โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ช่วงระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้ *Dendrobium*

The survival period of *Panagrolaimus* sp. nematodes on *Dendrobium* orchids

ชื่อนิสิต นางสาวธัญญารัตน์ กับเป็ง **เลข ประจำตัว** 6032029223

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ช่วงระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้ *Dendrobium*

The survival period of *Panagrolaimus* sp. nematodes on *Dendrobium* orchids

นางสาวธัญญารัตน์ กับเป็ง

อาจารย์ที่ปรึกษา
อ.ดร.เกรียง กาญจนวตี

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจาก
โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ	: ช่วงระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้ *Dendrobium*
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	: นางสาวธัญญารัตน์ กับเป็ง
อาจารย์ที่ปรึกษา	: อ.ดร.เกรียง กาญจนวตี
ภาควิชา	: ชีววิทยา

บทคัดย่อ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในวงศ์ Orchidaceae มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยเนื่องจากกล้วยไม้เป็นหนึ่งในสินค้าส่งออกที่สำคัญ ปัญหาที่พบในสวนกล้วยไม้คือแมลงศัตรูพืช เช่น เพลี้ยไฟ บั่วกล้วยไม้ หนอนกระทู้หอม หอยทากสาลิกา และ หอยซัคซีเนีย วิธีการกำจัดหอยทากสามารถทำได้โดยการใช้สารเคมีในการควบคุม แต่ปัญหาของสารเคมีเหล่านี้ คือ มีความเป็นพิษต่อคนและยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการควบคุมทางชีววิธีเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ช่วยป้องกันและควบคุมการระบาดของหอยทากศัตรูพืชทำให้ลดความเสียหายและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของเกษตรกร การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพคือการใช้ไส้เดือนฝอยที่สามารถก่อโรคในหอยทาก ไส้เดือนฝอยที่ใช้ในโครงการวิจัยนี้คือ *Panagrolaimus* sp. การนำไส้เดือนฝอยไปใช้จริงยังขาดข้อมูลในเรื่องของระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. อยู่รอดในสวนกล้วยไม้ งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้สกุลหวาย โดยทำการทดลอง 3 ช่วงระยะเวลาคือ 0 วัน 7 วัน และ 14 วัน เพื่อดูการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. และศึกษาหาปริมาณที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดในแต่ละช่วง โดยแบ่งเป็น 0, 1,000, 5,000 และ 10,000 ตัว/มล. โดยฉีดพ่นปริมาตรทั้งหมด 50 มล. จนทั่วต้นกล้วยไม้ ผลการทดลองพบว่าปริมาณไส้เดือนฝอยทั้ง 4 ความหนาแน่นพบจำนวนตัวที่อยู่รอดในช่วงระยะเวลา 0 วัน ได้แก่ 0 ตัว/มล. พบ 0±0.00 ตัว, 1,000 ตัว/มล. พบ 4,916±106.07 ตัว, 5,000 ตัว/มล. พบ 10,650±176.78 ตัว และ 10,000 ตัว/มล. พบ 17,416±35.14 ตัว ในช่วงระยะเวลา 7 วัน ได้แก่ 0 ตัว/มล. พบ 0±0.00 ตัว, 1,000 ตัว/มล. พบ 967±47.13 ตัว, 5,000 ตัว/มล. พบ 1,850±82.48 ตัว และ 10,000 ตัว/มล. พบ 3,000±23.58 ตัว คิดเป็นร้อยละ 0.00±0.00, 18.31±0.61, 18.47±0.28 และ 11.29±0.20 ของช่วงระยะเวลา 0 วันตามลำดับ ซึ่งมากกว่าช่วงระยะเวลา 14 วัน ได้แก่ 0 ตัว/มล. พบ 0±0.00 ตัว, 1,000 ตัว/มล. พบ 600±47.23 ตัว, 5,000 ตัว/มล. พบ 767±141.27 ตัว และ 10,000 ตัว/มล. พบ 1,533±282.94 ตัว คิดเป็นร้อยละ 0.00±0.00, 12.20±0.61, 7.20±0.28 และ 8.80±0.20 ของช่วงระยะเวลา 0 วัน ตามลำดับ ความหนาแน่นไส้เดือนฝอยที่มีร้อยละความอยู่รอดมากที่สุดเมื่อเทียบกับช่วงระยะเวลา 0 วัน คือ ที่ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มล. และ ช่วงระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด คือ 7 วัน และ ทำการศึกษาระยะ

การเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอยในแต่ระยะเวลาทุกความเข้มข้น พบว่า ในช่วงระยะเวลา 0 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายมากที่สุด ช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะอื่นมากที่สุด และ ไส้เดือนฝอยที่ตายมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทุกความเข้มข้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และ สูงสุดที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน

คำสำคัญ: การกำจัดหอยทาก, การควบคุมทางชีวภาพ, ศัตรูกล้วยไม้, ศัตรูพืช

Research Title	: The survival period of *Panagrolaimus* sp. nematodes on *Dendrobium* orchids
Student name	: Miss Thanyarat Kubpeng
Advisor	: Dr.Krieng Kanchanawatee.
Department of	: Biology

Abstract

Orchids are monocots of the Orchidaceae family. Orchids are economically important because it is one of the important export products of Thailand. Agricultural losses in orchid farms are caused by pests such as thrips, pests, orchids, cutworms, snails and slugs. To control snail, chemical pesticides are used, but they are toxic to humans and affect the environment. Therefore, biological control is another option that helps prevent and control snail infestations, reducing the damage and impact on the environment and farmer's health. The biological control of plant diseases in this study used the *Panagrolaimus* sp. There are pathogenic nematodes in snails. The use of nematodes lacks information on the survival times of *Panagrolaimus* sp. in orchids. This research aimed to study the survival period of *Panagrolaimus* sp. nematodes on *Dendrobium*. 0 days, 7 day and 14 days after nematode inoculation were selected for measuring the survival of *Panagrolaimus* sp. nematodes. 50 ml of 0, 1,000, 5,000 and 10,000 nematodes/ml suspensions were sprayed all over the orchid plants. The results showed that the survival at 0 day of four nematode concentrations were as followed. At 0, 1,000, 5,000 and 10,000 nematodes/ml concentrations, 0±0.00, 4,916±106.07, 10,650±176.78 and 17,416±35.14 nematodes were found, respectively. The survival at 7 days of four nematode concentrations were as followed. At 0, 1,000, 5,000 and 10,000 nematodes/ml concentrations, 0±00, 967±47.13, 1,850±82.48 and 3,000±23.58 nematodes were found, respectively. When compared with nematode concentrations at 0 day, the percentage of survived nematodes were 0.00±0.00, 18.31±0.61, 18.47±0.28 and 11.29±0.20%, respectively. The survival at 14 days of four nematode concentrations were as followed. At 0, 1,000, 5,000 and 10,000 nematodes/ml concentrations, 0±0.00, 600±47.23, 767±141.27, 1,533±282.94 nematodes were found, respectively. When compared with nematode concentrations at 0 day, the percentage of survived nematodes were 0.00±0.00, 12.20±0.61, 7.20±0.28 and 8.80±0.20%, respectively. The highest percentage of survived nematodes compared to the nematode concentrations at 0 day is 1,000 nematodes/ ml. The highest percentage of survived nematodes compared to the period of nematode at 0 day is 7 days. The study of developmental stage and mortality of nematode showed that the infective larvae were mostly found at 0 day. Other larva stages apart from adults and infective larvae were mostly found at 7 and 14 days. The average mortality rate of nematodes increased in a concentration and time dependent manner and peaked at 14 days.

Keywords: Biological control, snail control, pests, orchid pests

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.เกรียง กาญจนวตี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ให้ความกรุณาในการให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือ ทั้งการฝึกปฏิบัติการในห้องทดลอง การจัดหาต้นกล้วยไม้และไส้เดือนฝอยมาใช้ในการทดลอง ตลอดจนตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล ทำให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร.ฉัตรทิพย์ รอดทัศนา ที่ให้ความรู้และคำแนะนำเกี่ยวกับการใช้สถิติในการคำนวณค่าผลการทดลองต่างๆให้เหมาะสม เพื่อวิเคราะห์ผลการทดลองได้อย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณนาวสาวรัตน์สุดา เสนาดี ที่ช่วยสอน สอนเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการทดลอง ให้ความรู้และสอนการใช้อุปกรณ์ต่างๆในห้องปฏิบัติการ รวมไปถึงคำแนะนำในการแก้ไขปัญหาเฉพาะหน้าในห้องฏิบัติการ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงชัย หาญยุทธนากร, ศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า, อาจารย์ ดร.มารุต เฟื่องอาวรณ์ และอาจารย์ ดร.เกรียง กาญจนวตี อาจารย์ผู้ประสานงานรายวิชาโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาคการศึกษาตอนปลาย ปีการศึกษา 2563 ที่ให้คำแนะนำในองค์ประกอบของเอกสารที่เกี่ยวข้องกับโครงการ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาชีววิทยา และ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนสำหรับการทำโครงการในครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก

ABSTRACT ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญภาพ ..... ซ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ 1

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ 2

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม 3

2.1. หอยทากในสวนกล้วยไม้ 3

2.2. ชีววิทยาของไส้เดือนฝอย 3

2.2.1. ชนิดไส้เดือนฝอยที่ใช้เป็นควบคุมทางชีวภาพในหอยทาก 5

2.2.2. การแพร่กระจายของไส้เดือนฝอยในทากและหอยทาก 6

2.3. การใช้ไส้เดือนฝอยในระดับภาคสนาม 7

2.3.1. การใช้สารเสริมประสิทธิภาพ (adjuvants) ในการฉีดไส้เดือนฝอยควบคุมทางชีวภาพ 7

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน 10

3.1. การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. สายพันธุ์ 16B3 ในห้องปฏิบัติการ 10

3.2. การเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp.ในห้องปฏิบัติการ 10

3.2.1. การเตรียมอาหารเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย 10

3.2.2. การเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย 10

3.3. การทดสอบไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย 11

3.4. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ 12

บทที่ 4 ผลการศึกษา 13

4.1. ผลการทดลองการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา 13

4.1.1. จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา 13

4.1.2. ค่าเฉลี่ยของไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด 14

4.1.3. เปอร์เซ็นต์ไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับ 0 วัน (%recovery) 16
4.1.4. การกระจายตัวของไส้เดือนฝอย 18
4.2. ระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือยฝอยที่พบที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา 19
4.2.1. จำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ละระยะการเจริญเติบโตและไส้เดือนฝอยที่ตายที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา 19
4.2.2. ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ระยะการเจริญเติบโตและไส้เดือนฝอยที่ตาย 21
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา 24
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 26
6.1. สรุปผลการศึกษา 26
6.2. ข้อเสนอแนะ 27
6.3. การใช้ประโยชน์ 27
เอกสารอ้างอิง 28
ภาษาไทย 28
ภาษาอังกฤษ 28
ภาคผนวกที่ 1 กล้วยไม้สกุล *Dendrobium* 31
ภาคผนวกที่ 2 ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. สายพันธุ์ 16B3 32
ภาคผนวกที่ 3 วางแผนการฉีดไส้เดือนฝอย 33
ภาคผนวกที่ 4 Histogram การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร 33
ภาคผนวกที่ 5 Histogram การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร 34
ภาคผนวกที่ 6 Histogram การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร 34
ภาคผนวกที่ 7 ความแตกต่างระหว่างชุดข้อมูล โดยใช้ Kruskal Wallis test 35
ภาคผนวกที่ 15 ความแตกต่างระหว่างช่วงระยะเวลาที่อยู่รอดของไส้เดือนฝอยโดยใช้ Kruskal Wallis test 37
ภาคผนวกที่ 16 R^2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร 38
ภาคผนวกที่ 17 R^2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร 38
ภาคผนวกที่ 18 R^2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร 38

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4-1 จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดจากการนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา จำนวน 2 ซ้ำการทดลอง..... 13
ตารางที่ 4-2 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดจากการนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา 14
ตารางที่ 4-3 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดทุกความเข้มข้นในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับช่วงระยะเวลา 0 วัน..... 17
ตารางที่ 4-5 การทดสอบทางสถิติ MANN WIHTNEY U TEST ระหว่างความเข้มข้นต่างๆ โดยแสดงค่า *P*-VALUE 19
ตารางที่ 4-7 จำนวนไส้เดือนฝอยแต่ละระยะการเจริญเติบโตและไส้เดือนฝอยที่ตายจากการนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา จำนวน 2 ซ้ำการทดลอง..... 20
ตารางที่ 4-8 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ละระยะการเจริญเติบโตที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา 21

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2-1 วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย EGG (ระยะไข่), J1 (ตัวอ่อนระยะที่ 1), J2 (ตัวอ่อนระยะที่ 2), J3 (ตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่สามารถปรับสภาพตัวเองเป็นระยะ IJ), IJ (ระยะที่สามารถเข้าทำลายและเคลื่อนที่ออกจาก HOST) J4 (ตัวอ่อนระยะสุดท้าย) และ ADULTS (ระยะตัวเต็มวัย เพศผู้ และ เพศเมีย).....4

ภาพที่ 2-2 ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) ที่เพาะเลี้ยงจากอาหารเทียม (HTTPS://WWW.DOA.GO.TH/SHARE/ATTACHMENT.PHP?AID=1191).....5

ภาพที่ 4-1 จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด โดยนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ที่ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร 1,000 ตัว/มิลลิลิตร 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ที่เวลา 0 วัน 7 วัน และ 14 วัน การทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง ERROR BAR แสดง ค่า STANDARD ERROR (SE)..... 15

ภาพที่ 4-2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร 15

ภาพที่ 4-3 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร 16

ภาพที่ 4-4 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร 16

ภาพที่ 4-5 %RECOVERY ไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วันเทียบกับช่วงระยะเวลา 0 วัน การทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง ERROR BAR แสดง ค่า ค่า STANDARD ERROR (SE) 18

ภาพที่ 4-6 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในระยะการเจริญเติบโตต่างๆและไส้เดือนฝอยที่ตาย ในช่วงระยะเวลา 0 วัน..... 22

