ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

รหัสโครงการ PRP6405031180

เรื่อง

การพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงผลิตพริกปลอดภัย

Development model of vetiver-based bionematicide on controlling Root-knot nematodes for safe chilli production

โดย

ดร. กานต์สิรี จินดาปัณณาพัฒน์ และคณะวิจัย

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ภายใต้แผนงานวิจัย เกษตรสมัยใหม่

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงผลิตพริกปลอดภัยได้รับทุนอุดหนุนการพัฒนาการวิจัยการเกษตร จากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก.) ปีงบประมาณ 2564 ซึ่งคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ ท่านผู้ทรงคุณวุฒิ ศาสตราจารย์ ดร. สืบศักดิ์ สนธิรัตน์ รองศาสตราจารย์ ดร. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. นพมณี โทปุญญานนท์ ที่พัฒนาโครงการนี้ ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ สอนวิจัย เพื่อให้โครงการวิจัยนี้สามารถตอบโจทย์ความต้องการและดำเนินงานได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณที่ปรึกษาโครงการ รองศาสตราจารย์ ดร. บัญชา ชิณศรี และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนันต์วงเจริญที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาและแนวทางแก้ไขปัญหาตลอดการทำวิจัย ขอขอบคุณทีมวิจัยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือด้วยดีในการวิจัยจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์

คณะผู้วิจัย

การพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงผลิตพริกปลอดภัย

บทคัดย่อ

ผลการดำเนินการวิจัยในภาพรวมของแผนโครงการวิจัยนี้พบว่า ทุกโครงการย่อยสามารถดำเนินการได้แล้วเสร็จตามระยะเวลาที่กำหนด ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ในปีที่ 1 จากผลการศึกษาพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 จากแหล่งปลูกแตกต่างกัน สามารถพบสาร p-coumaric acid และจากการทดสอบอัตราการตายของไส้เดือนฝอยรากปมกับสารดังกล่าวในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า p-coumaric acid สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 69.86 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหญ้าแฝกหอมที่สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 36.78 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า p-coumaric acid เป็นสารกลุ่ม phenolic compound ซึ่งจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมในระบบไบโอรีแอคเตอร์พบว่า ปริมาณ total phenolic compound (TPC) มากที่สุด และนำมาสกัดสาร TPC มีปริมาณสูงเมื่อมีการให้ BA ที่สูงขึ้น หญ้าแฝกหอมในระบบ TIB อายุ 30-45 วัน พบ TPC สูงสุดเท่ากับ 6.7 µg/mg และปริมาณสาร polysaccharide เท่ากับ 65.04 µg/mg เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหญ้าแฝกหอมจากสภาพธรรมชาติให้ปริมาณ TPC อยู่ในช่วง 53.27-98.47 ug/mg และให้ปริมาณสาร polysaccharide อยู่ในช่วง 163.25-329.58 ug/mg จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหญ้าแฝกหอมในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในพริกทั้งระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองพบว่า สารสกัดหญ้าแฝกหอมมีฤทธิ์ในการฆ่า (> 80 เปอร์เซ็นต์) ชะลอการพัฒนาตัวของไส้เดือนฝอยรากปม (>70 เปอร์เซ็นต์) และลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักราก (> 80 เปอร์เซ็นต์) โดยพบว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมไม่มีพิษต่อพริกที่นำมาทดลอง นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พริกเมื่อมีการใช้เป็นปุ๋ยพืชสด และการคลุกผสมดินรองก้นหลุม และเมื่อนำผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมรูปแบบ spray dry มาทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า อัตราการใช้ 50 mg/ml สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีเทียบเท่ากับสารสกัดหญ้าแฝกหอม และเมื่อนำผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมทดสอบกับพริกในสภาพโรงเรือนทดลองพบว่า อัตราการใช้ดังกล่าวสามารถลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักรากได้เท่ากับ 90.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเท่ากับสารสกัดหญ้าแฝกหอม ดังนั้นหญ้าแฝกหอมสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม โดยสามารถถ่ายทอดองค์ความรู้การสกัดสารหญ้าแฝกหอมสู่เกษตรกรที่ประสบปัญหาโรครากปมในแปลงผลิตพริกได้ในอนาคต

ซึ่งการดำเนินงานวิจัยในปีที่ 2 จะมุ่งเน้นในเรื่องการขยายผลสู่แปลงทดลองจริงเพื่อนำมาซึ่งข้อมูลแนวทางการจัดการไส้เดือนฝอยรากปมอย่างเป็นระบบมากขึ้นในสภาพแวดล้อมจริง นำไปสู่ข้อบ่งใช้ผลิตภัณฑ์ รวมถึงการพัฒนามาตรฐานการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอม และกระบวนการผลิตหญ้าแฝกหอมที่สามารถควบคุมสารสำคัญ เพื่อพัฒนาสู่การผลิตเชิงอุตสาหกรรมและพาณิชย์ต่อไป

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Development model of vetiver-based bionematicide on controlling Root-knot nematodes for safe chilli production

Abstract

The actual research outcome of this research project plan reveal that all sub-projects can be completed within the specified timeframe and achieve the year one objectives. According to the study's findings, the chemical composition of the Songkhla 3 vetiver grass species from different planting sites was discovered to contain p-coumaric acid. The mortality rate of root-knot nematodes was examined on these compounds at the laboratory level. It was discovered that p-coumaric acid was able to kill 69.86 percent of root-knot nematodes within 24 hours, compared to 36.78 percent of vetiver extracts. It was revealed that p-coumaric acid belongs to the group of phenolic compounds. The greatest total phenolic compound (TPC) content was found in a research of growing vetiver plants in a bioreactor system, and the quantity of TPC extraction was higher when more BA was administered. Vetiver grass grown in the TIB system at 30 – 45 days of age had the greatest TPC of 6.7 ug/mg and polysaccharide content of 65.04 ug/mg when compared to natural vetiver extract, which had TPC concentration in the range of 53.27 - 98.47 ug/mg and polysaccharide content in the range of 163.25 - 329.58 ug/mg. The efficacy of vetiver extract in controlling root-knot nematodes in chili at both laboratory and greenhouse levels was found that vetiver extract had a killing effect (>80 percent), inhibited root-knot nematode development (>70 percent), and decreased egg number per root weight (>80 percent) without toxicity to the chilli in the experiment. It also enhances the growth of chilli when used as green manure and as a foundation soil mix. When the spray dry version of vetiver extract was evaluated in the lab, it was discovered that a 50 mg/ml application rate was able to kill root-knot nematodes just as effectively as the vetiver extracts. When the vetiver extract products were examined with chili in the laboratories, the afore mentioned application rate reduced the number of eggs per root weight by 90.14 percent, which was the same as the vetiver extract. As a consequence, vetiver grass can be used to produce a solution to tackle root-knot nematodes. Farmers facing root knot disease in chili fields will benefit from the expertise of vetiver grass extraction in the future.

The second year of research will be based on extending the findings into field trials in order to provide information on a more systematic approach to root-knot nematode

management in an actual environment, leading to product indications such as the development of quality control standards for vetiver extract products and the production process of vetiver that can control important substances for further development in industrial and commercial production.

สารบัญเรื่อง

กิตติกรรมประกาศ..... 1
บทคัดย่อ..... 2
Abstract..... 3
สารบัญเรื่อง..... 5
สารบัญตาราง..... 6
สารบัญภาพ..... 7
บทนำ..... 8
วิธีดำเนินการวิจัย..... 20
ผลการวิจัย..... 23
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย..... 30
ข้อเสนอแนะ 31
เอกสารอ้างอิง..... 32

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 กลุ่มชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืช 9
ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปแบบชีวภัณฑ์เชิงการค้าในประเทศไทย..... 10
ตารางที่ 3 ข้อมูลพื้นที่ปลูกพริกของประเทศไทย (2559-2561)..... 17
ตารางที่ 4 ข้อมูลนำเข้า-ส่งออกพริกของประเทศไทย (2559-2561) 18

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 โครงสร้างเคมีหลักของสารสกัดเอทานอลหญ้าแฝกหอมและน้ำมันหอมระเหยหญ้าแฝกหอม โดยการวิเคราะห์สารด้วยวิธี GC-MS 16

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

วิกฤตการณ์ความต้องการอาหารทั่วโลกเพิ่มขึ้น 60 เปอร์เซ็นต์และมีแนวโน้มจะสูงขึ้นเนื่องจากประชากรโลกที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการเร่งผลิตสินค้าทางการเกษตร และกระทบต่อต้นทุนการผลิตทั้ง เมล็ดพันธุ์ ปุ๋ย และ สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่เพิ่มขึ้น พบว่าประเทศไทยมีการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรมีปริมาณ 131,308 ตันและมีมูลค่า 21,168 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) โดยกลุ่มพืชผักมีการใช้สารเคมีในปริมาณค่อนข้างสูง เนื่องจากมีอายุสั้นที่ให้ผลผลิตเร็ว และเป็นที่นิยมทั้งรูปของผักสด ผลิตภัณฑ์แปรรูป มีการบริโภคทั้งในประเทศและยังมีการส่งออก จึงทำให้เกษตรกรมีการเร่งผลิตผักสูงขึ้นด้วยการใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งมีผลทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น และการตกค้างของสารเคมีที่เกินมาตรฐาน ส่งผลต่อคุณภาพที่ไม่ได้มาตรฐานเพื่ออุตสาหกรรมและส่งออก ในปัจจุบันกระแสความนิยมการรักสุขภาพ ประกอบกับสถานการณ์โควิด-19 ทำให้พฤติกรรมผู้บริโภคมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งมีแนวโน้มเรื่องคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการลดการใช้สารเคมีที่ตกค้าง และการบริหารจัดการการผลิต จึงเป็นสิ่งสำคัญของการผลิตพืชผักปลอดภัย

ชีวภัณฑ์ (Biological Control Agent; BCA) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิต จำพวกจุลินทรีย์ที่มีคุณลักษณะและคุณสมบัติเฉพาะเจาะจงแตกต่างกันตามชนิดของเชื้อในการควบคุมศัตรูพืชเพื่อลดการใช้สารเคมี ซึ่งชีวภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ไม่มีสารพิษตกค้าง มีความเฉพาะเจาะจงต่อศัตรูพืช ชีวภัณฑ์บางชนิดอยู่ได้คงทนในสภาพแวดล้อม มีวิธีการใช้เช่นเดียวกับสารเคมี โดยจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชและโรคพืช ได้แก่ เชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งส่วนของเชื้อที่มีชีวิตนำมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ เช่น เชื้อสด สปอร์ ทำให้มีข้อจำกัดในใช้ เช่น ความจำเพาะเจาะจงต่อศัตรูพืชทำให้ไม่สามารถป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชได้อย่างกว้างขวางเท่าสารเคมี และปัจจัยด้านการเก็บรักษามีผลต่อประสิทธิภาพ เช่น ไม่สามารถโดนแสงแดดโดยตรง ไม่สามารถเก็บไว้ได้นานเมื่อมีผลิตขยายเชื้อแล้ว โดยเฉพาะเชื้อสด เก็บในอุณหูมิห้องไม่เกิน 30 วัน ยกเว้นไตรโคเดอร์ม่า ไม่เกิน 7 วัน ส่วนหัวเชื้อเก็บในตู้เย็นช่องธรรมดา ไม่เกิน 3 เดือน และการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของชีวภัณฑ์ต้องอาศัยความชำนาญและการวินิจฉัยได้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเกษตรกรทั่วไปอาจจะไม่สามารถปฏิบัติได้ด้วยตนเอง

ในปัจจุบัน กระบวนการผลิตพืชผักอินทรีย์หรือปลอดภัยอาศัยหลักการป้องกันศัตรูพืชแบบเกษตรผสมผสาน (IPM) เน้นชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืช แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

ตารางที่ 1 กลุ่มชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืช

กลุ่มชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืช	ตัวอย่างชีวภัณฑ์
จุลินทรีย์กำจัดศัตรูพืช	*Trichoderma harzianum* *Bacillus subtilis* *Bacillus thubergensis* *Beauveria*
สิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่	*steinernema carpocapsae* (ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง) *Apanteles risberci* (แตนเบียนหนอน) *Sycanus collaris* (มวนเพชฌฆาต)
Semiochemicals	Pheromone Kairomones
ผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติ	*Azadirachta indica* (สะเดา) *Annona squamosa* (น้อยหน่า) *Chromolaena odorata* (สาบเสือ)

แหล่งที่มา : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2558

ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปแบบชีวภัณฑ์เชิงการค้าในประเทศไทย

