บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ขั้นตอนการวิจัยและพัฒนาสารชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช

1) การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพทางการเกษตรในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปรับปรุงสมบัติดิน หรือเสริมสร้างการเจริญเติบโตที่ผลิตจากจุลินทรีย์และพืชบนพื้นที่สูง รวมทั้งสารทดแทนสารเคมีเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยสร้างความปลอดภัยและลดผลกระทบจากสารเคมีเกษตรให้กับเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมบนพื้นที่สูงที่ดีและมีประสิทธิภาพ โดยปัจจัยที่เอื้อต่อความสำเร็จในการส่งเสริมให้เกษตรกรเปลี่ยนมาใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพหรือสารทดแทนสารเคมี คือ คุณภาพ (ประสิทธิภาพ-คุณสมบัติ) วิธีการใช้ ราคา และแหล่งซื้อ เมื่อเทียบกับสารเคมีหรือวิธีการจัดการเดิมที่เกษตรกรปฏิบัติ

2) สารชีวภาพหรือชีวภัณฑ์ คือ สารที่ได้จากสิ่งที่มีชีวิตหรือสิ่งที่เคยมีชีวิตมาก่อน รวมถึงผลผลิตของสิ่งมีชีวิตหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าอินทรียวัตถุ ซึ่งสารชีวภาพถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการดำรงชีวิตหลากหลายรูปแบบทั้งในด้านอาหาร เครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรค ที่อยู่อาศัย และการเกษตร ซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง การใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพซึ่งส่วนมากพบในนิเวศที่มีความสมบูรณ์ ประกอบด้วย สิ่งมีชีวิตหลายชนิด ได้แก่ พันธุ์พืช จุลินทรีย์ และสัตว์ โดยลักษณะและคุณสมบัติแตกต่างกันตามสายพันธุ์ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีพฤติกรรมการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมเพื่อเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย อาหาร และขยายพันธุ์ แต่ต้องอาศัยระยะเวลา ในทางตรงข้ามบางชนิดอาจเลือกอาศัยเฉพาะในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์เพื่อความอยู่รอดเท่านั้น ด้วยเหตุนี้การคัดเลือกสิ่งมีชีวิตจากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์และมีประสิทธิภาพสูงสุดในสภาพสิ่งแวดล้อมบนพื้นที่สูงจึงควรจะมาจากสภาพพื้นที่สูงเช่นกัน

3) การนำเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ในรูปแบบเซลล์สด (fresh cell) ที่เตรียมจากห้องปฏิบัติการมาใช้ในแปลงปลูกพืชทันทีมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นระหว่างการขนส่ง เชื้อตายจากสาเหตุอื่น ได้แก่ การได้รับความร้อนต่อเนื่อง การสัมผัสกับสารพิษโดยตรง สูตรตำรับการผลิตไม่เหมาะสม ทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ได้ไม่เพียงพอส่งผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมศัตรูพืชและบางกรณีอาจเกิดจากความไม่คงตัวขณะเก็บรักษาทำให้มีอายุการใช้งานสั้น เช่นเดียวกันการใช้วัตถุดิบจากใบพืชต้องใช้ในปริมาณสูง จึงจำเป็นต้องแปรรูปเป็นสารสกัดจากพืชความเข้มข้นสูงและผสมสารเติมแต่งเพื่อรักษาสภาพหรือสารเพิ่มประสิทธิภาพ ด้วยเหตุนี้จึงควรมีการวิจัยและพัฒนาในรูปแบบของผลิตภัณฑ์พร้อมใช้งาน

2.2 ตัวอย่างงานวิจัย

1) การผลิตสารชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืชในโรงงาน

ขั้นตอนการผลิตสารชีวภัณฑ์ให้มีประสิทธิภาพเพื่อการจำหน่ายเชิงพาณิชย์นั้นมีความสำคัญมาก ประกอบด้วย การพัฒนารูปแบบ (formulation) และวิธีการใช้ (application) ที่ง่ายและสะดวกสำหรับเกษตรกร โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการผลิต ได้แก่ ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ ชนิดของวัสดุที่ใช้ซึ่งมีผลต่ออายุการเก็บรักษาและความสำเร็จของการใช้สารชีวภัณฑ์ในระบบการผลิตพืชด้านการควบคุมโรค การส่งเสริมการเจริญเติบโต และการชักนำให้พืชมีภูมิต้านทานต่อศัตรูพืชหรือแมลงพาหะนำโรค (Anan and Athinuwat, 2016) ดังตัวอย่างการวิจัยและพัฒนาสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชที่เกษตรกรนิยมใช้ เช่น รา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* กำจัดเพลี้ยอ่อน *Macrosiphum euphobia* และ *Myzus persicae* เพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis*, *Thrips tabaci*, *Scirtothrips dorsalis* แมลงวันพริก *Bactrocera latrifrons* ด้วงหมัดผัก แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* แมลงหวี่ขาว ไรขาวพริก แมลงศัตรูกะหล่ำและมะเขือเทศ เป็นต้น (มาลี, 2553 และ Thungrabeab et al., 2008)

วิธีการผลิตเชื้อจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ปริมาณมากและยังคงความรุนแรงเช่นเดียวกับการเลี้ยงบนอาหารในห้องปฏิบัติการมีผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมศัตรูพืชในแปลงปลูกพืช หลายรายงานวิจัยจึงกล่าวถึงแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนจากเมล็ดพืช ปริมาณออกซิเจน ระดับความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตทั้งบนอาหารแข็งและในอาหารเหลว สอดคล้องกับ Mohammed, 2006 และ Sivasundaram et al., 2008 ที่สรุปว่าเชื้อราแต่ละสายพันธุ์จะมีการสร้างบลาสโตสปอร์และโคนิเดียแตกต่างกัน การผลิตโคนิเดียทำได้โดยใช้เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง ข้าวโพด และผลพลอยได้จากการเกษตร เช่น รำข้าว เป็นต้น ส่วนบลาสโตสปอร์ให้ผลดีในอาหารเหลวร่วมกับการเขย่าเพื่อเพิ่มอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารเหลวแต่ละชนิดสร้างบลาสโตสปอร์ได้ต่างกัน บางชนิดสร้างเฉพาะส่วนของเส้นใยที่ไม่มีผลในการควบคุมแมลง ในขณะเดียวกันการเติม 5% polyethylene หรือ 1-2% Tween 80 ช่วยเพิ่มปริมาณการสร้างบลาสโตสปอร์ อย่างไรก็ตามการใช้เชื้อราให้ประสบผลสำเร็จยังขึ้นกับเทคนิควิธีการใช้ด้วย เนื่องจากเชื้อรากำจัดแมลงจะเข้าทำลายแมลงผ่านทางผนังลำตัว การเลือกใช้หัวฉีดและระยะเวลาการพ่นที่เหมาะสมจะช่วยทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการใช้เชื้อรากำจัดแมลงเพิ่มมากขึ้น

