บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 นโยบายและแผนยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวกับชีวภัณฑ์และฟีโรโมน

แผนแม่บทภายใต้ยุทธศาสตร์ชาติ เฉพาะประเด็นที่เกี่ยวกับงานวิจัยชีวภัณฑ์เกษตรและฟีโรโมน

1) เกษตรปลอดภัย มุ่งพัฒนาคุณภาพมาตรฐานและระบบการรับรองความปลอดภัย รวมถึงตรวจสอบย้อนกลับให้เป็นที่ยอมรับของตลาดในและต่างประเทศ ส่งเสริมและสนับสนุนการผลิตสินค้าเกษตรที่ได้คุณภาพมาตรฐานความปลอดภัย เพิ่มความสามารถในการเข้าถึงอาหารอย่างทั่วถึงและปลอดภัย สร้างความตระหนักรู้ให้กับผู้ผลิตและผู้บริโภค ส่งเสริมการขยายตลาดบริโภคสินค้าเกษตรปลอดภัย รวมทั้งสนับสนุนการทำเกษตรอินทรีย์ตามวิถีชาวบ้านและต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์ที่ได้มาตรฐานระดับประเทศและระดับสากล

2) เกษตรชีวภาพ สนับสนุนการอนุรักษ์ทรัพยากรชีวภาพทางการเกษตรเพื่อนำไปสู่การผลิตและการสร้างมูลค่าเพิ่ม ส่งเสริมการวิจัยพัฒนาองค์ความรู้และประยุกต์ใช้นวัตกรรมจากภูมิปัญญาท้องถิ่นและเทคโนโลยีที่คำนึงถึงสิ่งแวดล้อมสำหรับใช้แปรรูปสินค้า ส่งเสริมและสนับสนุนการผลิต การแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากฐานเกษตรกรรมและทรัพยากรชีวภาพที่เชื่อมโยงไปสู่ภาคอุตสาหกรรม รวมทั้งส่งเสริมการปลูกพืชสมุนไพรให้เป็นพืชเศรษฐกิจและนำวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ (สำนักงานสภาพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ, 2565)

แผนปฏิบัติการด้านการพัฒนาพื้นที่สูงอย่างยั่งยืน ระยะ 5 ปี พ.ศ. 2566-2570

เน้นสร้างองค์ความรู้และนวัตกรรมการพัฒนาพื้นที่สูงอย่างยั่งยืนภายใต้การบูรณาการของหน่วยงาน โดยมีศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรโครงการหลวง ชนกาธิเบศรดำริ เป็นศูนย์กลาง ประกอบด้วย 4 แผนงานวิจัย ได้แก่ (1) การวิจัยเพื่อการพัฒนาอาชีพที่มั่นคงและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (2) การวิจัยเพื่อการอนุรักษ์และฟื้นฟู ทรัพยากรธรรมชาติ สิ่งแวดล้อมและความหลากหลายทางชีวภาพบนพื้นที่สูง และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน (3) การวิจัยและพัฒนาเพื่อเสริมสร้างความเข้มแข็งของชุมชนบนพื้นที่สูง และ (4) การพัฒนาประสิทธิภาพการบริหารจัดการงานวิจัยบนพื้นที่สูง ทั้งนี้การวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและได้มาตรฐานสากล (ชีวภัณฑ์ ปัจจัยการผลิตชีวภาพ) อยู่ภายใต้แผน 1.1 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมการผลิตและการตลาดของสินค้าเกษตรที่สำคัญบนพื้นที่สูงอย่างครบวงจร เพื่อเพิ่มมูลค่าและความสามารถในการแข่งขันด้วยเทคโนโลยีเศรษฐกิจสีเขียว (BCG) และคาร์บอนสุทธิเป็นศูนย์ (สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง, 2566)

2.2 ระดับความพร้อมเทคโนโลยีการพัฒนาชีวภัณฑ์และฟีโรโมน

แบ่งเป็น 9 ระดับ 3 ช่วง ได้แก่ TRL Level 1-3 การวิจัยพื้นฐาน TRL Level 4-7 การพัฒนาต้นแบบ และ TRL Level 8-9 การผลิตหรือการใช้งานต่อเนื่อง (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2559) โดยผลการจัดกลุ่มต้นแบบผลิตภัณฑ์เทียบ TRL และขั้นตอนวิจัยชีวภัณฑ์และฟีโรโมนของ สวพส. ก่อนส่งมอบให้โรงชีวภัณฑ์ มูลนิธิโครงการหลวง นำไปใช้ประโยชน์ (สุมาลี และคณะ, 2564) สรุปดังนี้ (1) TRL Level 1-3 การวิจัยพื้นฐาน เน้นศึกษาผลงานวิจัยและคัดเลือกรูปแบบผลิตภัณฑ์ และเทคโนโลยีการผลิตที่