ชนิดเชื้อจุลินทรีย์	จุลินทรีย์ปฏิปักษ์[1]	รูปแบบผลิตภัณฑ์		ชนิดศัตรูพืช		ตัวอย่างชื่อทางการค้า
		ส่วนของเชื้อ	รูปแบบ	แมลง	โรคพืช	
เชื้อรา	*Trichoderma harzianum*	สปอร์	ผง เม็ด เกล็ด เชื้อสด		✓	ไตรซาน ไตรโคเทค ยูนิกรีน
	Metarhizium anisopliae	สปอร์	เชื้อสด ผง	✓		เมตาเทค เมธาไรเซียม เมทาซาน พีพี-เมทา
	Beauveria bassiana	สปอร์	ผง เชื้อสด	✓		บูเวริน ซุเปอร์บิวเทค พีพี-เบ็บ
	Neonothopanus nambi	สปอร์และเส้นใย	เชื้อสด หัวเชื้อ		✓	กรมวิชาการเกษตร
แบคทีเรีย	*Bacillus thuringiensis*	ตัวเชื้อ	น้ำเข้มข้น	✓		ฟลอร์แบค เซนทารี เรดแคท
	Bacillus subtilis	ตัวเชื้อ	ผง		✓	สาร์มิน่า ไบโอเบส
	Bacillus amyloliquefaciens	ตัวเชื้อ	ผง		✓	พีพี-บี10
ไวรัส	Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV)	ตัวเชื้อ				เนส-เอ ดีโอเอ ไบโอวี1
ไส้เดือนฝอย	*Steinernema carpocapsae*	ตัวเชื้อ	ผงละลายน้ำ	✓		ยูเนมา นีมาไซท์ นีมาดีโอเอ

แหล่งที่มา: [1]กรมวิชาการเกษตร **ระบุปี

โดยส่วนใหญ่ชีวภัณฑ์เชิงการค้าจะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์กำจัดศัตรูพืช ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบผงหรือสารแขวนลอย เช่น เชื้อราไตรโคเดอร์ม่า เชื้อราบิวเวอเรีย เชื้อแบคทีเรีย BT เชื้อราเมตาไรเซียม ไส้เดือน

ฝอยกำจัดแมลง ซึ่งจะเป็นผลิตภัณฑ์จากส่วนของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีชีวิต เช่น ตัวเชื้อ สปอร์ นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์กำจัดโรคพืชและแมลงแต่ยังไม่ได้พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เชิงการค้า เช่น *Pseudomonas fluroresenes Streptomyces* sp. ยกเว้น *Paecilomyces* spp. ที่มีการพัฒนาเชิงการค้าแล้ว ซึ่งข้อจำกัดของชีวภัณฑ์ในการใช้และการเก็บรักษายังเป็นเหตุผลหนึ่งที่ไม่สามารถผลักดันชีวภัณฑ์ให้เป็นที่สนใจของนักลงทุนเพื่อการผลิตเชิงการค้าได้ ทั้งอายุการใช้งานชีวภัณฑ์นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยภายนอกและสิ่งแวดล้อม ซึ่งบางครั้งเป็นสิ่งที่ไม่สามารถควบคุมได้จากกระบวนการผลิต

ผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติ (Natural product) เป็นผลิตภัณฑ์ที่สกัดจากพืชเป็นส่วนใหญ่ ได้สารสำคัญ เป็นสารออกฤทธิ์เฉพาะทางและมีลักษณะเฉพาะตัวของพืช ซึ่งมีกระบวนการสกัดที่ค่อนข้างแน่นอน ส่งผลต่อคุณภาพที่สม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ มีความปลอดภัยต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม รวมถึงการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบสะดวกใช้ได้ง่าย เนื่องจากสารสำคัญอยู่ในรูปสารอินทรีย์ ดังนั้นรูปแบบการเก็บรักษาจึงไม่ต้องคำนึงความมีชีวิต เพื่อเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน และคงคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ได้นานไม่เสียสภาพ หรือเสื่อมสลาย

เมื่อเปรียบเทียบชีวภัณฑ์กับผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติเมื่อนำมาควบคุมศัตรูพืช พบว่าทั้งสองผลิตภัณฑ์มีข้อดีที่ไม่แตกต่างกัน แต่ชีวภัณฑ์มีข้อจำกัดในการใช้และการเก็บรักษาที่มากกว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติยังมีข้อเสียคือ คุณภาพของวัตถุดิบตั้งต้นมีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ เช่น คุณภาพและปริมาณของพืชที่ไม่เหมาะสมต่อการสกัดสาร รวมทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตของพืชและสารสำคัญที่สะสมในพืช

ดังนั้นการผลิตสารสกัดธรรมชาติให้มีคุณภาพจึงอาจต้องใช้เทคโนโลยีการผลิตพืชเพื่อควบคุมคุณภาพของพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor; TIB) เป็นเทคโนโลยีการผลิตพืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบกึ่งอัตโนมัติที่มีการให้อาหารเหลวในการเพาะเลี้ยงเป็นช่วงเวลาเพื่อไม่ให้ต้นพืชจมอยู่ในอาหารตลอดเวลา (Etienne and Berthouly, 2002) เป็นเทคโนโลยีที่ใช้พื้นที่การผลิตน้อยและได้จำนวนต้นมากกว่าต่อภาชนะเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงพืชบนอาหารแข็ง ซึ่งสามารถควบคุมการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งปริมาณและคุณภาพของพืช และสามารถลดต้นทุนแรงงานและค่าขนส่ง เนื่องจากไม่ใช้แรงงานที่มีความชำนาญและมีความรู้เหมือนกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบนอาหารแข็งแบบเดิม และแรงงานในการทำความสะอาดล้างอาหารแข็งออกจากพืช และไม่จำเป็นขนส่งพืชแบบปลอดเชื้อ นอกจากนี้ ระบบ TIB ทำให้พืชที่เพาะเลี้ยงเจริญได้ดี ได้ต้นจำนวนมากในระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่เร็วขึ้น อีกทั้งยังนำต้นพืชออกปลูกได้ง่ายกว่าเลี้ยงในอาหารแข็ง ทำให้ลดเวลาการทำงานลง (Takayama and Akita, 2005) ซึ่งประเทศไทยระบบ TIB เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่กำลังนำมาผลิตพืชกันอย่างแพร่หลาย เช่น ปทุมมา กล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส อ้อย (นพมณี และคณะ, 2555)

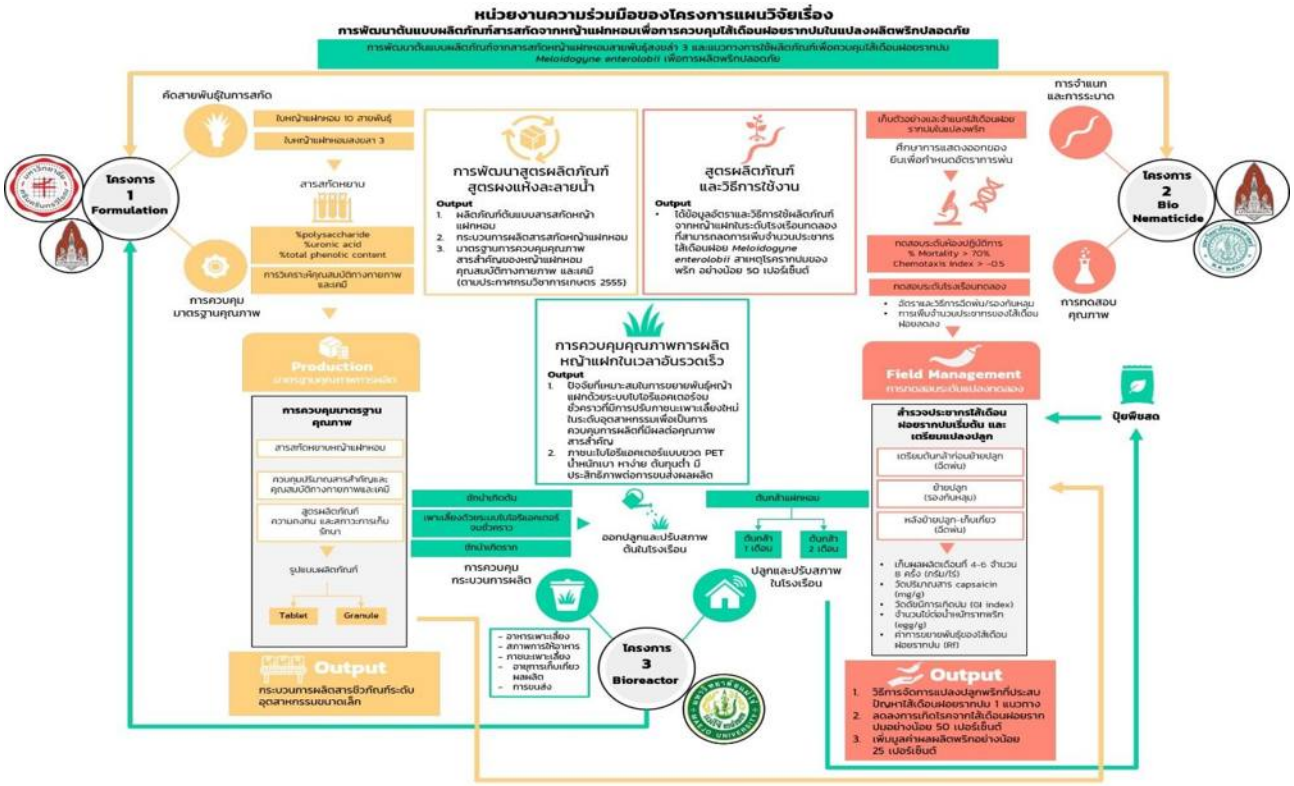
โดยในปัจจุบันผลิตภัณฑ์สารสกัดธรรมชาติในการกำจัดศัตรูพืชที่อยู่ในรูปแบบเชิงการค้ายังมีอยู่น้อยมาก เช่น สารสกัดสะเดา (Neem extract) ซึ่งมีสารสำคัญ *Azadirachtin* มีคุณสมบัติฆ่าแมลง สารสกัดจากน้อยหน่า (Annona extract) ซึ่งมีสารสำคัญ Anonaine alkaloid และ Annonacin มีคุณสมบัติ ฆ่าเหา โดย