การพัฒนาผลิตภัณฑ์สูตรสำเร็จจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ควบคุมศัตรูพืช นอกจากจะทำให้เกษตรกรสะดวกในการใช้แล้วยังมีผลทำให้เชื้อคงทนอยู่ได้นานขึ้น ดังรายงานวิจัยที่ใช้น้ำมันในการเพิ่มความคงทนให้กับผลิตภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลง (Hong et al., 2005; Vega et al., 2010; Kim et al., 2011; Jin et al., 2011; Hedimbi et al., 2011) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Luz and Batagin (2005) ที่ทดสอบชนิดสารผสมเพื่อเป็นสารลดแรงตึงผิวกับเชื้อรา *Beauveria bassiana* พบว่า Tween 80 มีผลต่อความงอกของสปอร์น้อยที่สุด ส่วนน้ำมันข้าวโพดมีผลมากที่สุด ในขณะที่น้ำมันถั่วเหลืองช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต Rodrigues et al. (2017) รายงานว่าการใช้แคลเซียมอัลจิเนตและแคลเซียมคลอไรด์ในสูตรการผลิตชีวภัณฑ์มีผลต่อความคงตัวและอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25.5, 4.0 และ -20.0 องศาเซลเซียส เมื่อนำผงชีวภัณฑ์มาบ่ม (7 วัน) พบว่าเชื้อยังคงอยู่ และโคนิเดียอยู่รอดประมาณ 46% ในระยะเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 26.5 องศาเซลเซียส Yang et al. (2017) ทดลองการสกัดสารสกัดหยาบจากเชื้อ *Streptomyces cochorusii* สายพันธุ์ NF0919 แล้วนำมาทดสอบหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคกาบใบแห้งของข้าวที่เกิดจากเชื้อ

Rhizoctonia solani ผลการทดลองพบว่าให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 78.4% และ 98.1% เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อสดของ *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ SB177

สุมาลี และคณะ (2563) วิจัยเพื่อพัฒนาต้นแบบสารชีวภัณฑ์เชื้อราแบบผงละลายน้ำสำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชรูปแบบใหม่ ได้วิธีการผลิตรา *Beauveria bassiana* ไอโซเลท 5335 กำจัดเพลี้ย โดยนำหัวเชื้อไปเพิ่มปริมาณบลาสโตสปอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร 3% D-glucose, 2% corn steep liquor, 0.5% KNO_3, 0.68% KH_2PO_4, 0.02% $CaCO_3$, 0.01% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ เชื้อมีความเข้มข้น 1.06×10^{10} spores/ml (10 วัน) รองลงมาคือ สูตรแป้งข้าวโพด 20 กรัม เปปโทน 20 กรัม และน้ำตาลเดกโทส 20 กรัม มีค่า 5.20×10^{9} spores/ml หลังจากนั้นนำมาผสมกับวัสดุรองรับหัวเชื้อจุลินทรีย์สูตร 20% spores และ 80% kaolin ในอัตราหัวเชื้อร้อยละ 50 w/v โดยน้ำหนักของวัสดุรองรับ ได้ต้นแบบสารชีวภัณฑ์มีความเข้มข้นหลังการผลิตทันที 1.02×10^{7} spores/ml ที่สามารถกำจัดเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการได้ 100% หลังฉีดพ่นสาร 7 วัน นอกจากนี้ยังได้วิธีการผลิตรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท 4849 กำจัดหนอน โดยนำหัวเชื้อไปเพิ่มปริมาณบลาสโตสปอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร 3% Sucrose, 2% yeast extract, 1.9% Tween 80 มีความเข้มข้น 1.05×10^{10} spores/ml (10 วัน) รองลงมาคือ สูตร PDA medium enriched ผสมกับ 1% peptone, 4% glucose และ 0.2% yeast มีค่า 1.19×10^{8} spores/ml จากนั้นผสมในวัสดุรองรับหัวเชื้อ ได้แก่ ทัลคัม 600 g และ guar gum 100 g ในอัตราหัวเชื้อ 50% w/v โดยน้ำหนักของวัสดุรองรับ ได้ต้นแบบชีวภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นหัวเชื้อ 1.04×10^{7} spores/ml (หลังผลิตทันที) ซึ่งกำจัดหนอนกระทู้ได้ 100% หลังฉีดพ่นสาร 7 วัน ในขณะที่สูตร 20% spores และ 80% kaolin มีความเข้มข้นเชื้อ 2.06×10^{7} spores/ml ให้ผลดีกับการกำจัดเพลี้ยไฟร้อยละ 73.33±21.86 โดยรวมแล้วต้นแบบสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากสูตร 20% spores และ 80% kaolin มีแนวโน้มสำหรับการผลิตต้นแบบสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงทั้ง 2 ชนิด ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดีและมี pH เป็นกลาง สำหรับวิธีการผลิตต้นแบบสารชีวภัณฑ์แบบเม็ดละลายน้ำจากเชื้อแอคติโนมัยซีส *Streptomyces* sp. ไอโซเลท GAR 1 เพื่อใช้ป้องกันโรคโคนเน่ารากเน่าของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ดำเนินการโดยนำหัวเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 10^{9} cfu/ml มาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรแป้งถั่วเหลืองผสมกับวัสดุรองรับและนำไปอบจนได้ต้นแบบสารชีวภัณฑ์ ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ได้คัดเลือกวัสดุรองกรับสูตร 8 คือ sodium bicarbonate 464 g ผสม citric acid 436 g และสูตร 1 คือ citric acid 383 g, sodium bicarbonate anhydrous 608 g และน้ำ 9 ml

2) ผลิตภัณฑ์ชีวภาพกำจัดวัชพืช

วัชพืช คือพืชที่ไม่เป็นที่ต้องการในบริเวณนั้นและเป็นสาเหตุหลักของปัญหาการลดลงของผลผลิต การควบคุมวัชพืชสามารถทำได้ด้วยหลายวิธี เช่น การถอน การตัด การเผา และการใช้สารเคมี เป็นต้น ซึ่งวิธีการดังกล่าวต้องใช้แรงงานมาก และบางวิธีก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันหลายประเทศให้ความสนใจกับระบบเกษตรที่ปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จึงปรับมาใช้วิธีเขตกรรมและวิธีการทางชีวภาพเพื่อควบคุมวัชพืชมากขึ้น เช่น ไถพรวนพื้นที่ก่อนเพาะปลูก ปลูกพืชหมุนเวียนหรือพืชคลุมดิน ใช้สารชีวภาพจากพืช (allelopathy) หรือเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น ทั้งนี้ผลจากการศึกษาพบว่าวิธีการใดเพียงวิธีการหนึ่งไม่สามารถ

ควบคุมวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพได้ (Chikowo et al., 2009; Koocheki et al., 2009) ในขณะเดียวกันเกษตรกรบางส่วนยังนิยมใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช เช่น ไกลโฟเสต, ไดแคมบ้า และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก (2,4-D) เป็นต้น โดยฉีดพ่นเพื่อควบคุมการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้วัชพืชเกิดการต้านทานต่อสารเคมีได้ (Green and Owen, 2011) ด้วยเหตุนี้วิธีการใหม่ที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมจึงมีความจำเป็นต่อการควบคุมวัชพืชมากขึ้น (Duke, 2012) ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจมากต่อการควบคุมวัชพืชโดยไม่ใช้สารเคมี ซึ่งสารกำจัดวัชพืชชีวภาพ (bioherbicides) ถูกนำมาใช้ร่วมกับวิธีการอื่นในหลากหลายรูปแบบ (Cordeau et al., 2016) มีรายงานว่าวัตถุดิบธรรมชาติทั้งจากสิ่งมีชีวิตและสารเมทาบอลิซึมมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชโดยไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม (Hoagland et al., 2007; Bailey, 2014) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ แบบจำเพาะกับชนิดวัชพืช (host-specific bioherbicides) และแบบไม่จำเพาะกับชนิดวัชพืช (non-hostspecific bioherbicide) สอดคล้องกันการศึกษาของ Hoagland et al. (2007) ที่ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิดมีความสามารถควบคุมวัชพืชทั้งแบบจำเพาะและไม่จำเพาะ