เกี่ยวข้อง (2) TRL Level 4 ต้นแบบระดับห้องปฏิบัติการ เน้นศึกษากรรมวิธีการผลิตและวิธีการใช้งานของผลิตภัณฑ์จากชนิดพืชและเชื้อจุลินทรีย์จากความหลากหลายทางชีวภาพบนพื้นที่สูง หรือชนิดสารเคมีสังเคราะห์เลียนแบบสารธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพและความปลอดภัย ในสภาพห้องปฏิบัติการหรือโรงเรือนทดสอบ (3) TRL Level 5 ต้นแบบระดับภาคสนาม เน้นนำต้นแบบระดับห้องปฏิบัติการที่ให้ผลดีตามเกณฑ์ไปประเมินผลการใช้ในสภาพแปลงปลูกพืช และ (4) TRL Level 6 ต้นแบบระดับอุตสาหกรรม เน้นนำต้นแบบระดับภาคสนามที่ให้ผลดีตามเกณฑ์ไปทดลองขยายขนาดการผลิตโดยใช้กระบวนการและเครื่องจักรภายในโรงงานต้นแบบโดยเปรียบเทียบคุณสมบัติเฉพาะของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้กับข้อมูลระดับห้องปฏิบัติการ พร้อมระบุปัญหาและข้อเสอแนะ (หากมี)

2.3 เทคโนโลยีการผลิตและรูปแบบผลิตภัณฑ์

<u>รูปแบบชีวภัณฑ์สำหรับใช้ในการเพาะปลูกพืช</u>

ชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์สำหรับใช้ในการปลูกพืชแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบหลัก ตามลักษณะทางกายภาพ คือ สูตรแห้ง (dry formulations) และสูตรน้ำ (liquid formulations)

รูปแบบ	ข้อดี	ข้อเสีย
สูตรแห้ง	- อายุการเก็บรักษานาน - สะดวกต่อการขนส่งและจัดเก็บ	- บางรูปแบบไม่ละลายน้ำและกระจายตัวไม่ทั่วถึง ไม่สะดวกต่อการฉีดพ่น
สูตรน้ำ	- สามารถผสมและกระจายตัวในน้ำได้ดี เหมาะสำหรับการฉีดพ่น หรือใช้ร่วมกับการให้น้ำพืช	- อายุการเก็บรักษาสั้น และอาจต้องจัดเก็บในอุณหภูมิต่ำเพื่อป้องกันการเสียสภาพและการปนเปื้อน

การผลิตชีวภัณฑ์สูตรแห้งทำได้โดยใช้เทคโนโลยี เช่น spray drying, freeze drying หรือ air drying และอาจเติมสารเสริม เช่น สารยึดเกาะ (binder), สารช่วยกระจาย (dispersant) และสารทำให้เปียก (wetting agents) เป็นต้น รูปแบบชีวภัณฑ์สูตรแห้ง แบ่งตามการใช้งาน ดังนี้ (1) ผงไม่ละลายน้ำ (dust powder) (2) เม็ดไม่ละลายน้ำ (granules) เหมาะสำหรับการใช้งานโดยตรง เช่น รองก้นหลุมก่อนปลูก หรือโรยในแปลงปลูก (3) ผงไม่ละลายน้ำสำหรับเคลือบเมล็ด (dusts for seed dressing) (4) ผงละลายน้ำ (wettable powder) และ (5) เม็ดกระจายตัวในน้ำ (water dispersible granule) เหมาะสำหรับการเจือจางในน้ำก่อนใช้งาน เช่น การฉีดพ่นป้องกันกำจัดแมลงและโรคทางใบ การผลิตชีวภัณฑ์สูตรน้ำ เป็นในรูปแบบ water-based, oil-based, polymer-based หรือสารผสม ซึ่งอาจเติมสารเสริม เช่น สารทำให้คงตัว (stabilizers) สารลดแรงตึงผิว (surfactants) สารสี (coloring agents) สารประกอบป้องกันการแข็งตัว (antifreeze compounds) และสารอาหารเพิ่มเติม เป็นต้น ชีวภัณฑ์รูปแบบของเหลวเหมาะสำหรับการเจือจางในน้ำก่อนใช้งาน (1) อิมัลชัน (emulsions) (2) สารแขวนลอยเข้มข้น (suspension concentrate) (3) สารกระจายตัวของน้ำมัน (oil dispersion) (4) อิมัลชันแบบแขวนลอย (suspo-emulsions) และ (5) สารแขวนลอยแคปซูล (capsule suspension) (Bharti and Ibrahim, 2020)

ฟีโรโมนดึงดูดผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก

หนอนกระทู้ผัก (Common Cutworm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Spodoptera litura* (Fabricius) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของผักตระกูลคะน้า ผักกาด และกะหล่ำ นอกจากนี้ยังทำลายไม้ผล พืชไร่ และไม้ดอก หนอนชนิดนี้มีขนาดใหญ่ สามารถกัดกินใบ ก้าน หรือเข้าทำลายในหัว ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่มใหญ่และแพร่ระบาดรวดเร็วตลอดทั้งปีโดยเฉพาะช่วงฤดูฝน รวมวงจรชีวิตเฉลี่ย 25-35 วัน (สมศักดิ์ และคณะ, 2554)

จิราพร และอภิวัฒน์ (2562 และ 2563) วิจัยต้นแบบฟีโรโมนดึงดูดผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก *S. litura* โดยศึกษาชนิดสารที่มีฤทธิ์ดึงดูดแมลง และวัสดุดูดซับสาร ตลอดจนเปรียบเทียบรูปแบบกับดักที่ใช้ร่วมกับสารล่อดึงดูด ผลการศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในห้องปฏิบัติการและแปลงปลูก พบว่า สูตรการผลิต cis-3-Hexen-1-ol ปริมาตร 95-99% โดยน้ำหนัก ผสมกับวิตามินอี ปริมาตร 1-5% โดยน้ำหนัก ปริมาณ 10 หยด ในวัสดุดูดซับสาร Paraffin Wax ใช้ร่วมกับกับดักแบบสามเหลี่ยมสีขาว มีประสิทธิภาพมากที่สุด