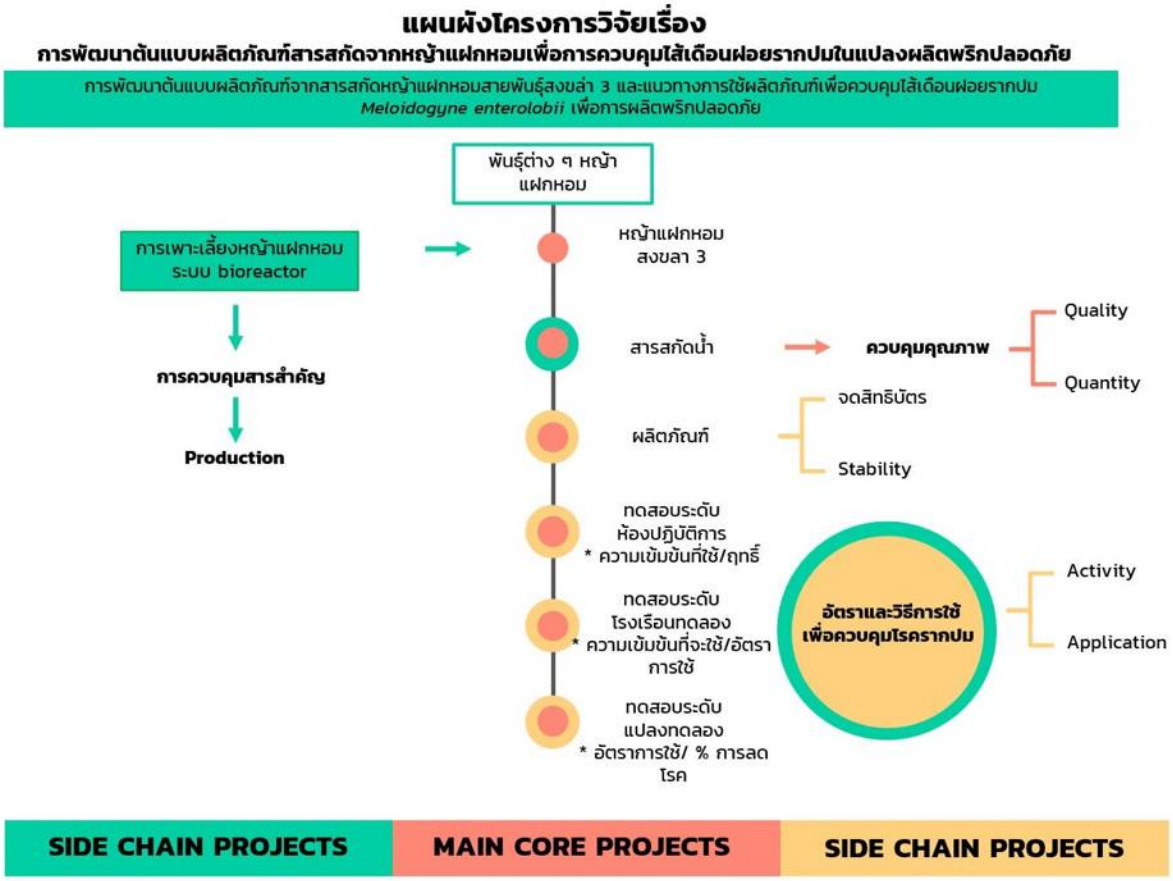
ส่วนใหญ่แล้วเกษตรกรอาศัยภูมิปัญญาเพื่อผลิตสารสกัดธรรมชาติ (สมุนไพร) ในการควบคุมโรคพืชและแมลง อยู่ในรูปของน้ำหมักชีวภาพ ซึ่งบางครั้งอาจไม่มีประสิทธิภาพเนื่องจากขาดความรู้ในเรื่องการสกัดสารที่ได้มาตรฐานส่งผลต่อสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชและแมลง ดังนั้นการพัฒนามาตรฐานกระบวนการผลิตและรูปแบบสารสกัดที่ถูกต้องและได้มาตรฐานจึงเป็นสำคัญในการผลิตสารสกัดเพื่อการควบคุมโรคพืชและแมลง โดยจะส่งผลดีต่อเกษตรกร ทั้งลดการใช้สารเคมี ลดต้นทุนการผลิต ลดสารตกค้างบนผลผลิต ลดผลผลิตไม่ได้คุณภาพเป็นที่ต้องการของตลาด และเพิ่มรายได้ ยังผลถึงการส่งเสริมการจัดการการผลิตพืชที่มีคุณภาพเพื่อการผลิตสารสำคัญที่มีคุณภาพที่ไม่เพียงแต่เพื่อกำจัดศัตรูพืชเท่านั้น ยังหมายรวมถึงอุตสาหกรรมอาหาร เวชภัณฑ์ยาและอาหารเสริมที่กำลังเป็นที่ได้รับความนิยมจากกลุ่มผู้บริโภคที่รักสุขภาพ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบสารสกัดจากหญ้าแฝกหอม สายพันธุ์สงขลา 3 ให้มีความคงสภาพ และมีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne enterolobii*) ในพริก และพัฒนามาตรฐานผลิตภัณฑ์เพื่อการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์กำจัดไส้เดือนฝอย
2. เพื่อพัฒนาต้นแบบการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอม สายพันธุ์สงขลา 3 เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne enterolobii* เพื่อการผลิตพริกปลอดภัย จังหวัดอุบลราชธานี พร้อมทั้งคู่มือ
3. เพื่อพัฒนาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เพื่อเป็นวัตถุดิบที่คงคุณภาพสารสำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ในระดับอุตสาหกรรม

ขอบเขตการวิจัย





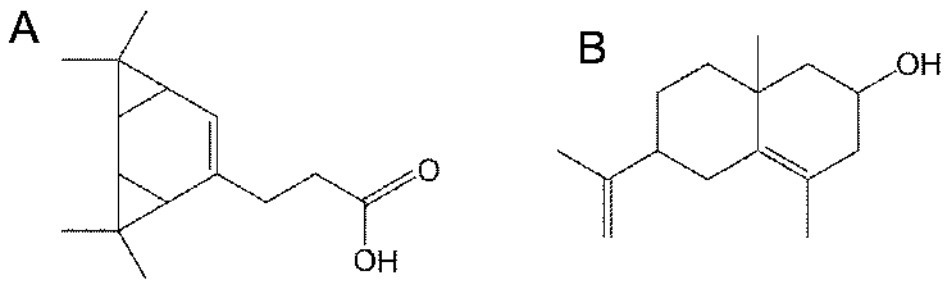
ทฤษฎีและแนวคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย

หญ้าแฝกหอม (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash หรือ *Chrysopogon zizanioides*) อยู่ในวงศ์ Poaceae หญ้าแฝกเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีระบบรากฝอยที่แข็งแรง ยาวหยั่งลึกและแผ่กระจายในดิน จึงสามารถอุ้มน้ำ และยึดเหนี่ยวดินได้ดี (Lim, 2016) หญ้าแฝกต้านทานต่อพืชและแมลงหลายชนิด นอกจากนี้ยังทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่ดี เช่น น้ำท่วม แห้งแล้ง และ ดินที่มีโลหะหนัก ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เป็นผลทำให้หญ้าแฝกถูกใช้เพื่อการจัดการดิน (Maffei, 2002; Truong, 2002; Joy, 2009; Belhassen et al., 2015) ผลิตภัณฑ์มากมายถูกผลิตมาจากหญ้าแฝก เช่น น้ำมันหอมระเหย น้ำหอม อาหาร และเป็นส่วนประกอบของยาสมุนไพร (Chomchalow, 2001; Belhassen et al., 2015; Lim 2016) นอกจากนี้มากกว่า 120 ประเทศทั่วโลกมีการส่งเสริมให้ปลูกหญ้าแฝกเพื่อการอนุรักษ์ดินและน้ำ การลดพังทะลายของดิน การบำบัดน้ำหรือดินที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก อุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (Chomchalow, 2001; Lim, 2016) เนื่องจากประโยชน์ที่หลากหลายของหญ้าแฝกจึงได้มีการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีโดยเน้นไปที่น้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกซึ่งเป็นสารทุติยภูมิ (Rios, 2016) ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยของหญ้าแฝกมีองค์ประกอบมากกว่า 300 สาร โดยมีองค์ประกอบสารหลักคือ sesquiterpene และหมู่ฟังก์ชั่นได้แก่ alcohol hydrocarbons และ ketone (Chapagnat et al., 2006; Leite, 2012; Belhassen et al. 2015; Lim, 2016) สารสกัดจากรากหญ้าแฝกพบสารทุติยภูมิ เช่น alkaloids flavonoids phenols saponins steroids tanins sesquiterpenes terpenoids และ triterpene (Subhadradevi et al., 2010; Aarthi et al., 2014; Krishnaveni, 2016; Kumar and Gayathri, 2016) ส่วนสารสกัดจากต้นหญ้าแฝกพบสาร alkaloids cholesterol flavonoids flavonolignans glycosides phenolic acids phenylpropanoids glycerols saponins steroids tanins terpenoids (Huang et al., 2004; Gao et al. 2012; Prajna et al., 2013; Soni and Dahiya, 2015)

สารของหญ้าแฝกมีประสิทธิภาพต่อศัตรูพืช โดยยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา แมลง เห็ด และ การงอกของพืชได้ ถึงแม้ว่าหญ้าแฝกสามารถเป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอย *Heterodera zeae* แต่รากของหญ้าแฝกต้านทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne Arenaria M. hapla M. incognita* และ *M. javanica* (West et al., 1996; Maffei, 2002; Fourie et al., 2007) ซึ่งไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นปัญหากับพืชเศรษฐกิจทั่วโลก ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะระบบราก ทำให้รากไม่สามารถทำหน้าที่ผิดปกติ ส่งผลต่อผลผลิตของพืช ถึงแม้ว่าหญ้าแฝกจะไม่ใช่พืชอาศัยของไส้เดือนฝอยรากปม และสารสกัดหยาบเอทานอลของหญ้าแฝกไม่มีประสิทธิภาพกับตัวอ่อนระยะที่ 2 *M. incognita* (Wiratno et al., 2009) แต่สารปลดปล่อยจากรากหญ้าแฝกและสารสกัดหยาบของรากหญ้าแฝกสามารถลดการลอกคราบของตัวอ่อนระยะที่ 2 *M. javanica* และมีฤทธิ์ทำให้ไส้เดือนฝอยเป็นอัมพาต (Ahuja et al., 2014) ซึ่งผลการศึกษานี้ยังไม่สามารถพบประสิทธิภาพของพฤกษเคมีหญ้าแฝกได้อย่างแท้จริงและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องระหว่างหญ้าแฝกและไส้เดือนฝอยรากปมยังมีอยู่น้อยมาก และปัจจัยที่มีผลต่อสารสำคัญของหญ้าแฝกทั้งอายุพืช ส่วนของพืช สภาพแวดล้อม สายพันธุ์ รวมทั้งจุลินทรีย์รอบรากหญ้า

แฝกซึ่งอาจจะส่งผลต่อการผลิตสารสำคัญของหญ้าแฝก (Martinez et al., 2004; Adams et al., 2008; Belhassen et al., 2015; Lim, 2016)

ดังนั้นคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้เริ่มดำเนินการศึกษาประสิทธิภาพของหญ้าแฝกควบคู่กับการหาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหญ้าแฝก โดยเริ่มต้นจากรากหญ้าแฝก 2 สายพันธุ์ซึ่งเป็นตัวแทนของกลุ่มพันธุ์หญ้าแฝกของประเทศไทย คือ หญ้าแฝกหอม (สายพันธุ์สงขลา 3) และ หญ้าแฝกดอน (สายพันธุ์ประจวบคีรีขันธ์) พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลรากหญ้าแฝกหอมมีประสิทธิภาพในการฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีกว่าหญ้าแฝกดอน และเมื่อทำทดสอบประสิทธิภาพแบบแยกส่วน ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำ และ เอทานอล รวมทั้งอายุของหญ้าแฝกที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดน้ำของหญ้าแฝกหอมทั้งส่วนใบมีฤทธิ์ฆ่าหรืออัมพาตของไส้เดือนฝอยมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 2 วันแต่ไส้เดือนฝอยสามารถฟื้นกลับเพียง 2 เปอร์เซ็นต์เมื่อมีการล้างสารออกซึ่งผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และหญ้าแฝกหอมอายุ 2 เดือนมีประสิทธิภาพมากกว่าอายุ 1 ปี และ 4 ปี และยังพบว่าสารสกัดน้ำของใบหญ้าแฝกหอมมีฤทธิ์ในการไล่ไส้เดือนฝอย และส่วนสารสกัดรากของหญ้าแฝกหอมมีฤทธิ์ในการไล่ไส้เดือนฝอยเทียบเท่ากับสารสกัดเอทานอลของรากดาวเรืองฝรั่งเศส (Jindapunnapat et al., 2018) เป็นที่ทราบกันดีว่ามีสารสำคัญ **α**-terthienyl ที่สามารถควบคุมปริมาณไส้เดือนฝอยในดินได้เป็นอย่างดี แต่น้ำมันหอมระเหยหญ้าแฝกหอมไม่มีฤทธิ์ในการไล่และฆ่าไส้เดือนฝอย ซึ่งผลการวิเคราะห์องค์ประกอบพฤกษเคมีของสารสกัดเอทานอลของรากหญ้าแฝกหอมอายุ 2 เดือนพบสาร sesquiterpene acid (รูปที่ 1 A) เป็นสารหลักที่มีฤทธิ์ต่อการไล่ไส้เดือนฝอยรากปมแต่สาร sesquiterpene alcohol (รูปที่ 1 B) พบมากที่สุดในน้ำมันหอมระเหยหญ้าแฝกหอม ส่วนผลการวิเคราะห์องค์ประกอบพฤกษเคมีของสารสกัดน้ำของใบหญ้าแฝกหอมพบสารสำคัญหลักคือ polysaccharide และ uronic acid ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 2.66 mg/ml และ 5.94 mg/ml ที่มีฤทธิ์ฆ่าและไล่ไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งจากผลการนำสารสกัดน้ำของใบหญ้าแฝกหอมฉีดพ่นต้นข้าวอายุ 14 วันพบว่าสามารถกระตุ้นยีน OsWRKY45 และ OsPR1a ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิ Salicylic acid ที่มีผลต่อการสร้างความต้านทานแก่พืช และการฉีดพ่นสารสกัดน้ำดังกล่าวยังผลต่อการชะลอการพัฒนาตัวของไส้เดือนฝอยรากปมในรากข้าว ดังนั้นสารสกัดน้ำของใบหญ้าแฝกหอมมีประสิทธิภาพทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม



รูปที่ 1 โครงสร้างเคมีหลักของสารสกัดเอทานอลหญ้าแฝกหอมและน้ำมันหอมระเหยหญ้าแฝกหอม โดยการวิเคราะห์สารด้วยวิธี GC-MS A) sesquiterpene acid 3,3,8,8 tetramethyltricyclo [5.1.0.0(2,4)] oct-5-ene-5-propanoic acid แหล่งที่มา Jindapunnapat et al., 2018