กลไกในการควบคุมวัชพืชของสาร คือการรบกวนและยับยั้งระบบเพื่อไม่ให้วัชพืชเจริญเติบโต เช่น การงอกของเมล็ด การสังเคราะห์แสง ระบบฮอร์โมน การดูดซึมแร่ธาตุ ระบบการต้านทานอนุมูลอิสระ และระบบเมทาบอลิซึมอื่น (Radhakrishnan et al., 2018) อย่างไรก็ตามความจำเพาะต่อชนิดวัชพืชและการสลายตัวอย่างรวดเร็วในธรรมชาติของสารชีวภาพกำจัดวัชพืชทำให้ต้องปรับปรุงคุณสมบัติดังกล่าว (Cordeau et al., 2016) ผลิตภัณฑ์สารชีวภาพกำจัดวัชพืชทางการค้ามีขึ้นครั้งแรกในปี 1980 แต่มีเพียงเกษตรกรในสหรัฐอเมริกา แคนาดา ยูเครน และยุโรป ที่ใช้ (Bailey, 2014; Cordeau et al., 2016) ซึ่งต่อมาการใช้สารชีวภาพแทนสารเคมีในการกำจัดวัชพืชได้รับความสนใจมากขึ้นในหลายประเทศเนื่องจากเกิดผลกระทบด้านลบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

สุมาลี และคณะ (2562, 2563) สำรวจชนิดวัชพืชที่พบมากในแปลงเกษตรบนพื้นที่สูง 3 ลำดับแรก คือ ผักโขม (*Amaranthus viridis*), ตีนตุ๊กแก (*Tridaxpro cumbens*) และหญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) โดยมีจำนวน 35%, 35% และ 28% ของ 1 พื้นที่แปลงเพาะปลูก การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืชบนพื้นที่สูงต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญของวัชพืชในสภาวะห้องปฏิบัติการ ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ 8 ไอโซเลท คือ 21, S11, S14, S18, S20, S23, S36 และ S43 ที่ทำให้เมล็ดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด ไม่งอกและไม่เจริญเติบโตเป็นต้นอ่อน ทั้ง 2 ระยะการบันทึกผล สอดคล้องกับการทดลองของ Carvalho et al. (2007) ที่ศึกษาเชื้อแบคทีเรียจากรากพืชซึ่งสามารถควบคุมวัชพืชพบว่าสารเมทาบอไลท์ที่สกัดจาก *Bacillus cereus* ทำให้เมล็ดหญ้า *Brachiaria decumbens* ไม่งอก 52% และอีก 42% งอกแต่ลักษณะผิดปกติ ผลการวิจัยครั้งนี้ยังได้สารสกัดเข้มข้นจากพืช 5 ชนิด ได้แก่ ใบยูคาลิปตัส ใบสน ต้นโหระพา ต้นสะระแหน่ และต้นแมงลัก ทั้งการใช้ตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 95% ที่แสดงค่ายับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด ได้ 100% เช่นเดียวกับการศึกษาของ Fouad et al. (2015) ที่นำสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสไปทดสอบกับเมล็ดวัชพืช *Sinapis arvensis* พบการงอกเพียง 1.1% และการใช้สารสกัดจากสนในงานวิจัยของ Amri et al. (2013) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถยับยั้งการงอกของวัชพืช *Sinapis*

arvensis, *Raphanus raphanistrum* และ *Lolium rigidum* 60% 32% และ 34% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยของ Mekky et al. (2019) ที่ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการงอกของวัชพืชสกุล *Amaranthus* spp. ด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพาพบค่ายับยั้ง 50% สำหรับผลการทดสอบของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากต้นสะระแหน่ให้ผลในทิศทางเดียวกับงานของ Intanon et al. (2014) จะเห็นได้ว่าโดยส่วนใหญ่แล้วสารสกัดจากพืชในรูปของน้ำมันหอมระเหยจะมีการนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมวัชพืชอย่างกว้างขวาง (Radhakrishnan et al., 2018) ต่างจากงานวิจัยครั้งนี้ที่ใช้สารสกัดหยาบเข้มข้นด้วยตัวทำละลายน้ำหรือเอทานอล 95% แต่ให้ผลการยับยั้งที่ดีเช่นกัน ผลการคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณหัวเชื้อจุลินทรีย์ 8 ไอโซเลท ที่มีความสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของวัชพืชสูง แสดงให้เห็นว่าเชื้อแต่ละไอโซเลทเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตรแตกต่างกัน โดยจุลินทรีย์ ไอโซเลท 21, S18 และ S20 มีความเข้มข้นเชื้อ ไม่น้อยกว่า 10^9 cfu/ml ในอาหารสูตรกากน้ำตาลที่มีต้นทุนไม่สูง คือ 2.38 บาท/l เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร nutrient broth (NB), แป้งถั่วเหลืองผสมกากน้ำตาล และสูตรแป้งถั่วเหลืองที่มีต้นทุนสูงกว่าคือ 60.60, 39.49 และ 5.14 บาท/l ตามลำดับ จึงได้คัดเลือกแบคทีเรีย ไอโซเลท 21, S18 และ S20 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรกากน้ำตาล 10 g, Yeast extract 0.5 g, K_2HPO_4 0.5 g, $MgSO_4$ 0.2 g และ NaCl 0.1 g ไปทดสอบต่อ ทั้งนี้สัดส่วนของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน รวมถึงธาตุอาหารรองส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แตกต่างกัน สอดคล้องกับงานวิจัย Mendizabal et al. (2012) ที่ศึกษาชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท CPA-8 ราคาถูก โดยแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่นำมาทดลอง ได้แก่ yeast extract, peptone, soy products, sucrose, maltose และกากน้ำตาล ผลการทดลองพบว่าแป้งถั่วเหลือง 40 g/l และกากน้ำตาล 5 g/l ผสมกับธาตุอาหารอื่นเล็กน้อย ทำให้เชื้อมีปริมาณเซลล์สูงสุดมากกว่า $3x10^9$ cfu/ml ในปี 2015 Al-Dahbi et al. ได้ศึกษาการใช้วัสดุทางการเกษตรที่ราคาถูกเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* B20 พบว่ากากน้ำตาลหมักให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 2.29±0.38 g/l สำหรับการศึกษาผลหลังจากฉีดพ่นสารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ ไอโซเลท 21, S18 และ S20 และสารสกัดพืชเข้มข้นจากใบสน ใบยูคาลิปตัส และต้นสะระแหน่ ซึ่งมีฤทธิ์กำจัดวัชพืชผักโขม ตีนตุ๊กแก และหญ้าตีนกา ผลการทดสอบการก่อโรคของจุลินทรีย์และสารสกัดพืชกับเมล็ดคะน้า เมล็ดกวางตุ้ง และต้นกล้ายาสูบใบใหญ่ ซึ่งเป็นชนิดพืชที่อ่อนแอและแสดงอาการผิดปกติได้อย่างรวดเร็วในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบผลระยะ 7 และ 14 วัน สรุปดังนี้ (1) ไม่พบความผิดปกติกับเปอร์เซ็นต์ความงอก ความยาวราก ลำต้นและใบเลี้ยง หรือพบในระดับต่ำทั้งระยะก่อนและหลังเมล็ดงอกเมื่อพ่นสารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด (2) ทุกสารสกัดเข้มข้นจากพืชมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดระยะ 7 วันหลังทดสอบ โดยเฉพาะการฉีดพ่นสารช่วงก่อนเมล็ดงอกพบคะน้างอกเพียง 3.33-23.33% และเมล็ดกวางตุ้งไม่งอก ส่งผลให้หลังการทดสอบ 14 วัน เมล็ดแห้งตายทั้งหมด (3) หลังจากพ่นสารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดพืชเข้มข้น 14 วัน กับต้นกล้ายาสูบใบใหญ่ไม่พบความผิดปกติใด (4) โดยรวมเชื้อจุลินทรีย์ ไอโซเลท 21 และ S18 มีแนวโน้มที่ดีในการนำไปใช้ ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติกับเมล็ดคะน้า เมล็ดกวางตุ้งและต้นกล้ายาสูบใบใหญ่ ในขณะที่สารสกัดเข้มข้นใบยูคาลิปตัสทำให้เกิดความผิดปกติสูงสุด ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืชในการกำจัดวัชพืชในโรงเรือนโดยคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ ไอโซเลท 21 และสารสกัดต้นสะระแหน่เข้มข้นซึ่งมีฤทธิ์กำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด ได้ดี และก่อโรคในระดับต่ำต่อเมล็ดคะน้า เมล็ด