Kawakita และ Sato (2023) ศึกษาการระบาด *S. litura* ในแปลงถั่วเหลือง ด้วยกับดักฟีโรโมนอัตโนมัติที่ติด Internet of Things Camera เปรียบเทียบ 2 รูปแบบกับดัก คือ กรวย และกล่อง โดยฟีโรโมนที่ใช้มีสารผสม (9Z,11E)-9,11-tetradecadienyl acetate และ (9Z,12E)-9,12-tetradecadienyl acetate อัตราส่วน 10:1 ขณะที่ Lee และคณะ (2022) ศึกษาผลการใช้กับดักฟีโรโมนร่วมกับแสง LED สำหรับเพิ่มประสิทธิภาพการดึงดูด *S. exigua* และ *S. litura* ในแปลงปลูกมะเขือเทศ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Lin และคณะ (2017) ศึกษาฟีโรโมนสูตรสารผสม Z9,Z11-14: OAc, Z9,Z12-14: OAc และปี 2018 ศึกษา Sex Pheromone Biosynthesis Pathways ของ *S. litura* ข้อมูลสำรวจพบ Sex Pheromone 4 ชนิด คือ Z9-14:OAc, E11-14:OAc, Z9,E11-14:OAc และ Z9,E12-14:OAc Xu และคณะ (2022) ศึกษารูปแบบกับดักฟีโรโมนดึงดูด *S. litura* ชนิด YL-VT, YL-HEMT และ YL-NMT และแบบอัตโนมัติที่มีจอแสดงรายงานผล AIM และ AIM-lite-A ในแปลงปลูกถั่วเหลือง ส่วน Zhang และคณะ (2016) ศึกษาฟีโรโมนดึงดูดผีเสื้อหนอนกระทู้ที่มีสารผสมจาก (Z)-3-hexen-1-ol พบว่าสามารถดึงดูดได้ดี

สุมาลี และคณะ (2567) ศึกษาสูตรการผลิตฟีโรโมนดึงดูดผีเสื้อหนอนกระทู้ผักจากสารออกฤทธิ์หลักกลุ่ม Aromatic aldehydes ที่ผสมสารตรึงกลิ่น Diplopylene glycol และใช้เม็ดดูดน้ำหอมเป็นวัสดุชะลอการระเหย มีต้นทุนค่าสารต่อชิ้นฟีโรโมน 1.81 บาท ต้นทุนค่ากับดักกาวเหนียวแบบสามเหลี่ยมต่อชิ้น 6 บาท ผลทดสอบในสภาพแปลงปลูกพืชเกษตรกรพบว่าสามารถล่อดึงดูดผีเสื้อหนอนกระทู้ผักเพศเมียและเพศผู้ดีกว่าสูตรเดิม 16.68% โดยใช้ระยะเปลี่ยนกับดัก 28 วัน และระยะติดตั้ง 15 เมตร

ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคราสีเทา *Botrytis cinerea* ของพริก

เชื้อรา *Botrytis cinerea* เป็นกลุ่มเชื้อสาเหตุโรคราสีเทาที่พบมากในพืชผักและไม้ผล เช่น พริก องุ่น สตรอเบอร์รี่ บางครั้งอาจพบราชนิดนี้ในดิน conidia หรือ ascospore ของราสามารถทำลายพืช ระยะแรกราจะเจริญแบบ saprophyte บนเนื้อเยื่อพืชที่เน่าเปื่อยช่วงเวลาสั้นๆ จากนั้นเข้าทำลายเซลล์ส่วนที่บาง สร้างเส้นใย เอนไซม์ cutinases และ lipases เป็นต้น (Boddy, 2016) ทั้งนี้อาการลำต้นและผลเน่าถือเป็นโรคสำคัญที่มักพบระหว่างปลูกพริกหวาน

