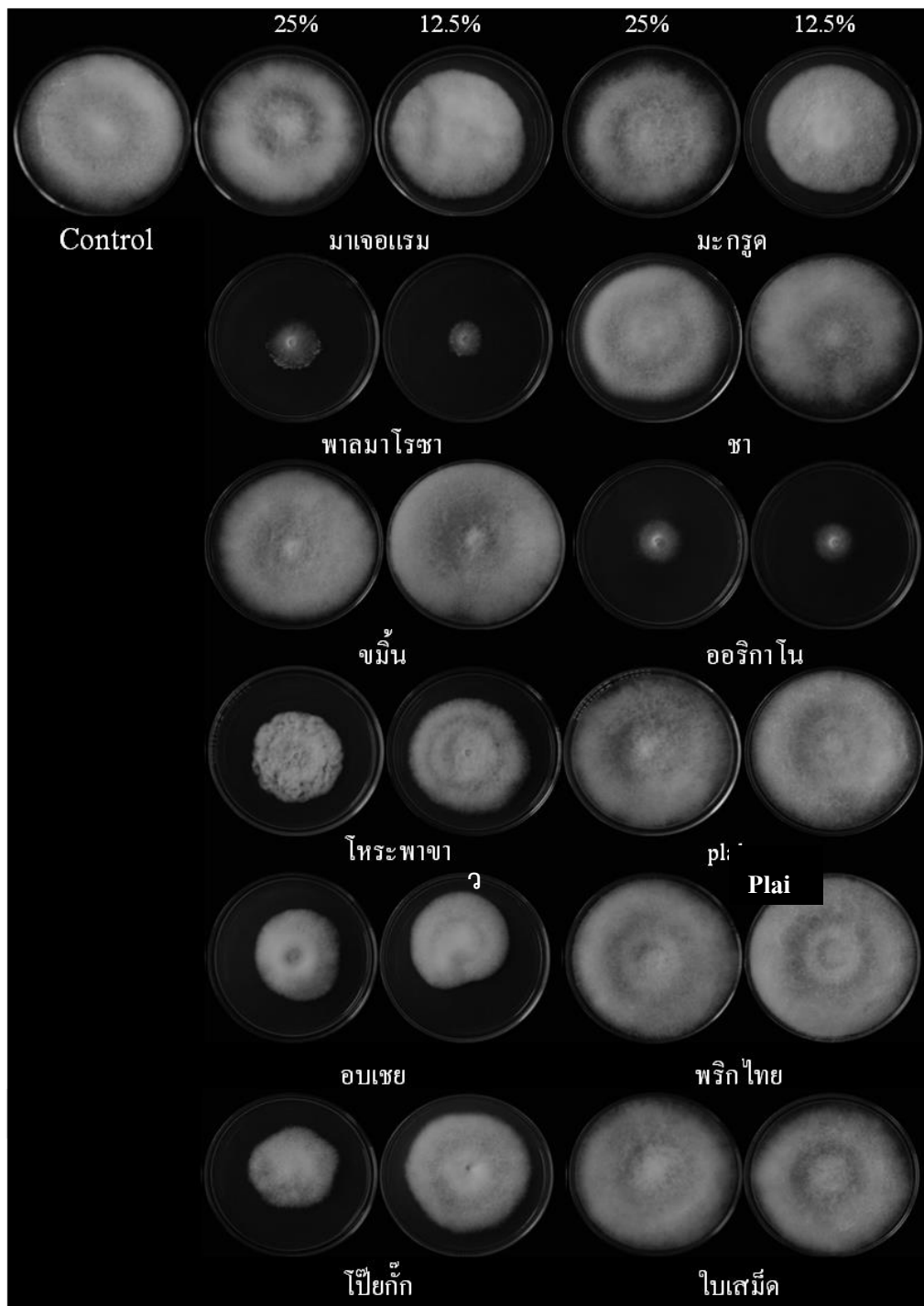
***= significant at $P < 0.01$ ¹ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวดิ่ง และแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญเส้นใย เชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอส์คบรุตของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพของไธระเหยจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคชอล์คบุตรของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพของไธระเหยจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้ดของฝ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

ทำการทดสอบไธราเหี้ยจากสารสกัดจากพืชทั้ง 4 สาร ที่ให้ผลการควบคุมเชื้อราได้ดีอีกครั้งหนึ่ง โดยทำการวางเชื้อสาเหตุพร้อมกับให้ไธราเหี้ยพร้อมกัน พบว่า สารสกัดจากใบกระวานอินเดีย ที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดออริกานาที่ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไธราเหี้ยจากพาลมาโรซา ที่ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 84.82 และ 77.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากตะไคร้ ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 65.00 และ 37.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3, ภาพที่ 17)

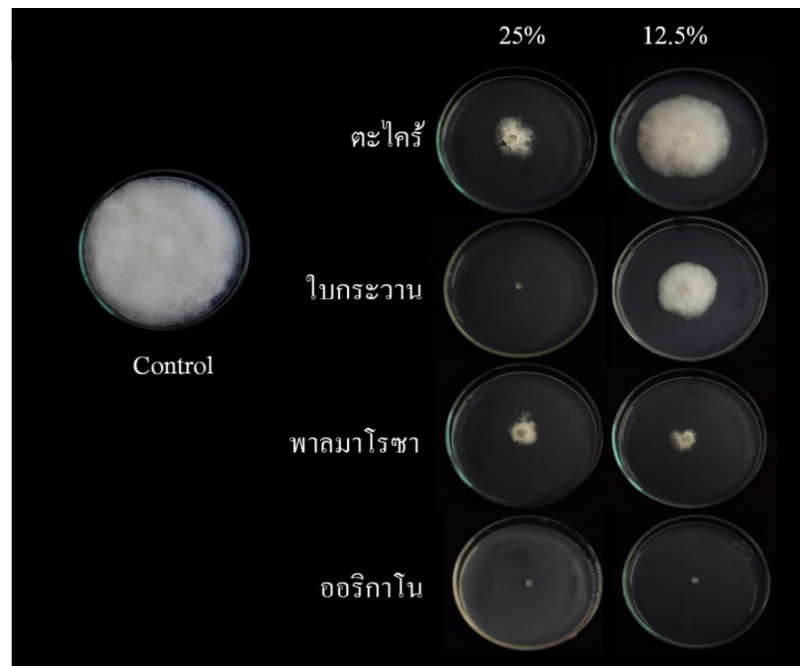
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของไธราเหี้ยจากสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดสารสกัดจากพืช	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใย ¹	
	ความเข้มข้น	
	25%	12.5%
ตะไคร้	65.00 c ²	37.40 d
ใบกระวาน	100.00 a	57.60 c
พาลมาโรซา	84.82 b	77.96 b
ออริกานา	100.00 a	100.00 a
F-test	***	
CV (%)	4.88	
LSD 0.05	3.10	

*** = significant at $P < 0.01$

¹ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวดิ่ง และแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพของไธระเหยจากสารสกัดจากตะไคร้ ใบกระวาน พาลมาโรชา และออริกาน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคชอล์คบรุตของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน

1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของไธระเหยจากออริกาน ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคชอล์คบรุตในผึ้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของไธระเหยจากสารสกัดจากใบกระวาน และออริกาน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลโดยวัดโคโลนีของเชื้อรา จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค percent inhibition of radial growth (PIRG) พบว่าสารสกัดจากออริกานความเข้มข้น 4.5 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราในระดับสูงมาก

(เกษม, 2532) ส่วนความเข้มข้น 3.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 47.11 และ 31.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4; ภาพที่ 18)

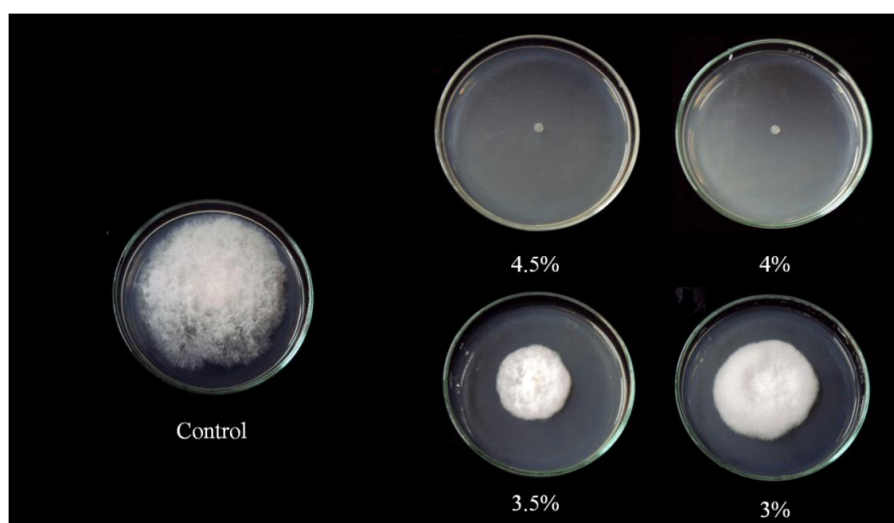
ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารสกัดจากออริกานาในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดสารสกัด	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา ¹			
	4.5%	4%	3.5%	3%
ออริกานา	100.00 a ²	100.00 a	47.11 b	31.78 c
F-test	***			
CV (%)	3.27			
LSD 0.05	1.86			

***= significant at $P < 0.01$

¹ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแถวเดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวนอน และแสดงว่าไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 18 ประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารสกัดจากออริกานา ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอลัดบรูดของฝังบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

1.3 การทดสอบไธราเฮยของผสมจากสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุตรในผึ้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮยของการผสมสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลโดยวัดโคโลนีของเชื้อรา จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค percent inhibition of radial growth (PIRG) พบว่าสารสกัดจากอบเชยกับสเปียร์มินท์ อบเชยกับตะไคร้ อบเชยกับเจอรานิยม และอบเชยกับพาลมาโรชา ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราในระดับสูงมาก (เกษม, 2532) ส่วนการผสมสารสกัดจาก สเปียร์มินท์กับตะไคร้ สเปียร์มินท์กับเจอรานิยม สเปียร์มินท์กับพาลมาโนชา เจอรานิยมกับตะไคร้ เจอรานิยมกับพาลมาโรชา พาลมาโรชากับตะไคร้ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยของเชื้อราอยู่ในช่วง 20.22-75.11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5; ภาพที่ 19)