ภาพที่ 4-7 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในระยะการเจริญเติบโตต่างๆและไส้เดือนฝอยที่ตาย ในช่วงระยะเวลา 7 วัน..... 23

ภาพที่ 4-8 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในระยะการเจริญเติบโตต่างๆและไส้เดือนฝอยที่ตาย ในช่วงระยะเวลา 14 วัน..... 23

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในวงศ์ Orchidaceae มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เพราะสามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศและประกอบเป็นอาชีพหลักได้ ในประเทศไทยกล้วยไม้เป็นหนึ่งในสินค้าส่งออกที่สำคัญ พันธุ์กล้วยไม้ที่ส่งออกหลัก ได้แก่ สกุลหวายสกุลอะแรนด้า สกุลอะแรคนิส สกุลออนซิเดียม และสกุลแวนด้าแหล่งผลิตกล้วยไม้ในประเทศไทยที่มากสุด 5 อันดับแรกได้แก่ จังหวัดนครปฐม จังหวัดสมุทรสาครจังหวัดราชบุรี จังหวัดนนทบุรีและกรุงเทพมหานครฯ โดยผลผลิตกล้วยไม้ในไทยเป็นผลผลิตเพื่อส่งออก 50% และผลิตเพื่อใช้ในประเทศ 50% ปัจจุบันมีผู้ส่งออกกล้วยไม้ไทยประมาณ 200 รายและเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ประมาณ 2,000 ราย จะเห็นได้ว่ากล้วยไม้สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรกว่า 3,000 รายทั่วประเทศ ซึ่งการส่งออกกล้วยไม้ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึง เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562 มูลค่าการส่งออกรวมถึง 2.6 พันล้านบาท ในปี พ.ศ. 2562 (สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม, 2562)

ปัญหาที่พบในสวนกล้วยไม้ที่พบส่วนใหญ่เกิดจากแมลงศัตรูพืช เช่น เพลี้ยไฟ บั่วกล้วยไม้ หนอนกระทู้หอม หอยทากสาลิกา และหอยซัคซีเนีย โดยศัตรูพืชเหล่านี้จะเข้าทำลายส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ทำให้กล้วยไม้เกิดความเสียหาย ซึ่งหนึ่งในศัตรูพืชที่เป็นต้นเหตุให้เกิดความเสียหายในกล้วยไม้คือหอยทาก เนื่องจากหอยทากสามารถทำลายทุกส่วนของกล้วยไม้ได้อย่างรวดเร็ว ตั้งแต่ ราก ลำต้น ใบ และ ดอก (Rockefeller, 2015) นอกจากนี้หอยทากยังเป็นพาหะในการนำจุลชีพก่อโรคเข้าสู่กล้วยไม้เช่นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด (Singh et al., 1996)

วิธีการกำจัดหอยทากสามารถทำได้โดยการใช้สารเคมีในการควบคุม แต่ปัญหาของสารเคมีเหล่านี้ คือ มีความเป็นพิษต่อคนและยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การได้รับสารเคมีโดยตรงผ่านทางผิวหนังและการหายใจ จะทำให้เกิดปัญหาสุขภาพต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง และ โรคปอด เป็นต้น (กรมควบคุมโรค, 2557) ดังนั้นการพึ่งพาเกษตรอินทรีย์โดยการควบคุมทางชีววิธีแทนการใช้สารเคมีในการควบคุมหอยทาก เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ช่วยป้องกันและควบคุมการระบาดของหอยทากศัตรูพืชทำให้ลดความเสียหายและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของเกษตรกร นอกจากนี้ยังสามารถลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตในสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรได้อีกด้วย

การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพคือการใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายต่อพืชโดยไส้เดือนฝอยที่ใช้ก่อโรคในหอยทากมีคุณสมบัติ คือ สามารถป้องกันและควบคุมการระบาดของหอยทากศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของเกษตรกร และยังลดค่าใช้จ่ายของเกษตรกรจากการใช้ตัวควบคุมทางชีวภาพแทนการใช้

สารเคมีที่มีราคาสูงการใช้ไส้เดือนฝอยเป็นวิธีการทางชีวภาพที่สามารถควบคุมหอยทากได้อย่างมีประสิทธิภาพดังเห็นได้จากการใช้ไส้เดือนฝอย *Phasmarhabditis hermaphrodita* ในทางการค้าเพื่อกำจัดทากเปลือยและหอยทากได้ (Genena et al.,2011) นอกจากนี้ยังพบว่าไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. และ *Cephalous cubensis* ในออสเตรเลียสามารถควบคุมหอยทาก *Cernuella virgata, Theba pisana, Cochlicella acuta* และ *Cochlicella Barbara* ได้ (Charwatand Davies, 1999)

ไส้เดือนฝอยที่ใช้ในโครงการวิจัยนี้คือ *Panagrolaimus* sp. ที่คัดเลือกได้จากสวนกล้วยไม้ไทย แต่การนำไส้เดือนฝอยไปใช้จริงยังขาดข้อมูลในเรื่องของระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. อยู่รอดในสวนกล้วยไม้ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้สกุลหวาย และศึกษาหาปริมาณที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดในแต่ละช่วงระยะเวลา ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ทำสวนกล้วยไม้และทราบข้อมูลระยะเวลาในการกำจัดหอยทากเพื่อนำไปเปรียบเทียบความคุ้มค่ากับวิธีการใช้สัตว์ควบคุมชนิดอื่น และยังเป็นประโยชน์ต่อการตัดสินใจในการเลือกใช้ชีววิธีควบคุมศัตรูพืชได้ต่อไป

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- หาระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนต้นกล้วยไม้สกุล *Dendrobium*
- หาปริมาณของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ที่อยู่บนต้นกล้วยไม้ได้มากที่สุด

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

2.1. หอยทากในสวนกล้วยไม้

ผลกระทบของหอยทากในสวนกล้วยไม้ จาก สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ปี พ.ศ. 2558 พบว่าส่วนใหญ่มีความชื้นสูง มักพบหอยทากบก (Land snail) เข้าทำลายตา, หน่อ, ดอก และใบของกล้วยไม้ แม้ว่าความเสียหายจะไม่มากนัก แต่ถ้าหากไม่มีการจัดการกับประชากรหอยทากความเสียหายจะเพิ่มสูงขึ้น จนก่อให้เกิดความสูญเสียมากขึ้น นอกจากนี้หอยยังปล่อยเมือกไว้เป็นแนวตามทางที่เดิน อาจเป็นสาเหตุให้เกิดเชื้อราต่อต้นกล้วยไม้ได้ เนื่องจากหอยทากสามารถเป็นพาหะในการนำจุลชีพก่อโรคเข้าสู่กล้วยไม้เช่นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด (Singh et al., 1996) โดยแบ่งหอยทากที่เป็นศัตรูกล้วยไม้เป็น 2 ขนาด

1.ขนาดใหญ่ ได้แก่ หอยสาริกา (*Sarika spp.* : Helicarionidae), หอยดักดาน (*Cryptozona simensis* : Helicarionidae), และ หอยทากยักษ์อาฟริกา (*Achinita fulica* : Achitinidae)

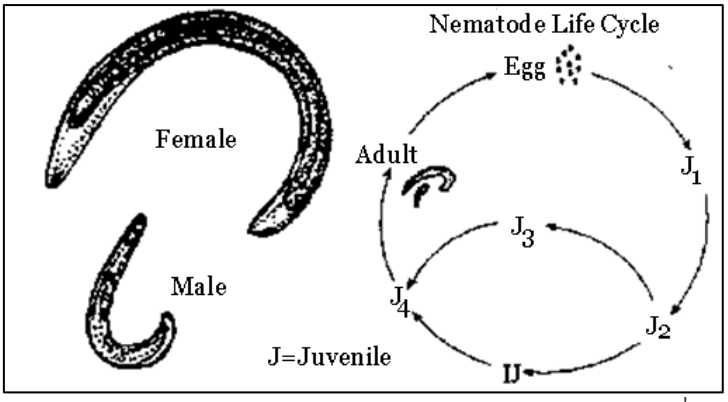
2.ขนาดเล็ก ได้แก่ หอยทากซัคซิเนีย (*Amber snail*, *Succinea spp.* : Succineidae), หอยเจดีย์ใหญ่ (*Prosopeas walkeri* : Subulinidae), หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis gracilis* : Subulinidae) และ หอยเลขหนึ่ง (*Ovachlamys fulgens* : Helicarionidae) ซึ่งหอยทากขนาดเล็กมีการระบาดมากในสวนกล้วยไม้

2.2. ชีววิทยาของไส้เดือนฝอย

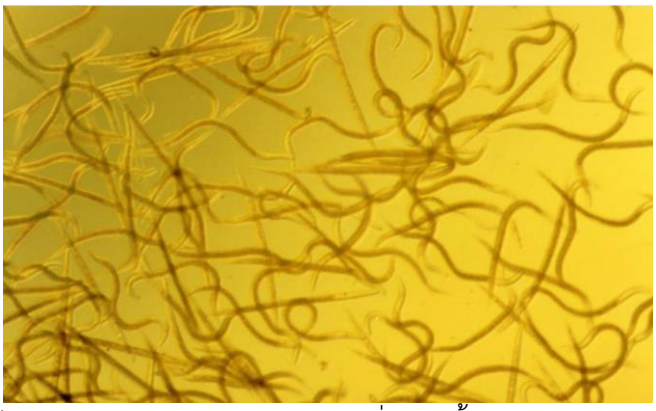
ไส้เดือนฝอย (Nematode) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่มีกระดูกสันหลัง มีช่องลำตัวเทียม ลำตัวไม่เป็นข้อปล้อง มีผนังชั้นนอก มีระบบต่างๆ ภายในลำตัวประกอบด้วย ระบบขับถ่ายทางผิวหนัง , ระบบประสาท, ระบบทางเดินอาหาร, ระบบสืบพันธุ์ และ ระบบกล้ามเนื้อ ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลมยาว คล้ายเส้นด้าย หรือมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก บางชนิดมีลักษณะหัวแหลมท้ายแหลม สามารถแบ่งแยกเป็นกลุ่มตามลักษณะของการดำรงชีวิตและการกินอาหารออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ไส้เดือนฝอยที่พบในน้ำเค็ม (marine nematode), ไส้เดือนฝอยที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระในดินและน้ำ (free-living nematode), ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืช (plant parasitic nematode) และ ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูในคนและสัตว์ (animal parasitic nematode) ซึ่งในกลุ่มที่เป็นศัตรูในคนและสัตว์นี้แบ่งแยกย่อยเป็นไส้เดือนฝอยที่มความสัมพันธ์กับแมลง พบมากกว่า 40 วงศ์ เป็นปรสิตภายในตัวแมลง (insect parasitic nematode) และมีไส้เดือนฝอยเพียง 2 วงศ์ที่ทำให้เกิดโรคในแมลง

(entomopathogenic nematode) คือ family Steinernematidae และ Heterorhabditidae (นุชนารถ, 2544)

วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย ประกอบด้วย 1. ระยะไข่ 2. ระยะตัวอ่อน 4 ระยะย่อย ได้แก่ J1 (ตัวอ่อนระยะที่ 1), J2 (ตัวอ่อนระยะที่ 2), J3 (ตัวอ่อนระยะที่ 3 ซึ่งในสภาวะที่เหมาะสม เช่น จำนวนตัวหนาแน่นมากขึ้นที่เป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนใน host เมื่อ host เหลือแต่ซาก ตัวอ่อนระยะที่ 3 จะปรับสภาพตัวเองเป็นระยะที่เรียกว่า infective juvenile (IJ) ได้ ซึ่งเป็นระยะที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายนอกมากที่สุด โดยสามารถเคลื่อนที่ออกจากซาก host และ มีชีวิตรอดโดยไม่กินอาหารเป็นเวลานานได้เพื่อรอ host ตัวต่อไป) และ J4 (ตัวอ่อนระยะสุดท้าย) 3. Adults (ระยะตัวเต็มวัย แบ่งเป็น เพศผู้ และ เพศเมีย) (นุชนารถ, 2541) (ภาพที่ 2-1) ตัวอย่างไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) เพาะเลี้ยงจากอาหารเทียม (ภาพที่ 2-1)



ภาพที่ 2-1 วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย egg (ระยะไข่), J1 (ตัวอ่อนระยะที่ 1), J2 (ตัวอ่อนระยะที่ 2), J3 (ตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่สามารถปรับสภาพตัวเองเป็นระยะ IJ), IJ (ระยะที่สามารถเข้าทำลายและเคลื่อนที่ออกจาก host) J4 (ตัวอ่อนระยะสุดท้าย) และ adults (ระยะตัวเต็มวัย เพศผู้และ เพศเมีย)
(http://www.ladybug.uconn.edu/FactSheets/beneficial-nematodes.php)



ภาพที่ 2-2 ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) ที่เพาะเลี้ยงจากอาหารเทียม (https://www.doa.go.th/share/attachment.php?aid=1191)

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae ไส้เดือนฝอย steinernematid ถูกค้นพบครั้งแรกในประเทศเยอรมัน ในปี ค.ศ. 1923 โดย Steiner มีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นเวลามากกว่า 80 ปี พบว่า ไส้เดือนฝอยมีแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ Enterobacterioceae สกุล *Xenorhabdus* sp. อยู่ร่วมกันในลักษณะพึ่งพาอาศัย (symbiosis) โดยเซลล์ของแบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ส่วนหน้าของไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile) ไส้เดือนฝอยเป็นตัวพาแบคทีเรียเข้าสู่ตัวแมลง โดยผ่านทางช่องเปิดตามธรรมชาติของแมลง ได้แก่ ทางปาก ช่องขับถ่าย และรูหายใจทางผิวหนัง จากนั้นเข้าสู่ช่องว่างภายในตัวแมลง ซึ่งมีน้ำเลือด (haemolymph) จากนั้นไส้เดือนฝอยจะปล่อยแบคทีเรียสู่กระแสเลือดของแมลง และร่วมกันสร้างสารพิษ ทำให้แมลงเกิดภาวะเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายอย่างรวดเร็วภายใน 48 ชั่วโมง เซลล์ของแบคทีเรียสามารถเพิ่มปริมาณในน้ำเลือดของแมลงและไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโตโดยใช้เซลล์ของแบคทีเรียในการขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นแบบจับคู่ผสมพันธุ์แบบ amphimictic โดยเป็นการจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างเพศผู้กับเพศเมีย ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตอยู่ภายในแมลงที่ตายแล้วประมาณ 2-3 ชั่วรุ่นอายุ (generation) ขึ้นอยู่กับขนาดของแมลง เมื่อแมลงเริ่มแห้งเป็นซาก ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่สาม (third-stage juvenile) จะสะสมอาหารสำรองประเภทไขมัน บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างผิวหนังกับกล้ามเนื้อช่องท้อง และดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้ในช่องของลำไส้ส่วนหน้า และเคลื่อนตัวออกจากซากของ แมลง เพื่อรอแมลงตัวใหม่ต่อไป (Akhurst and Boemare, 1990)