การศึกษาการทำปุ๋ยพืชสดจากใบหญ้าแฝกหอมอายุ 2 เดือนพบว่ามีผลต่อความยาวรากแต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแตงกวาอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถลดจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมได้ถึง 46-67% ที่อัตรา 5% w/w หลังย้ายปลูก 9 วัน พบว่าอัตราดังกล่าวมีผลต่อลดน้ำหนักสดของต้นแตงกวา และความสูงและน้ำหนักสดของรากมะเขือเทศ แต่ไม่มีผลต่อความเจริญเติบโตของพริกอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ 6 สัปดาห์หลังการย้ายปลูกไม่พบความเป็นพิษของปุ๋ยพืชสดจากใบหญ้าแฝกหอมต่อต้นกล้า (Jindapunnapat et al., 2019) นอกจากนี้มีการศึกษาว่าปุ๋ยพืชสดจากใบหญ้าแฝกแห้งที่ 2.25-4.45 ตันต่อเฮกตาร์สามารถเพิ่มอินทรียวัตถุ ความพรุนของดิน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสที่มีประโยชน์กับข้าวโพดได้ผลผลิตที่สูงขึ้น (Xu et al., 2003; Are et al., 2012; Roongtanakiat et al., 2000) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงผลต่อการคุณภาพและการเพิ่มผลผลิตพริก

Meloidogyne enterolobii เป็นไส้เดือนฝอยรากปมที่กำลังได้รับความสนใจจากนักไส้เดือนฝอยทั่วโลก ด้วยเหตุที่สามารถสร้างความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจทั้งในเขตร้อนและกึ่งร้อนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ (Shao et al., 2020) ไส้เดือนฝอยรากปมชนิดนี้สามารถชักนำให้เกิดปมขนาดใหญ่และก่อโรคได้รุนแรงและมีพืชอาศัยกว้าง (Wang, 2015) ซึ่งควบคุมได้ยากกว่าไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และ *M. javanica* (Pinheiro and Pereira, 2012) ไส้เดือนฝอยรากปมชนิดนี้พบครั้งแรกใน *Euterolobium coutortisliquum* ในมณฑลไห่หนาน ประเทศจีน (Yang and Eisenback, 1983) ในพืชผักถูกพบครั้งแรก ณ รัฐเซาเปาโล ประเทศบราซิล ในพริกเขียว (*Capsicum annuum*) พันธุ์ Silver และมะเขือเทศพันธุ์ Andrea และ Debora ซึ่งเป็นสายพันธุ์ต้านทาน *M. incognita* และ *M. javanica* (Carneiro et al., 2001) โดยทั่วไปสายพันธุ์พริกและมะเขือเทศที่ต้านทาน *M. incognita M. javanica* และ *M. arenaria* จะมี *Mi gene* ที่จะกระตุ้นการตอบสนองแบบเฉียบพลัน (hypersensitivity reaction) ในพืชภายใน 12 ชั่วโมงหลังจากถูกเข้าทำลายจากไส้เดือนฝอยแล้วเซลล์พืชเกิดการตาย แต่ไส้เดือนฝอยรากปมชนิดนี้สามารถต้านทาน *Mi gene* ได้ และพบว่าสายพันธุ์พริกทนทาน *M. enterolobii* จะสามารถลดการเข้าราก ชะลอการพัฒนาระยะและการลดจำนวนการสร้างไข่ของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ได้ (Marque et al., 2020) ประเทศไทยพบไส้เดือนฝอยชนิดนี้ครั้งแรกในฝรั่ง ในพื้นที่ จังหวัดสมุทรสาครและนครปฐม (Jindapunnapat et al., 2013) และพริก ในเขตพื้นที่ อำเภอ

เหล่าเสือโคก อำเภอม่วงสามสิบ อำเภอเดชอุดม และอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี (ชนากานต์ และคณะ 2562) โดยจังหวัดอุบลราชธานี มีเกษตรกรปลูกพริกเฉลี่ยครอบครัวละ 1-3 ไร่ ส่วนใหญ่ปลูก 1 ครั้งต่อปี พบข้อมูลพริกเสียหายประมาณ 7,861 ไร่ พบปัญหาโรครากปมจากไส้เดือนฝอยรากปมมากที่สุด ประมาณ 3,000 ไร่ ผลผลิตลดลง 50-100 เปอร์เซ็นต์ เป็นมูลค่าถึง 50-80 ล้านบาท ซึ่งนับว่าสูงมาก แนวทางการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมในพริกโดยลดการใช้สารเคมีจึงมีความสำคัญ (อนงค์นุช และคณะ, ม.ป.ป)

พริก เป็นพืชเศรษฐกิจและผูกพันกับวิถีของมนุษย์มาอย่างยาวนาน เนื่องจากพริกเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหารไทยและนานาชาติ นอกจากรสชาติทางด้านการปรุงอาหารแล้วพริกยังมีประโยชน์ทางยา เช่น สาร carotenoid วิตามินซี วิตามินเอ ไขมัน โปรตีน และ สารเผ็ด (capsaicin) ซึ่งก่อให้เกิดการเพิ่มมูลค่าของพริกในอุตสาหกรรมด้านอาหารเสริมและเวชภัณฑ์ และอุตสาหกรรมการแปรรูปพริก เช่น ซอสพริก เครื่องแกง สำเร็จรูป และน้ำพริก (สุชีลา, 2557) ตลอดจนเป็นสินค้าส่งออกที่นำรายได้เข้าประเทศปีละหลายพันล้านบาท ซึ่งจะพบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี

ประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกพริกและมีพื้นที่เก็บเกี่ยวมากเป็นอันดับ 5 ของโลก และผลิตพริกแดงมากเป็นอันดับ 2 ของโลก แต่อย่างไรก็ตามเนื้อที่ปลูกย้อนหลัง 3 ปี (2559-2561) กลับน้อยลงทุกปี แต่ปริมาณการนำเข้าพริกกลับมากขึ้น รวมถึงปริมาณส่งออกสินค้าแปรรูปของพริกสูงกว่า 3.7 เท่าของปี 2560 (รุ่งนภา, 2562) แสดงให้เห็นถึงความต้องการของพริกในประเทศมีแนวโน้มที่สูงขึ้นแต่ผลผลิตภายในประเทศน้อยลง โดยต้องพึ่งพาการนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปภายในประเทศ เนื่องจากเกษตรกรผู้ปลูกพริกส่วนใหญ่ประสบปัญหาโรคระบาด และใช้สารเคมีในควบคุมกำจัดโรค ส่งผลถึงต้นทุนการผลิตสูงและสารตกค้างบนผลผลิตเกินมาตรฐาน เป็นปัญหาด้านคุณภาพที่ไม่ได้มาตรฐานตามความต้องการของตลาด โดยเฉพาะของกำหนดการเปิดการค้าเสรี (สุชีลา, 2557)

ตารางที่ 3 ข้อมูลพื้นที่ปลูกพริกของประเทศไทย (2559-2561)

พื้นที่ปลูกพริกของประเทศไทย (ไร่)			
ชนิดพริก	2559	2560	2561
พริกขี้หนูผลเล็ก	94,337	85,832	72,350
พริกขี้หนูผลใหญ่	129,126	119,105	105,268
พริกใหญ่	26,227	17,637	13,536
พริกหยวก	2,460	2,219	1,920
รวมพื้นที่ทั้งหมด	253,292	224,939	199,3123

แหล่งที่มา: รุ่งนภา, 2562

ตารางที่ 4 ข้อมูลนำเข้า-ส่งออกพริกของประเทศไทย (2559-2561)

นำเข้า				ส่งออก			
ปี	2559	2561	2562	ปี	2559	2560	2561
พริกสดแช่เย็นจนแข็ง							
ปริมาณ (ตัน)	12,041.84	20,666.05	25,342.50	ปริมาณ (ตัน)	11,011.72	14,931.87	20,349.88
มูลค่า (ล้านบาท)	491.42	846.98	981.66	มูลค่า (ล้านบาท)	183.42	395.09	536.17
พริกบดหรือป่น							
ปริมาณ (ตัน)	5,149.58	4,196.63	8,721.10	ปริมาณ (ตัน)	4,772.27	4,292.76	5,056.95
มูลค่า (ล้านบาท)	511.11	504.88	947.74	มูลค่า (ล้านบาท)	163.86	140.07	220.42
พริกแห้ง							
ปริมาณ (ตัน)	67,250.37	85,735.61	70,090.49	ปริมาณ (ตัน)	4,314.83	7,906.78	8,544.85
มูลค่า (ล้านบาท)	4,681.76	5,228.04	4,455.74	มูลค่า (ล้านบาท)	305.53	388.58	438.18
ซอสพริก							
ปริมาณ (ตัน)	202.45	204.28	419.62	ปริมาณ (ตัน)	12,994.37	12,397.71	54,240.61
มูลค่า (ล้านบาท)	23.18	23.80	61.42	มูลค่า (ล้านบาท)	761.26	753.02	2,800.51

แหล่งที่มา : รุ่งนภา , 2562

ดังนั้นปัญหาข้อจำกัดของการปลูกพริกคือ โรคระบาดด้านโรคและแมลง ยังผลถึงสารพิษตกค้างบนผลพริกเกินมาตรฐาน ซึ่งเป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค และโรคพริกที่สำคัญโรคหนึ่งคือโรครากปม โดยเฉพาะเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne enterolobii* ในแหล่งพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพริกใหญ่อันดับ 1 ใน 5 ของประเทศไทย จากความสำคัญของ *M. enterolobii* ซึ่งสามารถก่อให้เกิดความเสียหายของพริกอย่างกว้างในอนาคตอันใกล้ ดังนั้นจากองค์ความรู้ที่ผ่านมาคณะผู้วิจัยมุ่งเน้นพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดไส้เดือนฝอย ควบคู่กับการพัฒนากระบวนการผลิตพริกในแปลงที่ประสบปัญหาโรครากปม และกระบวนการผลิตหญ้าแฝกหอมที่รวดเร็วและมีคุณภาพเพื่อรองรับการผลิตสารสำคัญของผลิตภัณฑ์กำจัดไส้เดือนฝอย และการผลิตในรูปแบบเชิงการค้า ในประเทศไทยยังไม่มีผลิตภัณฑ์สารสกัด

ธรรมชาติกำจัดไส้เดือนฝอย ซึ่งเป็นโอกาสที่ดีในการพัฒนาและขยายผลผลิตภัณฑ์สำหรับกำจัดไส้เดือนฝอยเชิงการค้า และการเพิ่มมูลค่าหญ้าแฝกหอม ยังผลถึงเกษตรกรผู้ปลูกหญ้าแฝก และประสบปัญหาโรครากปม ได้ใช้ผลิตภัณฑ์กำจัดไส้เดือนฝอยที่ปลอดภัย ส่งผลต่อผลผลิตที่ปลอดภัยและมีคุณภาพตรงตามความต้องการของภาคเอกชน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ได้สูตรผลิตภัณฑ์และกระบวนการควบคุมคุณภาพ คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ทั้งคุณสมบัติทายกายภาพ และเคมีสำหรับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย และการผลิตผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรม
2. ได้ต้นแบบแนวทางการจัดการแปลงพริกที่ประสบปัญหาไส้เดือนฝอยรากปม ได้วิธีการใช้และข้อบ่งใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม และแนวทางการใช้และประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่พร้อมสำหรับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย
3. ได้ระบบการผลิตหญ้าแฝกหอมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว และได้ต้นหญ้าแฝกหอมที่ได้มาตรฐานการผลิตในระดับอุตสาหกรรม
4. ได้คู่มือการผลิตและการใช้สารสกัดหญ้าแฝกหอมด้วยตนเองฉบับเกษตรกรผู้ปลูกพริก หรือ เกษตรกรผู้สนใจ

วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสายพันธุ์หญ้าแฝกหอม และพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอย

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสารสกัดน้ำหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3
    1.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic contents
    1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ Total polysaccharide contents
2. การศึกษาลายพิมพ์ทางเคมีของสารสกัดน้ำหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3
    2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic contents
    2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ Total polysaccharide contents
3. การพัฒนาตำรับสารสกัดหญ้าแฝกหอมด้วยวิธีโฟม-แมท (Foam-Mat)
    3.1 การพัฒนาสูตรตำรับโฟม-แมท (Foam-Mat)
    3.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์โฟม-แมทของหญ้าแฝก
        - ลักษณะภายนอก
        - คุณสมบัติการไหล Angle of repose, Bulk density, Tapped density, Compressibility index และ Hausner ratio
4. การศึกษาเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอมจากการทำแห้งด้วยวิธี โฟม-แมท (Form-Mat) และพ่นละอองฝอย (Spray dry)
    4.1 ความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์
    4.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์
        - คุณสมบัติการไหล
        - ขนาดและรูปทรงผลิตภัณฑ์ Scanning electron microscope (SEM)
        - การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี infrared spectroscopy
    4.3 การศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์
        - การหาปริมาณ Total phenolic contents ในสภาวะการเก็บต่างๆ
        - ความคงสภาพผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์พลาสติก และอลูมิเนียม