สุมาลี และคณะ (2562) วิจัยต้นแบบชีวภัณฑ์ผงป้องกันกำจัดโรคลำต้นเน่า *Botrytis* ของพริก โดยแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 262 ไอโซเลท จากพืชสมุนไพรบนพื้นที่สูง ดินบริเวณรากต้นพืชและปุ๋ย ข้อมูลแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 28 และ 98 มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคสูงถึง 90 และ 80% ผลการคัดเลือกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวและสภาวะการเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้อาหารสูตรแป้งถั่วเหลือง pH 6 เลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อสูงสุด 1.30×10^{10} และ 9.30×10^{10} cfu/ml ไม่แตกต่างกับสูตรเมล็ดถั่วเหลืองที่เชื้อเข้มข้น 6.30×10^{10} และ 3.30×10^{10} cfu/ml การผสมเชื้อไอโซเลท 28 กับวัสดุรองรับสูตร 4 corn starch 300 กรัม ผสม talcum 700 กรัม และสูตร 9 แป้งข้าวจ้าว 990 กรัม ผสม carboxymethyl cellulose (CMC) 10 กรัม ได้เชื้อ 2.57×10^{10} และ 1.06×10^{10} cfu/ml ส่วนไอโซเลท 98 เข้มข้น 4.56×10^{10} และ 6.16×10^{10} cfu/ml วัสดุรองรับสูตร 9 ไอโซเลท 28 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคสูงสุด 83.33% หลังทดสอบ 5 วัน เช่นเดียวกับสูตร 4 ไอโซเลท 98 (87.04%) ต้นทุนค่าสารระดับห้องปฏิบัติการต่อกิโลกรัมของสูตร 4 มีค่า 61 บาท และสูตร 9 มีค่า 93.65 บาท เมื่อนำต้นแบบชีวภัณฑ์ไอโซเลท 98 ที่ผลิตด้วยวัสดุรองรับสูตร 4 ไปทดสอบฉีดพ่นอัตรา 70 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ระยะ 3, 7 และ 14 วัน ในแปลงปลูกพริกหวานของเกษตรกร ไม่พบการเกิดโรค จึงสรุปผลไม่ได้ ต่อมาสุมาลี และคณะ (2567) คัดเลือกกรรมวิธีการผลิตผงชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 28 เพิ่มปริมาณด้วยอาหารเหลวสูตรแป้งถั่วเหลืองผสมธาตุอาหารเสริมที่ใส่สารกระตุ้นการสร้างผนังเซลล์ glucose ผสม nitrogen และสารเคลือบผนังเซลล์ Soy protein, Gelatin ผสม Corn starch ก่อนนำสารแขวนลอยเชื้อผสมกับวัสดุรองรับ Carboxymethyl cellulose ผสม Maltodextrin, Corn starch และ Zinc sulphate จากนั้นอบด้วยลมร้อนในตู้ควบคุม ชีวภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณเชื้อ 1.8×10^{10} cfu/ml ความชื้น 10% ต้นทุนค่าสาร 85 บาท/กิโลกรัม สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยราสาเหตุโรค 90% ซึ่งสูงกว่าสูตรเดิม (วัสดุรองรับ Corn Starch และ Talcum) ที่มีปริมาณเชื้อ 1.5×10^{9} cfu/ml ความชื้น 11% และค่าการยับยั้ง 85%

<u>ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคใบจุด *Cercospora* spp.</u>

โรคใบจุดเซอคอส (leaf spot) เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราชั้นสูง *Cercospora* spp. สร้างความเสียหายให้กับพืชผักตระกูลคะน้า ผักกาด และกะหล่ำทุกระยะการเจริญเติบโตโดยเฉพาะสภาพอากาศชื้น นอกจากนี้เชื้อรายังอยู่ข้ามฤดูและปนเปื้อนมากับเมล็ดได้ทำให้การระบาดรุนแรงขึ้น อาการเริ่มแรกเป็นจุดค่อนข้างกลม มีสีเหลืองซีดขอบสีเข้ม ต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม อาจขยายจนมีขนาดใหญ่ กลางแผลมีจุดสีน้ำตาลอ่อน หากรุนแรงแผลจะต่อกันทำให้เกิดอาการใบไหม้ บางครั้งพบว่าต้นกล้าพืชแคระแกร็น

Srimai และ Akarapisarn (2014) ศึกษาเชื้อ *Bacillus subtilis* LBF02 ควบคุมโรคใบจุดจากเชื้อสาเหตุ *Cercospora lactucae-sativae* ในผักกาด ซึ่ง *B. subtilis* LBF02 มีอัตราการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ 80.82% ส่วนประกอบของชีวภัณฑ์แบบผง คือ สารแขวนลอยเซลล์ 40 มิลลิลิตร วัสดุรองรับแป้งข้าวเจ้า 89 กรัม น้ำมันพืช 1 มิลลิลิตร และกลูโคส 10 กรัม หลังฉีดพ่นสามารถป้องกันการเกิดโรคได้และมีอายุเก็บรักษาชีวภัณฑ์มากกว่า 6 เดือน นอกจากนี้ยังศึกษาการใช้สารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อรา *C. arachidicola* ของถั่วลิสง ที่สกัดจากเชื้อ *B. amyloliquefaciens* TA-1 พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 95% ในโรงเรือนทดสอบ (Wang et al., 2023) ขณะที่ Ahmed และคณะ (2023) ทดสอบชีวภัณฑ์ ที่ผลิตจาก *Trichoderma harzianum*,

T. album, *Bacillus subtilis* และ *B. megaterium* ควบคุม *C. beticola* Sacc. แปลงปลูกบีทระบบอินทรีย์ พบว่า *T. harzianum* และ *B. megaterium* มีประสิทธิภาพป้องกันกำจัดโรคใบจุดได้ดี