2.2.1. <u>ชนิดไส้เดือนฝอยที่ใช้เป็นควบคุมทางชีวภาพในหอยทาก</u>

การตรวจคัดกรองไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการที่แยกได้จากทางตอนใต้ของออสเตรเลียเพื่อหาศักยภาพในการควบคุมทางชีวภาพของหอยทาก โดย Charwat และ Davies, 1999 เนื่องจากปัญหาศัตรูพืชในพืชไร่และทุ่งหญ้าทางตอนใต้ของออสเตรเลีย ได้แก่ หอยชนิด *Cernuella virgata,*

Theba pisana, Cochlicella acuta และ *Cochlicella barbara* นักวิจัยได้มีการสำรวจไส้เดือนฝอยที่มีศักยภาพในการควบคุมทางชีวภาพของหอยทากเหล่านี้และได้ทำการทดสอบการแยกไส้เดือนฝอยในท้องถิ่นจำนวน 6 ชนิด สำหรับความสามารถในการควบคุมหอยทาก *C. virgata*, *T. pisana* และ *C. acuta* โดยทดสอบทางชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคในหอยทากของ rhabditid isolate R 954 พบว่ามีความสามารถในการก่อโรคได้สูงกับหอยทากทั้งสามชนิด หอยทาก *C. acuta* มีการตายเมื่อเข้าใกล้ R 954 มากที่สุด โดยอัตราการตายจะเพิ่มขึ้นตามความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยและระยะเวลาในการสัมผัสกับไส้เดือนฝอยที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การตายของหอยทากจะสูงขึ้นตามการสัมผัสระหว่างหอยทาก *C. acuta* และ cephalobid isolates สองชนิด คือ *Panagrolaimus* sp. และ *Cephalous cubensis*

2.2.2. <u>การแพร่กระจายของไส้เดือนฝอยในทากและหอยทาก</u>

มีการสำรวจเพื่อค้นหาไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ปรสิต (non-parasitic nematodes) ที่เกี่ยวข้องกับทากและหอยทากเพื่อหาสาเหตุการตายของ gastropods ในหนังสือเรื่อง soil organisms ในหัวข้อ Dispersion of nematodes (Rhabditida) in the guts of slugs and snails (Sudhaus, 2018) ในการตรวจหาตัวอย่างสัตว์ใน gastropods พบว่า 78% ของตัวอย่างสัตว์ใน gastropods 12 ชนิด มีไส้เดือนฝอยอาศัยอยู่ โดยมีการตรวจพบไส้เดือนฝอยทั้งหมด 23 ชนิดที่มีชีวิตและขยายพันธุ์ได้ในกระเพาะอาหาร โดยมี 16 ชนิดที่พบในทาก *Arion rufus* เพียงอย่างเดียว และ gastropods ชนิดอื่นๆจะพบ saprobiontic rhabditids เป็นส่วนใหญ่ โดยมีสายพันธุ์ *Caenorhabditis, Oscheius* และ *Panagrolaimus* พบอย่างสม่ำเสมอ โดยไส้เดือนฝอยเหล่านี้ถูก gastropods กลืนเข้าไปกับอาหารโดยบังเอิญและรอดชีวิตผ่านทางเดินอาหาร ทำให้พวกมันถูกลำเลียงไปยังที่อยู่อาศัยขนาดเล็กที่เหมาะสม เช่น บริเวณที่มีผลไม้เน่าเปื่อย เพื่อดำรงอาศัยอยู่ในตัวของ gastropods นักวิจัยทำการสำรวจไส้เดือนฝอยที่แพร่กระจายในลำไส้ของหอยทาก โดย นำ gastropods จากสถานที่และถิ่นที่อยู่ต่างกันทำความสะอาดภายใต้น้ำไหลเพื่อขจัดไส้เดือนฝอยที่เกาะอยู่กับ gastropods ทำการให้อาหารเป็นผักที่มีสีสีแดง เช่น พริก มะเขือเทศ และ แครอท โดยให้อาหารผ่านลำไส้ของ gastropods เป็นเวลา 14–18 ชั่วโมง เมื่อลำไส้สะอาดแล้วจึงนำไปทดสอบกับไส้เดือนฝอย 8 ชนิด ผลการทดลองพบว่า มีการติดเชื้อของไส้เดือนฝอยทั้ง 8 ชนิด ใน gastropods ซึ่งทั้งหมดสามารถอาศัยอยู่ได้ในลำไส้เป็นเวลา 2-5 วัน ก่อนที่จะถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระ ไส้เดือนฝอยส่วนใหญ่ที่พบมาจากลำไส้ แต่มีไส้เดือนฝอยบางชนิด เช่น *Alloionema* และ *Pellioditis* สามารถพบในเนื้อเยื่อของร่างกายของ gastropods ได้

นอกจากนี้ในงานวิจัยของ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ ในปี พ.ศ. 2550 ในหัวข้อทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยควบคุมหอยทากซัคซีเนีย (*Succinea chrysis*) โดยทำการทดสอบ

ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด ได้แก่ *Steinernema carpocapsae, S. siamkayai, S. glaseri* และ *Heterorhabditis bacteriophora* ทดสอบกับหอยทากซัคซีเนีย และทำการนำหอยที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยมาศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา โดยนำมาตัดเนื้อเยื่อเพื่อทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถเข้าไปในลำตัวหอยทางช่องเปิดได้แก่ ท่อหายใจ ท่อสืบพันธุ์ และอาจถูกหอยกินเข้าไปตามทางเดินอาหาร ซึ่งสนับสนุนด้วยการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยที่พบไส้เดือนฝอยภายในท่อหายใจ เนื้อเยื่ออวัยวะปอด ท่อผลิตอสุจิและท่อนำไข่ของอวัยวะสืบพันธุ์ และยังพบในท่องทางเดินอาหาร ลำไส้เล็ก และ ลำไส้ใหญ่ ซึ่งอวัยวะเหล่านี้ถูกทำลายส่งผลให้หอยตายในที่สุด

2.3. <u>การใช้ไส้เดือนฝอยในระดับภาคสนาม</u>

การศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงและครามต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชในมะเขือเทศ จากงานวิจัยของ อังคณา เทียนกล่ำ, พรกมล สาฆ้อง และ สุรชาติ เทียนกล่ำ ในปี พ.ศ. 2562 ศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงและครามต่อการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในมะเขือเทศ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มมี 6 สิ่งทดลอง ประกอบด้วย สิ่งทดลองที่ 1 ไส้เดือนฝอยอัตรา 10 ล้านตัว/น้ำ 10 ลิตร, สิ่งทดลองที่ 2 กากครามอัตรา 10 กิโลกรัม/แปลง, สิ่งทดลองที่ 3 น้ำหมักครามสีชาอัตรา 100 มิลลิลิตร/น้ำ 10 ลิตร, สิ่งทดลองที่ 4 กากครามอัตรา 10 กิโลกรัม/แปลง และไส้เดือนฝอยอัตรา 10 ล้านตัว/น้ำ 10 มิลลิลิตร, สิ่งทดลองที่ 5 น้ำหมักครามสีชาอัตรา 100 มิลลิลิตร และไส้เดือนฝอยอัตรา 10 ล้านตัว/น้ำ 10 มิลลิลิตร และ สิ่งทดลองที่ 6 น้ำประปา (ตัวควบคุม) นักวิจัยทำการพ่นสารทดลอง 4 ครั้ง บันทึกชนิด และจำนวนแมลงก่อนและหลังการพ่น ในช่วงระยะการเจริญเติบโต, ช่วงการออกดอก, ระยะผลอ่อน, ระยะผลสุก และ การเข้าทำลายผลมะเขือเทศระยะผลอ่อนและผลสุก ณ แปลงปฏิบัติการพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ผลการศึกษาพบว่า การใช้ไส้เดือนฝอยและครามสามารถควบคุมแมลงศัตรู ได้แก่ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว ด้วงหมัดผักได้ ในระยะหลังปลูกลงแปลงถึงระยะติดผลอ่อน โดยพบว่าหลังการพ่นไส้เดือนฝอยร่วมกับน้ำหมักครามสามารถควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ดีที่สุด รองลงมาคือการใช้ไส้เดือนฝอยร่วมกับกากคราม, ไส้เดือนฝอย และ น้ำประปา ตามลำดับ

2.3.1. <u>การใช้สารเสริมประสิทธิภาพ (adjuvants) ในการฉีดไส้เดือนฝอยควบคุมทางชีวภาพ</u>

สารเสริมเสริมประสิทธิภาพ (adjuvants) คือสารที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ หมายถึง สารที่ทำให้ประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการเกษตรมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ซึ่งคุณสมบัติโดยทั่วไปของสาร adjuvants จะไม่ทำให้คุณสมบัติทางเคมีของเคมีเกษตรเปลี่ยนแปลงไป แต่จะปรับปรุงสภาพทางกายภาพของสารแล้วทำให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น เช่น ช่วยในการละลายตัว หรือการรวมตัวเข้ากับน้ำ

ทำให้สารผสมมีการแผ่กระจายกว้างเกาะติดกับพื้นที่เป้าหมาย ทำให้เกาะติดผิวสัมผัสเป้าหมายดีขึ้น โดย ลดแรงตึงผิวระหว่างอนุภาคของสารกับผิวสัมผัส ทำให้มีความคงทนต่อสภาพภาพแวดล้อม สามารถแบ่งกลุ่มของสารเพิ่มประสิทธิภาพออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 1. surface active agents เป็นสารที่มีผลต่อผิวสัมผัสระหว่างหยดของสารและผิวใบ ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้เป็น 1.1 สารเปียกใบ (wetting agents) เป็นสารที่ช่วยลดแรงตึงผิวของสารละลายจึงมีผลทำให้หยดของสารแผ่กระจายแบนราบไปกับผิวใบ เพิ่มโอกาสที่สารจะถูกดูดซึมเข้าไปภายในใบมากขึ้น 1.2 สารจับใบ (sticking agents) เป็นสารที่ทำหน้าที่คล้ายกาว เมื่อผสมลงไปในสารละลายพ่นให้พืช จะทำให้หยดของสารเกาะติดแน่นอยู่บนพืช จึงป้องกันการชะล้างเนื่องจากน้ำฝนได้พอสมควร และทำให้หยดสารแผ่กระจายแนบติดบนผิวใบ ทำให้การดูดสารดีขึ้น 1.3 ผงซักฟอก (detergents) เป็นสารที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิวของสารละลาย เช่นเดียวกับสารเปียกใบ และยังมีคุณสมบัติในการละลายหรือทำลายไขมันได้ดี ดังนั้นเมื่อผงซักฟอกผสมในสารละลายพ่นให้พืช จะทำให้หยดสารแผ่แบนราบบนใบและยังทำลายไข (wax) บนใบได้ ทำให้สารผ่านเข้าทางใบได้ง่ายขึ้น 2. emulsifying agents เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการละลายได้ดีทั้งในน้ำและน้ำมัน จึงใช้เป็นตัวกลางในการผสมน้ำกับน้ำมันให้รวมเป็นเนื้อเดียวกันโดยไม่แยกชั้นของสารละลาย เมื่อนำมาผสมกับน้ำ จะได้สารผสมเรียกว่าอีมัลชัน (emulsion) ซึ่งเกิดจากหยดน้ำมันขนาดเล็กมากแตกตัวกระจายแทรกอยู่ในน้ำ โดยมี emulsifiers เป็นตัวกลาง ซึ่งพยุงหยดน้ำมันเหล่านี้ให้แขวนลอยอยู่ได้ในน้ำ และในหยดน้ำมันเหล่านี้จะมีเนื้อสารออกฤทธิ์ผสมอยู่ ดังนั้นเมื่อพ่นสารผสมดังกล่าวบนใบพืช จะมีผลทำให้หยดน้ำมันกระจายอย่างสม่ำเสมอบนใบพืชและค่อยๆ ปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ เข้าสู่ใบพืช ใบพืชมีไขมันเคลือบอยู่ซึ่งสามารถเข้ากันได้ดีกับหยดน้ำมัน ดังนั้นจึงทำให้สารออกฤทธิ์ซึมผ่านเข้าไปในเนื้อใบได้ดี และ 3. dispersing agents เป็นสารที่มีคุณสมบัติผลักดันอนุภาคของแข็งชนิดเดียวกัน ให้แยกออกจากกัน ดังนั้นจึงใช้ผสมในสารเคมีเกษตรที่อยู่ในรูปผงเปียกน้ำ (wettable powder) หรือสารแขวนลอยเข้มข้น (suspension concentrate) เมื่อนำสารเคมีเกษตรเหล่านี้มาผสมน้ำจะได้สารผสมซึ่งมีลักษณะข่นคล้ายแป้งผสมน้ำแต่ไม่ตกตะกอน เนื่องจากมีสารพวก dispersants ผสมอยู่ซึ่งจะผลักดันไม่ให้อนุภาคของแข็งซึ่งผสมสารออกฤทธิ์ เข้ามารวมกันเป็นอนุภาคใหญ่ จึงทำให้อนุภาคเล็กๆ เหล่านี้แขวนลอยอยู่ได้นานโดยไม่ตกตะกอน (พีรเดช ทองอำไพ, 2014)

ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้สารเสริมประสิทธิภาพกลุ่มที่ 1 แล้วสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการฉีดไส้เดือนฝอยควบคุมทางชีวภาพ เช่น จากงานวิจัยของ Scott Portman, Sindhu Krishnankutty และ Gadi Reddy ในปี ค.ศ. 2016 ในหัวข้อ การใช้ Entomopathogenic nematodes (EPNs) ที่ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ (adjuvants) ในการควบคุมทางชีวภาพแบบใหม่สำหรับการจัดการ Wheat Stem Sawfly (WSS) คือ *Cephus cinctus* เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์ในทางตอนเหนือของ Great Plains การนำ EPNs มาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชเหนือพื้นดินอื่นๆ พบว่า

การเพิ่มสารเสริมฤทธิ์ร่วมกับ EPNs ในการฉีดพ่นเพื่อควบคุมทางชีวภาพนั้นสามารถปรับปรุงประสิทธิภาพให้ดีขึ้นได้ นักวิจัยได้ทดสอบสมมติฐานการเพิ่มสารเคมีเสริมฤทธิ์ร่วมกับ EPNs จะเพิ่มความสามารถของ EPNs ในการเข้าสู่ WSS และฆ่าตัวอ่อน WSS โดยงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในการทดสอบความสามารถของ EPNs ในการเข้าทำลาย *C. cinctus* และ การทดสอบ EPNs ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ในการคบวคุม *C. cinctus* ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม การทดสอบการติดเชื้อแสดงให้เห็นว่า EPNs 3 สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ทำให้ตัวอ่อนของ WSS มีการตาย 60–100% ต่อมานักวิจัยทำการการเพิ่มสาร Penterra, Silwet L-77, Sunspray 11N หรือ Syl-Tac ลงในสารละลายที่มี EPNs ส่งผลให้ WSS ตายได้สูงกว่าสารละลายที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว การทดสอบภาคสนามพบว่าสารละลายที่มี *S. feltiae* เติมเข้าไปใน 0.1% Penterra เพิ่มอัตราการตายของ WSS ได้ถึง 29.1% ผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการควบคุมแบบใหม่สำหรับ WSS และแสดงถึงความก้าวหน้าที่สำคัญในการควบคุมทางชีวภาพของแมลงศัตรูพืชให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1. การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. สายพันธุ์ 16B3 ในห้องปฏิบัติการ

การเลี้ยงไส้เดือนฝอยทำโดยใช้อาหาร Nigon's medium อาหารชนิดนี้สามารถเลี้ยงไส้เดือนฝอยให้เติบโตและผสมพันธุ์ได้ (Nigon, 1943) วิธีการเตรียม Nigon's medium ผสม $MgSO_4$ 0.2 กรัม, K_2HPO_4 2 กรัม, NaCl 0.7 กรัม, KNO_3 0.75 กรัม, ผงวุ้น 7.5 กรัม และ Peptone 0.6 กรัม ลงในน้ำ 500 มิลลิลิตร เมื่อเตรียมอาหารเสร็จแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม lecithin 12.5 มิลลิลิตร (lecithin 2 กรัม ที่ละลายใน 100% เอทานอล) เสร็จแล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ นำไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. สายพันธุ์ 16B3 ลงในอาหาร แล้วจึงปิดฝาด้วยแผ่นพาราฟิล์ม บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

3.2. การเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp.ในห้องปฏิบัติการ

3.2.1. <u>การเตรียมอาหารเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย</u>

เตรียมอาหารเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วย Dog food medium ขั้นตอนแรกเตรียมอาหารสุนัข 50 กรัม, nutrient broth 8 กรัม, ผงวุ้น 6 กรัม และ น้ำมันหมู 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 500 ml ผสมให้เข้ากันนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (Wilson et al., 1995) เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ เมื่ออาหารแข็งตัวแล้วนำไปเก็บในตู้เย็นก่อนใช้ในการทดลอง

3.2.2. <u>การเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย</u>

นำจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 x 150 มิลลิเมตร ที่ภายในบรรจุน้ำปลอดเชื้อ 30 มิลลิลิตร วางจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Dog food medium ที่เตรียมในหัวข้อ 3.2.1 ไว้ตรงกลาง นำไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงบนอาหาร Nigon's medium ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปวางเพาะเลี้ยงในจาน

อาหาร Dog food medium จากนั้นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) เพิ่มจำนวนจนเคลื่อนที่ออกมาลงในน้ำที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร โดยเก็บไส้เดือนฝอยจากน้ำปลอดเชื้อที่ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร ที่มีไส้เดือยฝอยเคลื่อนที่ลงมา ทุก 7 วัน

3.3. การทดสอบไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย

ในการทดลองครั้งนี้จะใช้กล้วยไม้สกุลหวายจำนวน 12 กระถาง สำหรับการทดลอง ขนาดกระถางเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.3 นิ้ว โดยใช้เป็นชุดควบคุม 3 กระถาง โดยฉีด 0.3 g/L Tween80 และ 0.3 g/L Xanthangum ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กระถางที่เหลือใช้ทดสอบโดยฉีดไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ลงในกระถางกล้วยไม้ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร, 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 1,000 ตัว/มิลลิลิตร ใน 0.3 g/L Tween80 และ 0.3 g/L Xanthangum ปริมาตร 50 มิลลิตร ความเข้มข้นละ 3 กระถาง โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

เตรียมไส้เดือนฝอยสำหรับการทดลอง โดยนำน้ำที่มีไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนในจานอาหาร Dog food medium มานับเพื่อปรับคววามเข้มข้นเป็น 0 ตัว/มิลลิลิตร, 1,000 ตัว/มิลลิลิตร, 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยทำการกรองไส้เดือนฝอยจากน้ำที่มีไส้เดือนฝอยที่เก็บจากการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนในหัวข้อ 3.2.2. แล้วทำการเจือจางด้วยน้ำที่กรองด้วยวิธี Reverse odmosis (roH_2O) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นับจำนวนไส้เดือนฝอยโดยปิเปตน้ำที่มีไส้เดือนฝอย 10 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปนับใต้กล้องสเตอริโอ ทำการนับซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยใน 10 ไมโครลิตร แล้วจึงเทียบบัญญัติไตรยางค์เพื่อหาปริมาตร roH2O ที่ต้องเติมเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ได้แก่ 0 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (0 ตัว), 1,000 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (50,000 ตัว), 5,000 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (250,000 ตัว) และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (500,000 ตัว)

ในการฉีดไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้ วิธีการฉีดไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. จะฉีดตามความเข้มข้นที่แบ่งไว้ลงในกระถางกล้วยไม้ที่เตรียมไว้ข้างข้น จากนั้นแบ่งการบันทึกผลการทดลองเป็น 3 ช่วง คือ 0 วัน 7 วัน และ 14 วัน ทำการทดลองซ้ำจำนวน 2 ซ้ำ ในการตรวจนับไส้เดือนที่อยู่บนต้นกล้วยไม้ เครื่องปลูก และ กระถาง ใช้ 0.3 g/L Tween80 ปริมาตร 2 ลิตร ในการล้างส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ ตั้งแต่ ราก ใบ ลำต้น และ ดอก แบ่งเป็น 1 ลิตร ล้างรอบแรก และอีก 1 ลิตร ทำการชะล้างอีกครั้งเพื่อให้ได้ปริมาณไส้เดือนฝอยออกมามากที่สุด และทำการนับไส้เดือนฝอยโดยจะแบ่งจากน้ำที่ล้างไส้เดือนฝอยมา 20 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อแล้วปิดฝานำไปส่องใต้กล้องสเตอริโอกำลังขยาย 40 เท่า เพื่อนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด ทำการนับ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ยไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในน้ำ 20 มิลลิลิตร เทียบบัญญัติไตรยางค์จำนวนตัวที่นับได้ในน้ำ 20 มิลลิลิตร เทียบกับ น้ำ 2 ลิตร จะได้จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในแต่ละต้น แล้วบันทึกผล

3.4. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) และในทุกการทดลองจะทำการตรวจสอบ 2 ซ้ำต่อหนึ่งชุดการทดลอง หาค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในแต่ละความเข้มข้นในช่วงระยะเวลาต่างๆ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในแต่ละความเข้มข้นในช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน เทียบกับช่วงระยะเวลา 0 วัน จากสมการ

% recovery = (ไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด)/ไส้เดือนฝอยที่ฉีดไปทั้งหมด x 100

โดยค่า standard error (SE) คำนวณจากสูตร

$$\text{SE (diff\%)} = \sqrt{\left(\frac{px(100-p)}{n1} + \frac{px(100-p)}{n2}\right)}$$

จากนั้นนำข้อมูลไปหากระจายตัว โดยวิธีการทดสอบด้วยสถิติ Shapiro-Wilk test เพราะข้อมูลมีน้อยกว่า 50 case แล้วนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยถ้าข้อมูลมีการกระจายตัวเป็นแบบปกติจะใช้สถิติแบบ Parametric Statistics โดยใช้ One-Way ANOVA แต่ถ้ามีการกระจายตัวแบบไม่ปกติจะใช้สถิติแบบ Non-Parametric Statistics โดยใช้ Kruskal Wallis test และ Mann Wihtney U test เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดข้อมูล

บทที่ 4
ผลการศึกษา

ผลการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 หัวข้อหลัก ดังนี้

ส่วนที่ 4.1 ผลการทดลองการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา โดยกล่าวถึงจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา, ค่าเฉลี่ยของไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด, เปอร์เซ็นต์ไส้เดือนฝอยที่เก็บในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับ 0 วัน และ ข้อมูลเชิงสถิติ

ส่วนที่ 4.2 ระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือยฝอยที่พบที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา โดยกล่าวถึง จำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ระยะการเจริญเติบโตทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา, ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ระยะการเจริญเติบโต, จำนวนไส้เดือนฝอยที่ตาย และค่าเฉลี่ยไส้เดือนฝอยที่ตาย

4.1.ผลการทดลองการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา

4.1.1. <u>จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา</u>

ในช่วงระยะเวลา 0 วัน พบจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดมากที่สุด ในทุกความเข้มข้น เนื่องจากเป็นการนับไส้เดือนฝอยทันทีหลังจากฉีดพ่น จากนั้นจะลดลงอย่างมากในวันที่ 7 และ 14 โดยจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดมากที่สุดในช่วงระยะเวลา 0 วัน เมื่อพิจารณาแต่ละความเข้มข้น คือ 17,416±35.14 ตัว ที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร รองลงมาคือ 10,650±176.78 ตัว ที่ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร, 4,916±106.07 ตัว ที่ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 0±0.00 ตัว ที่ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร ไม่พบไส้เดือนฝอย แสดงว่าไม่มีไส้เดือนฝอยตามธรรมชาติที่ติดมากับกระถางกล้วยไม้ทุกต้นก่อนทำการทดลอง (ตารางที่ 4-2 และ ภาพที่ 4-1)

ตารางที่ 4-1 จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดจากการนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา จำนวน 2 ซ้ำการทดลอง

ช่วงระยะเวลา (วัน)	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัว)

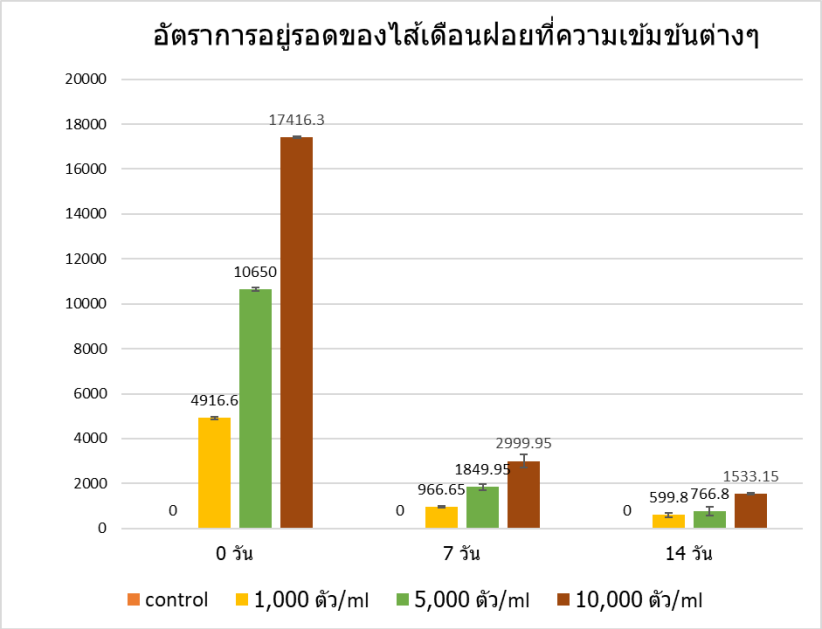
		ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร (0 ตัว)	ความเข้มข้น 1,000 ตัว/ มิลลิลิตร (50,000 ตัว)	ความเข้มข้น 5,000 ตัว/ มิลลิลิตร (250,000 ตัว)	ความเข้มข้น 10,000 ตัว/ มิลลิลิตร (500,000 ตัว)
ซ้ำที่ 1	**0**	0	5,067	10,900	17,466
	7	0	900	1,967	2,967
	14	0	533	567	1,133
ซ้ำที่ 2	**0**	0	4,767	10,400	17,367
	7	0	1,033	1,733	3,033
	14	0	667	967	1,933

4.1.2. <u>ค่าเฉลี่ยของไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด</u>

จากการนับไส้เดือนฝอยทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา จำนวน 2 ซ้ำการทดลอง หาค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อน (ผลต่างระหว่างค่าที่นับได้กับค่าที่แท้จริง) ได้ดังนี้