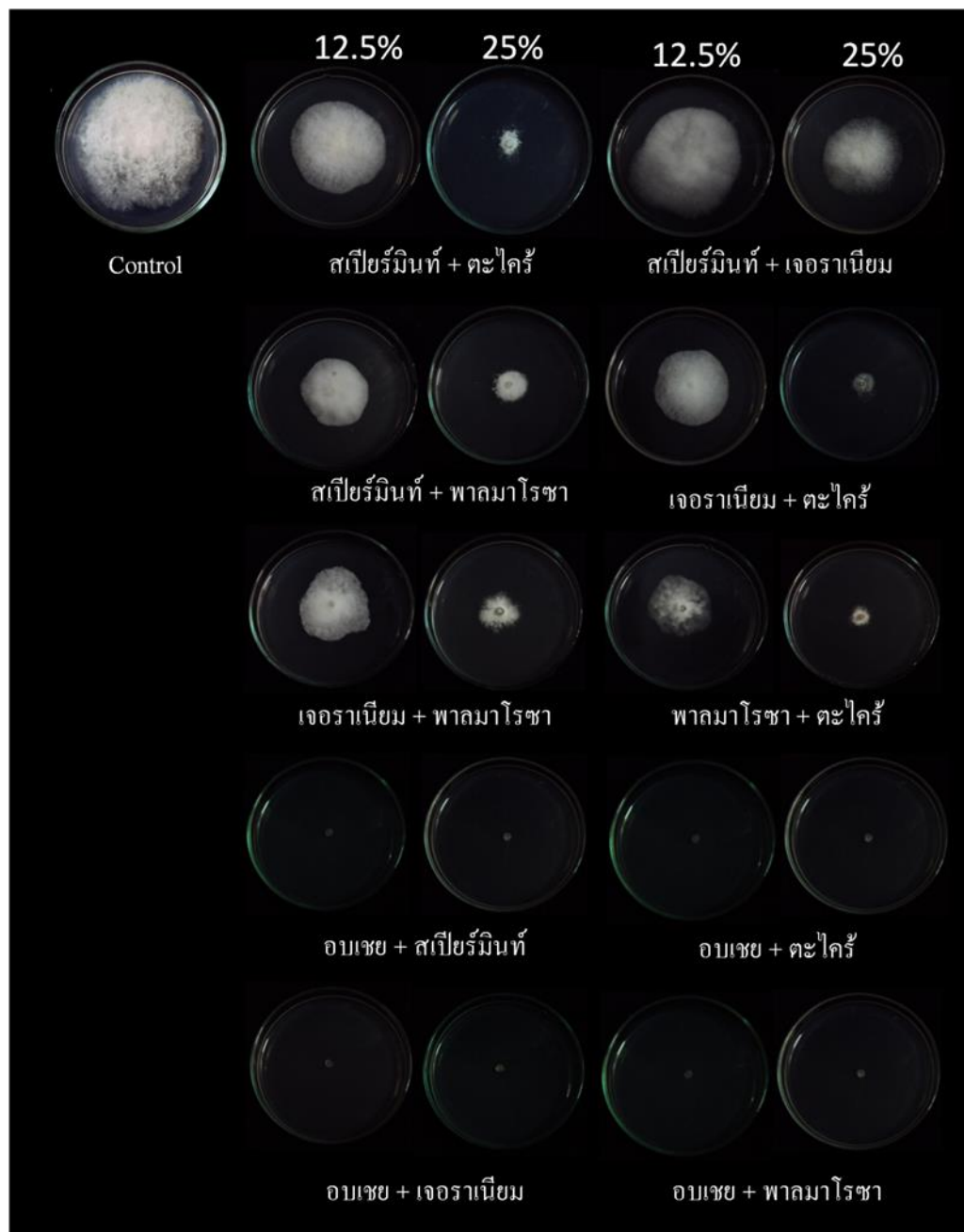
ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพไธระเหยของสารผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดสาร	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเชื้อรา ¹	
	25%	12.5%
สเปียร์มินท์ + เจอราเนียม	48.00 df	20.22 g ²
สเปียร์มินท์ + ตะไคร้	72.44 b	31.56 f
สเปียร์มินท์ + พาลมาโรซา	73.33 b	52.67 cd
เจอราเนียม + ตะไคร้	75.11 b	41.33 e
เจอราเนียม + พาลมาโรซา	70.89 b	46.67 de
พาลมาโรซา + ตะไคร้	72.89 b	61.56 c
อบเชย + สเปียร์มินท์	100.00 a	100.00 a
อบเชย + ตะไคร้	100.00 a	100.00 a
อบเชย + เจอราเนียม	100.00 a	100.00 a
อบเชย + พาลมาโรซา	100.00 a	100.00 a
F-test	***	
CV (%)	7.40	
LSD 0.05	4.43	

***= significant at $P < 0.01$

¹ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวนั่ง และแสดงว่าไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 19 ประสิทธิภาพของการไฮระเหยผสมจากสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคชอล์คขาวของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

1.4 การทดสอบไธราเหี้ยจากการผสมสารสกัดจากพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอส์คอบรูตในผึ้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของไธราเหี้ยจากพืช ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลโดยวัดโคโลนีของเชื้อรา จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค percent inhibition of radial growth (PIRG) พบว่าสารสกัดจากสเปียร์มินท์กับอบเชย ตะไคร้กับอบเชย พาลมาโรซากับอบเชย ความเข้มข้น 10% และอบเชย ความเข้มข้น 10 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00% ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราในระดับสูงมาก (เกษม , 2532) ส่วนการผสมสารสกัดเจอรานิยมกับอบเชย ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยของเชื้อราเท่ากับ 71.11 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 6; ภาพที่ 20, 21, 22, 23 และ 24)

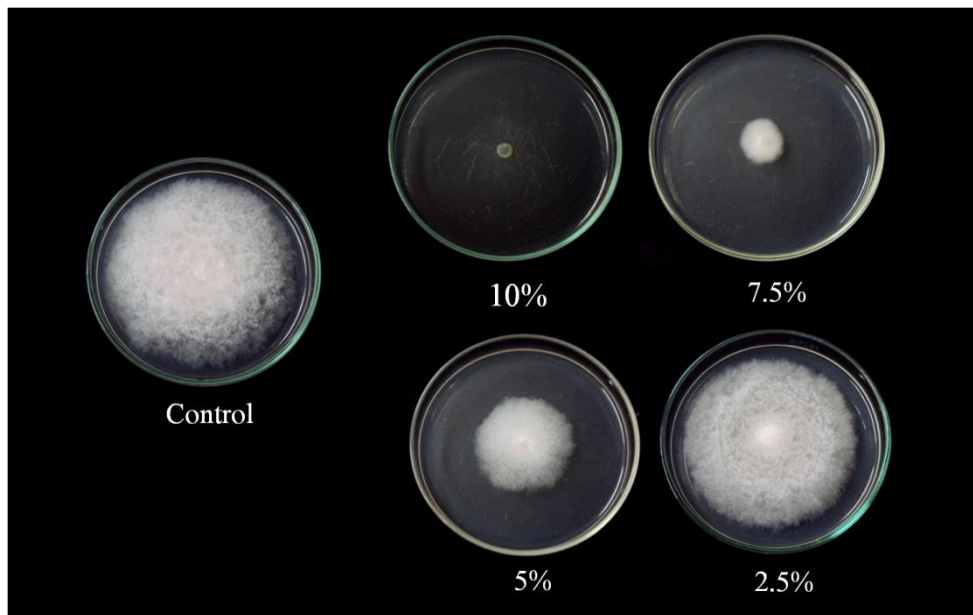
ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพไธราเหี้ยของสารผสมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดสาร	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ ¹			
	10%	7.5%	5%	2.5%
สเปียร์มินท์ + อบเชย	100.00 a ²	78.89 b	49.11 e	2.89 j
ตะไคร้ + อบเชย	100.00 a	35.78 gh	33.33 h	18.89 i
พาลมาโรซา + อบเชย	100.00 a	58.67 d	43.33 ef	8.44 j
เจอรานิยม + อบเชย	71.11 b	41.11 fg	33.56 h	17.56 i
อบเชย	100.00 a	100.00 a	58.67 d	36.67 fgh
F-test	***			
CV (%)	8.22			
LSD 0.05	3.65			

