รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การประยุกต์ใช้เอนไซม์ร่วมในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุล ที่ปกคลุมเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด

Application of Multi Enzyme in Digestion of Biomolecules Covered on Pineapple Mealybug Wilt

โดย ครองศักดา ภัคธนกนก และคณะ

พฤษภาคม 2561

สัญญาเลขที่ RDG60A0020

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การประยุกต์ใช้เอนไซม์ร่วมในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุล ที่ปกคลุมเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด

Application of Multi Enzyme in Digestion of Biomolecules Covered on Pineapple Mealybug Wilt

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ครองศักดา ภัคธนกนก	มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง
2. รพีพรรณ กองตูม	มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง
3. อภินพ จิตใจงาม	มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง

ชุดโครงการสร้างมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเพื่อกระตุ้นเศรษฐกิจฐานรากจากพืชเศรษฐกิจชุมชนสับปะรดจังหวัดราชบุรี

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

ชื่อโครงการวิจัย การประยุกต์ใช้เอนไซม์ร่วมในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลที่ปกคลุมเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย ครองศักดา ภัคธนกนก

คำสำคัญ อะไมเลส/ เอนไซม์ร่วม/ พด.7/ โปรติเอส/ โรคเหี่ยวสับปะรด

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวสับปะรดที่มีสาเหตุจากไวรัสสายพันธุ์ครอสเตโรไวรัส โดยมีเพลี้ยเป็นพาหะที่ทำให้เกิดการระบาดเป็นวงกว้างกรมวิชาการเกษตร สนับสนุนให้เกษตรกรใช้จุลินทรีย์ พด.7 สำหรับการกำจัดเพลี้ย แต่ไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากประสิทธิภาพไม่โดดเด่นเท่าการใช้สารเคมี งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการยกระดับประสิทธิภาพ พด.7 และผลักดันให้เกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดตัดสินใจเลือกใช้ พด.7 ทดแทนสารเคมี ขั้นตอนการวิจัยได้ทำการเหนี่ยวนำจุลินทรีย์ให้สามารถผลิตเอนไซม์ร่วม จากนั้นทำการศึกษาระดับความรู้ความเข้าใจ และกระบวนทัศน์ของเกษตรกรเกี่ยวกับการตัดสินใจเลือกใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ในขั้นตอนการขยายผลผลิตภัณฑ์จากห้องปฏิบัติการสู่การนำไปใช้จริงในพื้นที่ ได้นำผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมต้นแบบไปให้เกษตรกรทดลองใช้ โดยให้เกษตรมีส่วนร่วมในลักษณะเป็นผู้ดำเนินการทดลอง สังเกตผล ประมวลผล และสรุปลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นด้วยตนเอง ผลการศึกษาพบว่า เกษตรกรร้อยละ 68-81 มีความรู้เกี่ยวกับการจัดการโรคเหี่ยวอยู่ในระดับ “ดี” เนื่องจากคลุกคลีและได้รับการฝึกอบรมจากพหุภาคีมานานหลายปี เกษตรกรเห็นว่าการคัดสรรหน่อพันธุ์ปลอดโรค การจัดหาหน่อพันธุ์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเตรียมหน่อพันธุ์ก่อนลงแปลง และการเขตกรรมพื้นที่เพาะปลูก คือสิ่งที่สำคัญที่สุดสำหรับการป้องกันการระบาดของโรคเหี่ยว ในการผลิตเอนไซม์ร่วมพบว่าการใช้กากถั่วเหลือง ร้อยละ 5-15 สามารถเหนี่ยวนำให้ผลิตเอนไซม์ได้อย่างน้อยสามชนิดได้แก่ ไกโคไซด์ไฮโดรเลส โปรติเอส และไลเปส โดยเวลาในการหมักที่ 36-48 ชั่วโมง เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เหล่านี้ให้มีปริมาณมากเพียงพอ ในอีกทางหนึ่งพบว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้นั้นมีคุณลักษณะทนต่ออุณหภูมิสูง การขยายผลไปสู่การใช้จริงพบว่า ในการหมักขนาด 10 ลิตร ต้องใช้เวลา 3 วัน จึงจะสามารถผลิตเอนไซม์ร่วมออกมาได้ในปริมาณที่เหมาะสมต่อการใช้งาน ซึ่งพบว่าเกษตรกรที่นำไปทดลองใช้รวมทั้งทดลองผลิตมีความพึงพอใจต่อประสิทธิภาพ เกษตรกรบางแห่งมีส่วนร่วมในกระบวนการผลิตร่วมกับนักวิจัยในขั้นตอนการปรับปรุงสูตร ซึ่งเกษตรกรนำพืชสมุนไพรบางชนิดมาผสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพเอนไซม์ร่วมให้สูงขึ้น โดยกระบวนการนี้นักวิจัยทำหน้าที่สังเกตการณ์ในฐานะวิทยากรกระบวนการ ทำให้เกษตรกรมีความรู้สึกเป็นเจ้าของและให้คุณค่าต่อผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วม กระบวนการขับเคลื่อนเพื่อให้เกษตรกรหันมาสนใจการใช้เอนไซม์ร่วมมากขึ้น สามารถทำได้โดยมหาวิทยาลัยกำหนดตนเองให้มีลักษณะเป็นกลไกของจังหวัดในรูปแบบพันกิจสัมพันธ์ มีบทบาทเป็นภาคีเพื่อดำเนินการจัดการความรู้ วิจัยและพัฒนา และถ่ายทอดเทคโนโลยี ให้แก่ประชาชนในจังหวัดราชบุรีในด้านวิทยาศาสตร์เพื่อการเกษตร

Project Research Title: Application of Multi Enzyme in Digestion of Biomolecules Covered on Pineapple Mealybug Wilt

Project Research Leader: Mr. krongsakda Phakthanakannok

Keywords: Amylase/ Multi enzyme/ PD.7/ Protease/ Pineapple Mealybug Wilt

Abstract

Pineapple wilt caused by Closterovirus which has mealybug, the insect vector effected to widely spread. Department of agriculture recommend the farmer to use microorganism product namely PD7 for eliminate mealybug. However this product is not accepted from the farmer because it efficiency has lower than some chemical. The research aims to upgrade the efficiency of PD7 including promoting to the farmer decided to chosen PD7 firstly replace to chemical. In the methodology, the microorganisms were induced for multi enzyme production. To study the levels of knowledge including paradigm of the farmer about their decided to use a pesticide by using the qualitative techniques, to make an accustomed inside their life and to use an informal talk with them. The step of extending the results from the laboratory to real farm, the multi enzyme product was selected to trial by farmer. The farmer has some participate in terms of trial, observe, analysis and discussion for all of characteristics with their self. The results showed, 68-81% of farmers, they has level of knowledge about pineapple wilt management with "good" because there have several experiences including training from multilateral of the province for long time. The farmers trust, screening of virus-free shoots, tissue culture, shoots cleaning and deep cultivation, these are important processes for pineapple wilt prevention. The results of multi enzyme production showed that, 5-15% of soybean meal were suitable to produce the enzymes at least 3 types such as glycoside hydrolase, protease and lipase. The optimum fermentation time were 36-48 hours by revealed more amount of these enzymes. Meanwhile, results indicated that the protease was showed characteristics of thermo-enzyme. An extending the multi enzyme production to real farm showed that in case of 10 liters fermentation, the multi enzyme were produced completely almost 3 days. However, farmers were satisfied within efficiently of these multi enzyme. Some farmer has dedicated participate in process modification with researcher by suggesting to add some herb mix together in the formula for increasing of the efficiently of multi enzyme. The researchers in this participation technique, were become to facilitator, effect to the farmers have emotional of "owner" and they appreciate of their multi enzyme products. Driving force process for changing farmer's mindset, in case of increase of using multi enzyme widely, can design by the university should declares themself to a mechanism of province in term of "university engagements". This university engagements means that the university become to the associate to manage the knowledge, research and developments and technology transfer for people in Ratchaburi province in term of science for agriculture.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เอนไซม์ร่วมในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลที่ปกคลุมเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด ในครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อให้เกิดข้อมูลเชิงวิชาการเกี่ยวกับการประยุกต์นำผลิตภัณฑ์เอนไซม์ไปใช้ประโยชน์เชิงประจักษ์ เพื่อการจัดการลดหรือกำจัดเพลี้ยที่เป็นพาหะของโรค โดยผลการศึกษาของงานวิจัยจะเกิดกระบวนการพัฒนาและยกระดับความรู้ของเกษตรกร การศึกษาครั้งนี้ได้รับความร่วมมือจากหลายฝ่ายทั้งในมหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง และภายนอกมหาวิทยาลัย การศึกษาได้ประสบผลสำเร็จซึ่งในกาลนี้ ต้องขอบพระคุณนักวิจัยหลายท่านที่ได้มีส่วนร่วมกันดำเนินงานอย่างหนัก แม้ในช่วงระยะแรกของการศึกษาจะพบกับอุปสรรคมากมาย คณะผู้วิจัยคาดหวังว่างานวิจัยนี้จะต้องสร้างประโยชน์เชิงประจักษ์และรวมถึงสามารถนำไปเป็นต้นแบบกระบวนการเรียนรู้ในมิติอื่นได้

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ		(ก)
abstract		(ข)
กิตติกรรมประกาศ		(ค)
สารบัญ		(ง)
สารบัญตาราง		(ฉ)
สารบัญภาพ		(ช)
บทที่ 1	**บทนำ**	
	1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	1.2 แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	4
	1.3 ความคาดหวัง/เป้าหมาย ของการวิจัย	7
	1.4 ขอบเขตการวิจัย	8
	1.5 วัตถุประสงค์	8
	1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2	**วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง**	
	2.1 โรคเหี่ยวสับปะรด	10
	2.2 ลักษณะของต้นสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวและการระบาด	11
	2.3 กลไกการระบาดและพาหะที่เกี่ยวข้อง	12
	2.4 การดำเนินการอารักขาโดยวิธีการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ	13
	2.5 ความเป็นไปได้ในการประยุกต์เทคโนโลยีด้านเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในการดำเนินการอารักขา	15
บทที่ 3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	
	3.1 การศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ	21
	3.2 การศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วม	22
	3.3 กิจกรรมการป้อนกลับข้อมูลที่ศึกษาไปยังภาคีเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง	26
	3.4 การนำผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมไปขยายผลสู่การใช้จริงในพื้นที่	27
	3.5 แผนการดำเนินงาน	29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 บริบทชุมชนเกี่ยวกับรูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวของเกษตรกร 31

4.1.1 วิเคราะห์ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรด้านการเกิดโรคเหี่ยว 34

4.1.2 วิเคราะห์ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรด้านการป้องกันและแก้ปัญหา 34

4.2 สถานการณ์ปัจจุบันเกี่ยวกับการจัดการโรคเหี่ยวสับปะรด 35

4.3 สถานการณ์ปัจจุบันเกี่ยวกับการจัดการเพลี้ยและมดพาหะ 37

4.3.1 วิธีการกำจัดเพลี้ยและมดพาหะ 37

4.3.2 รูปแบบการใช้ผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืชของเกษตรกร 41

4.4 ผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วม 44

4.4.1 ผลของการเติมกากถั่วเหลืองต่อการผลิตเอนไซม์ร่วม 44

4.4.2 ผลของ pH ค่าต่างๆต่อการผลิตเอนไซม์ร่วม 45

4.4.3 ผลของการหมักมี่เวลาต่างๆต่อการผลิตเอนไซม์ร่วม 46

4.4.4 ผลการศึกษาคุณลักษณะเฉพาะด้านอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimum) และด้านเสถียรภาพอุณหภูมิ (Stability) ของเอนไซม์ร่วม 47

4.4.5 การขยายผลจากห้องปฏิบัติการไปสู่การผลิตขนาดใหญ่ขึ้น 51

4.4.6 การยกระดับและประยุกต์การผลิตเอนไซม์ร่วมที่เกษตรกรมีส่วนร่วมในการพัฒนา 52

4.5 กิจกรรมการป้อนกลับข้อมูล ข้อดี ข้อเสีย ของผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วม เพื่อชี้นำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง 55

4.5.1 สถานการณ์ก่อนการเปลี่ยนแปลงขณะดำเนินการป้อนกลับข้อมูล 55

4.5.2 การชี้นำเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยการป้อนกลับข้อมูล “ข้อดี / ข้อเสีย” ของผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วม 57

4.5.3 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น 59

4.5.4 การขับเคลื่อนเพื่อให้เกิดความยั่งยืน 60

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 62

บรรณานุกรม 64

ภาคผนวก 66

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงเอนไซม์จำนวน 6 กลุ่ม จำแนกตามกลไกการเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน	17
4.1	แสดงตัวอย่างข้อคำถามและระดับคะแนนของเครื่องมือที่นำมาใช้เพื่อวัดระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเหี่ยวสับปะรด	33
4.2	ค่าของผลคะแนนจากตัวอย่างข้อคำถามในตารางที่ 4.1 เพื่อวัดระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเหี่ยวสับปะรดของเกษตรกร	33
4.3	ข้อมูลจากเกษตรกรที่แนะนำว่าเป็นการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรดที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน	35
4.4	ข้อมูลจากเกษตรกรที่แนะนำว่าเป็นการแก้ปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรดที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน	36
4.5	แสดงรายการสารเคมีที่นำหน่อพันธุ์มาแช่เพื่อป้องกันเพลี้ย หรือสามารถนำไปผสมน้ำหรือปุ๋ยเพื่อฉีดพ่นที่ลำต้นได้โดยตรง	42
4.6	ผลของการเติมกากถั่วเหลืองต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส ในสภาวะ pH=7.0 ที่ อุณหภูมิ 40 ℃	45
4.7	ผลของ pH ต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส ในสภาวะที่อุณหภูมิ 40 ℃ หมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และมีกากถั่วเหลืองผสมอยู่ 15%	46
4.8	ผลของเวลาการหมักต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส ในสภาวะ pH=7.0 ที่อุณหภูมิ 40 ℃ และมีกากถั่วเหลืองผสมอยู่ 15%	47
4.9	กิจกรรมของเอนไซม์ร่วมโปรติเอส ไลเปส และไกโคไซด์ไฮโดรเลส จากการผลิตขยายผลนอกห้องปฏิบัติการขนาดปริมาตร 10 ลิตร	52
4.10	ค่ากิจกรรมเอนไซม์ร่วมคงเหลือเมื่อเติมสารสกัด 1% Limonene และ 1% Stemofoline และบ่มไว้เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ4 ℃	54
4.11	ตัวอย่างวลีที่ได้จากการสอบถามเกษตรกรโดยการศึกษา Why Why Analysis เพื่อสืบเสาะหาต้นตอต้นเหตุแห่งการตัดสินใจเลือกใช้กรรมวิธีดังกล่าวในการป้องกันและแก้ปัญหาโรคเหี่ยว	56
4.12	สรุปตัวอย่างบางประเด็นจากการพูดคุยถึงความต้องการเลือกใช้กรรมวิธีเอนไซม์ร่วม	58

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) แสดงสถานการณ์ของแนวทางการป้องกันและแนวทางการแก้เฉพาะหน้าในการจัดการโรคเหี่ยวของเกษตรกร	5
1.2	แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) แสดงถึงกระบวนการศึกษาวิจัย และการนำผลการศึกษาวิจัยมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวในแนวทางการป้องกัน	7
1.3	แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) แสดงถึงกระบวนการศึกษาวิจัย และการนำผลการศึกษาวิจัยมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวในแนวทางการแก้เฉพาะหน้า	8
2.1	รูปร่างของไวรัสชนิด Closterovirus ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	10
2.2	ตัวอย่างหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดโรคเหี่ยวที่ได้จากกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรจังหวัดเพชรบุรี	15
2.3	แสดงการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์โปรติเอส โดยเอนไซม์โปรติเอสทำหน้าที่เสมือนเป็นกรรไกตัดโมเลกุลของดปรตีนให้มีขนาดเล็กลงกลายเป็นเพปไทด์ หรือ กรดอะมิโรอิสระ	18
2.4	ตัวอย่างพืชที่กรมพัฒนาที่ดินได้แนะนำให้เกษตรกรใช้นำไปผสมเพื่อหมักร่วมกับ พด7 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดแมลงพาหะศัตรูพืช	21
2.5	ฉลากของ พด7 จากกรมพัฒนาที่ดินเพื่อสำหรับผลิตสารควบคุมแมลงศัตรูพืช	21
3.1	แสดงกระบวนการพอสังเขปขั้นที่ 1 การศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ	22
3.2	แสดงกระบวนการพอสังเขปขั้นตอนที่ 2 การศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วม	24
3.3	แสดงกระบวนการพอสังเขปกิจกรรมการป้อนกลับข้อมูลในขั้นตอนที่ 3	27
3.4	ความต่อเนื่องของการขับเคลื่อนกระบวนขั้นที่ 3 และขั้นที่ 4 เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์	28
4.1	พื้นที่เป้าหมายโดยรวมในการลงพื้นที่เก็บข้อมูลจำนวน 8 ตำบล โดยตำแหน่งจุดสีเขียวคือบริเวณที่ระบุว่าดำเนินการปลูกสับปะรด ซึ่งจากภาพจะเห็นปริมาณการปลูกจำนวนมากในอำเภอบ้านคา	31
4.2	บรรยากาศการประชุมในระยะแรกของการวิจัยเพื่อชี้แจงการทำงานของทีมนักวิจัย	32
4.3	แสดงต้นสับปะรดในพื้นที่อำเภอสวนผึ้งที่เป็นโรคเหี่ยวในขณะที่ติดผลแล้ว ซึ่งเกษตรกรบางรายที่พบเจออาการลักษณะนี้จะดำเนินการถอนทิ้งทันที และนำสารเคมี (แคลเซียมโบรอน) กำจัดศัตรูพืชหรือสารชีวภาพอื่นๆ มาฉีดพ่นลงไปที่ดินตรงตำแหน่งต้นและบริเวณรอบๆ ต้นที่เคยเป็นโรคและถูกถอนทิ้ง	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.4	ลักษณะของการแพร่ระบาดอย่างหนึ่ง ซึ่งพบว่าในเวลาช่วงเช้าจะพบมดแดงหัวโตจำนวนมากกำลังขนย้ายตัวอ่อนของเพลี้ยไปตามทางเดินใต้ดิน	39
4.5	อาการโรครากเน่า (คาดว่าสาเหตุจากเชื้อรา) ของต้นสับปะรดที่พบในพื้นที่อำเภอสวนผึ้ง โดยบริเวณใกล้เคียงของต้นที่เป็นโรครากเน่า ก็จะพบต้นที่เป็นโรคเหี่ยวและมีจำนวนมากกินอาณาเขตทอดยาวไปตามบริเวณที่เป็นโรครากเน่า จึงอาจเป็นไปได้ว่าโรคสับปะรดทั้งสองชนิดนี้มีความสัมพันธ์กันในเชิงนิเวศวิทยาในภาพแสดงผู้ดูแลไร่และเป็นเจ้าของแปลงกำลังดำเนินการถอนต้นสับปะรดบริเวณริมทางเดินตลอดตามแนวที่น้ำฝนเอ่อขังและพบว่าเป็นทั้งโรครากเน่าและโรคเหี่ยวปะปนกัน	40
4.6	ลักษณะของดินปนทรายหรือค่อนข้างเป็นเนื้อทรายที่แห้งผากมากกว่าปกติ มีลักษณะดินสีขาว และยึดจับต้นสับปะรดได้ไม่ค่อยดี ณ. ไร่สับปะรดขนาดใหญ่แห่งหนึ่ง บริเวณหลังวัดเขาวงกตเจริญธรรม บ้านหนองสองห้อง หมู่ 5 อำเภอสวนผึ้ง ซึ่งจะพบมดและเพลี้ยจำนวนมากซ่อนอยู่ในเนื้อดินและบริเวณโคนต้นมากกว่าดินลักษณะอื่นในบริเวณเดียวกัน ในภาพจะเห็นว่าปลายใบเริ่มมีลักษณะปรากฏของสีเขียวอ่อนค่อนไปทางสีเหลือง ซึ่งเป็นสัญญาณบ่งชี้อาการของโรคเหี่ยวที่กำลังจะเกิดขึ้น	40
4.7	สารเคมีกำจัดแมลงที่หาซื้อได้ง่ายตามร้านค้าเคมีภัณฑ์เกษตรในพื้นที่ และเป็นสารที่ถูกเลือกนำมาใช้ผสมลงไปในปุ๋ย หรือฉีดพ่นต่างหากในช่วงเช้าที่บริเวณใบข้อล่างหรือลำต้น เพื่อประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ย โดยมีการใช้มากในช่วงที่สับปะรดออกดอกแล้วหรือมีผลแล้วแต่ยังมีขนาดเล็กอยู่ หรือเกษตรกรบางรายฉีดพ่นลงไปทับกระดาษห่อผลสับปะรด (กระดาษห่อป้องกันแสงแดด)	41
4.8	ไร่สับปะรดที่เผชิญปัญหาโรคเหี่ยวมากกว่าครึ่งหนึ่งของทั้งหมด แม้จะมีถนนกั้นกลางแต่ปรากฏการแพร่ระบาดครอบคลุมไปทั่วไร่ ซึ่งไม่มีรูปแบบการกระจายตัวของโรคที่ชัดเจน แต่มีการแพร่ระบาดเป็นวงกว้างอย่างรวดเร็วโดยใช้เวลาประมาณ 1-2 สัปดาห์ ก็สามารถขยายอาณาเขตมากกว่า 200-300 ตารางเมตร	

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.9	การดำเนินการผลิตน้ำหมัก หรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เพื่อนำไปใช้เสริมประสิทธิภาพเพิ่มเติมจากการใช้ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้อยู่ปกติ โดยกรรมวิธีการผลิตของเกษตรกรแต่ระรายจะแตกต่างกันไป แต่โดยหลักปฏิบัติแล้วก็จะใช้กรรมวิธีมาตรฐานตามวิธีที่นักวิชาการเกษตรหรือกรมพัฒนาที่ดินเคยจัดการความรู้ให้	43
4.10	แผนภูมิแสดง Optimum Temperature (A) และ Temperature Stability (B) ของเอนไซม์โปรติเอส ที่สภาวะ pH=7.0	48
4.11	แผนภูมิแสดง Optimum Temperature (C) และ Temperature Stability (D) ของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ที่สภาวะ pH=7.0	49
4.12	เอนไซม์ร่วม (Multi Enzyme) ที่ผลิตได้ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิดได้แก่ กลุ่มเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส กลุ่มเอนไซม์โปรติเอส และกลุ่มเอนไซม์ไลเปส โดยเอนไซม์ที่ผลิตได้จากการขยายผลให้มีปริมาตรมากขึ้นถึง 10 ลิตร จะมีลักษณะสีดำเข้มกว่า และมีกลิ่นฉุนมากกว่า เมื่อครั้งผลิตในห้องปฏิบัติการ	51
4.13	แผนภาพแสดงแนวคิดเพื่อการขับเคลื่อนชุมชนเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดเพื่อให้เกิดการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรดอย่างยั่งยืน โดยแนวคิดนี้เกี่ยวกับระบบและกลไกการขับเคลื่อนของพหุภาคีเพื่อกำหนดบทบาทและหน้าที่ของการดำเนินการเพื่อ “ป้องกัน” และ “แก้ไข” โรคเหี่ยวสับปะรดมุ่งเป้ากำจัดเพลี้ยพาหะ โดยมหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึงเป็นกลไกจังหวัด ในรูปแบบพันธกิจ สัมพันธ์ (Public Engagements) โดยมหาวิทยาลัยฯ จะมีบทบาทในมิติเกี่ยวกับการวิจัยและพัฒนา (R&D) การจัดการความรู้ (KM) และการถ่ายทอดเทคโนโลยี (Technology Transfer) ให้แก่ภาคี เพื่อให้เกิดการขับเคลื่อนระบบอย่างยั่งยืน	61

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สับปะรด เป็นพืชเศรษฐกิจของจังหวัดราชบุรี มีเกษตรกรนับพันรายในพื้นที่อำเภอจอมบึง บ้านคา สวนผึ้งและปากท่อที่ยึดอาชีพหลักคือการปลูกสับปะรด ราคาสับปะรดมีความเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับกลไกทางการตลาด ขณะที่ปริมาณผลผลิตและคุณภาพผลผลิตขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆซึ่งมีความซับซ้อนหลายมิติ “โรคเหี่ยวสับปะรด” จากไวรัส เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิต เมื่อไร่สับปะรดเกิดการระบาดของโรคเหี่ยวจะทำให้เกิดความเสียหายเป็นวงกว้าง ไม่ใช่แค่เพียงความเสียหายภายในไร่ที่มีโรค แต่ความเสียหายวงกว้างนั้นจะขยายครอบคลุมพื้นที่นับร้อยนับพันไร่ภายในเวลาอันรวดเร็วหากไม่ได้รับการจัดการอย่างทันท่วงที ปัจจุบันนักวิชาการทั่วโลกก็ยังไม่สามารถกำจัดโรคเหี่ยวสับปะรดให้หมดไปได้ แม้ว่าเราจะมีองค์ความรู้เชิงลึกเกี่ยวกับโรคเหี่ยวนี้มากมายก็ตาม

จากการสำรวจพื้นที่เบื้องต้นของนักวิจัยในส่วนที่สนใจเกี่ยวกับโรคเหี่ยวบนพื้นที่ปลูกสับปะรดใน 4 อำเภอได้แก่จอมบึง สวนผึ้ง บ้านคาและปากท่อ พบว่ามีแปลงเพาะปลูกรวมกันหลายพันไร่ ทั้งที่ขึ้นทะเบียน GAP แล้วและยังก็ตาม ในจำนวนนี้ 80-90% เป็นแปลงเพาะปลูกเพื่อส่งโรงงาน นอกนั้นเป็นแปลงเพาะปลูกเพื่อขายตรงหรือส่งตลาด แปลงเพาะปลูกที่ได้เข้าไปสำรวจพบว่าทุกแห่งกำลังประสบหรือได้เคยประสบปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรด เกษตรกรเห็นว่าเป็นเรื่องปกติพบเห็นเป็นประจำตลอดฤดูกาลและพบมากในช่วงต้นปีถึงกลางปี (หน้าแล้ง) เพียงแต่จะพบการระบาดของโรคขยายเป็นวงกว้างมากหรือน้อยแตกต่างสลับกันไปเป็นครั้งคราว เกษตรกรใช้วิธีการบูรณาการหลายแบบโดยสามารถจำแนกแนวทางออกได้เป็น 2 มิติได้แก่ “การป้องกัน” และ “การแก้เฉพาะหน้า” (มัลลิกา นวลแก้ว, 2556) วิธีการป้องกันจะนำมาจากหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องและภาคเอกชนที่มาเสนอขายผลิตภัณฑ์ต่างๆ ส่วนวิธีแก้เฉพาะหน้าหมายถึงการแก้ปัญหาเฉพาะหน้าเมื่อพบว่ามีการระบาดเกิดขึ้นซึ่งได้นำวิธีปฏิบัติมาจากหน่วยงานราชการบ้าง การบอกแนะนำต่อๆกันมาบ้าง ซึ่งวิธีการป้องกันจะมีความ

หลากหลายมากกว่าวิธีการแก้เฉพาะหน้า เพราะในช่วงขณะที่เกิดการแพร่ระบาดอย่างรุนแรง และเริ่มขยายออกเป็นวงกว้าง เพื่อป้องกันไม่ให้ปัจจัย หรือสภาวะ ในด้านอื่นๆเข้ามาเกี่ยวข้องวุ่นวายจนอาจจะเกิดมีความซับซ้อนมากขึ้น เกษตรกรจะตัดสินใจใช้วิธีถอนต้นทิ้งและเผาทำลายเพียงอย่างเดียว

เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับข้อมูลของความไม่ปลอดภัยจากการใช้สารเคมีในแนวทางการป้องกันและการแก้เฉพาะหน้า และเกษตรกรก็มีความตระหนักถึงอันตรายต่อสุขภาพที่อาจจะเกิดขึ้น แต่ในเชิงลึกนั้น ความเกี่ยวพันธ์ซับซ้อนเรื่องแรงงาน ค่าแรง เวลาเก็บเกี่ยว ฤดูกาล และพฤติกรรมของธรรมชาติจะเป็นสิ่งบีบบังคับให้เกษตรกรจะตัดสินใจเลือกการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว เพราะความมีประสิทธิภาพ เห็นผลเป็นรูปธรรม รวดเร็วและใช้สะดวก (Easy to Handle) อย่างไรก็ตามเกษตรกรบางคนก็แสวงหาวิธีการป้องกันและวิธีแก้เฉพาะหน้าแบบเป็นธรรมชาติด้วยเช่นกัน ด้วยมีความตระหนักเกี่ยวกับอันตรายของสารเคมี มีความเป็นนักอนุรักษ์และหวงแหนทรัพยากรธรรมชาติ กอปรกับเล็งเห็นกระแสสังคมในปัจจุบันว่าประเด็นของการลดใช้สารเคมีจะสามารถต่อยอดไปสู่เส้นทางการตลาดที่เกี่ยวกับกลุ่มผู้บริโภครักสุขภาพได้

การจัดเวทีประชาคมแลกเปลี่ยนเรียนรู้หลายภาคส่วน ที่ได้ร่วมเสวนาและร่วมอภิปรายภายใต้วิสัยทัศน์สู่เป้าหมาย “ผู้ปลูกสับปะรดมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น” ได้หยิบยกประเด็นการแก้ไขปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรดมาพิจารณาจึงได้ข้อสังเกตพอสังเขปว่า