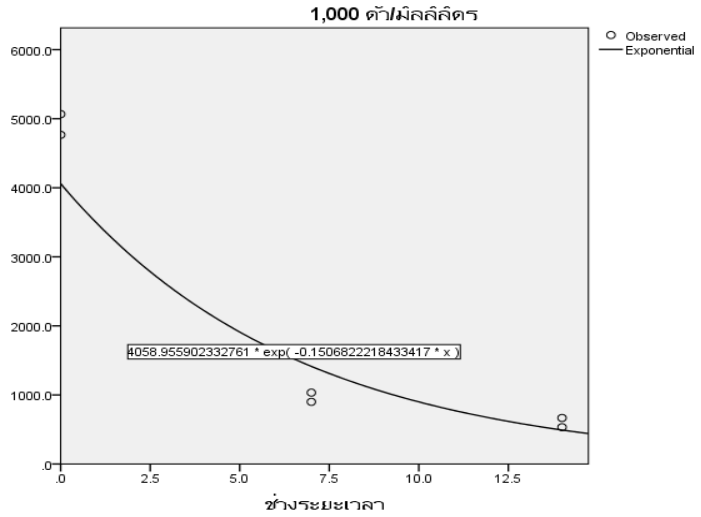
ตารางที่ 4-2 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดจากการนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา

ช่วงระยะเวลา (วัน)	**ความเข้มข้นไส้เดือนฝอย (ตัว)**			
	ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร (0 ตัว)	**ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร (50,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 5,000 ตัว/ มิลลิลิตร (250,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 10,000 ตัว/ มิลลิลิตร (500,000 ตัว)**
0	0±0.00	4,916±106.07	10,650±176.78	17,416±35.14
7	0±0.00	967±47.13	1,850±82.48	3,000±23.58
14	0±0.00	600±47.23	767±141.28	1,533±282.94

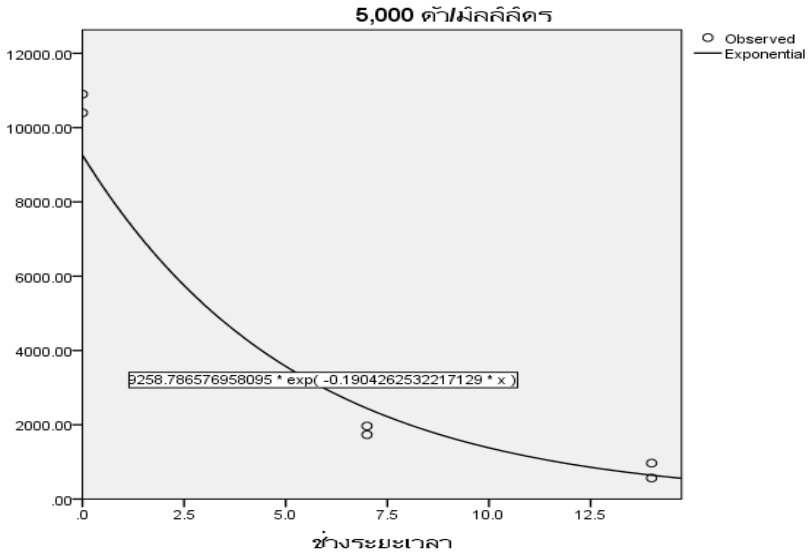


ภาพที่ 4-1 จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด โดยนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ที่ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร 1,000 ตัว/มิลลิลิตร 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ที่เวลา 0 วัน 7 วัน และ 14 วัน การทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง error bar แสดง ค่า standard error (SE)

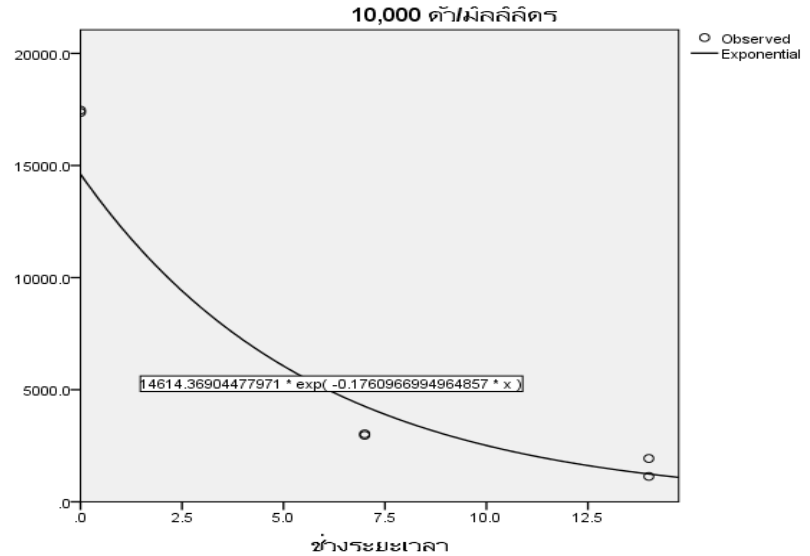
เมื่อทำการหาสมการอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยในทุกความเข้มข้นเมื่อช่วงระยะเวลาเพิ่มขึ้น พบว่า มีสมการเป็นแบบ exponential โดยมีสมการอัตราการอยู่รอดดังนี้ ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร $y = 4058e^{-0.151x}$, $R^2 = 0.904$ (ภาพที่ 4-2), ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร $y = 9258e^{-0.190x}$, $R^2 = 0.949$ (ภาพที่ 4-3) และ ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร $y = 50114e^{-0.548x}$, $R^2 = 0.922$ (ภาพที่ 4-4)



ภาพที่ 4-2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4-3 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร



ภาพที่ 4-4 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

4.1.3. <u>เปอร์เซ็นต์ไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับ 0 วัน (%recovery)</u>

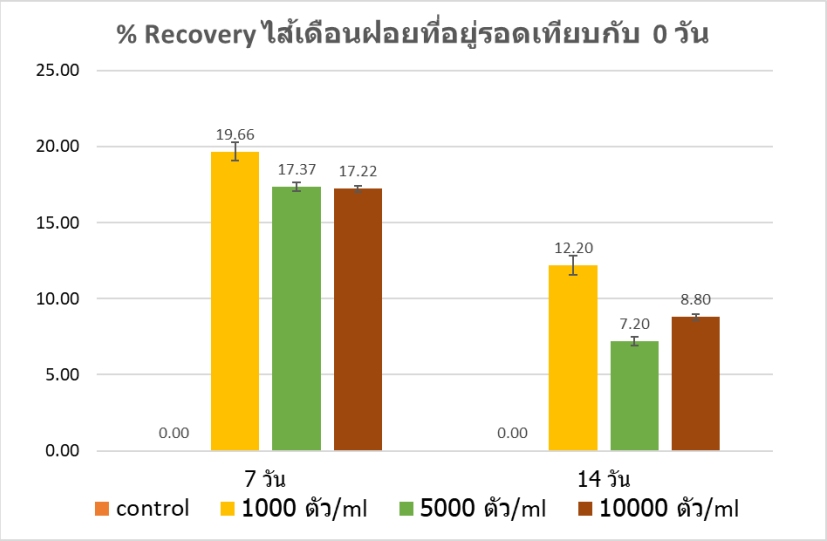
ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยที่นับได้ สามารถคิดเป็น %recovery เนื่องจากการนับไส้เดือนฝอยทันทีหลังจากการฉีดพ่น (ช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน) ได้จำนวนไส้เดือนฝอยแตกต่างจากที่ฉีดไปมาก เนื่องจากไม่สามารถล้างไส้เดือนฝอยทั้งหมดออกมาได้ ดังนั้นจึงนำค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยที่นับได้มาเทียบกับที่ช่วงระยะเวลา 0 วัน เพื่อตัดความคลาดเคลื่อนดังกล่าว โดยการฉีดไส้เดือนฝอยแต่ละความเข้มข้น จะใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในทุกต้น โดยไส้เดือนฝอย 0 ตัว/มิลลิลิตร มี

ไส้เดือนฝอยทั้งหมด 0 ตัว, ไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/มิลลิลิตร มีไส้เดือนฝอยทั้งหมด 50,000 ตัว, ไส้เดือนฝอย 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีไส้เดือนฝอยทั้งหมด 250,000 ตัว และ ไส้เดือนฝอย 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีไส้เดือนฝอยทั้งหมด 500,000 ตัว

%recovery ทำให้ทราบว่าจำนวนไส้เดือนฝอยเหลืออยู่เท่าใดเมื่อเวลาผ่านไป 7 และ 14 วัน ผลที่ได้มีแนวโน้มเหมือน ตารางที่ 4-2 คือ ในช่วงระยะเวลา 0 วัน พบจำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดมากที่สุด ในทุกความเข้มข้น จากนั้นจะลดลงอย่างมากในวันที่ 7 และ 14 โดยความเข้มข้นที่มี %recovery สูงที่สุดคือ 1,000 ตัว/มิลลิลิตร ซึ่งมีค่า 19.66±0.61 % ที่ช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 12.20±0.61 % ที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน แต่พบว่า %recovery ที่ 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ที่ช่วงระยะเวลา 7 วัน (17.37±0.28 % และ 17.22±0.20 % ตามลำดับ) และ 14 วัน (7.20±0.28 % และ 8.80±0.20 % ตามลำดับ) มีความใกล้เคียงกัน ทำให้ทราบว่าหากความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร จะมีอัตราร้อยละการสูญเสียไส้เดือนฝอยหลังการฉีดพ่นใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4-3 และ ภาพที่ 4-5)

ตารางที่ 4-3 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดทุกความเข้มข้นในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับช่วงระยะเวลา 0 วัน

ช่วงระยะเวลา	**ความเข้มข้นไส้เดือนฝอย (ตัว)**			
	ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร (0 ตัว)	**ความเข้มข้น 1,000 ตัว/ มิลลิลิตร (50,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 5,000 ตัว/ มิลลิลิตร (250,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 10,000 ตัว/ มิลลิลิตร (500,000 ตัว)**
7	0±0.00 %	19.66±0.61 %	17.37±0.28 %	17.22±0.20 %
14	0±0.00 %	12.20±0.61 %	7.20±0.28 %	8.80±0.20 %



ภาพที่ 4-5 %recovery ไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วันเทียบกับช่วงระยะเวลา 0 วัน การทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง error bar แสดง ค่า ค่า standard error (SE)

4.1.4. การกระจายตัวของไส้เดือนฝอย

นำข้อมูลไปหากระจายตัว โดยวิธีการทดสอบด้วยสถิติ Shapiro-Wilk test ผลการหาการกระจายตัวของไส้เดือนฝอยในแต่ละความเข้มข้น คือ มีการกระจายตัวไม่ปกติ เนื่องจากค่า Sig. ของทั้ง 3 ความเข้มเข้น มีค่าน้อยกว่า 0.05 นั่นคือไส้เดือนฝอยมีการกระจายตัวไม่ปกติ (ตารางที่ 4-4) ดังนั้น จึงใช้สถิติแบบ Non-parametric statistics โดยใช้ Kruskal Wallis test และ Mann Wihtney U test เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดข้อมูล โดยประกอบไปด้วย ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย และ ความแตกต่างระหว่างช่วงระยะเวลาที่อยู่รอดของไส้เดือนฝอย ดังนี้

4.1.4.1 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย

Kruskal Wallis test มีค่าค่าสถิติ Chi-Square เท่ากับ 15.008 และ Asymp Sig. เท่ากับ 0.002 ซึ่งน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่กำหนด (α = 0.05) ดังนั้นจึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความเข้มข้นอย่างน้อย 1 ความเข้มข้น ดังนั้นจึงวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอยในระหว่างความเข้มข้น 2 ความเข้มข้น โดยใช้ Mann Wihtney U test พบว่า ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันกับความเข้มข้นอื่น เนื่องจากเป็นตัวควบคุมที่ไม่มีไส้เดือนฝอย จึงทำให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ

ความเข้มข้นอื่น และ ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร, 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4-5)

ตารางที่ 4-4 การทดสอบทางสถิติ Mann Wihtney U test ระหว่างความเข้มข้นต่างๆ โดยแสดงค่า *P*-value

Treatments	0 ตัว/มิลลิลิตร	1,000 ตัว/มิลลิลิตร	5,000 ตัว/มิลลิลิตร	10,000 ตัว/มิลลิลิตร
0 ตัว/มิลลิลิตร	-	0.002 *	0.002 *	0.002 *
1,000 ตัว/มิลลิลิตร	0.002 *	-	0.337	0.109
5,000 ตัว/มิลลิลิตร	0.002 *	0.337	-	0.262
10,000 ตัว/มิลลิลิตร	0.002 *	0.109	0.262	-

* แสดงนัยสำคัญ (significant) ที่ระดับ $P<0.05$

4.1.4.2 ความแตกต่างระหว่างช่วงระยะเวลาที่อยู่รอดของไส้เดือนฝอย

จากการหาความแตกต่างระหว่างช่วงระยะเวลาที่อยู่รอดของไส้เดือนฝอย แสดงค่าสถิติ ค่า Chi-Square เท่ากับ 5.666 และ Asymp Sig. เท่ากับ 0.059 ซึ่งมากกว่าระดับนัยสำคัญที่กำหนด (α = 0.05) ดังนั้นจึงยอมรับ H_0 นั่นคือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถติระหว่างช่วงระยะเวลา 0 วัน, 7 วัน และ 14 วัน จะเห็นได้ว่า แต่ละช่วงระยะเวลาที่อยู่รอดของไส้เดือนฝอยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.2.ระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือยฝอยที่พบที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา

4.2.1. จำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ละระยะการเจริญเติบโตและไส้เดือนฝอยที่ตายที่ความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงระยะเวลา

จำนวนไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดในกระถางกล้วยไม้แต่ละต้น พบระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย 3 ระยะ คือ ระยะตัวเต็มวัย ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด, ระยะเข้าทำลาย มีขนาดเล็กกว่าและ

เคลื่อนที่ได้เร็วกว่าระยะตัวเต็มวัย และ ระยะอื่น คือระยะที่มีขนาดเล็กกว่าระยะเข้าทำลาย ซึ่งอาจประกอบด้วยระยะ J1, J2 และ J3 จากการทดลอง พบว่าในช่วงระยะเวลา 0 วัน ที่ทุกความเข้มข้นพบไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายมากที่สุด รองลงมา คือ ระยะอื่น และ ระยะตัวเต็มวัยตามลำดับ (ตารางที่ 4-7, ตารางที่ 4-8 และ ภาพที่ 4-6) ในช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน ที่ทุกความเข้มข้นพบไส้เดือนฝอยระยะอื่นมากที่สุด โดยความเข้มข้นที่พบไส้เดือนฝอยระยะอื่นมากที่สุดคือ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยที่ระยะเวลา 7 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะอื่นมากกว่า 14 วัน รองลงมา คือ ระยะเข้าทำลาย และ ระยะตัวเต็มวัย โดยทั้งสองระยะไม่มีความแตกต่างกันมาก ทั้งใน 7 วัน และ 14 วัน (ภาพที่ 4-7 และ ภาพที่ 4-8)