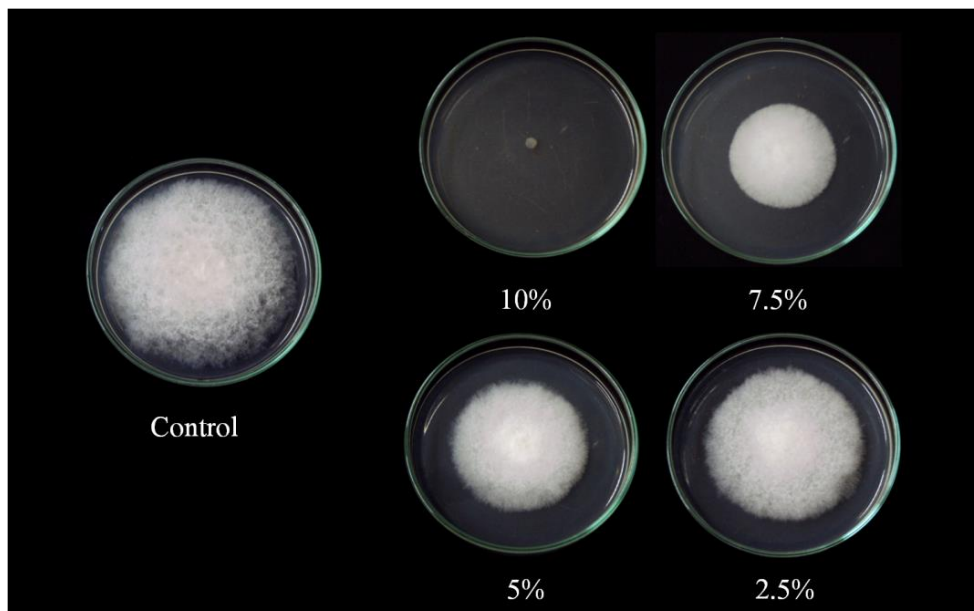
*** = significant at $P < 0.01$

¹ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

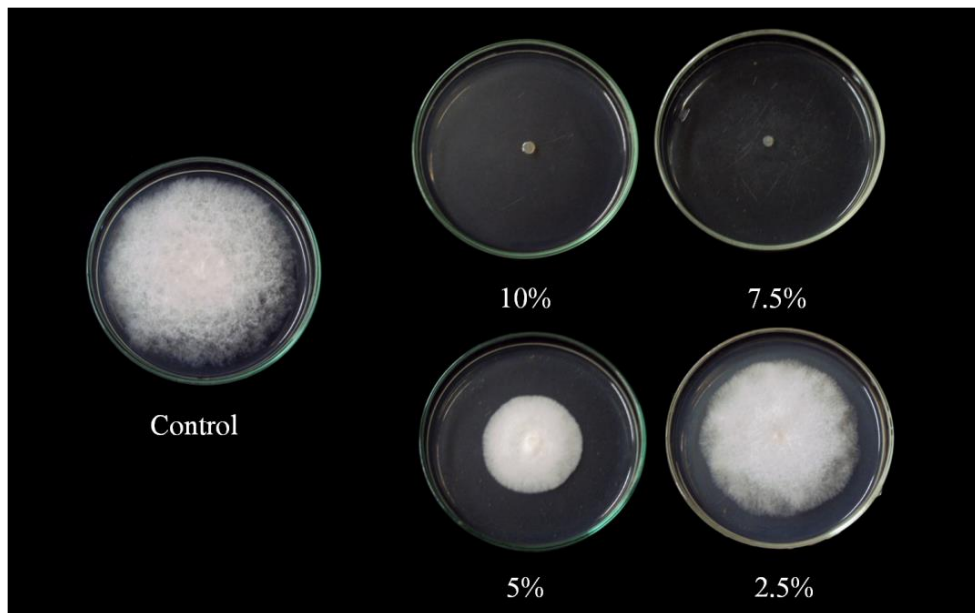
²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวดิ่ง และแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



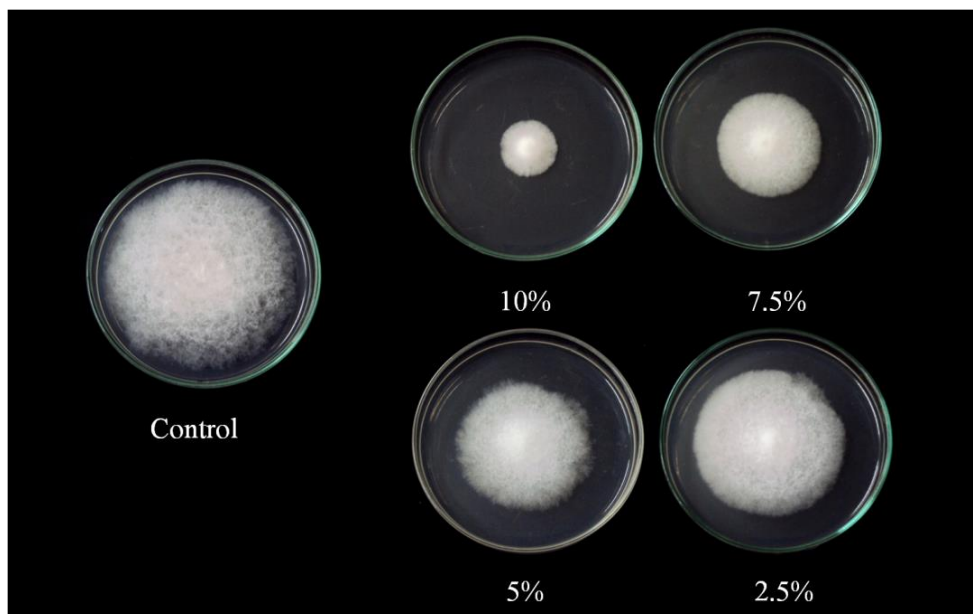
ภาพที่ 20 ประสิทธิภาพของไอระเหยของการผสมสารสเปียร์มินท์กับอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุรุดของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน



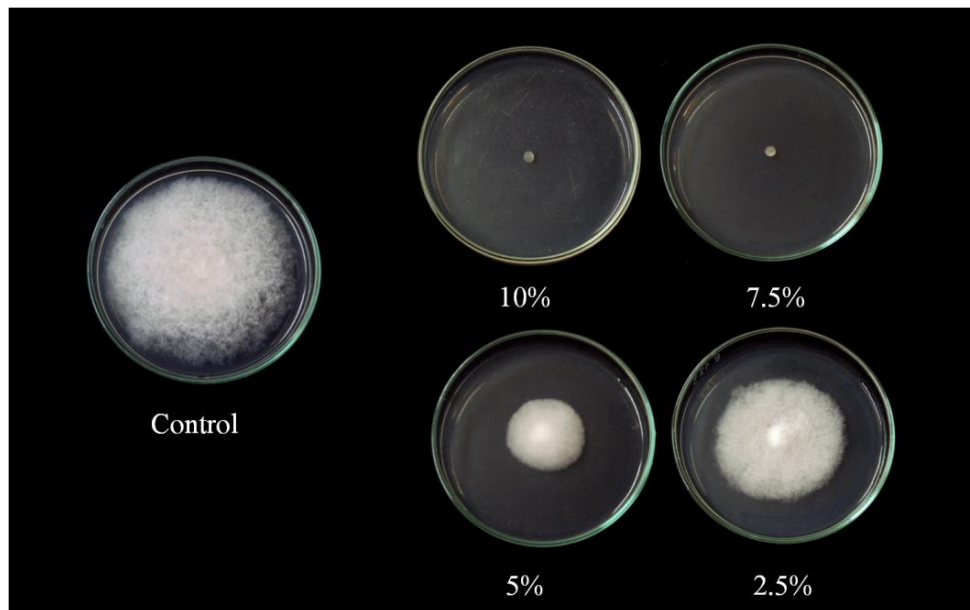
ภาพที่ 21 ประสิทธิภาพของไอระเหยของการผสมสารตะไคร้กับอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุรุดของผึ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 22 ประสิทธิภาพของไอระเหยของการผสมสารพาลมาโรซากับอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอส์คbruch ของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพของไอระเหยของการผสมสารเจอรานิยมกับอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอส์คbruch ของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

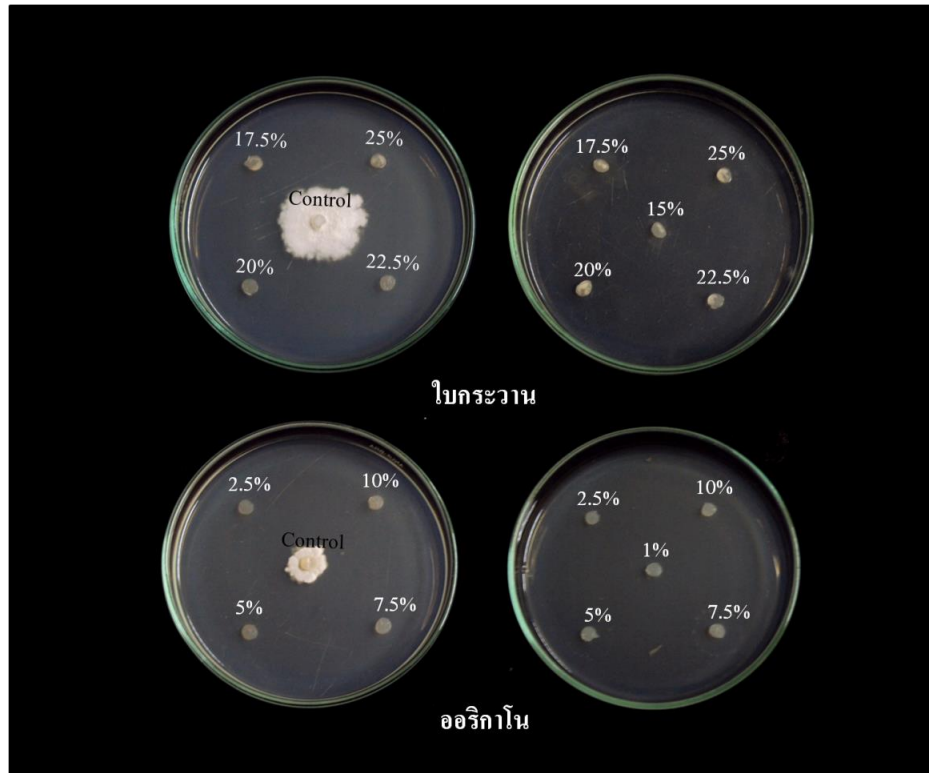


ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพของไอระเหยของอบเชย ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคซอสต์บรูดของฝรั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพการหยุดยั้งการควบคุมโรคซอสต์บรูดในฝรั่ง ภายในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบหยุดยั้งการเกิดจากพืชลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc)

ทดสอบประสิทธิภาพของการหยุดยั้งการเกิดจากใบกระวาน และออริกาโน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของฝรั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน พบว่าในการหยุดยั้งการเกิดจากใบกระวาน และออริกาโน ในแต่ละความเข้มข้น เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพของการหดยดสารสกัดไบกระวานและออริกาโน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน

2.2 การทดสอบหดยดสารสกัดจากออริกาโนลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc)

ทดสอบประสิทธิภาพของการหดยดสารสกัดจากออริกาโน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของฝั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน พบว่าในการหดยดสารออริกาโนความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราในระดับสูงมาก (เกษม, 2532) ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 9.44 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเข้มข้น 0.125 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ (ตารางที่ 7; ภาพที่ 26)