อังสนา (2555) แยกเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ปฏิปักษ์จากพืชตระกูลกะหล่ำและพืชตระกูลผักกาดหอม ได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ 166 ไอโซเลท และยีสต์ปฏิปักษ์ 38 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพด้วย dual culture technique พบว่าไอโซเลท LBF02, LBF03, SRR02 และ SRF08 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเจริญของเชื้อ *Cercospora* sp. สาเหตุโรคใบจุด 80.82, 79.30, 75.12 และ 73.67% ตามลำดับ ขณะที่ยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท CaMJ-4, BhNH-2, BhNH-4, FiNH-1 และ KaMH-1 มีค่า 50.83, 49.19, 47.50, 45.00 และ 44.17% ต่อมาปี 2556 พัฒนาต้นแบบชีวภัณฑ์ควบคุมโรคใบจุดตากบ *Cercospora* sp. ของผักกาดหอมห่อ โดยพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สูตรผง 1 (F1) ส่วนประกอบคือ แป้งข้าวเจ้า 89 กรัม น้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร และซูโครส 10 กรัม (ต้นทุน 84.4 บาทต่อกิโลกรัม) และสูตรแกรนูล (F2) ส่วนประกอบคือ lactose 96 กรัม PVP (K-30) 2 กรัม และ sodium alginate 2 กรัม (ต้นทุน 397.60 บาทต่อกิโลกรัม) ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลท คือ LBF02 (LBF02 ชีวภัณฑ์สูตร F1) และ B6 (B6 ชีวภัณฑ์สูตร F1 และ B6 ชีวภัณฑ์สูตร F2) มีประสิทธิภาพควบคุมราสาเหตุโรคได้ดีในสภาพโรงเรือนทดสอบ นอกจากนี้ยังมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ลดลงเพียงเล็กน้อยและมีชีวิตอยู่รอดมากกว่า 3 เดือน ขณะที่ยีสต์ปฏิปักษ์มีการรอดชีวิตต่ำ

<u>โรคขอบใบไหม้ *Xanthomonas campestris* ตระกูลกะหล่ำ</u>

เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* เป็นปัญหาสำคัญของพืชตระกูลกะหล่ำ อาการเริ่มแสดงที่ส่วนใบก่อน โดยขอบใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองลามเข้าสู่เส้นกลางใบลักษณะตัววี เส้นใบบริเวณนี้มีสีน้ำตาลเข้ม แห้งเหี่ยวและร่วงจากต้น เมื่อตัดลำต้นตามขวางพบส่วนท่อน้ำเน่ามีสีดำ ส่วนระยะกล้าที่งอกใหม่เกิดอาการเน่าดำที่ขอบใบเลี้ยง กฤติเดช และคณะ (2559) ศึกษาวิธีผลิตชีวภัณฑ์จากเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis TU*-Orga1 ด้วยการนำสารพา kaolin : potassium humate : glucose : $FeSO_4$ สัดส่วน 72:8:1:19 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ผสมกับเชื้อปฏิปักษ์ 10^{13} cfu/ml ปริมาตร 20 มิลลิลิตร/สารพา 1 กิโลกรัม การเก็บรักษาชีวภัณฑ์สภาพอุณหภูมิห้อง (28-33 °C) นาน 12 และ 24 เดือน พบว่าเชื้อปฏิปักษ์มีปริมาณคงเหลือ 10^{12} และ 10^{10} cfu/ml ตามลำดับ ยังคงประสิทธิภาพและส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักคะน้าได้ดี เชื้อนี้กระตุ้นการสร้าง indole-3-acetic acid สูงสุด 15.21 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม น้ำหนักสด และชักนำภูมิต้านทานโรคด้วยการสร้างสาร salicylic acid และ superoxide dismutase 0.79-0.91 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และ 13.43-16.78 ไมโครกรัมแคททีคอล/มิลลิกรัมโปรตีน แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมการกระตุ้นให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรค *X. campestris* pv. *campestris*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *Alternaria* sp. ตามลำดับ เช่นเดียวกับการรายงานของ อนุสรา (2561) ที่พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus cereus* ไอโซเลท N55314 และ *Serratia* sp. ไอโซเลท N43203 ที่แยกจากดินบริเวณรอบรากข้าวมีศักยภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวและยับยั้งแบคทีเรีย *X.oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยกลไกสำคัญคือการกระตุ้นให้เชื้อสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อโรคในสภาวะไนโตรเจนต่ำ และผสมธาตุฟอสเฟตในอาหาร pikovskaya

อังสนา (2555) แยกเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ปฏิปักษ์จากพืชตระกูลกะหล่ำและพืชตระกูลผักกาดหอม ได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ 166 ไอโซเลท และยีสต์ปฏิปักษ์ 38 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Xanthomonas* sp. สาเหตุโรคขอบใบไหม้ด้วยวิธี paper disc พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BAL014, BAL034 และ BAL053 ให้ผลดีที่สุด มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใส 5, 4.86 และ 4.63 มิลลิเมตร ต่อมาปี 2556 พัฒนาเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรผง 1 (F1) ส่วนประกอบคือ แป้งข้าวเจ้า 89 กรัม น้ำมันถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร และซูโครส 10 กรัม (ต้นทุน 84.4 บาทต่อกิโลกรัม) และสูตรแกรนูล (F2) ส่วนประกอบคือ lactose 96 กรัม PVP (K-30) 2 กรัม และ sodium alginate 2 กรัม (ต้นทุน 397.60 บาทต่อกิโลกรัม) พบว่าชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท TKC1 (TKC1 ชีวภัณฑ์สูตร F1) มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* ได้ดีในสภาพโรงเรือนทดสอบ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยังมีปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อยและอยู่รอดมากกว่า 3 เดือน ขณะที่ยีสต์ปฏิปักษ์รอดชีวิตต่ำ