ในช่วงระยะเวลา 14 วัน พบไส้เดือนฝอยที่ตายมากที่สุด (ภาพที่ 4-8) รองลงมา คือช่วงระยะเวลา 7 วัน (ภาพที่ 4-7) และ ช่วงระยะเวลา 0 วัน (ภาพที่ 4-6) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาไส้เดือนฝอยแต่ละความเข้มข้น พบว่าจำนวนไส้เดือนฝอยตายมากที่สุด ที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร รองลงมา คือ ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื่องจากไม่มีไส้เดือนฝอยตามธรรมชาติที่ติดมากับกระถางกล้วยไม้ก่อนทำการทดลอง (ตารางที่ 4-7, ตารางที่ 4-8)

ตารางที่ 4-5 จำนวนไส้เดือนฝอยแต่ละระยะการเจริญเติบโตและไส้เดือนฝอยที่ตายจากการนับไส้เดือนฝอยที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา จำนวน 2 ซ้ำการทดลอง

ช่วงระยะเวลา (วัน)	**ความเข้มข้นไส้เดือนฝอย (ตัว)**			
	ความเข้มข้น (0 ตัว/มิลลิลิตร) (0 ตัว)	**ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร (50,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร (250,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร (500,000 ตัว)**
ซ้ำที่ 1				
0	0	ตัวเต็มวัย = 500	ตัวเต็มวัย = 700	ตัวเต็มวัย = 1000
		ระยะเข้าทำลาย = 3066.6	ระยะเข้าทำลาย = 7100	ระยะเข้าทำลาย = 8866.6
		ระยะอื่น = 1500	ระยะอื่น = 3800	ระยะอื่น = 7600
		ตาย = 0.00	ตาย = 4.66	ตาย = 16.00
7	0	ตัวเต็มวัย = 200	ตัวเต็มวัย = 500	ตัวเต็มวัย = 700
		ระยะเข้าทำลาย = 200	ระยะเข้าทำลาย = 366.6	ระยะเข้าทำลาย = 466.6

		ระยะอื่น = 500	ระยะอื่น = 1100	ระยะอื่น = 1800
		ตาย = 2.66	ตาย = 8.33	ตาย = 23.33
14	-	-	-	-
		ตาย = 8.00	ตาย = 28.00	ตาย = 41.33
ซ้ำที่ 2				
0	0	ตัวเต็มวัย = 1300	ตัวเต็มวัย = 1100	ตัวเต็มวัย = 2433.3
		ระยะเข้าทำลาย = 2666.6	ระยะเข้าทำลาย = 8200	ระยะเข้าทำลาย = 12800
		ระยะอื่น = 800	ระยะอื่น = 1100	ระยะอื่น = 2133.3
		ตาย = 1.00	ตาย = 6.66	ตาย = 18.00
7	0	ตัวเต็มวัย = 133.3	ตัวเต็มวัย = 100	ตัวเต็มวัย = 133.3
		ระยะเข้าทำลาย = 500	ระยะเข้าทำลาย = 266.6	ระยะเข้าทำลาย = 233.3
		ระยะอื่น = 400	ระยะอื่น = 1366.6	ระยะอื่น = 2666.6
		ตาย = 4.00	ตาย = 10.00	ตาย = 19.33
14	0	ตัวเต็มวัย = 133.3	ตัวเต็มวัย = 200	ตัวเต็มวัย = 266.6
		ระยะเข้าทำลาย = 200	ระยะเข้าทำลาย = 400	ระยะเข้าทำลาย = 100
		ระยะอื่น = 333.3	ระยะอื่น = 366.6	ระยะอื่น = 1566.6
		ตาย = 13,00	ตาย = 32.66	ตาย = 36.66

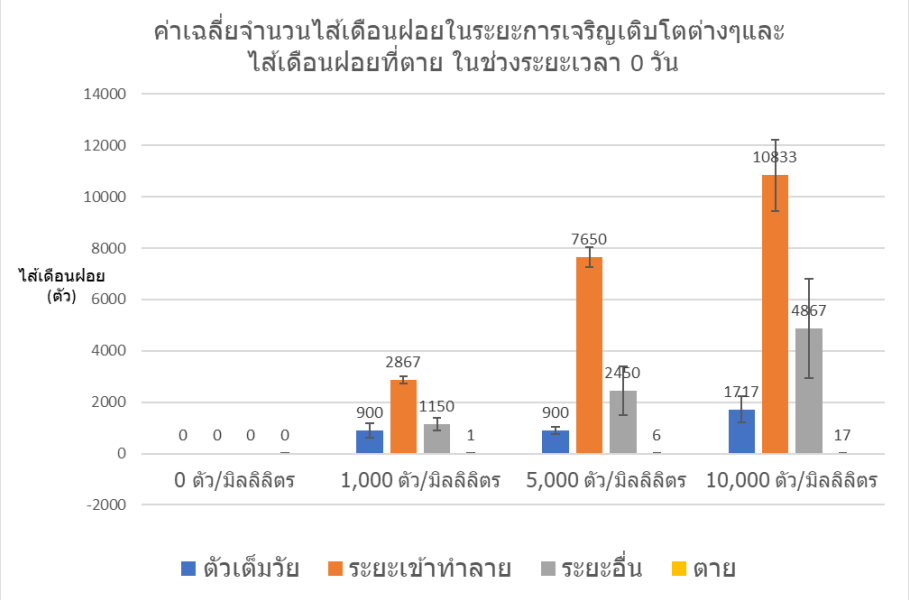
* ช่วงระยะเวลา 14 วัน ตรวจนับระยะการเติบโตของไส้เดือนฝอยเพียง 1 ซ้ำ

4.2.2. <u>ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ระยะการเจริญเติบโตและไส้เดือนฝอยที่ตาย</u>

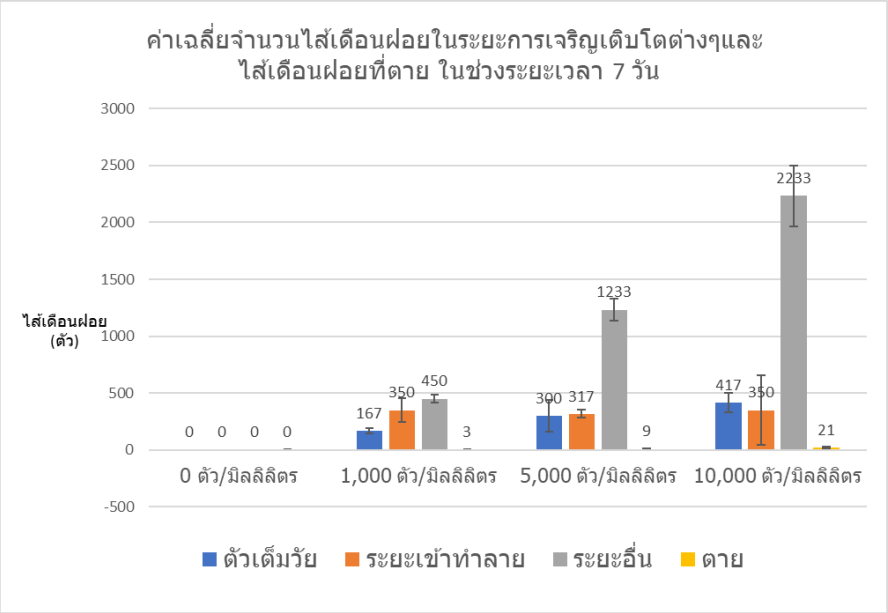
ตารางที่ 4-6 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในแต่ละระยะการเจริญเติบโตที่ล้างจากต้นกล้วยไม้ทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา

ช่วงระยะเวลา (วัน)	**ความเข้มข้นไส้เดือนฝอย (ตัว)**			
	ความเข้มข้น (0 ตัว/มิลลิลิตร) (0 ตัว)	**ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร (50,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร (250,000 ตัว)**	**ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร (500,000 ตัว)**
0	0±0.00	ตัวเต็มวัย = 900±282.84	ตัวเต็มวัย = 900±141.42	ตัวเต็มวัย = 1717±506.75

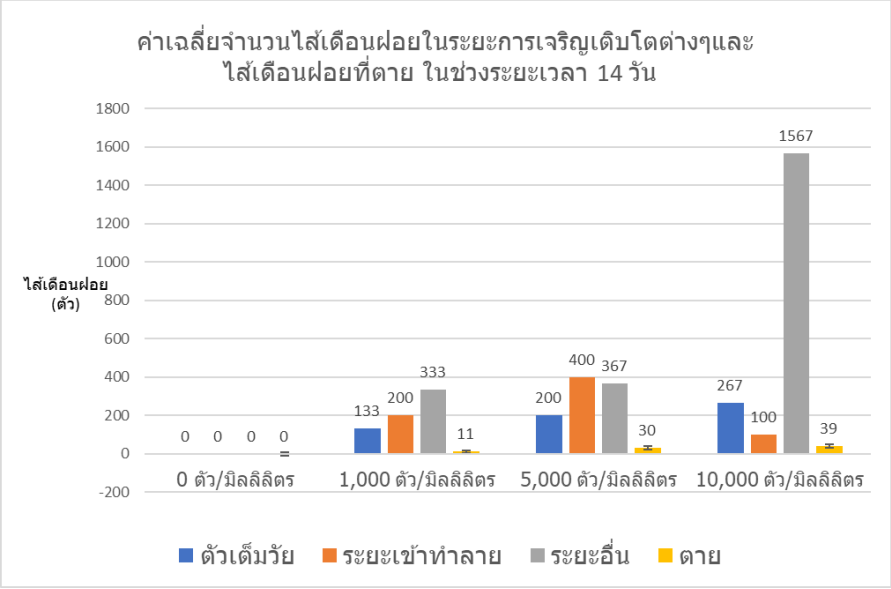
		ระยะเข้าทำลาย = 2867±141.42	ระยะเข้าทำลาย = 7650±388.91	ระยะเข้าทำลาย = 10833±1390.67
		ระยะอื่น = 1150±247.49	ระยะอื่น = 2450±954.59	ระยะอื่น = 4867±1932.77
		ตาย = 1±0.35	ตาย = 6±0.71	ตาย = 17±0.71
7	0±0.00	ตัวเต็มวัย = 167±23.58	ตัวเต็มวัย = 300±141.42	ตัวเต็มวัย = 417±200.36
		ระยะเข้าทำลาย = 350±106.07	ระยะเข้าทำลาย = 317±35.36	ระยะเข้าทำลาย = 350±82.48
		ระยะอื่น = 450±35.36	ระยะอื่น = 1233±94.26	ระยะอื่น = 2233±306.39
		ตาย = 3±0.47	ตาย = 9±0.59	ตาย = 21±1.41
14	0±0.00	ตัวเต็มวัย = 133	ตัวเต็มวัย = 200	ตัวเต็มวัย = 267
		ระยะเข้าทำลาย = 200	ระยะเข้าทำลาย = 400	ระยะเข้าทำลาย = 100
		ระยะอื่น = 333	ระยะอื่น = 367	ระยะอื่น = 1567
		ตาย = 11±1.77	ตาย = 30±1.41	ตาย = 39±1.65



ภาพที่ 4-6 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในระยะการเจริญเติบโตต่างๆและไส้เดือนฝอยที่ตาย ในช่วงระยะเวลา 0 วัน



ภาพที่ 4-7 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในระยะการเจริญเติบโตต่างๆและไส้เดือนฝอยที่ตาย ในช่วงระยะเวลา 7 วัน



ภาพที่ 4-8 ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยในระยะการเจริญเติบโตต่างๆและไส้เดือนฝอยที่ตาย ในช่วงระยะเวลา 14 วัน

*ภาพที่ 4-5 ไม่สามารถคำนวนค่าความคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากในช่วงระยะเวลา 14 วัน มีการทดลองเพียง 1 ซ้ำ

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

งานวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาช่วงระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. อยู่รอดมากที่สุดบนต้นกล้วยไม้ สกุลหวาย และ หาความเข้มเข้นที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด รวมไปถึงศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอยทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา โดยการฉีดไส้เดือนฝอยบนกล้วยไม้สกุลหวาย แบ่งเป็น 3 ช่วงระยะเวลา ได้แก่ 0 วัน, 7 วัน และ 14 วัน ในแต่ละช่วงระยะเวลาจะแบ่งเป็น 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0 ตัว/มิลลิลิตร, 1,000 ตัว/มิลลิลิตร, 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยสามารถอภิปรายผลการทดลองได้ ดังนี้ 1. การศึกษาหาช่วงระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด, 2. การศึกษาหาความเข้มข้นที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด และ 3. การศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอย

1. การศึกษาหาช่วงระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด ผลการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดไส้เดือนฝอยในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับ 0 วัน มีไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดมากที่สุด คือ 7 วัน เนื่องจากช่วงระยะเวลา 7 วัน ใกล้เคียงกับระยะเวลาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยที่ใช้เวลาประมาณ 4-5 วันต่อ 1 รอบวงจรชีวิต (นุชนารถ, 2544) ดังนั้น การทดลองช่วงระยะเวลา 14 อาจจะมีระยะที่ยาวนานกว่าวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย จึงมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดต่ำลง ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Muschiol และ Traunspurger (2007) ที่ได้ศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ที่มีวงจรชีวิตอยู่ในช่วงระยะเวลา 9.5-13.8 วัน นอกจากนี้ยังเป็นการแสดงให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยหลังการฉีดพ่นออกจากระยะเข้าทำลายเพื่อสืบพันธุ์ต่อไป