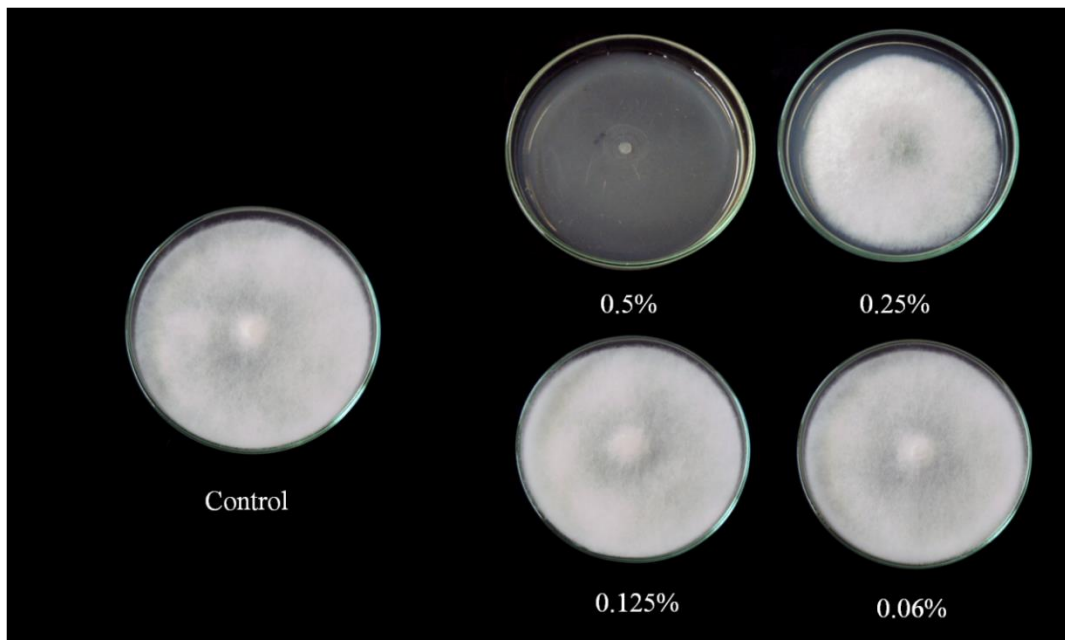
ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของการหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เป็นเวลา 7 วัน

ชนิดสารสกัด	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา			
	0.5%	0.25%	0.125%	0.06%
ออริกาโน	100.00 a	9.44 b	0 c	0 c
F-test	***			
CV (%)	6.65			
LSD 0.05	1.47			

*** = significant at $P < 0.01$

¹ ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแถวเดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวนอน และแสดงว่าไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 26 ประสิทธิภาพของการหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. niger* สาเหตุโรคซอส์คิบรูตของฝรั่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

2.3 การทดสอบการผสมสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ หยดลงบนชิ้นเชื้อราสาเหตุ (culture disc)

ทดสอบประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดจากออริกาโนกับตะไคร้ ออริกาโนกับพาลมาโรชา และออริกาโนกับใบกระวาน ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคของฝักรับประทานเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน พบว่าในการหยดสารออริกาโนกับตะไคร้ ความเข้มข้น 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ สารสกัดออริกาโนกับพาลมาโรชา ความเข้มข้น 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ ส่วนความเข้มข้น 2.5 และ 1.25 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ตรงบริเวณที่หยดสารลงไปเท่านั้น และสารสกัดออริกาโนกับใบกระวาน ในแต่ละความเข้มข้น สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ (ภาพที่ 27)



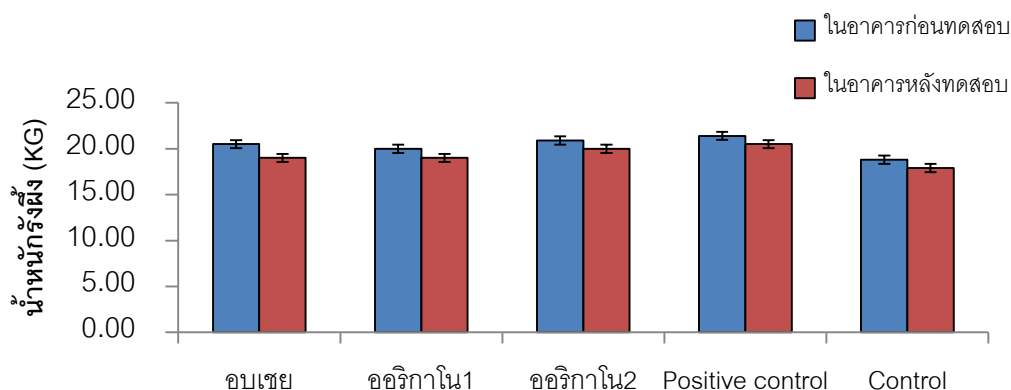
ภาพที่ 27 ประสิทธิภาพของการผสมสารสกัดหยดลงบนชิ้นเชื้อ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *A. apis* สาเหตุโรคขอล้คบุรุดของฝักรับประทานเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน

การทดลองที่ 3 ทดสอบไธเรหยาสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*)

3.1 ทดสอบไธเรหยาจากสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ (*A. mellifera*) ใน รังผึ้งแบบกลุ่มประชากร

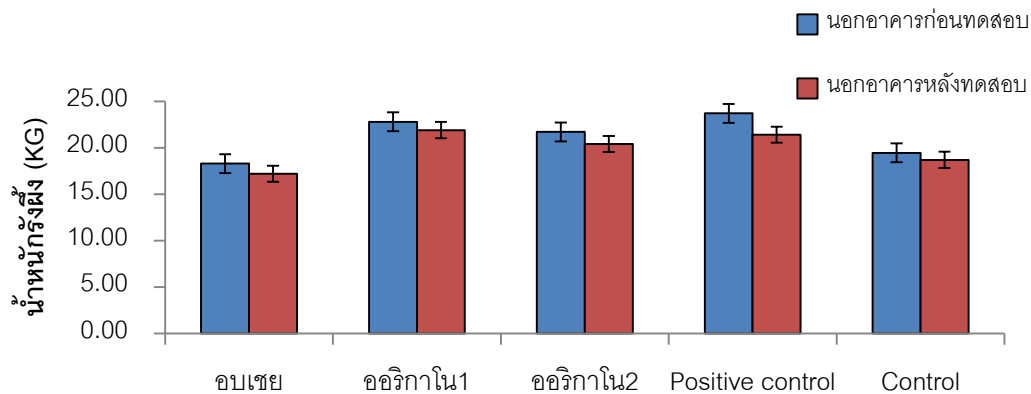
น้ำหนักรังผึ้ง

ผึ้งที่ตั้งไข่ภายในอาคาร หลังจากได้รับไธเรหยาพบว่า ทั้งชุดควบคุม และชุดทดสอบ มีน้ำหนักลดลง โดยชุดควบคุม และชุดที่ทดสอบกับตัวทำละลาย น้ำหนักลดลงอย่างละ 0.9 กิโลกรัม ส่วนชุดที่ทดสอบกับไธเรหยาจากอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 ลดลงอย่างละ 1.5, 1 และ 0.9 กิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของรังผึ้งที่ตั้งไข่ ก่อนทดสอบไธเรหยา (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 เปรียบเทียบน้ำหนักรังผึ้ง ก่อนทดสอบ กับหลังทดสอบไธเรหยา โดยวางรังผึ้งทดสอบไว้ในอาคาร

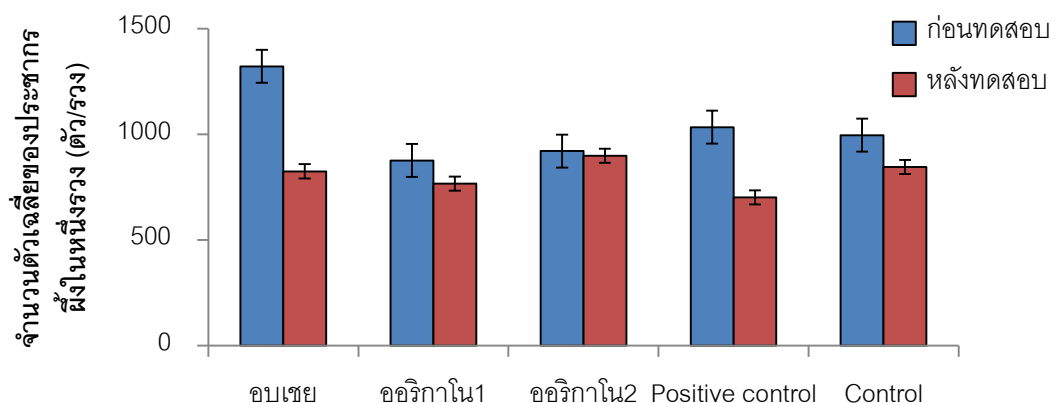
ขณะเดียวกันรังผึ้งที่ตั้งไข่นอกอาคาร พบว่ามีน้ำหนักลดลงเช่นกัน รวมทั้งชุดควบคุมก็ลดลงด้วย โดยชุดควบคุม และชุดทดสอบกับไธเรหยา ลดลง 0.75 และ 2.30 กิโลกรัม ตามลำดับ ทำนองเดียวกันชุดทดสอบไธเรหยาอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 เมื่อซึ่งหลังทดสอบกับไธเรหยาได้ 5 วัน มีน้ำหนักลดลงอย่างละ 1.10, 0.90 และ 1.30 กิโลกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 29)



ภาพที่ 29 เปรียบเทียบน้ำหนักถังผึ่ง ก่อนทดสอบ กับหลังทดสอบไธระเหย โดยวางถังผึ่งทดสอบไว้ในนอกอาคาร

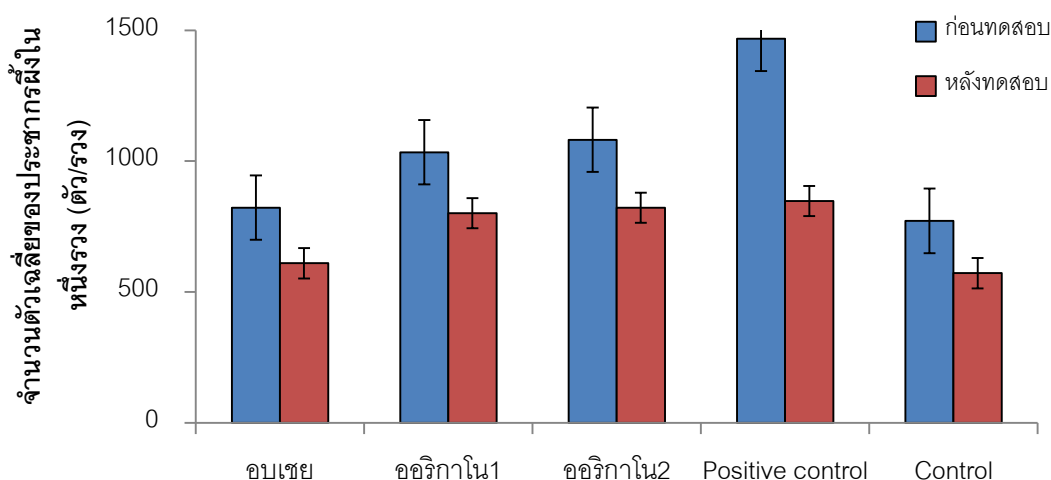
จำนวนประชากรผึ่งหลังการทดสอบไธระเหย

การทดสอบภายในอาคาร หลังจากทดสอบสาร พบว่ามีจำนวนลดลง เหลือต่อรวง ดังนี้ รังที่ทดสอบกับไธระเหยจากอบเชย มีจำนวนประชากรลดลง เท่ากับ 497 ตัวต่อรวง ส่วนรังที่ทดสอบกับไธระเหยจากออริกาโน1 จำนวนประชากรลดลง เท่ากับ 109 ตัวต่อรวง ขณะที่รังที่ทดสอบกับไธระเหยจากออริกาโน2 จำนวนประชากรลดลง เท่ากับ 22 ตัวต่อรวง ทำนองเดียวกันชุดควบคุม (รังผึ่งที่ไม่ได้รับสาร) และชุดที่ทดสอบกับตัวทำลาย จำนวนประชากรผึ่งลดลง เท่ากับ 150 และ 332 ตัวต่อรัง ตามลำดับ (ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 จำนวนประชากรต่อรวงผึ่งภายในรังผึ่งก่อนทดสอบกับไธระเหยเปรียบเทียบกับจำนวนประชากรที่ได้รับไธระเหย ทดสอบภายในอาคาร