โครงการย่อยที่ 2 การพัฒนากระบวนการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne enterolobii* ในแปลงผลิตพริกปลอดภัย

1. การเก็บตัวอย่างและจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงพริก
    1.1 เก็บตัวอย่างและการเลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปม
    1.2 การจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล
2. การศึกษารูปแบบและวิธีการใช้สารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพโรงเรือนทดลอง

2.1 การเก็บและรวบรวมหญ้าแฝกหอม

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.3 การศึกษาอัตราการใส่ปุ๋ยพืชสดจากใบหญ้าแฝกหอมระยะเตรียมแปลงปลูก

2.4 การศึกษาการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ในการส่งเสริมความต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปมของพริกในระยะต้นกล้า

2.5 การแสดงออกของยีนต้านทานต่อการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมระยะต้นกล้า

2.6 การศึกษาอัตราการคลุกผสมใบหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมระยะย้ายปลูก

2.7 การศึกษาอัตราการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมต่อไส้เดือนฝอยรากปมระยะหลังย้ายปลูก

2.8 การศึกษาการให้สารสกัดหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมต่อไส้เดือนฝอยรากปมระยะหลังย้ายปลูก

3. การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญของสารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการ (เพิ่มเติม)

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมในสภาพโรงเรือนทดลอง

โครงการย่อยที่ 3 การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวเพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย

1. การชักนำการเกิดต้นหญ้าแฝกหอม

2. ศึกษาปัจจัยการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (TIB)

2.1 การเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB

- ผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ภาชนะขวดแก้ว 700 มิลลิลิตร
- ผลของ TDZ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB
- ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB
- ผลของจำนวนชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมต่อภาชนะเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ในระยะเพิ่มปริมาณต้น
- ผลของจำนวนชิ้นส่วนต่อภาชนะร่วมกับขนาดความสูงของชิ้นส่วนต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยง ด้วยระบบ TIB

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2.2 การยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดรากด้วยระบบ TIB

- ผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซินต่อการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอม
- ผลของจำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหารต่อการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB ในระยะการยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดราก
- ผลของ NAA และระยะเวลาเพาะเลี้ยงต้อการเกิดรากและการย้ายต้นหญ้าแฝกหอม ออกปลูกในโรงเรือน

2.3 ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตและการเพิ่มปริมาณสารสำคัญของ ต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

- ผลของ BA และระยะเวลาเพาะเลียงต่อการให้ผลผลิตของต้นหญ้าแฝกหอม
- ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโตและระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอม
- ศึกษาหาปริมาณสารสำคัญจากผลผลิตต้นหญ้าแฝกหอม (Total Phenolic Content) การศึกษาหาปริมาณ Total phenolic content
- การศึกษาหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Polysaccharides contents)

3. ตรวจสอบและจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

3.1 แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบ ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภาชนะขวดแก้วปริมาตร 700 มิลลิลิตร

3.2 ระบุชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคทางอณูวิทยา

3.3 สรุปข้อมูล วิเคราะห์แหล่งที่มาและจุดเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ผลการวิจัย

โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสายพันธุ์หญ้าแฝกหอม และพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอย

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสารสกัดน้ำหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3

สารสกัดหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 จาก 5 แหล่ง กาฬสินธุ์ ขอนแก่น มหาสารคาม สกลนคร และสุรินทร์ เมื่อนำมาศึกษาหาปริมาณสารกลุ่มฟินอลลิก พบว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมให้ปริมาณฟีนอลลิกอยู่ในช่วง 53.27-98.47 ug/mg และสารกลุ่มโพลีแซกคาไรด์พบว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมให้ปริมาณโพลีแซกคาไรด์อยู่ในช่วง 163.25-329.58 ug/mg

2. การศึกษาลายพิมพ์ทางเคมีของสารสกัดน้ำหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3

การศึกษาลายพิมพ์ทางเคมีด้วยวิธี High Performance Liquide Chromatography (HPLC) และ Thin Layer Chromatography (TLC) สารสกัดน้ำจากหญ้าแฝกหอมทุกตัวอย่างพบสาร p-coumaric acid รวทั้งสารสักดที่นำไปทำแห้งแบบละอองฝอย

3. การพัฒนาตำรับสารสกัดหญ้าแฝกหอมด้วยวิธีโฟม-แมท (Foam-Mat)

ตำรับโฟม-แมท (Foam-Mat) ได้ประกอบด้วย 1% HPMC และ 0.5% Tween80 เป็นสารก่อโฟม และสารเพิ่มคงตัวของโฟม Maltodextrin DE10 และสารสกัดน้ำจากหญ้าแฝกหอมร้อยละ 2 ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะทางกายภาพที่ดี มีความคงสภาพ

4. การศึกษาเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอมจากการทำแห้งด้วยวิธี โฟม-แมท (Foam-Mat) และพ่นละอองฝอย (Spray dry)

4.1 ความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมจากโฟม-แม**ทสา**มารถละลายน้ำได้ดี มีลักษณะทางกายภาพ และความคงสภาพที่ดีกว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมแบบพ่นละอองฝอย แต่ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกจากโฟม-แมทสามารถเติมสารสกัดจากหญ้าแฝกหอมลงในตำรับได้เพียงร้อยละ 2 ของตำรับทำให้มีสารสำคัญน้อยกว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมแบบพ่นละอองฝอยถึง 20 เท่า

4.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมจากโฟม-แมท (Foam-Mat) และแบบพ่นละอองฝอย (Spray dry) มีคุณสมบัติการไหลที่ดี อนุภาคของผลิตภัณฑ์เมื่อศึกษาด้วยวิธี Scanning electron microscope (SEM) ที่ได้อนุภาคของทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ไม่มีรูปแบบที่แน่นอน ผิวมีความขรุขระ ซึ่งอาจส่งผลถึงการละลายผิวที่ขรุขระสามารถมารถละลายน้ำได้น้อยอาจเกิดจากไฟเบอร์ในการกรองสารสกัดจากสมุนไพร ส่วน Fourier transform infrared spectrophotometer (FTIR) รูปผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 แบบไม่ทำให้โครงสร้างทางเคมีของสารสกัดหญ้าแฝกหอมเปลี่ยนแปลง

4.3 การศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

จากการศึกษาความคงสภาพผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์พลาสติกสีชาและอลูมิเนียมโดยศึกษาจากลักษณะทางกายภาพที่มองเห็น และปริมาณสารฟินอลลิกที่ลดลง พบว่าบรรจุภัณฑ์อลูมิเนียมสามารถช่วยเพิ่มความคงสภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกได้ดีกว่าพลาสติกสีชา

โครงการย่อยที่ 2 การพัฒนากระบวนการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne enterolobii* ในแปลงผลิตพริกปลอดภัย

1. การเก็บตัวอย่างและจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงพริก

1.1 เก็บตัวอย่างและการเลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปม

จากผลการสำรวจแปลงพริก จำนวน 2 อำเภอคือ วารินชำราบ และ เมือง จังหวัดอุบลราชธานี ในพื้นที่ ต.ขี้เหล็ก อ. เมือง พบปัญหาโรครากปมมีการแพร่กระจายในพื้นที่ในระดับที่สูงถึง 92.17 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของการเกิดโรครากปมหรือดัชนีการเกิดปมนั้นแปรผันตรงตามการเจริญเติบโตของพริก โดยเฉพาะพริกแดงมีความอ่อนแอต่อโรครากปมมากกว่าพริกหยวก และพริกหนุ่มที่ปลูกในพื้นที่เดียวกัน โดยพริกแดงที่มีการปลูกมากในพื้นที่เป็นสายพันธุ์อัมพวา ซึ่งจากการสำรวจและทดลองปลูกสายพันธุ์ดังกล่าว พบว่าไม่แสดงอาการของโรครากปมแบบชัดเจนที่ระยะการเจริญเติบโตของพริกอายุ 45-90 วัน และสามารถเห็นอาการของโรครากปมที่ชัดเจนขึ้นเมื่อเริ่มเข้าระยะเก็บผลผลิตอายุ 120 วัน แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาพบว่าถึงแม้จะไม่แสดงอาการเกิดปมแบบชัดเจนแต่ไส้เดือนฝอยรากปมก็สามารถเพิ่มจำนวนในรากพริกสายพันธุ์ดังกล่าวได้

1.2 การจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

จากการศึกษาชนิดของสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยรากปมที่มีการแพร่ระบาดในพื้นที่ทั้ง 2 อำเภอพบว่าไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* เป็นชนิดสายพันธุ์หลักที่พบในพื้นที่ดังกล่าว และสามารถพบได้ตั้งแต่ระยะการเจริญเติบโต จนถึงการเก็บผลผลิตพริก นอกจากนี้ยังพบไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่อยู่ร่วมกันในพื้นที่ อ. เมือง โดยมีอัตราส่วนระหว่าง *M. enterolobii* ต่อ *M. incognita* เท่ากับ 80 : 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการสำรวจพบในระยะเก็บผลผลิตของพริกเท่านั้น

2. การศึกษารูปแบบและวิธีการใช้สารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพโรงเรือนทดลอง

2.1 การเก็บและรวบรวมหญ้าแฝกหอม

ทำการเก็บรวบรวมสายพันธุ์หญ้าแฝกทั้งหมด 11 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์หญ้าแฝกดอน คือ ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครสวรรค์ กำแพงเพชร 1 และ ร้อยเอ็ด สายพันธุ์หญ้าแฝกหอมคือ พระราชทาน สุราษฎร์ธานี ศรีลังกา แม่ฮ่องสอน สงขลา 3 และ กำแพงเพชร 2 ณ โรงเรือนอารักขาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากผลการทดลองการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ต่ออัตราการตายของไส้เดือนฝอยรากปมในระดับห้องปฏิบัติการนั้นพบว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมสามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมทั้ง *M. enterolobii* และ *M. incognita* ได้เท่ากับ 80.93 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับดีมาก โดยสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดีกว่า *M. enterolobii*

2.3 การศึกษาอัตราการใส่ปุ๋ยพืชสดจากใบหญ้าแฝกหอมระยะเตรียมแปลงปลูก

จากผลการทดลองการใช้ใบหญ้าแฝกหอมเป็นปุ๋ยพืชสดที่อัตรา 5 % (w/w) ระยะเตรียมแปลงปลูกสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก และสามารถลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักรากเท่ากับ 95.45 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.4 การศึกษาการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ในการส่งเสริมความต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปมของพริกในระยะต้นกล้า

จากการทดลองการใช้สารสกัดหญ้าแฝกหอมพ่นที่ทุก 3 วัน ระยะต้นกล้า สามารถลดจำนวนและชะลอการพัฒนาระยะของไส้เดือนฝอยรากปมเท่ากับ 71.43 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.5 การแสดงออกของยีนต้านทานต่อการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมระยะต้นกล้า

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานต่อการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมระยะต้นกล้า พบว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมไม่สามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน WRKY33 และ PR1 ได้โดยการพ่นสารสกัดเพียงครั้งแรก แต่อย่างไรก็ตามการทดลองนี้อาจเกิดการผิดพลาดเนื่องจากชุดควบคุมมีการแสดงออกของยีน ดังนั้นอาจจะทำการทดลองใหม่อีกครั้งเพื่อหาข้อสรุปต่อไปในอนาคต

2.6 การศึกษาอัตราการคลุกผสมใบหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมระยะย้ายปลูก

จากการทดลองการคลุกผสมผงใบหญ้าแฝกหอมในอัตรา 5 กรัมรองก้นหลุม ระยะย้ายปลูก สามารถส่งเสริมน้ำหนักต้นสดของพริกและลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักรากเท่ากับ 81.07 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.7 การศึกษาอัตราการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมต่อไส้เดือนฝอยรากปมระยะหลังย้ายปลูก

จากการทดลองการพ่นสารสกัดหญ้าแฝกหอมอัตรา 5.2 mg/ml ทุก 10 วัน ระยะหลังย้ายปลูกสามารถลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักรากเท่ากับ 85.57 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และสามารถชะลอหรือลดการเกิดปมได้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ของระบบราก