1. เกษตรกรไม่มีความเข้าใจทางวิชาการเกี่ยวกับเชื้อ “ไวรัส” ในต้นสับปะรดหรือมีเพียงเล็กน้อย
2. โรคเหี่ยวแสดงอาการช้า และมีลักษณะอาการคล้ายโรคติดเชื้ออย่างอื่น บางครั้งจำแนกไม่ได้ และมักจะแสดงอาการเมื่ออายุต้นล่วงเลยไปกว่า 4-5 เดือน
3. เกษตรกรนำวิธีป้องกันที่หลากหลายรูปแบบมาจัดการ ทั้งเชิงเดี่ยวและเชิงบูรณาการ
4. การจัดการโรคเหี่ยวมีอยู่ด้วยกันอย่างน้อย 7 ประเด็นในเวลานี้ ได้แก่ ตัวไวรัส หน่อพันธุ์ ดิน เพลี้ย มด วัชพืช และปุ๋ย
5. มีความเชื่อมั่นว่าความสมดุลเกี่ยวกับ ดิน น้ำและปุ๋ย จะทำให้ไม่เกิดโรคเหี่ยว แต่ความพยายามนั้นไม่บังเกิดผลเมื่อปัจจุบันก็ยังพบว่ามีการระบาดอย่างต่อเนื่อง

6. มีวิธีที่มีประสิทธิภาพและใช้อยู่จริงในบางแปลง แต่เกษตรกรขาดการจัดการความรู้ร่วมกันอย่างเป็นระบบ ส่วนใหญ่ใช้วิธีการถ่ายทอดความรู้ทางวาจาต่อๆกัน บางครั้งเกิดความสับสนและเข้าใจการปฏิบัติไม่ตรงกัน และบางครั้งมีการดัดแปลงปรับปรุงวิธีการกันเองโดยปราศจากเหตุผลทางวิชาการ
7. มีการทบทวนความรู้จากภาคีราชการที่เกี่ยวข้องอยู่เสมอๆ ทำให้สามารถปรับวิธีปฏิบัติให้กลับไปเป็นปกติ เป็นมาตรฐานและมีประสิทธิภาพเช่นเดิมได้
8. ปัจจุบันพบว่ามีปรากฏการณ์ดังข้อ 6 และ 7 เกิดขึ้นเป็นวงจรซ้ำไปซ้ำมา
9. เกษตรกรสนใจวิธีการป้องกันมากกว่าการแก้เฉพาะหน้า รวมทั้งสนใจวิธีการในแง่มุมอื่นๆ นอกเหนือจากที่เคยใช้กันอยู่
10. เกษตรกรมีความยินดีที่จะรับการถ่ายทอดองค์ความรู้และเทคโนโลยี สามารถรับความเสี่ยงเพื่อการทดลองวิธีการใหม่ ทั้งจากภาคีราชการ เอกชน หรือนักวิชาการทั่วไป เพื่อให้ตนเองได้ยกระดับความรู้ความเข้าใจ มีความทันสมัยต่อสถานการณ์ในปัจจุบัน

ความคิดเห็นที่ท้าทายจากผู้นำกลุ่มเกษตรกรที่คลุกคลีกับโรคเหี่ยวมานานพอสมควร (ปรับจากภาษาสนทนาเป็นภาษาเขียนพอสังเขปว่า)

“**การแก้เฉพาะหน้า**โรคเหี่ยวต้องรวดเร็ว รอช้าไม่ได้ ให้เน้นหนักไปที่การควบคุมหรือกำจัดประชากรพาหะโดยเฉพาะตัวเพลี้ยและมดให้มีประสิทธิภาพ เพราะต้นที่เป็นโรคต้องถอนและเผาทำลายทั้งหมด ขณะที่**การป้องกัน**ควรเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อคน สัตว์ และธรรมชาติ เพราะที่ไร่นั่นก็คือบ้าน ที่กิน ที่อาศัย หากเป็นวิธีการที่ทันสมัย มีความใหม่ มีการอ้างอิงหลักวิชาการ และนำมาใช้ได้จริงในพื้นที่ ยิ่งเป็นที่น่าสนใจ ซึ่งในอนาคตเชื่อว่าเมื่อควบคุมหรือกำจัดพาหะอย่างมีประสิทธิภาพ โรคจะไม่สามารถแพร่กระจายเป็นวงกว้าง โรคเหี่ยวนี้ก็จะหายไปเองจากพื้นที่ และจากนั้นจึงค่อยระวังป้องกันไม่ให้เกิดการอุบัติซ้ำอีก”

ด้วยสภาพภูมิอากาศร้อนมากขึ้น ฤดูแล้งยาวนานกว่าเดิม มีส่วนทำให้โรคเหี่ยวระบาดเป็นวงกว้างขึ้น การระบาดเพียงจุดเล็กๆจะก่อให้เกิดการระบาดกว้าง รุนแรงและรวดเร็ว ครอบคลุมพื้นที่นับแสนไร่จนเกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจและความไว้วางใจโดยรวม การแก้ปัญหาที่ต้นเหตุคือการแก้ที่ความแห้งแล้งและตัวไวรัสนั้นไม่สามารถกระทำได้ แต่การจัดการไม่ให้มีการระบาดหรือไม่ระบาดเพิ่มนั้นสามารถทำได้

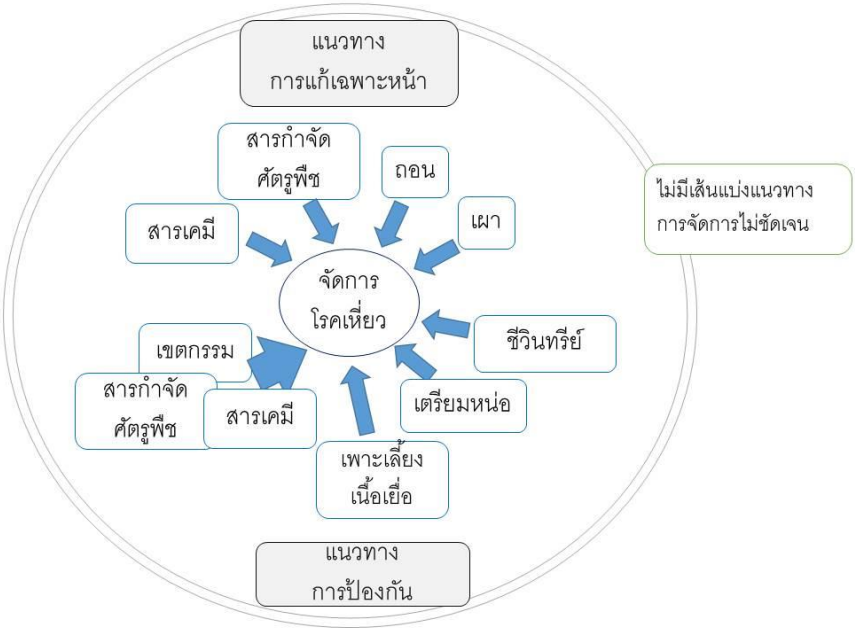
ซึ่งแนวทางวิธี**การป้องกัน**ที่ใช้กันอยู่มีความหลากหลายของความรู้ กระจัดกระจาย ผสมผสาน ยุ่งยาก บางวิธีไม่มีแหล่งอ้างอิง หรือมีอ้างอิงแต่ไม่มีความเป็นวิชาการ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นวิธีทางเคมี

ส่วนแนวทางวิธี**การแก้เฉพาะหน้า**จะทำอย่างไรถ้าไม่ใช้เคมีรุนแรง ไม่ต้องลงทุนซื้อสารต่างๆ แต่มีวิธีที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว มีเป้าหมายเดียวกัน โดยเกษตรกรจะต้องมีความเข้าใจถ่องแท้และเกษตรกรพึ่งพาตนเองได้ ไม่ต้องรอภาคีวิชาการ

องค์ความรู้ที่กระจัดกระจายไม่เป็นระบบก่อให้เกิดความสับสนในการหยิบมาใช้และยากต่อการนำองค์ความรู้ไปพัฒนาต่อยอดด้วยตนเอง จึงต้องอาศัยการทำงานวิจัยเพื่อรวบรวม จัดการ สังเคราะห์และกลั่นกรองข้อมูล ให้เป็นระเบียบ ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จากงานวิจัยจะเป็นเครื่องมือที่มีความน่าเชื่อถือสามารถนำมาใช้เพื่อชี้แนะแนวทาง ขณะเดียวกันยังสามารถใช้กระบวนการวิจัยเป็นเครื่องมือเพื่อสร้างโอกาสในการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์หรือนวัตกรรมใหม่ๆได้ในอีกทางหนึ่ง

1.2 แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) ในภาพที่ 1-4 ได้แสดงให้เห็นถึงแนวคิดที่จะดำเนินการวิจัยโดยชี้ให้เห็นถึงความคาดหวังและเป้าหมายของการวิจัย ซึ่งในภาพที่ 1 ได้แสดงให้เห็นถึงภาพรวมของวิธีการต่างๆที่ถูกนำมาใช้ในแนวทางการป้องกันและแนวทางการแก้เฉพาะหน้าเพื่อจัดการกับโรคเหี่ยวอย่างพอสังเขป โดยการดำเนินการทั้งสองแนวทางไม่มีความเป็นระบบและไม่เคร่งครัด เกษตรกรจะดำเนินการตามความเข้าใจบางประการ และจัดการไปตามสถานการณ์ที่ปรากฏในขณะนั้นเป็นเรื่องๆไป ไม่มีการบูรณาการ บางครั้งไม่ป้องกันหรือป้องกันน้อยเกินไป จนต้องใช้วิธีการแก้เฉพาะหน้าหลายวิธี เป็นภาระต่อเกษตรกรในการปฏิบัติงาน



ภาพที่ 1.1 แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) แสดงสถานการณ์ของแนวทางการป้องกันและแนวทางการแก้เฉพาะหน้าในการจัดการโรคเหี่ยวของเกษตรกร

ส่วนในภาพที่ 2 ได้แสดงให้เห็นถึงกระบวนการวิจัยตามวัตถุประสงค์ข้อแรก เพื่อศึกษารูปแบบวิธีการจัดการต่างๆที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรด นักวิจัยจะทำการรวบรวม วิเคราะห์ สังเคราะห์ และจัดการความรู้เกี่ยวกับวิธีการป้องกันที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งผลการศึกษาที่ได้และผ่านกระบวนศึกษาอย่างมีส่วนร่วม (PAR) ระหว่างภาคีต่างๆทำให้เมื่อบรรลุเป้าหมายจะเกิดการยกระดับความรู้ของเกษตรกรและมีการตัดสินใจใช้วิธีการป้องกันที่มีประสิทธิภาพเพื่อการจัดการโรคเหี่ยว ดังนั้นการจัดการกับโรคเหี่ยวจึงเริ่มมีความเป็นระบบมากขึ้น มีความสมดุลระหว่างวิธีการป้องกันและวิธีการแก้เฉพาะหน้า คือการป้องกันน้อยวิธีแต่มีประสิทธิภาพ โดยจะนำมาซึ่งการลดภาระของเกษตรกรในการใช้วิธีการแก้ปัญหาเฉพาะหน้าเมื่อพบการระบาดขึ้น

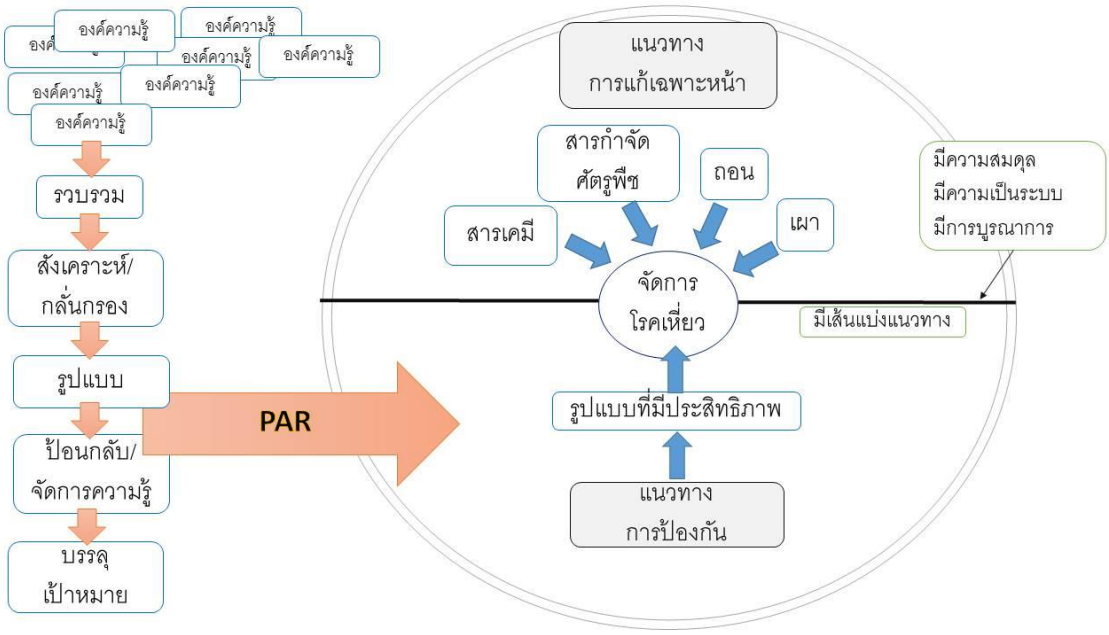
และในภาพที่ 3 ได้แสดงให้เห็นถึงกระบวนการวิจัยตามวัตถุประสงค์ข้อที่สอง เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการกำจัดเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด นักวิจัยจะทำการผลิตเอนไซม์โดยใช้การหมักจากจุลินทรีย์ และนำไปทดลองใช้ในพื้นที่จริง ซึ่งผลการศึกษาที่ได้และเมื่อผ่านกระบวนการศึกษาอย่างมีส่วนร่วม (PAR) ระหว่างภาคีต่างๆทำให้เมื่อบรรลุเป้าหมายจะเกิดการพัฒนาเป็นวิธีการกำจัดเพลี้ยด้วยผลิตภัณฑ์จากเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพ โดยเมื่อหากเกิดการระบาดขึ้นอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าน่าจะเกิดได้น้อยลงเพราะการจัดการที่มีประสิทธิภาพจากแนวทางการป้องกันข้างต้น การแก้ปัญหาเฉพาะหน้าโดยการนำเอนไซม์ไปใช้นอกจากจะมีประสิทธิภาพเหมือนการใช้สารเคมีแล้ว ยังมีส่วนเสริมสร้างแนวทางการป้องกันให้เกิดเป็นอีกหนึ่งวิธีที่มีประสิทธิภาพ

1.3 ความคาดหวัง/เป้าหมาย ของการวิจัย

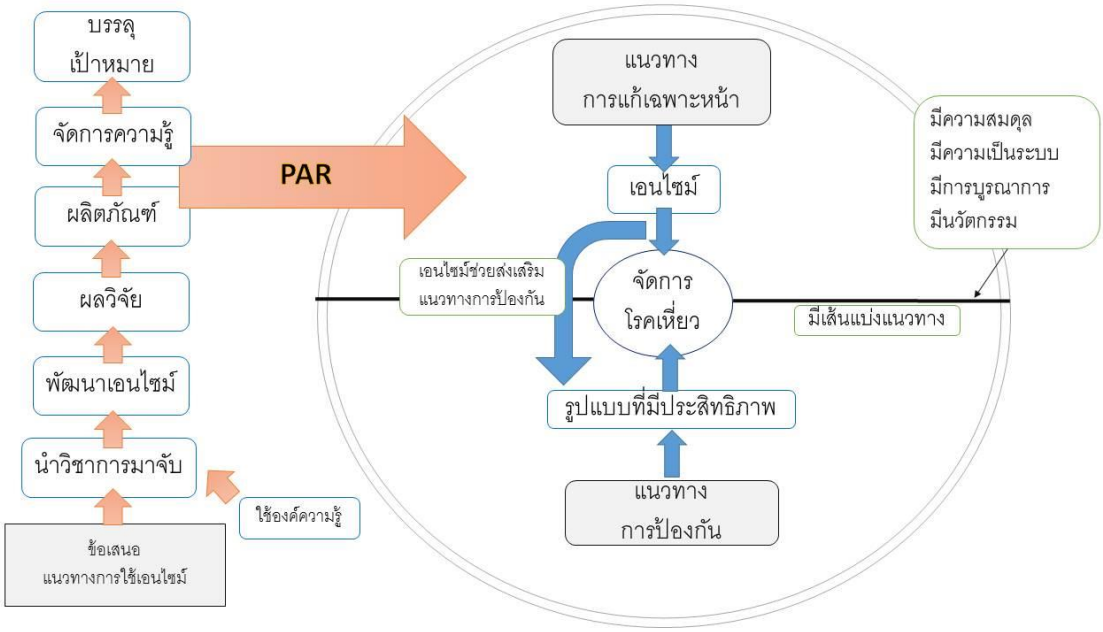
1. ในประเด็นแนวทางการป้องกัน คาดหวังว่าเกษตรกรได้ถูกป้อนกลับข้อมูลรูปแบบการจัดการโรคเหี่ยว ที่มีประสิทธิภาพที่ถูกนำมาใช้จริงในพื้นที่เป้าหมาย ก่อให้เกิดกลไกการจัดการความรู้รวมไปถึงกลไกการพัฒนาเกี่ยวกับการจัดการโรค หรือการกำหนดทิศทางงานในระดับชุมชนและขยายผลไปสู่ภาคีระดับจังหวัดต่อไป

2. ในประเด็นแนวทางการแก้เฉพาะหน้า คาดหวังว่าเกษตรกรจะได้มีวิธีการกำจัดเพลี้ยวิธีใหม่ (บนฐานความรู้เดิม) ที่ได้รับการยอมรับและสอดคล้องกับบริบทและความต้องการที่ได้กล่าวไว้ในตอนต้น ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์กำจัดเพลี้ยที่ไม่ใช่เคมีรุนแรง ไม่ต้องลงทุนซื้อสารต่างๆ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ

รวดเร็วเหมือนการใช้สารเคมี มีเป้าหมายชัดเจน มีหลักวิชาการ และพึ่งพาตนเองได้ไม่ต้องรอภาคีวิชาการ (Easy to Handle) นอกเหนือจากนี้ยังเป็นการส่งเสริมให้วิธีการใช้เอนไซม์เป็นส่วนหนึ่งของการยอมรับว่าเป็นอีกหนึ่งวิธีที่มีประสิทธิภาพในการป้องกัน



ภาพที่ 1.2 แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) แสดงถึงกระบวนการศึกษาวิจัย และการนำผลการศึกษาวิจัยมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวในแนวทางการป้องกัน



ภาพที่ 1.3 แผนผังแนวคิดเชิงนโนทัศน์ (Conceptual Thinking) แสดงถึงกระบวนการศึกษาวิจัย และการนำผลการศึกษาวิจัยมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวในแนวทางการแก้เฉพาะหน้า

1.4 ขอบเขตการวิจัย

1. การศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วมจะดำเนินการในห้องปฏิบัติการและขยายผลการผลิตเอนไซม์ร่วม โดยเข้าไปร่วมศึกษาในพื้นที่ไร่สับปะรดกับเกษตรกรในรูปแบบการดำเนินกิจกรรม PAR

2. เอนไซม์ร่วมในการศึกษาของงานวิจัยนี้หมายถึง Crude enzyme ที่มีลักษณะรวมกันหลายชนิด (Multi enzyme) ซึ่งอาจประกอบไปด้วยเอนไซม์กลุ่มไกโคไซด์ไฮโดรเลส โปรติเอส และไลเปส

1.5 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษารูปแบบวิธีการจัดการต่างๆที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรด

2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการกำจัดเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

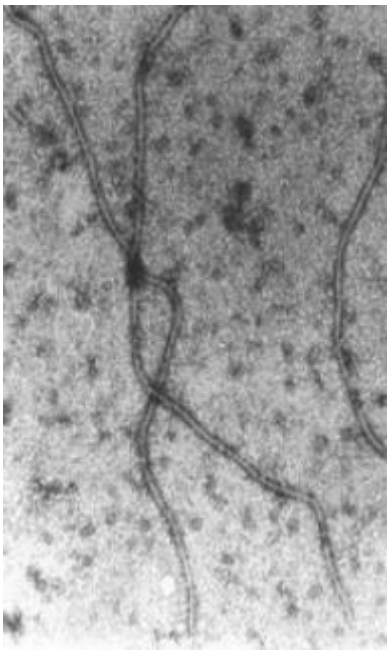
เวลา	ผลผลิต (output)	ตัวชี้วัด	ค่าเป้าหมาย
เดือนที่ 1-6	1.รูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ	1. รายงานผลการศึกษา	1 รายการ
		2. ผลงานทางวิชาการรูปแบบอื่นๆ	1 รายการ
		3. โครงการจัดการความรู้ให้เกษตรกรแบบการมีส่วนร่วม	1 กิจกรรม
เดือนที่ 7-12	2. แนวทางการผลิตเอนไซม์ร่วม 3. ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการพัฒนาให้เหมาะสม	4. ต้นแบบผลิตภัณฑ์ 5. บทความทางวิชาการ	1 รายการ
	4. เกษตรกรได้รับการจัดการความรู้/ปรับความรู้ความเข้าใจและยกระดับความรู้ 5. แนวทางการส่งเสริมการใช้เอนไซม์ร่วมอย่างยั่งยืน	6. ผลงานการให้บริการวิชาการของสถาบัน 7. การถ่ายทอดเทคโนโลยี โดยเชื่มโยงกับโครงการวิจัยหรือกิจกรรมอื่นๆ	1 โครงการ
	6. การพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่	8. นักวิจัยรุ่นใหม่	2 คน

ด้าน	ผลกระทบ (Impact)
ด้านวิชาการ	องค์ความรู้ใหม่ในการ กำจัด/ลด/ไล่ เพลี้ย โดยวิธี green technology
ด้านนโยบาย	วิธี/แนวปฏิบัติที่ดี/แนวทาง/ต้นแบบ การจัดการการแพร่ระบาดของโรคเหี่ยว
ด้านเศรษฐกิจ/อุตสาหกรรม	สิทธิบัตรหรือลิขสิทธิ์ของผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่เป็นนวัตกรรมจากท้องถิ่น
ด้านสังคมและชุมชน	เกิดผลกระทบในทางบวกและมีการเชื่อมโยงไปสู่งานวิจัยและภาคีในมิติอื่นอาทิ เช่นการลดต้นทุน การปรับปรุงดินให้มีคุณภาพ การบริหารจัดการพื้นที่ให้มีประสิทธิภาพ การร่วมมือวิจัย และการส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงเกษตร

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคเหี่ยวสับปะรด

โรคเหี่ยว หรือโรคเอ๋อ มีสาเหตุจากสับปะรดติดเชื้อไวรัสชนิดครอสเตอโรไวรัส (Closterovirus) (รูปที่ 2.1) ค้นพบครั้งแรกในช่วงปี ค.ศ. 1989 โดย Gunasinghe และ German ซึ่งโรคเหี่ยวนี้มีความสัมพันธ์กับมดและเพลี้ย (Pineapple mealybug Wilt-associated Virus; PMWaV) โดยเชื้อไวรัสจะกระจายอยู่อย่างหนาแน่นเฉพาะภายในเซลล์ท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) ของสับปะรด ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่าเชื้อไวรัส Closterovirus ชนิดนี้มีหลายสายพันธุ์ย่อย แต่ในจำนวนนี้มีจำนวน 4 สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวในสับปะรด และได้กำหนดชื่อเรียกไวรัส Closterovirus ที่บนในสับปะรดว่า PMWaV1, PMWaV2, PMWaV3 และ PMWaV4



ภาพที่ 2.1 รูปร่างของไวรัสชนิด Closterovirus ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
ที่มา : Gunasinghe และ German, 1989

ปัจจุบันพบว่าความรุนแรงของโรคจะเกิดกับสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมากที่สุด เนื่องจากพบการติดเชื้อไวรัสมากกว่า 2 สายพันธุ์พร้อมกัน อีกทั้งสับปะรดพันธุ์นี้มีกลไกทางชีวเคมีบางประการที่ทำให้มีลักษณะอ่อนแอต่อการต้านทานโรค และงานวิจัยล่าสุดได้ชี้ว่า การติดเชื้อไวรัส Closterovirus สายพันธุ์ PMWaV2 ในพันธุ์ปัตตาเวีย จะก่อให้เกิดการแสดงออกของโรคอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาเพียง 3 เดือนเท่านั้น

2.2 ลักษณะของต้นสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวและการระบาด

อาการแรกนั้นเกิดขึ้นที่รากก่อน แต่ยังไม่สามารถสังเกตเห็นการติดเชื้อได้จากลำต้น โดยรากจะไม่มีการสร้างเซลล์ส่วนปลายรากเพิ่ม ทำให้ลำต้นชะงักการเจริญเติบโต รากจะไม่ทำงานตามปกติ ไม่สามารถลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ จากนั้นเซลล์ในรากจะเริ่มตาย ซึ่งต่อมาเนื้อเยื่อส่วนรากจะเน่า (Rotting) แล้วสับปะรดจะแสดงอาการให้เห็นทางส่วนปลายใบและตัวใบในเวลาต่อมาซึ่งต้องใช้เวลาประมาณ 3 เดือน อาการที่ปรากฏต่อลำต้นคือใบจะอ่อนนิ่ม มีสีเหลืองอ่อน ปลายใบที่ยอดจะแห้งเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีแดงลามสู่โคนใบ ซึ่งเกษตรกรจะเรียกว่าอาการใบไหม้ ใบจะลู่ลง แผ่แบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ ต่อมาต้นจะเหี่ยวและแห้ง รากจะฝ่อจนสั้นกุด ถอนต้นได้ง่ายเพียงแค่ยกขึ้นมาก็หลุด การแสดงอาการจะเด่นชัดหลังการเร่งบังคับดอก คือดอกและผลสับปะรดจะไม่พัฒนา พบว่ามีขนาดเล็กกว่าปกติ แต่เมื่อมาพบอาการในช่วงเวลาบังคับดอกผลแล้ว ย่อมเกิดความเสียหายขึ้นเพราะไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ตามกำหนดเวลา

บทความตอนหนึ่งจากจุลสารสำนักงานเกษตร กลุ่มอารักขาพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดตราดซึ่งอธิบายลักษณะปรากฏของโรคเหี่ยวความตอนหนึ่งว่า “ความรุนแรงของโรคจะขึ้นกับระยะการเติบโตของสับปะรด ความแข็งแรง และสภาพภูมิอากาศ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า โดยปกติในระยะ 1-4 เดือนแรกสับปะรดจะมีการเติบโตปกติ หลังจากนั้นอาจแสดงของโรคให้เห็นอย่างรวดเร็วซึ่งเรียกว่า “เหี่ยวเฉาอย่างรวดเร็ว” (Quick wilt) โดยสับปะรดจะเหี่ยวจากปลายใบ แล้วลุกลามสู่ตัวใบต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมแดงชมพู (Reddish –yellow) หรือเหลือจัด(Necrosis) ใบหักงอและจะตายในที่สุด”

สรุปอาการของโรคเหี่ยวสับปะรดแบ่งได้เป็น 4 ระยะดังนี้

ระยะที่ 1 ใบสับปะรดเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาเงิน (Bronze) และสีแดงจากขอบปลายใบ โดยจะเกิดกับใบที่ 3-5 นับจากยอดกลางแต่ต้นสับปะรดยังมีการเติบโตตามปกติ

ระยะที่ 2 ใบสับปะรดเปลี่ยนเป็นสีชมพูและเหลืองจัด เริ่มแสดงอาการเหี่ยว ปลายใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Browning) ปลายใบบิดเหลืองซีด แต่ต้นสับปะรดดูเติบโตปกติ

ระยะที่ 3 ปลายใบสับปะรดใบที่ 3-4 และ5 (นับจากจุดกลางยอด) เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแห้ง (Necrosis) ส่วนบริเวณกลางใบ (ตัวใบ) เปลี่ยนเป็นสีชมพู (Bright Pink) ปลายใบเหี่ยวแห้งและบิดพับหักลงด้านล่าง ขอบใบม้วน ต้นสับปะรดที่เป็นโรคดูจะเล็กกว่าเทียบกับต้นสมบูรณ์ที่อยู่รอบข้าง

ระยะที่ 4 บริเวณส่วนกลางใบของใบที่ 3-5 จะมีอาการเหี่ยวปลายใบบิดงอลงด้านล่างและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมแดงหรือน้ำตาลอมชมพู ส่วนตัวใบจากบริเวณที่แสดงอาการเหี่ยวนั้น จะมีสีเขียวอ่อนไม่สดใส เมื่อเทียบกับใบสับปะรดที่สมบูรณ์ สังเกตดูอาการของต้นสับปะรดที่เป็นโรคจะมีขนาดเล็กและแตกต่างกับต้นข้างเคียงที่สมบูรณ์ได้อย่างชัดเจน

