วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การคงอยู่ การเคลื่อนที่ในแนวระนาบ และประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงของประเทศไทย, *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 ที่มีต่อระยะหนอนและระยะดักแด้ของแมลงวันคอกสัตว์, *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae) ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

Persistence, horizontal movement, and efficacy of the Thai indigenous entomopathogenic nematode, *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 against larvae and pupae of stable fly, *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions

นิยาภรณ์ ขวัญเกตุ[1,2], กราญ์จนา ถาอินชุม[1], อัจฉรียา นิจจรัลกุล[3], ฉัตรเฉลิม อาขาล[2], ณัฐพล พรมประเสริฐ[2] และ อธิราช หนูสีดำ[2]*

Niyaporn Khwanket[1,2], Krajana Tainchum[1], Achariya Nitjarunkul[3], Chatchaleam Arkhan[2], Nattapon Promprasert[2] and Atirach Noosidum[2]*

[1] *สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110*
[1] *Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110*
[2] *ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900*
[2] *Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900*
[3] *สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900*
[3] *Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok, 10900*

บทคัดย่อ: แมลงวันคอกสัตว์ (*Stomoxys calcitrans*) เป็นแมลงศัตรูสำคัญของปศุสัตว์เพราะสร้างความรำคาญและเป็นพาหะนำโรคกับสัตว์ การควบคุมประชากรแมลงวันคอกสัตว์โดยชีววิธีช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในฟาร์มได้ การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงประสบความสำเร็จในการควบคุมแมลงหลายชนิดทั่วโลก โดยเฉพาะแมลงที่มีแหล่งอาศัยตามพื้นดิน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความสามารถของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 ในการเข้าทำลายแมลงวันคอกสัตว์ภายใต้ห้องปฏิบัติการ การศึกษาความสามารถในการคงอยู่และการเคลื่อนที่ในแนวระนาบของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัว โดยตรวจสอบจากการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้าย (*Galleria mellonella*) ที่ใช้เป็นเหยื่อ พบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่คงอยู่ในมูลวัวเป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน ทุกชุดการทดลองมีอัตราการตายของหนอนเท่ากับ 100% ภายใน 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเคลื่อนที่เข้าหาเหยื่อในแนวระนาบได้ไกลเป็นระยะทาง 0, 5, 10 และ 15 ซม. ทุกชุดการทดลองมีอัตราการตายของหนอนอยู่ระหว่าง 98-100% ภายใน 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ นอกจากนั้น หนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 มีความอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมากกว่าวัยที่ 3 ในขณะที่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไม่เข้าทำลายในระยะดักแด้ของแมลงวันคอกสัตว์ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อัตรา 12, 25, 50 และ 100 IJs/ตร.ซม. เข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์ที่ 2 และ 3 เท่ากับ 70-100% และ 47-87% ตามลำดับ ที่ 144 ชั่วโมงหลังการทดสอบ โดยสรุปไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 สามารถดำรงชีพและเคลื่อนที่หาเหยื่อในมูลวัว และมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์ได้ดี

คำสำคัญ: ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง; แมลงวันคอกสัตว์; หนอนกินรังผึ้ง; แมลงศัตรูสัตว์; การควบคุมโดยชีววิธี

* Corresponding author: fagrarn@ku.ac.th

Received: date; August 25, 2023 Accepted: date; October 24, 2023 Published: date; December 12, 2023

ABSTRACT: The stable fly (*Stomoxys calcitrans*) is an important insect pest in livestock production because it is both a nuisance and a disease carrier. The use of chemical insecticides on farms is reduced via biological control of stable fly populations. The use of the entomopathogenic nematodes (EPN) has been successful in controlling many insects worldwide, especially those that live on the ground. The purpose of this study was to investigate the ability of the EPN, *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 against the stable fly under laboratory conditions. The death rate of the last instar of the greater wax worm (*Galleria mellonella*) employed as bait was used to determine the EPN's persistence and horizontal movement ability in cow manure. The EPN survived in cow manure at 1, 3, 5, and 7 days, with all treatments killing 100% of wax moth larvae within 72 hours of testing. The EPN approached the prey horizontally at distances of 0, 5, 10, and 15 cm, with all treatments resulting in a mortality rate of wax moth larvae ranging from 98-100% within 72 hours of testing. Furthermore, the second instar of stable fly was more susceptible to the EPN than the third instar, however the EPN did not infect the pupal stage. At 144 hours following testing, the EPN at rates of 12, 25, 50, and 100 IJs/cm^2 killed the second and third instars of stable fly larvae at 70-100% and 47-87%, respectively. In conclusion, *S. hermaphroditum* EPNKU60 may survive and hunt for prey in cow manure. It is also useful in controlling stable fly larvae.
Keywords: entomopathogenic nematodes; stable fly; greater wax moth; veterinary insect; biological control

บทนำ

แมลงวันคอกสัตว์ (stable fly), *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae) เป็นแมลงวันดูดเลือดที่มีความสำคัญโดยสร้างความรำคาญและก่อให้เกิดโรคในปศุสัตว์ มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา (Zumpt, 1973) แพร่กระจายในทวีปยุโรป อเมริกา แอฟริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย (Rochon et al., 2021) สามารถพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Malaithong et al., 2019) วงจรชีวิตของแมลงวันคอกสัตว์ มี 4 ระยะ ประกอบด้วย ไข่ (egg) หนอน (larva) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) โดยเมื่อแมลงวันคอกสัตว์ตัวเต็มวัยเพศเมียได้รับการผสมพันธุ์จะวางไข่ในมูลสัตว์และของเสียบริเวณคอกสัตว์ หนอนของแมลงวันคอกสัตว์จะดำรงชีวิตและพัฒนาอยู่ภายในคอกสัตว์ โดยดูดกินสารอาหารจากวัสดุบริเวณคอกสัตว์ที่มักปนเปื้อนกับของเสียจากสัตว์ มูลสัตว์ และวัสดุที่สัตว์ใช้ในการนอน ซึ่งใช้เวลาประมาณ 12-13 วัน (Cook et al., 2018) และเข้าสู่ระยะดักแด้ในบริเวณแหล่งอาศัยเดิม หลังจากนั้นประมาณ 7 วัน แมลงวันคอกสัตว์ก็จะพัฒนาเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยที่เป็นศัตรูของปศุสัตว์โดยการดูดกินเลือดของสัตว์เป็นอาหารจนก่อให้เกิดความเสียหายกับสัตว์ เช่น น้ำหนักตัวสัตว์ลดลง ปริมาณการผลิตน้ำนมลดลง และก่อให้เกิดโรค (Taylor et al., 2012; Rochon et al., 2021)