<u>กระบวนการหมักจุลินทรีย์อุตสาหกรรม</u>

กานต์ชนา (2560) กล่าวว่าสมบัติของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเลือกมาใช้ ประกอบด้วย (1) สร้างผลผลิตคงตัวในหนึ่งหน่วยเวลาและมีปริมาณสูง (2) เลี้ยงง่าย โตเร็ว ไม่กลายพันธุ์ (3) ใช้แหล่งคาร์บอนง่ายหลากหลาย และราคาถูก (4) มีความปลอดภัยและไม่ก่อโรค (5) ไม่ผลิตสารพิษและสารที่ไม่มีประโยชน์ระหว่างกระบวนการหมัก (6) ผลิตภัณฑ์หรือสารที่จุลินทรีย์ผลิตต้องง่ายต่อการเก็บเกี่ยวและทำให้บริสุทธิ์ และ (7) ง่ายต่อกระบวนการทำให้เซลล์แตกเมื่อผลิตภัณฑ์ที่ต้องการอยู่ภายในเซลล์ สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อต้องมีสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการสำหรับสร้างมวลชีวภาพ หรือจำเพาะต่อกระบวนการเมแทบอไลท์ มี pH ปริมาณออกซิเจน ความชื้นเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ประกอบด้วย น้ำ แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการสร้างพลังงานและส่วนประกอบเซลล์ ซึ่งบางชนิดต้องการวิตามิน เกลือ และเติมสารควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง *สูตรอาหารของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ คือ $C_4H_7O_2N$ หรือ “ส่วนประกอบน้ำหนักแห้งคิดเป็นคาร์บอน ร้อยละ 48 ไฮโดรเจน ร้อยละ 7 ออกซิเจน ร้อยละ 32 และไนโตรเจน ร้อยละ 14”*

การเลือกวัตถุดิบมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อระดับอุตสาหกรรมควรคำนึงถึงค่าใช้จ่ายและการจัดการ (1) มีคุณภาพ ราคาถูก และหาได้ตลอดปี (2) ง่ายต่อการขนส่งและจัดเก็บ (3) ไม่ต้อง Sterilization และไม่เสื่อมคุณภาพเมื่อถูกความร้อน (4) เกิดฟองเมื่อมีการกวน เพื่อลดความหนืดและเพิ่มออกซิเจน หรือให้อากาศ (5) อัตราการผลิตและปริมาณผลผลิตที่ได้ต่อกรัมของสับสเตรท (6) สิ่งเจือปนและความบริสุทธิ์ (7) ขนาดของโมเลกุลวัตถุดิบที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ง่าย และ (8) ไม่มีสารพิษและมีความปลอดภัย ตัวอย่าง*แหล่งคาร์บอน*จากแป้งและเมล็ดพืช เช่น ข้าวโพด ธัญพืช มันฝรั่ง มันสำปะหลัง ข้าวบาร์เลย์ กากน้ำตาล แป้งและเด็กซ์ทริน เวย์ เซลลูโลส แอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ อัลเคน ไขมัน และน้ำมัน ส่วน*แหล่งไนโตรเจน* ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เจริญเร็วในอาหารที่เป็นอินทรีย์ เช่น น้ำแช่ข้าวโพด กากถั่วเหลือง สารสกัดจากยีสต์ และเปปโตน สำหรับ*แร่ธาตุ* แบ่งเป็น (1) ธาตุอาหารหลัก 7 ตัว ได้แก่ แคลเซียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ โซเดียม คลอรีน และแมกนีเซียม ซึ่งต้องเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ (2) ธาตุอาหารรอง 18 ตัว

ได้แก่ อาร์เซนิก โบรอน โครเมียม โคบอลต์ คอปเปอร์ เหล็ก ไอโอดีน ฟลูออรีน ตะกั่ว ลิเทียม โมลิบดีนัม แมงกานีส นิเกิล ซีลีเนียม ดีบุก วาเนเดียม และซิงค์ โดยอาหารหลายชนิดมีเพียงพออยู่แล้ว

กระบวนการหมัก (Fermentation) หรือ Bioprocessing เริ่มต้นจากการพัฒนาการผลิตในห้องปฏิบัติการจนได้วิธีที่เหมาะสม จากนั้นเข้าสู่การเพิ่มขนาดการผลิต เป็นระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ประกอบด้วย ขั้นตอนหลัก 2 ส่วน คือ (1) กระบวนการขั้นต้น Upstream Processing Stage (USP) คือ การเตรียมวัตถุดิบ การทำให้ปราศจากเชื้อ การเตรียมหัวเชื้อ การเพิ่มจำนวนเซลล์และการผลิตสารโดยใช้ถังหมักหรือถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งเกิดสภาวะใช้อากาศหรือไม่ใช้อากาศ ส่วนที่สำคัญของอุตสาหกรรมขั้นต้น ได้แก่ จุลินทรีย์ วัตถุดิบ และอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมถึงการฆ่าเชื้ออาหารและอุปกรณ์ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักในถังหมัก และ (2) กระบวนการแยกผลิตภัณฑ์ปลายน้ำ Downstream Processing Stage (DSP) คือ ขั้นตอนหลังกระบวนการหมัก เริ่มจากกระบวนการเก็บเกี่ยว การทำลายเซลล์ และการทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ ซึ่งต้องเลือกวิธีที่เหมาะสม รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และปลอดภัย นอกจากนี้ยังรวมถึงกระบวนการกำจัดของเสีย ระหว่างกระบวนการที่ต้องทำได้ง่ายและราคาถูก การขยายขนาดการหมักจุลินทรีย์โดยทั่วไปจะไม่สามารถนำวิธีการและปัจจัยการหมักระดับห้องปฏิบัติการมาใช้กับอุปกรณ์เครื่องมือระดับอุตสาหกรรมได้โดยไม่มีการปรับ แม้ว่าจะทดสอบตัวแปรในการหมักแล้วก็ตาม แต่สิ่งสำคัญ คือต้องรักษาการใช้พลังงานต่อปริมาณของเหลว และปริมาตรการถ่ายโอนให้สม่ำเสมอ การหมักระดับอุตสาหกรรมมักทำในถังขนาดใหญ่ อาจเติมอากาศเพิ่มออกซิเจนในอาหารเหลวเพื่อช่วยการหายใจของเซลล์ ส่วนการหมักที่ไม่ใช้ออกซิเจนไม่จำเป็นต้องเติมอากาศ แต่ต้องกวนบ่อยๆ เพื่อให้จุลินทรีย์แขวนลอย