2.3 กลไกการระบาดและพาหะที่เกี่ยวข้อง

กลไกการระบาดของโรคเหี่ยวสับปะรด มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสสายพันธุ์ Closterovirus และมีความสัมพันธ์กับพาหะคือมดและเพลี้ย นักวิชาการได้กำหนดชื่อระบบความสัมพันธ์นี้ว่าไวรัสโรคเหี่ยวเพลี้ยแป้งของสับปะรด (Pineapple mealybug wilt-associated virus) ความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้เกิดขึ้นเมื่อเริ่มต้นจากสับปะรดมีเชื้อไวรัสอาศัยอยู่ภายในท่อน้ำเลี้ยงลำต้น (วันเพ็ญ และคณะ, 2554) เมื่อเพลี้ยมาเกาะที่ต้นสับปะรดจะเจาะลำต้นดูดน้ำหล่อเลี้ยงตลอดเวลา ซึ่งในขณะนั้นไวรัสจะไหลเข้าไปติดยังตัวเพลี้ย แต่หลักฐานทางวิชาการชี้ว่าไวรัสไม่ได้ส่งผลกระทบอะไรกับตัวเพลี้ย จากนั้นเพลี้ยจะหลั่งสารชีวภาพคล้ายแป้งและไขมันขึ้นมา ซึ่งสารที่คล้ายแป้งนั้นในระยะเวลาต่อมาก็จะสามารถเปลี่ยนสภาพกลายเป็นสารคล้ายไขมันได้เช่นกัน นักวิชาการตั้งชื่อสารแป้งและไขมันนี้ว่า powdery wax layer โดยสารที่หลั่งออกมานี้ทำหน้าที่หลายอย่างเช่น เพื่อตรึงตัวเพลี้ยให้ติดกับลำต้น เพื่อป้องกันภัยจากธรรมชาติ เพื่อเป็นสัญญาณหรือการสื่อสาร และเพื่อล่อสัตว์ชนิดอื่นเช่นมดเข้ามานำพาไปสู่แหล่งอาหารอื่น ในอีกทางหนึ่งการสะสมสารหลั่งนี้บนใบและลำต้นของพืชในปริมาณมากๆมีผลทำให้การเจริญเติบโต การลำเลียงน้ำและการสังเคราะห์อาหารของพืชผิดปกติ และในเวลาต่อมาเมื่อมดเข้ามาเก็บอาหารในบริเวณใกล้ๆหรือถูกล่อเข้ามา ไขมันนี้ก็จะติดขามดและเกาะเพลี้ยติดไปด้วยกันในพื้นที่อื่นๆเท่าที่มดจะเดินทางไปถึง ทำให้เกิดการแพร่ระบาดขยายเป็นวงกว้าง การระบาดจะขยายไปกว้างขวางและมีความซับซ้อนทางนิเวศมากขึ้นเมื่อมีสัตว์ประเภทอื่นที่บินได้เช่นนกหรือแมลงนำพาเพลี้ยหรือมดที่ติดเพลี้ยไปยังพื้นที่อื่น ๆ ซึ่งการศึกษาทางอณูชีววิทยาของนักวิทยาศาสตร์ชี้ให้เห็นว่า ไวรัสที่พบในพืชไร่และพืชสวนที่คุกคามผลผลิตไปทั่วโลกนั้นเป็นไวรัส Closterovirus ที่มีพันธุกรรมเดียวกัน ดังนั้นหากดำเนินการจัดการโดยทำการสลายหรือกำจัดสารหลั่งของเพลี้ยจึงมีความเป็นไปได้ว่ากระบวนการระบาดอาจถูกตัดขาดและลดการแพร่ระบาดลงได้ (Gunasinghe and German, 1989)

2.4 การดำเนินการอารักขาโดยวิธีการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ

ปัจจุบันหลักทางวิชาการด้านอารักขาพืชอ้างว่าการจัดการโรคเหี่ยวสับปะรดของต้องดำเนินการแบบบูรณาการ แต่ในทางปฏิบัติในพื้นที่จริงนั้นบางครั้งพบว่าการดำเนินการเชิงเดี่ยวกลับให้ผลดีกว่า การจัดการในส่วนของการป้องกันนั้นเน้นให้ดำเนินการ “เขตกรรม” เพื่อเตรียมพื้นที่แปลงเพาะปลูกให้เหมาะสมและมีสภาพพร้อม ช่วงก่อนการเริ่มวางหน่อพันธุ์ ให้ไถกลบวัชพืชให้หมดโดยเร็ว สามารถใช้สารเคมีหรือสารกำจัดศัตรูพืชใส่ลงไปในพื้นที่เพื่อไล่มดและแมลงอื่นๆ แหล่งวัชพืชข้างเคียง (host plant) ให้ทำลายเพื่อป้องกันเพลี้ยที่ไปหลบอาศัยหน่อพันธุ์ที่เตรียมไว้ให้จุ่มหรือแช่สารเคมีหรือสารกำจัดศรัตรูพืชได้แก่ มาราไธออล คาร์บาริล ไดอะซินอล ในอัตราส่วนและเวลาตามที่ผลิตภัณฑ์กำหนด เมื่อวางหน่อพันธุ์แล้วให้ฉีดพ่นสารเหล่านี้ลงไปทุกๆ 3 เดือนเพื่อให้เกิดการป้องกันอย่างต่อเนื่องเช่นครั้งที่ 1 ฉีดเมื่อสับปะรดอายุ 3 เดือน อัตรา 500 มิลลิลิตรต่อไร่ และครั้งที่ 2 ฉีดเมื่อสับปะรดอายุ 6 เดือน อัตรา 500 มิลลิลิตรต่อไร่

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้มีการเผยแพร่มาตรการในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคเหี่ยวในสับปะรดไว้ดังนี้ (เอกสิทธิ์ วิริยะกิจนุกูล, 2546)

1. ทำความสะอาดแปลงปลูกหลังเก็บเกี่ยวทันทีโดยไถกลบเศษซากสับปะรดให้หมดโดยเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้
2. หากพบหน่อพันธุ์ที่แสดงอาการโรคให้เก็บแยกทำลายทันทีและใช้วิธีการเผาซาก
3. กำจัดวัชพืชและพืชแปลกปลอม โดยเฉพาะต้นสับปะรดที่งอกจากตอเดิม เพราะอาจเป็นแหล่งอาศัยของพาหะและเชื้อโรค
4. ใช้มาตรการเข้มงวดในการเคลื่อนย้ายคนงาน เครื่องมือ และอุปกรณ์จากแปลงเป็นโรคไปสู่แปลงอื่นๆ
5. ห้ามส่งต่อหรือขายหน่อพันธุ์จากแปลงเป็นโรคให้แก่เกษตรกรรายอื่นๆ
6. กำหนดแผนการใช้สารเคมีอย่างมีประสิทธิภาพและประหยัด โดยให้มีการทำลายแมลงพาหะได้มากที่สุดและทำอันตรายต่อศัตรูธรรมชาติของพาหะน้อยที่สุด รวมทั้งคำนึงถึงการลดพิษตกค้างในผลผลิตอีกด้วย การติดตามและสังเกตปริมาณพาหะของโรคอย่างใกล้ชิดช่วงระยะเวลาหนึ่งก่อน เป็นสิ่งจำเป็นก่อนการวางแผน

ขณะที่การแก้ปัญหาเฉพาะหน้านั้นให้ดำเนินการถอนต้นที่เป็นโรคและต้นที่รายรอบที่แสดงอาการและให้ดำเนินการนำไปเผาทำลาย โดยตรงบริเวณโคนต้นให้ดำเนินการใส่สารเคมีหรือสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อไล่/กำจัดมด เพลี้ย และแมลงทุกชนิดตรงบริเวณนั้นและโดยรอบให้หมดสิ้นไป (Dassanayake and Perera, 2001)

จากกระบวนการข้างต้น เน้นไปที่การไล่หรือกำจัดแมลงพาหะที่เป็นตัวทำให้โรคเหี่ยวแพร่ระบาด ซึ่งอันที่จริงแล้วในปัจจุบันนี้ ยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถกำจัดตัวไวรัสในต้นสับปะรดได้โดยตรง จึงจำเป็นต้องใช้วิธีการจัดการกับพาหะเหล่านี้ไปพลางก่อน (เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และ มาลี ชวนะพงศ์) ซึ่งทรัพยากรสำคัญที่นำมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวนี้ได้แก่สารเคมีกลุ่มไล่แมลง และสารกำจัดแมลงศัตรูพืช มุ่งเป้ากำจัดมดและเพลี้ย ซึ่งได้มาจากหลายแหล่งทั้งเสียและไม่เสียค่าใช้จ่ายอาทิเช่น สำนักงานเกษตรในพื้นที่ พัฒนาที่ดิน (สาร พด.) สถาบันวิจัยทางการเกษตรในพื้นที่ สถาบันการศึกษาด้านการเกษตร บริษัทเอกชน นักวิชาการอิสระ กลุ่มเกษตรกร และการคิดค้นสูตรขึ้นมาเองของคนในพื้นที่ เป็นต้น

การดำเนินการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์สับปะรดด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่เริ่มเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง ปัจจุบันหน่วยงานราชการที่เข้ามาดูแลเรื่องนี้ก็คือ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรประจำพื้นที่ ซึ่งศูนย์ฯได้ดำเนินการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์สับปะรดปลอดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นในห้องปฏิบัติการ และดำเนินการอนุบาลต้นอ่อนในแปลงสาธิตที่ควบคุมอารักขาโรคเป็นอย่างดี จากนั้นเมื่อต้นสับปะรดเจริญเติมโตจนถึงระยะที่สามารถนำหน่อพันธุ์ไปลงแปลงได้ จึงทำการดึงออกไปจำหน่ายให้แก่เกษตรกรในราคาไม่เกินหน่อพันธุ์ละ 1 บาท อย่างไรก็ตามการดำเนินการด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนี้แม้จะมีประสิทธิภาพสูงแต่การทำงานเพาะเลี้ยงต้นสับปะรดในปริมาณมากถึงครั้งละหลักแสนต้นนั้นก็ไม่ใช่เรื่องง่าย

ปัจจุบันมีการนำหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดโรคมาใช้จริงในหลายพื้นที่ของประเทศไทย ในภาคตะวันตกได้แก่จังหวัดเพชรบุรีและประจวบคีรีขันธ์ (ภาพที่ 2.2) โดยที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบุรีเป็นหน่วยงานหลักที่รับผิดชอบในเรื่องนี้ ในขั้นตอนการทำงานนั้นทางศูนย์ฯได้คัดเนื้อเยื่อจากต้นสับปะรดพันธุ์ดีที่ปราศจากโรคมาทำการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากนั้นอนุบาลในพื้นที่แปลงทดลองปลูกภายในศูนย์จนกระทั่งต้นสับปะรดโตได้ระยะหนึ่งประมาณ 1 เดือนจึงดึงออกมาแจกจ่ายให้แก่เกษตรกร ทั้งนี้นักวิชาการเกษตรผู้ซึ่งรับผิดชอบในกิจกรรมดังกล่าวได้สื่อสารไปยังเกษตรกรผู้รับหน่อพันธุ์ไปปลูกว่า “แม้จะได้หน่อพันธุ์ที่ปลอดโรค แต่เกษตรกรควรดูแลแปลงตนเองอย่างบูรณาการควบคู่ไปด้วย มิเช่นนั้นโรคก็จะกลับมาระบาดซ้ำอีก”

ภาพที่ 2.2 ตัวอย่างหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดโรคเหี่ยวที่ได้จากกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรจังหวัดเพชรบุรี
ที่มา : ผู้วิจัย

2.5 ความเป็นไปได้ในการประยุกต์เทคโนโลยีด้านเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในการดำเนินการอารักขา

สารเคมีและสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันเป็นสารที่รู้จักกันทั่วไปในชุมชนว่า “ยาฆ่าแมลง” ซึ่งได้ผลเร็ว มีความรุนแรง สามารถกำจัดแมลงสัตรูพืชได้หลายสายพันธุ์ อีกทางเลือกหนึ่งที่ได้ผลและเคยได้รับความนิยมอยู่พักหนึ่งคือการใช้วิธี “ชีวินทรีย์” หมายถึงการใช้สิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูทางธรรมชาติมาจัดการกันเองซึ่งปัจจุบันการประยุกต์ใช้กับโรคเหี่ยวไม่ได้เกี่ยวข้องกับไวรัสโดยตรงแต่จะเน้นไปที่การกำจัดเพลี้ยเพียงอย่างเดียวโดยพึ่งพา แมลง และรา ซึ่งให้ผลการกำจัดที่ดีแต่มีข้อเสียคือใช้เวลามาก (ชาญณรงค์ ดวงสะอาด, 2552)

นักวิจัยได้ใช้ระยะเวลาช่วงหนึ่งศึกษาพฤติกรรมของเพลี้ยที่อาศัยอยู่ในแปลงสับปะรด และพบว่าเพลี้ยจะมีพฤติกรรมที่จะสร้างสารชีวภาพบางอย่างคล้ายกับแป้งและไขมันออกมาล้อมรอบตัว ซึ่งแป้งและไขมันเหล่านี้เป็นกุญแจสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคเหี่ยวเป็นวงกว้าง โดยแมลงและมดเป็นสัตว์ที่เข้ามาตอมแป้งและไขมันเหล่านั้นซึ่งทำให้เกิดการขนถ่ายเพลี้ยไปยังต้นสับปะรดต้นอื่นๆในบริเวณใกล้ๆ เมื่อพิจารณาถึงกุญแจสำคัญดอกนี้หากสามารถหาสาร (ธรรมชาติ) ที่มีฤทธิ์ในการย่อยสลายหรือทำลายแป้งและไขมันนี้ได้ ก็มีความเป็นไปได้ว่าจะสามารถควบคุมการแพร่ระบาดไม่ให้ขยายวงกว้างได้ ส่วนสารธรรมชาตินี้หากจะมีผลกระทบต่อชีวิตของเพลี้ยหรือไม่นั้นก็จะนำไปศึกษาเพิ่มเติมเป็นประเด็นทางวิชาการต่อไป ดังนั้นคณะนักวิจัยจึงได้สมมุติฐานว่าสาร

ธรรมชาติดังกล่าวจะสามารถใช้ “เอนไซม์” ได้หรือไม่อย่างไร ซึ่งข้อดีประการหนึ่งของการใช้เอนไซม์ก็คือได้รับการยอมรับทางวิชาการว่าเป็น Green Technology ที่สามารถทดแทนสารเคมีได้

ปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพได้ทำให้ห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ทั่วไป สามารถผลิตเอนไซม์ที่เฉพาะเจาะจงขึ้นเองได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง การผลิตเอนไซม์ในปริมาณมากๆนิยมใช้การผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้คัดเลือกสายพันธุ์มาแล้ว เอนไซม์ที่นิยมผลิตกันมากเนื่องจากสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางทั้งในภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมได้แก่ เอนไซม์กลุ่มย่อยแป้ง โปรตีน และไขมัน กลไกการทำงานของเอนไซม์ไม่ยุ่งยากหรือซับซ้อนเพียงแค่ปรับสภาวะ (Condition) ให้เหมาะสม (Optimum) ต่อการเร่งปฏิกิริยาก็จะสามารถทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมได้ตลอดเวลา ต่อเนื่อง และไม่หยุดกิจกรรมจนกว่าจะถึงสภาวะที่กำหนด เช่นสารตั้งต้นถูกย่อยหมด หรือ สารตั้งต้นมีปริมาณมากเกินพอ หรือเอนไซม์เสียสภาพโดยธรรมชาติ เป็นต้น ในภาคเกษตรกรรมนั้นจะพบเห็นการผลิตเอนไซม์ได้จากกระบวนการเตรียมปุ๋ยและเตรียมน้ำหมัก โดยเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นที่นำมาผลิตเอนไซม์ในระดับชุมชนก็จะนำมาจากผงชีวภาพที่ชื่อว่า “พด” ซึ่งในปัจจุบันมี พด มากถึง 12 สูตรที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้แตกต่างกัน ในจำนวนนี้มีจุลินทรีย์หลายหลายสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสามารถผลิตสารชนิดต่างๆ รวมไปถึงเอนไซม์ย่อยสลายสารชีวภาพ ซึ่งมีประสิทธิภาพครอบคลุมความต้องการในมิติของภารกิจด้านการเกษตรกรรมครบถ้วน ส่วนในภาคอุตสาหกรรม จะใช้เชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นที่จำหน่ายในรูปเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้า ซึ่งมีความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อและมีความสะอาดสูงมาก

เอนไซม์จัดเป็นสารอินทรีย์ประเภทหนึ่ง สามารถเรียกได้ว่าสารเร่งปฏิกิริยาที่มีโครงสร้างซับซ้อน คนทั่วไปนิยมเรียกเอนไซม์ว่า “น้ำย่อย” เอนไซม์สร้างมาโดยเซลล์ของสิ่งที่มีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ หน้าที่ของเอนไซม์เกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อการดำรงชีวิต คือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีของกรรมวิธีต่างๆภายในเซลล์ เช่น การย่อยอาหาร การหมัก การสร้างและสลายสารเคมีต่างๆ เอนไซม์มีลักษณะพิเศษในปฏิกิริยาเคมีดังต่อไปนี้ (Barret et al., 2004)

1. เอนไซม์เป็นคะตะลิสต์ที่มีความเฉพาะเจาะจง (specificity) ทั้งต่อ ซับสเตรต ผลิตภัณฑ์ และปฏิกิริยาที่เร่งนั่นคือ เอนไซม์ชนิดหนึ่งๆ จะสามารถเร่งปฏิกิริยาเคมีที่มีซับสเตรตชนิดใดชนิดหนึ่งแล้วได้ผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะ แต่อย่างไรก็ตามการเร่งปฏิกิริยาก็มีความยืดหยุ่น ไม่ได้เป็นเอนไซม์หนึ่งชนิดต่อ ซับสเตรต หนึ่งชนิดเสมอไป เพราะเอนไซม์บางชนิดจะมีความเฉพาะมากหรือน้อยแตกต่างกันออกไป

2. เอนไซม์ปริมาณน้อย ๆ ก็สามารถเร่งปฏิกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาจะน้อยมาก (หน่วย ไมโครโมลาร์ : μM) เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของ ซับสเตรต (หน่วย มิลลิโมลาร์ : mM)

3. เอนไซม์จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆหลังจากที่เกิดการเร่งปฏิกิริยาแล้ว ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ใหม่ โดยสามารถบอกได้เป็นค่าที่เรียกว่า turnover number คือ ค่าที่บอกว่าเอนไซม์หนึ่งโมเลกุลสามารถเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน ซับสเตรต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ได้จำนวนกี่ครั้งในหนึ่งหน่วยเวลา

4. เอนไซม์จะไม่เปลี่ยนแปลงค่าของผลต่างของพลังงานอิสระ (free energy change, ΔG) หรือค่าคงที่สมดุลของปฏิกิริยา (equilibrum constant) กล่าวคือไม่เปลี่ยนแปลงระดับพลังงานที่จุดเริ่มต้นและจุดสุดท้ายในปฏิกิริยา เพียงแต่ไปเร่งอัตราเร็วให้ไปสู่สมดุลได้เร็วขึ้น โดยลดพลังงานกระตุ้น (activation energy) หรือพลังงานอิสระของการกระตุ้น (free energy of activation) ลง

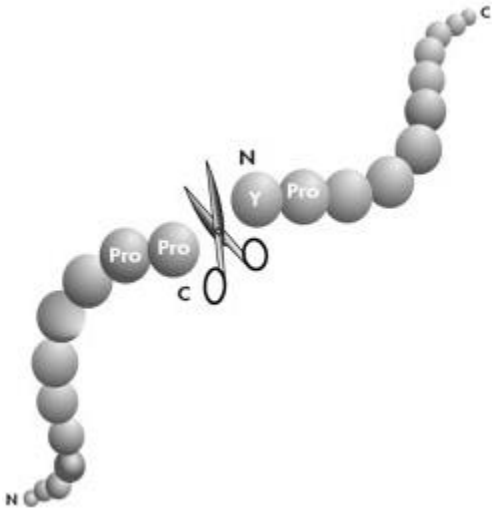
5. เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องอาศัยความอุณหภูมิและความดันที่สูง เพราะตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี จะต้องใช้อุณหภูมิ ความดันสูงๆ หรืออาจจะต้องใช้กรดหรือเบสแก่ จึงจะเร่งปฏิกิริยาได้ ตัวอย่างเช่นในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในสายโพลีเปปไทด์ เช่น เนื้อสัตว์ จะต้องใช้กรดแก่ (6 M HCl) ที่ 120°C เป็นเวลา 10-24 ชั่วโมง แต่ถ้าใช้เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน เช่น เอนไซม์ไคโมทริปซิน ก็จะใช้เวลาน้อยกว่ามาก ที่ pH 7-8 และอุณหภูมิประมาณ 37°C ได้

เอนไซม์สามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม (ตารางที่ 1) ได้แก่ Oxidoreductase Transferases Hydrolases Lyases Isomerases และ Ligase ซึ่งแต่ละกลุ่มมีลักษณะการเร่งปฏิกิริยาแตกต่างกัน โดยกลุ่มที่หน้าที่ในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุลได้แก่กลุ่มที่ 3 ซึ่งกลุ่ม Hydrolases นี้จำแนกได้อีก ถึง 13 กลุ่มย่อยโดยใช้วิธีการกำหนดหมายเลขเอนไซม์ (Enzyme Commission number; EC) ซึ่งแต่ละกลุ่มย่อยได้จัดแบ่งตามตำแหน่งที่เข้าไปย่อย เช่น EC 3.1 หมายถึงตำแหน่งย่อยที่หมู่เอสเทอร์ (ester bond) หรือ EC 3.2 หมายถึงตำแหน่งย่อยที่หมู่ไกลโคซิล (Glycosyl) ซึ่งในปัจจุบันพบว่ามีเอนไซม์กลุ่ม Hydrolases มากกว่า 1,500 ชนิด

ตารางที่ 2.1 แสดงเอนไซม์จำนวน 6 กลุ่ม จำแนกตามกลไกการเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน

Enzyme class	**General scheme of reaction**
1. Oxidoreductases	$A_{red} + B_{ox} \leftrightarrows A_{ox} + B_{red}$
2. Transferases	$A\text{-}B + C \rightarrow A + C\text{-}B$
3. Hydrolases	$A\text{-}B + H_2O \rightarrow A\text{-}H + B\text{-}OH$
4. Lyases	$A\text{-}B \leftrightarrows A + B$ (reverse reaction: synthases)
5. Isomerases	$A\text{-}B\text{-}C \leftrightarrows A\text{-}C\text{-}B$
6. Ligases (synthetases)	$A + B + ATP \rightarrow A\text{-}B + ADP + P_i$

เอนไซม์แต่ละชนิดในกลุ่ม Hydrolase มีความเฉพาะเจาะจงต่อ substrate เช่นเอนไซม์โปรติเอสซึ่งจะย่อยสลายแต่เฉพาะโมเลกุลโปรตีนให้กลายเป็น เพปไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระ ขณะที่เอนไซม์ไลเปสจะย่อยสลายแต่เฉพาะโมเลกุลไขมันให้เล็กลงกลายเป็นกรดไขมัน



ภาพที่ 2.3 แสดงการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์โปรติเอส โดยเอนไซม์โปรติเอสทำหน้าที่เสมือนเป็นกรรไกตัดโมเลกุลของโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงกลายเป็นเพปไทด์ หรือ กรดอะมิโรอิสระ
ที่มา: R. Jaenicke and R. Rudolph, 1989.

เอนไซม์ร่วม (Multienzyme) ในทางชีวเคมีที่ถูกกำหนดไว้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1940 นิยามเอาไว้ว่า “Involving several different enzymes” หมายความว่ามีการนำเอนไซม์หลายชนิดมารวมกัน เพื่อการเร่งปฏิกิริยาหลายกลุ่มในเวลาเดียวกัน ในภาคอุตสาหกรรมมีการประยุกต์เอนไซม์หลายชนิดมาผสมกันเพื่อเร่งปฏิกิริยาหลายอย่าง อาทิเช่น อุตสาหกรรมอาหารที่ผสมเอนไซม์โปรติเอสร่วมกับไลเปส ลงไปเพื่อมีเป้าหมายในการย่อยสลายโปรตีนที่มีความซับซ้อนทางโครงสร้างร่วมกับไขมัน อีกตัวอย่างหนึ่งก็คือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่นำเอนไซม์ร่วมอย่างน้อยสามชนิดได้แก่ โปรติเอส ไลเปส และอะไมเลส มาผสมกันโดยมีเป้าหมายเพื่อช่วยกันย่อยสลายอาหารในกระเพาะเป็นต้น

ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมยา ซึ่งพบว่ามีบริษัทเอกชนในต่างประเทศหลายแห่งได้ผลิตเอนไซม์ร่วมขึ้นมาเพื่ออำนวยความสะดวกให้กับภาคอุตสาหกรรมที่จะนำเอนไซม์ไปใช้ประโยชน์ ส่วนในสาขาที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์การเกษตรก็พบว่าได้มีการศึกษาเชิงลึกถึงการพยายามประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการกำจัดแมลง ซึ่งในปัจจุบันความก้าวหน้าของการศึกษาด้านเซลล์เทคโนโลยี ได้ตีพิมพ์วารสารมากมายที่เผยให้เห็นถึงการศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับผลกระทบของเอนไซม์ต่อเซลล์ชั้นผิวที่ห่อหุ้มแมลง (Cuticle) โดยเอนไซม์กลุ่มหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลล์ผิวของแมลงได้จะ

เรียกว่าเอนไซม์สลายชั้นผิว “cuticle degrading enzyme; CDE” ทั้งนี้ส่วนมากพบว่าเป็นเอนไซม์โปรติเอส (protease) อะไมเลส (amylase) และไลเปส (lipase)

มีรายงานวิจัยการค้นพบเอนไซม์สลายชั้นผิวมานานมากกว่า 30 ปี Leger และคณะในปี ค.ศ. 1986 ได้รายงานการค้นพบเอนไซม์สลายชั้นผิวที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อชั้นผิวของแมลงบางชนิด โดยเอนไซม์นี้แยกได้จากเชื้อรา Metarhizium anisopliae ซึ่งเอนไซม์สลายชั้นผิวนี้เป็นเอนไซม์ร่วมของโปรติเอส ไคติเนส และอะซิติลกลูโคสอะมิเนส โดย Leger ได้ศึกษาการซึมผ่านของเอนไซม์ร่วมเข้าไปในชั้นผิว ซึ่งพบว่าเอนไซม์ดปรติเอสที่ผลิตได้จากเชื้อรานี้ เป็นอัลคาไลน์โปรติเอส ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อชั้นผิวของแมลงบางจำพวก ขณะเดียวกันยังพบว่าเอนไซม์โปรติเอสนี้ไม่ต้องการสภาวะ Ionic strange สูง โดยการใช้เกลือ KCl เพียง 0.3 M ก็สามารถทำให้เอนไซม์โปรติเอสนี้สูญเสียกิจกรรมไปมากกว่า 70%

Shaulkat และคณะในปี ค.ศ. 2009 ได้ศึกษาการนำเอนไซม์ร่วม ได้แก่ โปรติเอส ไลเปส และไคติเนส จากเชื้อราไปทดสอบการทำลายชั้นผิวของหนอนใยผัก (Diamondback Moth) แลพบว่ามีประสิทธิภาพใช้ได้จริง โดยเอนไซม์ร่วมนี้ได้สลายชั้นผิวของหนอนตัวอ่อน (larval) ทำให้การเจริญเติบโตชะงัก และตัวอ่อนของหนอนนี้ได้ฝ่อตายไปในที่สุด

Priyanka และ Gurvinder ในปี ค.ศ. 2010 ได้ศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์โปรติเอสที่ปล่อยออกมาจากเชื้อรา Beaureria Bassiana ที่บ่มเชื้อไว้ 4-6 วัน ผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์โปรติเอสมวลโมเลกุลประมาณ 66 กิโลดาลตัน ที่แยกได้มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาที่ pH และอุณหภูมิเป็นช่วงกว้าง จึงมีความเหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้ในลักษณะเป็นเชื้อราชีวินทรีย์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช

Bai และคณะในปี ค.ศ. 2012 ได้รายงานคุณลักษณะของเอนไซม์ร่วมสลายชั้นผิวจากเชื้อราจำนวน 3 สายพันธุ์ และพบว่าเอนไซม์จากเชื้อรากลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายทั้งเหมือนกันและต่างกันในคุณลักษณะบางประการ ซึ่งช่วงส่งเสริมให้การย่อยสลายชั้นผิวเป็นได้อย่างมีประสิทธิภาพหากสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริง หากสามารถนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกันได้

อย่างไรก็ตามการนำความรู้ด้านเทคโนโลยีเอนไซม์มาขยายผลเพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆด้านการอารักขาพืช ในทางปฏิบัติจริงนั้นไม่ใช่เรื่องง่าย การควบคุมการทดลองในห้องปฏิบัติการที่มีตัวแปรชัดเจนทำให้ผลการศึกษาเป็นไปตามที่คาดหวังคือสามารถลดหรือกำจัดแมลงพาหะได้จริง แต่การนำมาใช้ในแปลงจริงนั้นมีปัจจัยแวดล้อมมากมายและยากต่อการควบคุมโดยเฉพาะปัจจัยสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ เช่น ฝน แดด ความชื้น แมลงศัตรูพืช แหล่งน้ำ และดิน เป็นต้น ดังนั้นนักวิชาการเกษตรจึงพยายามใช้ประโยชน์ทางอ้อมจากการเลี้ยงจุลินทรีย์และให้จุลินทรีย์ทำการผลิตเอนไซม์บางชนิดที่มีผลต่อกลไกการกำจัดแมลงออกมาในขณะที่ดำรงชีพ แม้จะยังไม่มีรายงานวิจัยชี้ชัดว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้มีผลแต่เฉพาะในการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียวหรือมีผลต่อตัวแมลงด้วยหรือไม่นั้น แต่พบว่าในการนำไปประยุกต์ใช้ในแปลงจริงนั้นได้ผลที่ดีพอสมควร หน่วยงานราชการได้แก่กรมพัฒนา

ที่ดินได้เป็นผู้ริเริ่มการพัฒนาจุลินทรีย์ดังกล่าวขึ้นมา ภายใต้รหัสผลิตภัณฑ์ว่า พด (อ่านว่า พอดอ) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการผลิตจุลินทรีย์ พด ขึ้นมาแล้วมากกว่า 12 ชนิดโดยแบ่งลักษณะการใช้งานออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มจุลินทรีย์ปรับปรุงดิน ได้แก่ พด หมายเลข 1, 2, 9, 11 และ 12 เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูง มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสและไขมันที่ย่อยสลายยากเพื่อผลิตปุ๋ยหมักในเวลารวดเร็ว พด ที่นิยมใช้กันมากได้แก่ พด1 และ พด2 โดย พด.1 ประกอบด้วยรายย่อยเซลลูโลส ได้แก่ *Scytalidium thermophilum, Chaetomium thermophilum, Corynascus verrucosus Scopulariopsis breviacaulis* แอคติโนมัยซิสย่อยเซลลูโลส Streptomyces sp. 2 สายพันธุ์และจุลินทรีย์ย่อยไขมัน ได้แก่ *Bacillus subtilis* 2 สายพันธุ์ และพด. 2 เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติพิเศษ คือ เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไขมัน ช่วยลดกลิ่นเหม็นระหว่างหมักและเพิ่มการละลายธาตุอาหารในการหมักเปลือกไข ก้าง และกระดูกสัตว์ในเวลาอันสั้นและได้

2. กลุ่มจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช ได้แก่ พด หมายเลข 3, 5 และ 7 เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชในดินมีคุณสมบัติพิเศษคือ สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในดินในสภาพน้ำขังที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการรากเน่าหรือโคนเน่า ประกอบด้วย เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma sp.*) และเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส (*Bacillus sp.*) โดยเฉพาะ พด7 ซึ่งมีการนำมาใช้กันมากในปัจจุบันโดยเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารออกฤทธิ์โดยกระบวนการหมักพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ (ภาพที่ 2.4) เพื่อผลิตสารควบคุมแมลงศัตรูพืช พด.7 นี้ ประกอบด้วย ยีสต์ Saccharomyces sp. แบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก *Gluconobacter oxydans* และแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก *Lactobacillus fermentum*

3. กลุ่มจุลินทรีย์ปรับสภาพสิ่งแวดล้อม ได้แก่ พด 6

4. กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตปุ๋ย ได้แก่ พด 4, 8 และ 10

ภาพที่ 2.4 ตัวอย่างพืชที่กรมพัฒนาที่ดินได้แนะนำให้เกษตรกรใช้นำไปผสมเพื่อหมักร่วมกับ พด7 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดแมลงพาหะศัตรูพืช

ที่มา : จุลสารของกรมพัฒนาที่ดิน, ม.ป.ป.