2. การศึกษาหาความเข้มข้นที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด ผลการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดไส้เดือนฝอยในช่วงระยะเวลาต่างๆ เทียบกับ 0 วัน พบว่า มี เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดมากที่สุด ที่ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยช่วงระยะเวลา 7 วัน พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง ที่ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างกันมาก เนื่องจาก ช่วงระยะเวลา 7 วัน ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยที่มากเกินไปในกระถางกล้วยไม้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.3 นิ้ว ส่งผลต่อ พื้นที่ อาหาร และ ปัจจัยอื่นๆ ที่ช่วยในการดำรงชีวิตอยู่ของไส้เดือนฝอย โดยที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร อาจเกิดการตายมากกว่า ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และอาจมีไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) เคลื่อนที่ออกจากกระถางกล้วยไม้ ประกอบกับไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร เริ่มมีการผลิตไส้เดือนฝอยรุ่นถัดไปมากกว่า ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร (ที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร พบไส้เดือนฝอยระยะอื่น 2,233±306.39 ตัว และความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร พบไส้เดือนฝอยระยะอื่น 1,233±94.26 ตัว (ตารางที่ 4-8)) จึงทำ

ให้ เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด ไม่แตกต่างกันมาก ในขณะที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มากกว่า 5,000 ตัว/มิลลิลิตร เนื่องจากมีระยะเวลานานกว่าวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ที่มีวงจรชีวิตอยู่ในช่วงระยะเวลา 9.5-13.8 วัน (Muschiol และ Traunspurger 2007) ทำให้ความเข้มข้นที่ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีโอกาสเกิดไส้เดือนฝอยรุ่นต่อไปได้มากกว่า (ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร พบไส้เดือนฝอยระยะอื่น 1,566.6 ตัว และ ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร พบไส้เดือนฝอยระยะอื่น 366.6 ตัว (ตารางที่ 4-8)) จึงทำให้มี เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด มากกว่า ความเข้มข้นที่ 5,000 ตัว/มิลลิลิตร

3. การศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอย ผลการทดลอง พบว่า ช่วงระยะเวลา 0 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยมากที่สุดในทุกความเข้มข้น เนื่องจากทำการฉีดพ่นและเก็บไส้เดือนฝอยภายในวันเดียวกัน ทำให้ระยะต่างๆ ของไส้เดือนฝอยยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากการนำไส้เดือนฝอยจากการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนจะมีระยะเข้าทำลายมากที่สุด และ ช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน พบระยะอื่นมากที่สุด เนื่องจากเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ไส้เดือนฝอยที่เคยอยู่ในระยะเข้าทำลายจะเจริญไปเป็นระยะตัวเต็มวัย และเกิดไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่ที่เกิดจากตัวเต็มวัยเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2-1) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ไส้เดือนฝอยที่อยู่รอดมากที่สุด คือ ไส้เดือนฝอยระยะอื่น ซึ่งคือระยะตัวอ่อน J1, J2 และ J3) ดังนั้นไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็กจะมีอัตราการอยู่รอดสูง เนื่องจากมีขนาดเล็กทำให้สามารถดำรงอยู่ในพื้นที่ขนาดเล็กได้ดีกว่าไส้เดือนฝอยขนาดใหญ่ การตายของไส้เดือนฝอย มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และมีการตายสูงสุดที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน เป็นเพราะเกินช่วงระยะเวลาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. มีวงจรชีวิตอยู่ในช่วงระยะเวลา 9.5-13.8 วัน (Muschiol and Traunspurger, 2007) และปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของไส้เดือนฝอย จึงทำให้เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีการตายของไส้เดือนฝอยเพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการตายของไส้เดือนฝอยแต่ละความเข้มข้น พบว่ามีค่าเฉลี่ยไส้เดือนฝอยที่ตายมากที่สุดที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน (ภาพที่ 4-6) โดยสาเหตุที่จำนวนไส้เดือนฝอยที่ตายไม่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ อาจเกิดจากการที่ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) เคลื่อนที่ออกจากกระถางกล้วยไม้ เช่นเดียวกับไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) ที่เคลื่อนที่ออกจากตัวแมลง (นุชนารถ, 2558) และ อาจเป็นเพราะความหนาแน่นที่มากไป จึงเกิดการแก่งแย่งปัจจัยที่ใช้ดำรงชีวิตของไส้เดือนฝอยแต่ละตัว

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

6.1. สรุปผลการศึกษา

จากงานวิจัยเรื่อง ช่วงระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. บนกล้วยไม้ *Dendrobium* มีวัตถุประสงค์เพื่อหาช่วงระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. อยู่รอดมากที่สุดบนต้นกล้วยไม้สกุลหวาย และ หาความเข้มเข้นที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด รวมไปถึงศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอยทุกความเข้มข้นในแต่ละช่วงระยะเวลา สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ที่อยู่รอดบนต้นกล้วยไม้สกุลหวาย มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากที่สุด คือ ช่วงระยะเวลา 7 วัน รองลงมาคือ 14 วัน และ ความเข้มข้นไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ที่มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากที่สุด คือ ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร ทั้ง 2 ช่วงระยะเวลา

2. การศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอย ในช่วงระยะเวลา 0 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายมากที่สุด ช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะอื่นมากที่สุด และ ไส้เดือนฝอยที่ตายมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทุกความเข้มข้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน ที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร สมการอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยในทุกความเข้มข้นเมื่อช่วงระยะเวลาเพิ่มขึ้น มีสมการเป็นแบบ exponential โดยมีสมการอัตราการอยู่รอดดังนี้ ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร $y = 4058e^{-0.151x}$, $R^2 = 0.904$ (ภาพที่ 4-2), ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร $y = 9258e^{-0.190x}$, $R^2 = 0.949$ (ภาพที่ 4-3) และ ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร $y = 50114e^{-0.548x}$, $R^2 = 0.922$ (ภาพที่ 4-4)

ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุดที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นไปตามจำนวนตัวที่ฉีดพ่น แต่เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 1,000 ตัว/มิลลิลิตร มากที่สุด ขณะที่ 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดใกล้เคียงกัน เนื่องจากความเข้มข้นไส้เดือนฝอยที่อยู่ระหว่าง 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร จะมีอัตราร้อยละการสูญเสียไส้เดือนฝอยหลังการฉีดพ่นใกล้เคียงกัน

การศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการตายของไส้เดือนฝอย ในช่วงระยะเวลา 0 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายมากที่สุด เนื่องจากทำการฉีดพ่นและเก็บไส้เดือนฝอยภายในวันเดียวกัน ทำให้ระยะเข้าทำลายยังคงมากที่สุด ช่วงระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน พบไส้เดือนฝอยระยะอื่นมากที่สุด เนื่องจากเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ไส้เดือนฝอยที่เคยอยู่ในระยะเข้าทำลายจะเจริญไปเป็นระยะตัวเต็มวัย และเกิดไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่ที่เกิดจากตัวเต็มวัยเพิ่มขึ้น และ ไส้เดือนฝอยที่ตายมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในทุก

ความเข้มข้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ช่วงระยะเวลา 14 วัน ที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร เนื่องจากเกินช่วงระยะเวลาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. มีวงจรชีวิตอยู่ในช่วงระยะเวลา 9.5-13.8 วัน (Muschiol and Traunspurger, 2007) และปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของไส้เดือนฝอย จึงทำให้เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นมีการตายของไส้เดือนฝอยเพิ่มขึ้น

6.2. ข้อเสนอแนะ

การนับไส้เดือนฝอยโดยการล้างต้นกล้วยไม้อาจเกิดความคลาดเคลื่อนในการนับ เนื่องจากอาจเกิดจากปริมาณน้ำที่ใช้ล้างต้นกล้วยไม้ที่มีปริมาณน้อยไปหรือมากไป จึงควรทำการทดลองศึกษาหาปริมาณน้ำที่สามารถใช้ล้างไส้เดือนฝอยจากต้นกล้วยไม้ให้ได้มากที่สุด การทดลองครั้งนี้ทำซ้ำเพียง 2 ครั้ง ซึ่งอาจไม่เพียงพอกับความน่าเชื่อถือของการทดลอง จำนวนตัวไส้เดือนฝอยทั้งหมดที่ฉีดบนต้นกล้วยไม้ครั้งแรก อาจจะไม่อยู่บนกล้วยไม้ทุกตัว เนื่องจากการฉีดไส้เดือนฝอยลงไปมีส่วนที่ฉีดแล้วออกนอกบริเวณต้นกล้วยไม้เป็นบางส่วน จึงทำการเทียบจำนวนไส้เดือนฝอยกับช่วงระยะเวลา 0 วัน

การศึกษาในอนาคตควรทำการทดลองเพิ่มจำนวนซ้ำมากกว่า 2 ซ้ำ การล้างไส้เดือนฝอยอาจหาปริมาณที่ใช้ล้างไส้เดือนฝอยจากต้นกล้วยไม้ให้ได้ปริมาณไส้เดือนฝอยมากที่สุด การทดลองในครั้งนี้ยังพบไส้เดือนฝอยในช่วงระยะเวลา 14 วัน ดังนั้นเป็นไปได้ว่าระยะเวลาที่นานกว่า 14 วัน อาจยังพบไส้เดือนฝอยที่อยู่รอด ดังนั้นการศึกษาในอนาคตควรเพิ่มช่วงระยะเวลาการทดลอง 21 วัน หรือนานกว่า 21 วัน เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจนำไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. ไปใช้ประโยชน์ในสวนกล้วยไม้ต่อไป

6.3. การใช้ประโยชน์

จากงานวิจัยนี้ เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ทำสวนกล้วยไม้ โดยสามารถนำข้อมูลระยะเวลาที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุดและความเข้มข้นที่ไส้เดือนฝอยอยู่รอดมากที่สุด เพื่อใช้ในการกำจัดหอยทาก และสามารถนำความรู้ที่ได้ไปเปรียบเทียบความคุ้มค่ากับวิธีการอื่น และยังเป็นประโยชน์ต่อการตัดสินใจในการเลือกใช้ชีววิธีควบคุมศัตรูพืชได้ต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2557). ผลกระทบต่อสุขภาพจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://envocc.ddc.moph.go.th/contents/view/106 [25 เมษายน 2564]

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. (2541). ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ไทย *Strain Steinernema Thailandrnsis* n. sp. Rhabditida: Steinernematidae. วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 16 ฉบับที่ 3. กรุงเทพมหานคร. กองโรค พืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. (2554). อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยสกุล Steinernemaและ Heterorhabditis Taxonomy of Steinernema and Heterorhabditis. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (2554) : 1806

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. (2558). พิมพ์ครั้งที่ 1. การผลิตชีวภัณฑ์ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงศัตรูพืชแบบทำใช้เอง. กรุงเทพมหานคร : กองโรค พืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

พีรเดช ทองอำไพ. (2557). สารเพิ่มประสิทธิภาพทางการเกษตร. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.thaikasetsart.com/ สารเพิ่มประสิทธิภาพทาง/ [6 มิถุนายน 2464]

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หอยทากในสวนกล้วยไม้. 2558. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ezathai.org/?p=230 [9 พฤษภาคม 2564]

สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. (2562). [ออนไลน์].แหล่งที่มา: https://www.ditp.go.th/contents_attach/539560/539560.pdf [9 พฤษภาคม 2564]

อังคณา เทียนกล่ำ, พรกมล สาฆ้อง และ สุรชาติ เทียนกล่ำ. (2562). การศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอยก่อโรคแก่แมลงและครามต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชในมะเขือเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (พฤษภาคม-สิงหาคม 2562) : 21-2.

ภาษาอังกฤษ

Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. (1990). Biology and taxonomy of Xenorhabdus. Pages 75-90. In : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. Cited in นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. (2544). อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยย

สกุล Steinernemaและ Heterorhabditis Taxonomy of Steinernema and Heterorhabditis. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (2554) : 1806

John D. Rockefeller. (2015). Marijuana Disease and Pest Control. Ultimate protection for plants to win back your garden [online]. Available from: https://www.amazon.ca/Marijuana-Disease-Pest-Control-Protection/dp/1518887074 [1 May 2021]

Nigon, V. (1943). Le déterminisme du sexe chez un nématode libre hermaphrodite (*Rhabditis elegans* Maupas). Social Biology. In (Vol. 137, pp. 40-41).

Scott L. Portman, Sindhu M. Krishnankutty and Gadi V. P. Reddy. (2016). Entomopathogenic Nematodes Combined with Adjuvants Presents a New Potential Biological Control Method for Managing the Wheat Stem Sawfly, *Cephus cinctus* (Hymenoptera: Cephidae) [Online]. Available from: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169022 [20 May 2021]

Singh A, Singh DK, Misra TN. and Agarwal RA. (1996). Molluscicide of Plant Origin. Biological Agriculture and Horticulture. (Vol. 13, pp. 205-52).