ทำนองเดียวกันชุดที่ทดสอบภายนอกอาคาร พบว่าจำนวนประชากรต่อรวงลดลงเช่นกัน ดังนี้ ชุดควบคุม และชุดที่ทดสอบกับตัวทำละลาย (ethyl acetate) จำนวนประชากรฝัINGLEดลง เท่ากับ 199 และ 620 ตัวต่อรัง ตามลำดับ เช่นเดียวกับชุดทดสอบไธระเหยจากอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 พบประชากรฝINGLEดลงเท่ากับ 212, 232 และ 259 ตัวต่อรวง ตามลำดับ (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 จำนวนประชากรต่อรวงฝINGLEภายในรังฝINGLEก่อนทดสอบกับไธระเหยเปรียบเทียบกับจำนวนประชากรที่ได้รับไธระเหย ทดสอบภายนอกอาคาร

น้ำหนักของรังฝINGLEอาจมีผลคลาดเคลื่อนเนื่องจากสภาพอากาศ ขณะทดสอบนั้นมีความแปรปรวน บางวันฝนตก ทำให้ความชื้นในชั้นบรรยากาศสูง ส่งผลต่อรังฝINGLEซึ่งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น บางวันอากาศร้อน ความชื้นต่ำ ทำให้รังที่ชั่งได้มีน้ำหนักน้อยลง หรืออาจมีสาเหตุมาจากการหมดอายุขัยของฝINGLE ทำให้มีจำนวนลดลง ส่งผลให้น้ำหนักของรังลดลงด้วย

จำนวนประชากรต่อรวง บางทีจำนวนประชากรฝINGLEลดลง อาจมีสาเหตุมาจากการหมดอายุขัย และประชากรฝINGLEไปดูแลตัวอ่อน ทำความสะอาดรวง ในรวงอื่นๆ เป็นต้น ดังนั้นการทดสอบพฤติกรรมกับรังฝINGLEในสภาพลานเลี้ยงฝINGLE ไม่สามารถทราบถึงพฤติกรรม การตอบสนองของฝINGLEที่มีต่อไธระเหย ถ้าทำรังสังเกตการณ์ อาจเห็นผลได้ชัดเจนมากขึ้น

3.2 ทดสอบไธเรเฮยสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ในหลอดทดลองแบบตัวต่อตัว ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้ง กับพฤติกรรมการตอบสนองต่อไธเรเฮย

จากตารางที่ 8 ไธเรเฮยจากสารสกัดของอบเชย พบว่า เวลาผ่านไป 30 นาทีแรก ผึ้งมีอาการกระวนกระวาย วิ่งรอบบริเวณหลอดทดลอง จากนั้นมีอาการมึนงง สับสน ทรงตัวไม่อยู่ มีอาการชักตามอวัยวะส่วนขา จากนั้นอ่อนแรง หยุดนิ่งอยู่กับที่คล้ายเป็นอาการของอัมพาต แต่ระบบหายใจยังทำงาน จากนั้นระบบหายใจล้มเหลว ภายในระยะเวลา 2 ชั่วโมง

ขณะที่ไธเรเฮยจากสารสกัดสมุนไพรออริกานู 1 พบว่า 1 ชั่วโมงแรก ผึ้งมีอาการกระวนกระวาย วิ่งรอบบริเวณหลอดทดลองเช่นเดียวกับไธเรเฮยจากสารสกัดของอบเชย แต่มีการกระพือปีกอย่างรุนแรง และมีการชักกระตุกของกล้ามเนื้ออวัยวะส่วนขา จากนั้นผ่านไปชั่วโมงที่ 5 อวัยวะส่วนขาอ่อนแรง หยุดนิ่งอยู่กับที่ ระบบหายใจล้มเหลว

ส่วนไธเรเฮยจากสารสกัดสมุนไพรออริกานู 2 พบว่า ผึ้งเริ่มแสดงอาการกระวนกระวาย ไม่อยู่กับที่ เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง ตัวผึ้งมีอาการมึนงง ทรงตัวไม่อยู่ มีอาการชักของกล้ามเนื้อส่วนขา จากนั้นหยุดนิ่งอยู่กับที่ เคลื่อนที่ไม่ได้ แต่อวัยวะต่าง ๆ ยังเคลื่อนไหวได้ จากนั้นประมาณชั่วโมงที่ 4 ระบบหายใจล้มเหลว

ตารางที่ 8 ระยะเวลาของการตอบสนองของผึ้งพันธุ์ที่มีต่อไธเรเฮย 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

ไธเรเฮยของสารสมุนไพร	ช่วงเวลา (ชั่วโมง)	แสดงการตอบสนอง (เปอร์เซ็นต์)
อบเชย	2.00	100
ออริกานู 1	5.00	25
ออริกานู 2	4 .00	50
Positive control (PC)	> 24	–
ชุดควบคุม	> 24	–

ขณะที่การทดสอบด้วยตัวทำลายไม่มีผลต่อพฤติกรรม และการตายของผึ้ง และพบว่าผึ้งอยู่รอดนานกว่า 24 ชั่วโมง จนถึง 5 วัน เช่นเดียวกับชุดควบคุม การตายของผึ้งภายในระยะเวลาอันรวดเร็วทั้งนี้อาจเกิดจากความเข้มข้น และปริมาณของสารไธราเฮยที่ใช้ทดสอบ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้น และปริมาณลง โดยเปรียบเทียบกับ การทดสอบไธราเฮยจากสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ในหลอดทดลองแบบตัวต่อตัว ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ว่าให้ผลเหมือนกัน หรือแตกต่างกัน

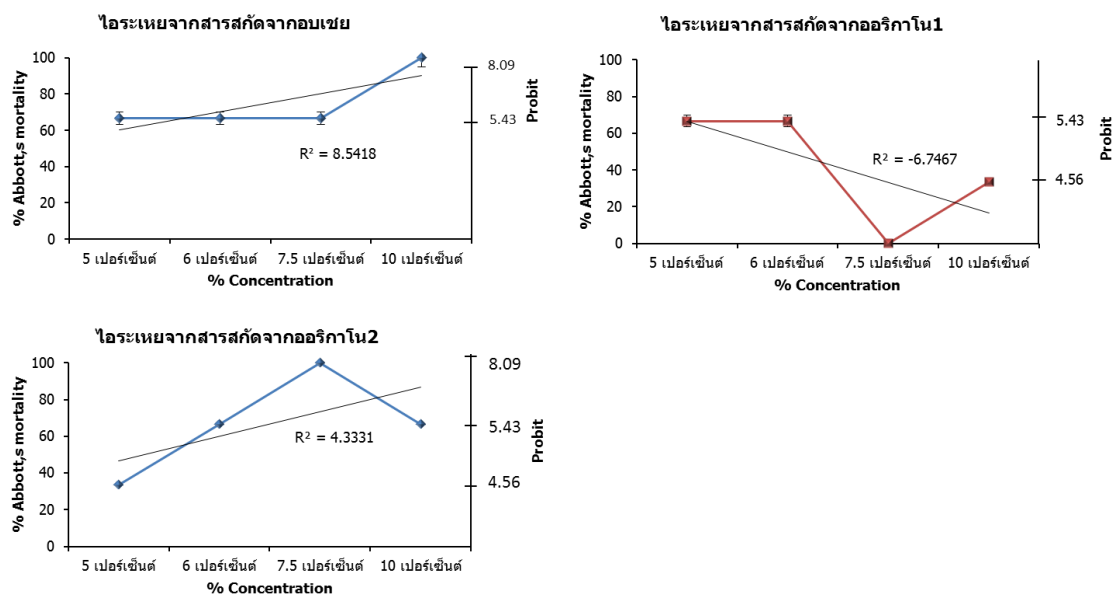
3.3 การลดปริมาณ และความเข้มข้นของไธราเฮยจากสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์แบบตัวต่อตัว

เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งพันธุ์หลังจากได้รับสาร

หลังจากได้รับไธราเฮยจากสารสกัดอบเชยเป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มข้นที่ 5, 6 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ผึ้งที่ทดสอบตายคิดเป็น 66.66 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ความเข้มข้น 10% ทำให้ผึ้งที่ทดสอบตายมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 32)

ส่วนไธราเฮยจากออริกาโน1 พบว่าที่ความเข้มข้น 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ผึ้งที่ทดสอบตายคิดเป็น 66.66 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ความเข้มข้น 7.5 ไม่มีผลต่อปฏิกิริยาใดๆ ของผึ้ง โดยผึ้งไม่มีปฏิกิริยาการตอบสนอง แม้แต่อาการตื่นเต้น กระวนกระวาย หรืออาการชักกระตุกแต่อย่างใด และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ผึ้งตาย 33.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 32)