ภาพที่ 2.5 ฉลากของ พด7 จากกรมพัฒนาที่ดิน สำหรับผลิตสารควบคุมแมลงศัตรูพืช

ที่มา : ผู้วิจัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษารูปแบบวิธีการจัดการต่างๆที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรด

ระยะเวลา : 4 เดือน

เครื่องมือ : การสังเกต การสัมภาษณ์ การสืบค้นเอกสารจากเกษตรกร การศึกษาชนิดและกลไกของสารเคมีที่ใช้ในการจัดการโรคเหี่ยว

ขอบเขตการศึกษา :

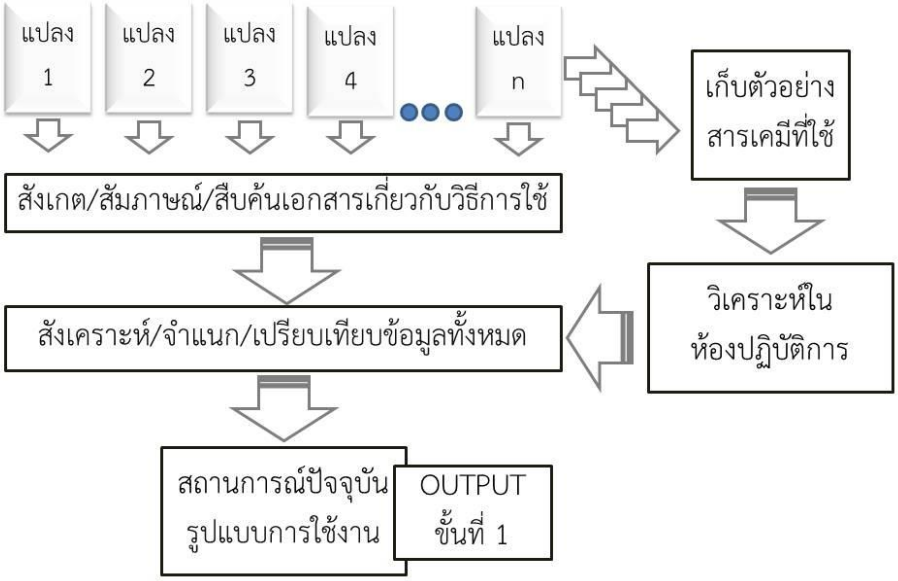
1. พื้นที่การศึกษาได้แก่อำเภอจอมบึง สวนผึ้ง บ้านคา และปากท่อ
2. ไร่สับปะรดที่จะศึกษาจำนวน 10 ไร่/อำเภอ

วิธีการ:

1. ดำเนินการลงพื้นที่สำรวจไร่สับปะรดเป้าหมายที่ดำเนินการจัดการโรคเหี่ยว
2. ไร่ที่พบว่ามีการจัดการแต่ไม่มีประสิทธิภาพให้บันทึกและเก็บข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับวิธีการดำเนินการ สารเคมีที่ใช้ และเครื่องมือที่ใช้
3. ไร่ที่พบว่ามีการจัดการที่มีประสิทธิภาพให้บันทึกข้อมูลและเก็บข้อมูลเชิงลึก ใช้เครื่องมือการสัมภาษณ์ สังเกตการณ์ในขณะปฏิบัติงานจริง
4. สุ่มเก็บตัวอย่างสารเคมีจากไร่ที่มีการจัดการที่ดีและไม่มี ที่เกษตรกรใช้เพื่อนำมาศึกษาคุณลักษณะทางเคมี และศึกษาวิเคราะห์เปรียบเทียบ
5. ผลการศึกษาจะรายงานโดยอธิบายและแสดงการเปรียบเทียบข้อมูลของแต่ละพื้นที่ โดยดำเนินการไปทีละพื้นที่

ผู้เกี่ยวข้อง: นักวิจัย เกษตรกร

ผลผลิต: ผลการศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ สถานการณ์ปัจจุบันของการจัดการโรคเหี่ยว รูปแบบการป้องกัน รูปแบบการใช้สารเคมี ระดับความสำเร็จและผลกระทบที่เกิดขึ้น และผลจากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีทำให้นักวิจัยทราบว่าสารเคมีที่เกษตรกรนำมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวนั้นคืออะไรและมีคุณสมบัติอย่างไร



ภาพที่ 3.1 แสดงกระบวนการพอสังเขปของขั้นตอนที่ 1 การศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ

3.2 การศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วม

การดำเนินการศึกษาในขั้นตอนนี้นักวิจัยจะดำเนินการเสนอแนวทางการนำผลิตภัณฑ์เอนไซม์มาทดแทนการใช้งานสารเคมีจำพวกสารกำจัดศัตรูพืช แต่การนำผลิตภัณฑ์มาใช้งานโดยตรงนั้นไม่สามารถกระทำได้ เนื่องจากขาดการยอมรับจากเกษตรกร อีกส่วนหนึ่งก็คือการนำสารอะไรก็ตามที่เกษตรกรไม่เชื่อมั่นมาทดลองใช้จะเกิดความเสี่ยง ซึ่งเกษตรกรไม่สามารถรับความเสี่ยงนั้นได้ ดังนั้นในขั้นตอนการศึกษาขั้นที่ 3 นี้ นักวิจัยจะดำเนินการหยิบยกงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์การเกษตรมาใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงเพื่อให้เกษตรกรมีความรู้สึกคล้อยตาม ในอีกทางหนึ่งนักวิจัยจะดำเนินการผลิตเอนไซม์ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับครัวเรือน ซึ่งการผลิตเอนไซม์นั้นสามารถดำเนินการได้อย่างง่ายด้วยการใช้แหล่งผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เกษตรกรคุ้นเคยได้แก่ผลิตภัณฑ์ พด ของกรมพัฒนาที่ดิน

นักวิจัยจะทำการเตรียมและผลิตเอนไซม์ร่วม โดยจะดำเนินการในห้องปฏิบัติการและจะใช้วิธีการอย่างง่ายที่สามารถนำไปพัฒนาต่อในระดับครัวเรือนได้ จะทำการควบคุมคุณภาพและศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตเพื่อให้มั่นใจว่าสามารถนำมาใช้ในสถานการณ์จริงได้ จากนั้นนักวิจัยจะนำไปทดลองใช้ในพื้นที่โดยดำเนินการศึกษา

แบบสังเกตร่วมกับเกษตรกร จุดสังเกตได้แก่ลักษณะปรากฏที่อาจเห็นได้ว่าจำนวนเพลี้ยลดลง หรือยังคงเห็นเพลี้ยอยู่แต่จำนวนสารหลั่งของเพลี้ยลดลงหรือไม่มีเลย จากนั้นเมื่อผลการศึกษาชี้ว่าเอนไซม์ให้ผลที่ดีก็จะทำการปรับปรุงและพัฒนาสูตรที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้จริงในพื้นที่เพาะปลูกขนาดใหญ่

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการกำจัดเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด

ระยะเวลา : 2 เดือน

ขอบเขตการศึกษา :

1. ผลิตเอนไซม์โดยเทคนิคการหมักด้วยจุลินทรีย์จาก พด. ซึ่งขอรับการสนับสนุนจากกรมพัฒนาที่ดิน
2. ปริมาณการผลิตขนาด Lab Scale ไม่เกิน 500 มิลลิลิตร/ครั้ง
3. การผลิตเอนไซม์ดำเนินการในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ผลผลิตคือเอนไซม์หยาบเข้มข้น (Crude) ที่ผสมร่วมกันอย่างน้อย 2 ชนิดได้แก่ กลุ่มย่อยแป้ง กลุ่มย่อยไขมัน และกลุ่มย่อยโปรตีน
4. ศึกษากิจกรรมและคุณลักษณะทางเอนไซม์วิทยา เพื่อนำไปออกแบบการใช้งาน
5. ขยายกำลังการผลิต ปริมาณไม่เกิน 5 ลิตร/ครั้ง
6. มุ่งเป้าการกำจัดเพลี้ย ไม่นับรวมแมลง เชื้อรา หรือสิ่งมีชีวิตอื่น แต่หากพบว่ามีผลข้างเคียงให้จดบันทึกแต่ไม่นำมาวิเคราะห์ผล

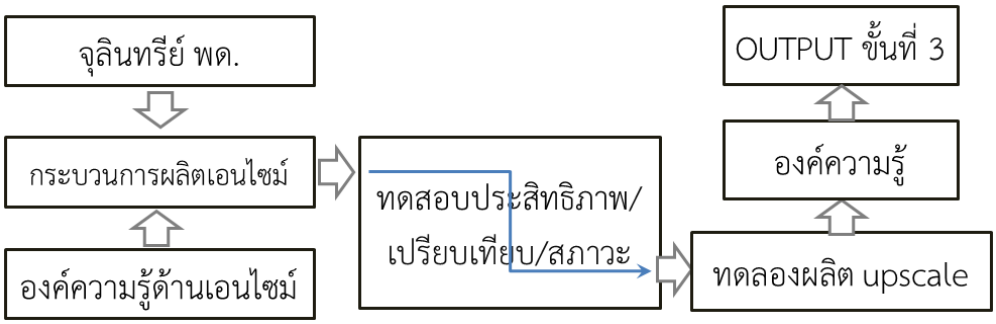
วิธีการ:

1. ผลิตเอนไซม์ด้วยจุลินทรีย์จาก พด.
2. ศึกษากิจกรรมและคุณลักษณะทางเอนไซม์วิทยา ได้แก่ pH, Temp และ Stability
3. เก็บตัวอย่างสารเคลือบผิวเพลี้ยเพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสารเคลือบผิวเพลี้ย และศึกษาเชิงลึกในแง่มุมอื่นๆเพื่อคาดหวังการตีพิมพ์ข้อมูลวิชาการใหม่ๆเชิงลึก
4. ศึกษาการผลิตในระดับที่มากขึ้น และศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพ (ขยายระดับจากห้องปฏิบัติการ)

เครื่องมือ: ดำเนินการในห้องปฏิบัติการตลอดขั้นตอน

ผู้เกี่ยวข้อง: นักวิจัย ภาคีราชการ

ผลผลิต: องค์ความรู้เพื่อจัดการความรู้ให้แก่เกษตรกรและเผยแพร่ตีพิมพ์ในวงการวิชาการ เรื่องการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการกำจัดและป้องกันเพลี้ยในไร่สับปะรด



ภาพที่ 3.2 แสดงกระบวนการพอสังเขปขั้นตอนที่ 2 การศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วม

3.2.1รายละเอียดขั้นตอนการทดลองผลิตเอนไซม์ร่วมและการศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ร่วมอย่างละเอียด

1) การหมักจุลินทรีย์

1.1 สารละลายเลี้ยงจุลินทรีย์มีส่วนผสมหลักได้แก่ กากน้ำตาล 20% v/v น้ำตาลทรายแดง 5% w/v และผสม พด.7 ลงไป 1% w/v

1.2 หมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมงในตู้ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 40 °C

1.3 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์จำนวน 2 กลุ่มได้แก่กลุ่มเอนไซม์โปรติเอสและกลุ่มเอนไซม์ ไกโคไซด์ไฮโดรเลส โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่ปรากฏตาม Barrett และคณะ (Barrett et, al. 2004)

2) การศึกษาผลของการเติมกากถั่วเหลืองต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส

2.1 ดำเนินการหมักจุลินทรีย์ตามวิธีการและสภาวะในข้อ 1 โดยกำหนดให้มีตัวแปรต้นคือปริมาณกากถั่วเหลืองที่จะทำการเติมลงไปผสมในการหมักจำนวน 5 ระดับได้แก่ 1%, 5%, 10%, 15% และ 20%

2.2 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ตามข้อ 1.3

3) การศึกษาผลของ pH ค่าต่างๆต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส

3.1 ดำเนินการหมักจุลินทรีย์ตามวิธีการและสภาวะในข้อ 1 โดยผลจากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ในข้อที่ 2 ซึ่งพบว่าการเติมกากถั่วเหลืองลงไปหมักในปริมาณเท่าไรที่จะทำให้มีค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุดให้เลือกปริมาณกากถั่วเหลืองนั้นมาใช้ในการทดลองขั้นที่ 3 นี้ โดยกำหนดให้มีตัวแปรต้นคือค่า pH ที่แตกต่างกันจำนวน 5 ระดับได้แก่ 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 และ 8.0

3.2 ในการปรับ pH ของการหมักให้ใช้สารละลาย Buffer ดังต่อไปนี้ 0.1 M Phosphate buffer pH 6.0, 6.5 และ 7.0 และใช้ 0.1 M This-HCl pH 7.5 และ 8.0

3.3 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ตามข้อ 1.3

4) การศึกษาผลของการหมักที่เวลาต่างๆต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส

4.1 ดำเนินการหมักจุลินทรีย์ตามวิธีการและสภาวะในข้อ 1 โดยผลจากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ในข้อที่ 2 และข้อที่ 3 ที่ทำให้มีค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุดให้เลือกค่าปริมาณกากถั่วเหลือง และ pH ระดับนั้นมาใช้ในการทดลองขั้นที่ 4 นี้ โดย กำหนดให้มีตัวแปรต้นคือเวลาที่แตกต่างกันในระหว่างการหมักจำนวน 5 ระดับได้แก่ 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง

4.2 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ตามข้อ 1.3

5) การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimum) และด้านเสถียรภาพอุณหภูมิ (Stability) ของเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส

5.1 นำค่าปริมาณกากถั่วเหลือง pH และเวลา ที่เหมาะสมที่ทำให้สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ดีที่สุดมาดำเนินการหมักจุลินทรีย์ และดำเนินการวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ตามข้อ 1.3 โดยให้ดำเนินการใช้สารยับยั้งเอนไซม์จำนวน 2 ชนิดช่วยในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมได้แก่ Acarbose และ Halt Protease Inhibitor Cocktail (100X) โดยใช้ Acarbose ยับยั้งเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสเมื่อจะวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส และใช้ Halt Protease Inhibitor Cocktail (100X) เมื่อวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส

5.2 การวิเคราะห์อุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimum) และด้านเสถียรภาพอุณหภูมิ (Stability) ของเอนไซม์ โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ใช้วิธีวิเคราะห์ที่ปรากฏตาม Barrett และคณะ (Barrett et, al. 2004)

6) การวิเคราะห์ข้อมูล วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยกิจกรรมในแต่ละการทดลองโดย ANOVA และ LSD เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่ากิจกรรมที่ได้จากตัวแปรต้นแต่ละค่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 กิจกรรมการป้อนกลับข้อมูลที่ศึกษาไปยังภาคีเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

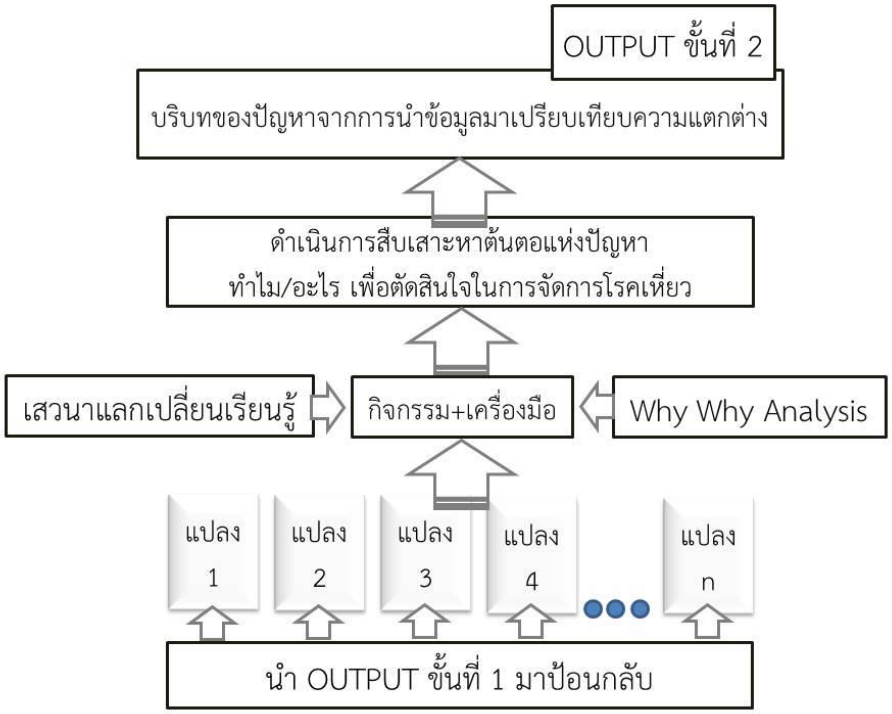
วัตถุประสงค์ : เพื่อป้อนกลับข้อดีข้อเสีย และสิ่งที่ได้เรียนรู้จากกระบวนการศึกษาวิจัยไปยังภาคีที่เกี่ยว
ระยะเวลา: 4 เดือน ซึ่งดำเนินการไปพร้อมกับขั้นตอนก่อนหน้านี้
เครื่องมือ: การพูดคุยสนทนา ไปเยี่ยมแบบกัลยาณมิตรเป็นประจำ Why Why Analysis และถ่ายทอดเทคโนโลยี
ขอบเขตการศึกษา :

1. พื้นที่การศึกษาได้แก่อำเภอจอมบึง สวนผึ้ง บ้านคา และปากท่อ
2. การศึกษาในขั้นตอนนี้ให้ดำเนินการควบคู่ไปกับการศึกษาในขั้นตอนอื่น
3. จัดกิจกรรมถ่ายทอดเทคโนโลยีแบบมุ่งเป้ารายบุคคล เพื่อให้เกิดความสะดวก รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ

วิธีการ:

1. ให้ข้อมูลผลการศึกษาในขั้นตอนที่ผ่านมาป้อนกลับแก่เกษตรกรที่เกี่ยวข้อง โดยใช้การพูดคุยและไปเยี่ยมเยียนอย่างต่อเนื่อง
2. สาระสำคัญของการป้อนข้อมูลกลับคือนักวิจัยจะชี้ให้เห็นรูปแบบและวิธีการที่มีประสิทธิภาพที่ถูกนำมาใช้ทั้งในพื้นที่ตนเองและในพื้นที่อื่นๆ รวมทั้งอธิบายให้เข้าใจถึงข้อดีข้อเสียของการนำผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมมาใช้จริงในการจัดการโรคเหี่ยว
3. ในวันที่ดำเนินการป้อนกลับข้อมูล ให้ดำเนินการใช้เครื่องมือ Why Why Analysis เพื่อสืบเสาะให้ได้มาซึ่ง “ต้นตอของปัญหา” ว่าทำไมถึงจัดการปัญหาโรคเหี่ยวไม่ได้ เพื่อให้เกษตรกรเกิดความตระหนักและอยากจะทดลองเปลี่ยนแปลงการปฏิบัติในแบบเดิม

ผู้เกี่ยวข้อง: นักวิจัย เกษตรกร ภาคีราชการ
ผลผลิต: เมื่อป้อนกลับข้อมูลและจัดการความรู้ ผู้ที่ได้ใช้ผลการศึกษานี้คือเกษตรกรโดยตรง เกษตรกรควรมีส่วนร่วมในขั้นตอนการให้ข้อมูลและขั้นตอนป้อนกลับและจัดการความรู้ การป้อนกลับและการจัดการความรู้นั้นไม่ใช่การสอนแบบฝึกอบรม แต่จะเป็นการเรียนรู้ร่วมกันเมื่อทำงานในพื้นที่จริง รวมไปถึงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเอนไซม์ ซึ่งเกษตรกรจะถูกปรับหรือเพิ่มพูนความรู้ด้วยเทคนิคการสื่อสารวิทยาศาสตร์ เพื่อให้เกิดความเข้าใจถ่องแท้ เกิดการยกระดับความรู้ และมีความเข้าใจเชิงวิชาการของการจัดการโรคเหี่ยวไปในทิศทางเดียวกัน ก่อนที่เกษตรกรจะสามารถประยุกต์หรือต่อยอดให้เกิดการพัฒนาด้วยตนเองต่อไป



ภาพที่ 3.3 แสดงกระบวนการพอสังเขปกิจกรรมการป้อนกลับข้อมูลในขั้นตอนที่ 3

3.4 การนำผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมไปขยายผลสู่การใช้จริงในพื้นที่

ระยะเวลา : 2 เดือน

ขอบเขตการศึกษา :

1. ทดลองในแปลงคัดเลือกที่มีการระบาดของเพลี้ย
2. อาณาเขตการทดลองขนาดไม่น้อยกว่า 16 ตารางเมตร หรือประมาณ 30 ต้น
3. ใช้เอนไซม์ร่วมทดแทนสารเคมี หรือใช้ร่วมกัน

วิธีการ :

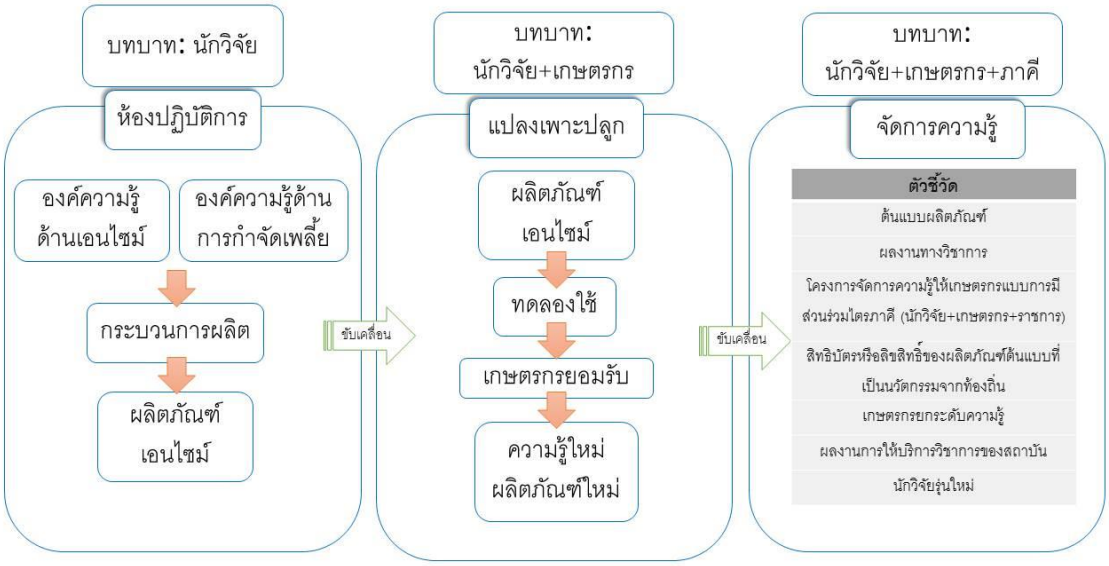
1. นำเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นไปใช้พ่นในแปลงจริง โดยเกษตรกรเป็นผู้นำไปทดลองใช้ และผู้วิจัยเป็นผู้กำกับดูแลและสังเกตการณ์
2. ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพเทียบกับสารเคมี หรืออย่างอื่น
3. จัดการความรู้การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ให้เกษตรกรโดยใช้เครื่องมือการร่วมกันทำภารกิจ

4. ทำการเชื่อมโยงวิธีการใช้เอนไซม์เข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในขั้นตอนก่อนหน้านี้ เพื่อยกระดับวิธีโดยนำไปเชื่อมโยงสู่ความเป็นไปได้ของรูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวในแนวทางการป้องกันที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งในขั้นตอนนี้อาศัยเครื่องมือการเผยแพร่ความสำเร็จของการทดลองไปสู่ภาคีอื่นที่เกี่ยวข้อง

เครื่องมือ: การสังเกต การบันทึก การประเมินจากสภาพจริง

ผู้เกี่ยวข้อง: นักวิจัย เกษตรกร ภาคีราชการ

ผลผลิต: ผลิตภัณฑ์เอนไซม์กำจัดและป้องกันเพลี้ยที่ได้รับการยอมรับจากเกษตรกร โดยในภายหลังการจัดการความรู้ ความรู้ทางด้านเอนไซม์จะถูกถ่ายทอดไปยังเกษตรกรเพื่อนำร่องยกระดับความรู้ เกษตรกรจะได้นำผลการศึกษานี้ไปใช้โดยตรง และมีผลิตภัณฑ์กำจัดเพลี้ยที่เกิดจากการพัฒนาด้วยเกษตรกรเอง เกษตรกรจะเข้ามามีส่วนร่วมโดยเป็นตัวหลักในขั้นตอนการนำผลิตภัณฑ์ไปทดลองใช้ แม้เอนไซม์จะเป็นสิ่งใหม่สำหรับเกษตรกรแต่รูปแบบการใช้งานยังคงเหมือนเดิม (สิ่งใหม่บนฐานความรู้เดิม) ในเวลาต่อมาเมื่อทำการเผยแพร่ผลงานนี้ภาคีส่วนอื่นสามารถนำความรู้ที่เผยแพร่ไปพัฒนาหรือต่อยอดได้ต่อไป



ภาพที่ 3.4 ความต่อเนื่องของการขับเคลื่อนกระบวนขั้นที่ 3 และขั้นที่ 4 เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์

3.5 แผนการดำเนินงาน

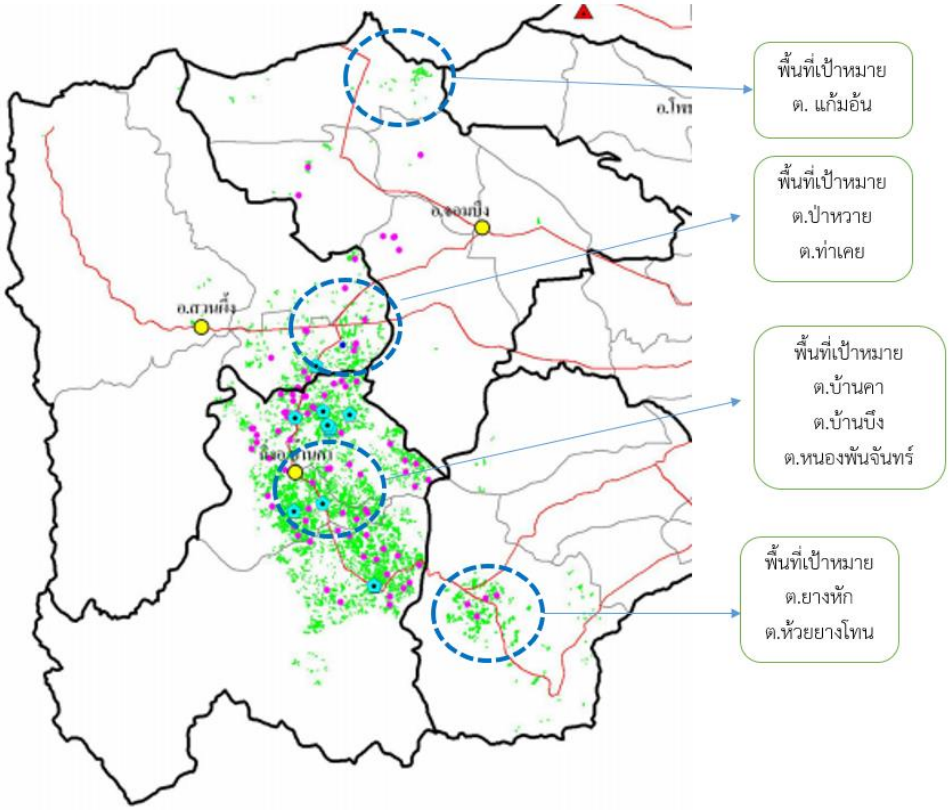
คำถามการวิจัย	ระเบียบวิธีวิจัย	กิจกรรม	ผลที่คาดว่าจะได้รับ	วัน/เวลาดำเนินการ
คำถาม: ทำอย่างไรให้เกษตรกรในพื้นที่เป้าหมาย ยกระดับความรู้และความเข้าใจในวิธีการจัดการโรคเหี่ยวสับปะรดที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งวิธีเหล่านั้นมีอะไรบ้าง มีเนื้อหาอย่างไร จัดจำแนกอย่างไร และมีรูปแบบความรู้นี้อย่างไร	การศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ **เครื่องมือ**:การสังเกตการสัมภาษณ์ การสืบค้นเอกสารจากเกษตรกร การศึกษาชนิดและกลไกของสารเคมีที่ใช้ในการจัดการโรคเหี่ยว	1.ดำเนินการลงพื้นที่สำรวจไร่เป้าหมาย 2.เก็บตัวอย่างสารเคมีมาศึกษาและวิเคราะห์ 5.รายงานเปรียบเทียบข้อมูลของแต่ละพื้นที่	ผลการศึกษารูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพ /รูปแบบการป้องกัน รูปแบบการใช้สารเคมี /ระดับความสำเร็จและผลกระทบที่เกิดขึ้น และผลจากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีทำให้นักวิจัยทราบว่าสารเคมีที่เกษตรกรนำมาใช้ในการจัดการโรคเหี่ยวนั้นคืออะไร	4 เดือน 1 มค-31เมย 60
คำถาม : มีความเป็นไปได้หรือไม่ที่เกษตรกรจะตัดสินใจเลือกใช้เอนไซม์ร่วมเพื่อเป็นทางเลือกในการกำจัดเพลี้ย โดยเกษตรกรพึ่งพาตนเองได้	การศึกษาการผลิตเอนไซม์	1. ผลิตและเตรียมผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วม 2.ตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมในห้องปฏิบัติการ 3. ร่วมมือกับเกษตรกรปรับปรุงและพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วม 4. นำไปทดลองใช้งานในแปลงทดลอง 5. จัดการความรู้และการถ่ายทอดเทคโนโลยี	-เอนไซม์ร่วมต้นแบบที่มีฤทธิ์และกิจกรรม -ข้อดี / ข้อเสีย / ข้อมูลเชิงวิชาการสำหรับการนำไปกำหนดเป็นผลงานทางวิชาการเพื่อตีพิมพ์/ เผยแพร่/ ขอตำแหน่งวิชาการ - การยอมรับ/ ความเชื่อถือและมั่นใจจากเกษตรกร	2 เดือน 1 กค-31สค 60