กวางตุ้ง และต้นกล้ายาสูบใบใหญ่ สรุปผลระยะ 7 และ 14 วัน หลังฉีดพ่นสารลงดิน พบว่า (1) สารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ไม่แสดงผลยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืชหรือยับยั้งในระดับต่ำมาก (2) สารสกัดต้นสะระแหน่ยับยั้งการงอกของเมล็ดวัชพืช 100% จึงคัดเลือกสารสกัดต้นสะระแหน่ไปทดสอบอัตราการใช้ในห้องปฏิบัติการ เบื้องต้นสรุปได้ว่าสกัดเข้มข้น 5% ให้ผลไม่แตกต่างกับร้อยละ 100, 75, 50, 25 และ 10

3) ชีวภัณฑ์ป้องกันโรคทางดิน

โรคพืชทางดินสำคัญที่มักพบในระยะหลังการย้ายปลูกต้นกล้าประมาณ 5-7 วัน และสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตของเกษตรกรเป็นอย่างมากคือ โรครากเน่าโคนเน่า (damping off disease) เชื้อสาเหตุที่สำคัญ ได้แก่ เชื้อรา *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum* และแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ปัจจุบันเกษตรกรให้ความสนใจกับการควบคุมศัตรูพืชแบบชีววิธี โดยเฉพาะการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เนื่องจากมีความปลอดภัย กลไกของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชมี 4 วิธี คือ (1) การแข่งขัน (competition) เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะมีความสามารถในการเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อโรคพืชเพื่อความอยู่รอด จึงทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเติบโตได้ หรือทำให้เกิดโรคน้อยลง เช่น มีความสามารถในการหาอาหารได้ดี เจริญเติบโตครอบครองพื้นที่บนผิวพืชได้เร็ว ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญแข่งขันเข้าทำลายพืชได้ พืชจึงแข็งแรงสามารถเจริญเติบโตโดยไม่มีโรคและให้ผลผลิตสูง ดังตัวอย่าง เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* จะผลิตสารชนิดหนึ่งเรียก ซิเดอโรฟอร์ (siderophore) มาช่วยยึดธาตุเหล็กที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่าเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ (2) การกำจัดด้วยสารปฏิชีวนะ (antibiosis) เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดใช้วิธีการนี้ในการกำจัดเชื้อสาเหตุโรค และนับเป็นกลไกชนิดแรกที่ทำให้มีการประยุกต์ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อทำลายเชื้อโรคทำให้โรคลดลง ทั้งนี้สารปฏิชีวนะมากมายหลายชนิดที่ผลิตขึ้นมาสำหรับใช้รักษาโรคของมนุษย์ สัตว์ และพืช ได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เหล่านี้ (3) การเป็นปรสิต (parasitism) เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติเป็นปรสิต คือเชื้อพวกที่สามารถเข้าไปเจริญอาศัยอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่น และคอยดูดกินอาหาร ทำให้สิ่งมีชีวิตที่ถูกดูดกินอาหารอ่อนแอและตายไป เชื้อโรคพืชหลายชนิดทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไส้เดือนฝอย ที่เป็นศัตรูพืชจะมีเชื้อปรสิตเข้าไปทำลาย ทำให้ลดการเกิดโรคพืชได้ เช่น การใช้เชื้อรา *Trichoderm*a spp. ทำลายเชื้อโรครากเน่าไฟทอฟทอรา (*Phytophthora* spp.) และการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus penetrans* ทำลายไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. และ (4) การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (induced host resistance) เป็นกลไกที่ปัจจุบันได้รับความสนใจศึกษากันมาก เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ โดยเฉพาะการนำเอาเชื้อโรคมาทำให้เกิดสายพันธุ์ที่หมดความสามารถในการทำให้เกิดโรค หรือเป็นเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงแล้วนำไปใส่ในพืช จะกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันหรือต้านทาน การเข้าทำลายของเชื้อโรคเหมือนกับการผลิตวัคซีนสำหรับใช้รักษาโรคของคนและสัตว์ ในประเทศไทยมีการผลิตวัคซีนจากไวรัสพืชสายพันธุ์ไม่รุนแรง เพื่อนำไปสร้างภูมิคุ้มกันโรคไวรัสจุดวงแหวนในมะละกอ

การออกฤทธิ์ในช่วงแคบของชีวภัณฑ์หรือชีวภัณฑ์ที่สามารถใช้กับเชื้อก่อโรคได้น้อยชนิดเป็นปัญหาอย่างมากด้านการค้าเนื่องจากต้องแข่งขันกับการใช้สารเคมีทางการเกษตรซึ่งสามารถออกฤทธิ์แบบกว้างและใช้กับโรคได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังเป็นปัญหาในการผลิตชีวภัณฑ์หากมีเชื้อปฏิปักษ์หลายชนิดก็จำเป็นต้องหาสูตรชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิดด้วย มีหลายงานวิจัยที่สนับสนุนว่าเชื้อปฏิปักษ์ชนิดหนึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคในพืชได้หลายชนิด เช่น เชื้อ *Bacillus subtilis* B29 ที่สร้างโปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum*, *R. solani*, *Fusarium moniliforme* และ *Sclerotinia sclerotiorum* (Li et al., 2009) นอกจากยังมีเชื้อ *Bacillus amyloliquefacien* ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดเช่นกันดังรายงานของ Bentinez et al. (2010) ที่ศึกษาความสามารถของลิโปเปปไทด์ (lipopeptides) ที่สร้างจาก *B. amyloliquefacien* LBM 5006 พบว่า สารดังกล่าวมีฤทธิ์ให้การงอกโคนิเดียของเชื้อ *Aspergillus* spp. และ *Fusarium* spp. มีความผิดปกติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhao et al. (2010) เกี่ยวกับสารปฏิชีวนะที่สร้างจากเชื้อ *Bacillus vallismortis* ที่มีผลยับยั้งเชื้อ *F. graminearum*, *Alternaria alternate*, *R. solani*, *Cryphonectria parasitica* และ *Phytophthora capsici* นอกจากการสร้างสารเพื่อยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว งานวิจัยของ Kinsella et al. (2009) ยังพบว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* QST 713 สามารถเจริญรอบรากต้นมะเขือเทศในลักษณะแข่งขันกับเชื้อราก่อโรคหลายชนิด (*Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Septoria* และ *Verticillium*) Zohair et al. (2018) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ *Aspergillus pseudocaelatus* และ *Trichoderma gamsii* ด้วยวิธี dual culture พบว่า *A. pseudocaelatus* ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* และ *Verticillium dahlia* มีค่าการยับยั้งเท่ากับ 71.43%, 80.17%, 82.64% และ 77.36% เมื่อเทียบกับ *T. gamsii* มีค่าการยับยั้งเท่ากับ 74.29%, 77.16%, 81.06% และ 79.43% ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติมากกว่า 1 ด้าน เพื่อผลิตเป็นชีวภัณฑ์จึงเป็นอีกแนวทางในการเพิ่มโอกาสการแข่งขันกับสารเคมีทางการเกษตรได้ ตัวอย่างเช่น มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชและชักนำให้ต้นพืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อโรค หรือการพัฒนาชีวภัณฑ์สูตรผสมซึ่งผลิตจากจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ที่สามารถเจริญร่วมกันได้สำหรับนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชในขณะเดียวกันช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับต้นพืชด้วย