พบความแตกต่างในการทดลองของไธราเฮยจากสารสกัดออริกาโน1 และ 2 เป็นสมุนไพรชนิดเดียวกัน แต่แหล่งที่มาต่างกัน โดยพบว่าไธราเฮยจากสารสกัดสมุนไพรออริกาโน2 ที่ความเข้มข้น 5, 6 และ 7 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ผึ้งตายเมื่อได้รับสาร 33.33, 66.66 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผึ้งตาย 66.66 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 32) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปัจจัยอื่น ๆ มาเกี่ยวข้องกับการทดลองในครั้งนี้เช่น ความสมบูรณ์ของร่างกายผึ้งซึ่งอาจมีความแตกต่างกัน อายุของผึ้ง ความสามารถในการปรับสภาพให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของผึ้ง เป็นต้น



ภาพที่ 32 ผลความเป็นพิษในรูปเปอร์เซ็นต์การตาย และค่าโพรบิท (Probit) ของไอระเหยจากอบเชย ออริกาน1 และออริกาน2 ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งในเวลา 5 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารที่ให้กับสัตว์ทดลอง แล้วทำให้ผึ้งตายร้อยละ 50

จากการคำนวณความเข้มข้นของสารในรูปแบบไอระเหยจากสารสกัดอบเชยที่ทำให้ผึ้งตายร้อยละ 50 (LC_{50}) เวลาที่ 5 ชั่วโมงของผึ้ง มีค่าเท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้นของสาร ส่วนไอระเหยจากออริกาน1 พบว่า ค่า LC_{50} เวลาที่ 5 ชั่วโมงของผึ้ง ต้องเพิ่มความเข้มข้นมากถึง 142 เปอร์เซ็นต์ ถึงจะทำให้ผึ้งที่ใช้ทดสอบตายร้อยละ 50 ขณะที่ไอระเหยจากสารสกัดสมุนไพรออริกาน2 พบว่า ค่า LC_{50} ที่ทำให้ผึ้งตายร้อยละ 50 ในเวลาที่ 5 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 แสดงการคำนวณค่า LC_{50} เวลาที่ 5 ชั่วโมง

ข้อมูลสาร	ความเข้มข้น	log	n=3	%การตาย	%abbott's mortality		probit mortality	XY=log*Probit	SUMXY	SUMX	SUMY	Ssxy	SSxx	SSyy	slop=SSXY/SSX X	Intercept=(Y-) -slop*(X-)	r^2 /
					abbott's mortality	*100											
อบเชย	5 %	0.70	2	66.67	0.67	66.67	5.43	3.79	20.85	3.35	24.37	0.43	0.05	146.38	8.54	4.59	
	6 %	0.78	2	66.67	0.67	66.67	5.43	4.22									
	7.5 %	0.88	2	66.67	0. 67	66.67	5.43	4.75									
	10 %	1.00	3	100	1	100	8.09	8.09									
ออริกาโน1	5 %	0.70	2	66.67	0. 67	66.67	5.43	3.79	12.57	3.35	15.41	-0.34	0.05	72.29	-6.75	5.03	
	6 %	0.78	2	66.67	0. 67	66.67	5.43	4.22									
	7.5 %	0.88	0	0	0	0	0.00	0									
	10 %	1.00	1	33.33	0. 33	33.33	4.56	4.56									
ออริกาโน2	5 %	0.70	1	33.33	0. 33	33.33	4.56	3.19	19.91	3.35	23.50	0.22	0.0	139.90	4.33	5.12	
	6 %	0.78	2	66.67	0. 67	66.67	5.43	4.22									
	7.5 %	0.88	3	100	1	100	8.09	7.08									
	10 %	1.00	2	66.67	0. 67	66.67	5.43	5.43									

พฤติกรรมตอบสนองของผึ้งหลังจากได้รับสารที่อยู่ในรูปแบบไธราเฮนในหลอดทดลอง

ในเวลา 5 ชั่วโมง ชูดทดสอบ กับ Positive control ยังไม่พบการตายของผึ้ง ขณะที่ชูดทดสอบไธราเฮนจากอบเชยที่ ผึ้งมีปฏิกิริยาตอบสนองโดยแสดงอาการกระวนกระวาย และอาการชักตามอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย ได้แก่ อวัยวะส่วนขา จากนั้นผ่านไป 30 นาที หยุดนิ่งอยู่กับที่แต่มีการเคลื่อนไหวของอวัยวะส่วนขา และหนวดเล็กน้อย และตายลง โดยใช้เวลาประมาณ 1.30 – 3 ชั่วโมง (ตารางที่ 10)

ในขณะที่ผึ้งพันธุ์ที่ได้รับไธราเฮนจากออริกาโน 1 เริ่มแรกพบอาการชักกระตุกในส่วนองศา จากนั้นผึ้งมีพฤติกรรมกระพือปีกอย่างรุนแรง แต่อวัยวะส่วนปีกไม่ประสานกัน เกิดอาการอ่อนแรง หยุดนิ่งอยู่กับที่ จากนั้นระบบหายใจล้มเหลว (ตารางที่ 10)

ส่วนไธราเฮนจากออริกาโน 2 พบว่าผึ้งมีอาการมึนงง ทรงตัวไม่อยู่ กระวนกระวายเหมือนอาการตื่นเต้น ไม่อยู่กับที่ จากนั้นมีอาการชักของกล้ามเนื้อส่วนขา ทำให้อวัยวะไม่สัมพันธ์กัน จากนั้นหยุดนิ่งอยู่กับที่ เคลื่อนที่ไม่ได้ อวัยวะต่างยังคงเคลื่อนไหวได้ ระบบหายใจเริ่มอ่อนแรง และระบบหายใจล้มเหลว (ตารางที่ 10)

นอกจากนั้นพบคราบสีเหลืองคล้ายมูลปนกับซากผึ้งที่ตาย แต่เป็นบางชุดตัวอย่าง ในกรณีนี้ชี้ชัดไม่ได้ว่าคราบดังกล่าวมีสาเหตุมาจากไธราเฮน ดังนั้นจึงทำการทดสอบอีกครั้งในงานทดลองที่ 3



ภาพที่ 33 คราบสีเหลืองที่พบในซากผึ้งที่ตาย หลังจากได้รับสารในหลอดทดลอง

ตารางที่ 10 บันทึกพฤติกรรมของผลการทดสอบไอร่ะเหยกับผึ้ง

[illegible]

ตารางที่ 10 บันทึกพฤติกรรมของผลการทดสอบไอระเหยกับผึ้ง (ต่อ)

[illegible]

3.4 ทดสอบไธเรหะจากพืช 3 ชนิด กับกลุ่มตัวอย่างผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ในกล่องทดลอง

พฤติกรรมของผึ้งหลังจากทดสอบไธเรหะ

ชุดทดสอบไธเรหะจากอบเชยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ยังไม่มีปฏิกิริยาแสดงการกระวนกระวาย จนกระทั่งชั่วโมงที่ 64 พบว่าผึ้งมีอาการชาอ่อนแรง หยุดนิ่งอยู่กับที่ ส่วนชุดทดสอบไธเรหะจากอบเชยที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาเร็วกว่า โดยพบการตอบสนองดังกล่าวในชั่วโมงที่ 40

ผึ้งพันธุ์ที่ได้รับไธเรหะจากออริกาโน 1 ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ อวัยวะส่วนขาของ ผึ้งอ่อนแรง หยุดนิ่งอยู่กับที่ ระบบหายใจล้มเหลว ในชั่วโมงที่ 16 ขณะที่ไธเรหะจากออริกาโน 1 ที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาเร็วกว่าโดยใช้เวลา 8 ชั่วโมง

เมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง ไธเรหะจากออริกาโน 2 ที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ผึ้งมีอาการมึนงง ทรงตัวไม่อยู่ มีอาการชักของกล้ามเนื้อส่วนขา ทำให้อวัยวะไม่สัมพันธ์กัน จากนั้น หยุดนิ่งอยู่กับที่ เคลื่อนที่ไม่ได้ อวัยวะต่างๆ ยังเคลื่อนไหวได้ ระบบหายใจเริ่มอ่อนแรง และระบบหายใจล้มเหลว ขณะที่ไธเรหะจากออริกาโน 2 ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นอาการดังกล่าวเมื่อเวลาผ่านไป 16 ชั่วโมง

จากการทดลองที่ 2 พบคราบสีเหลืองเปื้อนปนกับซากผึ้งที่ตายแล้วในหลอดทดลอง และพบลักษณะดังกล่าวในการทดลองที่ 3 นี้ด้วย ทั้งนี้ชุดควบคุมก็พบคราบสีเหลืองด้วยเช่นกัน คณะผู้วิจัยจึงสันนิษฐานว่าเกิดจากการขับถ่ายกากอาหารที่กินเข้าไป ซึ่งเป็นปกติที่ผึ้งมีการขับถ่ายทุกวัน (ภาพที่ 34)



ภาพที่ 34 คราบสีเหลืองที่สันนิษฐานว่าเป็นมูลที่ด้งขับถ่ายออกจากร่างกาย

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยสะสมของจำนวนตัวตายเมื่อทดสอบกับไอร์เหยจากสารสกัดจากพืชในเวลาที่ 72 ชั่วโมง

ชื่อสาร	ความเข้มข้น ของสาร	จำนวนผึ้งที่ทดสอบ (ตัว)	ค่าเฉลี่ยสะสมของจำนวนตัวตาย ¹ (ตัว)
อบเชย	5	10	1.67 d ²
	7.5	10	2.00 cd
ออริกานาโน1	5	10	3.00 ab
	7.5	10	4.67 ab
ออริกานาโน 2	5	10	5.00 ab
	7.5	10	9.33 a
F-test			**
CV (%)			27.78
LSD 0.05			0.0033

**= significant at $P < 0.01$

¹ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน โดยอักษรตัวเล็กวิเคราะห์ในแนวดิ่ง และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนแผนการทดลองแบบ RCBD พบว่า ชุดทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P\text{-value} = 0.0033$) ดังนั้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และ PC สารในรูปไอระเหยที่ทำให้ผึ้งตายเร็วที่สุดคือ ออริกาโน 2 ที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 3 สาร คือ ออริกาโน 2 ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และยังพบไอระเหยออริกาโน1 ที่ความเข้มข้น 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนเท่ากับ 27.78 (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวตายทั้งหมดหลังจากทดสอบกับไอระเหยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ชื่อสาร	ความเข้มข้น ของสาร	จำนวนทั้งหมด (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย		
			24	48	72
อบเชย	5	10	3.41	11.11	19.00
	7.5	10	3.41	11.11	14.29
ออริกาโน1	5	10	20.68	22.22	23.86
	7.5	10	6.93	22.22	28.57
ออริกาโน2	5	10	10.34	22.22	28.57
	7.5	10	37.95	70.33	90.43
Positive control (PC)	0	10	6.93	11.11	14.29
ชุดควบคุม	0	10	0.00	0.00	0.00