คำถามการวิจัย	ระเบียบวิธีวิจัย	กิจกรรม	ผลที่คาดว่าจะได้รับ	วัน/เวลาดำเนินการ
คำถาม: ทำอย่างไรให้เกษตรกรในพื้นที่เป้าหมาย ยกระดับความรู้และความเข้าใจในวิธีการจัดการโรคเหี่ยวสับปะรดที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งวิธีเหล่านั้นมีอะไรบ้าง มีเนื้อหาอย่างไร จัดจำแนกอย่างไร และมีรูป แบบความรู้นี้อย่างไร	กิจกรรมการป้อนกลับข้อมูลที่ศึกษามาแล้วในข้างต้น **เครื่องมือ:** จัดทำ Why Why Analysis และการถ่ายทอดเทคโนโลยี	1.ให้ข้อมูลผลการศึกษา ป้อนกลับแก่เกษตรกร 2. ชี้ให้เห็นและชี้นำให้เกิดการคล้อยตามเพื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงถึงข้อดี ข้อเสีย/รูปแบบและวิธีการใช้เอนไซม์ร่วมที่มีประสิทธิภาพที่ถูกนำมาใช้ทั้งในพื้นที่ตนเองและในพื้นที่อื่นๆ ได้ดีจริง 3.Why Why Analysis เพื่อสืบเสาะให้ได้มาซึ่ง “ต้นตอของปัญหา” ว่าทำไมถึงจัดการโรคเหี่ยวไม่ได้	เมื่อป้อนกลับข้อมูลและจัดการความรู้ ผู้ที่ได้ใช้ผลการศึกษานี้คือเกษตรกรโดยตรง เกษตรกรควรมีส่วนร่วมในขั้นตอนการให้ข้อมูลและขั้นตอนป้อนกลับและจัดการความรู้ การป้อนกลับและการจัดการความรู้นั้นไม่ใช่การสอนแบบฝึกอบรม แต่จะเป็นการเรียนรู้ร่วมกันเมื่อทำงานในพื้นที่จริง ซึ่งเกษตรกรจะถูกปรับหรือเพิ่มพูนความรู้ด้วยเทคนิคการสื่อสารวิทยาศาสตร์ เพื่อให้เกิดความเข้าใจถ่องแท้ เกิดการยกระดับความรู้ และมีความเข้าใจเชิงวิชาการของการจัดการโรคเหี่ยวไปในทิศทางเดียวกันก่อนที่เกษตรกรจะสามารถประยุกต์หรือต่อยอดให้เกิดการพัฒนาด้วยตนเองต่อไป	4 เดือน 1 มีค-30มิย 60

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 บริบทชุมชนเกี่ยวกับรูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวของเกษตรกร

จากการศึกษาบริบทและสถานการณ์ปัจจุบัน ที่ได้กำหนดข้อคำถามว่าบริบทชุมชนเกี่ยวกับวิธีการจัดการโรคเหี่ยวสับปะรด (การป้องกันและการแก้ปัญหาเฉพาะหน้า) ทั้งในอดีตที่ผ่านมาจนกระทั่งถึงในปัจจุบันนี้ ซึ่งเป็นวิธีที่เกษตรกรเห็นว่ามีประสิทธิภาพ ซึ่งวิธีเหล่านั้นมีอะไรบ้าง มีเนื้อหาอย่างไร จัดจำแนกอย่างไร และมีรูปแบบความรู้นี้อย่างไร ผู้วิจัยได้ใช้เครื่องมือการสัมภาษณ์และสนทนาต่อเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดรายบุคคลจำนวน 24 แห่ง แต่ละแห่งประกอบไปด้วยเกษตรกรรายบุคคลหรือครอบครัวคละกันครอบคลุมในพื้นที่ 4 อำเภอได้แก่ จอมบึง สวนผึ้ง บ้านคา และปากท่อ (ภาพที่ 4.1) ซึ่งมากกว่าครึ่งหนึ่งของผู้ที่ให้ข้อมูลคือเกษตรกรในพื้นที่ปลูกสับปะรดโรงงานในอำเภอปากท่อ



ภาพที่ 4.1 พื้นที่เป้าหมายโดยรวมในการลงพื้นที่เก็บข้อมูลจำนวน 8 ตำบล ใน 4 อำเภอ โดยตำแหน่งจุดสีเขียวคือบริเวณที่ระบุว่าดำเนินการปลูกสับปะรด ซึ่งจากภาพจะเห็นปริมาณการปลูกจำนวนมากในอำเภอบ้านคา
ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน

การพูดคุยไม่ได้กำหนดคำถามหรือแบบฟอร์มใดๆไว้ก่อน แต่เน้นสาระสำคัญการสนทนาเกี่ยวกับเรื่องโรคเหี่ยว ในแง่มุมของการป้องกันและแง่มุมของการแก้ปัญหา โดยให้ผู้ปลูกสับปะรดได้แสดงทัศนะ ความคิดเห็น และข้อค้นพบจากประสบการณ์ พร้อมเสนอแนะแนวทางหรือสิ่งที่อยากเสนอต่อไปยังภาคีอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

จากการอ้างอิงถึงผลการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ เกษตรศาสตร์ และสัตววิทยาก่อนหน้านี้ รวมไปถึงข้อมูลทุติยภูมิ ซึ่งได้รายงานว่าสัตว์พาหะสำคัญของการแพร่ระบาดของโรคเหี่ยวคือ “มด” และ “เพลี้ย” นักวิจัยจึงได้ดำเนินการศึกษาในไร่ปลูกสับปะรดจริง โดยลงพื้นที่แบบไม่ได้ระบุสถานที่เฉพาะเจาจง นักวิจัยเดินทางไปยังไร่ปลูกสับปะรดขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในพื้นที่อำเภอสวนผึ้งและบ้านคา ในเดือนมิถุนายน และกรกฎาคม ไปอำเภอจอมบึงและปากท่อในเดือนสิงหาคม และกันยายน จากนั้นได้เดินทางไปในอำเภอทั้ง 4 แห่งนี้ในสถานที่เดิมหรือสถานที่ใหม่อีกหลายครั้งในเดือนตุลาคม และพฤศจิกายน รวมจำนวนการทำงานเข้าไปศึกษาในพื้นที่ทั้งสิ้น 9 เดือน ใช้เครื่องมือการสังเกตการณ์ การซักถามผู้ที่เกี่ยวข้อง การสนทนา การสัมภาษณ์ และการเก็บตัวอย่างมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ ในขั้นตอนการทำงานขั้นนี้ในระยะแรกที่อำเภอสวนผึ้ง นักวิจัยได้ดำเนินการรวมตัวเกษตรกรเพื่อแลกเปลี่ยนเรียนรู้ (ภาพที่ 4.2) แต่กลับพบว่าข้อมูลที่ได้รับจากการสนทนาเป็นข้อมูลทั่วๆไปที่หาอ่านได้จากรายงานวิจัยหรือเอกสารทางวิชาการ ไม่ใช่ข้อมูลเชิงลึกจากที่คาดหวังเอาไว้ว่าจะได้มาจากฝ่ายเกษตรกร เนื่องจากในขณะนั้นเป็นช่วงเวลาที่สำคัญของการเตรียมพื้นที่ลงหน่อพันธุ์ ซึ่งมีกรรมวิธีการเตรียมพื้นที่หรือที่เรียกว่า “เขตกรรม” โดยต้องใช้แรงงานและเครื่องจักรเข้ามาทำงานในพื้นที่ตามคิวของแต่ละไร่ จึงมีความวุ่นวายเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลานักวิจัยได้ใช้โอกาสเก็บข้อมูลจากการพูดคุย แต่ผลปรากฏว่าในการดำเนินกิจกรรมนั้นไม่ค่อยได้รับความร่วมมือจากเกษตรกรเท่าที่ควร และจำนวนเกษตรกรที่มาร่วมชุมนุมนั้นจะมีหลายท่านที่พูดไม่เก่ง ส่วนใหญ่เป็นแม่บ้าน ซึ่งไม่ใช่ผู้ที่เป็นกุญแจของคำถาม ขณะที่บางท่านพูดเก่งมากจนดูเหมือนจะเป็นผู้ควบคุมประเด็นคำถามคำตอบแทนนักวิจัยไปโดยปริยาย

ภาพที่ 4.2 บรรยากาศการประชุมในระยะแรกของการวิจัยเพื่อชี้แจงการทำงานของทีมนักวิจัย

แต่อย่างไรก็ดี นักวิจัยพบว่าเกษตรกรมีระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเหี่ยวมากในระดับหนึ่ง โดยพิจารณาจากเครื่องมือวัดระดับความรู้ความเข้าใจที่ทีมนักวิจัยได้ออกแบบมาอย่างง่าย เพื่อใช้ในการวัดระดับความรู้ของเกษตรกรภายใต้กระบวนการสัมภาษณ์และพูดคุย ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และผลคะแนนบางส่วนในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงตัวอย่างข้อคำถามและระดับคะแนนของเครื่องมือที่นำมาใช้เพื่อวัดระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเหี่ยวสับปะรด

ที่	คำถาม	แนวโน้มคำตอบ	ค่าระดับ
1	ต้นตอของโรคเหี่ยวสับปะรดเกิดจากสาเหตุอะไร	เชื้อไวรัสในหน่อพันธุ์	ดี
		เชื้อไวรัสที่แพร่ระบาดมาจากต้นอื่น	พอใช้
		แบคทีเรีย / รา / เพลี้ย / มด / ไม่ทราบ	รู้น้อย / ไม่รู้
2	โรคเหี่ยวสับปะรดแพร่ระบาดไปเป็นวงกว้างเนื่องจากสาเหตุอะไร	เพลี้ย/มด ที่เป็นพาหะ	ดี
3	การจัดการเมื่อพบสับปะรดเป็นโรคเหี่ยว	ถอน / กำจัดออกจากพื้นที่ / กำจัดพาหะ	ดี
4	การระวังป้องกันไม่ให้โรคเหี่ยวกลับมาระบาดซ้ำ	กำจัดพาหะ / จัดการดิน / เตรียมหน่อพันธุ์แบบบูรณาการ / เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	ดี
		ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช / ซื้อหน่อพันธุ์ปลอดโรค	พอใช้
		ไม่ทราบ	รู้น้อย /ไม่รู้

ตารางที่ 4.2 ค่าของผลคะแนนจากตัวอย่างข้อคำถามในตารางที่ 1 เพื่อวัดระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเหี่ยวสับปะรดของเกษตรกร

ข้อคำถาม	ค่าความถี่ในระดับคะแนน (N = 66)			ร้อยละของระดับความรู้ “ดี”
	ดี	พอใช้	ไม่รู้	
ต้นตอของโรคเหี่ยวสับปะรดเกิดจากสาเหตุอะไร	28	31	7	42.42
โรคเหี่ยวสับปะรดแพร่ระบาดไปเป็นวงกว้างเนื่องจากสาเหตุอะไร	32	34	0	48.48
การจัดการเมื่อพบสับปะรดเป็นโรคเหี่ยว	45	21	0	68.18
การระวังป้องกันไม่ให้โรคเหี่ยวกลับมาระบาดซ้ำ	54	12	0	81.81

การดำเนินการวัดระดับความรู้ความเข้าใจ ทำให้นักวิจัยสามารถนำไปเชื่อมโยงกับการออกแบบกิจกรรม เพื่อทำให้กิจกรรมที่จะเกิดขึ้นต่อจากนี้จะนำไปสู่จุดเริ่มต้นของการเกิดการเปลี่ยนแปลงในทิศทางที่ถูกต้อง ทั้งการเปลี่ยนแปลงด้านนโยบาย ด้านความคิดรวมไปถึงด้านพฤติกรรม ซึ่งภายหลังจากได้ดำเนินการวัดระดับความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรแล้วนักวิจัยได้วิเคราะห์ออกมาเป็นประเด็นได้ดังนี้

4.1.1 วิเคราะห์ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรด้านการเกิดโรคเหี่ยว

จากการวัดระดับความรู้ความเข้าใจเกษตรกรในตารางที่ 1 และ 2 ผลการศึกษาพบว่า ร้อยละ 42-48 ของเกษตรกรสามารถเข้าใจหลักของการแพร่ระบาดโรคเหี่ยวอยู่ในระดับ “ดี” ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก

1) เกษตรกรเคยรับการจัดการความรู้จากภาคีที่เกี่ยวข้อง เช่นเกษตรอำเภอ เกษตรจังหวัด กรมพัฒนาที่ดิน นักวิชาการเกษตร ปราชญ์ ครอบครัวตนเอง และเพื่อนเกษตรกรในสหกรณ์ที่ตนเองสังกัดอยู่

2) ในพื้นที่มีเกษตรกรที่มีระดับการศึกษาสูงขั้นปริญญาในสาขาที่เกี่ยวข้องกับการเกษตร รวมไปถึงมีนักการเกษตรที่เกษียณอายุราชการมาแล้วบางท่าน ซึ่งจะเป็นผู้มีความรู้เกี่ยวกับโรคเหี่ยวสับปะรดมากพอสมควร

3) เกษตรกรได้รับสารความรู้จากสื่อสารสนเทศอาทิเช่น Google และ Youtube เป็นต้น

4.1.2 วิเคราะห์ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรด้านการป้องกันและแก้ปัญหา

จากการวัดระดับความรู้ความเข้าใจเกษตรกรในตารางที่ 1 และ 2 ผลการศึกษาพบว่า ร้อยละ 68-81 ของเกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจหลักของการป้องกันและการแก้ปัญหาการแพร่ระบาดโรคเหี่ยวอยู่ในระดับ “ดี” ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเหตุผลสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันกับความรู้ความเข้าใจด้านการเกิดโรค นั่นคือได้รับการฝึกอบรมหรือจัดการความรู้ มีเกษตรกรที่มีความรู้เชิงลึก และศึกษาหาความรู้จากสื่อสารสนเทศ

ซึ่งเมื่อผู้วิจัยได้ข้อมูลจากแห่งหนึ่งๆแล้ว นักวิจัยจะขอให้เกษตรกรแนะนำแหล่งปลูกแหล่งต่อไป ซึ่งเกษตรกรสามารถแนะนำให้ผู้วิจัยไปพบกับผู้ปลูกสับปะรดรายต่อๆไปที่สามารถให้ข้อมูลอย่างอื่นเพิ่มเติมที่เหมือนหรือแตกต่าง ทั้งในพื้นที่อำเภอเดียวกันและต่างอำเภอ โดยผู้วิจัยสามารถสังเคราะห์ข้อมูลเพื่ออธิบายถึงสถานการณ์ในปัจจุบันเกี่ยวกับการ**จัดการ**โรคเหี่ยวสับปะรดได้ดังการวิเคราะห์ในหัวข้อที่ 4.2

4.2 สถานการณ์ปัจจุบันเกี่ยวกับการจัดการโรคเหี่ยวสับปะรด

สถานการณ์ในปัจจุบันนี้รูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวของเกษตรกรในอำเภอสวนผึ้ง บ้านคา จอมบึง และปากท่อ มีหลายสิ่งที่มีลักษณะเหมือนกัน โดยมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในแง่ของรายละเอียดปลีกย่อยในขั้นตอนการดำเนินการ อย่างไรก็ตามการจัดการโรคเหี่ยวที่ใช้กันอยู่ในพื้นที่นี้ได้ประยุกต์มาจากกรรมวิธีมาตรฐานที่กรมวิชาการเกษตร และกรมพัฒนาที่ดินได้เคยมาจัดการความรู้แก่เกษตรกรก่อนหน้านี้ เพียงแต่อาจจำเป็นต้องประยุกต์เพื่อให้เกิดความเหมาะสมบางประการ เกษตรกรมีความเข้าใจเป็นอย่างดีว่าไวรัสชนิดที่ระบาดในสับปะรดไม่มีทางรักษาได้ เกษตรกรจึงมุ่งแสวงหาวิธีการป้องกันและแก้ปัญหาเฉพาะหน้าเมื่อพบการระบาดเพื่อเป้าหมายในการ “ลดการแพร่ระบาดเป็นวงกว้าง” โดยการจัดการโรคเหี่ยวของเกษตรกรสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธีการหลักๆได้แก่ วิธีการป้องกันและวิธีการแก้ปัญหา

วิธีการป้องกัน จะเริ่มตั้งแต่การตัดสินใจเริ่มปลูก โดยใช้วิธีต่างๆอาทิ การเตรียมและคัดหน่อพันธุ์ การจัดการดินและพื้นที่โดยรอบ และการใช้สารเคมีนำร่อง ส่วนการแก้ปัญหาจะดำเนินการเมื่อพบโรคเหี่ยวระบาดในขณะสับปะรดเจริญวัย (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลจากเกษตรกรที่แนะนำว่าเป็นการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรดที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

รูปแบบ	วิธี	การดำเนินการ	ความถี่	ความสำเร็จ
การป้องกัน	จัดการหน่อพันธุ์	1. คัดสรรหน่อที่ไม่เคยเป็นโรคมาก่อนมาเป็น Stock	45	ดีมาก
		2. หาซื้อหน่อพันธุ์ที่ปลอดโรคจากกลุ่มหรือตัวแทน	38	พอใช้
		3. เตรียมหน่อพันธุ์โดยการต้มและแช่สารเคมี	29	ดี
		4. ใช้หน่อพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8	ดีมาก
	จัดการดินและพื้นที่โดยรอบ	1. การไถกลบดินล้วนๆเพียงอย่างเดียว	36	ดี
		2. การไถกลบต้นสับปะรดเดิมคลุกกับดิน	28	ดีมาก
		3. การปรับสภาพดินหรือพักดินเฉพาะบริเวณปลูก	34	ดี
	ใช้สารเคมี	1. การใช้สารเคมีในการเตรียมหน่อพันธุ์	49	ดีมาก
		2. การพ่นสารเคมีในขั้นตอนการจัดการดิน	51	ดี
		3. การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในช่วง 1-3 เดือน	51	ดีมาก
	ชีวินทรีย์และเกษตรอินทรีย์	1. ใช้เชื้อราบิวเวอร์เรีย	7	พอใช้
		2. ใช้ชีวินทรีย์แมลงศัตรูธรรมชาติ	1	แย่
		3. ใช้น้ำส้มควันไม้	19	พอใช้
		4. ใช้น้ำหมักจากธรรมชาติ	22	พอใช้

หมายเหตุ ความถี่หมายความว่า ข้อมูลเชิงปริมาณของจำนวนเกษตรกรที่ให้ข้อมูลการดำเนินการตามประเด็นนั้นๆ ซึ่งเกษตรกรบางรายให้ข้อมูลการดำเนินการหลายประเด็น

โดยวิธีการแก้ปัญหา ซึ่งสิ่งที่เกษตรกรหลายคนดำเนินการอาจจะเรียกได้ว่า “การแก้ปัญหาเฉพาะหน้า” มากกว่าการแก้ปัญหาที่ต้นเหตุ (ตารางที่ 4.4) โดยหลักการที่นำมาใช้เป็นวิธีการดั้งเดิมแต่เชื่อว่าได้ผล เช่นการถอนต้นทิ้ง ฝัง เผา ตัดแต่งที่ปลาย รวมไปถึงบูรณาการหลายวิธีพร้อมๆกันซึ่งอาจมีการนำสารเคมีบางชนิดมาใช้ร่วมด้วย

ตารางที่ 4.4 ข้อมูลจากเกษตรกรที่แนะนำว่าเป็นการแก้ปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรดที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

รูปแบบ	วิธี	การดำเนินการ	ความถี่	ความสำเร็จ
การแก้ปัญหา	กำจัดต้น	1. ถอนต้นทิ้ง/ ฝัง/ เผา	58	ดีมาก
		2. ฟันให้ล้ม	23	พอใช้
	ตัดแต่ง	1. ตัดปลายที่เหี่ยว	7	พอใช้
อื่นๆ	บูรณาการหลายวิธี	1. บูรณาการหลายวิธีเปลี่ยนตามสถานการณ์	17	ดี

หมายเหตุ ความถี่หมายความว่า ข้อมูลเชิงปริมาณของจำนวนเกษตรกรที่ให้ข้อมูลการดำเนินการตามประเด็นนั้นๆ ซึ่งเกษตรกรบางรายให้ข้อมูลการดำเนินการหลายประเด็น

จากการสัมภาษณ์ สนทนา และซักถามเกษตรกรจำนวน 66 คนจาก 8 ตำบลในพื้นที่เป้าหมาย (เฉพาะในการสนทนาประเด็นโรคเหี่ยว) ซึ่งในจำนวน 66 คนนี้ มีสถานภาพความเกี่ยวข้องเป็นญาติกันหลายคู่ โดยเป็นเจ้าของแปลงและดำเนินการปลูกสับปะรดเองจำนวน 41 คน นอกเหนือจากนั้นมีลักษณะเป็นผู้เช่าแปลงคนอื่นแต่ปลูกเอง เป็นเจ้าของแปลงแต่ไม่ได้ปลูกเอง และรวมไปถึงลักษณะสถานภาพที่ซับซ้อนเช่นไม่ได้เป็นเจ้าของแปลง ไม่ได้ลงมือปลูกเอง แต่มีหน้าที่ดูแลแปลงโดยถูกว่าจ้าง ซึ่งพบลักษณะอย่างหลังสุดนี้หลายรายในพื้นที่อำเภอปากท่อ อายุเฉลี่ยของเกษตรกรผู้ให้ข้อมูลอยู่ในช่วง 40-55 ปี มีผู้จบการศึกษาในระดับปริญญาตรีจำนวน 8 คน นอกนั้นไม่ได้เรียนหนังสือ จบการศึกษาระดับประถมศึกษา มัธยมศึกษา และอาชีวศึกษาคละกันไป ผลการศึกษาในตารางที่ 4.3 พบว่าวิธีที่มีประสิทธิภาพในระดับดีมากในการป้องกันโรคเหี่ยวได้แก่ คัดสรรหน่อที่ไม่เคยเป็นโรคมาก่อนมาเป็น Stock การใช้หน่อพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การไถกลบต้นสับปะรดเดิมคลุกกับดิน การใช้สารเคมีในการเตรียมหน่อพันธุ์ และการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชอย่างมากในช่วง 1-3 เดือน (สารเคมีที่ใช้ชื่อว่า อามิทรีน และ อาทราซีน) ทั้งนี้เกษตรกรจำนวน 45 คนเห็นพ้องกันอย่างยิ่งว่าการคัดสรรหน่อพันธุ์ที่ไม่เป็นโรคในตอนเริ่มต้นนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างมาก ซึ่งอาจจะไม่ต้องนำกรรมวิธีการอื่นๆที่ยุ่งยากมาใช้ในระหว่างปลูกอีกเลย อย่างไรก็ตามเกษตรกรบางรายได้ใช้กรรมวิธีดังตารางนี้อย่างบูรณาการ ผสมผสาน และยืดหยุ่นตามสถานการณ์ที่เปลี่ยนแปลง จะพบว่ามีประสิทธิภาพอย่างต่อเนื่องและเหมาะสมมากกว่าการใช้กรรมวิธีการใดเพียงอย่างเดียว โดยสรุปแล้วผลการศึกษาจากขั้นตอน

การศึกษาขั้นนี้ชี้ว่าระดับความสำเร็จของการจัดการโรคเหี่ยวในส่วนของการป้องกันการแพร่ระบาด จะแปรผันตามกรรมวิธีการดำเนินการที่มีความถี่ของความนิยมใช้งานสูง ในทำนองเดียวกันกรรมวิธีการใดที่เกษตรกรมีความนิยมใช้งานต่ำเช่นการใช้ชีวินทรีย์แมลงศัตรูธรรมชาติและการใช้เชื้อราบิวเวอร์เรียก็จะพบว่ามีระดับความสำเร็จต่ำตามไปด้วย ทั้งนี้ปัจจัยแวดล้อมด้านต่างๆเช่น เวลา ฤดูกาล ต้นทุนการผลิต คนดูแล กำลังแรงงาน การตลาด และสุขภาพ เป็นต้น ล้วนเป็นปัจจัยที่นำมาซึ่งความซับซ้อนของบริบท แต่กลับมีผลอย่างมากเช่นกันต่อการตัดสินใจเลือกใช้กรรมวิธี

เกษตรกรร้อยละ 81.81 (อ้างตัวเลขจากตารางที่ 4.2) มีความเข้าใจตามหลักวิชาการว่าการป้องกันและการแก้ปัญหาที่ดำเนินการอยู่ในปัจจุบันนี้ เป็นการดำเนินการเพื่อกำจัด หรือลด หรือป้องกันพาหะนำโรค ได้แก่ มด และ เพลี้ย **ไม่ใช่**การแก้ปัญหาที่ตัวเชื้อไวรัสโดยตรง การสนทนาอย่างยาวนานทำให้ทราบว่าเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดหลายคนมีความรู้ความเข้าใจพื้นฐานที่ดีเกี่ยวกับการจัดหาสิ่งต่างๆมาใช้จัดการโรคพืช ไม่ใช่แค่เพียงเรื่องสับปะรด ด้วยประสบการณ์ที่ปลูกพืชอย่างอื่นกันมาก่อนนี้ด้วยนอกเหนือไปจากสับปะรดเป็นเวลามานาน (โดยเฉลี่ย 15-18 ปี) และความรู้ความเข้าใจที่มีอย่างถูกต้องทางการเกษตรนี้เองจึงนำไปสู่การตัดสินใจเพื่อจัดการป้องกันและแก้ปัญหาโรคเหี่ยวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งคำว่ามีประสิทธิภาพนี้หมายความรวมไปถึงว่า เกษตรกรได้มีความเข้าใจเกี่ยวกับผลกระทบของการใช้สารเคมี ต่อธรรมชาติรวมไปถึงต่อสุขภาพ

4.3 สถานการณ์ปัจจุบันเกี่ยวกับการจัดการเพลี้ยและมดพาหะ

4.3.1 วิธีการการกำจัดเพลี้ยและมดพาหะ

1) มีผลิตภัณฑ์ปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันเพลี้ยจำหน่ายในร้ายขายเคมีภัณฑ์การเกษตรในพื้นที่ซึ่งนักวิจัยได้เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยตั้งสมมุติฐานไว้เบื้องต้นว่าอาจจะมีการผสมสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเข้าไปเป็นส่วนผสม

2) พบการระบาดของโรคตลอดทั้งปีเนื่องจากเกษตรกรทำไร่สับปะรดตลอดทั้งปี แต่มีข้อสังเกตว่าเกษตรกรไม่พบว่ามีเพลี้ยปรากฏอยู่บนใบสับปะรดตลอดทั้งปี โดยพบมากในช่วงที่ฝนหยุดตกห่างหลายวันและไม่พบเลยในช่วงฝนตกหนักติดต่อกัน

3) การระบาดของโรคเหี่ยวมีความสัมพันธ์กับโรครากเน่า โดยเฉพาะพื้นที่อำเภอสวนผึ้งและปากท่อ ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงที่น่าสนใจ กล่าวคือในช่วงฝนตกหนักต่อเนื่องจะพบโรครากเน่าตรงบริเวณที่น้ำไหลไปขัง หลังจากนั้นประมาณ 1 สัปดาห์จะพบมดใต้ดินและสิ่งมีชีวิตคล้ายหนอนจำนวนมาก และพบการแสดงออกของโรคเหี่ยวในบริเวณที่ติดกับต้นที่เป็นโรครากเน่า

4) พบการระบาดอย่างหนักในไร่ขนาดใหญ่ ที่ตำบลท่าเคย แม้จะมีบ่อเก็บน้ำ คันดิน และถนนคอนกรีตกั้นพื้นที่ไร่แต่ละไร่ให้แยกออกจากัน แต่พบการระบาดของโรคครอบคลุมพื้นที่ครึ่งหนึ่งของทั้งหมด และพบว่ามีเพลี้ยสีขาวและสีเทาจำนวนมากในซอกใบชั้นล่างและโคนต้น