การป้องกันและกำจัดแมลงวันคอกสัตว์ควรมีการจัดการแบบผสมผสานหลายๆ วิธี ได้แก่ การจัดการคอกสัตว์ให้มีความสะอาดอยู่เสมอซึ่งเป็นขั้นตอนแรกที่มีความสำคัญเพื่อลดแหล่งที่อยู่อาศัยและวางไข่ของแมลง การใช้กับดักเพื่อควบคุมประชากรของแมลงวันคอกสัตว์ การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดหนอนและตัวเต็มวัยของแมลงวันคอกสัตว์ (Cook et al., 2018) นอกจากวิธีการที่กล่าวมาแล้วข้างต้น การใช้ชีววิธีก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม เช่น ด้วง *Carcinops pumilio* (Erichson) สามารถควบคุมหนอนของแมลงวันคอกสัตว์ (Azevedo et al., 2018) แตนเบียน *Spalangia cameroni* Perkins และ *Spalangia nigra* Latreille เป็นแตนเบียนแมลงวันคอกสัตว์ที่แพร่หลายมาก (Pitzer et al., 2011) สารชีวภัณฑ์หลายชนิดสามารถใช้ควบคุมแมลงวันคอกสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น *Metarhizium anisopliae* (Metsch) มีฤทธิ์ยับยั้งการฟักไข่ของแมลงวันคอกสัตว์ (Moraes et al., 2007) และ *Metarhizium brunneum* (Petch) (Met52 EC) มีฤทธิ์ยับยั้งการตกไข่ของแมลงวันคอกสัตว์ได้ (Machtinger et al., 2015) นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (entomopathogenic nematodes) สามารถเข้าทำลายแมลงวันคอกสัตว์ได้ (Clark, 2001; Mahmoud et al., 2007) เช่น *Heterorhabditis baujardi* (Phan, Subbotin, Nguyen & Moens) LPP7 สามารถกำจัดหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 3 (Leal et al., 2017) เพราะไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถอาศัยและเข้าทำลายแมลงที่มีวงจรชีวิตในดินได้จึงมีโอกาสที่จะเข้าทำลายระยะต่างๆ ของแมลงวันคอกสัตว์ที่มีวงจรชีวิตอาศัยบริเวณคอกสัตว์ และ Clark (2001) ยังพบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema feltiae* (Filipjev) ในระยะเข้าทำลายสามารถอยู่รอดได้ในมูลโคขุนนานถึง 10 สัปดาห์ ภายในห้องปฏิบัติการ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นหนอนตัวกลมขนาดเล็ก ลำตัวโปร่งใส มีความสำคัญในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด (Kaya and Gaugler, 1993; Lewis and Clarke, 2012) เข้าทำลายแมลงที่มีวงจรชีวิตสัมผัสกับดิน ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะเข้าทำลายเป็นระยะตัวอ่อนที่ 3 (ระยะ infective juvenile หรือ ระยะ IJ) สามารถเข้าทำลายแมลงผ่านทางช่องเปิดทางธรรมชาติของแมลง ได้แก่ ปาก รูหายใจ ทวารหนัก หรือชอนไชเข้าผนังลำตัวแมลงโดยตรง (Kaya and Gaugler, 1993) โดยทำงานร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัย (symbiotic bacteria) ทำให้เลือดของแมลงเป็นพิษ (Griffin et al., 2005) และทำให้แมลงอาศัยตายอย่างรวดเร็วภายใน 24-48 ชั่วโมง ปัจจุบันมีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีความสำคัญทางการเกษตร ได้แก่ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* ซึ่งมีแบคทีเรียร่วมอาศัย (symbiotic bacteria) ในสกุล *Xenorhabdus* และ *Photorhabdus* ตามลำดับ (Lewis and Clarke, 2012) เมื่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ เข้าสู่ตัวแมลงจะปล่อยแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เก็บไว้ในทางเดินอาหารส่วนหน้าเข้าสู่ช่องว่างลำตัวแมลง ทำให้เลือดของแมลงเป็นพิษ และลอกคราบเข้าสู่ตัวอ่อนระยะที่ 4 (J4) และเจริญเติบโตพร้อมกับแบคทีเรียร่วมอาศัย จากนั้นพัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัย เริ่มวางไข่และพัฒนาเป็นระยะต่างๆ ต่อไปจนครบวงจรชีวิต ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะเจริญเติบโตภายในซากแมลงอาศัย 1-3 รุ่น เมื่อสารอาหารในตัวแมลงหมด ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตัวอ่อนระยะที่ 3 จะกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้บริเวณลำไส้ส่วนหน้า และพัฒนาเป็นระยะ IJ อีกครั้ง เคลื่อนตัวออกจากซากของแมลงอยู่อาศัยในธรรมชาติเพื่อรอเหยื่อตัวใหม่ต่อไป (Kaya and Gaugler,1993; Lewis and Clarke, 2012)

ปัจจุบันการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมแมลงในประเทศไทยได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น และมีรายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไอโซเลทของประเทศไทยมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลงหลายชนิด เช่น ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook & Reid, *Steinernema carpocapsae* (Weiser) และ *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมระยะตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลาย, *Phyllotreta sinuata* Stephens ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและแปลงทดสอบ (Noosidum et al., 2021) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *H. baujardi*, *H. indica*, *Steinernema* sp. (รัตนาวดี และคณะ, 2564; Noosidum et al., 2010) *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) และ *S. siamkayai* (Noitubtim et al., 2022) ก่อโรคต่อหนอนกินรังผึ้ง, *Galleria mellonella* L. ได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ นอกจากนั้นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ที่มีการใช้ร่วมกับ barricade gel 0.25% มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F.) และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) ภายใต้ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง (Noosidum et al., 2016) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไอโซเลทของไทยมีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมแมลงวันคอกสัตว์ได้หรือไม่ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการคงอยู่และการเคลื่อนที่เข้าหาเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และยังศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเฉพาะถิ่นของประเทศไทย *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 ในการเข้าทำลายแมลงวันคอกสัตว์ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในบริเวณที่มีการเลี้ยงปศุสัตว์ต่อไป

วิธีการศึกษา

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกินรังผึ้ง ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และแมลงวันคอกสัตว์

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกินรังผึ้ง

นำผีเสื้อหนอนกินรังผึ้ง (*G. mellonella*) เพศผู้และเพศเมียจำนวน 20 คู่ ที่รับมาจากภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร ปล่อยลงในกล่องพลาสติกใสขนาด 15×21×7 ซม. จากนั้นนำสำลีชุบสารละลายน้ำผึ้ง 10% วางบนฝากล่องที่ติดตาข่ายลวดเพื่อระบายอากาศ จากนั้นสอดกระดาษขนาด 4×20 ซม. รอบฝากล่องเพื่อให้ผีเสื้อวางไข่ ประมาณ 5-7 วัน จะสังเกตเห็นไข่หนอนผีเสื้อมีลักษณะเป็นกลุ่มไข่สีขาวบนกระดาษที่สอดไว้ เตรียมอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้งโดยดัดแปลงจาก รัตนาวดี และคณะ (2564) บดอาหารเทียมปริมาณ 250 ก. ใส่ลงในกล่องพลาสติกใส แล้วนำกลุ่มไข่วางลงบนอาหารเทียม หลังจากนั้นประมาณ 3 วัน ไข่จะฟักเป็นหนอน หนอนกินรังผึ้งจะมีขนาดใหญ่ขึ้นหลังจากนั้นประมาณ 7 วัน ให้แยกหนอนกินรังผึ้ง

ออกเป็นสองส่วน เติมอาหารใหม่ ทุกๆ 2-3 วัน เก็บรักษาในห้องเลี้ยงแมลงที่มีอุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน หลังจากนั้นประมาณ 4 สัปดาห์ หนอนกินรังผึ้งจะเข้าสู่วัยที่ 5 (วัยสุดท้าย) จึงนำหนอนมาใช้เพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและใช้ในการทดลองต่อไป (รัตนาวดี และคณะ, 2564; Noosidum et al., 2010)

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ที่จัดจำแนกชนิดแล้วและถูกเก็บรักษาไว้ที่ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 (ประกายจันทร์ และทิพย์สุคนธ์, 2560; จุรีพร และคณะ, 2565) โดยหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอัตรา 200 IJs/น้ำกลั่น 700 มคล. ลงบนกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น ที่วางในจานเลี้ยงเชื้อพลาสติก (Petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 ซม. จากนั้นใส่หนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 จำนวน 7 ตัว/จาน ปิดฝาและทิ้งไว้ในห้องมืดที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% หลังจากนั้นประมาณ 2 วัน นำซากหนอนที่ตายมาทำ White trap (White, 1972) โดยล้างซากหนอนด้วยสารไฮยามีน (hyamine) 0.01% นาน 1 นาที แล้วนำซากหนอนวางในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 ซม. ที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำจำนวน 1 แผ่นบรรจุอยู่ จากนั้นนำจานเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปวางลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.0 ซม. ที่บรรจุน้ำกลั่นปริมาตร 8 มล. เพื่อรักษาความชื้น ปิดฝาและเก็บไว้ในห้องมืดที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% เป็นเวลา 3 วัน ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ จะเคลื่อนที่ออกจากซากหนอนลงในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ เก็บไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ออกจากหนอนอายุ 48-72 ชั่วโมง ลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Corning® ขนาด 225 มล. และนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15±3 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ ที่ใช้ในการทดลองมีอายุไม่เกิน 2 สัปดาห์