<u>เทคนิคเอนแคปซูเลชัน (encapsulate)</u>

วิธีนี้ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากช่วยกักเก็บจุลินทรีย์ เพิ่มความคงตัวของเซลล์และอัตราการรอดชีวิต โดยเอนแคปซูเลชันเป็นกระบวนการห่อหุ้มสารแกนกลางด้วยสารห่อหุ้มส่งผลให้เซลล์คงตัว เกิดระบบที่สามารถควบคุมปริมาณ เวลา และบริเวณปลดปล่อยสารจากแกนกลาง จึงสามารถป้องกันการสลายตัวของสาร ลดการทำปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ความร้อน แสง ความชื้น (De Souza et al., 2021) เช่นเดียวกับ Shori (2017) ที่กล่าวว่าเอนแคปซูเลชันป้องกันการดูดความชื้นและทำให้ส่วนผสมค่อยๆ ทำปฏิกิริยากับจุลินทรีย์ ช่วยเพิ่มคุณภาพ เสริมความแข็งแรงให้กับเซลล์จากสภาวะภายนอก ส่วนใหญ่กระบวนการเอนแคปซูเลชันนิยมใช้วัสดุโพลีเมอร์ในกลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์จากธรรมชาติเพื่อก่อเส้นใยและห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์เป็นลักษณะของแคปซูลที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เช่น แป้ง ไคโตซาน เพคติน อัลจิเนต พูลลูแลน เซลลูโลส และเดกซ์แทรน วิธีเคลือบสารแก่น (สารสำคัญ) ดำเนินการได้ 2 แบบ คือ ทางกายภาพและทางเคมี เช่น Coacervation-Phase Separation, Air Suspension, Multiorifice-Centrifugal Process, Pan Coating, Spray Drying และ Spray Congealing, Solvent Evaporation และ Polymerization ซึ่งสารแก่นอาจกระจายหรือละลายในสารเคลือบ วิธีเตรียมไมโครแคปซูลมีหลายแบบขึ้นอยู่กับประเภทของสารแก่นและสารหุ้มซึ่งส่งผลต่อขนาดและคุณสมบัติของไมโครแคปซูลที่ได้ ทั้งนี้เอนแคปซูเลชันแบบ Spray Drying (พ่นแห้ง) และ Spray Congealing (พ่นเย็น) เป็นการพ่นสารปกป้องเซลล์หรือสารเคลือบให้ห่อหุ้มสารแก่นด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อให้เกิดการระเหยของตัวทำละลายจากความร้อนหรือเกิดการแข็งตัวของสารเคลือบจาก

ความเย็นส่งผลให้สารแก่นถูกหุ้มไว้ในสารเคลือบ จากนั้นไมโครแคปซูลจะถูกอากาศพัดและตกลงในส่วนเก็บผลิตภัณฑ์ ข้อดีของเทคนิคนี้ คือ ใช้กับสารที่ไม่คงตัวได้เนื่องจากระยะเวลาการทำไมโครเอนแคปซูเลชันเร็ว หากสารแก่นไม่คงตัวมากในความร้อนให้ใช้ Spray Congealing และสารเคลือบควรเป็นสารที่หลอมเหลวได้ที่อุณหภูมิใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง ปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะของไมโครแคปซูล คือ ความหนืดของสารที่ถูกพ่น อุณหภูมิในส่วนทำแห้ง ความเร็วในการฉีดพ่นและแรงดันอากาศ ขั้นตอนการทำ ดังนี้ (1) เตรียมอิมัลชันจุลินทรีย์และสารปกป้องเซลล์ (2) ใช้แรงดันทำให้สารเกิดละอองฝอยขนาด 10-300 ไมโครเมตร และ (3) ทำให้แห้งโดยผ่านละอองฝอยในอากาศร้อน/อากาศเย็นในช่วงเวลาสั้นไม่กี่วินาทีจนถึงมิลลิวินาที