5) การระบาดของเพลี้ยอาจสัมพันธ์กับลักษณะของดิน โดยพบว่าลักษณะของดินร่วนปนทราย หรือมีเนื้อเป็นทรายมากกว่าปกติ จะพบเพลี้ยซ่อนตัวอยู่ที่ซอกใบเป็นจำนวนมาก โดยมีสมมุติฐานว่าลักษณะสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศน์ น่าจะเป็นปัจจัยหนึ่งต่อการเลือกอยู่อาศัยของเพลี้ยนอกเหนือไปจากการหาแหล่งอาหาร

6) ในบริเวณที่เป็นโรคเหี่ยว จะพบว่ามีเพลี้ย สีเทา สีขาว และสีชมพู โดยสังเกตเห็นว่าเพลี้ยสีชมพูมีความสัมพันธ์ต่อการระบาดที่รวดเร็ว โดยพบเพลี้ยสีชมพูปริมาณมากที่สุดตรงตำแหน่งที่พบว่ามีการระบาดรุนแรงและเป็นวงกว้าง สอดคล้องกับงานวิจัยของนักวิชาการเกษตรเมื่อเร็วๆนี้ ที่ได้รายงานว่าเพลี้ยสีชมพูเป็นพาหะที่ทำให้การระบาดของโรคเหี่ยวสับปะรดเกิดขึ้นเร็วกว่า และเป็นวงกว้างกว่าเพลี้ยสีขาวและเทา (วันเพ็ญ ศรีทองชัย ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และกาญจนา วาระวิชะนี, 2554) ขณะเดียวกันพบว่าตรงบริเวณไหนที่พบเพลี้ยสีชมพูมากจะพบเพลี้ยสีขาวและเทาน้อย แต่ตรงบริเวณไหนที่พบเพลี้ยสีขาวมากกลับพบเพลี้ยสีเทาปะปนอยู่ด้วยมากพอสมควร

7) เวลาเช้าตรู่น่าจะเป็นเวลาวิกฤติของเพลี้ย โดยเพลี้ยที่โตเต็มวัยสามารถกระโดดและบินได้และชอบเคลื่อนย้ายในช่วงเช้าตรู่ โดยเฉพาะช่วงที่มีลมพัดแรงในช่วงเช้าจะสังเกตเห็นการบินย้ายของเพลี้ยอย่างชัดเจน ขณะที่ตัวอ่อนของเพลี้ยจะถูกเคลื่อนย้ายโดยมดตัวใหญ่สีดำและแดง (มดหัวโต) ซึ่งซ่อนตัวอยู่ในดินและจะออกมาขนย้ายตัวอ่อนเพลี้ยในช่วงเช้าตรู่เช่นกัน ส่วนในเวลาเที่ยงวันจะไม่สามารถสังเกตเห็นเพลี้ยได้เลยหากไม่ทำการคลี่ใบสับปะรดชั้นล่างออกมา ซึ่งเพลี้ยจะไปซ่อนตัวอยู่ตรงบริเวณโคนต้นมากที่สุด

8) อิทธิพลของการตัดสินใจใช้สารเคมีกำจัดเพลี้ยมีหลายประการ แต่ลักษณะที่คล้ายกัน 3 ประการแรกได้แก่ 1) ครอบครัวหรือเพื่อนเกษตรกรแนะนำให้ใช้แม้ว่าจะใช้ได้ผลหรือไม่ได้ผลบ้างก็ตาม 2) สหกรณ์หรือกลุ่มที่รวมตัวกันมีให้นำมาใช้ก่อนแต่จ่ายทีหลัง และ 3) สามารถใช้ได้พร้อมๆกับการให้ปุ๋ยในขั้นตอนปกติไม่ต้องเพิ่มขั้นตอนอย่างอื่นมากเกินไป

ภาพที่ 4.3 แสดงต้นสับปะรดในพื้นที่อำเภอสวนผึ้งที่เป็นโรคเหี่ยวในขณะที่ติดผลแล้ว ซึ่งเกษตรกรบางรายที่พบเจออาการลักษณะนี้จะดำเนินการถอนทิ้งทันที และนำสารเคมี (แคลเซียมโบรอน) กำจัดศัตรูพืชหรือสารชีวภาพอื่นๆ มาฉีดพ่นลงไปที่ดินตรงตำแหน่งต้นและบริเวณรอบๆ ต้นที่เคยเป็นโรคและถูกถอนทิ้ง
ที่มา : ผู้วิจัย

ภาพที่ 4.4 ลักษณะของการแพร่ระบาดอย่างหนึ่ง ซึ่งพบว่าในเวลาช่วงเช้าจะพบมดแดงหัวโตจำนวนมากกำลังขนย้ายตัวอ่อนของเพลี้ยไปตามทางเดินใต้ดิน
ที่มา : ผู้วิจัย

ภาพที่ 4.5 อาการโรครากเน่า (สาเหตุจากเชื้อรา) ของต้นสับปะรดที่พบในพื้นที่อำเภอสวนผึ้ง โดยบริเวณใกล้เคียงของต้นที่เป็นโรครากเน่าจะพบต้นที่เป็นโรคเหี่ยวปะปนและมีจำนวนมากกินอาณาเขตทอดยาวไปตามบริเวณที่เป็นโรครากเน่า จึงอาจเป็นไปได้ว่าโรคสับปะรดทั้งสองชนิดนี้มีความสัมพันธ์กันในเชิงนิเวศวิทยา
ที่มา : ผู้วิจัย

ภาพที่ 4.6 ลักษณะของดินปนทรายหรือค่อนข้างเป็นเนื้อทรายที่แห้งผากมากกว่าปกติ มีลักษณะดินสีขาวและยึดจับต้นสับปะรดได้ไม่ค่อยดี ณ. ไร่สับปะรดขนาดใหญ่แห่งหนึ่ง บริเวณหลังวัดเขาวงกตเจริญธรรม บ้านหนองสองห้อง หมู่ 5 อำเภอสวนผึ้ง ซึ่งจะพบมดและเพลี้ยจำนวนมากซ่อนอยู่ในเนื้อดินและบริเวณโคนต้นมากกว่าดินลักษณะอื่นในบริเวณเดียวกัน ในภาพจะเห็นว่าปลายใบเริ่มมีลักษณะปรากฏของสีเขียวอ่อนค่อนไปทางสีเหลือง ซึ่งเป็นสัญญาณบ่งชี้อาการของโรคเหี่ยวที่กำลังจะเกิดขึ้น
ที่มา : ผู้วิจัย

ภาพที่ 4.7 สารเคมีกำจัดแมลงที่หาซื้อได้ง่ายตามร้านค้าเคมีภัณฑ์เกษตรในพื้นที่ และเป็นสารที่ถูกเลือกนำมาใช้ผสมลงไปในปุ๋ย หรือฉีดพ่นต่างหากในช่วงเช้าที่บริเวณใบข้อล่างหรือลำต้น เพื่อประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ย โดยมีการใช้มากในช่วงที่สับปะรดออกดอกแล้วหรือมีผลแล้วแต่ยังมีขนาดเล็กอยู่ หรือเกษตรกรบางรายฉีดพ่นลงไปทับกระดาษห่อผลสับปะรด (กระดาษห่อป้องกันแสงแดด) ที่มา : ผู้วิจัย

4.3.2 รูปแบบการใช้ผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืชของเกษตรกร

นอกเหนือจากการใช้ปุ๋ยที่มีสารเคมีกำจัดแมลง หรือใช้สารเคมีกำจัดแมลงโดยตรงแล้ว เกษตรกรสามารถดำเนินการผลิตสารจากธรรมชาติใช้กันเอง ซึ่งมีสูตรการผลิตในแต่ละที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้เกษตรกรรู้จักสารประเภทนี้ในชื่อว่า “EM” สารกำจัดแมลงนี้จะมีลักษณะที่เหมือนกันประการหนึ่งคือใช้กากน้ำตาลและสมุนไพรหรือพืชบางอย่างลงไป โดยขอยกตัวอย่างสูตรการทำสารกำจัดเพลี้ยที่เกษตรกรได้นำมาจากนักวิชาการเกษตรและกรมพัฒนาที่ดิน

ส่วนผสม

1. จุลินทรีย์ EM 1 ขวด
2. กากน้ำตาล 1 ลิตร
3. น้ำสมสายชู 5% 1 แก้ว
4. เหล้าขาว 28 – 40 ดีกรี 2 แก้ว
5. ยอดสะเดา 2 กก.
6. ข่าแก่ 2 กก.
7. บอระเพ็ด 2 กก.
8. น้ำสะอาด 10 ลิตร

วิธีทำ

นำส่วนผสมมาผสมให้เข้ากัน ใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท หมักไว้ 7 – 10 วัน เขย่าถังเบาๆ ทุกวันและเปิดฝานิดๆให้ก๊าซระบายออก ครบกำหนดเก็บใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ใช้ได้นาน 3 เดือน

วิธีใช้

ตวงเฉพาะน้ำหมัก 4 – 5 ช้อนโต๊ะ ผสมน้ำ 20 ลิตร ใช้ฉีดที่ใบหรือพ่นลงไปที่โคนต้นหรือลำต้นโดยตรง ในช่วงเช้าหรือเย็น หลีกเลี่ยงการใช้ในขณะฝนกำลังจะตกหรือตอนกลางวันแดดจ้า

ซึ่งหากวิเคราะห์สูตรการผลิตสารกำจัดแมลงของเกษตรกรจะพบว่า มีการนำพืชสมุนไพรมาผสมลงไปในการหมัก โดยหลักการนี้เมื่อจุลินทรีย์ได้ทำการย่อยสลายกากน้ำตาลเพื่อไปเป็นอาหาร ในช่วงเวลาหนึ่งจุลลินทรีย์จะปล่อยสารเคมีบางชนิดและเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์รวมไปถึงผลิตกรดอินทรีย์ออกมาในน้ำหมัก ซึ่งแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้นั้นจะเข้าไปสกัดสารเคมีสำคัญบางชนิดออกจากเซลล์ของพืชสมุนไพร ขณะที่กรดอินทรีย์นี้มีประโยชน์หลายแนวทางอาทิเช่น กรดจะเข้าไปย่อยสลายผนังเซลล์พืชสมุนไพร หรือกรดจะถูกนำไปใช้ในการย่อยสลายหรือทำให้เนื้อเยื่อของแมลงเสียหาย หรือกรดจะทำให้ลักษณะของสารเคมีที่ออกฤทธิ์อยู่ในฟอร์มของ Protonated state ซึ่งมีความเหมาะสมในการนำไปใช้งานอย่างมีประสิทธิภาพ

การเจือจางสารกำจัดแมลงก่อนนำไปใช้ฉีดที่ใบและลำต้นของสับปะรดในแต่ละครั้งมีอัตราส่วนที่ไม่คงที่ แต่โดยทั่วไปจะใช้การเจือจางประมาณ 100-200 เท่า และพบว่าเมื่อฉีดไปแล้วใบและลำต้นไม่มีลักษณะที่เกษตรกรเรียกว่า “ไหม้” อย่างไรก็ตามมีเกษตรกรบางท่านเคยใช้ความเข้มข้นของสารมากกว่าปกติ และพบว่าทำให้เกิดความเสียหายแก่ใบ โดยพบว่าใบจะมีสีน้ำตาล มีลักษณะปลายใบเหี่ยว (เรียกกันทั่วไปว่าไหม้)

ตารางที่ 4.5 แสดงรายการสารเคมีที่นำหน่อพันธุ์มาแช่เพื่อป้องกันเพลี้ย หรือสามารถนำไปผสมน้ำหรือปุ๋ยเพื่อฉีดพ่นที่ลำต้นได้โดยตรง

ชื่อสารเคมีออกฤทธิ์	ชื่อผลิตภัณฑ์
ไทอะมิโนแซม	แอคคารา
ไดโนฟูแรน	สตาร์เกิล
ไพรไทโอฟอส	โตกุไออล
อิมิดาโคลพริด	ดักโกรฟ
เอจีบา	อะบาเม้กติน
คลอไพริฟอส	คลอไพริฟอส 40
ไฮดราเมทิลนอน	ไฮดราเมทิลนอน
ไดอาซีนอล	เทคเคน

ภาพที่ 4.8 ไร่สับปะรดที่เผชิญปัญหาโรคเหี่ยวมากกว่าครึ่งหนึ่ง แม้จะมีถนนกั้นกลางแต่มีการแพร่ระบาดครอบคลุมไปทั่วไร่ ซึ่งไม่มีรูปแบบการกระจายตัวของโรคที่ชัดเจน แต่การแพร่ระบาดรวดเร็วโดยใช้เวลาประมาณ 1-2 สัปดาห์ ก็สามารถขยายอาณาเขตมากกว่า 200-300 ตารางเมตร
ที่มา : ผู้วิจัย

ภาพที่ 4.9 การดำเนินการผลิตน้ำหมัก หรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เพื่อนำไปใช้เสริมประสิทธิภาพเพิ่มเติมจากการใช้ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้อยู่ปกติ โดยกรรมวิธีการผลิตของเกษตรกรแต่ระรายจะแตกต่างกันไป แต่โดยหลักปฏิบัติแล้วก็จะใช้กรรมวิธีมาตรฐานตามวิธีที่นักวิชาการเกษตรหรือกรมพัฒนาที่ดินเคยจัดการความรู้ให้
ที่มา : ผู้วิจัย

4.4 ผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วม

ปัจจุบันในภาคเกษตรกรรมมีการนำผลิตภัณฑ์ พด.7 (อ่านว่า พอ ดอ) ของกรมพัฒนาที่ดิน มาใช้ในการผลิตน้ำหมักเพื่อควบคุมหรือต้านศัตรูพืชกันอย่างกว้างขวาง ใน พด.7 จะมีจุลินทรีย์ที่สำคัญ 3 ชนิดได้แก่ ยีสต์ *Saccharomyces sp.* แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก *Gluconobacter oxydans* และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก *Lactobacillus fermentum* โดยจุลินทรีย์เหล่านี้มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มไกโคไซด์ไฮโดรเลส เช่น อะไมเลส เซลลูเลส และไซลาเนส เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วเป้าหมายของการนำ พด.7 มาใช้เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์และกรดที่สามารถย่อยสลายพนังเซลล์พืชของวัตถุดิบจำพวกพืชสมุนไพร ให้สามารถปลดปล่อยสารสำคัญออกมาจากเซลล์ ซึ่งสารสำคัญหลายชนิดที่มีในพืชและสมุนไพรนั้นจะมีฤทธิ์เป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ทำให้สามารถประยุกต์ใช้เป็นสารควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดีทดแทนยาฆ่าแมลงและสารเคมีอันตราย การนำ พด.7 ไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆนอกเหนือไปจากการมุ่งเป้าควบคุมแมลงศัตรูพืชนั้นสามารถทำได้ โดยอาศัยหลักการเหนี่ยวนำให้จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์เป้าหมายออกมาในปริมาณและคุณภาพมากเพียงพอ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตกันอย่างกว้างขวาง ยกตัวอย่างเช่น การเหนี่ยวนำแบคทีเรียบางชนิดด้วยสารพิษอะฟลา ท๊อกซินเพื่อเร่งการผลิตเอนไซม์กลุ่มเพอร์อ๊อกซิเดส (Peroxidase) เพื่อนำมาใช้ย่อยสลายสารพิษ หรือการเหนี่ยวนำด้วยวัฤดิบไลปิดสูงเพื่อเร่งการการผลิตเอนไซม์กลุ่มไลเปส (Lipase) สำหรับใช้ในกิจกรรมด้านสิ่งแวดล้อม เป็นต้น การวิจัยในหัวข้อนี้จึงมีเป้าหมายเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำ พด.7 มาประยุกต์เพื่อผลิตเอนไซม์โปรติเอส โดยการทดลองเหนี่ยวนำด้วยการใช้กากถั่วเหลืองโปรตีนสูงเร่งให้จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสออกมา เนื่องจากในปัจจุบันมีรายงานวิจัยอ้างว่าเอนไซม์โปรติเอสมีส่วนสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพในกลไกการเข้าทำลายผิวโปรตีนที่ห่อหุ้มผิวของแมลงศัตรูพืช ซึ่งเอนไซม์โปรติเอสที่มีคุณลักษณะดังนี้จะถูกเรียกชื่อว่า “Cuticle Degrading Protease”

4.4.1 ผลของการเติมกากถั่วเหลืองต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส

ผลการศึกษาดังตารางที่ 4.6 แสดงการวิเคราะห์ปริมาณค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส และเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส จากตารางชี้ให้เห็นว่าการใส่กากถั่วเหลืองลงไปหมักร่วมด้วยนั้น ทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ โดยการไม่ใส่กากถั่วเหลืองลงไปและการใส่กากถั่วเหลืองลงไป 1% จะตรวจไม่พบเอนไซม์โปรติเอส แต่เมื่อใส่กากถั่วเหลืองลงไปมากกว่า 5% สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้ปริมาณหนึ่งเท่ากับ 0.28 U/mL เมื่อเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองลงไปพบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจะเพิ่มมากขึ้น โดยเมื่อเติมกากถั่วเหลืองลงไป 15% สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 0.55 U/mL จนกระทั่งพบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสลงลงเมื่อเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองไปถึง 20% ขณะที่การไม่ใส่กากถั่วเหลืองลงไปเลย แต่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดร

เลสได้ในปริมาณหนึ่งเท่ากับ 0.25 U/mL ในทำนองเดียวกันพบลักษณะของการเพิ่มขึ้นและลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสสอดคล้องกับลักษณะการเพิ่มขึ้นและลดลงเอนไซม์โปรติเอสโดยมีค่ากิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 0.35% เมื่อเพิ่มกากถั่วเหลืองลงไป 10-15% และค่ากิจกรรมได้ลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองไปถึง 20% อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย ANOVA และ LSD บ่งชี้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองลงไปตั้งแต่ 5-20% ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมัน 95%

ตารางที่ 4.6 ผลของการเติมกากถั่วเหลืองต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส ในสภาวะ pH=7.0 ที่ อุณหภูมิ 40 °C

กากถั่วเหลือง (%)	ค่ากิจกรรม (U/mL)	
	โปรติเอส	ไกโคไซด์ไฮโดรเลส
0	<0.1	0.25±0.01^{b}
1	<0.1	0.28±0.02^{b}
5	0.28±0.01^{c}	0.32±0.02^{a}
10	0.46±0.02^{b}	0.35±0.01^{a}
15	0.55±0.01^{a}	0.35±0.03^{a}
20	0.45±0.01^{b}	0.32±0.03^{a}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

<0.1 หมายถึง LOD (limit of detection) เท่ากับ 0.1 U/mL

4.4.2 ผลของ pH ค่าต่างๆต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส

จากผลการศึกษาในตางรางที่ 4.6 จึงได้นำกากถั่วเหลืองมาผสมลงไปในการหมัก 15% ภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 40 °C โดยกำหนดตัวแปรต้นคือค่า pH ที่แตกต่างกันจำนวน 5 ค่าได้แก่ 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 และ 8.0 เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส

ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.7 โดยพบว่า ที่ pH=6.0 ไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิด และที่ pH=8.0 ไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ทั้งนี้ที่ pH=7.0 ตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุดเท่ากับ 0.60 U/mL ขณะที่ pH=6.5 ตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสสูงสุดเท่ากับ 0.45 U/mL อย่างไรก็ตามเมื่อค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นพบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสกลับมีแนวโน้มลดลง โดยที่ pH=8.0 ตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสต่ำที่สุดเท่ากับ 0.21 U/mL

ซึ่งผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย ANOVA และ LSD บ่งชี้ว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ pH=6.5 และ 8.0 ทั้งสองค่านั้นไม่มีความแตกต่างกัน ในอีกทางหนึ่งที่ pH=7.0 และ 7.5 ตรวจพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสลดต่ำลงเหลือ 0.22 และ 0.20 U/mL ตามลำดับ แต่ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนบ่งชี้ว่า ค่ากิจกรรมทั้งสองหน่วยนี้ไม่มีความแตกต่างกัน และยังพบอีกว่าเมื่อ pH=8.0 กลับไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสได้อีก

ตารางที่ 4.7 ผลของ pH ต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส ในสภาวะที่อุณหภูมิ 40 °C หมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และมีกากถั่วเหลืองผสมอยู่ 15%

pH	ค่ากิจกรรม (U/mL)	
	โปรติเอส	ไกโคไซด์ไฮโดรเลส
6.0	<0.1	<0.1
6.5	0.25±0.02^{c}	0.45±0.04^{a}
7.0	0.60±0.02^{a}	0.22±0.03^{b}
7.5	0.52±0.02^{b}	0.20±0.02^{b}
8.0	0.21±0.02^{c}	<0.1

ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

<0.1 หมายถึง LOD (limit of detection) เท่ากับ 0.1 U/mL

4.4.3 ผลของการหมักที่เวลาต่างๆต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส

จากผลการศึกษาในตางรางที่ 4.7 จึงได้นำกากถั่วเหลืองมาผสมลงไปในการหมัก 15 % ภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 40 °C pH=7.0 โดยกำหนดตัวแปรต้นคือจำนวนชั่วโมงในการหมักที่แตกต่างกันจำนวน 5 ค่าได้แก่ 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง ภายหลังการหมักจึงนำมาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.8 โดยพบว่าที่เวลาหมัก 12 และ 60 ชั่วโมง ไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ขณะที่เวลาหมักนอกเหนือจากนี้สามารถตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสได้ ที่เวลาหมัก 48 ชั่วโมงตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุดเท่ากับ 4.35 U/mL ขณะที่เวลาหมัก 36 ชั่วโมง ตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสสูงสุดเท่ากับ 0.86 U/mL อย่างไรก็ตามในช่วงเวลาที่การหมักเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 24-48 ชั่วโมง ส่งผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่กลับมีค่ากิจกรรมลดลงเป็นเท่าตัวที่เวลาการหมัก 60 ชั่วโมง ในทำนองเดียวกันช่วงเวลาที่การหมักเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่กลับมีค่ากิจกรรมลดลงสี่เท่าตัวที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย ANOVA และ LSD

บ่งชี้ว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสที่วิเคราะห์ได้ในช่วงเวลาการหมักช่วงต่างๆ นั้นมีปริมาณที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.8 ผลของเวลาการหมักต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและไกโคไซด์ไฮโดรเลส ในสภาวะ pH=7.0 ที่อุณหภูมิ 40 ℃ และมีกากถั่วเหลืองผสมอยู่ 15%

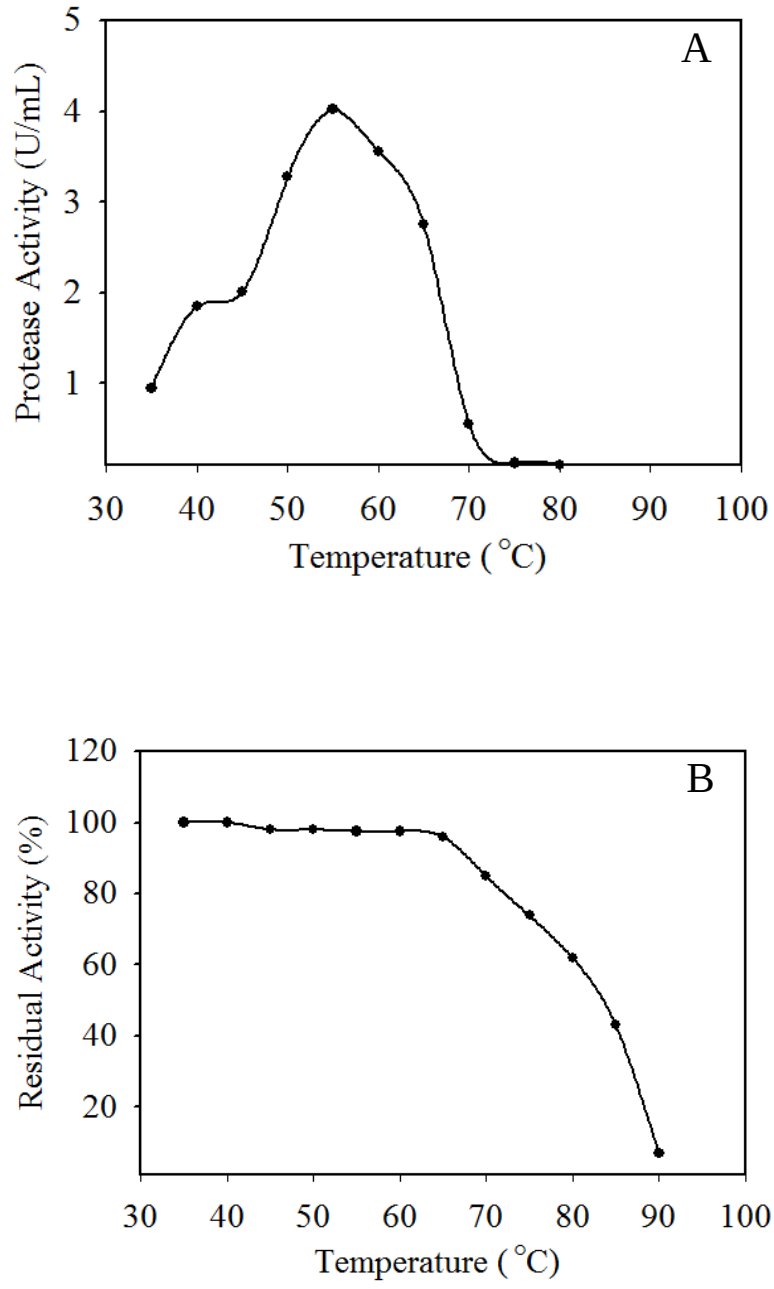
เวลา (ชั่วโมง)	ค่ากิจกรรม (U/mL)	
	โปรติเอส	ไกโคไซด์ไฮโดรเลส
12	0.65±0.01^{d}	<0.1
24	0.32±0.02^{e}	0.40±0.02^{b}
36	1.20±0.01^{c}	0.86±0.01^{a}
48	4.35±0.03^{a}	0.22±0.00^{c}
60	2.45±0.01^{b}	<0.1

ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

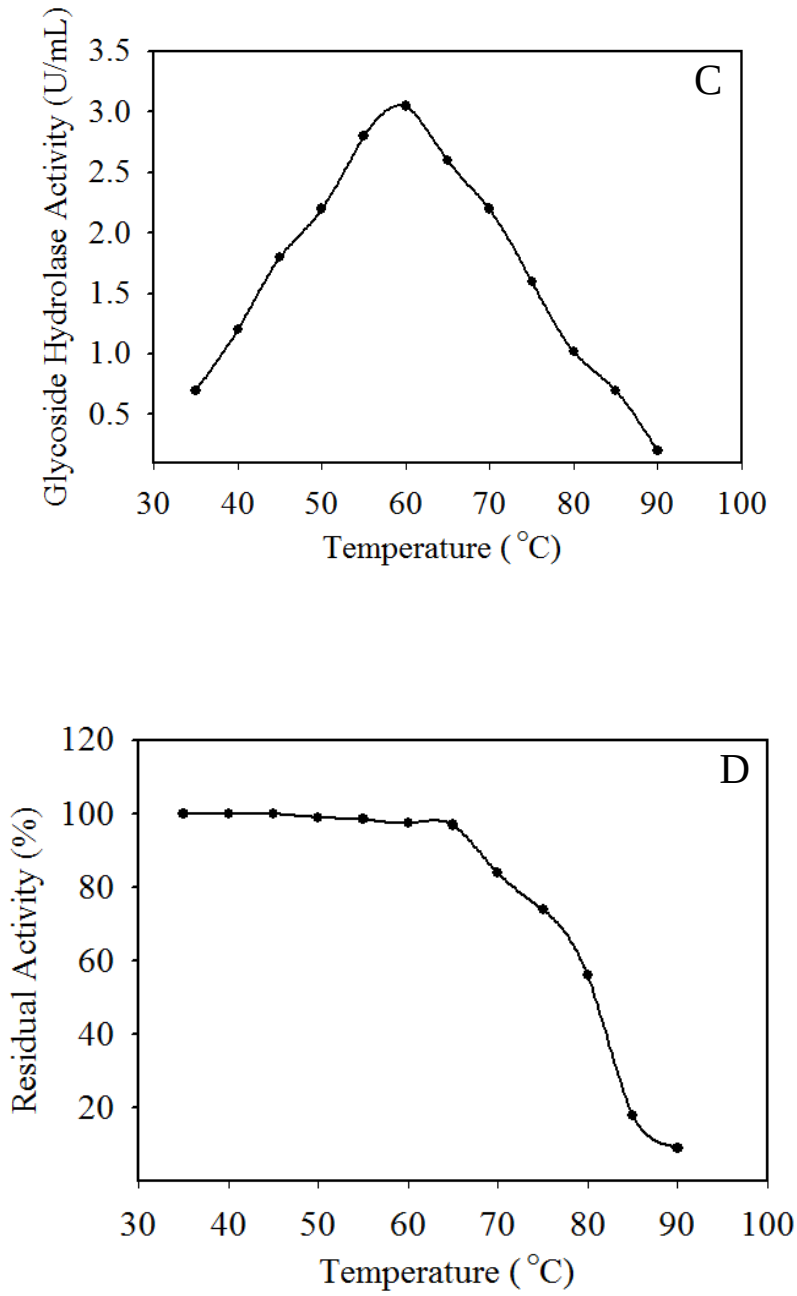
<0.1 หมายถึง LOD (limit of detection) เท่ากับ 0.1 U/mL

4.4.4 ผลการศึกษาคุณลักษณะเฉพาะด้านอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimum) และด้านเสถียรภาพอุณหภูมิ (Stability) ของเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส

เมื่อทำการทดลองหมักเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกากถั่วเหลือง 15 % ภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 40 ℃ pH=7.0 เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยก crude เอนไซม์ออกเป็นสองส่วนโดยส่วนแรกให้นำไปผสมสารยับยั้งเอนไซม์กลุ่มไกโคไซด์ไฮโดรเลสได้แก่ Acarbose ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 mM และส่วนที่สองให้นำไปผสมสารยับยั้งเอนไซม์โปรติเอส Halt Protease Inhibitor Cocktail (100X) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1X ที่มี 1 mM EDTA ผสมอยู่ โดยส่วนแรกนำไปวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสขณะที่ส่วนที่สองนำไปวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ซึ่งผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 4.10 (A และ B) และ 4.11 (C และ D) โดยผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสได้แก่ 55 ℃ และ 60 ℃ ตามลำดับ ขณะที่เสถียรภาพอุณหภูมิของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสคงเหลือมากกว่า 95% ได้แก่ช่วง 40-65 ℃ เหมือนกัน จากแผนภาพจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 70 ℃ ขึ้นไปไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสโดยพบว่าค่ากิจกรรมโปรติเอสมีค่าน้อยกว่า 0.1 U/mL แต่ในขณะเดียวกันกลับพบว่าที่อุณหภูมินี้ เอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสยังคงทำงานได้อยู่แม้จะมีค่ากิจกรรมลดต่ำกว่า optimum ถึงสองเท่าก็ตาม



ภาพที่ 4.10 แผนภูมิแสดง Optimum Temperature (A) และ Temperature Stability (B) ของเอนไซม์โปรติเอส ที่สภาวะ pH=7.0



ภาพที่ 4.11 แผนภูมิแสดง Optimum Temperature (C) และ Temperature Stability (D) ของเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส ที่สภาวะ pH=7.0

จากผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์จาก พด.7 โดยการใช้กากถั่วเหลืองเหนี่ยวนำเชื้อจุลินทรีย์ให้สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ พบว่าหากไม่ได้เติมกากถั่วเหลืองลงไปในการหมักจะไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส แต่ในทางตรงกันข้ามสามารถตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสได้ การทดลองพบว่าการเติมกากถั่วเหลืองลงไปใน 15% ทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้มากที่สุด แต่ในขณะที่การเติมกากถั่วเหลืองลงไปมากกว่า 5% ขึ้นไปแสดงให้เห็นว่ามีการผลิตเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสมากขึ้นแตกต่างจากการไม่เติมกากถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ชี้ให้เห็นว่าการเติมกากถั่วเหลืองลงไปจะเพิ่มคุณประโยชน์มากขึ้นโดยสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพเชิงปริมาณ

ในการผลิตเอนไซม์ร่วมหลายชนิด (Multi enzyme) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเห็นได้ชัดว่าสามารถเร่งให้เกิดการผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ปริมาณหนึ่งในระบบเอนไซม์ร่วม ส่วนการเติมกากถั่วเหลืองลงไปมากกว่า 20% นั้นพบว่าสามารถตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้แต่มีปริมาณน้อย (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) ซึ่งปริมาณกากถั่วเหลืองจำนวน 20% อาจมากเกินความต้องการและยังพบว่าทำให้ตัวอย่างในการหมักมีลักษณะหนืดมากขึ้น

ในการศึกษาขั้นต่อมา เมื่อทำการทดลองวิเคราะห์ความเหมาะสมในด้าน pH และเวลาในการหมักเพื่อผลิตเอนไซม์โปรติเอสเมื่อทำการหมักโดยใช้กากถั่วเหลือง 15% พบว่าค่า pH ในช่วงความเป็นกรดเป็นเบสอยู่ในระดับกลางค่อนข้างเป็นกรดอ่อน จะทำให้สามารถผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ในปริมาณมากที่สุด ส่วนผลการทดลองด้านเวลาในการหมักชี้ให้เห็นว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมภายใต้สภาวะกากถั่วเหลือง 15% ที่ pH=6.8-7.0 นั้นควรใช้เวลาในการหมักประมาณ 36-48 ชั่วโมงทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าผู้ทดลองตัดสินใจที่จะผลิตเอนไซม์ชนิดใดมากกว่า เนื่องจากหากปล่อยให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น เอนไซม์โปรติเอสจะเกิดลักษณะการเข้าไปทำการย่อยสลายเอนไซม์ชนิดอื่นซึ่งรวมไปถึงการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) จนปริมาณเอนไซม์หลายชนิดในการผลิตเอนไซม์ร่วมจะสลายตัวหมดไป ซึ่งหากพิจารณาจากผลการทดลองข้างต้น อาจกล่าวได้ว่าอันที่จริงแล้วมีความเป็นไปได้ว่าที่เวลามากกว่า 48 ชั่วโมงนั้นอาจมีการผลิตเอนไซม์ในปริมาณมากขึ้นไปกว่านี้ แต่อาจเกิดลักษณะการย่อยสลายจากเอนไซม์โปรติเอสดังที่กล่าวมา จึงทำให้ตรวจพบว่าค่ากิจกรรมนั้นมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว

เมื่อพิจารณาแผนภาพอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimum) และด้านเสถียรภาพอุณหภูมิ (Stability) ของเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส เผยให้เห็นลักษณะเฉพาะที่มีความโดดเด่นของเอนไซม์โปรติเอส กล่าวคือผลการทดลองได้ชี้ว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตขึ้นได้นั้น มีความเหมาะสมและมีเสถียรภาพที่อุณหภูมิสูงในช่วง 55-60 °C สามารถจัดให้อยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ร้อนได้ (Thermostable enzyme) ซึ่งคุณลักษณะเฉพาะในด้านการทนต่ออุณหภูมิสูงๆได้ดีนั้น เป็นคุณลักษณะเด่นเพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางทั้งในด้านเกษตรกรรมและด้านอุตสาหกรรม (Nafi, et al. 2013) สอดคล้องกับการค้นพบเอนไซม์โปรติเอสที่มีโครงสร้างคล้ายเอนไซม์ปาเปน แต่มีคุณลักษณะพิเศษคือทนร้อน (Thermostable Papain-Like Protease) ซึ่งแยกเอนไซม์ได้จากยางของพืชชื่อ Ervatamia coronaria โดยสามารถทนร้อนและมีค่ากิจกรรมคงเหลือมากกว่า 95% ที่อุณหภูมิสูงในช่วง 65-70 °C (Sruti, et al. 2013)

4.4.5 การขยายผลจากห้องปฏิบัติการไปสู่การผลิตขนาดใหญ่ขึ้น

นักวิจัยได้ขยายผลการผลิตจากห้องปฏิบัติการ ซึ่งในขั้นตอนการทดลองในห้องปฏิบัติการได้ดำเนินการทดลองในสภาวะของสารละลายปริมาตร 200-250 มิลลิลิตร แต่ในการขยายผลเพื่อให้สามารถนำไปใช้ได้จริง ได้ดำเนินการทดลองผลิตที่ขนาดปริมาตร 10 ลิตร (50 เท่า) ในถังพลาสติกที่หาได้ทั่วไป (ภาพที่ 4.12) โดยต้องใช้ปริมาณกากถั่วเหลืองประมาณ 1 กิโลกรัมต่อการผลิต 1 ถัง ผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์ร่วมและค่ากิจกรรมของเอนไซม์เป้าหมายแต่ละชนิดที่ผลิตได้จากการขยายผลการผลิตได้แสดงในตารางที่ 4.9

ภาพที่ 4.12 เอนไซม์ร่วม (Multi Enzyme) ที่ผลิตได้ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิดได้แก่ กลุ่มเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส กลุ่มเอนไซม์โปรติเอส และกลุ่มเอนไซม์ไลเปส โดยเอนไซม์ที่ผลิตได้จากการขยายผลให้มีปริมาตรมากขึ้นถึง 10 ลิตร จะมีลักษณะสีดำเข้มกว่า และมีกลิ่นฉุนมากกว่า เมื่อครั้งผลิตในห้องปฏิบัติการ

การทดลองผลิตเอนไซม์ร่วมในห้องปฏิบัติการก่อนหน้านี้ ใช้เวลาในการผลิตให้ได้ปริมาณเอนไซม์ร่วมที่เหมาะสมประมาณ 48-60 ชั่วโมง แต่ในการขยายผลการผลิตขนาด 10 ลิตรในการทดลองขั้นนี้พบว่า ในช่วงเวลาประมาณ 60 ชั่วโมง ไม่สามารถตรวจพบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ชนิดใดๆได้ ซึ่งเมื่อขยายเวลาการบ่มออกไปอีกจึงพบว่า ต้องใช้เวลานานถึง 3 วัน (72 ชั่วโมง) จึงจะสามารถตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์ร่วมได้ในปริมาณที่สูงที่สุด ในอีกทางหนึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มไกโคไซด์ไฮโดรเลสที่ตรวจพบได้ในวันที่ 3 นั้นกลับชี้ให้เห็นว่ามีปริมาณกิจกรรมมากกว่าการบ่มในห้องปฏิบัติการถึง 32 เท่า ในขณะที่ค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มโปรติเอสทั้งจากในห้องปฏิบัติการและจากการขยายผลมีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสปรากฏว่าสามารถตรวจพบค่ากิจกรรมในช่วงการหมักวันที่ 1 เพียงวันเดียว (เป็นที่น่าสนใจเนื่องจากการผลิตเอนไซม์ร่วมในห้องปฏิบัติการกลับตรวจไม่พบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส)

ตารางที่ 4.9 กิจกรรมของเอนไซม์ร่วมโปรติเอส ไลเปส และไกโคไซด์ไฮโดรเลส จากการผลิตขยายผลนอกห้องปฏิบัติการขนาดปริมาตร 10 ลิตร

วันที่	ไกโคไซด์ไฮโดรเลส		โปรติเอส		ไลเปส	
	กิจกรรม	U/mL	กิจกรรม	U/mL	กิจกรรม	U/mL
1	พบ	1.2±0.82	พบ	0.8±0.08	พบ	1.2±0.14
2	พบ	3.5±1.12	พบ	1.1±0.68	ไม่พบ	-
3	พบ	25.6±0.55	พบ	4.6±0.56	ไม่พบ	-
5	พบ	0.8±0.08	ไม่พบ	-	ไม่พบ	-

จากผลการทดลองพบว่าภายหลังการหมักเป็นเวลา 3 วันพบว่าเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสมีกิจกรรมมากขึ้นสูงสุดเท่ากับ 25.6 U/mL และลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลา 1 วันต่อมาจนพบว่ามีกิจกรรมคงเหลือเท่ากับ 0.8 U/mL ขณะที่พบว่าเอนไซม์โปรติเอสมีกิจกรรมมากขึ้นสูงสุดเท่ากับ 4.6 U/mL ในวันที่ 3 และหลังจากนั้นจึงไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมได้อีก ขณะที่พบเอนไซม์ไลเปสในวันที่ 1 โดยมีค่ากิจกรรมเท่ากับ 1.2 U/mL และหลังจากนั้นไม่พบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเหลืออยู่ จากข้อมูลผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่า สามารถนำ พด7 มาใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์หมักได้ดี ทั้งนี้ควรหมักเพื่อผลิตเอนไซม์ร่วมให้มีประสิทธิภาพสูงและพบกิจกรรมของเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิดนี้ ซึ่งวันที่สามารถตรวจพบเอนไซม์ 3 ชนิดคือการหมักในวันแรกเท่านั้น จากลักษณะที่ปรากฏในตารางที่ 4.5 สามารถอธิบายได้ว่า เอนไซม์โคไซด์ไฮโดรเลสถูกผลิตขึ้นในปริมาณมากในช่วง 3 วันแรก ในทำนองเดียวกันพบว่าเอนไซม์โปรติเอสก็มีการผลิตมากขึ้นเช่นกัน แต่มีความเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลส อาจถูกเอนไซม์โปรติเอสย่อยสลายในช่วงวันที่ 3 จึงทำให้ในวันที่ 5 ตรวจพบเอนไซม์ไกลโคไซด์ไฮโดรเลสเหลือเพียง 0.8 U/mL เท่านั้น และในอีกทางหนึ่งลักษณะเช่นนี้อาจเกิดขึ้นกับเอนไซม์ไลเปสเช่นกันโดยมีความเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ไลเปสอาจถูกเอนไซม์โปรติเอสย่อยสลายไปจนหมดตั้งแต่วันที่ 2 เป็นต้นไป ดังนั้นหากจะต้องทำการผลิตเอนไซม์ให้ได้อย่างน้อย 3 ชนิดนี้ อาจจะต้องดำเนินการปรับสูตรอาหารในการหมักหรืออาจต้องแยกระบบการผลิตเอนไซม์แต่ละชนิดออกจากกัน

4.4.6 การยกระดับและประยุกต์การผลิตเอนไซม์ร่วมที่เกษตรกรมีส่วนร่วมในการพัฒนา

ในช่วงที่นักวิจัยดำเนินการขยายผลในพื้นที่ของเกษตรกร ทีมวิจัยได้หารือจนมีมติว่าจะไม่ดำเนินกิจกรรมในลักษณะการจัดฝึกอบรมเหมือนกิจกรรมอื่นๆของส่วนราชการทั่วไป นักวิจัยจึงได้ออกแบบลักษณะกิจกรรมในช่วงการขยายผลนี้ให้มีลักษณะเป็นกิจกรรม “การให้การถ่ายทอดเทคโนโลยี” ซึ่งในการปฏิบัติงานนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่สามารถดำเนินการได้เองในขั้นตอนปกติ นักวิจัยได้ดำเนินการมีส่วนร่วมในลักษณะผู้อำนวยความสะดวกหรือที่เรียกว่า “วิทยากรกระบวนการ (Facilitator)”จัดหาอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นต้องใช้มาให้เกษตรกร และให้การแนะนำข้อมูลเชิงวิชาการบางประเด็น

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้กล่าวถึงนิยามของการถ่ายทอดเทคโนโลยี ซึ่งเป็นเครื่องมืออย่างหนึ่งที่มีความสำคัญและพบว่ามีประสิทธิภาพอย่างมาก ในการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อจัดการความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีให้แก่ประชาชน โดยเฉพาะกลุ่มประชาชนที่ไม่ได้เป็นนักวิทยาศาสตร์แต่จำเป็นต้องใช้ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์เพื่อยกระดับคุณภาพชีวิต และเพื่อให้เกิดการพัฒนาในหลายมิติ ดังนี้ (http://oldweb.most.go.th/main/index.php/contribution/projects-along-the-royal/technology-transfer.html, เข้าถึงเมื่อ เมษายน 2561)

การถ่ายทอดเทคโนโลยี : หมายถึงกระบวนการที่นำเอาเทคโนโลยีที่เกิดขึ้น (หรือพัฒนาขึ้น) ในที่หนึ่งเพื่อวัตถุประสงค์อย่างหนึ่งไปใช้ในที่อื่นเพื่อวัตถุประสงค์เดียวกันหรือเพื่อวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันออกไปโดยครอบคลุมประเด็นต่างๆ ดังนี้

1) องค์ความรู้หรือประสบการณ์ความเชี่ยวชาญต่างๆ ที่เกิดจากการวิจัยและพัฒนา โดยผู้ที่มีความรู้ความชำนาญในเรื่องนั้นๆ โดยตรง

2) ข้อมูล คำแนะนำต่างๆ ที่ช่วยในการใช้องค์ความรู้ (มีเอกสารคู่มือ มีการสาธิต ฝึกปฏิบัติ)

3) การนำองค์ความรู้ที่ได้รับไปใช้ให้เกิดประโยชน์

วิธีการถ่ายทอดเทคโนโลยีประกอบด้วย

1) การให้ความรู้โดยการบรรยายผ่านภาพ เสียง หรือสื่ออื่นๆ จากเจ้าขององค์ความรู้ที่เกิดมาจากการวิจัยและพัฒนาและมีความชำนาญในเรื่องนั้นๆ โดยตรง โดยอาจมีการนำความรู้ในเรื่องอื่นๆ ที่สำคัญเข้าไปช่วยสนับสนุน เช่น การตลาด ตราสินค้า การบรรจุภัณฑ์ เป็นต้น

2) การฝึกปฏิบัติ การสาธิต การศึกษาดูงาน มีเอกสารคู่มือในการใช้ความรู้ (เทคโนโลยี)

3) มีการให้คำปรึกษาเพิ่มเติม ภายหลังการถ่ายทอดเทคโนโลยี เพื่อให้มีการนำผลงานนั้นไปใช้ประโยชน์ได้จริง

เกษตรกรบางท่านได้นำเสนอแนวคิดที่น่าสนใจซึ่งได้ไปเรียนรู้มาจากสื่อสารสนเทศ และจากการไปเข้าร่วมงานวิชาการทางด้านการเกษตรในที่ต่างๆ แนวคิดดังกล่าวคือ

“มีความเป็นไปได้หรือไม่หากนำสารสำคัญที่มีอยู่ในเปลือกผลไม้หรือสมุนไพรบางชนิดมาผสมลงไปในผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมานี้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดเพลี้ยให้ดีขึ้นไปอีก”

นักวิจัยได้น้อมรับแนวความคิดนี้มา และเมื่อกลับมาศึกษาจากเอกสารทางวิชาการจึงพบว่า ได้มีรายงานทางวิทยาศาสตร์ได้เคยศึกษามาบ้างแล้วว่าสารสำคัญในพืชบางชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของแมลงศัตรูพืชบางชนิด สามารถนำสารสำคัญเหล่านั้นมาประยุกต์ใช้เกี่ยวกับสารกำจัดสัตรูพืชได้ นักวิจัยได้นำสิ่งที่ได้สืบค้นมานี้ไปหารือกับเกษตรกรที่เสนอแนวคิดนี้และนักวิจัยได้ข้อสรุปในทางปฏิบัติว่าจะดำเนินการทดลองผสมสารสำคัญ 2 ชนิดที่สามารถหาได้ง่ายลงไปในผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมที่ผลิตขึ้นมาได้ สารทั้งสองชนิดได้แก่ Limonene และ Stemofoline ซึ่งสามารถพบสารสำคัญสองชนิดนี้ได้ในเปลือกผลไม้และสมุนไพร

หนอนตายอยากตามลำดับ โดยจะทดลองศึกษาว่าสารสำคัญที่เติมลงไปนั้นจะส่งผลกระทบต่อกิจกรรมเอนไซม์หรือไม่ แต่นักวิจัยยังไม่สามารถศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสำคัญที่เติมลงไปนั้นว่ามีฤทธิ์เป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืชได้จริงหรือไม่ เนื่องจากขอบเขตการวิจัยในงานวิจัยนี้ไม่สามารถดำเนินการวิจัยในลักษณะการใช้สัตว์ทดลองได้ ดังนั้นนักวิจัยจึงได้ตกลงกับเกษตรกรในประเด็นที่จะศึกษานี้และถือว่ากิจกรรมการประยุกต์การผลิตเอนไซม์ร่วมในขั้นตอนนี้เป็นการร่วมมือกันทำงานอย่างเป็นรูปธรรมโดยเกษตรกรมีบทบาทในขั้นตอนการเสนอความคิด การผลิตในระดับขยายผล การนำไปทดลองใช้และการประเมินผล ส่วนนักวิจัยทำหน้าที่เป็นวิทยากรกระบวนการ

เมื่อทำการผลิตเอนไซม์ร่วมอีกครั้งเป็นเวลา 3 วันโดย ได้ผสมสารสกัดจากธรรมชาติ 2 ชนิด ได้แก่ Limonene และ Stemofoline อย่างละ 1% ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้พบได้ทั่วไปในเปลือกของผลไม้บางชนิดและส่วนใบและดอกของสมุนไพรหลายชนิด เมื่อเร็วๆนี้มีรายงานวิจัยศึกษาว่า สารทั้งสองชนิดนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของแมลงหลายชนิด สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารกำจัดแมลงจากธรรมชาติได้ โดยภายหลังจากผสมสารทั้งสองชนิดนี้เข้ากับเอนไซม์ด้วย 0.5% เจลาตินเพื่อเป็น emulsifier ให้สารผสมทั้งหมดนี้เกิดการคงตัวในการใช้งาน จากนั้นจึงบรรจุลงในกระบอกฉีดน้ำพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เมื่อยังไม่ใช้งาน

ผลการศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ร่วมเมื่อผสมสารสกัด Limonene และ Stemofoline แสดงดังตารางที่ 4.10 โดยค่ากิจกรรมคงเหลือภายหลังเติมสารสกัดลงไป และบ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 12-48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าเอนไซม์ไกโคไซด์ไฮโดรเลสและโปรติเอสยังคงมีเสถียรภาพดี แต่พบว่ามีค่ากิจกรรมเพิ่มขึ้นเล็กน้อยสาเหตุอาจเนื่องมาจากยังคงมีเชื้อจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่จึงยังคงมีการผลิตเอนไซม์ออกมาอย่างต่อเนื่องอีกเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้จึงสรุปได้ว่าสารสกัดที่เกษตรกรคาดหวังในการเสริมฤทธิ์ที่เติมลงไปในขั้นตอนการทดลองนี้ ไม่มีผลกระทบขัดขวางกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตขึ้น ดังนั้นทางนักวิจัยจึงได้ดำเนินการสรุปข้อมูลการทดลองร่วมกันกับเกษตรกรในครั้งนี้ไว้เพื่อจะได้นำไปเผยแพร่หรือจัดการความรู้ต่อไปยังเกษตรกรกลุ่มอื่นต่อไป

ตารางที่ 4.10 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ร่วมคงเหลือเมื่อเติมสารสกัด 1% Limonene และ 1% Stemofoline และบ่มไว้เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ4 °C

ชั่วโมง	กิจกรรม (U/mL)	
	ไกโคไซด์ไฮโดรเลส	โปรติเอส
12	12.20±0.82	0.60±0.08
24	18.55±1.12	1.20±0.68
36	20.20±0.22	1.05±0.88
48	19.50±0.85	0.85±0.25

4.5 กิจกรรมการป้อนกลับข้อมูลข้อดีข้อเสียของผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมเพื่อชี้นำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

4.5.1 สถานการณ์ก่อนการเปลี่ยนแปลงในขณะที่ดำเนินกิจกรรมการป้อนกลับข้อมูล

การศึกษาในขั้นตอนนี้ ได้ดำเนินการป้อนกลับข้อมูลที่ได้สังเคราะห์จากกิจกรรมที่ผ่านมาโดยผลจากการศึกษาบริบทของเกษตรกร การเข้าไปร่วมวางแผนเพื่อผลิตเอนไซม์ การผลิตเอนไซม์ จนกระทั่งการร่วมกันพัฒนาการผลิตเอนไซม์ตามลำดับ สุดท้ายจึงสามารถวิเคราะห์ถึงข้อดีข้อเสียของการผลิตเอนไซม์ร่วมขึ้นมาใช้ทดแทนสารเคมี ซึ่งการป้อนกลับข้อมูลให้แก่เกษตรกรในการวิจัยครั้งนี้ มีเป้าหมายเพื่อจัดการความรู้เรื่องการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพที่มีอยู่แล้วในพื้นที่แต่มีความหลากหลาย โดยใช้เครื่องมือการจัดกลุ่มเสวนาและเรียนรู้ร่วมกัน เพื่อให้เกิดผลลัพธ์การกำหนดแนวทาง แนวปฏิบัติที่ดี หรืออาจกำหนดเป็นนโยบายของการจัดการโรคเหี่ยวประจำพื้นที่ ในอีกทางหนึ่งผู้วิจัยสามารถใช้กลไกของกระบวนการในการศึกษาขั้นตอนที่ 2 นี้เพื่อนำไปสู่การเสนอแนะข้อดีของการใช้เอนไซม์ร่วมในการกำจัดเพลี้ยต่อประชาคมที่มาร่วมในกิจกรรมป้อนกลับข้อมูล อย่างไรก็ตามเมื่อผู้วิจัยดำเนินการศึกษาไปได้สักระยะหนึ่งกลับพบว่า การป้อนกลับข้อมูลสามารถดำเนินการได้ควบคู่ไปในระหว่างการดำเนินการในช่วงแรกเช่นกัน เนื่องจากผู้วิจัยได้เดินทางไปสังเกตการณ์เกษตรกรในพื้นที่ศึกษาเดิมซ้ำมากกว่า 1 ครั้ง เพื่อศึกษาบริบทอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในขณะนั้นก็ได้ทำการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์ที่ได้รับจากการไปศึกษาจากแปลงอื่นๆให้แก่เกษตรกรที่ผู้วิจัยกลับไปสังเกตการณ์ซ้ำ ทั้งนี้การศึกษาในขั้นตอนที่ 2 กำลังอยู่ในระหว่างการนัดหมายกลุ่มเกษตรกรแต่ละอำเภอรวมไปถึงภาคีราชการ เพื่อดำเนินการตามขั้นตอนให้สมบูรณ์ต่อไป

การศึกษาการป้อนกลับข้อมูลไปยังเกษตรกรจากการใช้เทคนิคกลับไปสังเกตการณ์เกษตรกรในพื้นที่ศึกษาเดิมซ้ำมากกว่า 1 ครั้ง และทำการป้อนกลับข้อมูลโดยการสนทนาและใช้เทคนิค “Why Why Analysis” เพื่อสืบเสาะหาต้นตอต้นเหตุแห่งการตัดสินใจเลือกใช้กรรมวิธีดังกล่าวในการป้องกันและแก้ปัญหาโรคเหี่ยว อีกทั้งผลการศึกษาที่ได้นั้น เป็นข้อมูลการศึกษาเชิงคุณภาพ สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นผลการศึกษาเพิ่มเติมในการศึกษามิติอื่นอาทิ มิติทางการตลาดและเศรษฐกิจ และ มิติทางสังคม เป็นต้น โดยคำถามในเครื่องมือ Why Why Analysis และการสังเคราะห์คำตอบจากการนำไปสนทนาต่อเกษตรกรจำนวน 50-60 คนในพื้นที่เป้าหมายอำเภอสวนผึ้งและอำเภอปากท่อได้แสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ตัวอย่างวลีที่ได้จากการสอบถามเกษตรกรโดยการศึกษา Why Why Analysis เพื่อสืบเสาะหาต้นตอต้นเหตุแห่งการตัดสินใจเลือกใช้กรรมวิธีดังกล่าวในการป้องกันและแก้ปัญหาโรคเหี่ยว

ชุดที่	คำถาม	คำตอบ
1 (n=55)	ทำไมเลือกใช้การต้มหน่อและชุบสารเคมี	เพราะเพื่อนแนะนำและรับรองว่าได้ผล
	ทำไมเห็นว่าได้ผลจริง	เพราะตัวเกษตรกรเองไม่มีประสบการณ์อื่น
	ทำไมไม่มีประสบการณ์อื่น	เพราะไม่เคยได้รับการฝึกอบรมโรคเหี่ยว
	ทำไมไม่ไปฝึกอบรมเกี่ยวกับโรคเหี่ยว	-เพราะหน่วยงานราชการให้ฝึกอบรมเรื่องอื่น เช่น ปุ๋ย ดิน น้ำ EM และเคมีกำจัดศัตรูพืช -เพราะไม่มีเวลา
	ทำไมไม่ไปฝึกอบรมนอกเหนือจากนี้	-เพราะหน่วยงานราชการให้ฝึกอบรมเรื่องอื่น เช่น ปุ๋ย ดิน น้ำ EM และเคมีกำจัดศัตรูพืช -เพราะไม่รู้จะไปอบรมที่ไหน
2 (n=38)	ทำไมเลือกใช้หน่อพันธุ์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	เพราะมีคนนำมาขายและรับรองว่าดี
	ทำไมเห็นว่าดีจริง	-เพราะพบว่าเป็นโรคน้อยกว่าจริง -เพราะราคาถูกเท่ากับหรือถูกกว่าหน่อซื้อ
	ทำไมพบว่าเป็นโรคน้อยกว่าเดิมจริง	-เพราะนักวิชาการเกษตรเล่าให้ฟัง -เพราะอาจารย์สถาบันการศึกษาเล่าให้ฟัง
	ทำไมทราบว่าถูกกว่าหรือราคาเท่ากับหน่อซื้อทั่วไป	-เพราะติดตามราคาอยู่เสมอ -เพราะมีคนนำหน่อมาขายเป็นระยะ -เพราะซื้อจากกลุ่มที่รวมตัวกันจัดหามา
	ทำไมต้องซื้อหน่อจากกลุ่ม	-เพราะสามารถเอาหน่อมาใช้ก่อนได้และจ่ายทีหลัง -ผู้ขายอ้างว่าเป็นหน่อพันธุ์ปลอดโรค

ผลการศึกษาจากคำตอบของเกษตรกรสามารถวิเคราะห์ได้ว่า ต้นเหตุแห่งการตัดสินใจเลือกใช้กรรมวิธีการต้มหน่อชุบสารเคมี การใช้หน่อพันธุ์ที่ปลอดโรคและการใช้หน่อพันธุ์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการป้องกันและแก้ปัญหาโรคเหี่ยว โดยสรุปคือ เพราะเพื่อนแนะนำ เกษตรกรขาดประสบการณ์ มีนักวิชาการสนับสนุน และมีกลุ่มคอยแบ่งปันและเกื้อกูล

4.5.2 การชี้นำเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยการป้อนกลับข้อมูล “ข้อดี / ข้อเสีย” ของผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วม

เพื่อเป็นการชี้นำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ผู้วิจัยได้ป้อนกลับข้อมูล “ข้อดี / ข้อเสีย”ของการใช้เอนไซม์ร่วม ผสมผสานกับการใช้สารเคมีในการกำจัดเพลี้ย ให้แก่เกษตรกรจำนวน 50-60 คน ซึ่งนักวิจัยใช้วิธีการพูดคุยบอกเล่าผลการศึกษาก่อนหน้านี้ในขณะที่นักวิจัยเดินทางเข้าไปเยี่ยมเกษตรกรในหลายๆครั้ง โดยไม่ได้ทำการเชิญประชุมกลุ่มหรือจัดเวทีอื่นใด โดยในการเริ่มต้นพูดคุยได้กำหนด**คำถาม**ชี้นำไว้ก่อนแต่เป็นคำถามปลายเปิดให้เกษตรกรสามารถแสดงทัศนะตามความเข้าใจ เพื่อต้องการให้เกษตรกรได้แสดงความเห็น มีความรู้สึกมีส่วนร่วม และมีความรู้สึกอยากจะเปิดใจและลองเปลี่ยนแปลง ซึ่งคำถามชี้นำที่ใช้มีจำนวน 2 ข้อ ดังต่อไปนี้