Cora et al. (2019) ศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวภาพ Companion® (*Bacillus subtilis* GB03), Triathlon BA® (*Bacillus amyloliquefaciens* D747), Cease® (*Bacillus subtilis* QST 713), RootShield Plus® (*Trichoderma harzianum* KRL-AG2 และ *Trichoderma virens* G-41) ซึ่งผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า (damping off) ของผัก arugula (พืชตระกูลคะน้า) ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. โดยดำเนินการทดลองในโรงเรือน หลังจาก 7 วัน สรุปผลได้ว่า Cease® (*Bacillus subtilis* QST 713) สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด 74.4% นอกจากนี้ Li et al. (2017) ยังรายงานว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ SQRT3 ซึ่งแยกได้จากดินบริเวณรากพืช (rhizosphere) ของต้นมะเขือเทศสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ในห้องทดลองได้ 84.1% และยังเหนี่ยวนำให้ต้นมะเขือเทศเกิดความต้านทานต่อโรคเหี่ยว รวมทั้งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักคะน้า

โดยกระตุ้นให้มีการสะสม indole-3-acetic acid จำนวน 15.21 µg/ml เพิ่มน้ำหนักสด และชักนำภูมิต้านทานโรคโดยกระตุ้นให้สังเคราะห์ salicylic acid และ superoxide dismutase เช่นเดียวกับ อนุสรา (2561) พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus cereus* ไอโซเลท N55314 และ *Serratia* sp. ไอโซเลท N43203 ที่แยกและคัดเลือกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวและยับยั้งแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยกลไกสำคัญคือการผลิตสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อโรค การเจริญในสภาวะไนโตรเจนต่ำ (N-free medium) การละลายธาตุฟอสเฟสในอาหาร pikovskaya รวมทั้งความสามารถในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของกล้าข้าว Monika et al. (2018) แยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* บริเวณดินรอบรากพืชของต้นมะเขือเทศ และรวบรวมเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 49 ไอโซเลท เพื่อนำมาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B44 สามารถยังยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีที่สุด 64% และมีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase, โปรตีเอส, ไคติเนส, ส่งเสริมการสร้างสารเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ IAA (Indole-3-acetic acid) แอมโมเนียไซเดอโรโฟร์ ไซยาไนด์ไฮโดรเจน รวมถึงยับยั้งการสร้าง biofilm ที่จำเป็นต่อการก่อให้เกิดโรคของพืช อังสนา (2560) นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4 ไอโซเลท ได้แก่ MTR13, MTR14, NS5 และ PS6 ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทางดินของปทุมมา เพื่อนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ใช้ในการป้องกันกำจัดโรค โดยคัดเลือกชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ pH และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้เหมาะสมต่อการสร้างเอนโดสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ผลการวิจัยพบว่าไอโซเลท MTR13 และ PS6 สามารถสร้างเอนโดสปอร์สูงสุดในวันที่ 4 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่มีค่า pH เท่ากับ 4 และ 6 ตามลำดับ นอกจากนี้ไอโซเลท MTR14 และ NS5 ต้องเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน ในอาหารเหลว PDB ที่มีค่า pH เท่ากับ 5 และ 4 ตามลำดับ จากนั้นนำไปผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ จำนวน 6 สูตร ได้แก่ สูตร R (แป้งข้าวเจ้า), C (แป้งมันสำปะหลัง), T (ทัลคัม), RYE (แป้งข้าวเจ้า และ 0.25% YE), CYE (แป้งมันสำปะหลัง และ 0.25% YE) และ TYE (ทัลคัม และ 0.25% YE) แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าวัสดุรองรับที่ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์มีชีวิตอยู่รอดได้ในปริมาณที่สูงและมีราคาในการผลิตที่เหมาะสม คือสูตร RYE ผลทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ในการยับยั้งการเจริญรา *Pythium aphanidermatum* ในห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นว่าสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท MTR13, MTR14 สูตร R และ RYE สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ดีกว่าสูตรอื่น สำหรับผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร RYE ของไอโซเลท MTR13 และ NS5 มีรัศมีความกว้างของบริเวณใสมากกว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทอื่น จึงคัดเลือกไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพโรงเรือนโดยการคลุกหัวพันธุ์เพื่อเปรียบเทียบระหว่างสารเคมี สารชีวภัณฑ์ทางการค้า ผลการทดสอบพบว่าการใช้สารชีวภัณฑ์สูตร RYE ที่ผลิตจากไอโซเลท MTR13 ในปริมาณ 0.5 หรือ 1 g/ต้น สามารถลดความรุนแรงของโรคลงได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีโดยมีเปอร์เซ็นต์การลดความรุนแรงของโรคเป็น 35.29% และ 41.17% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม กฤติเดช และดุสิต (2559) พัฒนาสารชีวภัณฑ์จากเชื้อ *Bacillus subtilis* TU-Orga1 เพื่อควบคุมโรคที่สำคัญของ

ผักคะน้า โดยผสมสารพา kaolin : potassium humate : glucose : $FeSO_4$ สัดส่วน 72 : 8 : 1 : 19 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก กับเชื้อปฏิปักษ์ TU-Orga1 มีค่า 10^{13} cfu/ml ปริมาตร 20 ml/1 kg carrier หลังจากเก็บรักษาสารชีวภัณฑ์ในสภาพอุณหภูมิห้อง (28-33 องศาเซลเซียส) นาน 12 และ 24 เดือน พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ TU-Orga1 มีปริมาณคงเหลือประมาณ 10^{12} และ 10^{10} cfu/ml ตามลำดับ

สุมาลี และคณะ (2562, 2563) นำเชื้อโรคทางดิน 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum* และแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคไปคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค ได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลท คือ FT2 (*Bacillus siamensis*) ซึ่งสามารถย่อยละลายธาตุไนโตรเจนและสร้างฮอร์โมน indoleacetic acid (IAA) ส่วน MTR13 (*Bacillus siamensis*) ยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเขียวได้สูง และ HRS8 (*Bacillus siamensis*) สร้างฮอร์โมน gibberellic acid (GA3) โดยเฉพาะไอโซเลท FT2 ที่แสดงค่าการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* 86.53%, *Pythium aphanidermatum* 78.31%, *Rhizoctonia solani* 75.43%, และเกิดวงใสกับแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ขนาด 3.63 cm รองลงมาคือ ไอโซเลท MTR13 และไอโซเลท HRS8 ตามลำดับ โดยเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท ไม่แสดงปฏิกิริยาต่อต้านซึ่งกันและกัน ผลการศึกษาวิธีการผลิตต้นแบบสูตรสำเร็จสารชีวภัณฑ์โดยผสมหัวเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ข้างต้นเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NB (nutrient broth) หลังจากนั้นนำสารแขวนลอยของหัวเชื้อไปผสมกับวัสดุรองรับได้เป็นต้นแบบสารชีวภัณฑ์ชนิดผงพบว่าสูตรแป้งมันสำปะหลัง 900 g ผสมน้ำตาลทราย 100 g หลังการผลิตเสร็จทันทีและหลังการเก็บรักษานาน 3 เดือน มีความเข้มข้นเชื้อสูงกว่าสูตรอื่น ($3.3x10^{10}$ cfu/ml และ $2.5x10^{10}$ cfu/ml) รวมทั้งยังคงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคทางดินรองลงมาเป็นสูตร corn starch 300 g ผสม talcum 700 g เชื้อมีความเข้มข้น $2.7x10^{9}$ cfu/ml และ $2.1x10^{9}$ cfu/ml โดยมีต้นทุนค่าวัสดุรองรับ 47.30 และ 58.00 บาท/kg ตามลำดับ การใช้ต้นแบบสูตรสำเร็จสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจาก corn starch ผสม talcum รองก้นหลุมก่อนย้ายปลูกต้นพืชทดสอบ อัตรา 10 g/ต้น ในโรงเรือนทดสอบ สามารถควบคุมโรคทางดินทั้ง 4 ชนิด ได้ดีกว่าสูตรที่ผลิตจากสูตรแป้งมันสำปะหลังผสมน้ำตาลทราย โดยมีผลการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ในพริก มะเขือ และคะน้า 60%, 55% และ 65% โรคที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในพริก มะเขือ และคะน้า 65%, 60% และ 65% โรคที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* ในพริก มะเขือ และคะน้า 55%, 60% และ 60% และโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในพริก และมะเขือ 50% และ 55% ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการใช้สารเคมีอีทริไดอะโซลผสมควินโทซีน ผลการปรับปรุงประสิทธิภาพการควบคุมโรคทางดินของต้นแบบสารชีวภัณฑ์ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการผลิต สรุปดังนี้ ผสมหัวเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 3 สายพันธุ์ คือ FT2, MTR13 และ HRS8 กับวัสดุรองรับสูตร 1 แป้งมันสำปะหลังผสมน้ำตาลทราย ในอัตราผสมหัวเชื้อ 1:1 จากนั้นนำไปอบให้มีความชื้น 15-20% และบดเป็นผงใส่ภาชนะบรรจุ รวมต้นทุนค่าสาร 47.93 บาท/kg และสูตร 2 corn starch ผสม talcum ต้นทุนค่าสาร 58 บาท/kg เมื่อนำมาศึกษาอายุการเก็บรักษาต้นแบบสารชีวภัณฑ์ในห้องปฏิบัติการ 4 สูตร หลังเก็บรักษา 8 เดือนสูตร 1 และสูตร 2 มีความเข้มข้นของหัวเชื้อลดลงเหลือ $1.9x10^{7}$ และ $1.8x10^{7}$ cfu/ml เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ

โรคพืชทางดิน 3 ชนิด ได้แก่ *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum* พบว่าทั้ง 2 สูตร ให้ผลสูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค 50.90-71.25% เช่นเดียวกับการพบวงใสขนาด 1.45 และ 1.50 cm บริเวณรอบโคโลนีหัวเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเขียวเจริญในจานทดสอบ อย่างไรก็ตามเบื้องต้นสรุปได้ว่าประสิทธิภาพต้นแบบสารชีวภัณฑ์หลังเก็บรักษานาน 8 เดือน ลดลงเมื่อเทียบกับหลังการผลิตทันที แต่ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ดี สำหรับการศึกษาวิธีการใช้ต้นแบบสารชีวภัณฑ์ในโรงเรือนทดสอบ เปรียบเทียบ 10 กรรมวิธี โดยปลูกเชื้อสาเหตุโรคลงดินในกระถางทดสอบ พบว่ากรรมวิธีที่ 10 การคลุกสารชีวภัณฑ์ สูตร 2 แป้งข้าวโพดผสมทัลคัม อัตรา 40 g กับวัสดุเพาะกล้า 1 kg ให้ผลยับยั้งการเกิดโรคทางดิน 4 ชนิด กับต้นคะน้าและมะเขือเทศมากที่สุด ซึ่งภาพรวมแสดงผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 การคลุกเมล็ดด้วยสารชีวภัณฑ์ สูตร 2 แป้งข้าวโพดผสมทัลคัม อัตรา 40 g ต่อเมล็ดพันธุ์ 1 kg และโรยรอบโคนต้นหลังย้ายปลูก 7 วัน อัตรา 15 g/ต้น ในขณะเดียวกันให้ผลใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่ 3 การใช้สารเคมีการค้า โดยทั้ง 3 กรรมวิธี มีค่ายับยั้งการเกิดโรคช่วง 75-85%

4) การประเมินประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์จากผลงานวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ เพื่อให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์วิชาการและเงื่อนไขตามประกาศกระทรวงเกษตรและ สหกรณ์ เรื่องการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรตาม พ.ร.บ. วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 และประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดรายละเอียด หลักเกณฑ์และวิธีการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายก่อนเกษตรกรได้นำไปใช้ประโยชน์ในแปลงเกษตร การขยายผลสู่เกษตรกรรายอื่น จำเป็นต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพให้ครบตามข้อกำหนด และต้องผ่านการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ การประเมินข้อมูลทางด้านพิษวิทยา ทั้งพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรัง ซึ่งต้องมีความปลอดภัยต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2550)

การขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์และฟีโรโมนวัตถุอันตรายทางการเกษตรเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อภาคการเกษตรของไทย เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่ประชากร ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นเวลานานจึงมีการใช้สารเคมีทางการเกษตรเข้ามาช่วยในการดูแลป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อให้ผลผลิตงอกเงยสมบูรณ์ แต่เนื่องจากสารเคมีเป็นวัตถุอันตรายทั้งต่อตัวผู้ผลิต ผู้บริโภค ตลอดจนอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม จึงต้องมีการควบคุม กำหนดมาตรฐานเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดผลเสียต่อทุกฝ่าย ดังนั้นจึงมีการออกกฎหมายควบคุม กฎหมายและกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมวัตถุอันตรายทางการเกษตร (2550) โดยมอบหมายให้กรมวิชาการเกษตรเป็นหน่วยงานที่กำกับควบคุมและดูแล ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2553 เรื่อง กำหนดรายละเอียด หลักเกณฑ์ และวิธีการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย ที่กรมวิชาการเกษตรเป็นผู้รับผิดชอบ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2548

ก. ชื่อการค้าต้องเป็นภาษาไทย จะมีชื่อภาษาต่างประเทศกำกับอยู่ก็ได้ แต่ต้องอ่านออกเสียงให้ตรงกับชื่อภาษาไทย

ข. ชื่อการค้าภาษาไทยต้องมีลักษณะ ดังนี้

(1) ไม่พ้องหรือมุ่งหมายคล้ายปรมาภิไธย และพระนามของพระราชินีหรือพระราชทินนาม

(2) ไม่มีความหมายหยาบคาย

(3) ไม่ซ้ำหรือเหมือนหรือคล้ายชื่อการค้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรของผู้อื่น

(4) เป็นคำหรือข้อความที่ไม่ขัดต่อความสงบเรียบร้อยหรือศีลธรรมอันดี

(5) เป็นคำหรือข้อความอันไม่เล็งถึงลักษณะหรือคุณสมบัติของวัตถุอันตรายทางการเกษตรโดยตรง

ค. วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่มีลักษณะทางกายภาพ สูตร วิธีการ ความเข้มข้น ที่ต่างกัน มีชื่อการค้าต่างกันได้

ง. ผู้ผลิต ผู้นำเข้า ที่มีไว้ในครอบครองเพื่อขายส่งวัตถุอันตรายทางการเกษตร ให้ใช้ชื่อการค้าได้ 1 ชื่อต่อวัตถุอันตราย 1 รายการ

การกำหนดแผนการทดลองและการทดสอบสารพิษตกค้างวัตถุอันตรายทางการเกษตรมีขั้นตอนเบื้องต้น ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2553 ดังนี้ กฎหมายและกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมวัตถุอันตรายทางการเกษตร (2550)

ก. แผนการทดลองสารพิษตกค้างวัตถุอันตรายทางการเกษตร จำนวน 8 ชุด ก่อนเริ่มทดลองประสิทธิภาพของวัตถุอันตรายไม่น้อยกว่า 3 เดือน

ข. แผนการทดลองประสิทธิภาพของวัตถุอันตรายที่ใช้ในการกำจัดแมลงหรือป้องกันกำจัดโรคพืชหรือกำจัดวัชพืช ให้ระบุเรื่องประเภทของการใช้วัตถุอันตรายและตามชนิดพืชที่ใช้ในการทดลอง