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการกักเก็บและการรอดชีวิตจุลินทรีย์ คือ ชนิดจุลินทรีย์ สารปกป้องเซลล์หรือสารห่อหุ้ม ปริมาณสารห่อหุ้ม อุณหภูมิขาเข้าและขาออก อัตราเร็วการพ่น สัดส่วนของสูตรสารเคลือบ (กรณีมีมากกว่า 1 ชนิด) ชนิดสารปกป้องเซลล์ของการพ่นแห้งที่นิยม ได้แก่ (1) กลุ่มโปรตีน เช่น Whey Proteins, Soy Protein (2) กลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น Maltodextrin, Corn Starch, Gultinous Rice โดยกลุ่มนี้กักเก็บเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยกว่ากลุ่มโปรตีน แต่มีคุณสมบัติลด Osmotic Stress ขณะให้ความร้อนระหว่างการพ่นแห้ง และ (3) กลุ่มอื่น เช่น Gelatin, Gum Arabic (Huang et al., 2017; Muhammad et al., 2017)

<u>สูตรวัสดุรองรับ</u>

อาทิตยาพัณณ์ (2562) กล่าวว่าวัสดุรองรับเป็นตัวช่วยเพิ่มโอกาสการรอดชีวิตให้กับจุลินทรีย์ ประกอบด้วย (1) สารพา ทำหน้าที่เพิ่มการกระจายตัวและเป็นแหล่งอาหาร ทั้งนี้อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต้อง ≥1 เช่น Vermiculite, Clay, Calcium Sulphate, Mineral Soil, น้ำมันพืช ขี้เลื่อย ข้าวสาลี แป้งมันสำปะหลัง แป้งเจลลาติไนซ์ (2) สารเชื่อมหรือสารยึดเกาะ ทำหน้าที่ช่วยการจับตัวของสารพาและสารป้องกันเซลล์ เช่น แป้งแซนแทนกัม กลูโคสเด็กซ์แตรน เจลลาติน กากน้ำตาล กัวร์กัม เมทิลเซลลูโลส โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เซลลูโลสอซิเตท และ (3) สารป้องกันเซลล์ ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนและเซลล์ที่มีชีวิต เช่น Alpha, Alpha-Trehalose-Borate, Maltodextrin, ซูโครส แลคโตส โซเดียมกลูตาเมต เปปโตน นมผงขาดมันเนย เจลาติน กรดกลูตามิก โซเดียมอะซิเตท

2.4 การประเมินผลและการกำกับมาตรฐานการ

<u>การประเมินการยอมรับ</u>

บัณฑิต และคณะ (2567) กล่าวว่าการยอมรับมีลักษณะคล้ายกระบวนการเรียนรู้และการตัดสินใจ แบ่งเป็น 5 ระดับ ได้แก่ ระดับรับรู้หรือตื่นตัว ระดับสนใจ ระดับประเมินค่า ระดับทดลอง และระดับยอมรับ ส่วนปัจจัยที่ส่งผลต่อความพึงพอใจลูกค้า ประกอบด้วย 3 ประเด็น ได้แก่ (1) คุณภาพสินค้าหรือบริการที่ลูกค้าได้รับเกี่ยวกับการตอบสนองต่อความต้องการส่วนบุคคลและความน่าเชื่อถือ (2) คุณค่าสินค้าหรือบริการที่ลูกค้าได้รับพิจารณาจากคุณภาพกับราคาที่ตั้งไว้และแสดงผลในรูปแบบการร้องเรียนของลูกค้า และความจงรักภักดี หรือการเปลี่ยนไปใช้สินค้าและบริการของคู่แข่งหากเกิดความพึงพอใจต่ำ (3) ความคาดหวังของลูกค้าจากข้อมูลโฆษณาประชาสัมพันธ์หรือคำแนะนำช่วงก่อนและหลังการส่งมอบสินค้าหรือรับบริการ

การขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร

ผลิตภัณฑ์ควรผ่านการพัฒนาสูตรและการทดสอบด้วยกระบวนการตามหลักวิชาการและมาตรฐาน รวมทั้งต้องไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ปลอดภัยต่อผู้ใช้และพืช โดยขั้นตอนหลักในการขอขึ้นทะเบียน ประกอบด้วย (1) การเตรียมเอกสาร: ผู้ผลิตหรือผู้จำหน่ายต้องยื่นแบบคำขอพร้อมเอกสารที่เกี่ยวข้อง เช่น ผลการทดสอบคุณภาพ รายละเอียดสูตรผลิตภัณฑ์ และผลการทดสอบประสิทธิภาพในแปลงปลูก (2) การส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์: ตัวอย่างจะถูกส่งไปทดสอบโดยหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อยืนยันคุณสมบัติและประสิทธิภาพ (3) การตรวจสอบสถานที่ผลิต: เจ้าหน้าที่จะตรวจสอบความเหมาะสมของกระบวนการผลิตและสถานที่เพื่อให้แน่ใจว่าปฏิบัติตามมาตรฐานการผลิต (4) การออกใบอนุญาต: หลังจากผ่านการประเมินทั้งหมด กรมวิชาการเกษตรจะออกใบอนุญาตให้ผลิตและจำหน่าย โดยสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (สคว.) ตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ได้แก่ ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยอินทรีย์ ส่วนชีวภัณฑ์และฟีโรโมน ซึ่งเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 2 ดำเนินงานตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย (ฉบับที่ 4) พ.ศ. 2562 (สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร, 2563)