1. เกษตรกรจะตัดสินใจดำเนินการเป็นผู้ผลิตหรือปรับปรุงและพัฒนาผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมแบบนี้ใช้กันเองในหมู่เกษตรกรได้หรือไม่อย่างไร

2. หากทางจังหวัด หรือส่วนงานราชการกำหนดเป็นนโยบาย หรือมีการส่งเสริมให้ใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์นี้ และลดการใช้สารเคมีรุนแรงลงเกษตรกรจะตัดสินใจอย่างไร

เป้าหมายของคำถามทั้งสองข้อนี้คือการชี้นำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยให้เกษตรกรมีความคิด

“อยากนำสิ่งที่มีดีอยู่แล้วที่ภาครัฐจัดหามาให้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช (หมายถึง พด.7) มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยการใช้ประโยชน์สูงสุด ก็จะเกิดประสิทธิภาพได้สูงสุดเช่นกันหากร่วมกันนำ พด.7 มาใช้อย่างกว้างขวางครอบคลุมพื้นที่ ก็จะทำให้เกิดลักษณะสมดุลทางธรรมชาติไปในทางที่สามารถป้องกันและต่อสู้กับแมลงศัตรูพืชได้เป็นวงกว้างเช่นกัน แต่หากต้องการพัฒนาให้ พด.7 นั้นมีประสิทธิภาพสูงมากขึ้นกว่าเดิม เกษตรกรก็สามารถพัฒนาเองได้โดยมีมหาวิทยาลัยเป็นหน่วยงานในพื้นที่ที่จะเข้าร่วมกันพัฒนา ซึ่งผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมที่ช่วยกันผลิตขึ้นมาจากงานวิจัยนี้คือตัวอย่างที่ดีของการพัฒนาที่เห็นได้ชัดเป็นรูปธรรมที่สุด ซึ่งจะนำไปสู่ความยั่งยืนอย่างแท้จริงในอนาคต ”

ตารางที่ 4.12 สรุปตัวอย่างบางประเด็นจากการพูดคุยถึงความต้องการเลือกใช้กรรมวิธีเอนไซม์ร่วม

ที่	คำถาม	คำตอบ
1	เกษตรกรจะตัดสินใจดำเนินการเป็นผู้ผลิตหรือปรับปรุงและพัฒนาผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมแบบนี้ใช้กันเองในหมู่เกษตรกรได้หรือไม่อย่างไร	- จะทดลองใช้ดูก่อนตัดสินใจใช้ แต่จะใช้ในบริเวณที่ทดลอง ไม่ประสงค์ใช้ทดแทนสารเคมีในพื้นที่เดิมทั้งหมด - จะขอตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากเพื่อนเกษตรกรที่ผลิตเองนำไปทดลองใช้ด้วยตนเองในกิจกรรมของตนเองก่อนการตัดสินใจ - จะไม่ทดลองใช้ เนื่องจากเชื่อมั่นในสารเคมีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันและศักยภาพของตนเองจากประสบการณ์ที่ผ่านมา - ตัดสินใจผลิตเอง และจะนำไปใช้เอง หากมีคนสอนกรรมวิธีต่างๆ - ตัดสินใจไม่ผลิตเองเนื่องจากไม่มีเวลาแต่ยินดีที่จะเรียนรู้หากมีคนสอนกรรมวิธีต่างๆ และยินดีนำไปใช้จริงถ้ามีคนผลิตให้
2	หากทางจังหวัด หรือส่วนงานราชการกำหนดเป็นนโยบาย หรือมีการส่งเสริมให้ใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์นี้ และลดการใช้สารเคมีรุนแรงลงเกษตรกรจะตัดสินใจอย่างไร	- มีเกษตรกรอาสาเป็นผู้นำต้นแบบการผลิตในหมู่เกษตรกร (ปรารถนาเป็นแหล่งเรียนรู้ต้นแบบ) - อาจต้องมีการทำสัญญาเพื่อรับประกันราคาผลผลิต - ยินดีปฏิบัติตามแต่อาจจะต้องมีเงื่อนไขอย่างอื่นที่พอจะเป็นหลักประกันความมั่นใจให้เกษตรกร เช่นหากใช้ไม่ได้ผลและมีความเสียหายภาครัฐต้องจ่ายรายได้ - เกษตรกรเสนอข้อแลกเปลี่ยนโดยให้ภาครัฐจัดหาตลาดชั้นดีรองรับผลผลิต - กรณีเป็นสับปะรดโรงงานมีความเสี่ยงในการตรวจพบสารปนเปื้อนจากผลิตภัณฑ์อาจต้องให้ภาครัฐเข้าไปเจรจากับทางโรงงานถึงรูปแบบการใช้งานเอนไซม์ร่วม - ตัดสินใจไม่ใช้ จนกว่าจะมีมาตรการเข้มงวดและเด็ดขาดมาบังคับ เพราะที่ผ่านมาเกิดความเสียหายหลายครั้งจากนโยบายที่เปลี่ยนแปลงบ่อย

4.5.3 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

การเปลี่ยนแปลงในระยะการทดลองใช้ผลิตภัณฑ์

ช่วงเดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 ภายหลังจากการผลิตเอนไซม์ร่วมระยะเริ่มต้นได้สำเร็จในห้องปฏิบัติการแล้ว ทีมวิจัยจึงตัดสินใจนำเอนไซม์มาให้เกษตรกรเป้าหมายในพื้นที่ได้ทดลองใช้ โดยยังไม่ได้บอกกล่าวหรืออธิบายรายละเอียดเชิงลึกว่าเอนไซม์นี้มีที่มาอย่างไร แต่ได้อธิบายคร่าวๆว่านี่คือผลิตภัณฑ์ช่วยกำจัดเพลี้ยพาหะซึ่งผลิตมาจาก พด.7 ไม่ได้ผลิตมาจากสารเคมีอันตรายตามที่ได้เคยนำเสนอไปเมื่อหลายเดือนก่อน (ผู้วิจัยนำเอกสารที่จดบันทึกการให้สัมภาษณ์เมื่อครั้งก่อนแสดงให้เกษตรกรเป้าหมายดูว่าในวันนั้นได้เจรจาอะไรกันไว้บ้าง ทำให้เกษตรกรมีความรู้สึกว่าได้เคยสร้างเงื่อนไขข้อตกลงบางประการร่วมกันไว้ และวันนั้นที่เกษตรกรและนักวิจัยต่างรอคอยก็ได้มาถึงแล้ว เกษตรกรจึงมีความรู้สึกยินดีที่จะให้ความร่วมมือ)

ทีมนักวิจัยได้เข้าไปในพื้นที่เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง นักวิจัยเลือกดำเนินกิจกรรมในลักษณะการสังเกตการณ์มากกว่าที่จะเข้าไปจัดเวทีประชุม ในขั้นตอนการนำเอนไซม์ไปทดลองใช้นี้ เป็นการดำเนินกิจกรรมในลักษณะ PAR โดยเริ่มจากทีมนักวิจัยนำเสนอวิธีการใช้เอนไซม์เบื้องต้นให้แก่เกษตรกร โดยไม่ได้สร้างเงื่อนไขการใช้งานที่ซับซ้อนจนเข้าใจยาก หากแต่ทีมนักวิจัยได้เปิดโอกาสให้เกษตรกรได้ทำการปรับวิธีการนำไปใช้ได้เองตามความถนัดของแต่ละคน แต่ทั้งนี้ทีมนักวิจัยได้กำชับข้อจำกัดบางประการให้แก่เกษตรกรเพื่อเป็นแนวปฏิบัติในการรักษาคุณภาพของเอนไซม์ไว้ให้ได้นานที่สุด อาทิเช่น การเก็บรักษาเอนไซม์ไว้ในที่เย็นปลอดแสงและหลีกเลี่ยงความร้อน เป็นต้น

เกษตรกรได้ยกระดับความรู้โดยไม่จำเป็นต้องเข้ากิจกรรมการฝึกอบรมเหมือนเช่นก่อน

สิ่งที่เกิดขึ้นและสังเกตได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงในตัวบุคคลกล่าวคือ ก่อนหน้านี้เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับ พด.7 ในทำนองว่าเป็นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชบ้าง เป็นหัวเชื้อของสารบ้าง ประมาณครึ่งหนึ่งของเกษตรกรที่นักวิจัยได้เข้าไปสัมภาษณ์มีความเข้าใจถูกต้องว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่นำมาใช้หมักสมุนไพรเพื่อผลิตสารกำจัดแมลงศัตรูพืช แต่เกษตรกรที่มีความเข้าใจเหล่านั้นไม่ได้สนใจที่จะนำไปใช้อย่างจริงจัง เนื่องจากสาเหตุที่ว่าความยุ่งยากและไม่ค่อยเห็นผลอย่างเด็ดขาดเทียบเท่าสารเคมีทั่วไป อย่างไรก็ตามเมื่อเกษตรกรหลายท่านได้นำผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่ผลิตจาก พด.7 ไปทดลองใช้ภายใต้กระบวนการในระยะทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านมา ก็ได้เห็นว่าเกษตรกรแสดงทัศนะว่า “มีประโยชน์” และบางท่านที่ได้ทราบว่าได้ผลิตมาจาก พด.7 โดยทำการดัดแปลงกรรมวิธีเพียงเล็กน้อย และเกษตรกรสามารถทำได้ด้วยตัวเองเสียด้วยซ้ำก็จะมีทีท่าว่าให้ความสนใจในตัวผลิตภัณฑ์รวมไปถึงสนใจที่จะทดลองผลิตขึ้นมาใช้เอง ส่วนหนึ่งมาจากการได้สังเกตจากผลการทดลองที่ตนได้นำไปใช้เองแม้จะพบว่าไม่ได้ให้ผลที่ดีมากเท่ากับการใช้สารเคมี แต่เมื่อได้ทดลองใช้ไปแล้วและเห็นว่าพอจะลดจำนวนเพลี้ยและสามารถควบคุมเพลี้ยไม่ให้ขยายวงกว้างออกไปได้ก็ทำให้เกษตรกรมีความเชื่อถือและศรัทธาในตัวผลิตภัณฑ์ขึ้นมาบ้าง สิ่งที่ตามมาอีกประการหนึ่งก็คือความสนใจใคร่รู้ของเกษตรกร ที่อยากจะรู้ว่ากรรมวิธีที่ทีมนักวิจัยได้ทำการดัดแปลงการเตรียม พด.7 นั้น ได้ดำเนินการ

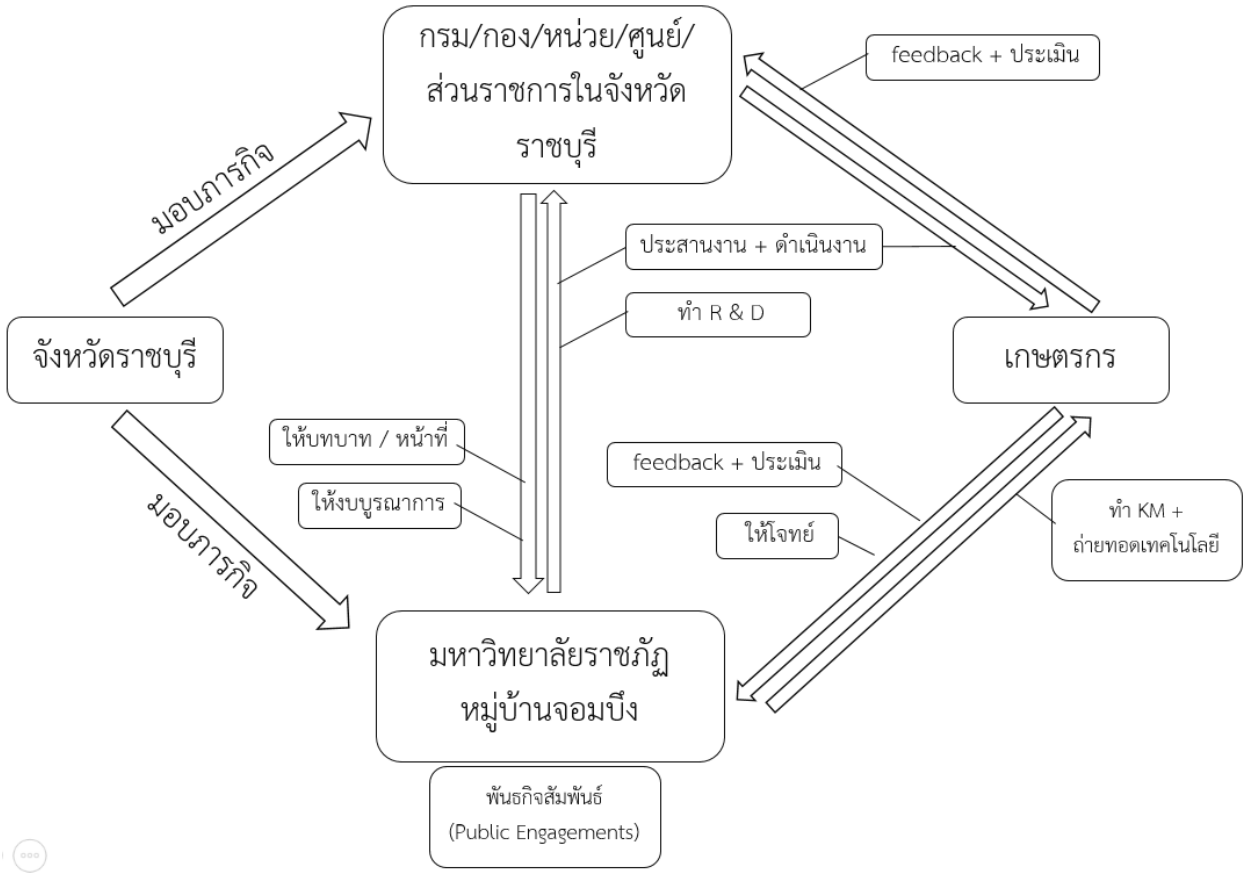
ดัดแปลงอย่างไร โดยนักวิจัยก็ได้ทำการอธิบายให้เกษตรกรเข้าใจพอสังเขปในขณะที่เกษตรกรสงสัยรายบุคคลทันที และเพื่อให้เกิดบรรยากาศของการยกระดับการเรียนรู้ในกลุ่มเกษตรกร ทีมนักวิจัยพยายามส่งเสริมผลักดันด้วยวาจา ให้เกษตรกรบางท่านที่ได้รู้กรรมวิธีการดัดแปลง พด.7 นี้แล้ว มีความปรารถนาที่อยากจะสื่อสาร โดยชี้นำวิธีการสื่อสารให้ดำเนินการไปเผยแพร่กรรมวิธีนั้นต่อหรือไปเป็นวิทยากรตัวคูณในกลุ่มเกษตรกรด้วยกันต่อไปในกิจกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง (Sharing) หรือไปดำเนินการจัดการความรู้ที่ตนเองได้รับนี้ต่อไปก็ตามที่ตนเองถนัด โดยที่ไม่ต้องฝึกอบรมเป็นกลุ่มใหญ่แบบเดิมๆจากภาคีราชการที่เคยปฏิบัติกันมา

อีกประการหนึ่งซึ่งนักวิจัยพบว่า มีความเกี่ยวข้องกับทฤษฎีความสัมพันธ์ระหว่างการสื่อสารกับการมีส่วนร่วมที่เห็นได้จากกระบวนการวิจัยคือ เมื่อเกษตรกรได้ทดลองนำเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้เองตามวิธีที่ตนเองถนัด และเมื่อพบว่าเอนไซม์ที่นำไปใช้นั้นพอจะมีประสิทธิภาพอยู่บ้างในแบบที่ตนเองออกแบบวิธีการประยุกต์ใช้ขึ้นมานั้น เกษตรกรก็จะรู้สึกเป็น “เจ้าของ” กรรมวิธีที่ประยุกต์ใช้นั้นๆที่ทำให้เกิดประสิทธิภาพ จากนั้นเกษตรกรมีความคิดที่จะแสวงหาการดัดแปลงเพื่อให้เกิดการพัฒนาที่ดีขึ้นจนกรรมวิธีที่ประยุกต์ใช้และดัดแปลงขึ้นใหม่นั้นมีประสิทธิภาพสูงยิ่งขึ้นไปอีก ซึ่งหลักในการจัดการความคิดรูปแบบนี้เป็นไปตามทฤษฎีของ กาญจนา แก้วเทพ (2546) ซึ่งได้รายงานถึงการสื่อสารอย่างมีส่วนร่วมของคนในชุมชนว่า กระบวนการสื่อสารของประชาชนจะเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ต้องมีความเกี่ยวข้องผูกโยงกับความรู้สึกที่เป็นเจ้าของ (Sense of belonging) โดยด้านหนึ่ง ความรู้สึกเป็นเจ้าของนั้น นำมาซึ่งความสนใจ ห่วงใย ดูแลรักษา ในขณะที่อีกด้านหนึ่งความรู้สึกเป็นเจ้าของจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อผู้เป็นเจ้าของมีอำนาจที่จะสามารถเข้าไปจัดการกับสิ่งของหรือเรื่องราวนั้นๆ ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า เมื่อการนำเอนไซม์ไปประยุกต์ใช้ได้เกิดขึ้น และเกิดผลเป็นที่น่าพอใจ เกิดประโยชน์ที่กระทบต่ออาชีพและวิถีชีวิตในปัจจุบัน ซึ่งผลประโยชน์อันเป็นที่น่าพอใจนั้นเกิดขึ้นจากการประยุกต์ใช้ของตัวเกษตรกรเอง ทำให้เกษตรกรรู้สึกว่าตนเองมีส่วนร่วม ได้เป็นเจ้าของ จึงทำให้เกิดแรงบันดาลใจให้อยากจะสื่อสารกันภายในกลุ่มหรือองค์กร และจะนำมาซึ่งการเปลี่ยนแปลงทั้งในการระบาดเป็นวงกว้างของความรู้ความเข้าใจและรวมไปถึงการยกระดับความรู้ความเข้าใจ โดยเป็นไปได้อย่างอัตโนมัติ ซึ่งทำให้นักวิจัยไม่จำเป็นต้องทำหน้าที่ผู้ประชาสัมพันธ์มากเกินความจำเป็นอีกเลย

4.5.4 การขับเคลื่อนเพื่อให้เกิดความยั่งยืน

ในระหว่างการดำเนินการวิจัย การมีส่วนร่วมระหว่างทีมวิจัย เกษตรกร และภาคี ทั้งการแก้ปัญหาเรื่องการกำจัดเพลี้ย และเรื่องอื่นที่นอกเหนือไปจากนี้ แม้จะเป็นเพียงการร่วมมือกันในระบบเล็กๆ ที่มีคนเข้ามาเกี่ยวข้องไม่มาก แต่มีลักษณะปรากฏว่าจะสามารถดำเนินการไปได้อย่างยั่งยืน และสามารถขยายผลการปฏิบัตินี้ออกไปสู่กลุ่มหรือชุมชนอื่นๆได้อีก อย่างไรก็ตามควรจะต้องมีระบบและกลไกที่สามารถนำมาใช้ได้จริง โดยระบบและกลไกจะสามารถขับเคลื่อนไปได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีมหาวิทยาลัยราชภัฏ เข้าไปเป็นส่วนหนึ่งในมิติต่างๆ ของการดำเนินงานในภารกิจต่างๆของภาคีจังหวัดราชบุรี ซึ่งการเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของมหาวิทยาลัยนั้นเรียกว่า “พันธกิจสัมพันธ์” หรือ Public Engagements

ทีมนักวิจัยได้ประมวลเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการวิจัยรวมไปถึงการวิเคราะห์สังเคราะห์จากปรากฏการณ์ต่างๆ จึงขอนำเสนอรูปแบบระบบและกลไกในการทำงานแบบบูรณาการร่วมกันของหลายภาคส่วน (พหุภาคี) ดังแสดงในแผนภาพในรูปที่ 4.13 โดยสามารถอธิบายได้ว่า พหุภาคีประกอบไปด้วย ส่วนงานราชการในจังหวัดราชบุรี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง และเกษตรกร โดยมหาวิทยาลัยมีบทบาทหน้าที่ในการประสานงานและดำเนินกิจกรรมบางอย่างที่ส่วนงานราชการผ่องถ่ายมาให้ อาทิเช่นการเป็นหน่วยในการจัดฝึกอบรมให้ความรู้แก่เกษตรกร การจัดการความรู้ และการถ่ายทอดเทคโนโลยี ส่วนงานราชการที่เกี่ยวข้องกับการแก้ปัญหาโรคเหี่ยวในขณะนี้ซึ่งมีความสำคัญมากที่สุดได้แก่กรมพัฒนาที่ดิน (ซึ่งในพื้นที่จังหวัดราชบุรีหมายถึงส่วนงานสถานีพัฒนาที่ดิน)



รูปที่ 4.13 แผนภาพแสดงแนวคิดเพื่อการขับเคลื่อนชุมชนเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดเพื่อให้เกิดการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรดอย่างยั่งยืน โดยแนวคิดนี้เกี่ยวกับระบบและกลไกการขับเคลื่อนของพหุภาคีเพื่อกำหนดบทบาทและหน้าที่ของการดำเนินการเพื่อ “ป้องกัน” และ “แก้ไข” โรคเหี่ยวสับปะรดมุ่งเป้ากำจัดเพลี้ยพาหะ โดยมหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึงเป็นกลไกจังหวัด ในรูปแบบพันธกิจสัมพันธ์ (Public Engagements) โดยมหาวิทยาลัยฯ จะมีบทบาทในมิติเกี่ยวกับการวิจัยและพัฒนา (R&D) การจัดการความรู้ (KM) และการถ่ายทอดเทคโนโลยี (Technology Transfer) ให้แก่ภาคี เพื่อให้เกิดการขับเคลื่อนระบบอย่างยั่งยืน

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาของงานวิจัยนี้โดยมีวัตถุประสงค์ของการศึกษา 2 ประการได้แก่

1) เพื่อศึกษารูปแบบวิธีการจัดการต่างๆที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเหี่ยวสับปะรด

2) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการกำจัดเพลี้ยพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด

การศึกษาเพื่อตอบวัตถุประสงค์ในข้อที่ 1 ผลการศึกษาสามารถสรุปได้เป็นประเด็นดังต่อไปนี้

1) การจัดการโรคเหี่ยวสับปะรดของเกษตรกรในพื้นที่อำเภอสวนผึ้ง บ้านคา จอมบึง และปากท่อ มีรูปแบบการจัดการที่หลากหลาย แต่โดยหลักแล้วยังคงใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชอยู่ ซึ่งในรูปแบบการจัดการที่ความหลากหลายนั้นมีความเป็นเหตุเป็นผลตามหลักวิชาการสอดคล้องตามความรู้ที่เผยแพร่โดยทั่วไป ในขณะเดียวกันยังไม่พบรูปแบบที่แปลกใหม่ทันสมัย หรือรูปแบบที่เป็นความลับ หรือเป็นสิทธิบัตรชนิดที่ที่ยังไม่เคยมีการเผยแพร่เชิงวิชาการอย่างกว้างขวางมาก่อน

2) เกษตรกรร้อยละ 80-90 มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการระบาด มีความเข้าใจเกี่ยวกับพาหะที่สำคัญของโรคเหี่ยวทั้งเพลี้ยและมด เกษตรกรจัดการเชื้อไวรัสและพาหะทั้งแบบเชิงเดี่ยวและบูรณาการ ไม่ยึดติดตายตัวขึ้นอยู่กับสถานการณ์และปัจจัยแวดล้อม อาทิเช่นการใช้สารเคมี ร่วมกับการจัดการทางกายภาพเช่นการต้มและการเตรียมหน่อพันธุ์ โดยเฉพาะการปรับปรุงคุณภาพดินก่อนการลงหน่อพันธุ์รอบใหม่ถือเป็นหัวใจสำคัญที่ปฏิบัติเหมือนกันเกือบทั้งหมด

3) เกษตรกรให้ความสำคัญในมิติของการ "ป้องกัน” ไม่ให้เกิดโรคมากกว่าการ “แก้ปัญหาเฉพาะหน้า” เมื่อเจอโรค แต่เกษตรกรทุกรายไม่สามารถต้านทานการระบาดของโรคเหี่ยวได้ ซึ่งแม้จะดำเนินกิจกรรมการป้องกันอย่างสุดความสามารถแล้วแต่ก็ต้องคอยแก้ไขปัญหาเฉพาะหน้าทุกครั้งเมื่อพบว่ามีการระบาดเกิดขึ้น

4) การป้อนกลับข้อมูลและการ share รูปแบบการจัดการโรคเหี่ยวที่มีประสิทธิภาพของเกษตรกรแต่ละราย ให้เป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง และรวมไปถึงการสื่อสารถึงข้อดี / ข้อเสีย ของการนำเอนไซม์ร่วมมาใช้ ทำให้เกษตรกรได้มีโอกาสวิเคราะห์ตนเอง ได้เห็นข้อดีข้อเสียของแต่ละวิธี และของแต่ละคน ที่เคยปฏิบัติกันมาก่อนหน้านี้ ทำให้เกษตรกรบางรายเกิดความรู้สึกตระหนักและมีแนวโน้มของการอยากจะทดลองเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะการใช้เอนไซม์ร่วมซึ่งเป็นวิธีการรูปแบบใหม่ที่ยังไม่เป็นที่รู้จักและพบว่ามีประสิทธิภาพเชิงประจักษ์จากการศึกษานี้

5) เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเกษตรกรหลายคนให้ทัศนะว่าเป็นเทคนิคที่น่าสนใจและเชื่อว่าน่าจะเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด แต่ยังไม่สามารถตัดสินใจเลือกใช้วิธีการนี้โดยทันที ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจได้แก่ เกษตรกรมีความมั่นใจในประสบการณ์ การตัดสินใจจากกลุ่มสหกรณ์ของเกษตรกร การสนับสนุนจากส่วนราชการ และที่สำคัญที่สุดคือต้นทุนในการจัดหาต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การศึกษาเพื่อตอบวัตถุประสงค์ในข้อที่ 2 ผลการศึกษาสามารถสรุปได้เป็นประเด็นดังต่อไปนี้

1) เกษตรกรมีความเชื่อถือ และมั่นใจในประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เอนไซม์ร่วมที่ผลิตขึ้น เพราะเกษตรกรได้เข้ามามีส่วนร่วมในการผลิตและพัฒนา จึงก่อให้เกิดการยอมรับด้วยหลักฐานทางวิชาการเชิงประจักษ์ จึงมีความเป็นไปได้ที่ควรจะต้องมีการผลิตเอนไซม์ร่วมและส่งเสริมผลักดันให้นำมาใช้ในการกำจัดเพลี้ยพาหะอย่างจริงจัง

2) การสื่อสารและการถ่ายทอดเทคโนโลยี เป็นเทคนิคสำคัญที่มีส่วนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางความคิดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว โดยต้องใช้ความร่วมมือของภาคีสามส่วนได้แก่ เกษตรกร ภาคีราชการ (กรมพัฒนาที่ดิน) และมหาวิทยาลัย ซึ่งจะทำให้การเผยแพร่องค์ความรู้เกี่ยวกับการนำเอนไซม์ร่วมไปใช้ในการกำจัดเพลี้ยพาหะเป็นที่รู้จักและเป็นแนวปฏิบัติครอบคลุมพื้นที่จังหวัดราชบุรี

3) เกษตรกรกลุ่มเป้าหมายจะตัดสินใจนำ พด.7 มาผลิตเอนไซม์ร่วมเพื่อใช้ในการกำจัดเพลี้ยพาหะ โดยมีเงื่อนไขที่ภาคีราชการจะต้องเป็นหน่วยงานหลัก ที่จะต้องเข้ามาส่งเสริมและสนับสนุนในลักษณะเชิงนโยบาย

4) การตัดสินใจพัฒนา พด.7 เพื่อนำมาผลิตเอนไซม์ร่วมและนำมาใช้อย่างจริงจัง เกษตรกรต้องการความมั่นใจเกี่ยวกับรายได้จากภาครัฐ เช่นการประกันราคา การประกันความเสียหาย และการจัดหาแหล่งรับซื้อ

5) บทบาทของมหาวิทยาลัยในลักษณะพันธกิจสัมพันธ์ (Public Engagements) กับส่วนราชการจังหวัดราชบุรี จะทำให้การแก้ปัญหาโรคเหี่ยวมีประสิทธิภาพและเกิดความยั่งยืน โดยจะต้องให้มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึงเป็นกลไกจังหวัดในมิติหน้าที่เกี่ยวกับการวิจัยและพัฒนา (R&D) การจัดการความรู้ (KM) และการถ่ายทอดเทคโนโลยี (Technology Transfer) ให้แก่ภาคีราชการ และภาคีเกษตรกร

ข้อเสนอแนะ

ผลกระทบและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในขณะที่ดำเนินการวิจัยยังคงไม่มีความชัดเจน และยังคงเห็นว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงในจุดเล็กๆที่เกี่ยวข้องใกล้ชิดกับการทำงานวิจัยเท่านั้น แต่อย่างน้อยยังคงมีร่องรอยปรากฏขึ้นเป็นโมเดลที่จะสามารถนำไปขยายผลให้กว้างขึ้นอีกได้ต่อไป และรวมไปถึงขณะที่การวิจัยได้เสร็จสิ้นแล้ว การเปลี่ยนแปลงจนกระทั่งเกิดความยั่งยืนนั้นจะมีความเป็นรูปธรรมชัดเจนมากยิ่งขึ้น จำเป็นที่จะต้องมีการหารือร่วมกันอย่างเป็นทางการพหุภาคี และที่สำคัญก็คือพหุภาคีจะต้องให้คำมั่นสัญญาที่จะดำเนินการหรือปฏิบัติตามข้อตกลงความเข้าใจ (MOU) หรือความร่วมมือ (MOA) อย่างเคร่งครัดและจริงจัง