2.8 การศึกษาการให้สารสกัดหญ้าแฝกหอมที่เหมาะสมต่อไส้เดือนฝอยรากปมระยะหลังย้ายปลูก

จากการทดลองการให้สารสกัดหญ้าแฝกหอมอัตรา 5.2 mg/ml ทุก 21 วัน ระยะหลังย้ายปลูกสามารถลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักรากเท่ากับ 95.32 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และสามารถลดการเกิดปมได้

3. การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากผลการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าอัตราการใช้ 50 mg/ml ของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมสามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ได้เทียบเท่าอัตรา 5.2 mg/ml ของสารสกัดหญ้าแฝกหอม

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญของสารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการ (เพิ่มเติม)

จากผลการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าแฝกหอมที่มีฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมมากที่สุดคือ p-hydroxybenzoic acid และ p-coumaric acid ที่อัตรา 1 mg/ml สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 80.99 และ 69.86 เปอร์เซ็นต์ภายใน 24 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามสารสำคัญหลายตัวอาจออกฤทธิ์ร่วมกันส่งผลให้เกิดการตายของไส้เดือนฝอยรากปมได้

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมในสภาพโรงเรือนทดลอง

การใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเปรียบเทียบกับสารสกัดหญ้าแฝกหอมพบว่ามีผลต่อการลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักรากไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเท่ากับ 90.14 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นสามารถใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมในอัตรา 50 mg/ml สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้เทียบเท่ากับการใช้สารสกัดหญ้าแฝกหอม

โครงการย่อยที่ 3 การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวเพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย

1. การชักนำการเกิดต้นหญ้าแฝกหอม

การนำชิ้นส่วนจากต้นหญ้าแฝกหอมที่ปลูกอยู่ในดินหรือวัสดุปลูกมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น ควรใช้สาร PPM 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ใส่ลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (1962) ที่มี BA 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นเอนโดรไฟท์จากดินที่เข้าไปอยู่ในลำต้น เนื่องจากเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อน และควรตรวจสอบซ้ำว่าต้นที่ได้ปลอดเชื้อจริงๆ โดยการนำไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี PPM และเมื่อได้ต้นปลอดเชื้อจริงแล้ว จึงทำการเพิ่มปริมาณต้นต่อในระบบอาหารแข็งที่มี BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือระบบ TIB ในอาหารเหลวที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ศึกษาปัจจัยการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (TIB)

2.1 การเพิ่มปริมาณต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB

การใช้ BA ให้จำนวนต้น จำนวนใบ และน้ำหนักสดต่อชิ้นส่วน ดีกว่าการใช้ TDZ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน คือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเมื่อใช้ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงเหมือนกัน จะให้จำนวนต้นเพียง 15.7 ต้น ในขณะที่ BA ให้จำนวนต้น 17.6 ต้น โดย BA ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณ คือ 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเมื่อใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นเป็นต้นเดี่ยว (ความสูง 2.5 ซม.) ควรใช้ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้น

18.3 ต้น ในขณะที่ชิ้นส่วนต้นเดี่ยวที่มีต้นเล็กแตกจากตาข้าง 2 ต้น และกลุ่มต้นเล็ก 3 ต้น (ความสูงประมาณ 1 ซม.) ควรใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้น 23.8 และ 21.1 ต้นต่อชิ้นส่วนตามลำดับ และการใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนมากที่สุดด้วย

การให้อาหารจำนวน 6 ครั้ง นานครั้งละ 5 และ 10 นาที และการให้อาหารจำนวน 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ให้การเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นไม่แตกต่างกัน โดยมีจำนวนต้น 14.3-15.6 ต้นต่อชิ้นส่วน แต่การให้อาหารเป็นเวลานาน ครั้งละ 5-10 นาที มีผลทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้น

จำนวนชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อภาชนะเพาะเลี้ยง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจากกลุ่มต้นจิ๋ว(จำนวน 5 ต้นต่อชิ้นส่วน และมีขนาดความสูงน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร) จำนวน 20, 30 และ 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะในอาหารเหลวที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์ ให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนไม่แตกต่างกัน คือ 12.97-13.97 ต้น แต่เมื่อเทียบต่อภาชนะแล้ว การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจำนวน 40 ชิ้นส่วนต่อภาชนะให้ผลดีที่สุด โดยให้จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อชิ้นส่วนและต่อภาชนะมากที่สุด และยังให้จำนวนต้นต่อภาชนะมากที่สุดด้วย คือ 518.8 ต้น

ขนาดความสูงชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยง การใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยงที่มีความสูง 0.6-2.0 และ 2.1-6.0 ซม. จำนวน 20 และ 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยง 0.6-2.0 เซนติเมตร.จำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมากที่สุด 22.87 ต้น ในขณะที่การใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่มีความสูง 2.1-6.0 เซนติเมตร. จำนวน 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ ให้จำนวนต้น 15.85 ต้นต่อชิ้นส่วน แต่เมื่อเทียบต่อภาชนะแล้ว การใช้ชิ้นส่วนที่มีความสูงทั้ง 2 ขนาด ควรเพาะเลี้ยงจำนวน 30 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ เพราะจะให้จำนวนต้นมากที่สุด คือ 686.1 และ 389.1 ต้นต่อภาชนะ ตามลำดับ มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่า และอัตราส่วนน้ำหนักสดต่อน้ำหนักแห้งน้อยกว่าการใช้ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงจำนวน 20 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ

2.2 การยืดยาวของต้นและชักนำการเกิดรากด้วยระบบ TIB

ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน การใช้ NAA และ IBA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดรากของหญ้าแฝกหอมพบว่า ทั้ง NAA และ IBA ทั้ง 2 ระดับ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน เช่นเดียวกับการไม่ใช้ แต่ NAA ชักนำการเกิดรากได้ดีกว่าการใช้ IBA ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนราก และจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด คือ 25.63 ราก และ 13.53 ต้น ตามลำดับ ให้ความยาวรากและความสูงต้นเหมาะสมต่อการย้ายปลูก และเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น จำนวนราก ความยาวราก และความสูงต้นจะลดลง และเมื่อนำต้นออกปลูกนาน 2 สัปดาห์ ยังให้จำนวนรากและความสูงต้นมากที่สุดถึง 29.33 รากต่อกอ และ 14.29 เซนติเมตร. ตามลำดับ แต่ให้ความยาวรากและจำนวนต้นที่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อได้น้อยกว่า IBA ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง

การใช้ NAA 0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดรากของต้นหญ้าแฝกหอมนาน 2 และ 3 สัปดาห์ สามารถชักนำการเกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด โดยที่ 2 สัปดาห์ การใช้ NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุด คือ 19.53 และ 21.77 รากต่อกอ ตามลำดับ โดย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ให้ความสูงต้นและจำนวนต้นมากกว่า และเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์ NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้จำนวนรากและจำนวนต้นมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 28.93 และ 30.87 รากต่อกอ และ 9.50 และ 10.33 ต้นต่อกอ ตามลำดับ

เมื่อนำต้นกล้าออกปลูกในโรงเรือนนาน 2 สัปดาห์ NAA 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายได้ 100 ทั้งหมด แต่ NAA ความเข้มข้นสูง 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากต่อกอ 21.67-22.00 ต้น และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังให้ความสูงต้นและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุด และเมื่อ NAA ความเข้มข้นสูงขึ้น 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย จำนวนราก ความยาวราก ความสูงต้น และจำนวนต้นจะลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และเมื่อนำต้นกล้าอายุ 3 สัปดาห์ออกปลูก NAA 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากและจำนวนต้นต่อกอมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 28.93 และ 30.87 รากต่อกอ และ 9.50 และ 10.33 ต้นต่อกอ ตามลำดับ และการนำต้นกล้าอายุ 3 สัปดาห์ออกปลูกนี้ การใช้ NAA ให้จำนวนรากใหม่เพิ่มมากขึ้นทุกความเข้มข้น และมากกว่าการไม่ใช้ NAA โดยเฉพาะที่ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากใหม่ที่เพิ่มขึ้นมากถึง 19.43 รากต่อกอ จำนวนครั้งและระยะเวลาการให้อาหาร การให้อาหารจำนวน 6 และ 12 ครั้ง นานครั้งละ 1 และ 5 นาที ให้ผลไม่แตกต่างกันคือ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ให้จำนวนรากและความยาวรากใกล้เคียงกัน

2.3 ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตและการเพิ่มปริมาณสารสำคัญของต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB

ส่วนสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการให้สารสำคัญในต้นหญ้าแฝกหอมที่เพาะเลี้ยงด้วย TIB นั้น พบว่า ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 30-45 วัน มีแนวโน้มให้ Total Phenolic Content (TPC) มากที่สุด โดย BA ความเข้มข้นสูง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ TPC มากกว่า BA ความเข้มข้นต่ำ และการไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเลยนั้น (ชุดควบคุม) มีแนวโน้มให้ TPC มากกว่าการใช้ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดวัตถุดิบหญ้าแฝกหอมที่ได้จากส่วนราก ยังให้ TPC สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากส่วนต้นและใบ และใบสีน้ำตาลที่แห้งตายขณะเพาะเลี้ยงในระยะเพิ่มปริมาณต้นอายุ 1 เดือน ให้ปริมาณ TPC และน้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 6.70 และ 65.04 µg/mg ตามลำดับ และเมื่อนำไปสกัดด้วยวิธีการต้ม จะมีปริมาณ TPC ทั้งหมด เท่ากับ 30.61 µg/mg ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ขอนแก่น (25.02 µg/mg) และใกล้เคียงกับพันธุ์มหาสารคาม (32.29 µg/mg) ที่ได้จากแหล่งปลูกในธรรมชาติ

3. ตรวจสอบและจัดการการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

3.1 แยกเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝกหอมในระบบอาหารแข็งและระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวภาชนะขวดแก้วปริมาตร 700 มิลลิลิตร

การปนเปื้อนแบคทีเรียในระบบอาหารแข็งประกอบด้วยแบคทีเรียในจีนัส *Acinetobacter, Agrobacterium, Bacillus, Burkholderia, Kosakonia, Pantoea* และ *Rhizobium* และการปนเปื้อนแบคทีเรียในระบบ TIB มีสาเหตุสำคัญมาจากเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* การปนเปื้อนของเชื้อราในระบบอาหารแข็งเป็นการปนเปื้อนของเชื้อรามีสาเหตุสำคัญจาก *Fusarium* ในขณะที่การปนเปื้อนของเชื้อราในระบบ TIB เป็นการปนเปื้อน *Cladosporium* และ *Fusarium* ดังนั้นการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกด้วยระบบอาหารแข็งมีสาเหตุจากชิ้นส่วนพืชคือกลุ่มเอนโดไฟท์เป็นสำคัญ ในขณะที่ระบบ TIB มีสาเหตุจากสิ่งแวดล้อม

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน

สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดคือ hydrogen peroxide 6% ในขณะที่ PPM 2 มิลลิลิตร/ลิตร ไม่สามารถทำลาย *Bacillus tequilensis* ส่วนสเตรปโตมัยซิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถทำลาย *B. tequilensis, Burkholderia* และ *Pantoea dispersa* ความเข้มข้นของคาร์เบนดาซิม 1 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงหญ้าแฝกได้อย่างสมบูรณ์

สรุปผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

สารสกัดน้ำจากหญ้าแฝกหอมมีประสิทธิภาพทั้งในด้านการฆ่าและการไล่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ได้อย่างมีประสิทธิภาพและกลุ่มสารสำคัญของสารสกัดน้ำคือ กลุ่มสาร polysaccharide และ uronic acid ที่มีประสิทธิภาพต่อการตายของไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Jindapunnapat และคณะ (2018) และสารสกัดหญ้าแฝกหอมนี้สามารถกระตุ้นสารในกลุ่ม Salicylic acid เพื่อส่งเสริมความต้านทานในข้าวที่มีการถูกไส้เดือนฝอยรากปม *M. graminocola* เข้าทำลายได้ แต่อย่างไรก็ตามการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมาตรฐานและยังคงประสิทธิภาพสูงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน เพื่อสะดวกในการนำไปใช้งานยังต้องมีการพัฒนาต่อยอดเพิ่มเติม