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันคอกสัตว์

จับแมลงวันคอกสัตว์ (*S. calcitrans*) ตัวเต็มวัยด้วยกับดัก Vavoua (Vavoua trap) (Mihok et al., 1995) ในช่วงเวลา 14.00-17.00 น. จากคอกปศุสัตว์ (วัว ควาย และแพะ) ที่วัดสวนแก้ว อำเภอบางใหญ่ จังหวัดนนทบุรี (GPS Coordinates: 13°51'43.5"N 100°26'32.5"E) โดยแมลงวันคอกสัตว์ถูกคัดแยกและจำแนกลักษณะเฉพาะตามวิธีการจัดจำแนกของ Zumpt (1973) และนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ ที่ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตามวิธีของ Salem et al. (2012) โดยนำแมลงวันคอกสัตว์ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 100 คู่ ใส่ในกรงพลาสติกขนาด 30×35×20 ซม. ที่มีตาข่ายด้านบน โดยให้เลือดวัวสดอายุไม่เกิน 2 วัน ปริมาตร 30 มล. ที่ซื้อมาจากตลาดท่าน้ำนนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี ทางถ้วยให้เลือด (plastic glass feeder) ที่หล่อด้วยน้ำอุณหภูมิ 37±2 องศาเซลเซียส วันละ 2 ครั้ง เวลา 8.30 น. และ 16.30 น. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อแมลงวันคอกสัตว์กินเลือดจนอิ่ม (engorged) สังเกตได้จากท้องแมลงวันคอกสัตว์จะบวมเต่งไปด้วยเลือด จากนั้นนำกล่องพลาสติกขนาด 17×11.5×4 ซม. ที่บรรจุมูลวัวสดอายุ 1-12 ชั่วโมง ปริมาณ 200 ก. ให้แมลงได้วางไข่ แล้วนำสำลีชุบสารละลายน้ำผึ้ง 10% วางบนตาข่ายด้านบนกรงเลี้ยงแมลงวัน เก็บรักษาในห้องเลี้ยงแมลงที่มีอุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน

จากนั้นประมาณ 1-2 วัน จะพบกลุ่มไข่แมลงวันคอกสัตว์บนมูลวัว ย้ายถาดมูลวัวที่มีไข่แมลงวันคอกสัตว์ใส่ในกล่องพลาสติกใสใบใหม่ขนาด 15×21×7 ซม. ที่มีตาข่ายระบายอากาศด้านบน เก็บรักษาในห้องเลี้ยงแมลงที่มีอุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% ปล่อยให้หนอนเจริญเติบโตจนได้วัยที่ต้องการทดลอง ได้แก่ หนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 (อายุประมาณ 5 วัน นับจากแมลงวันคอกสัตว์ไข่) หนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 3 (อายุประมาณ 8 วัน นับจากแมลงวันคอกสัตว์ไข่) และดักแด้ที่มีอายุไม่เกิน 1 วัน (อายุประมาณ 12 วัน นับจากแมลงวันคอกสัตว์ไข่) โดยวัยของแมลงวันคอกสัตว์จะถูกจำแนกโดยใช้รูหายใจของแมลงวันตามวิธีของ (Parr, 1962)

การศึกษาความคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัว

เก็บมูลวัวสดอายุ 1-12 ชั่วโมง จากคอกปศุสัตว์ที่วัดสวนแก้วเพื่อใช้เป็นแหล่งอาศัยของชุดทดสอบ และทรายหยาบ (Sand Castle บริษัทเอกปฐพี, ประเทศไทย) ที่เติมน้ำเปล่าให้ทรายมีความชื้น 10% จากนั้นนำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เริ่มการทดลองโดยชั่งมูลวัวสดหรือทรายปริมาณ 6 ก. ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 ซม. จากนั้นหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย *S. hermaphroditum* EPNKU60 อัตรา 25 IJs/ตร.ซม. (จำนวน 240 IJs) ที่บรรจุในน้ำกลั่นปริมาตร 25 มคล. ลงบนมูลวัวหรือทรายที่เตรียมไว้ให้ทั่ว สำหรับชุดควบคุมจะไม่มีการหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง นำจานเลี้ยงเชื้อวางในกล่องพลาสติกใสขนาด 19.2×28×5.6 ซม. และเก็บในห้องมืดที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน และประเมินความคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัวหรือทรายโดยวิธีการทางอ้อมด้วยการตรวจสอบการตายของเหยื่อที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลาย (Glazer and Lewis, 2000; Noosidum et al., 2010) ดังนี้ โดยเมื่อครบกำหนดระยะเวลาให้ใส่หนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 จำนวน 1 ตัว ที่ขังไว้ในกรงตาข่ายพลาสติกขนาด 2x2 ซม. ลงในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบข้างต้น เก็บรักษาจานเลี้ยงเชื้อในห้องทดสอบอีกครั้ง บันทึกผลการตายของหนอนกินรังผึ้งทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน ตรวจสอบการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเบื้องต้นโดยการสังเกตซากหนอนกินรังผึ้งที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ผนังลำตัวภายนอกของหนอนจะแห้งลักษณะคล้ายมัมมี่และเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล จากนั้นนำซากหนอนไปผ่าพิสูจน์โดยนำซากหนอนมาผ่านการล้างทำความสะอาดด้วยไฮยามีนเป็นเวลา 30 วินาที ย้ายซากหนอนใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 ซม. ในน้ำกลั่นปริมาตร 5 มล. ผ่าซากหนอนด้วยปากคีบปลายแหลมให้ละเอียด เพื่อตรวจดูไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในซากหนอน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง

การศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายเหยื่อในแนวระนาบของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายเหยื่อในแนวระนาบของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงดัดแปลงวิธีการทดลองของ Noosidum et al. (2010) โดยเตรียมมูลวัวและทรายเหมือนกับการศึกษาความคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัว ชั่งมูลวัวสดหรือทรายปริมาณ 90 ก. ใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 4.5×20.5×3 ซม. จากนั้นหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 อัตรา 25 IJs/ตร.ซม. (จำนวน 2,300 IJs) ที่บรรจุในน้ำกลั่นปริมาตร 25 มคล. ลงบนวัสดุทดสอบที่เตรียมไว้ให้ห่างจากขอบกล่องตามแนวยาว 1 ซม.บริเวณด้านใดด้านหนึ่ง และประเมินความสามารถในการเข้าทำลายเหยื่อในแนวระนาบของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัวหรือทรายโดยวิธีการทางอ้อมด้วยการตรวจสอบการตายของเหยื่อที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลาย (Glazer and Lewis, 2000) โดยนำหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 จำนวน 1 ตัว ที่ขังไว้ในกรงตาข่ายพลาสติกขนาด 2x2 ซม. วางบนลงบนผิวหน้าของวัสดุทดสอบในระยะทางที่ห่างจากตำแหน่งการหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ 0, 5, 10 และ 15 ซม. สำหรับชุดควบคุมจะไม่มีการหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง จากนั้นปิดกล่องพลาสติกด้วยแผ่นพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น เก็บในห้องมืดที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% และบันทึกการตายของหนอนกินรังผึ้งทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง

การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายระยะตัวอ่อนและระยะดักแด้ของแมลงวันคอกสัตว์ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

หยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 อัตรา 12, 25, 50, 100, 200 และ 400 IJs/ตร.ซม. ในน้ำกลั่นปริมาตร 25 มคล.ลงบนกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น ที่วางในจานเลี้ยงเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 ซม. เติมมูลวัวเล็กน้อยเพื่อเป็นอาหาร เขี่ยหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 จำนวน 1 ตัว ด้วยพู่กันลงในจานเลี้ยงเชื้อข้างต้น ปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อแล้วพันด้วยพาราฟิล์ม เพื่อรักษาความชื้นและป้องกันหนอนแมลงวันชนิดอื่นปนเปื้อน เก็บในห้องมืดที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50±10% ทำการทดลองแบบเดียวกันในหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 3 และดักแด้ของแมลงวันคอกสัตว์ บันทึกการตายของแมลงทุกๆ 24 ชั่วโมง หลังการทดสอบ โดยระยะหนอนบันทึกเป็นเวลา 6 วัน และดักแด้บันทึก