เปอร์เซ็นต์การตายของผึ้งหลังจากทดสอบไอระเหยจากสารสกัดจากพืช

จากการทดสอบไอระเหยที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ออริกาโน2 ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการตายของผึ้งมากที่สุด โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 38, 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา คือ ออริกาโน2 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผึ้งตายเท่ากับ 10, 22 และ 29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อันดับสามคือ ออริกาโน 1 ที่ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการตายของผึ้งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 7, 22 และ 29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และออริกาโน 1 ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการตายของผึ้งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 21, 22 และ 24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไอระเหยจากอบเชยทั้งสองความเข้มข้นมีผลต่อการตายของผลน้อยที่สุด (ตารางที่ 12)

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮยสารสกัดจากพืช จำนวน 32 ชนิด พบสาร 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจาก ตะไคร้หอม ใบกระวานอินเดีย พาลมาโรชา และออริกาโน ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Ascosphaera apis* ได้สูงสุด ที่ความเข้มข้น 25 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยอยู่ในช่วง 51.11 – 76.48 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการทดสอบไธราเฮยจากสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวอีกครั้ง โดยทำการวางเชื้อสาเหตพร้อมกับให้ไธราเฮย และการหยดสารสกัดไปพร้อมกัน พบผลการทดสอบในสารสกัดจากออริกาโนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้มากที่สุด

ขณะที่การทดสอบประสิทธิภาพของไธราเฮยจากสารออริกาโน เพื่อหาระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไธราเฮยจากสารออริกาโนที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ พบว่าสารสกัดจากออริกาโนความเข้มข้น 4.5 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบไธราเฮยของสารผสมสารสกัดจากพืชต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา พบว่าสารสกัดจากอบเชยกับสเปียร์มินท์ อบเชยกับตะไคร้ อบเชยกับเจอรานิยม และอบเชยกับพาลมาโรชา ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบหาระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้พบว่ามีสารสกัดจากสเปียร์มินท์กับอบเชย ตะไคร้กับอบเชย พาลมาโรชากับอบเชย ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และอบเชย ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดออริกาโน ลงบนเชื้อเชื้อราสาเหตุ ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Ascosphaera apis* สาเหตุโรคซอสต์ครูดของผึ้ง พบว่าในการหยดสารออริกาโนความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุได้สูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบไธราเฮยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด กับผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ในรังผึ้งแบบกลุ่มประชากร ไม่พบปฏิกิริยาการตอบสนองของผึ้งหลังจากได้ทดสอบกับไธราเฮย 30 นาที เนื่องจากเป็นการทดสอบในสภาพรังผึ้งจริงเกิดความแปรปรวนของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ เกิดการตายที่มาจากอายุขัยของผึ้ง สภาพบริเวณทดสอบที่มีศัตรูผึ้งรบกวน (มด และ ต่อ) การขาดแคลนของแหล่งอาหาร (น้ำหวาน และ เกสรดอกไม้) ตลอดจนปัจจัยความผันแปรของสภาพ

ภูมิอากาศ ได้แก่ ด้านอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในชั้นบรรยากาศมีความแปรปรวนเนื่องจากบางวันอากาศร้อนจัด บางวันฝนตก เป็นเหตุให้จำนวนประชากรผึ้ง และน้ำหนักของรังผึ้งลดลง ดังนั้นการทดสอบในสภาพจริงไม่เห็นผลเท่าที่ควร

ขณะที่การทดสอบไธราเฮยในห้องปฏิบัติการกับผึ้งทดสอบ โดยทำการทดสอบสารไธราเฮยของสารสกัดจากพืช 3 ชนิด โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดสอบพบไธราเฮยจากอบเชยมีผลทำให้ตัวอย่างผึ้งตายเร็วที่สุด ต่อมาการทดสอบกับไธราเฮยจากออริกาโน1 และ ออริกาโน2 ทำให้ผึ้งตายตามลำดับ สารทดสอบเหล่านี้มีผลทำให้ผึ้งเกิดอาการตื่นเต้น วิ่งรอบบริเวณหลอดทดลอง จากนั้นทรงตัวไม่อยู่ และมีการชักตามอวัยวะส่วนขา จากนั้นหยุดนิ่งอยู่กับที่คล้ายอาการเป็นอัมพาต ทั้งนี้อาจเกิดพื้นที่ภายในสภาพของหลอดทดลองมีสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของผึ้ง เนื่องจากความเข้มข้น และปริมาณของสารไธราเฮยที่ใช้ทดสอบ มีมากเกินไปผึ้งรับได้ จากการคำนวณค่า LC_{50} เวลาที่ 5 ชั่วโมงของผึ้ง ไธราเฮยจากอบเชย ออริกาโน1 และออริกาโน2 มีค่าเท่ากับ 85, 142 และ 55 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แสดงความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบในครั้งนี้นี้ยังมีความปลอดภัยต่อผึ้ง ขณะที่ลดความเข้มข้นของชุดทดสอบลง สรุปได้ว่า สารสกัดไธราเฮยจากอบเชยทั้งสองความเข้มข้น (7.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์) สามารถนำไปใช้ยับยั้งเชื้อราโรคซอล์คอบรูตได้ดี เนื่องจากไม่มีผลต่อการตายประชากรผึ้งที่ใช้ทดสอบในห้องปฏิบัติการ

จากการพบคราบมูลเปื้อนบริเวณใกล้กับซากผึ้งที่ตายในแต่ละชุดทดสอบ รวมทั้งชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเกิดจากการถ่ายมูลในชีวิตประจำวันของผึ้ง ซึ่งเป็นเรื่องปกติของชีวิตผึ้ง ดังนั้นคราบสีเหลืองที่พบนั้นไม่ใช่สาเหตุการตายที่มาจากการทดสอบไธราเฮยจากพืชทั้ง 3 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

- เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.
- ทิตติยา จิตติहरษา, ปารวี กุ่มฉัตร, วริยาพร ปานเกษม, เอกพันธ์ บางยี่ขัน และฐิติรัตน์ พรประยุทธ. 2540. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชและสารปฏิชีวนะบางชนิดต่อการเจริญของเส้นใยรา *Ascosphaera apis* สาเหตุของโรคซอส์คอบรูตในผึ้งพันธุ์. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://it.doe.go.th/journal/php/detail.php?id=428> (4 ธันวาคม 2554).
- เบญจมาศ เขตรดง และ ปรัชญากร ชูตระกูล. 2553. ปัญหาพิเศษ; ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา โหระพา ตะไคร้หอมและแมงลักในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520. 44 หน้า.
- ภาณุวรรณ จันทวรรณกูร, สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, ธงชัย ปุชนียจันทรานนท์ และมธุรส ชัยหาญ. 2547.โครงการการศึกษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียและเชื้อราในผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) และผึ้งโพรง (*Apis cerana*) และการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการบำบัด. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ. 120 หน้า.
- ศิริรัตน์ มั่นกุ่ม. 2555. ผลของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อรา *Ascosphaera apis* สาเหตุโรคซอส์คอบรูตในผึ้งพันธุ์. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 65 หน้า.
- สุรัช เตชะอ้าย. 2549. การแยกบริสุทธิ์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อต้านโรคซอส์คอบรูตในตัวอ่อนผึ้ง. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 128 หน้า.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265–267.
- Alankar S. 2009. A review on peppermint oil. *Asian. J. Pharm. Clin. Res.* 2: 27–33.

- Alitonou, G. A., J.-P. Noudogbessi, P. Sessou, A. Tonouhewa, F. Avlessi, C. Menut and D. C. K. Sohounhloue. 2012. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Pimenta racemosa* (Mill.) J. W. Moore. from Benin. *Int. J. Biosci.* 2: 1–12.
- Aronstein, K. and G. Hayes. 2004. Antimicrobial activity of allicin against honeybee pathogens. *J. Apicult. Res.* 43, 57–59.
- Aronstein, K. A. and K. D. Murray. 2010. Chalkbrood disease in honey bees. *J. Invertebr. Pathol.* 103: 20–29.
- Bailac, P. N., L. Gende., A. Gascon., R. Fritz., M. I. Ponzi., and M. Eguaras. 2006. Control of *Ascosphaera apis* and *Paenibacillus larvae* subsp. larvae by the use of essential oils for obtaining beehive products without toxic residues. *I.D.E.C.E.F.Y.N.* 11: 1–2.
- Bhat, S., P. Kaushal, M. Kaur and H. K. Sharma. 2013. Coriander (*Coriandrum sativum* L.): Processing, nutritional and functional aspects. *Afr. J. Plant Sci.* 8: 25–33.
- Bigos, M., M. Wasiela, D. Kalemba and M. Sienkiewicz. 2012. Antimicrobial activity of geranium oil against clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *Molecules.* 17: 10276–10291.
- Boniface, Y., S. Philippe, H. R. Lima, N. J. Pierre, A. G. Alain, T. Fatiou and S. Dominique. 2012. Chemical composition and antimicrobial activities of *Cinnamomum zeylanicum* Blume dry leaves essential oil against Food-borne pathogens and adulterated microorganisms. *I. Res. J. Biological Sci.* 1: 18–25.
- Boutekedjiret, C., F. Bentahar, R. Belabbes and J. M. Bessiere. 2003. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J.* 18: 481–484.
- Bua-in, S. and Y. Paisooksantivatana. 2009. Essential oil and antioxidant activity of Cassumunar Ginger (Zingiberaceae: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.) collected from various parts of Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.).* 43: 467 – 475.