Steiner, G. (1923). Aplectana kraussei n.sp. der Blattwespe Lyda sp. parasitierende Nematoden-form, nebst Bemerkungen uber das Steitenorgan der parasitischen Nematoden. In : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. Cited in นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. (2544). อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยยสกุล Steinernemaและ Heterorhabditis Taxonomy of Steinernema and Heterorhabditis. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (2554) : 1806

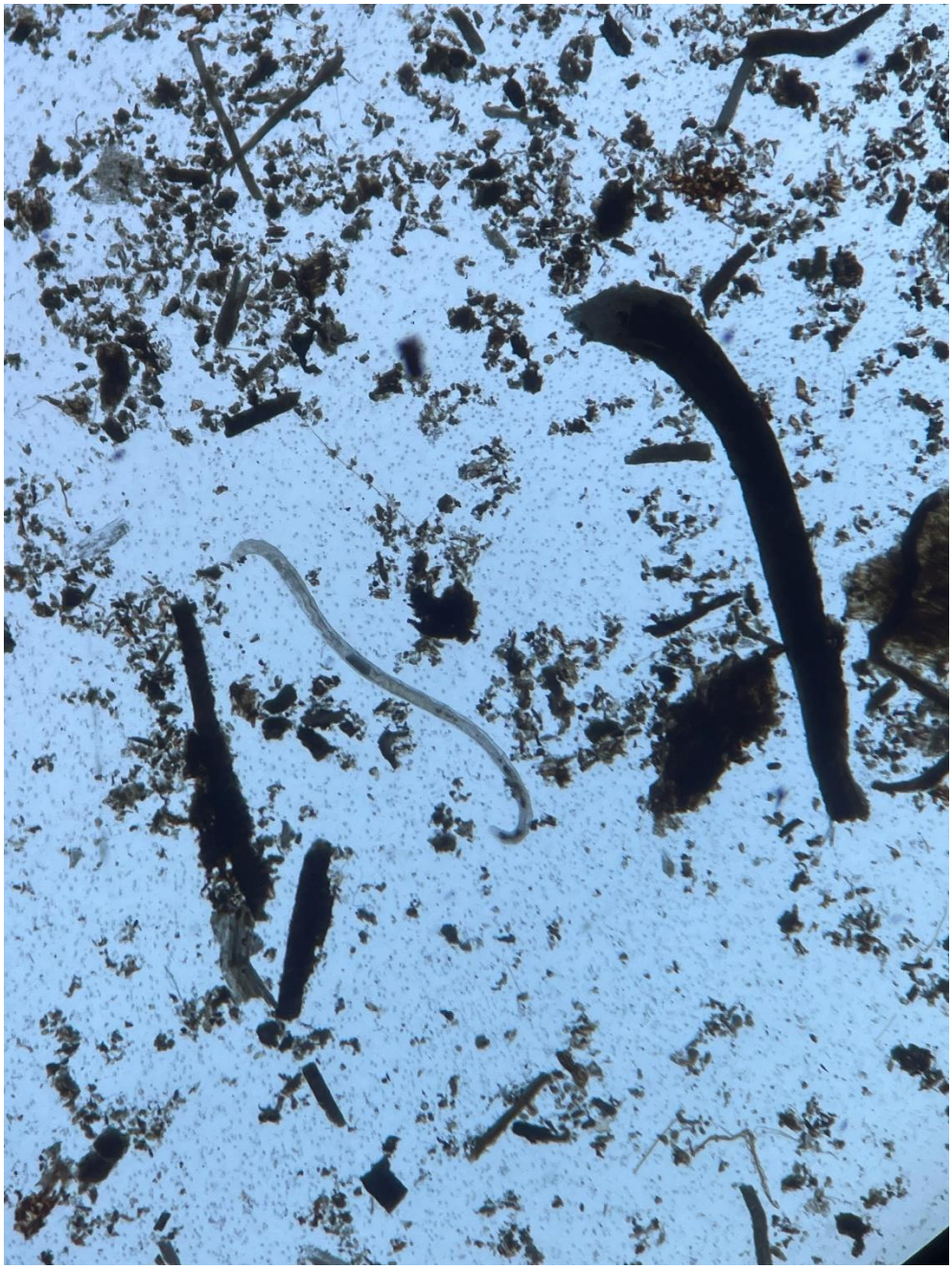
Suzanne M. Charwat., Kerrie A. Davies. (1999). Laboratory screening of nematodes isolated from South Australia for potential as biocontrol agents of helicid snails. Online Journal of Invertebrate Pathology. In (Vol. 74, pp. 55 – 61).

Walter Sudhaus. (2018). Dispersion of Nematodes (Rhabditida) in the Guts of Slugs and Snails [Online]. Available from: http://www.soil-organisms.org/index.php/SO/article/view/55 [20 May 2021]

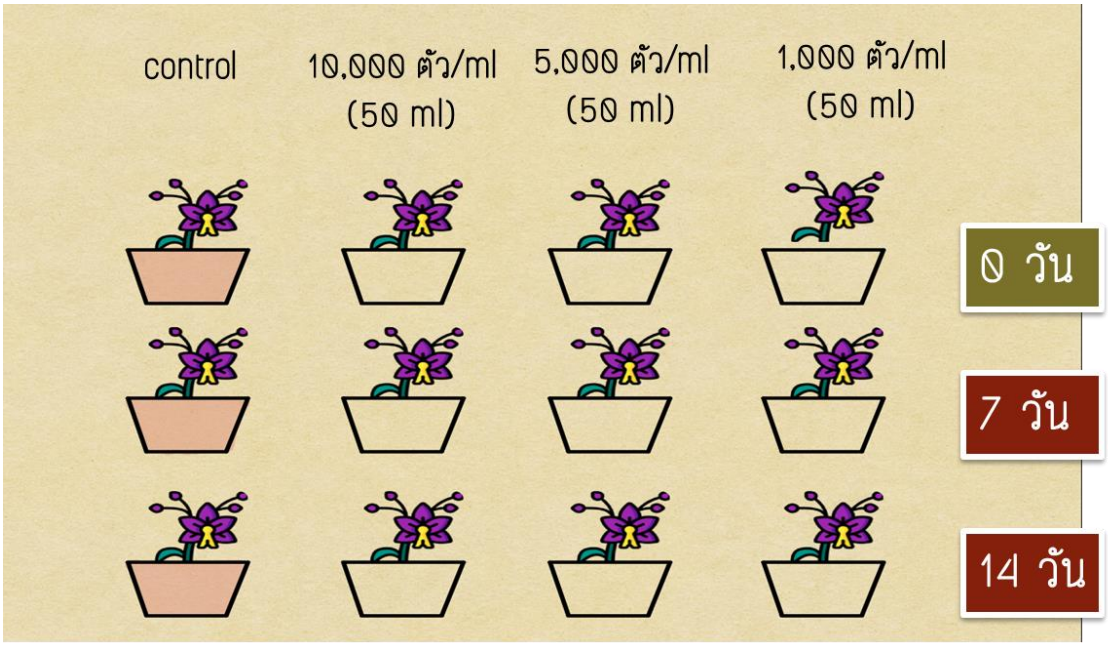
ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 กล้วยไม้สกุล *Dendrobium*

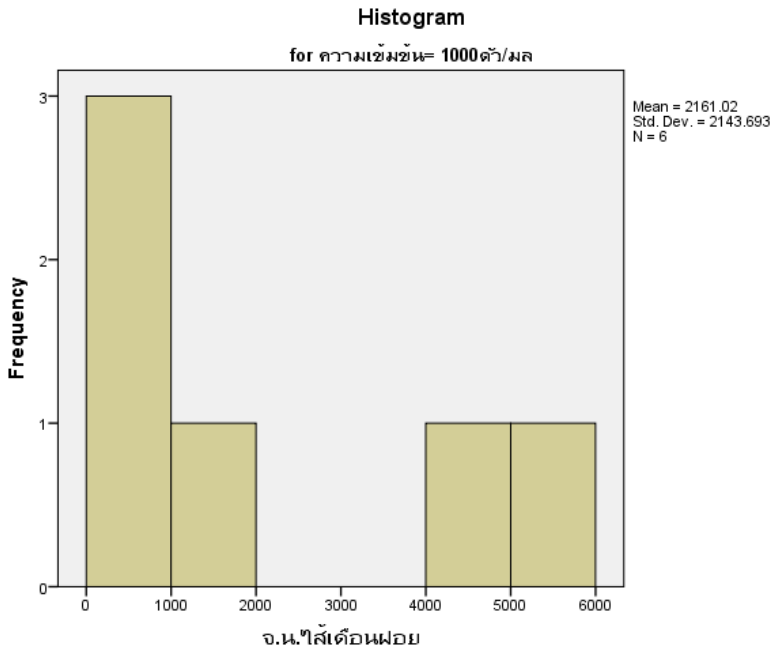
ภาคผนวกที่ 2 ไส้เดือนฝอย *Panagrolaimus* sp. สายพันธุ์ 16B3



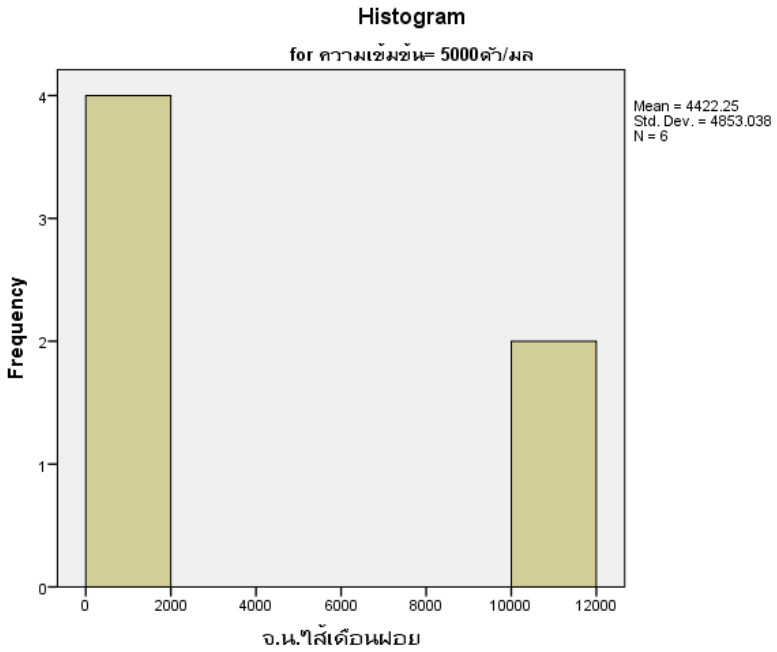
ภาคผนวกที่ 3 วางแผนการฉีดไส้เดือนฝอย



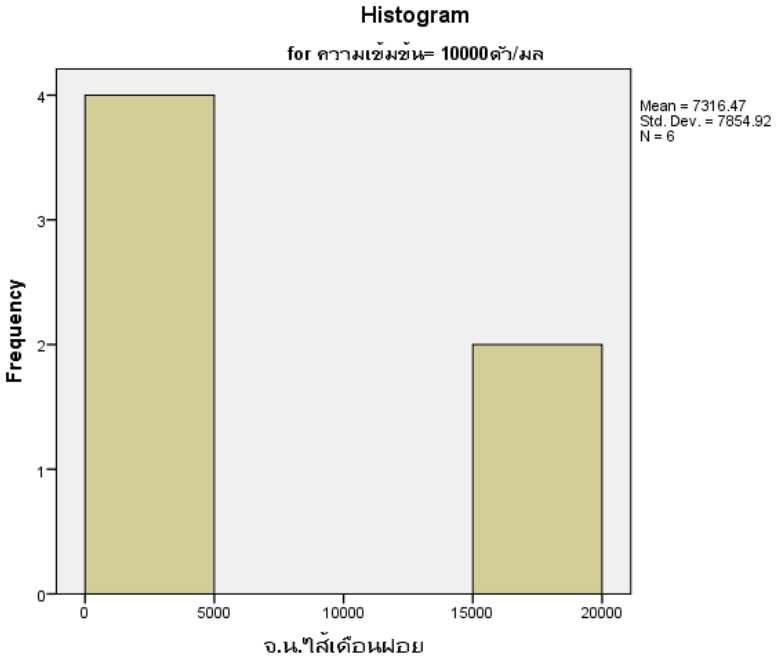
ภาคผนวกที่ 4 Histogram การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร



ภาคผนวกที่ 5 Histogram การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร



ภาคผนวกที่ 6 Histogram การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร



ภาคผนวกที่ 7 ความแตกต่างระหว่างชุดข้อมูล โดยใช้ Kruskal Wallis test

Test Statistics[a,b]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Chi-Square	15.008
df	3
Asymp. Sig.	.002

ภาคผนวกที่ 8 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย 0 ตัว/มิลลิลิตร และ 1,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยใช้ Mann Wihtney U test

Test Statistics[a]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.077
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: ความเข้มข้น

b. Not corrected for ties.

ภาคผนวกที่ 9 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย 0 ตัว/มิลลิลิตร และ 5,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยใช้ Mann Wihtney U test

Test Statistics[a]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.077
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: ความเข้มข้น

b. Not corrected for ties.

ภาคผนวกที่ 10 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย 0 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยใช้ Mann Wihtney U test

Test Statistics[a]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.077
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002[b]

a. Grouping Variable: ความเข้มข้น

b. Not corrected for ties.

ภาคผนวกที่ 11 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 5,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยใช้ Mann Wihtney U test

Test Statistics[a]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	33.000
Z	-.961
Asymp. Sig. (2-tailed)	.337
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.394[b]

a. Grouping Variable: ความเข้มข้น

b. Not corrected for ties.

ภาคผนวกที่ 12 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยใช้ Mann Wihtney U test

Test Statistics[a]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	29.000
Z	-1.601
Asymp. Sig. (2-tailed)	.109
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.132[b]

a. Grouping Variable: ความเข้มข้น

b. Not corrected for ties.

ภาคผนวกที่ 13 ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นไส้เดือนฝอย 5,000 ตัว/มิลลิลิตร และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร โดยใช้ Mann Wihtney U test

Test Statistics[a]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	32.000
Z	-1.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.262
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310[b]

a. Grouping Variable: ความเข้มข้น

b. Not corrected for ties.

ภาคผนวกที่ 14 การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยแต่ละความเข้มข้นด้วยสถิติ Shapiro-Wilk test

Tests of Normality[a]

		Shapiro-Wilk		
	ความเข้มข้น	Statistic	df	Sig.
จ.น.ไส้เดือนฝอย	1000ตัว/มล	.724	6	.011
	5000ตัว/มล	.736	6	.015
	10000ตัว/มล	.714	6	.009

ภาคผนวกที่ 15 ความแตกต่างระหว่างช่วงระยะเวลาที่อยู่รอดของไส้เดือนฝอยโดยใช้ Kruskal Wallis test

Test Statistics[a,b]

	จ.น.ไส้เดือนฝอย
Chi-Square	5.666
df	2
Asymp. Sig.	.059

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: ระยะเวลา

ภาคผนวกที่ 16 R^2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 1,000 ตัว/มิลลิลิตร

Model Summary

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
.951	.904	.879	.345

The independent variable is ช่วงระยะเวลา.

ภาคผนวกที่ 17 R^2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร

Model Summary

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
.974	.949	.936	.310

The independent variable is ช่วงระยะเวลา.

ภาคผนวกที่ 18 R^2 สมการอัตราการอยู่รอดไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร

Model Summary

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
.960	.922	.903	.358

The independent variable is ช่วงระยะเวลา.