เป็นเวลา 15 วัน ตรวจสอบการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเบื้องต้นและนำซากหนอนไปผ่าพิสูจน์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอตามวิธีการข้างต้น ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely random design, CRD) ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง นำผลการทดลองมาแปลงค่าด้วยวิธี square root (x+1) และนำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน โดยใช้ one way ANOVA (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R studio version 4.2.1

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาความคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัว

ผลการศึกษาการคงอยู่ (ความสามารถในการรอดชีวิต) ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ในมูลวัวที่ระยะเวลาแตกต่างกัน (1-7 วัน) โดยประเมินจากความสามารถในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ภายใต้ห้องปฏิบัติการ พบว่าในชุดควบคุมของทรายและมูลวัวที่ไม่หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะไม่พบการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ตลอดระยะเวลาการทดสอบ สำหรับชุดทดลองที่หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง พบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมงแรกของการทดสอบ การคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกัน ($F=2,567.00$; $df=15, 32$; $P<0.01$) โดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อาศัยอยู่ในมูลวัวและทรายเป็นเวลา 1 และ 3 วัน แสดงความสามารถในเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งมีค่าอยู่ระหว่าง 86.67-100.00% ในขณะที่ชุดการทดลองอื่น (มากกว่า 3 วัน) ยังไม่พบการตายของหนอนกินรังผึ้ง **(Figure 1a)** ต่อมาที่ 48 ชั่วโมงหลังการทดสอบพบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อยู่ในมูลวัวและทรายทุกชุดการทดลอง (1-7 วัน) พบการตายของหนอนกินรังผึ้งไม่แตกต่างกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 96.67-100.00% (**Figure 1b**) และการตายของหนอนกินรังผึ้งมีค่า 100% ในทุกชุดการทดลอง ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ **(Figure 1c)**

โดยทั่วไปประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะขึ้นอยู่กับการผสมผสานระหว่างปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ชนิดของแมลงที่เป็นเหยื่อ กลยุทธ์ในการหาเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง สถานที่อาศัย สภาพดิน (ชนิดของดิน ค่า pH ความชื้น ค่าการนำไฟฟ้า ฯลฯ) ภูมิอากาศ (Glazer and Lewis, 2000) และวิธีการนำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไปใช้ (Shapiro-Ilan et al., 2006) การศึกษานิเวศวิทยาเชิงพฤติกรรมที่เกี่ยวกับข้อมูลข้างต้นจึงเป็นสมมติฐานเบื้องต้นที่จะควรศึกษาในไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงแต่ละชนิดเพื่อทราบถึงความสามารถและข้อจำกัดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิด/ สายพันธุ์/ ไอโซเลทใหม่ที่ค้นพบ (Shapiro-Ilan et al., 2006) งานวิจัยนี้เลือกใช้ทรายเป็นชุดควบคุม เพราะทรายเป็นวัสดุที่มีลักษณะทางกายภาพเหมาะสมในการอยู่อาศัยและการเคลื่อนที่เข้าหาเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Kung et al., 1990) สนับสนุนโดยผลงานวิจัยของ Noosidum et al. (2010) ที่รายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไอโซเลทของไทย ได้แก่ *H. baujardi*, *H. indica* และ *Steinernema* sp. สามารถดำรงชีพและเคลื่อนที่เข้าหาเหยื่อได้ดีในทรายหยาบ ทรายขนาดกลาง และทรายละเอียด แต่ขนาดของทรายที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อการอยู่ดำรงชีพ การเคลื่อนที่ และประสิทธิภาพเช่นกัน จากผลการศึกษาพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถคงอยู่ในมูลวัวได้นาน 7 วัน และยังมีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ทั้งนี้เนื่องมาจากปุ๋ยคอกและมูลสัตว์จะช่วยเพิ่มความพรุนของดิน ความสามารถในการกักเก็บความชื้น และอินทรียวัตถุ ที่มีความเหมาะสมในการ ดำรงชีพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Jabbour and Barbercheck, 2008) มีรายงานการวิจัยในห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลอง และภาคสนามชี้ให้เห็นว่าการคงอยู่และการเข้าทำลายเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับสัดส่วนร้อยละของปริมาณทราย ตะกอน และสารอินทรีย์ที่ปรากฏในดิน แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับสัดส่วนร้อยละของปริมาณดินเหนียว และค่าการนำไฟฟ้า (Campos-Herrera et al., 2008) นอกจากนั้นการศึกษานี้ยังพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ ได้อาศัยอยู่ในพื้นที่หรือวัสดุอาศัยที่เหมาะสม ซึ่งจะส่งผลให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีชีวิตรอดและยังคงแสดงประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงได้นานมากกว่า 1 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Noitubtim et al. (2022) ที่รายงานว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* (Steiner), *H. bacteriophora, H. indica*

EPNKU80 และ *S. siamkayai* มีความสามารถในการดำรงชีพในดินที่มีความชื้น 15.5% (w/v) และแสดงประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ดีในวันที่ 1 และ 15 วัน หลังการพ่นลงดิน โดยพบการตายของหนอนกินรังผึ้งเท่ากับ 80-97% และ 58-84% ตามลำดับ แต่การตายของหนอนกินรังผึ้งจะลดลงเหลือต่ำกว่า 29% หลังการพ่นลงดิน 30-45 วัน

ผลการผ่าพิสูจน์ซากหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อประเมินจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่สามารถเข้าทำลายเหยื่อ พบว่าซากหนอนที่ตายในระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลและพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในซากหนอนทั้งหมด จำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่พบในซากหนอนมีจำนวนลดลงเมื่อจำนวนวันของการทดลองการคงอยู่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพิ่มขึ้น (F=27.98; df=7, 232; P<0.01) ซึ่งจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่พบในซากหนอนทั้งในชุดการทดลองหยดในทรายมีจำนวนเฉลี่ยของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อยู่ในซากหนอนระหว่าง 13-48 ตัว ขณะที่ในมูลวัวมีจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในซากหนอนอยู่ระหว่าง 5-43 ตัว **(Figure 1d)** สอดคล้องกับการศึกษาของ Noitubtim et al. (2022) ที่รายงานว่า พบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในซากแมลงอาศัยเมื่อผ่าพิสูจน์ซากหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ที่ตายและเปลี่ยนสีจากการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ซึ่งจำนวนของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะตัวอ่อนที่ 4 หรือตัวเต็มวัยที่เจริญเติบโตภายในซากแมลงจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และระยะเวลาของการคงอยู่ในดิน โดยเมื่อปล่อยให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงคงอยู่ในดิน 1 วัน ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสกุล *Heterorhabditis* (55-69 ตัว/ซากหนอน) จะพบจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในซากหนอนมากกว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสกุล *Steinernema* (22-45 ตัว/ซากหนอน) อย่างไรก็ตาม เมื่อปล่อยให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงคงอยู่ในดินนานขึ้นเป็น 15, 30 และ 45 วัน พบจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทุกชนิดลดลงและพบมากสุดเพียง 11, 1 และ 1 ตัว/ซากหนอน เท่านั้น ถึงแม้ว่าการศึกษานี้ผลการทดลองส่วนใหญ่พบจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในซากหนอนจำนวนไม่มาก แต่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ได้ สอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ในการเข้าทำลายด้วงหนวดยาว *Ospheranteria coerulescens* ที่อัตรา 5 IJs/หนอน 1 ตัว สามารถทำให้หนอนด้วงหนวดยาวมีอัตราการตายมากถึง 65% ภายใน 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ (Sharifi et al., 2014) อย่างไรก็ตามความสามารถในการอยู่รอดและการเข้าทำลายแมลงอาศัยของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถแปรผันได้ตามสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงแต่ละสายพันธุ์ และอาจแสดงออกถึงความแตกต่างในความทนทานต่อมูลวัวด้วย (Molyneux et al., 1983)

การศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายเหยื่อในแนวระนาบของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ความสามารถในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ในแนวระนาบของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีระยะทางห่างจากเหยื่อ 4 ระยะ (0, 5, 10 และ 15 ซม.) ที่อัตรา 25 IJs/ตร.ซม. พบว่า ในชุดควบคุมของทรายและมูลวัวที่ไม่หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะไม่พบการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ตลอดระยะเวลาการทดสอบ สำหรับชุดทดลองที่หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง พบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ในมูลวัวและทรายมีความสามารถในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้แตกต่างกัน (F=127.80; df=15, 32; P<0.01) โดยที่ 24 ชั่วโมงแรก ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเคลื่อนที่ในทรายได้ดีที่ระยะทาง 0-5 ซม. ซึ่งมีค่าการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 เท่ากับ 100% และลดลงต่ำกว่า 50% ที่ระยะทาง 10 ซม. ขึ้นไป ในขณะที่ชุดการทดลองด้วยมูลวัวพบการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ที่ระยะทาง 0 ซม. (63.33%) เท่านั้น **(Figure 2a)** การตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง (F=167.70; df=15, 32; P<0.01) โดยในทราย 0-15 ซม. และในมูลวัวที่ระยะ 0-10 ซม. พบการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 เพิ่มมากขึ้นไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 83.33-100.00% ในขณะที่ในมูลวัวที่ระยะ 15 ซม. พบการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 เพียง 33.33% **(Figure 2b)** และการตายของหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 เพิ่มขึ้นเป็น 90.00-100.00% และ 96.67-100.00% เมื่อเวลาผ่านไป 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ **(Figure 2c** และ **2d)**

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Poinar and Hom (1986) ที่รายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ที่ใช้บนดินร่วนในร่องสวนสามารถคงอยู่ในธรรมชาติได้นานถึง 7 สัปดาห์ และยังเคลื่อนที่ในแนวระนาบได้มากกว่า 40 ซม. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่ได้ 4.35 ซม./วัน อย่างไรก็ตามเมื่อระยะห่างระหว่างไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและเหยื่อเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลายแมลงได้ช้าลง เนื่องจากสารประกอบทางเคมี (chemical compounds) ที่ปล่อยออกมาจากเหยื่อมีความเจือจางลงตามระยะทางที่

เพิ่มขึ้นและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตรวจจับเหยื่อได้ยากขึ้น (Torr et al., 2004) ความพรุนของดินเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการอยู่อาศัยในสภาพแวดล้อมของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ดินที่มีรูพรุนระหว่างอนุภาคขนาดเล็กมาก ทำให้การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงยากขึ้น ในขณะที่ดินทรายชื้นหรือดินที่มีการใส่ปุ๋ยคอก มีรูพรุนขนาดใหญ่ระหว่างอนุภาค จะเหมาะสำหรับการกระจายตัวของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Kaya and Gaugler 1993)

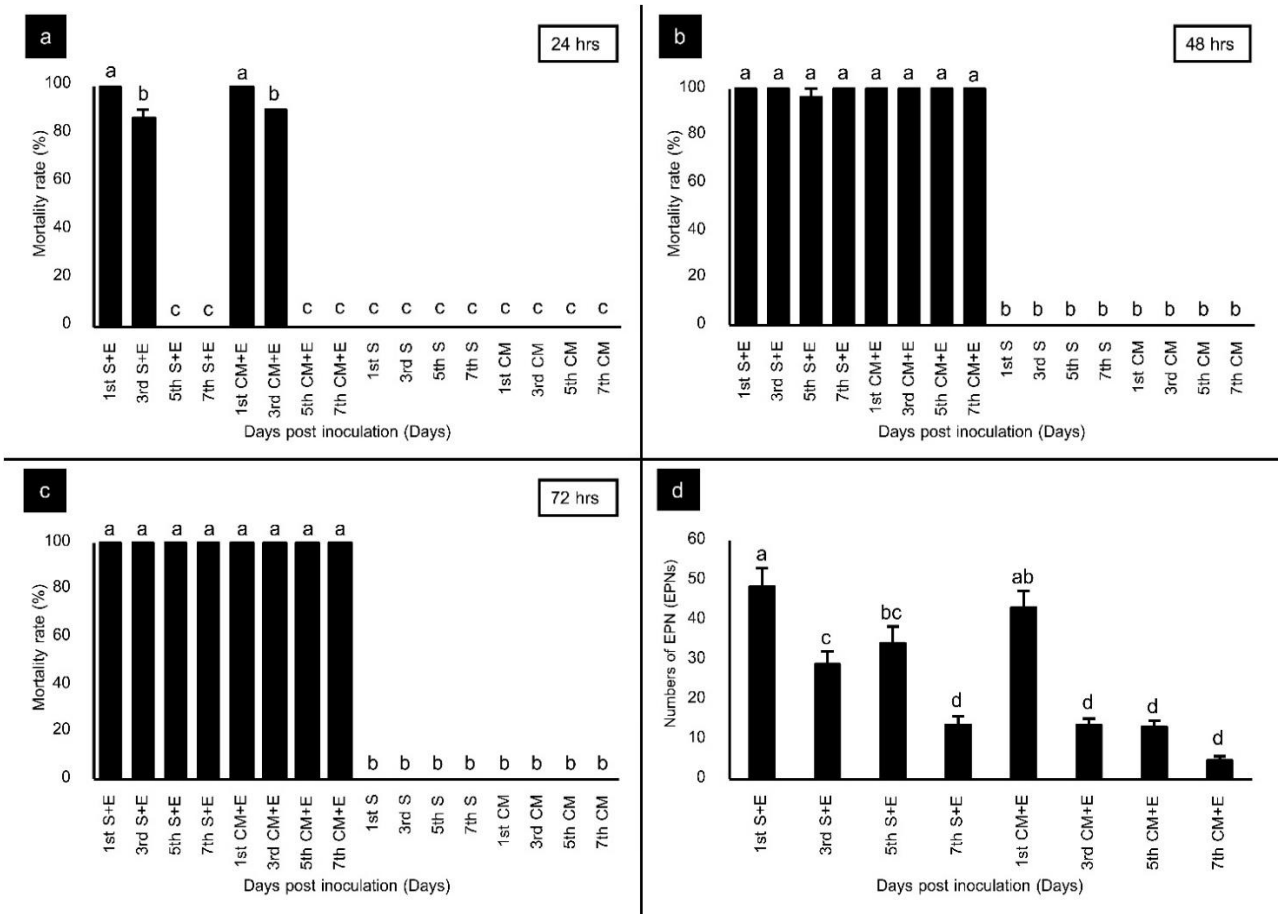

Figure 1 Mean (±SE) mortality of 5th instar larvae of *Galleria mellonella* treated with *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 at 24, 48 and 72 hrs after exposure (a-c) and number of nematodes (mean±SE) inside the insect cadavers on sand and cow manure at 72 hrs after treatment (d). Bars with the same letter do not differ significantly at p=0.05. S+E = sand with *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60, CM+E = cow manure with *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60, S = sand without *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 and CM = cow manure without *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60.

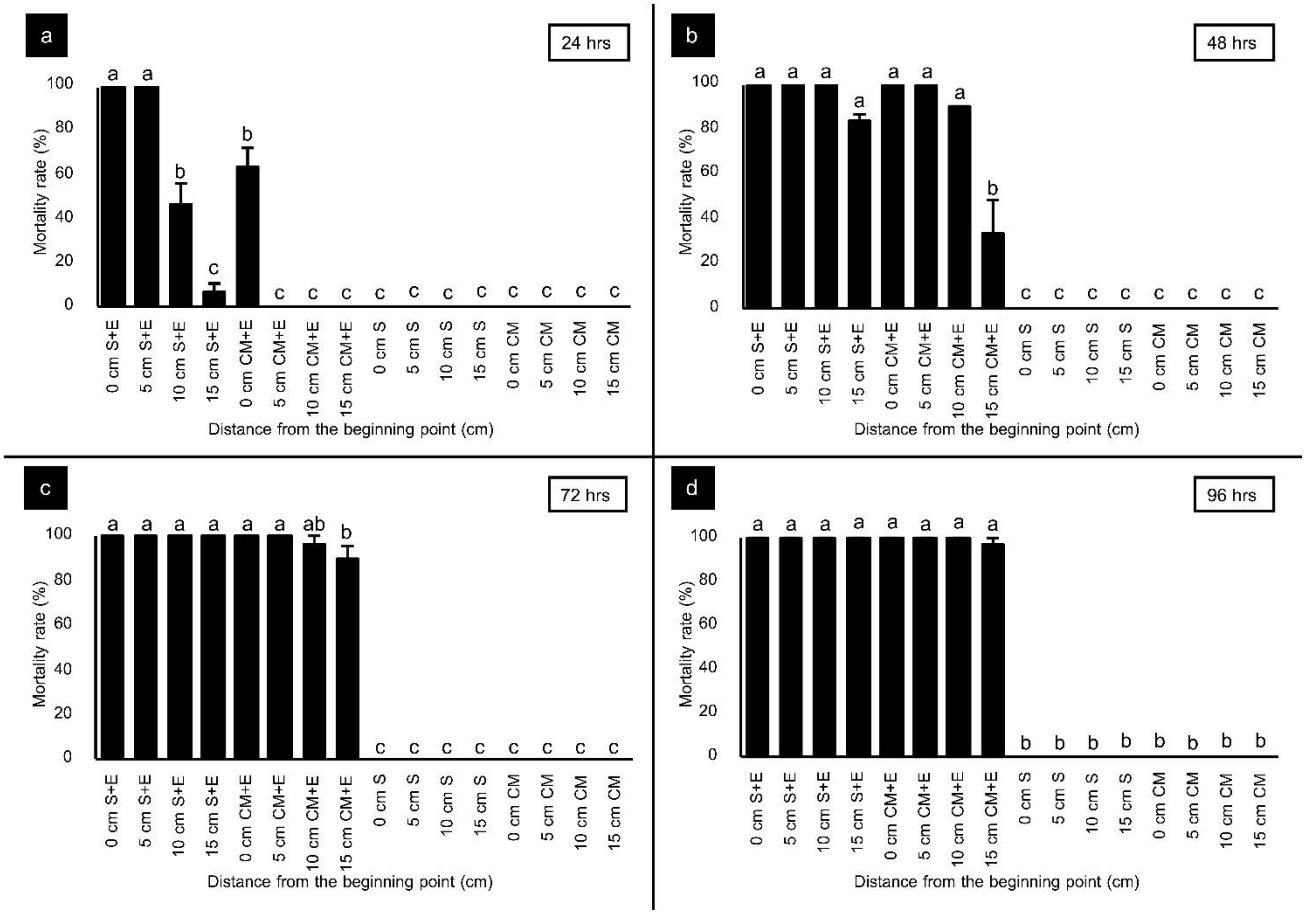

Figure 2 Mean (±SE) mortality of 5th instar larvae of *Galleria mellonella* caused by the invasion of *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 at the distances of 0, 5, 10 and 15 cm in soil and cow manure at 144 hours after treatment. Bars with the same letter do not differ significantly at p=0.05. S+E = sand with *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60, CM+E = cow manure with *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60, S = sand without *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 and CM = cow manure without *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60.

การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายแมลงวันคอกสัตว์ภายใต้ห้องปฏิบัติการ

ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2, 3 และดักแด้ พบว่า ชุดควบคุมของทั้ง 3 วัยที่ไม่หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ไม่พบการตายตลอดระยะเวลาการทดสอบ และไม่พบการเข้าทำลายของไส้เดือยฝอยศัตรูแมลงของทุกอัตราการใช้ในระยะดักแด้ หนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 และ 3 แสดงความอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในแต่ละอัตราการใช้มีความแตกต่างกัน (F=8.00; df=4, 10; P<0.01 และ F=4.66; df=4, 10; P<0.01 ตามลำดับ) โดยหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 เริ่มตาย (6.67-13.33%) ที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังการทดสอบ และมีการตายมีเพิ่มมากขึ้นในช่วง 72-120 ชั่วโมงหลังการทดสอบ และที่เวลา 144 ชั่วโมงหลังการทดสอบ มีค่าการตายอยู่ระหว่าง 70.00-100.00% สำหรับหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 3 เริ่มตาย (3.33%) ที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังการทดสอบเช่นเดียวกัน แต่ยังพบการตายค่อนข้างต่ำ (3.33-13.33%) ที่เวลา 96 ชั่วโมงหลังการทดสอบ จากนั้นพบการตายเพิ่มมากขึ้นในช่วง 96-120 ชั่วโมงหลังการทดสอบ และที่เวลา 144 ชั่วโมงหลังการทดสอบมีค่าการตายอยู่ระหว่าง 46.67-86.67% **(Table 1)**

ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับหลายผลการวิจัยที่พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 และ 3 ได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ และมีค่าการตายของหนอนแมลงวันคอกสัตว์สูงถึง 80-100% ตัวอย่างเช่น ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* ที่อัตรา 300-500 IJs/มล. สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์ *S. calcitrans* วัยที่ 3 ได้ 83-100% ที่เวลา 3 วันหลังการทดสอบ (Mahmoud et al., 2007) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *H. bacteriophora* HP88 และ *H. baujardi* LPP7 อัตรา 50-200 IJs/ตัวอ่อน สามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์ *S. calcitrans* วัยที่ 3 ได้สูงมากกว่า 90% และ 60% ตามลำดับ ที่เวลา 4 วันหลังการทดสอบ และยังพบว่าการตายจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น (Leal et al., 2017) อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาพบว่าในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการทดสอบครั้งนี้ไม่พบการตายของหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 ที่เกิดจากการเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mahmoud et al. (2007) ที่รายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* ที่อัตรา 50-300 IJs/มล. และเริ่มพบการตายของหนอนเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ แต่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* ที่อัตราข้างต้นสามารถเข้าทำลายหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 3 ได้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกของการทดสอบ โดยปกติไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะมีความสามารถทำให้แมลงอาศัยตายได้ภายใน 24-48 ชั่วโมงหลังการใช้ (Kaya and Gaugler, 1993; Lewis and Clarke, 2012) ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง โดยเฉพาะชนิด/สายพันธุ์/ไอโซเลทของแมลงเป้าหมายและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ซึ่งหลายงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงได้ดีหลังจากใช้งานไปแล้ว 48 ชั่วโมง (รัตนาวดี และคณะ, 2564; Noosidum et al., 2010, 2021)

นอกจากนั้น จากผลการทดลองสังเกตได้ว่าหนอนแมลงวันคอกสัตว์มีอัตราการตายมากขึ้นเมื่อเวลาทดสอบผ่านไป 96 ชั่วโมง เนื่องมาจากหนอนมีการลอกคราบเปลี่ยนจากหนอนของแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 เข้าสู่วัยที่ 3 ภายใน 24-27 ชั่วโมง (Parr, 1962) ซึ่งช่วงเวลาการลอกคราบเปลี่ยนวัยของแมลงเป็นช่วงที่แมลงมีความอ่อนแอต่อศัตรูธรรมชาติ เช่น มีผนังลำตัวบางกว่าปกติ มีช่องเปิดธรรมชาติที่บอบบางลง เคลื่อนไหวช้า และกินอาหารหลังลอกคราบเสร็จใหม่ ส่งผลให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง สามารถเข้าทำลายแมลงได้ทางช่องเปิดธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นปาก ทวารหนัก และรูหายใจของแมลง (Bedding et al., 1983) จึงเป็นช่วงเวลาที่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีโอกาสเข้าทำลายแมลงได้ง่ายขึ้น (Griffin et al., 2005) จึงสอดคล้องกับ Leal et al. (2017) ที่รายงานว่าเมื่อตัวอ่อนแมลงวันคอกสัตว์ชนิดนี้ที่ใช้ในการศึกษามีอายุมากขึ้นระหว่างการทดลอง พบว่าตัวอ่อนมีการลอกคราบเกิดขึ้นพร้อมกับกระบวนการการติดเชื้อโดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *H. bacteriophora* HP88 และ *H. baujardi* LPP7 โดยพบกรณีเดียวกันในแมลงวันกลุ่มใกล้เคียงที่เป็นระยะหนอนของแมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* (Wiedemann) ที่มีผนังลำตัวส่วนที่แข็งน้อยกว่าปกติเหมาะกับการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมากกว่าเช่นกัน (Rohde et al., 2020)