(1) สภาพการทดลอง ให้ระบุชนิดพืช ศัตรูพืช สถานที่ ฤดู การวางแผนการทดลองจำนวนซ้ำ ขนาดแปลงย่อย ระยะปลูก การใส่ปุ๋ย และข้อมูลอื่น

(2) กรรมวิธีการใช้ ให้ระบุอัตรา และปริมาณของวัตถุอันตรายที่ใช้ในการทดลอง ชนิดของวัตถุอันตรายที่ใช้เปรียบเทียบ กรรมวิธีทดลอง และข้อมูลอื่น

(3) วิธีการเก็บข้อมูลการทดลอง ระบุบันทึกปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความชื้นสัมพันธ์ บันทึกความเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลันของสภาพอากาศระหว่างทดลอง การตรวจนับแมลง ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม วิธีการประเมินโรค การตรวจนับจำนวน ชนิดของวัชพืช บันทึกน้ำหนักแห้งของวัชพืช การตอบสนองของพืชต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

ค. เมื่อการทดลองประสิทธิภาพวัตถุอันตรายสิ้นสุดลง ให้ผู้ขอทดลองประสิทธิภาพรายงานผลการทดลอง ตามแบบ วอ/วก.4 ภายใน 6 เดือน นับตั้งแต่วันสิ้นสุดการทดลอง และให้ส่งผลรายงานดังกล่าวต่อเจ้าหน้าที่

5) ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ที่จะทดสอบประสิทธิภาพร่วมกับเกษตรกร

จิราพร และคณะ (2562) รายงานผลการทดสอบประสิทธิภาพต้นแบบสารดึงดูดเพลี้ยไฟเบญจมาศในโรงเรือนโดยศึกษาการผลิตสารสังเคราะห์เลียนแบบธรรมชาติและปรับปรุงสูตรการผลิต จากการทดสอบการดึงดูดเพลี้ยไฟด้วยสารผสม MI + Sabinene + Caryophyllene พบว่า สารผสม MI : Sabinene :

Caryophyllene อัตราส่วน 1 : 2 : 2 ให้ผลการดึงดูดเพลี้ยไฟได้มากกว่าในอัตราส่วนอื่น โดยดึงดูดเพลี้ยไฟได้ 70.65% หลังจากเติมสารรักษาสภาพด้วย Butylated hydroxytoluene; BHT ความเข้มข้น 0.5% โดยมวล เพื่อรักษาสภาพ และใช้ paraffin gel เป็นตัวกลางชะลอการระเหยของสาร เมื่อนำไปใช้ร่วมกับขวดพลาสติก วางห่างกัน 4 เมตร เป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการนำไปใช้ดึงดูดเพลี้ยไฟในแปลงปลูกเบญจมาศ

สุมาลี และคณะ (2563) ทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์กำจัดมอดเจาะผลกาแฟ (พีพี-เบ็บ ผลิตจากเชื้อรา *Beauveria bassiana*) เปรียบเทียบ 5 กรรมวิธี แบ่งเป็น แปลงในร่มและแปลงกลางแจ้ง หลังการฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ ครั้งที่ 1 พบการเข้าทำลายมอดเจาะผลกาแฟ 26.77-87.91% ของพื้นที่แปลงทดสอบกลางแจ้งซึ่งสูงกว่าแปลงในร่ม (8.03-45.53%) ผลครั้งที่ 2 มอดเจาะผลกาแฟสร้างความเสียหายสูงสุด 98.53% ในกรรมวิธีที่ไม่มีการจัดการใดของแปลงกลางแจ้ง ส่วนการฉีดพ่นชีวภัณฑ์ 100 g/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน บริเวณแปลงทดสอบในร่มมีค่าน้อยสุด 16.50% โดยเจ้าหน้าที่และเกษตรกรพึงพอใจระดับปานกลาง เนื่องจากต้องกรองสารให้ตกตะกอนก่อนใช้เพื่อลดการเกิดอุดตันของหัวฉีด ในขณะที่เสาวนิตย์ และคณะ (2556) ศึกษาการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรีย *Beauveria bassiana* (Balsamo) เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช พบว่า ประสิทธิภาพเชื้อราบิวเวอเรียทั้ง 4 ไอโซเลทในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อราบิวเวอเรียทั้ง 4 ไอโซเลท ได้แก่ B2 = กรมส่งเสริมการเกษตร, B4 = ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร, BCC 22355 = ศูนย์พันธุวิศวกรรม และ BCC 31578 = ศูนย์พันธุวิศวกรรม มีแนวโน้มในการใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพูได้ดีกว่าเพลี้ยกระโดด สีน้ำตาล หนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม โดยพบว่าเชื้อราบิวเวอเรียสายพันธุ์ชุมพร (B4) ทำให้เพลี้ยแป้งสีชมพูติดเชื้อได้ 96-100%

ชูชาติ และคณะ (2560) ศึกษาและทดสอบต้นแบบชีวภัณฑ์ลดโลหะหนักในดินสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท Ars29 ที่เตรียมโดยใช้วัสดุรองรับเป็น ซีโอไลท์ ภูไมท์ และไดอะตอมไมท์ สามารถลดปริมาณอาซินิคในรูปที่ละลายน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยภูไมท์สามารถลดได้ 87% และไดอะตอมไมท์ลดได้ 43% อย่างไรก็ตามไดอะตอมไมท์ถูกคัดเลือกไว้เป็นวัสดุรองรับหัวเชื้อไอโซเลท Ars29 เนื่องจากคุณสมบัติในการรักษาเซลล์ที่มีชีวิตของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท Ars29 ได้ในระดับที่สูง ต้นทุนการผลิตต่ำ และความสะดวกในการจัดหาเพื่อนำมาใช้งาน ส่วนการคัดเลือกสารตรึงอาซินิค เพื่อลดความสามารถในการเคลื่อนที่ของอาซินิคในดินพบว่า การเติมเฟอร์รัสซัลเฟตและเฟอร์ริคคลอไรด์ 1% w/w สามารถลดปริมาณอาซินิคในรูปที่ละลายน้ำได้ 92% รวมทั้งยังลดปริมาณอาซินิคในรูปที่ถูกดูดซับอย่างหลวมๆ บนผิวดิน 90% นอกจากนี้ยังพบว่าการลดอัตราการใช้เฟอร์รัสซัลเฟต เหลือ 0.1% w/w มีประสิทธิภาพเพียงพอในการลดปริมาณอาซินิคในรูปที่ละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นรูปที่ละลายน้ำและเข้าสู่พืชได้ง่าย สำหรับผลการทดสอบในแปลงปลูกพืช พบว่าการใช้สารเฟอร์รัสซัลเฟตเพื่อตรึงอาซินิค โดยผสมน้ำรดดินก่อนปลูกในอัตรา 0.1% ช่วยลดอาซินิคในรูปที่ละลายน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถลดอาซินิคในรูปที่ละลายน้ำได้มากกว่า 21% และการใช้เชื้อไอโซเลท Ars29 ในรูปแบบชีวภัณฑ์ผงผสมปูน รองก้นหลุมก่อนปลูก อัตรา 1 ช้อนชาต่อหลุม ร่วมกับการใช้เฟอร์รัสซัลเฟต ช่วยลดการดูดอาซินิคในรากและในลำต้นของผักกาดขาวปลีได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสามารถลดปริมาณอาซินิคในรากได้ 21-29% และในลำต้น 28-49% เช่นเดียวกับมะเขือม่วง พบว่าสามารถลดปริมาณอาซินิคในรากได้ 39% และในลำต้น 28% อย่างไรก็ตามไม่พบการปนเปื้อนของอาซิ