- Budiadi Ishii, H.T., S. Sunarto and Y. Kanazawa, 2005. Variation in kayu putih (*Melaleuca leucadendron* Linn) oil quality under different farming systems in Java, Indonesia. *Eurasian J. For. Res.* 8: 15–20.
- Cavanagh, H. M. A. and J. M. Wilkinson. 2002. Biological activities of lavender essential oil. *Phytother. Res.* 16: 301–308.
- Celikel, N. and G. Kavas. 2008. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic. *Czech J. Food Sci.* 26: 174–181.
- Chung, J. Y., J. H. Choo, M. H. Lee and J. K. Hwang. 2006. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine.* 13: 261–266.
- Damjanovic, V. B., T. Dakov, D. Sukovic and J. Damjanovic. 2011. Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill from Montenegro. *Czech J. Food Sci.* 29: 277–284.
- David, C., and W. Ward. 2003. Control of chalkbrood disease with natural products: a report for the RIRDC. Rural Industries Research & Development Corporation, Barton. 29 pp.
- Doran, A.L., W.E. Morden, K. Dunn and V. Edwards–Jones. 2008. Vapour–phase activities of essential oils against antibiotic sensitive and resistant bacteria including MRSA. *Appl. Microbiol.* 48: 387–392.
- Dorman, H.J.D. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308–316.
- Fairey, D.T., J. Bissell and J. Bissell. 1985. Chalkbrood in alfalfa leafcutting bees. *Canadex insects–diseases pest, Agriculture Canada.* p. 116–117.
- Frizzo, C. D., C. Santos, N. Paroul, L. A. Serafini, E. Dellacassa, D. Lorenzo and P. Moyna. 1999. Essential oils of camphor Tree (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm) cultivated in southern brazil. *Braz. arch. biol. technol.* 43: 1–4.
- Fuselli, S. R., S. B. Garcia de la Rosa, M. J. Eguaras and R. Fritz. 2010. In vitro antibacterial effect of exotic plants essential oils on the honeybee pathogen *Paenibacillus larvae*, causal agent of American foulbrood. *Span. J. Agric Res.* 8: 651–657.

- Ganjewala, D. 2009. Cymbopogon essential oils: Chemical compositions and bioactivities. *Int. J. Essen. Oil Ther.* 3: 56–65.
- Ghori, I. and S. S. Ahmad. 2009. Antibacterial activities of honey, sandal oil and black pepper. *Pak. J. Bot.* 41: 461–466.
- Gomez–Rincon, C., E. Langa, P. Murillo, M. S. Valero, C. Berzosa and V. Lopez. 2014. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil against L3 larvae of *Anisakis simplex*. *Biomed Res Int.* 7 pp.
- Goodwin, R. M. 2002. Animal import risk analysis: Honey bee hive products and used equipment. Ministry of Agriculture and Forestry, New Zealand. 83 pp
- Hanif, M. A., M. Y. Al–Maskari, A. Al–Maskari, A. Al–Shukaili, A. Y. Al–Maskari and J. N. Al–Sabahi 2011. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of unexplored Omani basil. *J. Med. Plant. Res.* 5: 751–757.
- Hammer, K.A., C.F. Carson and T.V. Riley. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86: 985–990.
- Hamidpour, R., S. Hamidpou, M. Hamidpou and M. Shahlari. 2013. Camphor (*Cinnamomum camphora*), traditional remedy with the history of treating several diseases. *IJGRI.* 4: 86–89.
- Heather. C., J. Wilkinson and M. Andersson. 2007. Antimicrobial activity of four volatile essential oils. School of Biomedical Science, Charles Sturt University, locked bag 588, Wagga Wagga, NSW 2678, Australia. 10 pp.
- Hornitzky, M. 2001. Literature review of chalkbrood – a fungal disease of honeybees. Rural Industries research & development corporation, Barton. 22 pp.
- Hussain, A. I., F. Anwar and M. Shahid. 2010. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. *J. Essent. Oil Res.* 22: 78–84.
- Kingchaiyaphum, W. and C. Rachtanapun. 2012. Antimicrobial and antioxidative activities of essential oils in Chinese sausage (Kun–Chiang). *As. J. Food Ag–Ind.* 5: 156–162.
- Kon, K. and M. Rai. 2012. Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with other essential oils. *NusBiosci.* 4: 50–56.

- Kozłowska, M., A. E. Laudy, B.J. Starosciak, A. Napiorkowski, L. Chomicz and Z. Kazimierczuk. 2010. Antimicrobial and antiprotozoal effect of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*. 9: 133–141.
- Leeja, L., and J. E. Thoppil. 2007. Antimicrobial activity of methanol extract of *Origanum majorana* L. (Sweet marjoram). *J. Environ. Biol.* 28: 145–146.
- Leelapornpisid, S., Chansakaow, C. and Chaiyasut, N. 2008. Antioxidant activity of some volatile oils and absolutes Thai aromatic plants P. International Workshop on Medicinal and Aromatic Plants, 31 March, ISHS Acta Horticulturae, p. 786.
- Liu, T. P. 1988. Effects of itraconazole on the sporocysts wall of the entomopathogenic fungi *Ascosphaera apis* as revealed by the scanning electron microscope. *Mycopathologia*. 103: 75–80.
- Liu, T. P., C. Y. S. Peng, E. C. Mussen, J. M. Marston, and R. J. Munn. 1991. *In vitro* activity of 15-azasterol (A25822B) against chalkbrood pathogen *Ascosphaera apis* in the honey bee. *Mycopathologia*. 115: 175–184.
- Loh, F. S., R. M. Awang, D. Omar and M. Rahmani. 2011. Insecticidal properties of *Citrus hystrix* DC leaves essential oil against *Spodoptera litura* fabricius. *J. Med. Plant. Res.* 5: 3739–3744.
- Maurya, S., A. K. Kushwaha and G. Singh. 2013. Biological significance of spicy essential oils. *Adv. Nat. Sci.* 6: 84–95.
- Matsuzaki, Y., T. Tsujisawa, T. Nishihara, M. Nakamura and Y Kakinoki. 2013. Antifungal activity of chemotype essential oils from rosemary against *Candida albicans*. *OJST*. 3: 176–182.
- Moghaddam, A. M. D. J. Shayegh, P. Mikaili and J. D. Sharaf. 2011. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. *J. Med. Plant. Res.* 5: 3453–3456.
- Mourad, A. K., O. A. Zaghloul, E. L. Kady, F. M. Nemat and M. E. Morsy. 2005. A novel approach for the management of the chalkbrood disease infesting honeybee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) colonies in Egypt. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 70: 601–611.

- Mitchell, T. C., T. L. M. Stamford, E. L. Souza, E. O. Lima, E. S. Carmo. 2010. *Origanum vulgare* L. essential oil as inhibitor of potentially toxigenic *Aspergilli*. *Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas*. 30: 755–760.
- Nambiar, V. S. and H. Matela. 2012. Potential functions of lemon grass (*Cymbopogon citratus*) in health and disease. *Int. J. Pharm. & Biol.* 3: 1035–1043.
- Neeraj, T., A. Prakash and Y. Seema. 2013. Antimicrobial activity and medicinal values of essential oil of *Mentha piperita* L. *IJEIT*. 8: 214–218.
- Ofodile, N. L., N. M. C. Nwakanma, M. I. Mordi, O. Ademolu, I. Ezimoke and J. Owoso. 2013. Genotoxic and antimicrobial studies of the leaves of *Psidium guajava*. *EurAsian. J. BioSciences*. 7: 60–68.
- Padalia, R. C., R. S. Verma, A. Chauhan, P. Goswami, S. K. Verma, M. P. Darokar. 2014. Chemical composition of *Melaleuca linarrifolia* Sm. from India: a potential source of 1,8–cineole. *Industrial Crops and Products*. 61: 166–172.
- Pand, S. and C. S. L. Srivastava. 2010. Essential oil of *Myristica fragrans* as an effective fungitoxicant. *JMAPS*. 32: 416–419.
- Pattaratanawadee, E., C. Rachtanapun, P. Wanchaitanawong and W. Mahakarnchanakul. 2006. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage microorganisms. *Kasetsart J. (Nat. Sci)*. 40: 159–165.
- Phonsena, P., Y. Banchong and C. Rawanghet. 2006. Efficacy of essential oils from Phlai (*Zingiber montanum*), Turmeric (*Curcuma longa*) and Wan nang kham (*C. aromatica*) against Brown Dog, pp. 539–5433 In Proceedings of 44th Kasetsart University Annual Conference: Animal, Veterinary Medicine Bangkok, Thailand.
- Rajeswara Rao, B. R., D. K. Rajput and R.P. Patel. 2009. Essential oil profiles of different parts of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. Var. *motia* Burk.). *J. Essent. Oil Res.* 21: 519–521.
- Ranasinghe, P., S. Pigera, G. A. S. Premakumara, P. Galappaththy, G. R. Constantine and P. Katulanda. 2013. Medicinal properties of ‘true’ cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 13: 1–10.
- Rosato, A., C. Vitali, N. De Laurentiis, D. Armenise and M. Antonietta Milillo. 2007. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine*. 14: 727–732.

- Sasidharan, I., and A. N. Menon. 2010. Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe). *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 2: 40-43.
- Shawket, D. S. 2013. Screen the antibacterial potency of *Curcuma longa* L. oil extract against boils causing *Staphylococcus* species. *I.JABR.* 3: 490-500.
- Silva, C. F., F. C. Moura, M. F. Mendes and F. L. P. Pessoa. 2011. Extraction of citronella (*Cymbopogon nardus*) essential oil using supercritical CO₂: experimental data and mathematical modeling. *Braz. J. Chem. Eng.* 28: 343 – 350.
- Soikam, P., U. Klinkesorn and C. Ratchathanapun. 2014. Antimicrobial activity of encapsulated fingerroot essential oil in marinated pork during storage in refrigerated temperature. Kasetsart University Annual Conference. 52: 395-402.
- Srisukha, V., C. Tribuddharatb, V. Nukoolkarnc, N. Bunyaphrathsarac, K. Chokephaibulkitd, S. Phoomniyomb, S. Chuanphungb and S. Srifuengfung. 2012. Antibacterial activity of essential oils from *Citrus hystrix* (makrut lime) against respiratory tract pathogens. *ScienceAsia.* 38: 212–217.
- Thara Saraswathi, K.J., N.R. Jayalakshmi, P. Vyshali and M.N. Shiva Kameshwari. 2011. Comparative study on essential oil in natural and In vitro regenerated plants of *Vetiveria zizanioides* (Linn.) Nash. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 10: 458-463.
- Yazdani, D., Sh. Rezazadeh, Gh. Amin, MA. Zainal Abidin, S. Shahnazi and H. Jamalifar. 2009. Antifungal activity of dried extracts of anise (*Pimpinella anisum* L.) and star anise (*Illicium verum* Hook. f.) against dermatophyte and saprophyte fungi. *J. Med. Plants. Res.* 8: 24-29.