จากการทดสอบเห็นได้ว่าหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมากกว่าหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 3 สอดคล้องกับรายงานของ Toledo et al. (2001) ที่พบว่า หนอนแมลงวันผลไม้ *Anastrepha ludens* (Loew) ที่อายุน้อยกว่ามีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *H. bacteriophora* และการก่อโรคของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงขึ้นอยู่กับการพัฒนาตัวและอายุของแมลง (Heve et al., 2017) อีกทั้งในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบการเข้าทำลายของไส้เดือยฝอยศัตรูแมลงในระยะดักแด้ที่เหมือนกับผลการทดลองของ Leal et al. (2017) ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่พบว่าระยะตัวอ่อน (ระยะหนอน) อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมากกว่าระยะดักแด้ (Toledo et al., 2005; Heve et al., 2017; Leal et al., 2017; Noosidum et al., 2016, 2021) เนื่องจากเมื่อแมลงเข้าสู่ระยะดักแด้ แมลงจะสร้างผนังลำตัวที่แข็งเพิ่มขึ้น รูหายใจที่แข็งและเล็กลง ประกอบกับระยะดักแด้ของแมลงจะไม่มีการกินอาหารและขับถ่าย (Snodgrass, 1954) จึงส่งผลให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีโอกาสการเข้าทำลายเหยื่อทางช่องเปิดธรรมชาติได้ยากขึ้น โดยเฉพาะไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในวงศ์ Steinernematidae (Mahmoud et al., 2007) นอกจากนั้น ระยะหนอนมีโอกาสถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลายสูงกว่าระยะดักแด้ เพราะระยะหนอนมีกิจกรรมที่มีการปลดปล่อยก๊าซ CO_2 ที่สูงขึ้นซึ่งเป็นการดึงดูดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมากขึ้น (Shapiro-Ilan et al., 2017)

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจัดเป็นการควบคุมโดยชีววิธีที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมระยะตัวอ่อนแมลงวันคอกสัตว์ได้ อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพและความสำเร็จของการใช้นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ความสามารถในการคงอยู่ในดินหรือวัสดุ

(Molyneux et al., 1983) รวมถึงอุณหภูมิ ความชื้น ลักษณะดิน วิธีการใช้ และความแข็งแรงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอีกด้วย (Grewal et al., 2005) ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถคงอยู่ได้ในมูลวัวเป็นระยะเวลา 7 วัน และยังมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายตัวอ่อนแมลงได้ดี การศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มระยะเวลาการคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในมูลวัวที่ยาวนานขึ้น และการเพิ่มขนาดพื้นที่ศึกษาวิจัย รวมไปถึงการศึกษาในสภาพแปลงจะช่วยยืนยันประสิทธิภาพและทราบแนวทางการพัฒนาเทคนิคในการนำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูปศุสัตว์ให้ประสบความสำเร็จได้ต่อไป

Table 1 Mean (±SE) mortality of *Stomoxys calcitrans* infected with the infective juvenile stage of *Steinernema hermaphroditum* EPNKU60 exposed to different concentrations [control (0), 12, 25, 50 and 100 IJs/cm^2] for 144 hours after application

Stages	Mortality rate (%)					
	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours	120 hours	144 hours
L2						
Rates						
12 IJs	0.00±0.00Ad[1/]	0.00±0.00Bd	20.00±0.00Cc	36.67±3.33Ab	90.00±5.77Aa	100.00±0.00Aa
25 IJs	0.00±0.00Ac	0.00±0.00Bc	26.67±3.33BCbc	46.67±8.82Aab	76.67±13.33ABa	83.33±16.67Aa
50 IJs	0.00±0.00Ac	13.33±3.33Abc	40.00±0.00Aab	60.00±11.55Aa	63.33±8.82ABa	70.00±10.00Aa
100 IJs	0.00±0.00Aa	6.67±3.33ABd	33.33±3.33ABc	53.33±3.33Ab	53.33±3.33Bb	73.33±3.33Aa
control	0.00±0.00Aa	0.00±0.00Ba	0.00±0.00Da	0.00±0.00Ba	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ba
L3						
Rates						
12 IJs	0.00±0.00Ac	0.00±0.00Ac	0.00±0.00Bc	3.33±3.33Cc	23.33±3.33Cb	46.67±3.33Ba
25 IJs	0.00±0.00Ac	3.33±3.33Ac	3.33±3.33ABc	36.67±3.33Bb	53.33±3.33Bab	66.67±8.82ABa
50 IJs	0.00±0.00Ac	3.33±3.33Ac	6.67±3.33ABc	10.00±0.00Cc	30.00±0.00Cb	66.67±3.33ABa
100 IJs	0.00±0.00Ac	0.00±0.00Ac	13.33±3.33Ac	70.00±5.77Ab	86.67±5.77Aa	86.67±3.33Aa
control	0.00±0.00Aa	0.00±0.00Aa	0.00±0.00Ba	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Da	0.00±0.00Ca

[1/] Means±SE followed by the same letters (uppercase letters for comparison results in the same column and lowercase letters for comparison results in the same row) are not significantly different as determined by Tukey's test at P=0.05.

สรุป

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ระยะ IJs สามารถคงอยู่ในมูลวัวหลังการฉีดพ่นได้นานถึง 7 วัน ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดนี้ที่อาศัยในมูลวัวเป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน สามารถเข้าทำลายตัวอ่อนหนอนกินรังผึ้งวัยที่ 5 ได้ 100% ภายในระยะเวลา 48-72 ชั่วโมงหลังการทดสอบกับหนอนกินรังผึ้ง และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดนี้ยังมีความสามารถในการเข้าทำลายแมลงในแนวระนาบไกลถึง 15 ซม. หนอนแมลงวันคอกสัตว์ *S. calcitrans* วัยที่ 2 มีความอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 มากกว่าหนอนวัยที่ 3 และระยะดักแด้ภายใต้ห้องปฏิบัติการ การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. hermaphroditum* EPNKU60 ที่อัตรา 12 IJs/ตร.ซม. สามารถใช้กำจัดหนอนแมลงวันคอกสัตว์วัยที่ 2 ได้สูงถึง 90%

ที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง (5 วัน) หลังการทดสอบ ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ฉีดพ่นลงบนมูลวัวนั้นสามารถออกฤทธิ์ได้นานถึง 7 วันในการฉีดพ่นแต่ละครั้ง

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก Participatory and Integrative Support for Agricultural Initiative (PISAI project) และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [(FFS-KU)2.66] ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และคนงานประจำคอกวัว วัดสวนแก้ว อำเภอบางใหญ่ จังหวัดนนทบุรี ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บตัวอย่างแมลงวันคอกสัตว์และมูลสัตว์

เอกสารอ้างอิง

จุรีพร สุคติภูมิ, นริศ ท้าวจันทร์ และประกายจันทร์ นิ่มกิ่งรัตน์. 2565. ศักยภาพในการควบคุมแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae) โดยไส้เดือนฝอยและเชื้อราก่อโรคแก่แมลง. แก่นเกษตร. 50(5): 1459-1471.

ประกายจันทร์ นิ่มกิ่งรัตน์ และทิพย์สุคนธ์ อนุภาพ. 2560. ประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ไทย *Steinernema siamkayai* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลง. แก่นเกษตร. 45(ฉบับพิเศษ 1): 475-480.

รัตนาวดี อ่อนวงษ์, นิยาภรณ์ ขวัญเกตุ, อัศเลข รัตนวรรณี, ประกาย ราชณุวงษ์ และอธิราช หนูสีดำ. 2564. การจำแนกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง สกุล *Heterorhabditis* ในประเทศไทยด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลและการก่อโรคต่อหนอนกินรังผึ้ง, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). แก่นเกษตร. 49(6): 1583-1596.

Azevedo, L. H., M. P. Ferreira, R. C. Castilho, P. D. Cancado, and G. J. Moraes. 2018. Potential of *Macrocheles* species (Acari: Mesostigmata: Macrochelidae) as control agents of harmful flies (Diptera) and biology of *Macrocheles embersoni* Azevedo, Castilho and Berto on *Stomoxys calcitrans* (L.) and *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Biological Control. 123: 1-8.