นิคในผลของมะเขือม่วงในทุกกรรมวิธี ผลการสุ่มเก็บตัวอย่างปัจจัยการผลิต ได้แก่ น้ำ ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช วัสดุเพาะปลูก และปูนโดโลไมท์ จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวง 10 ศูนย์ 117 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนสารอาซินิค 42 ตัวอย่าง (35.6%) โดยค่าระดับการปนเปื้อนสูง ส่วนใหญ่อยู่ในปุ๋ยอินทรีย์ 22 ตัวอย่าง (71%) จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าการลดปัญหาการปนเปื้อนโลหะหนักอาซินิคบนพื้นที่สูงจำเป็นต้อง 1) ลดหรืองดใช้ปัจจัยการผลิตที่มีการปนเปื้อนโลหะหนักอาซินิค โดยเฉพาะปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมี และ 2) ลดการดูดอาซินิคของพืชปลูก (อาซินิคที่สามารถละลายน้ำได้) โดยบำบัดดินด้วยเชื้อไอโซเลท Ars29 ร่วมกับการใช้ปูนและสารตรึงอาซินิคเฟอร์รัสซัลเฟตก่อนปลูกพืช นอกจากนี้ สุมาลี และคณะ (2561) รายงานผลการใช้เทคโนโลยีการลดปริมาณโลหะหนักในดินบนพื้นที่สูงต่อเนื่อง 2 รอบฤดูกาลปลูกพืช ประกอบด้วย (1) การรองก้นหลุมก่อนปลูกต้นกล้าด้วยผงชีวภัณฑ์ลดปริมาณโลหะหนักในดินที่ผลิตจากไดอะตอมไมท์และปูน อัตรา 1 ช้อนชา และ (2) การราดสารละลาย 0.1% ของเฟอร์รัสซัลเฟต ($Fe2^{+}$) ลงดินบริเวณต้นกล้า พบว่าการทดสอบฤดูกาลปลูกพืชรุ่นที่ 1 มีปริมาณโลหะหนักอาซินิคในดินเพิ่มขึ้นทั้งรูปแบบที่ละลายน้ำ แบบที่จับกันอย่างหลวม และแบบที่จับกันอย่างแข็งแรง ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยการผลิตที่เกษตรกรนำมาใช้ คือ ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยขี้วัว และปุ๋ยขี้หมูมีการปนเปื้อนของโลหะหนักอาซินิคปริมาณที่สูง ส่วนฤดูกาลปลูกพืชรุ่นที่ 2 ปริมาณอาซินิคทั้งหมดในดินของเกษตรกรทั้ง 3 ราย ลดลงจากรุ่นที่ 1 และมีแนวโน้มที่ดีขึ้นโดยเฉพาะเกษตรกรรายที่ 1 ที่ปลูกสลัดคอส เช่นเดียวกับผลการทดสอบในแปลงปลูกพืชของเกษตรกรศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถที่ชูชาติ และคณะ (2560) ดังกล่าวข้างต้น อย่างไรก็ตามควรดำเนินการอย่างต่อเนื่องอีก 2-3 ฤดูกาลปลูก ผลการวิเคราะห์การดูดซับของอาซินิคเข้าสู่ต้นพืชโดยเปรียบเทียบส่วนของต้นพืช (ใบและราก) และชนิดพืช จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่าแต่ละส่วนและชนิดมีการดูดซับปริมาณอาซินิคไม่เท่ากัน โดยไม่พบอาซินิคในกะหล่ำปลีหัวใจ ในขณะที่สลัดคอสและปวยเล้งพบที่ราก ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ สมพร และศวพร (2556) ที่ได้ศึกษาแนวทางการลดการสะสมโลหะหนักในพื้นที่ผลิตผักขอบชุมชนเมือง จ.สระบุรี ทดสอบกับพืชเศรษฐกิจ 4 ชนิด ได้แก่ กระเพรา คะน้า ผักกาดขาวปลี และผักกาดเขียวกวางตุ้ง พบว่าความสามารถในการดูดใช้และสะสมของพืชแต่ละชนิดไม่เท่ากัน โดยกระเพราเป็นพืชที่มีการดูดใช้และสะสมปริมาณโลหะหนักในระดับต่ำไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และยังพบว่าการใช้ปุ๋ยหมักร่วมกับเหล็กออกไซด์ และการใช้หินฟอสเฟต สามารถลดปริมาณแคดเมียมได้

สุมาลี และคณะ (2558, 2559) วิจัยและพัฒนาต้นแบบสารชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคผลเน่า *Phytophthora* sp. ของเสาวรส โดยใช้อาหารเหลวสูตรแป้งถั่วเหลืองผสม $MgSO_4$ 20.3 g/l, $CaCl_2$ 10.2 g/l และ $MnCl_2$ 1.0 g/l (ต้นทุน 3.88 บาท/l) สำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท TChC2 ความเข้มข้นมีค่า 2.15×10^{10} cfu/ml อายุ 3 วัน ในขณะที่วัสดุรองรับเพื่อผลิตชีวภัณฑ์ คือ สูตรแป้งข้าวจ้าว 800 g น้ำมันถั่วเหลือง 5 ml และซูโครส 100 g และสูตร carboxymethyl cellulose (CMC) 20 g และ Talcum 980 g โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคมีค่าสูงสุด 83.90% และ 83.86% ต้นทุนผลิตชีวภัณฑ์ 141.63 และ 46.5 บาท/kg ตามลำดับ ผลการคัดเลือกอัตราการใช้สารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท

TChC2 ในแปลงปลูกของเกษตรกร เปรียบเทียบ 9 กรรมวิธี 3 ราย 3 พื้นที่ โดยนำผลเสาวรสมาบ่มเชื้อภายในห้องปฏิบัติการพบว่าการพ่นชีวภัณฑ์ 250 g/น้ำ 20 l ทุก 5 วัน ไม่ทำให้เสาวรสแสดงอาการผลเน่า รองลงมาคือ สารฟอสโฟนิคแอซิต 50 ml/น้ำ 20 l ทุก 15 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคผลเน่า หลังจากทำการบ่มผลเสาวรสภายในห้องปฏิบัติการ 18.75% การพ่นสารชีวภัณฑ์ 200 g ทุก 3 วัน พบผลเน่า 19.05% และชีวภัณฑ์ 250 g ทุก 3 วัน พบผลเน่า 19.23% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการพ่นสารเคมีตามวิธีการของเกษตรกรที่พบอาการผลเน่า 46.67% หากพิจารณาถึงต้นทุนการใช้งานต่อครั้งที่ฉีดพ่นในพื้นที่ปลูกเสาวรสจำนวน 27 ต้น พบว่า การพ่นชีวภัณฑ์ 250 g/น้ำ 20 l ทุก 5 วัน มีค่าใช้จ่าย 648 บาท ในขณะที่การใช้สารฟอสโฟนิคแอซิด 50 ml/น้ำ 20 l พ่นทุก 15 วัน มีค่าใช้จ่าย 117 บาท และกรรมวิธีของเกษตรกร มีค่าใช้จ่าย 148.5 บาท ซึ่งดูเหมือนว่าการใช้ชีวภัณฑ์มีต้นทุนสูงสุดเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณเทียบเป็นราคาขายผลิตผล (60 บาท/kg) โดยพิจารณาปริมาณผลิตผลเสาวรสก่อนการบ่มที่เท่ากัน คือ 200 kg และราคาที่ขายได้ 60 บาท/kg พบว่าการใช้สารชีวภัณฑ์ได้ผลิตผล 100% มีรายได้สุทธิ ((200x60) - 648) = 11,352 บาท การใช้สารฟอสโฟนิคแอซิดได้ผลิตผล 81% คิดเป็น 162 kg รายได้สุทธิ ((162x60) - 117) = 9,603 บาท ส่วนการใช้สารเคมีได้ผลิตผล 53% คิดเป็น 106 kg จึงมีรายได้สุทธิ ((106x60) - 148.5) = 6,211.5 บาท