จากองค์ความรู้ดังกล่าวจึงทำให้เกิดแนวความคิดในการพัฒนาต่อยอดในโครงการวิจัย ผลการศึกษาวิจัยโดยภาพรวมของโครงการวิจัยนี้ ที่มีการนำหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 มาใช้เป็นต้นแบบผลิตภัณฑ์เพื่อการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและหาสารสำคัญเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ (marker) ที่นำมาควบคุมมาตรฐานผลิตภัณฑ์ จากศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ในสภาพธรรมชาติที่แตกต่างกันจำนวน 5 แหล่ง (ขอนแก่น สุรินทร์ สกลนคร มหาสารคาม และ กาฬสินธุ์) โดยทั้ง 5 แหล่งพบว่าปริมาณสารฟินอลิกรวม (total phenolic content; TPC) เท่ากับ 53.27-98.47 µg/mg และให้ปริมาณสาร polysaccharide เท่ากับ 163.25-329.58 µg/mg และจากรายงานของ Prajna และคณะ (2013) พบว่าสารสำคัญในกลุ่ม TPC ที่พบในหญ้าแฝกหอมคือ hydroxybenzoic acid gallic acid ferulic acid และ p-coumaric acid และผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสำคัญ p-coumaric acid นั้นมีการพบในหญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สงขลา 3 ทั้ง 5 แหล่งในประเทศไทย โดยมีปริมาณ 144.55-250.02 µg/g ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Gebasha และคณะ (2020) พบ p-coumaric acid เป็นสารสำคัญมากที่สุดในหญ้าแฝก และจากการทดสอบอัตราการตายของไส้เดือนฝอยรากปมกับสารมาตรฐาน p-coumaric acid ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/ml ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า p-coumaric acid สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 69.86 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหญ้าแฝกหอมที่สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 36.78 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น **p-coumaric acid สามารถใช้เป็น marker** ของสารสำคัญในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม และจากการศึกษาครั้งนี้การเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมในสภาวะควบคุมด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ (TIB) พบว่ารากหญ้าแฝกอายุ 1 เดือนมีปริมาณสาร TPC สูงสุดที่ 5.64 µg/mg ในขณะที่ใบหญ้าแฝกหอมอายุ 2 เดือนให้ปริมาณสาร TPC สูงสุดที่ 3.54 µg/mg สอดคล้องกับรายงานของ Gebasha และคณะ (2020) พบว่ารากหญ้าแฝกมี TPC สูงกว่าใบ และจากการศึกษาพบว่าปริมาณ BA 1 mg/ml มีผลต่อเพิ่มปริมาณ TPC เป็น 6.7 µg/mg ที่หญ้าแฝกอายุ 30-45 วัน สอดคล้องกับรายงานของ Jindapunnapat และคณะ (2018) พบว่าใบหญ้าแฝกหอมในสภาพธรรมชาติที่อายุ 2 เดือนสารออกฤทธิ์ฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมมากที่สุด ถึงแม้ว่าปริมาณ TPC ของหญ้าแฝกหอมในระบบ TIB จะน้อยกว่าสภาพธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการเพาะเลี้ยงรากหญ้าแฝกหอมในระบบ TIB สามารถให้

ปริมาณสาร TPC สูงสุดในระยะเวลาเพียง 1 เดือน ในขณะรากหญ้าแฝกหอมในสภาพธรรมชาตินั้นมีความยากต่อการนำไปใช้เนื่องจากความหยั่งลึกของรากและการอุ้มดิน และยากต่อการปราศจากสิ่งปนเปื้อน และเชื้อโรคจากดิน และถ้าใช้รากหญ้าแฝกหอมมาสกัดสารสามารถลดเวลาในการเพาะเลี้ยงเหลือเพียง 1 เดือน และจะเป็นการลดต้นทุนในอนาคต จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงพืช *Ruta graveolens* ในอาหารเลี้ยงที่มีการเพิ่มฮอร์โมนพืชในกลุ่ม auxin และ cytokinin สามารถเพิ่มปริมาณสาร p-coumaric acid ได้ในสภาพควบคุม (Ekiert et al., 2014)

จากการศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดน้ำจากหญ้าแฝกหอม 2 วิธี ได้แก่ วิธีการหมัก 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นวิธีดั่งเดิม สู่การพัฒนาวิธีการสกัดสารใหม่ในโครงการวิจัยนี้ด้วยการต้ม 1 ชั่วโมง โดยใช้ผงใบหญ้าแฝกแห้งต่อน้ำในอัตรา 1: 20 โดยเปรียบเทียบวิธีการสกัด จากการหมักที่ 24 ชั่วโมง และการต้มที่ 1 ชั่วโมงพบว่า ปริมาณ TPC ใกล้เคียงกัน (206-234.6 µg/ml) และ**ผลการวิจัยด้วยเทคนิค HPLC พบว่าปริมาณสาร p-coumaric acid จากการต้มที่ 1 ชั่วโมง มีมากกว่าการหมักที่ 24 ชั่วโมง** ซึ่งหญ้าแฝกหอมในจังหวัดสกลนครพบมากที่สุด (250.02 µg/g) หลังจากนั้นนำสารสกัดน้ำหญ้าแฝกหอมจากทั้ง 2 วิธีการสกัดทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และ *M. enterolobiii* ระดับห้องปฏิบัติการพบว่าสารที่สกัดได้จากทั้ง 2 วิธีสามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมทั้ง 2 ชนิดได้เท่ากับ 80.93% **วิธีการต้มที่ 1 ชั่วโมงมีประสิทธิภาพในควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมไม่แตกต่างกับวิธีการหมักที่ 24 ชั่วโมง** ดังนั้นวิธีการต้มที่ 1 ชั่วโมงจึงสามารถนำมาใช้เป็นวิธีการหลักในการสกัดสารได้ เนื่องจากลดระยะเวลาในการสกัดสาร อีกทั้งปริมาณสารสกัดและสารสำคัญไม่มีการเปลี่ยนแปลง รวมถึงคงประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

การศึกษาอัตราการใช้สารสกัด (ต้ม 1 ชั่วโมง) ระดับโรงเรือนทดลองตามกระบวนการปลูกพริกพบว่าระยะเตรียมแปลงปลูกใช้ใบหญ้าแฝกสดคลุกผสมดินอัตรา 5% w/w ระยะเวลา 4 เดือน สามารถลด 95.43% จำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อน้ำหนักกรัมราก (eggs/g.root) ระยะต้นกล้าใช้สารสกัดพ่นทางใบอัตรา 5.2 mg/ml บนต้นกล้าพริก ทุก 3 วัน ระยะเวลา 45 วัน สามารถลด 71.43% eggs/g.root ระยะย้ายปลูกใช้ผงใบแห้งหญ้าแฝกหอมรองก้นหลุมอัตรา 5 กรัม/ต้น ระยะเวลา 45 วัน สามารถลด 81.07% eggs/g.root และระยะหลังย้ายปลูกใช้สารสกัดพ่นทางใบอัตรา 5.2 mg/ml บนต้นพริก ทุก 10 วัน ระยะเวลา 4 เดือน สามารถลด 85.57% eggs/g.root หรือการให้สารสกัดอัตรา 5.2 mg/ml ทางดินบริเวณโคนต้น ทุก 21 วัน ระยะเวลา 4 เดือน สามารถลด 95.32% eggs/g.root โดยพบว่าสารสกัดหญ้าแฝกหอมไม่มีพิษต่อพริกที่นำมาทดลอง ดังนั้นจาก**การศึกษากระบวนการปลูกพริกต่อรูปแบบการใช้สารสกัดหญ้าแฝกสามารถลดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมอยู่ระหว่าง 71.43-95.43%** เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยรากปม

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์จากสารสกัดหญ้าแฝกหอมมีทั้งหมด 2 ตำรับ คือ Foam-mat และ Spray dry ซึ่งทั้ง 2 สูตรนั้นให้รูปแบบผลิตภัณฑ์แบบผง โดยจากการศึกษาพบว่า Spray dry เป็นสูตรที่สามารถเติมสารสกัดได้มากถึง 20% เมื่อเปรียบเทียบกับ Foam-mat ทำให้ปริมาณการใช้ผลิตภัณฑ์ต่อรอบการใช้ลดน้อยลง **สูตรตำรับผลิตภัณฑ์ Spray dry** คือ ทำการต้มน้ำอัตราส่วน 1:20 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการสกัดซ้ำ นำสารสกัดที่ได้มาระเหยน้ำออกให้เข้มข้น ทำการพ่นแห้งแบบละอองฝอยโดยมีสารช่วย 1%

Maltrodextrin DE โดยน้ำหนัก สำหรับใช้สภาวะ Spray dry คือ inlet 200 องศาเซลเซียส outlet 100 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำผลิตภัณฑ์ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobiii* ระดับห้องปฏิบัติการพบว่า **ความเข้มข้นที่ 50 mg/ml สามารถฆ่าไส้เดือนฝอยรากปมได้เท่ากับ 100%** และพบว่าสูตรตำรับผลิตภัณฑ์นี้**สามารถคงสภาพ และปริมาณ TPC ไม่เปลี่ยนแปลงได้ด้วยบรรจุภัณฑ์อลูมิเนียมฟอยด์**ในสภาพอุณหภูมิ 30 °C ความชื้นสัมพันธ์ 75% ระยะเวลา 30 วัน

การศึกษารูปแบบการใช้**ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมรูปแบบ spray dry** ตามกระบวนการปลูกพริกในอัตรา 50 mg/ml ในสภาพโรงเรือนทดลองพบว่า **สามารถลดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมเท่ากับ 90.14%** eggs/g.root เท่ากับสารสกัดหญ้าแฝกหอมและไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพริก ดังนั้นหญ้าแฝกหอมสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม โดย**แนวทางการใช้ประโยชน์จากงานวิจัย**ของสารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมมีดังนี้

1. **ทางสาธารณะ** (เกษตรพอเพียง) **เหมาะกับเกษตรกรที่มีการปลูกหญ้าแฝกหอมในพื้นที่ตนเอง และลดต้นทุนการผลิต มีเวลาทำสารสกัดด้วยตนเอง** เกษตรกรสามารถนำมาปรับใช้ในพื้นที่ตนเองที่มีการปลูกหญ้าแฝกหอม โดยการถ่ายทอดองค์ความรู้การสกัดสารหญ้าแฝกหอมสู่เกษตรกรที่ประสบปัญหาโรครากปมในแปลงปลูกพริก แต่อย่างไรก็ตามพบว่าข้อจำกัดสารสกัดน้ำที่ไม่สามารถระเหยตัวทำละลายออกนั้นอาจจะมีการเน่าและปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่ายเมื่อปล่อยไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้สารสกัดเสียและเสื่อมประสิทธิภาพได้ง่าย
2. **ทางพานิชย์** เหมาะกับเกษตรกรที่ไม่มีพื้นที่ปลูกหญ้าแฝกหอมหรือไม่สามารถปลูกหญ้าแฝกหอมในพื้นที่ตนเอง **เกษตรกรทั่วไปที่ต้องการความสะดวกต่อการนำไปใช้ มีรูปแบบการใช้ที่รวดเร็ว ไม่เสียเวลา และผลิตภัณฑ์มีคุณภาพได้มาตรฐานการผลิตที่มีการควบคุมสารสำคัญ** และสามารถคงสภาพไม่เสื่อมประสิทธิภาพได้ง่าย ทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม เกษตรกรสามารถเข้าถึงผลิตภัณฑ์ได้ง่าย แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเกษตรกรอาจมีค่าต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น

ดังนั้นแผนการดำเนินงานวิจัยในปีที่ 2 จะมุ่งเน้นกระบวนการผลิตหญ้าแฝกหอมที่เป็นวัตถุดิบสามารถเพิ่มปริมาณสารสำคัญเพื่อนำไปพัฒนามาตรฐานการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม และขยายผลสู่แปลงทดลองจริง ซึ่งนำมาข้อมูลสู่แนวทางการจัดการไส้เดือนฝอยรากปมอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นในสภาพแวดล้อมจริง ข้อบ่งใช้ผลิตภัณฑ์ เพื่อพัฒนาสู่การผลิตเชิงอุตสาหกรรมและพาณิชย์ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสายพันธุ์หญ้าแฝกหอม และพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์สารสกัดจากหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอย

1. การพัฒนาตั้งตำรับผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัดหญ้าแฝกเพื่อการกำจัดไส้เดือนฝอยได้ผลิตภัณฑ์ 2 รูปแบบคือ Foam-mat และ Spray dry พบว่าการตั้งตำรับโดยวิธี Foam-mat จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงสภาพมากกว่า แต่สามารถเติมสารสกัดหญ้าแฝกหอมลงไปในตำรับได้น้อย จึงทำให้ต้องใช้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูงเมื่อนำมาใช้กำจัดไส้เดือนฝอยเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกจากการ Spray dry จะมีปริมาณฟินอลลิกสูงกว่ามาก และมีเทคโนโลยีการผลิตที่การผลิตที่ราคาถูกกว่า แต่ Spray dry ส่งผลต่อการนำไปใช้เนื่องจากมีปริมาณสารช่วย (Maltodextrin DE10) ในตำรับเมื่อนำไปใช้ในแปลงปลูพริกทำให้พริกอายุต่ำกว่า 1 เดือนเกิดอาการใบไหม้ได้