Bedding, R. A., A. S. Molyneux, and R. J. Akhurst. 1983. *Heterorhabditis* spp., *Neoaplectana* spp., and *Steinernema kraussei*: Interspecific and intraspecific differences in infectivity for insects. Experimental Parasitology. 55: 249-257.

Campos-Herrera, R., J.M. Go´mez-Ros, M. Escuer, L. Cuadra, L. Barrios, and C. Gutierrez. 2008. Diversity, occurrence, and life characteristics of natural entomopathogenic nematode populations from La Rioja (Northern Spain) under different agricultural management and their relationships with soil factors. Soil Biological Chemistry. 40(6): 1474-1484.

Clark, B. 2001. Virulence and persistence of entomopathogenic nematodes toward filth flies in cattle feedlot manure. M. S. Thesis. University of Nebraska Lincoln, NE.

Cook, D. F., D. V. Telfer, J. B. Lindsey, and R. A. Deyl. 2018. Substrates across horticultural and livestock industries that support the development of stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). Austral Entomology. 57(3): 1-5.

Glazer, I., and E. E. Lewis. 2000. Bioassays for entomopathogenic nematodes. pp. 229-247. In: A. Navon and K. R. S. Ascher. Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes. CABI Publishing, Wallingford, The United Kingdom.

Griffin, C. T., N. E. Boemare, and E. E. Lewis. 2005. Biology and behaviour. pp. 47-64. In: P. S. Grewal, R. U. Ehlers, and D. I. Shapiro-Ilan. Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing. Wallingford. The United Kingdom.

Heve, W. K., F. E. El-Borai, D. Carrillo, and L. W. Duncan. 2017. Biological control potential of entomopathogenic nematodes for management of Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* Loew (Tephritidae). Pest Management Science. 73(6): 1220-1228.

Jabbour, R., and M. E. Barbercheck. 2008. Soil and habitat complexity effects on movement of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in maize. Biological Control. 47(2): 235-243.

Kaya, H. K., and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology. 38: 181-206.

Kung, S. P., R. R. Gaugler, and H. K. Kaya. 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. Journal of Nematology. 22(4): 440-445.

Leal, L. C. S. R., C. M. O. Monteiro, A. É. Mendonça, V. R. E. P. Bittencourt, and A. J. Bittencourt. 2017. Potential of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis* for the control of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria. 26(4): 451-456.

Lewis, E. E., and D. J. Clarke. 2012. Nematode parasites and Entomopathogens. pp. 395-424. In: F. Vega and H. K. Kaya. Insect Pathology. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.

Machtinger, E. T., C. J. Geden, P. E. Kaufman, and A. M. House. 2015. Use of pupal parasitoids as biological control agents of filth flies on equine facilities. Journal of Integrated Pest Management. 6(1): 1-10.

Mahmoud, F. M., N. S. Mandour, and Y. I. Pomazkov. 2007. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* Cross N 33 against larvae and pupae of four fly species in the laboratory. Nematologia Mediterranea. 35(2): 221-226.

Malaithong, N., G. Duvallet, R. Ngoen-Klan, M. J. Bangs, and T. Chareonviriyaphap. 2019. Stomoxyinae flies in Thailand: A Précis, with abridged taxonomic key to the adult species. Vector-Borne Zoonotic Diseases. 19(6): 385-394.

Mihok, S., E. K. Kang'ethe, and G. K. Kamau. 1995. Trials of traps and attractants for *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae). Journal of Medical Entomology. 32(3): 283-289.

Molyneux, A. S., R. A. Bedding, and R. J. Akhurst. 1983. Susceptibility of larvae of the sheep blow fly *Lucilia cuprina* to various *Heterorhabditis* spp., *Neoaplectana* spp. and an undescribed Steinernematid (Nematoda). Journal of Invertebrate Pathology. 42(1): 1-7.

Moraes, A. P. R. 2007. *Stomoxys calcitrans*: estabelecimento de colônia e efeito de *Metarhizium anisopliae* sobre seus estágios imaturos. M. S. Thesis. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Noitubtim, P., B. L. Caoili, and A. Noosidum. 2022. Productivity of five entomopathogenic nematodes in *Galleria mellonella* L. and their persistence in soil under laboratory conditions. International Journal of Agricultural Technology. 18(2): 667-678.

Noosidum, A., A. K. Hodson, E. E. Lewis, and A. Chandrapatya. 2010. Characterization of new entomopathogenic nematodes from Thailand: foraging behavior and virulence to the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Nematology. 42(4): 281-291.

Noosidum, A., P. Satwong, A. Chandrapatya, and E. E. Lewis. 2016. Efficacy of *Steinernema* spp. plus anti-desiccants to control two serious foliage pests of vegetable crops, *Spodoptera litura* F. and *Plutella xylostella* L. Biological Control. 97: 48-56.

Noosidum, A., S. Mangtab, and E. E. Lewis. 2021. Biological control potential of entomopathogenic nematodes against the striped flea beetle, *Phyllotreta sinuata* Stephens (Coleoptera: Chrysomelidae). Crop Protection. 144: 105448.

Parr, H. C. M. 1962. Studies on *Stomoxys calcitrans* (L.) in Uganda (Diptera). Journal of the Entomological Society of Southern Africa. 25(1): 73-81.

Pitzer, J. B., P. E. Kaufman, J. A. Hogsette, C. J. Geden, and S. H. Tenbroeck. 2011. Seasonal abundance of stable flies and filth fly pupal parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) at Florida equine facilities. Veterinary Entomology. 104(3): 1108-1115.

Poinar, G. O., and A. Hom. 1986. Survival and horizontal movement of infective stage *Neoaplectana carpocapsae* in the field. Journal of Nematology. 18(1): 34-6.

Rochon, K., J. A. Hogsette, P. E. Kaufman, P. U. Olafson, S. L. Swiger, and D. B. Taylor. 2021. Stable Fly (Diptera: Muscidae)-biology, management, and research needs. Journal of Integrated Pest Management. 12(1): 38: 1-23.

Rohde, C., N. R. Mertz, and Jr. A. Moino. 2020. Entomopathogenic nematodes on control of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). Revista Caatinga. 33(4): 974-984.

Salem, A., M. Franc, P. Jacquiet, E. Bouhsira, and E. Liénard. 2012. Feeding and breeding aspects of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. Parasite. 19(4): 309-317.

Shapiro-Ilan, D. I., H. G. Dawn, J. P. Simon, and P. F. Jane. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. Biological Control. 38(1): 124-133.

Shapiro-Ilan, D. I., S. Hazir, and I. Glazer. 2017. Basic and Applied Research: Entomopathogenic Nematodes. pp. 91-105. In: L. A. Lacey. Microbial Control of Insect and Mite Pests from Theory to Practice. Academic Press, Amsterdam, The Netherlands.

Sharifi, S., J. Karimi, M. Hosseini, and M. Rezapanah. 2014. Efficacy of two entomopathogenic nematode species as potential biocontrol agents against the rosaceae longhorned beetle, *Osphranteria coerulescens*, under laboratory conditions. Nematology. 16(6): 729-737.

Snodgrass, R. E. 1954. Insect Metamorphosis. The Smithsonian Institution, WA.

Taylor, D. B., R. D. Moon, and D. R. Mark. 2012. Economic impact of stable flies (Diptera: Muscidae) on dairy and beef cattle production. Journal of Medical Entomology. 49: 198-209.

Toledo, J. J., E. Ibarra, P. Liedo, A. Gómez, M. A. Rasgado, and T. Williams. 2005. Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. Biocontrol Science and Technology. 15(6): 627-634.

Toledo, J. J., L. Gurgúa, P. Liedo, J. E. Ibarra, and A. Oropeza. 2001. Parasitismo de larvas y pupas de la mosca mexicana de la fruta, *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) por el nemátodo *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae). Vedalia. 8: 27-36.

Torr, P., S. Heritage, and M. J. Wilson. 2004. Vibrations as a novel signal for host location by parasitic nematodes. International Journal for Parasitology. 34(9): 997-999.

White, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science. 66(1709): 302-303.

Zumpt, F. K. E. 1973. The Stomoxyine Biting Flies of the World. Diptera: Muscidae. Taxonomy, biology, economic importance and control measures. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.