2. บรรจุภัณฑ์ผลิตภัณฑ์ส่งผลต่อความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ด้วยพบว่าบรรจุภัณฑ์อลูมิเนียมจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกคงสภาพได้มากขึ้น

3. p-coumaric acid Phenolic acid เป็นสารสำคัญที่สามารถพบได้ในหญ้าแฝกหอมจากทุกแหล่ง อาจนำมาใช้เป็นสารสำคัญในการประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์จากหญ้าแฝกเพื่อการกำจัดไส้เดือนฝอย

โครงการย่อยที่ 2 การพัฒนากระบวนการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne enterolobii* ในแปลงผลิตพริกปลอดภัย

1. การศึกษากระบวนการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในระดับแปลงทดลองที่พบปัญหาโรครากปม โดยการนำต้นแบบผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอมที่ใช้ลงสู่พื้นที่แปลงเกษตรกรจริง คือ แปลงในมหาวิทยาลัยขอนแก่น แปลงเกษตรกร ตำบลซำสูง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น แปลงเกษตรกร ตำบลขี้เหล็ก อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี โดยการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอมต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงผลิตพริก และประเมินผลผลิตพริกและการลดโรครากปมในแปลงผลิตพริก

2. การศึกษาเพิ่มเติมในส่วนการใช้สารเคมีกำจัดแมลงร่วมกับผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอมต่อการเป็นพิษต่อแมลงโดยเฉพาะเพลี้ยไฟและไรขาว นอกจากนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อไส้เดือนฝอยศัตรูพืชสกุลอื่น หรือ ไส้เดือนฝอยตัวห้ำ โรคทางดิน และแมลงมีประโยชน์ เพื่อนำไปสู่ข้อบ่งใช้ของผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอมต่อไปในอนาคต และการศึกษาปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการใช้ผลิตภัณฑ์หญ้าแฝกหอม เช่น ลักษณะดิน อุณหภูมิ ค่าเป็นกรดด่างของดิน เพื่อศึกษาถึงผลกระทบของผลิตภัณฑ์สารสกัดหญ้าแฝกหอมต่อสภาพแวดล้อม

โครงการย่อยที่ 3 การศึกษาระบบการผลิตต้นหญ้าแฝกหอมในระดับอุตสาหกรรมด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวเพื่อเป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอย

1. ควรมีการดำเนินงานต่อเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นหญ้าแฝกหอมด้วยระบบ TIB เพื่อชักนำให้หญ้าแฝกหอมผลิตสารสำคัญเพิ่มมากขึ้นสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2561.ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตร: ปัจจัยการผลิต. แหล่งที่มา: http://oaezone.oae.go.th/view/1/ปัจจัยการผลิต/TH-TH (05/07/2563)
2. Etienne, H. and M. Berthouly. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 69(3): 215-231.
3. Takayama, S and M. Akita. 2005. Practical aspects of bioreactor application in mass propagation of plants. pp. 61-78. *In* Hvoslef-Eide, A.K. and W. Preil (eds). Liquid Culture Systems for *In Vitro* Plant Propagation. Netherland: Springer, Dordrecht.
4. นพมณี โทปุญญานนท์ พูนพัฒน์ พูนน้อย จาตุพงศ์ วาฤทธิ์ ปิยะ เนียมทรัพย์ นลิน วงศ์ขัตติยะ ศรีกาญจนา คล้ายเรือง รังสิมา อัมพวัน เอกชัย บูรณะไทย และศรีเมฆ ชาวโพงพาง. 2555. ระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม. 242 น. *ใน* รายงานผลการวิจัย. กรุงเทพฯ: คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
5. Lim, T.K. 2016. ***Edible medicinal and non-medicinal plants. vol. 11, modified stems, roots, bulbs,*** Springer International Publishing, Switzerland.
6. Maffei, M. 2002. Introduction to the genus *Vetiveria*. Pp. 1-18 *in* M. Maffei, ed. *Vetiveria:* The genus *Vetiveria.* New York: Taylor & Francis.
7. Truong, P. 2002. Vetiver grass technology. Pp. 114-132 *in* M. Maffei, ed. *Vetiveria*: The genus *Vetiveria*. New York: Taylor & Francis.
8. Joy, R. J. 2009. 'Sunshine' vetivergrass *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. USDA, Natural Resources Conservation Service, Plant Guide.URL: https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_036941.pdf.
9. Belhassen, E., Filippi, J.-J., Brévard, H., Joulain, D., and Baldovini, N. 2015. Volatile constituents of vetiver: A review. Flavour and Fragrance Journal 30:26-82.
10. Chomchalow, N. 2001. The utilization of vetiver as medicinal and aromatic plants with special reference to Thailand. Technical Bulletin No. 2001/1. Office of the Royal Development Projects Board, Bangkok, Thailand.
11. Champagnat, P., Figueredo, G., Calchat, J.-C., Carnat, A.-P., and Bessière, J.-M. 2006. A study on the composition of commercial *Vetiveria zizanioides* oils from different geographic origins. Journal of Essential Oil Research 18:416-422.
12. Leite, B. 2012. Extraction of essential oils from vetiver (*Vetiveria zizanioides*) grass. M.S. thesis, University of KwaZulu- Natal, South Africa.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

13. Subhadradevi, V., Asokkumar, K., Umamaheswari, M., Sivashanmugam, A., and Sankaranand, R. 2010. In vitro antioxidant activity of *Vetiveria zizanioides* root extract. Tanzania Journal of Health Research 12:274-279.
14. Aarthi, N., Murugan, K., Madhiyazhagan, P., Nataraj, T., Nareshkumar, A., Kalimuthu, K., Hwang, J.-S., Barnard, D. R., Wei, H., Chandrasekar, R., and Amsath, A. 2014. Studies on the effect of *Sida acuta* and *Vetiveria zizanioides* against the malarial vector, *Anopheles stephensi* and malarial parasite, *Plasmodium berghei*. International Journal of Pure and Applied Zoology 2:51-60.
15. Krishnaveni, V. 2016. Analysis of chemical components and antimicrobial activity on vetiver extract for home textile applications. Journal of Textile Science and Engineering 6:259-261.
16. Kumar, S. S., and Gayathri, K. 2016. Chemical characterization of *Vetiveria zizanioides* Linn root. International Journal of Pharma and Bio Sciences 7B:689-695.
17. Huang, J., Li, H., Yang, J., Chen, Y., Liu, Y., Li, N., and Nie, C. 2004. Chemical components of *Vetiveria zizanioides* volatiles. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao (The Journal of Applied Ecology) 15:170-172.
18. Gao, G.-C., Lu, Z.-X., Xu, H.-X., Zheng, X.-S., and Yang, Y.-J. 2012. Chemical constituents from the aerial parts of *Vetiveria zizanioides*. Chemistry of Natural Compounds 48:128-129.
19. Prajna, J., Richa, J., and Dipjyoti, C. 2013. HPLC quantification of phenolic acids from *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash and its antioxidant and antimicrobial activity. Journal of Pharmaceutics 2013: Article ID 240472, 6 pages.
20. Soni, A. and Dahiya, P. 2015. Screening of phytochemicals and antimicrobial potential of extracts of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites karka* against clinical isolates. International Journal of Applied Pharmaceutics 7:22-24.
21. West, L., Sterling, G., and Truong, P. N. 1996. Resistance of vetiver grass to infection by root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). The Vetiver Network Newsletter 20:20-22.
22. Fourie, H., Leswifi, C., McDonald, A. H. and Waele, D. D. 2007. Host suitability of vetiver grass to *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. Nematology 9:49-52.
23. Wiratno, Taniwiryono, D., Van den Berg, H., Riksen, J. A. G., Rietjens, I. M. C. M., Djiwanti, S. R., Kammenga, J. E., and Murk, A. J. 2009. Nematicidal activity of plant

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. The Open Natural Products Journal 2:77-85.

24. Adams, R. P., Nguyen S., Johnston, D. A., Park, S., Provin, T. L., and Habte, M. 2008. Comparison of vetiver root essential oils from cleansed (bacteria- and fungus-free) vs. non-cleansed (normal) vetiver plants. Biochemical Systematics and Ecology 36:177-182.
25. Jindapunnapat, K., N. D. Reetz, M. H. MacDonald, G. Bhagavathy, B. Chinnasri, N. Soonthornchareonnon, A. Sasnarukkit, K. R. Chauhan, D. J. Chitwood and S. L. F. Meyer. 2018. Activity of vetiver extracts and oil against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita.* Journal of Nematology. 50(2): 147-162.
26. Xu, L., Lu, S., and Truong, P. Vetiver system for agriculture production. 2003. In: Proceedings of the Third International Conference on Vetiver and Exhibition, Guangzhou, China. pp. 234-246.
27. Are, K. S., A. O. Adelana, O. D. Adeyolanu, I. A. Oyeogbe. L. Adelabu. 2012. Comparative Effect of vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*) strips, vetiver mulch and veticompost on soil quality and erodibility of a sloping land. Agricultura Tropica et Subtropica. 45(4): 189-198.
28. Roongtanakiat, N., P. Chairoj and S. Chookhao. 2000. Fertility improvement of sandy soil by vetiver Grass mulching and compost. Kasetsart Journal (Natural Science). 34:332-338.
29. Jindapunnapat, K., S. L. F. Meyer, M. H. MacDonald, N. D. Reetz, D. J. Chitwood, E. P. Masler, N. Soonthornchareonnon, M. J. Camp, A. Sasnarukkit, and B. Chinnasri. 2019. Vegetable plant vigor and suppression of *Meloidogyne incognita* with vetiver soil amendments. Nematropica. 49(2): 208-219.
30. Shao, H., P. Zhang, C. You, C. Li, Y. Feng and Z. Xie. 2020. Genetic Diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* in Mulberry Based on the Mitochondrial COI Gene. Ecology and Evolution.10: 5391-5401.
31. Wang D.Population Diversity and Genetic Differentiation of *Heternderaglycines*[D]. 2015
32. Yang, B., & Eisenback, J. D. (1983). *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (*Meloidogynidae*), a Root-knot Nematode Parasitizing PacaraEarpod Tree in China[J]. *Journal of Nematology*, *15*(3), 381–391

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

33. Carneiro, R.M.D., and Almeida, M.R.A. (2001). Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécie. Nematologia Brasil. *25*, 35–44. http://docentes.esalq.usp.br/sbn/nbonline/ol%20251/35-44%20gr.pdf
34. Marques, M.L.S., M.F. Oliveira, P.S. Pereira and M.R. Rocha. 2020. Penetration and Development of *Meloidogyne enterolobii* in resistant and susceptible *Capsicum* spp. European Journal of Horticultural Science. 85(2): 86-91.
35. Jindapunnapat, K., B. Chinnasri, and S. Kwankuae. 2013. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the Fungus *Trichoderma harzianum*. Journal of Developments in Sustainable Agriculture. 8:110-118.
36. อนงค์นุช สาสนรักกิจ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และบัญชา ชิณศรี. ม.ป.ป. ความสำคัญของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ต่อผลผลิตทางการเกษตรและการส่งออกนำเข้า ของประเทศไทย. [Online]. Available http:// www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/anongnuch/plant_00.html (8/8/2563).
37. สุชีลา เตลุวงค์เสถียร. 2557. พริก: นวัตกรรม จากทฤษฎีการปรับปรุงพันธุ์พืชสู่การใช้ประโยชน์. หจก. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา. ขอนแก่น. 300 หน้า.
38. รุ่งนภา โบวิเชียร. 2562. พริก. แหล่งที่มา: http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2562/45-46.pdf (05/07/2563)
39. Gebashe, F., Aremu, A.O., Gruz, J., Finnie, J.F., Staden, J.V. 2020. Phytochemical profiles and antioxidant activity of grasses used in South African traditional medicine. Plants. doi:10.3390/plants9030371. 23p
40. Prajna, J., J. Richa and C. Dipjyoti. 2013. HPLC quantification of phenolic acids from Vetiveria zizanioides (L.) Nash and its antioxidant and antimicrobial activity. Journal of Pharmaceutics https://doi.org/10.1155/2013/270472 6p.
41. Ekiert, H., Piekoszewska, A., Muszynska, B. and S. Baczynska. 2014. Accumulation of p-coumaric acid and other bioactive phenolic acids in in vitro culture of Ruta Graveolens ssp. Divaricata (Tenore) Gams. Medicina Internacia Revuo. 24-31

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน