

การเพิ่มประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สาเหตุโรคของแมลง เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าวโดยชีววิธี

Enhancing the Efficiency of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* for Biological Control of Rice Pest Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål))

พยอมน โคเบลล์^{1),*} ไอลดา ชูมแสง¹⁾ อริษา จิตตกรกุล²⁾ ธีรดา หวังสมบุญดี³⁾
Payorn Cobelli^{1),*} Ilada Choomsang¹⁾ Arisa Jittikornkul²⁾ Teerada Wangsomboondee³⁾

Abstract

The brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål) is an important rice insect pest in Thailand. The Rice Department has recommended the effective biopesticide of the fungus *Metarhizium anisopliae* (MNNKI033 (WT)) for biological control of BPH, without harming natural enemies, human health and the environment. However, the environmental factors such as high temperature and chemical control for rice pest in rice production system are impact to the control efficiency of *M. anisopliae* under field conditions. This research aimed to screen for thermotolerant and pesticide resistant isolates from an effective mutant isolate of Rice Department for BPH control and to enhance BPH control efficiency in rice field. The experiments were conducted at Division of Rice Research and Development and Ubon Ratchathani Rice Research Center during 2023-2025. Mutagenesis of the original isolate *M. anisopliae* (MNNKI033 (WT)) was induced using gamma-ray (132 isolates) and ethyl methanesulfonate (EMS) (95 isolates) at the concentration causing an 81% cell lethality. A total of 25 and 21 mutant isolates were selected based on the growing rate from gamma radiation and EMS mutant respectively. The higher spore production of 10 mutant isolates were further screened for thermotolerant and pesticide resistant abilities. The results showed that all 10 mutant isolates were able to grow at 45°C and resistant to dinotefuran, buprofezin and tricyclazole. Three mutant isolates from gamma-irradiated (MNNKI033_RD_2023_MTG_7, MNNKI033_RD_2023_MTG_9, MNNKI033_RD_2023_MTG_10) and 3 mutant isolates from EMS-treated (MNNKI033_RD_2023_MTE_8, MNNKI033_RD_2023_MTE_13 and MNNKI033_RD_2023_MTE_14) were evaluated for their effectiveness in controlling BPH in the 3 experiments at greenhouse condition. The results showed that MNNKI033_RD_2023_MTG_9 presented 77.61% of average cumulative mortality against BPH, which was consistent with trials conducted in an organic irrigated lowland paddy field of 2025, where isolate MNNKI033_RD_2023_MTG_9 caused an average cumulative mortality of 42.87%. The results were significantly different ($p < 0.05$) from biopesticide of DOAE (MNDOAE) and without application of biopesticide. In addition, the mean median lethal times (LT_{50}) of isolates MNNKI033_RD_2023_MTG_9 was less than isolate from wild type of Rice Department (MNNKI033 (WT)), DOAE (MNDOAE) and without application of biopesticide. This result indicates its potential as an improved biopesticide efficiency under challenging field condition.

Keywords: rice, brown planthopper, biopesticide, *Metarhizium anisopliae*, mutant, gamma-ray, ethyl methanesulfonate, biological control

Received: June 15, 2025/ Revised: August 11, 2025/ Accepted: August 11, 2025

* corresponding author E-mail: payomsri@gmail.com

¹⁾ กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0-2579-7892

Division of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-7892

²⁾ ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี อ.เมือง จ. อุบลราชธานี 34000 โทร. 0-4534-4104

Ubon Ratchathani Rice Research Center, Mueang, Ubon Ratchathani 34000 Tel. 0-4534-4104

³⁾ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2185-5476

Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330 Tel. 0-2185-5476

บทคัดย่อ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญต่อการปลูกข้าวในประเทศไทย กรมการข้าวแนะนำให้ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (MNNKI033 (WT)) ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อย่างไรก็ตาม ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิที่สูงขึ้นและการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวในระบบการผลิตข้าว ส่งผลต่อประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อรา *M. anisopliae* ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา เพื่อคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และเพิ่มประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาจึงได้ดำเนินการวิจัยที่กองวิจัยและพัฒนาข้าว และศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ในช่วงปี พ.ศ. 2566-2568 โดยการชักนำให้เชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (WT)) สายพันธุ์เดิมของกรมการข้าว ให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา และสารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulfonate (EMS)) ได้เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายจากการฉายรังสีแกมมา ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายร้อยละ 81 จำนวน 132 ไอโซเลท และสาร EMS จำนวน 95 ไอโซเลท จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์กลายที่มีอัตราการเจริญเติบโตทางเส้นใยดี จากการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา จำนวน 25 ไอโซเลท และสาร EMS จำนวน 21 ไอโซเลท นำสายพันธุ์กลายจากรังสีแกมมาและสาร EMS ที่มีความสามารถในการสร้างสปอร์สูง จำนวน 10 ไอโซเลท มาคัดเลือกความทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง และทนทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช พบว่า เชื้อราสายพันธุ์กลายทั้ง 10 ไอโซเลท มีการเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และทนทานต่อสารไดโนทีฟูแรน บิวโทรเฟซิน และไตรไซโคลาโซล จึงนำเชื้อสายพันธุ์กลาย จำนวนอย่างละ 3 ไอโซเลท จากรังสีแกมมา (MNNKI033_RD_2023_MTG_7, MNNKI033_RD_2023_MTG_9 และ MNNKI033_RD_2023_MTG_10) และจากสาร EMS (MNNKI033_RD_2023_MTE_8, MNNKI033_RD_2023_MTE_13 และ MNNKI033_RD_2023_MTE_14) มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง จำนวน 3 การทดลอง พบเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร้อยละ 77.61 จากชีวภัณฑ์เชื้อราสายพันธุ์กลาย ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 สอดคล้องกับผลการทดลองในสภาพนาอินทรีย์ ฤดูนาปรังปี 2568 ที่ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยร้อยละ 42.87 ซึ่งผลการทดลองทั้งสองแตกต่างจากการใช้ชีวภัณฑ์จากสายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร และการไม่ใช้ชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และระยะเวลาที่ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (Lethal Time: LT_{50}) มีค่าน้อยกว่าไอโซเลทจากสายพันธุ์เดิมกรมการข้าว (MNNKI033 (WT)) และกรมส่งเสริมการเกษตร (MNDOAE) ซึ่งจากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ในการเพิ่มประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลภายใต้แปลงนาที่มีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม

คำสำคัญ: ข้าว เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ชีวภัณฑ์ *Metarhizium anisopliae* การกลายพันธุ์ รังสีแกมมา สารเอธิลมีเทนซัลโฟเนต การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี

คำนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญของประเทศไทยและหลายประเทศในทวีปเอเชีย (วันทนา, 2553; Pathak and Khan, 1994; Bao and Zhang, 2019; Iamba and Dono, 2021; Muazu *et al.*, 2024) ในประเทศไทย มีรายงานการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลครั้งแรกเมื่อ ปี พ.ศ. 2512 ในข้าวพันธุ์ กข1 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่สถานีทดลองข้าว

บางเขน กรุงเทพฯ (ปรีชา, 2545) ในอดีตตั้งแต่ พ.ศ. 2532-2533 และ พ.ศ. 2552-2553 พบรายงานการระบาดรุนแรงสร้างความเสียหายให้ผลผลิตข้าวในพื้นที่นาชลประทานภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง (ปรีชา, 2545; วันทนา, 2553; วิชชุตา, 2553) ปัจจุบันพบการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งในพื้นที่นาชลประทานและน่าน้ำฝน โดยเฉพาะในพื้นที่น่าน้ำฝนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบการระบาดร่วมกับเพลี้ยกระโดดหลังขาวทุกปี (จิรพงศ์ และคณะ, 2552; กองวิจัยและพัฒนาข้าว,

2565; กรมการข้าว, 2568)

ในสถานการณ์ที่มีการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างรุนแรง การป้องกันกำจัดโดยสารเคมีมักไม่ได้ผล (Suzuki *et al.*, 2006; Iamba and Dono, 2021) วันทนา (2553) รายงานว่า สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่แนะนำมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพียงร้อยละ 50-60 และควบคุมแมลงได้นาน 3-5 วัน ทั้งนี้เนื่องจากการเคลื่อนย้ายเข้ามาของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากแปลงข้างเคียง สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงไม่สามารถลดประชากรแมลงลงให้อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ นอกจากนี้ สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงยังมีผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติโดยเฉพาะมวนเขียวคุดไข่ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในช่วงแรกที่มีการอพยพเข้ามาในนาข้าว อีกทั้งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงบ่อยครั้งและใช้ไม่ถูกหลักวิชาการก็ทำให้เกิดพิษตกค้าง แมลงสร้างความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัด และก่อให้เกิดชีวชนิดใหม่ของแมลงเพิ่มขึ้น ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงมากขึ้น ยากต่อการป้องกันกำจัด รวมทั้งเกิดผลกระทบต่อสุขภาพและภาวะมลพิษในสภาพแวดล้อม

การใช้พันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมการระบาดของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อย่างไรก็ตาม วันทนา และคณะ (2554) รายงานว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถปรับตัวเข้าทำลายข้าวพันธุ์ต้านทาน หลังจากปลูกข้าวพันธุ์ต้านทานต่อเนื่องกันเป็นระยะ 6-8 ฤดูปลูก และเกิดการแพร่ระบาดของแมลงในพื้นที่เพาะปลูกได้อีก การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological control) จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ โดยเฉพาะการใช้ประโยชน์จากเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงศัตรูข้าว (entomopathogenic fungi) ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งสามารถลดประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสร้างความต้านทาน มีพิษน้อยต่อแมลงที่เป็นศัตรูธรรมชาติ และสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่นๆ ได้ (Usta, 2013; Dannon *et al.*, 2020)

ปัจจุบันกรมการข้าวแนะนำให้ใช้สารเคมี สารคาร์เบนดาซิม และไตรไซคลาโซล ในการป้องกันกำจัด

โรคไหม้ของข้าวซึ่งเป็นโรคที่สำคัญในการผลิตข้าวทั้งในระบบอาศัยน้ำชลประทานและน้ำฝน และสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ไดโนทีฟูแรน และนูโพรเฟน ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแมลงศัตรูข้าว (กองวิจัยและพัฒนาข้าว, 2562)

Metarhizium spp. หรือเชื้อราเขียว (green muscardine fungus) เป็นเชื้อราที่อยู่ในวงศ์ Clavicipitaceae พบแพร่กระจายทั่วโลก (Roberts and St. Leger, 2004; St. Leger and Wang, 2020) มีจำนวน 3 สปีชีส์ ที่มีการศึกษามากที่สุด ได้แก่ *M. anisopliae*, *M. flavoviride* และ *M. acridum* (Roberts and St. Leger, 2004; Meyling and Eilenberg, 2007) *Metarhizium* spp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคในแมลงที่สำคัญมาก เนื่องจากมีแมลงอาศัยจากหลากหลายอันดับ (Luan *et al.*, 2012) นอกจากนี้ยังมีศักยภาพสูงในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในดิน และไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อคนหรือสัตว์ มีการนำเชื้อราเขียวมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ชีววินทรีย์ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างกว้างขวางและแพร่หลายในหลายประเทศ โดยพบว่าสามารถนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่หลากหลาย เช่น ตั๊กแตน (Lomer *et al.*, 1997) ยุงลาย (Scholte *et al.*, 2005) มอดรูเอ็ม (Castrillo *et al.*, 2011) เหลือบ (Mochi *et al.*, 2009) เป็นต้น โดยเฉพาะเชื้อรา *M. anisopliae* (Metschn.) Sorokin มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีทั้งในประเทศไทย (เพชรหทัย, 2554) และต่างประเทศ (Tang *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2022) กรมส่งเสริมการเกษตรแนะนำให้เกษตรกรใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2563) ในส่วนของกรมการข้าว ได้แนะนำให้เกษตรกรใช้เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ MNK1033 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา (ไอลดา และคณะ, 2566)

อย่างไรก็ตาม การใช้เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงควบคุมแมลงศัตรูข้าวในสภาพแปลงนา ยังมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้นในแปลง สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การออกของสปอร์และความรุนแรงในการเข้าทำลายของเชื้อรา *Metarhizium* spp. ที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมแมลงศัตรูพืชในสภาพแปลงอย่าง

ยั้งยืน (Fang *et al.*, 2012; Gul *et al.*, 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะส่งผลกระทบต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* (Walstad *et al.*, 1970) และ Hallsworth และ Magan (1999) รายงานว่า ที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส จะทำให้การเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *M. anisopliae* ลดลง โดยเฉพาะประเทศไทยเป็นประเทศเขตร้อน อีกทั้งผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ส่งผลให้อุณหภูมิสูงขึ้น โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อน ปี พ.ศ. 2568 ช่วงเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน อุณหภูมิสูงถึง 42 องศาเซลเซียส (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2568)

การเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงเพื่อการควบคุมแมลงในสภาวะแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงและในระบบการผลิตข้าวที่มีการใช้สารเคมีป้องกันศัตรูพืชเป็นหลัก จึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อราเพื่อเพิ่มความสามารถในการทนความร้อนและทนทานต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และความรุนแรงในการเข้าทำลายของเชื้อรา การปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อราส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อศักยภาพในการใช้เชื้อรา *Metarhizium* spp. ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช (Ortiz-Urquiza *et al.*, 2015)

หนึ่งในวิธีการปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อราเพื่อเพิ่มความอยู่รอด ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและประสิทธิภาพการเข้าทำลายของเชื้อราคือการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเชื้อราสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้รังสีชนิดต่างๆ การใช้สารเคมี เป็นต้น การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบไม่เฉพาะเจาะจงหรือแบบสุ่ม (random mutagenesis) โดยการฉายรังสีแกมมาซึ่งเป็นรังสีฟิสิกส์คล้ายกับรังสีเอกซ์ แต่มีพลังทะลุทะลวงสูง สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอ เช่น การเปลี่ยนแปลง การขาดหรือหักของสายดีเอ็นเอ เป็นต้น หากดีเอ็นเอเหล่านั้นไม่สามารถซ่อมแซมได้ หรือเกิดการซ่อมแซมที่ไม่ถูกต้องก็จะเกิดการขาดหาย เต็ม หรือแทนที่ของเบส ทำให้ลักษณะทางฟีโนไทป์เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้น รังสีแกมมาจึงถือเป็นเครื่องมือสำหรับการกลายพันธุ์แบบสุ่มที่มีประสิทธิภาพดีและประสบความสำเร็จในการนำมาใช้เพื่อเพิ่มความทนต่อความร้อนของเชื้อราก่อโรคของแมลง (Fitriana *et al.*,

2014; Muazu *et al.*, 2024)

ส่วนการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อราด้วยสารเคมีเอทิลมีเทนซัลโฟเนต (ethyl methanesulfonate (EMS)) ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง จากการศึกษาทางด้านพันธุกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สาร EMS ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ระดับยีน (gene mutation หรือ point mutation) ที่มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA) โดยพบว่าสาร EMS สามารถเปลี่ยนลำดับเบสจาก GC ไปเป็น AT และเปลี่ยน AT ไปเป็น GC ได้ (Sega, 1984; Wongwanich *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2023)

นอกจากนี้ กลไกของการฉายรังสีแกมมาและการใช้สาร EMS ต่างมีเป้าหมายเดียวกันคือการก่อให้เกิดความเสียหายแบบเฉพาะต่อดีเอ็นเอ ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยรังสีแกมมาทำให้เกิดการแตกหักของสายดีเอ็นเอในระดับที่ควบคุมได้ ขณะที่ EMS เป็นสารที่สามารถเปลี่ยนแปลงคู่เบสของดีเอ็นเอ ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์แบบ point mutation ได้อย่างเฉพาะเจาะจง เทคนิคเหล่านี้ได้รับการพัฒนาและปรับปรุงให้มีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตอื่น โดยสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่ได้จากการชักนำจะต้องผ่านกระบวนการคัดเลือกอย่างเข้มงวด เพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพ ก่อนนำไปใช้ในเชิงเกษตรกรรม (Zimmermann, 2007)

ดังนั้น การชักนำเชื้อรา *M. anisopliae* ให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา (Yosri *et al.*, 2018; Muazu *et al.*, 2024) และสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนต (Wongwanich *et al.*, 2017; Jeevanandham *et al.*, 2023) จึงเป็นวิธีการที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ดังนั้นการคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ต้านทานต่อสารเคมี ที่กรมการข้าวแนะนำให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคไหม้ของข้าวและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพิ่มประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา อาจจะเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปลอดภัย ภายใต้การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ และภาวะโลกร้อนที่ทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การชักนำเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) สายพันธุ์เดิมของกรมการข้าว ให้เกิดการกลายพันธุ์

1.1 การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (WT)) สายพันธุ์เดิมของกรมการข้าว

เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (WT)) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) บ่มเชื้อไว้ที่ตู้บ่มเพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มีด 8 ชั่วโมง เพื่อกำจัดการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา (Hatting *et al.*, 1999; Bautista-Galvez *et al.*, 2012) เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 10⁸ สปอร์ต่อมิลลิลิตรใน 0.01% (v/v) Tween 80 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร

1.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา (gamma ray)

นำสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 10⁸ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ใน 0.01% (v/v) Tween 80 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ไปฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณรังสี 1.00-1.80 kGy (ดัดแปลงจาก จิระเดช และคณะ, 2549; Kim *et al.*, 2005; Muazu *et al.*, 2024) ตามขั้นตอนและระยะเวลาที่กำหนดโดยศูนย์ฉายรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) แล้วนำมาทำ serial dilution ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻¹ ถึง 10⁻³ เพื่อทำให้ความเข้มข้นลดลงที่ระดับที่สามารถนับจำนวนโคโลนีเดี่ยวๆ ของเชื้อราได้

นำสารแขวนลอยสปอร์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ไปเกลี่ย (spread plate) บนอาหาร SDA โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่ตู้บ่มเพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มีด 8 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิม (wild type: WT) (MNNKI033 (WT)) ที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแล้ว คัดเลือกปริมาณรังสีที่เหมาะสมที่ทำให้เชื้อรา *M. anisopliae* เกิดการกลายพันธุ์ (mutant type: MTG) ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยร้อยละ 81 ขึ้นไป ตามวิธีการของ ญาณิศา (2560) และ Muazu และคณะ (2024) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิมที่ไม่ได้มีการชักนำให้เกิด

การกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา ที่มีอัตราการตายร้อยละ 0 หรือไม่มีการตายเกิดขึ้น

เก็บเชื้อราที่กลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตทางเส้นใยสูง โดยใช้ cock borer เจาะปลายเส้นใยของเชื้อรา และย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร SDA เป็นเวลา 14 วัน แล้วเก็บรักษาไว้ใน SDA slant เพื่อนำไปศึกษาและใช้ประโยชน์ต่อไป

1.3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS)

หาความเข้มข้นของสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ *M. anisopliae* (MNNKI033 (WT)) เกิดการกลายพันธุ์ โดยเตรียมสารละลายเอทิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ความเข้มข้น 0.3 0.5 1.0 1.5 2.0 3.0 4.0 และ 5.0% (v/v) (ในสารละลาย sodium phosphate buffer pH 7) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในสารแขวนลอยสปอร์ 10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ในหลอด microcentrifuge 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วล้างสารละลาย EMS ออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ บั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 rpm ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที 3 ครั้ง ละลายตะกอนด้วย sodium phosphate buffer pH 7 ปริมาตร 900 ไมโครลิตร แล้วทำ serial dilution ที่ระดับความเข้มข้น 10⁻¹ ถึง 10⁻³ เพื่อทำให้ความเข้มข้นลดลงที่ระดับที่สามารถนับจำนวนโคโลนีเดี่ยวๆ ของเชื้อราได้

นำสารแขวนลอยสปอร์ 100 ไมโครลิตร ไปเกลี่ยบนอาหาร SDA จำนวน 4 ซ้ำ แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มีด 8 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่ได้ในแต่ละกรรมวิธี เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้เชื้อรา *M. anisopliae* เกิดการกลายพันธุ์ (mutant type: MTE) ที่มีอัตราการตายร้อยละ 81 ขึ้นไป ตามวิธีการของ ญาณิศา (2560) และ Muazu และคณะ (2024) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิมที่ไม่ได้มีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา ที่มีอัตราการตายร้อยละ 0 หรือไม่มีการตายเกิดขึ้น

เก็บเชื้อราที่กลายพันธุ์ที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตทางเส้นใยสูง โดยใช้ cock borer เจาะปลายเส้นใยของเชื้อรา และย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร SDA เป็นเวลา 7 วัน

แล้วเก็บรักษาไว้ใน SDA slant เพื่อนำไปศึกษาและใช้ประโยชน์ต่อไป

2. การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายจากรังสีแกมมาและสาร EMS ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงและต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

2.1 การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายที่ทนต่ออุณหภูมิสูง

นำเชื้อราสายพันธุ์กลายที่มีการสร้างสปอร์ได้สูงจำนวน 10 ไอโซเลท มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร SDA ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มืด 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นใช้ cork borer เจาะปลายเส้นใยเชื้อราสายพันธุ์กลาย และย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร SDA ที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มืด 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นย้ายไปที่อุณหภูมิสูงที่แตกต่างกัน 5 อุณหภูมิสูง ดังนี้ 30 ± 1 35 ± 1 40 ± 1 42 ± 1 และ 45 ± 1 องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อในแต่ละอุณหภูมิสูง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และ 28 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง (ทำซ้ำ 3 รอบ รวมเป็นเวลา 3 วัน) และย้ายไปที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มืด 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 วัน

วัดขนาดของโคโลนีที่ได้ในแต่ละกรรมวิธี (ดัดแปลงจาก Chad *et al.*, 2014) เพื่อคัดเลือกเชื้อราสายพันธุ์กลายที่ทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิมที่ไม่ผ่านการฉายรังสีหรือเติมสารละลาย EMS เก็บเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนต่ออุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และยังสร้างสปอร์ได้สูง โดยใช้ cork borer เจาะปลายเส้นใยเชื้อรา และย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร SDA slant ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มืด 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน (Han *et al.*, 2021) แล้วเก็บรักษาไว้ เพื่อนำไปศึกษาและใช้ประโยชน์ต่อไป

2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

นำสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายที่มีการสร้างสปอร์ได้สูงที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ในข้อ 2.1 จำนวน 10

ไอโซเลท มาคัดเลือกความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยดูดสารแขวนลอยสปอร์ ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ไปเกลี่ยบนอาหาร SDA ที่ผสมด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์เบนดาซิมและไตรไซโคลาโซล ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ppm และ SDA ผสมด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ไดโนทีฟูแรนและนูโพรเฟนซิน ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ppm (ดัดแปลงจาก จิระเดช และคณะ, 2549; Kim *et al.*, 2005) แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่มืด 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

นับจำนวนโคโลนีที่ได้ในแต่ละกรรมวิธี เพื่อคัดเลือกเชื้อราสายพันธุ์กลายที่ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิมที่ไม่ผ่านการฉายรังสีหรือเติมสารละลาย EMS เก็บเชื้อราสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารเคมี มีอัตราการเจริญเติบโตทางเส้นใยและสร้างสปอร์ได้สูง โดยใช้ cork borer เจาะปลายเส้นใยเชื้อรา ย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร SDA slant เป็นเวลา 14 วัน (Han *et al.*, 2021) แล้วเก็บรักษาไว้ เพื่อนำไปศึกษาและใช้ประโยชน์ต่อไป

3. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายในการควบคุมตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง และวิเคราะห์ระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LT_{50})

เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายที่เกิดจากรังสีแกมมาและสาร EMS ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงและต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งเจริญเติบโตทางเส้นใยและสร้างสปอร์ได้สูง จำนวนอย่างละ 3 ไอโซเลท บนอาหารสูตร SDA ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสง 8 ชั่วโมง และที่มืด 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน สำหรับเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็ง (ข้าวเส้าให้) บ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสง 8 ชั่วโมง และที่มืด 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน และนำมาประเมินความรุนแรงในการก่อโรคกับตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design (RCBD)) ประกอบด้วย 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTG_7 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยรังสีแกมมา

กรรมวิธีที่ 2: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTG_9 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยรังสีแกมมา

กรรมวิธีที่ 3: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTG_10 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยรังสีแกมมา

กรรมวิธีที่ 4: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTE_8 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยสาร EMS

กรรมวิธีที่ 5: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTE_13 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยสาร EMS

กรรมวิธีที่ 6: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTE_14 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยสาร EMS

กรรมวิธีที่ 7: ชีวภัณฑ์เชื้อสด MNNKI033_CU_MTG46 สายพันธุ์กลาย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรรมวิธีที่ 8: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033 (WT) สายพันธุ์เดิม กรรมกรการข้าว

กรรมวิธีที่ 9: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNDOAE สายพันธุ์กรรมส่งเสริมการเกษตร

กรรมวิธีที่ 10: กรรมวิธีควบคุม (0.05% (v/v) Tween 80) ไม่ใช่ชีวภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 1-10 ทำการปลูกเชื้อราลงบนตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 60 ตัวต่อซ้ำ ด้วยการฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่เจือจางในสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 และฉีดพ่นด้วยสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 ในกรรมวิธีที่ 10 เป็นวิธีควบคุม (ไม่ใช่ชีวภัณฑ์) บันทึกอุณหภูมิและความชื้นใต้ทรงพุ่มของต้นข้าว และการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทุกวันพร้อมเก็บซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลออกจากทรงเลี้ยงแมลงเป็นเวลา 14 วัน

สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตาย (พยอม และคณะ, 2563; 2564) ทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลอง

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) หากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายในกรรมวิธีควบคุมเกินร้อยละ 10 ให้ทำการทดลองใหม่ทุกกรรมวิธี

ข้อมูลนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT for dos (Latifian *et al.*, 2013) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชนิดชีวภัณฑ์โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และวิเคราะห์เวลา (วัน) ที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50}) โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบโปรบิต (probit analysis) ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 22

4. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายในการควบคุมตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงนาเกษตรกร

คัดเลือกและเลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายที่เกิดจากรังสีแกมมา และสาร EMS ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งเจริญเติบโตทางเส้นใยและสร้างสปอร์ได้สูง และมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และมีระยะเวลาที่ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LT_{50}) ได้รวดเร็ว ในสภาพโรงเรือนทดลอง จำนวนอย่างละ 2 ไชโยเลท บนอาหารสูตร SDA ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสง 8 ชั่วโมง และที่มืด 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน สำหรับเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็งข้าวเสาให้ อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยให้แสง 8 ชั่วโมง และที่มืด 16 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน นำมาประเมินความรุนแรงในการก่อโรคกับตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTG_7 สายพันธุ์กลายกรรมการ ข้าว ที่ถูกชักนำด้วยรังสีแกมมา

กรรมวิธีที่ 2: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTG_9 สายพันธุ์กลายกรรม การข้าว ที่ถูกชักนำด้วยรังสีแกมมา

กรรมวิธีที่ 3: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTE_8 สายพันธุ์กลายกรรม การข้าว ที่ถูกชักนำด้วยสาร EMS

กรรมวิธีที่ 4: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033_RD_2023_MTE_14 สายพันธุ์กลายกรรม การข้าว ที่ถูกชักนำด้วยสาร EMS

กรรมวิธีที่ 5: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNNKI033 (WT) สายพันธุ์เดิม กรรมกรข้าว

กรรมวิธีที่ 6: ชีวภัณฑ์เชื้อสด *M. anisopliae* MNDOAE สายพันธุ์กรรมส่งเสริมการเกษตร

กรรมวิธีที่ 7: กรรมวิธีควบคุม (0.05% (v/v) Tween 80) ไม่ใช่ชีวภัณฑ์

กรรมวิธีที่ 1-7 ทำการปลูกเชื้อราลงบนตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 60 ตัวต่อข้าว โดยฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ความเข้มข้น 10^9 สปอร์ ต่อมิลลิลิตร ที่เจือจางในสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 และฉีดพ่นด้วยสารละลาย 0.05% (v/v) Tween 80 ในกรรมวิธีที่ 7 เป็นวิธีควบคุม (ไม่ใช่ชีวภัณฑ์)

บันทึกอุณหภูมิและความชื้นใต้ทรงพุ่มของต้นข้าว และการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลังจากพบ ชีวภัณฑ์ 1 7 และ 14 วัน สุ่มแยกเชื้อจากซากเพลี้ยกระโดด สีน้ำตาลที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตาย (พยอม และ คณะ, 2563; 2564)

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของเพลี้ย กระโดดสีน้ำตาลด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) หากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายในกรรมวิธีควบคุมเกิน ร้อยละ 10 ให้ทำการทดลองใหม่ทุกกรรมวิธี

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย โปรแกรม IRRISTAT for dos (Latifian *et al.*, 2013) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชนิดชีวภัณฑ์โดยวิธี DMRT ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ดำเนินการทดลองในฤดูนาปี 2568 ระหว่างเดือน ตุลาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2567 ในสภาพนาอินทรีย์ของ เกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การชักนำเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) สายพันธุ์เดิมของกรรม การข้าว ให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสี แกมมาและสารเอธิลมีเทนซัลไฟเนต (EMS)

ผลการชักนำเชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (WT)) ให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ 1-1.8 kGy สามารถคัดเลือกเชื้อราสายพันธุ์กลาย (gamma mutant type (MTG)) ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของ โคโลนีเชื้อราร้อยละ 81 จำนวน 132 ไอโซเลท และมี ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีแตกต่างไปจากสายพันธุ์ เดิม จำนวน 25 ไอโซเลท (MNNKI033_RD_2023_MTG_1 ถึง MTG_25) (Fig. 1, Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย ของ Fitriana และคณะ (2014) ว่า รังสีแกมมามีศักยภาพ ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยทำให้ดีเอ็นเอมีการ เปลี่ยนแปลงหรือแตกหักและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ลักษณะที่แสดงออกหรือฟีโนไทป์ (phenotypic traits)

ส่วนเชื้อราที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสาร EMS ที่ความเข้มข้น 5.0% (v/v) พบว่า สามารถคัดเลือก สายพันธุ์กลาย (EMS mutant type (MTE)) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ การตายของโคโลนีเชื้อราร้อยละ 81 จำนวน 95 ไอโซเลท แต่มีลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีไม่แตกต่างไปจาก สายพันธุ์เดิม จำนวน 21 ไอโซเลท (MNNKI033_RD_2023_MTE_1 ถึง MTE_21) (Fig. 2, Table 2) ใน ส่วนของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสาร EMS ที่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์แบบ point mutation ที่เป็นการแทนที่คู่เบสในสายโพลีนิวคลีโอไทด์ ของดีเอ็นเอ (substituting purine or pyrimidine bases) ตามรายงานของ Chen และคณะ (2023) จึงอาจไม่ส่งผล ต่อลักษณะการแสดงออกหรือฟีโนไทป์

ดังนั้น การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสี แกมมาน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมและนำมาใช้ในอนาคต มากกว่าการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสาร EMS เนื่องจากสาร EMS เป็นสารก่อมะเร็งและมีอันตรายต่อ สุขภาพของมนุษย์ (Sega, 1984)

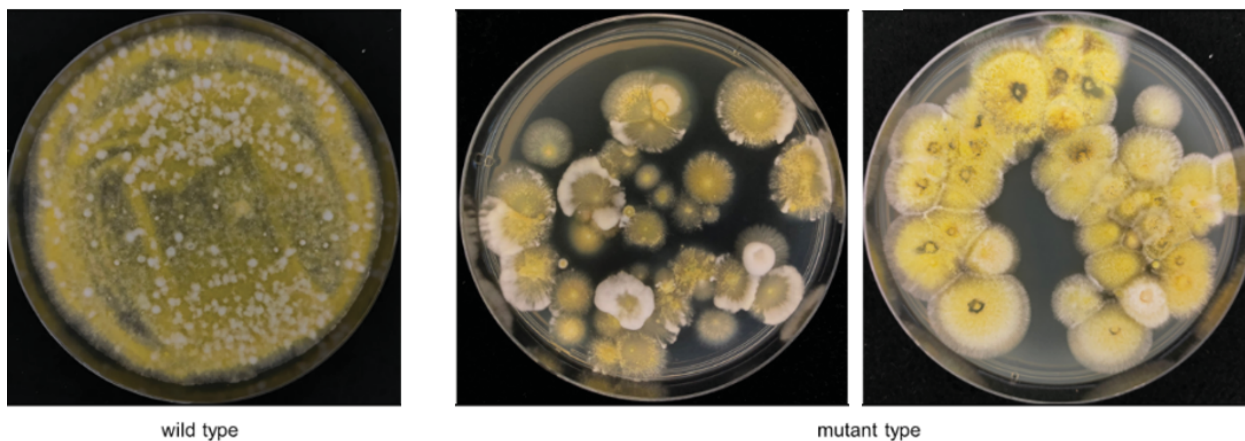


Fig. 1 The comparison the total number of colonies of *M. anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) and mutant type (MNNKI033_RD_2023_MTG_1 to MTG_25) after treated with gamma ray at 1-1.8 kGy on Sabouraud dextrose agar (SDA) at 7 days old and $25\pm 1^{\circ}\text{C}$



Fig. 2 The comparison the total number of colonies of *M. anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) and mutant type (MNNKI033_RD_2023_MTE_1 to MTE_21) after treated with EMS at 5.0% (v/v) on Sabouraud dextrose agar (SDA) at 7 days old and $25\pm 1^{\circ}\text{C}$

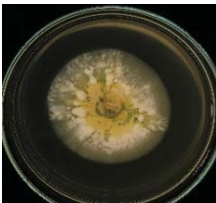
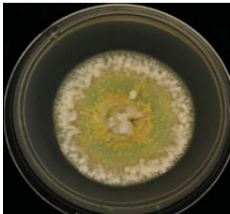
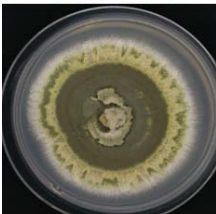
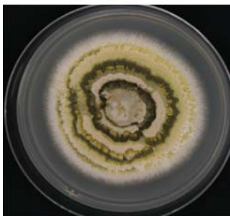
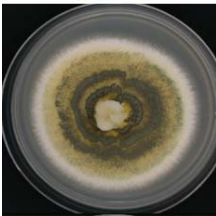
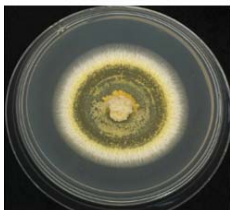
2. การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายจากรังสีแกมมา (MNNKI033 (MTG)) และสาร EMS (MNNKI033 (MTE)) ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงและต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

2.1 การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายจากรังสีแกมมา (MNNKI033 (MTG)) และสาร EMS (MNNKI033 (MTE)) ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง

เชื้อราสายพันธุ์กลายที่ได้จากการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา (MNNKI033_RD_2023_MTG_7, MNNKI033_RD_2023_MTG_9, MNNKI033_RD_2023_MTG_10, MNNKI033_RD_2023_MTG_19 และ MNNKI033_RD_2023_MTG_24) และสาร EMS (MNNKI033_RD_2023_MTE_7, MNNKI033_RD_2023_MTE_8, MNNKI033_RD_2023_MTE_11, MNNKI033_RD_2023_MTE_13 และ MNNKI033_RD_2023_MTE_14) พบว่า เชื้อราสายพันธุ์กลายทุกไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-42 องศาเซลเซียส และเจริญเติบโตได้ดีลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิสูง 45 องศาเซลเซียส เชื้อราสายพันธุ์กลายจากรังสีแกมมา ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_10 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีและจำนวนสปอร์เฉลี่ยสูงสุด (29.50 มิลลิเมตร และ 7.48×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) รองมาเป็น ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 (29.25

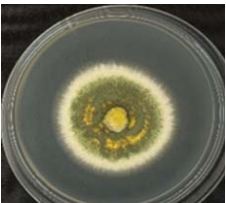
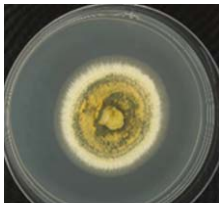
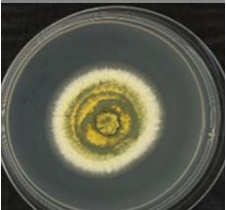
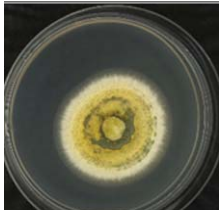
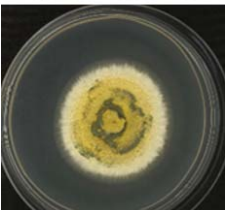
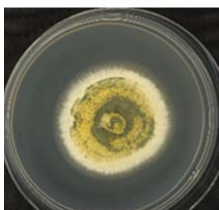
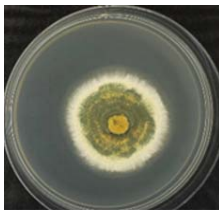
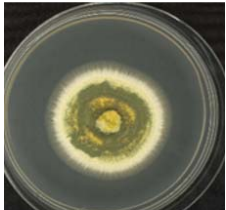
มิลลิเมตร และ 7.48×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) รองมาเป็น ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 (29.25

Table 1 Representative list of a *Metarhizium anisopliae* wild type (MNNKI033) and 11 out of 25 isolates of gamma-irradiated mutant type from Division of Rice Research and Development, during June 2023-June 2024

No.	Isolate name	Characteristics of colony on SDA medium 14 days at 28°C	No.	Isolate name	Characteristics of colony on SDA medium 14 days at 28°C
	MNNKI033 (wild type) <i>Metarhizium anisopliae</i>		1	MNNKI033_RD_2023_MTG_1	
2	MNNKI033_RD_2023_MTG_2		3	MNNKI033_RD_2023_MTG_3	
4	MNNKI033_RD_2023_MTG_4		5	MNNKI033_RD_2023_MTG_5	
6	MNNKI033_RD_2023_MTG_6		7	MNNKI033_RD_2023_MTG_7	
8	MNNKI033_RD_2023_MTG_9		9	MNNKI033_RD_2023_MTG_10	
10	MNNKI033_RD_2023_MTG_19		11	MNNKI033_RD_2023_MTG_24	

MN = *Metarhizium anisopliae*, MTG = Mutation induced with gamma-irradiated 1-1.8 kGy

Table 2 Representative list of a *Metarhizium anisopliae* wild type (MNNKI033) and 11 out of 21 isolates of EMS-treated mutant type from Division of Rice Research and Development, Rice Department, during June 2023-June 2024.

No.	Isolate name	Characteristics of colony on SDA medium 14 days at 28°C	No.	Isolate name	Characteristics of colony on SDA medium 14 days at 28°C
	MNNKI033 (wild type) <i>Metarhizium anisopliae</i>		1	MNNKI033_RD_2023_MTE_1	
2	MNNKI033_RD_2023_MTE_2		3	MNNKI033_RD_2023_MTE_3	
4	MNNKI033_RD_2023_MTE_4		5	MNNKI033_RD_2023_MTE_5	
6	MNNKI033_RD_2023_MTE_6		7	MNNKI033_RD_2023_MTE_7	
8	MNNKI033_RD_2023_MTE_8		9	MNNKI033_RD_2023_MTE_11	
10	MNNKI033_RD_2023_MTE_13		11	MNNKI033_RD_2023_MTE_14	

MN = *Metarhizium anisopliae*,

MTE = Mutation induced with ethyl methanesulfonate (EMS) at a concentration of 5.0% (v/v).

มิลลิเมตร และ 4.38×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_7 (24.25 มิลลิเมตร และ 2.81×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ (Fig. 3, Table 3) สอดคล้องกับ Muazu และคณะ (2024) รายงานว่าการใช้รังสีแกมมาปรับปรุงพันธุ์เชื้อราให้ทนทานต่ออุณหภูมิสูง ทำให้ได้ไอโซเลทสายพันธุ์ที่ทนต่อความร้อนในระยะเจริญเติบโตที่ 39 องศาเซลเซียส และทนทานต่อความร้อนในระยะสปอร์ที่ 45 องศาเซลเซียส รวมทั้งมีการเจริญเติบโต และปริมาณสปอร์ที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ

สายพันธุ์เดิม เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kava-Cordeiro และคณะ (1995) Fitriana และคณะ (2014) และ Yosri และคณะ (2018) ที่รายงานว่า การใช้รังสีแกมมาชักนำให้เชื้อรา *Metarhizium* spp. เกิดการกลายพันธุ์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง

สายพันธุ์ที่กลายที่ได้จากการชักนำด้วยสารเอธิลมีเทนซัลไฟเนต จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่า เชื้อราสายพันธุ์กลายทุกไอโซเลทสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-42 องศาเซลเซียส และเจริญเติบโตได้ลดลงเมื่อ

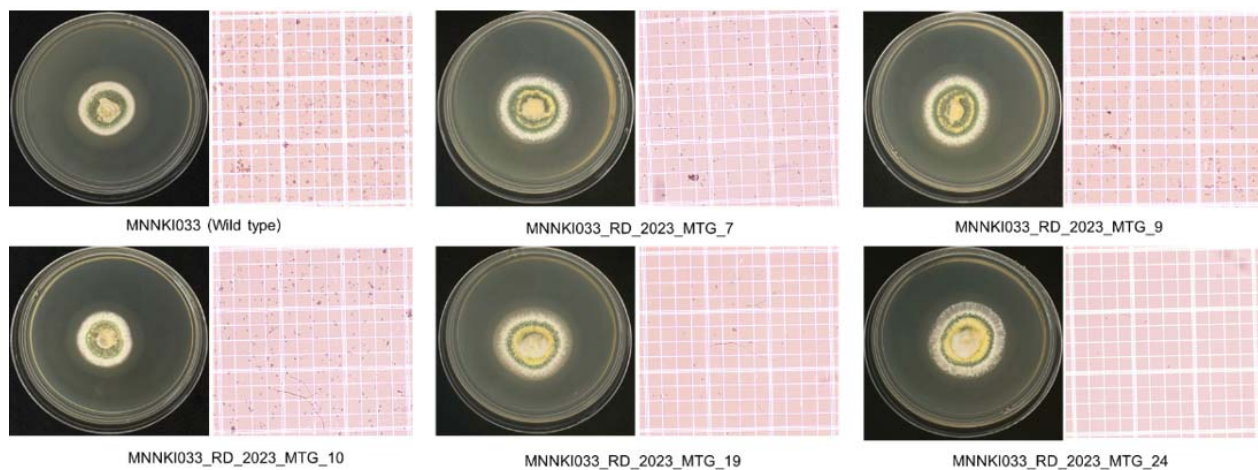


Fig. 3 Radial growth of *M. anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) and 5 gamma-irradiated mutant isolates (MNNKI033_RD_2023_MTG_7, MNNKI033_RD_2023_MTG_9, MNNKI033_RD_2023_MTG_10, MNNKI033_RD_2023_MTG_19 and MNNKI033_RD_2023_MTG_24) on Sabouraud dextrose agar (SDA) at 10 days old and 45°C

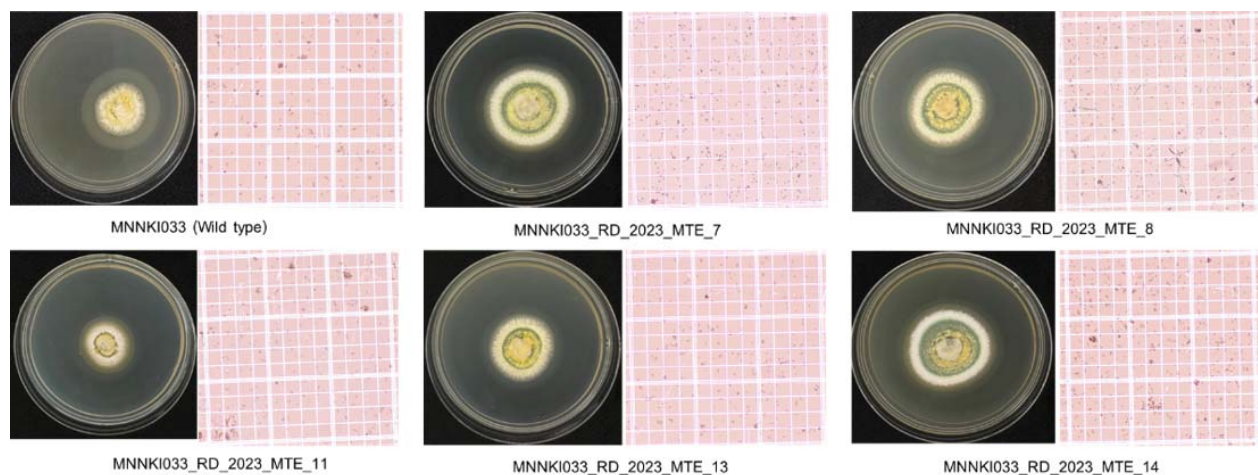


Fig. 4 Radial growth of *M. anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) and 5 EMS-treated mutant isolates (MNNKI033_RD_2023_MTE_7, MNNKI033_RD_2023_MTE_8, MNNKI033_RD_2023_MTE_11, MNNKI033_RD_2023_MTE_13 and MNNKI033_RD_2023_MTE_14) on Sabouraud dextrose agar (SDA) at 10 days old and 45°C

Table 3 Radial growth (mm) and average number of conidia of 10 isolates of *Metarhizium anisopliae* gamma-irradiated mutant, ethyl methanesulfonate-treated mutant and wild type isolates on SDA medium at different temperature 30 35 40 42 and 45°C

No.	Isolate name	Radial growth (mm) on SDA for 7 day					Average no. of conidia (x10 ⁶ spore/ml) on SDA at temperature (°C) 45°C for 10 days
		temperature (°C)					
		30	35	40	42	45	
Gamma ray-mutants							
1	MNNKI033_RD_2023_MTG_7	60.00	52.25	38.75	44.75	24.25	2.81
2	MNNKI033_RD_2023_MTG_9	60.50	46.75	42.00	46.00	29.25	4.38
3	MNNKI033_RD_2023_MTG_10	53.75	50.00	38.75	43.50	29.50	7.48
4	MNNKI033_RD_2023_MTG_19	57.50	49.00	40.25	43.50	26.50	0.93
5	MNNKI033_RD_2023_MTG_24	50.25	43.75	32.50	35.25	19.00	0.10
6	MNNKI033 (wild type)	56.50	43.00	42.25	40.25	25.00	4.50
Ethyl methanesulfonate: EMS-mutants							
1	MNNKI033_RD_2023_MTE_7	48.5	47.5	43.5	41.0	40.0	17.86
2	MNNKI033_RD_2023_MTE_8	48.5	46.5	45.5	43.5	42.3	21.10
3	MNNKI033_RD_2023_MTE_11	50.5	49.0	44.3	42.3	38.0	11.73
4	MNNKI033_RD_2023_MTE_13	51.3	50.8	45.3	43.3	40.3	18.16
5	MNNKI033_RD_2023_MTE_14	51.0	49.5	44.5	42.5	41.8	23.47
6	MNNKI033 (wild type)	49.5	47.8	43.0	41.0	34.3	4.43

MN = *Metarhizium anisopliae*

MTG = Mutation induced with gamma-irradiated 1-1.8 kGy

MTE = Mutation induced with ethyl methanesulfonate (EMS) at a concentration of 5.0% (v/v)

อุณหภูมิสูงขึ้น เมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส เชื้อราสายพันธุ์กลายจากสาร EMS ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTE_8 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และมีจำนวนสปอร์เฉลี่ยสูงที่สุด (42.3 มิลลิเมตร และ 21.10x10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) รองมาเป็น ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTE_14 (41.8 มิลลิเมตร และ 23.47x10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) และ MNNKI033_RD_2023_MTE_13 (40.3 มิลลิเมตร และ 18.16x10⁶ สปอร์ต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ (Fig. 4, Table 3) สอดคล้องกับ Wongwanich และคณะ (2017) รายงานว่า การชักนำให้เกิดกลายพันธุ์ด้วยการใช้สาร EMS ในเชื้อรา *Beauveria bassiana* ทำให้เชื้อรามีขนาด

โคโลนีและปริมาณสปอร์มากกว่าสายพันธุ์เดิมที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส

2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายจากรังสีแกมมา (MNNKI033 (MTG)) และสาร EMS (MNNKI033 (MTE)) ที่ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

เชื้อราสายพันธุ์กลายที่ได้จากการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาและสาร EMS ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง (45 องศาเซลเซียส) และมีความสามารถในการสร้างสปอร์จำนวนมาก พบว่า เชื้อราสายพันธุ์กลายทั้ง 10 ไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร SDA ที่ผสมกับสารป้องกันกำจัดแมลง ไดโนทีฟูแรน และบูโพรเพน

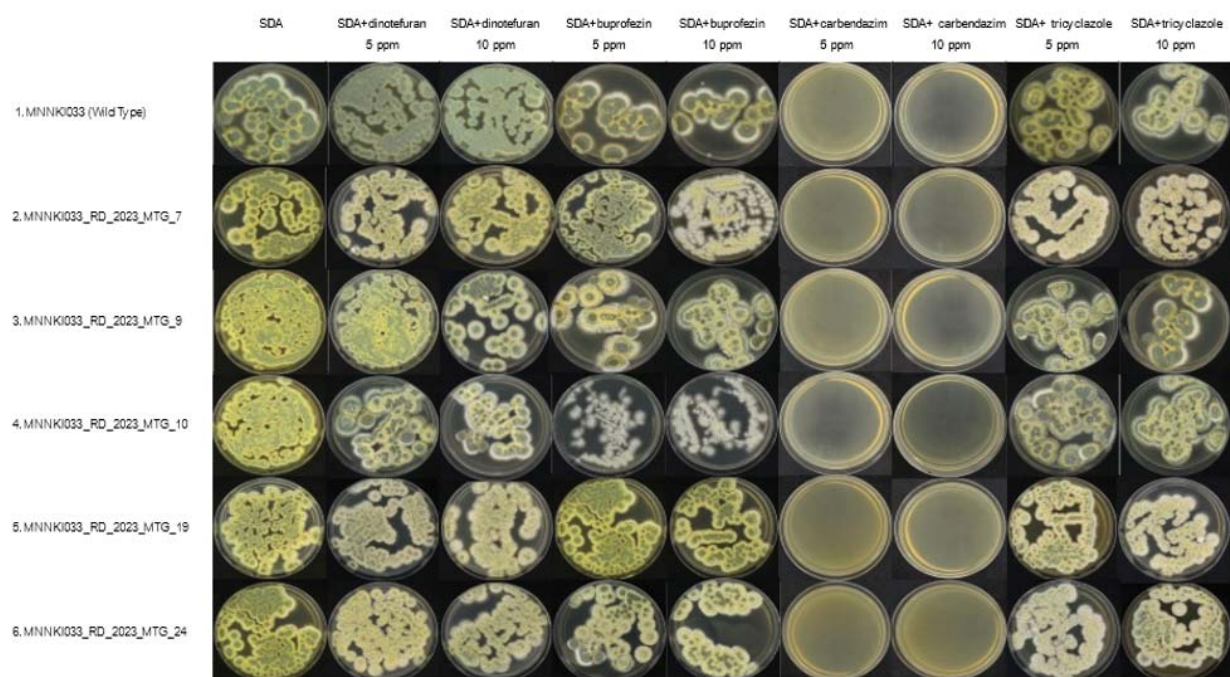


Fig. 5 The total number of colonies of *M. anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) and 5 gamma-irradiated mutant isolates (MNNKI033_RD_2023_MTG_7, MNNKI033_RD_2023_MTG_9, MNNKI033_RD_2023_MTG_10, MNNKI033_RD_2023_MTG_19 and MNNKI033_RD_2023_MTG_24) on Sabouraud dextrose agar (SDA) added with dinotefuran, buprofezin, carbendazim and tricyclazole in 5 and 10 ppm at 7 days old and $25\pm 1^{\circ}\text{C}$

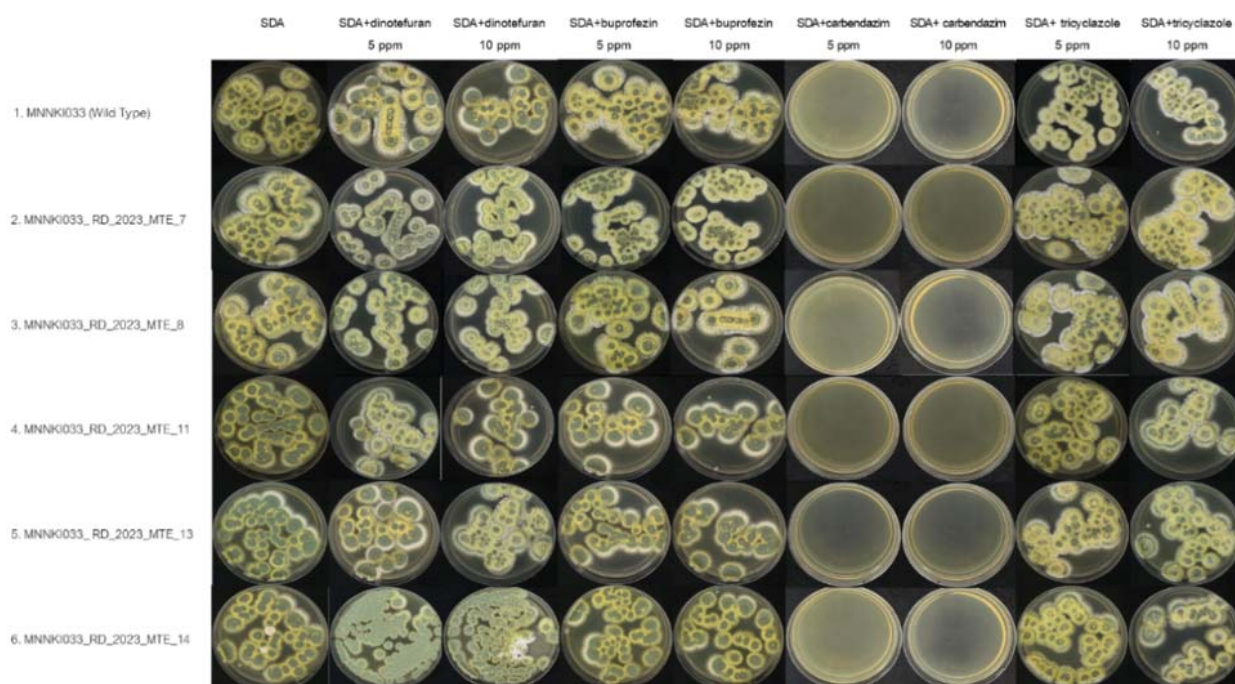


Fig. 6 The total number of colonies of *M. anisopliae* (MNNKI033 (wild type: WT)) and 5 EMS-treated mutant isolates (MNNKI033_RD_2023_MTE_7, MNNKI033_RD_2023_MTE_8, MNNKI033_RD_2023_MTE_11, MNNKI033_RD_2023_MTE_13 and MNNKI033_RD_2023_MTE_14) on Sabouraud dextrose agar (SDA) added with dinotefuran, buprofezin, carbendazim and tricyclazole in 5 and 10 ppm at 7 days old and $25\pm 1^{\circ}\text{C}$

Table 4 Average number of colonies of 10 isolates of the *Metarhizium anisopliae* wild type, gamma ray-mutant and ethyl methanesulfonate: EMS-treated mutant isolates were resistant to various concentration of four pesticides on Sabouraud dextrose agar (SDA) at 7 days old and 25±1°C in the laboratory condition

		Pesticide									
No.	Isolate	Insecticide				Fungicide					
		buprofezin	buprofezin	dinotefuran	dinotefuran	carbendazim	carbendazim	tricyclazone	tricyclazone	Control	
		5 ppm	10 ppm	5 ppm	10 ppm	5 ppm	10 ppm	5 ppm	10 ppm		
Gamma ray-mutants											
1	MNNKI033_RD_2023_MTG_7	45.20	43.80	43.00	41.80	0	0	37.60	35.20	50.40	
2	MNNKI033_RD_2023_MTG_9	32.40	32.20	27.20	25.80	0	0	29.00	25.20	32.80	
3	MNNKI033_RD_2023_MTG_10	37.80	36.20	42.20	35.60	0	0	41.80	40.60	44.00	
4	MNNKI033_RD_2023_MTG_19	29.40	28.60	26.80	26.20	0	0	29.60	28.40	31.60	
5	MNNKI033_RD_2023_MTG_24	25.00	23.20	28.80	25.60	0	0	23.60	21.20	28.80	
6	MNNKI033 (wild type)	38.20	35.60	41.80	40.00	0	0	38.80	36.40	42.00	
Ethyl methanesulfonate: EMS -mutants											
1	MNNKI033_RD_2023_MTE_7	53.20	52.40	51.40	45.40	0	0	45.00	39.60	54.20	
2	MNNKI033_RD_2023_MTE_8	33.60	32.80	47.20	47.00	0	0	38.20	37.20	47.60	
3	MNNKI033_RD_2023_MTE_11	34.80	33.80	32.60	32.20	0	0	33.20	32.00	35.00	
4	MNNKI033_RD_2023_MTE_13	34.20	33.60	42.00	41.00	0	0	42.40	31.20	43.20	
5	MNNKI033_RD_2023_MTE_14	34.60	34.20	34.80	34.60	0	0	34.40	28.40	34.80	
6	MNNKI033 (wild type)	38.20	37.20	39.20	38.00	0	0	37.20	36.80	40.20	

MN = *Metarhizium anisopliae*, MTG = Mutation induced with gamma-irradiated 1-1.8 kGy,

MTE = Mutation induced with ethyl methanesulfonate (EMS) at a concentration of 5.0% (v/v)

และสารป้องกันกำจัดเชื้อราไตรโคคลาโซล ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ppm สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fitriana และคณะ (2015) รายงานว่าการชักนำให้เชื้อรา *Beauveria bassiana* เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีไอออน ทำให้เชื้อเพิ่มความทนทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเบโนมิลดีว่าสายพันธุ์เดิม แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตบนอาหาร SDA ที่ผสมกับสารคาร์เบนดาซิมได้ (Fig. 5-6, Table 4) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เจริญเติบโตของสายพันธุ์กลายกับสายพันธุ์เดิม พบว่าเชื้อราสายพันธุ์กลายบางไอโซเลทเจริญเติบโตได้ดีกว่าสายพันธุ์เดิม ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการแปรผันทาง

พันธุกรรมที่เกิดจากการฉายรังสีแกมมาและการใช้สาร EMS

3. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อรา *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายในการควบคุมตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพโรงเรือนทดลอง และวิเคราะห์ระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50})

ผลจากการทดลอง จำนวน 3 การทดลอง ภายใต้อสภาพทรงพุ่มข้าวที่มีอุณหภูมิเฉลี่ย 32.7 องศาเซลเซียส

Table 5 The average cumulative mortality percentage and lethal time 50 (LT_{50}) (days) of *Nilaparvata lugens* (Stål) after treated with 7 *M. anisopliae* mutant and 2 wild type isolates and 0.05% (v/v) Tween 80 used as a control at the concentration of 10^9 conidia/ml for 4-14 days, with different canopy temperature and relative humidity under greenhouse condition at Division of Rice Research and Development, experiment 1 in August-September, 2024, experiment 2 in October-November, 2024 and experiment 3 in November- December, 2024

No.	Treatment	Mortality (%) of <i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)	Lethal time 50 (LT_{50}) (day)
1	MNNKI033_RD_2023_MTG_7	70.18 c	9.272
2	MNNKI033_RD_2023_MTG_9	77.61 a	5.033
3	MNNKI033_RD_2023_MTG_10	68.19 c	7.299
4	MNNKI033_RD_2023_MTE_8	70.91 bc	6.375
5	MNNKI033_RD_2023_MTE_13	69.24 c	8.418
6	MNNKI033_RD_2023_MTE_14	71.55 bc	5.864
7	MNNKI033_CU_MTG46	62.62 d	7.932
8	MNNKI033 (WT)	75.16 ab	7.585
9	MNDOAE	60.91 d	5.653
10	Control (Tween 80)	0.00 e	-
CV (%)		6.6	

Means in the same column in each year followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

Canopy temperature ($^{\circ}\text{C}$) = 32.7, Relative humidity in canopy (%) = 70.2

No. 1-3 mutant isolates from gamma-irradiated, Rice Department,

No. 4-6 mutant isolates from EMS-treated, Rice Department,

No. 7 mutant isolates from gamma irradiation, Chulalongkorn University,

No. 8 *M. anisopliae* wild type isolate from Rice Department,

No. 9 *M. anisopliae* wild type isolate from Department of Agricultural Extension

และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 70.2 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์กลายทดสอบ จำนวน 6 ไอโซเลท ที่มีการเจริญเติบโตทางเส้นใย และมีการสร้างสปอร์สูงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส หลังจากพ้นชีวภัณฑเชื้อสดจากเชื้อราสายพันธุ์กลาย เป็นเวลา 4-14 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 สูงสุด เฉลี่ยร้อยละ 77.61 รองลงมา คือ ชีวภัณฑเชื้อสดจากเชื้อราสายพันธุ์เดิมจากกรรมกรข้าว (MNNKI033) ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTE_14 และ MNNKI033_RD_2023_MTE_8 มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ย ร้อยละ 75.16, 71.55 และ 70.91 ตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกรรมวิธีใช้ชีวภัณฑสายพันธุ์จากกรรมกรส่งเสริมการเกษตร (MNDOAE) และกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ (Table 5)

สำหรับระยะเวลาที่ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย

ร้อยละ 50 (LT_{50}) พบว่า ชีวภัณฑเชื้อสดจากเชื้อราสายพันธุ์กลาย ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายในระยะเวลาเฉลี่ย 5 วัน ซึ่งใช้เวลาเร็วกว่าเชื้อสายพันธุ์เดิมของกรรมกรข้าว (เฉลี่ย 8 วัน) และสายพันธุ์กรรมกรส่งเสริมการเกษตร (เฉลี่ย 6 วัน) (Table 5) อย่างไรก็ตาม พบว่า LT_{50} ของเชื้อรา MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ยังมีค่าสูงกว่า *M. anisopliae* สายพันธุ์ CQMa421 ของจีน ที่ระยะเวลา (LT_{50}) เฉลี่ย 4 วัน แม้จะใช้เวลาความเข้มข้นเชื้อรา 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าความเข้มข้น 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ (Tang et al., 2019) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสภาพอากาศของประเทศจีนมีอุณหภูมิที่ต่ำและความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่าประเทศไทยที่เป็นประเทศเขตร้อน ซึ่งเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *M. anisopliae* มากกว่า

ดังนั้น การนำเอาเชื้อรา *M. anisopliae* มาใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ต้องคำนึงถึงปัจจัย

Table 6 Average cumulative mortality percentage of *Nilaparvata lugens* (Stål) after treated with 4 *M. anisopliae* mutant and 2 wild type isolates and 0.05% (v/v) Tween 80 used as a control at the concentration of 10^9 conidia/ml for 4-14 days, with different canopy temperature and relative humidity in an organic irrigated lowland paddy field at Suphan Buri province, during September -November, 2024.

No.	Treatment	Mortality (%) of <i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)
1	MNNKI033_RD_2023_MTG_7	34.47 b
2	MNNKI033_RD_2023_MTG_9	42.87 ab
3	MNNKI033_RD_2023_MTE_8	50.69 a
4	MNNKI033_RD_2023_MTE_14	39.50 b
5	MNNKI033 (WT)	41.13 b
6	MNDOAE	23.68 c
7	Control (Tween 80)	0.00 d
CV (%)		14.3

Means in the same column in each year followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

Canopy temperature ($^{\circ}\text{C}$) = 35.0, Relative humidity in canopy (%) = 66.0

No. 1-2 mutant isolates from gamma irradiation, Rice Department,

No. 3-4 mutant isolates from EMS treated, Rice Department,

No. 5 *M. anisopliae* wild type isolate from Rice Department,

No. 6 *M. anisopliae* wild type isolate from Department of Agricultural Extension.

ด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมในการออกของสปอร์ การเจริญเติบโตของเชื้อรา เป็นต้น นอกจากนี้ จากการทดลองครั้งนี้ยังพบว่า เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายหลังจากสัมผัสเชื้อราได้ 4 วัน และการตายเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งวันที่ 14 โดยเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายมากในวันที่ 5-9 หลังสัมผัสเชื้อรา

เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ตายหลังจากสัมผัสเชื้อราแล้ว 4 วัน จะมีลักษณะลำตัวแข็ง แต่ยังไม่พบเส้นใยของเชื้อราเจริญปกคลุมตามลำตัว จะพบเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมที่ผิวภายนอกของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลชัดเจนภายหลังการตายประมาณวันที่ 7-9 สอดคล้องกับรายงานของจุฑามาส และคณะ (2560) ที่พบเส้นใยเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ผิวภายนอกของของเพี้ยจักจั่น *Matsumuratettix hiroglyphicus* ชัดเจนภายหลังการตาย 9 วัน

4. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อราสลาย *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายในการควบคุมตัวอ่อนวัย 4-5 ของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงนาเกษตรกร

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อราสลาย *M. anisopliae* (MNNKI033 (MTG และ MTE)) สายพันธุ์กลายในการควบคุมเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพนาอินทรีย์ของเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี ในฤดูนาปรัง ปี 2568 ระหว่างเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน 2567 ภายในสภาพได้ทรงพุ่มข้าวอุณหภูมิเฉลี่ย 35.6 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 66.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่า หลังจากฉีดพ่นชีวภัณฑ์เชื้อราสลาย *M. anisopliae* (สายพันธุ์กลาย) เป็นเวลา 4-14 วัน พบเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ยที่แท้จริงของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกิดการจากเข้าทำลายของเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลาย ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTE_8 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 50.69 รองลงมาเป็นสายพันธุ์กลาย ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ร้อยละ 42.87 (Table 6) ซึ่งทั้ง 2 ไอโซเลทนี้มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างจากกรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์จากสายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร และกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อราสลายพันธุ์กลายในสภาพแปลงนาทดสอบครั้งนี้ พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ยที่แท้จริงของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่ำกว่าการทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง อาจเนื่องจากอุณหภูมิและความชื้นทรงพุ่มเฉลี่ยในสภาพแปลงนาทดสอบ (อุณหภูมิเฉลี่ย 35.0 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 66.0 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างจากในสภาพโรงเรือนทดลอง (อุณหภูมิเฉลี่ย 32.7 และความชื้นสัมพัทธ์ 70.2 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสอดคล้องกับ Hussey และ Tinsley (1981) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรา *M. anisopliae* ประมาณ 27-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการออกของสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* อยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส (Bugeme et al., 2009; Sonune et al., 2019) แต่ในการทดลองนี้ทั้งในสภาพโรงเรือนทดลองและแปลงนาทดสอบ อุณหภูมิเฉลี่ย 32.7 และ 35.0 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70.2 และ 66.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสภาพอุณหภูมิค่อนข้างสูงและความชื้นต่ำกว่าสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราทดสอบ จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การออกและการเจริญของเชื้อราไม่ดีเท่าที่ควร เปอร์เซ็นต์ตายของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงต่ำ

ดังนั้น การนำเอาเชื้อราสายพันธุ์กลาย ไอโซเลท MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ที่ทนอุณหภูมิสูงและต้านทานสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีประสิทธิภาพสูงและทำให้เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายอย่างรวดเร็ว มาใช้ในการป้องกันกำจัดเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาของประเทศไทยที่มีอุณหภูมิที่สูงและมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในระบบการผลิตข้าว จึงเป็นนวัตกรรมใหม่ของกรมการข้าวในการบริหารจัดการเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างยั่งยืนภายใต้สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง

สรุปผลการทดลอง

เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กลายที่ได้จากการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ MNNKI033_RD_2023_MTG_7, MNNKI033_RD_2023_MTG_9 และ MNNKI033_RD_2023_MTG_10 และสาร EMS จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่

MNNKI033_RD_2023_MTE_8, MNNKI033_RD_2023_MTE_13 และ MNNKI033_RD_2023_MTE_14 มีความสามารถในการสร้างสปอร์สูง ทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง 45 องศาเซลเซียส ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ไดโนทีฟูแรน และบูโพรเพซิน และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ไตรโซคลาโซล และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า ชีวภัณฑ์เชื้อสดจากเชื้อราสายพันธุ์กัลยา MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ให้เปอร์เซ็นต์การตายสะสมเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงสุด 77.61 และระยะเวลาที่ทำให้ตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายร้อยละ 50 (LT_{50}) น้อยกว่าไอโซเลทจากสายพันธุ์เดิมของกรมการข้าว (MNNKI033 (WT)) และกรมส่งเสริมการเกษตร (MNDOAE) สอดคล้องกับผลการทดลองในสภาพแปลงนาอินทรีย์ของเกษตรกรฤดูนาปรังปี 2568 MNNKI033_RD_2023_MTG_9 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายสะสมเฉลี่ยสูงร้อยละ 42.87 ซึ่งการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาทดสอบครั้งนี้มีความแตกต่างจากกรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์จากสายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร และกรรมวิธีไม่ใช้ชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ดังนั้น เชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์กัลยา MNNKI033_RD_2023_MTG_9 จึงเป็นทางเลือกให้เกษตรกรนำไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระบบการผลิตข้าวของประเทศไทยที่มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวภายใต้สภาพภูมิอากาศที่ส่งผลให้อุณหภูมิสูงขึ้นในปัจจุบัน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากเงินกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566-2568 ภายใต้แผนงานวิจัยระบบการผลิตข้าวแบบอาหารปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ระยะที่ 2 ในโครงการ “การเพิ่มประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคของแมลงเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญโดยชีววิธี”

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยและพัฒนาข้าว. 2562. ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. บริษัท อาร์ตควอลิไฟท์ จำกัด. กรุงเทพฯ. 220 หน้า.
- กองวิจัยและพัฒนาข้าว. 2565. ศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย ข้าวเตือนภัย แจ้งเตือนการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. 2 หน้า. สืบค้นจาก: <https://newwebs2.ricethailand.go.th/upload/doc/6093/1664268093.pdf>. (17 พฤศจิกายน 2565)
- กรมการข้าว. 2568. สรุปรายงานสถานการณ์ศัตรูข้าว กรมการข้าว ระหว่างวันที่ 1-7 พฤษภาคม 2568. 2 หน้า. สืบค้นจาก: <https://www.ricethailand.go.th/page/56022pdf>. (30 กรกฎาคม 2568)
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2563. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ (ชีวภัณฑ์) ในการควบคุมศัตรูพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพัฒนาการถ่ายทอดเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ. 31 หน้า.
- กรมอุตุนิยมวิทยา. 2568. อุณหภูมิสูงสุด 7 อันดับแรกของประเทศไทยในช่วงฤดูร้อน ปี 2568. สืบค้นจาก: <https://web.facebook.com/>. (2 มิถุนายน 2568)
- จิระเดช แจ่มสว่าง, วรณวิไล อินทนู และณัฐยานี เปี้ยแดง. 2549. การใช้รังสีแกมมาเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช. หน้า 86-96. ใน: เอกสารประกอบการประชุมเรื่อง การใช้รังสีพัฒนาเกษตรอินทรีย์เพื่ออาหารปลอดภัย สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ. 28-29 กันยายน 2549. โรงแรมริชมอนด์, จ.นนทบุรี.
- จิรพงศ์ ไจรินทร์, วราภรณ์ วงศ์บุญ, กิจติพงษ์ เพ็งรัตน์, สงวนเที่ยงดีฤทธิ์, พิกุล ลีลาฤกษ์ และกัลยา สามเสน. 2552. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนข้าวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย. วารสารวิชาการข้าว 3(1): 21-36.
- จุฑามาส ฮวดประสิทธิ์, จุริมาศ วงศ์ศรี และยุพา หาญบุญทรง. 2560. ประสิทธิภาพของราสกุล *Metarhizium* และ *Beauveria* ในการควบคุมเพลี้ยจักจั่น (*Matsumuratettix hiroglyphicus*) พาหะนำโรคใบขาวอ้อย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25: 467-478.
- ญาติศา วงศ์วานิช. 2560. การคัดแยก *Beauveria bassiana* (Balsama) Vuillemin ไอโซเลทที่รูดชีวิตในภาวะอุณหภูมิสูง ซึ่งสามารถควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

- กรุงเทพฯ. 69 หน้า.
- ปรีชา วังศิลาบัตร. 2545. นิเวศวิทยาของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและการควบคุมปริมาณ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 117 หน้า.
- เพชรหทัย ปฏินันท์. 2554. บทบาทของเชื้อราทำลายแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว. 152 หน้า.
- พยอม โคเบลล์, ดวงกมล บุญช่วย, ญาณิศา วงศ์วานิช, อีรดา หวังสมบุญดี และสุกัญญา อรัญมิตร. 2563. การคัดแยก จำแนกชนิด และประสิทธิภาพของเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. วารสารวิชาการข้าว 11(2): 71-83.
- พยอม โคเบลล์, อริษา จิตตติกรกุล, ไอลดา ชุมแสง, ดวงกมล บุญช่วย และอีรดา หวังสมบุญดี. 2564. การคัดเลือกอาหารเหลวและอาหารแข็งที่เหมาะสมเพื่อการผลิตขยายเชื้อรา *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. เพื่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว. หน้า 80-95. ใน: การประชุมวิชาการข้าวกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลางและตะวันตก และกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออก ประจำปี 2564. 23-25 มีนาคม 2564. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, จ.ปทุมธานี.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์. 2553. เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล: ศัตรูข้าวตัวฉกาจของการปลูกข้าวนาชลประทานและมิติใหม่ของการจัดการ. วารสารวิชาการข้าว 4(1): 72-82.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์, สุกัญญา อรัญมิตร และจินตนา ไชยวงศ์. 2554. สถานการณ์ระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย. วารสารวิชาการข้าว 5(1): 79-89.
- วิษชุดา รัตนกาญจน์. 2553. โรคใบไหม้และโรคเหี่ยวเฉา: ภัยร้ายของชาวนาที่มาจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. วารสารวิชาการข้าว 4(1): 82-94.
- ไอลดา ชุมแสง, พยอม โคเบลล์, อริษา จิตตติกรกุล, ดวงกมล บุญช่วย และอีรดา หวังสมบุญดี. 2566. การทดสอบประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลทกรมการข้าวเพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูข้าว. วารสารวิชาการข้าว 14(2): 61-74.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology 18(4): 265-261.
- Bautista-Galvez, A., J.F. Barrera, E. Payro de la Cruz, S. Salgado-Garcia, J. Gomez-Ruiz and J.E. Gomez Leyva. 2012. Genetic characterisation of *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin isolates from sugarcane fields and their pathogenicity against *Aeneolamia postica* (Walker) (Hemiptera: Cercopidae). Universidad Ciencia 28(3): 217-229.
- Bao, Y. and C. Zhang. 2019. Recent advances in molecular biology research of a rice pest, the brown planthopper. Integrative Agriculture 18(4): 716-728.
- Bugeme, D.M., N.K. Maniania, M. Knapp and H.I. Boga. 2009. Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. Experimental and Applied Acarology 46: 275-285.
- Castrillo, L.A., M.H. Griggs, C.M. Ranger, M.E. Reding and J.D. Vandenberg. 2011. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. Biology Control 58: 121-126.
- Chad, A.K., K.K.F. Everton, E.N.R. Drauzio and W.R. Donald. 2014. Heat-induced post-stress growth delay: A biological trait of many *Metarhizium* isolates reducing biocontrol efficacy. Journal of Invertebrate Pathology 120: 67-73.
- Chen, L., L. Duan, M. Sun, Z. Yang, H. Li, K. Hu, H. Yang and L. Liu. 2023. Current trends and insights on EMS mutagenesis application to studies on plant abiotic stress tolerance and development. Frontiers in Plant Science 13: 1052569.
- Dannon, H.F., A.E. Dannon, O.K. Douro-Kpindou, A.V. Zinsou, A.T. Houndete, J. Toffa-Mehinto, I.A.T.M. Elegbede, B.D. Olou and M. Tamo. 2020. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. Journal of Cotton Research 3(24): 1-21.
- Fang, W., P. Azimzadeh and R.J. St. Leger. 2012. Strain improvement of fungal insecticides for controlling

- insect pests and vector-borne diseases. *Current Opinion Microbiology* 15(3): 232-238.
- Fitriana, Y., K. Satoh, I. Narumi, and T. Saito. 2014. Ion-beam and gamma-ray irradiations induce thermotolerant mutants in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* s.l. *Biocontrol Science and Technology* 24(9): 1052-1061.
- Fitriana, Y., S. Shinohara, K. Satoh, I. Narumi and T. Saito. 2015. Benomyl-resistant *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) mutants induced by ion beams. *Applied Entomology and Zoology* 50: 123-129.
- Gul, H.T., S. Saeed and F.Z.A. Khan. 2014. Entomopathogenic fungi as effective insect pest management tactic: A review. *Applied Sciences and Business Economics* 1: 10-18.
- Hallsworth, J.E. and N. Magan. 1999. Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 74(3): 261-266.
- Han, Y., O.K. Zveushea, F. Donng, Q. Ling, Y. Chen, S. Sajid, L. Zhou and V. Resco de Dios. 2021. Unraveling the effects of arbuscular mycorrhizal fungi on cadmium uptake and detoxification mechanisms in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Science of the Total Environment* 798: 149-222.
- Hatting, L.J., R.A. Humber, T.J. Poprawski and R.M. Miller. 1999. A survey of fungal pathogens of aphids from South Africa, with special reference to cereal aphids. *Biological Control* 16(1): 1-12.
- Hussey, N.W. and T.W. Tinsley. 1981. Impression of Insect Pathology in the People's Republic of China. pp. 785-795. In: H.D. Burges, (ed.), *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. Academic Press, London.
- Iamba, K.S. and D. Dono. 2021. A review on brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)), a major pest of rice in Asia and Pacific. *Asian Journal of Research in Crop Science* 6(4): 7-19.
- Jeevanandham, N., R. Raman, D. Ramaiah, V. Senthilvel, S. Mookaiah and R. Jegadeesan. 2023. Rice: (*Nilaparvata lugens* (Stål)) interaction-current status and future prospects of brown planthopper management. *Journal of Plant Diseases and Protection* 130(1): 125-141.
- Kava-Cordeiro, V., E.A. Luna-Alves-Lima and J.L. Azevedo. 1995. Survival and mutant production induced by mutagenic agents in *Metarhizium anisopliae*. *Scientia Agricola* 52: 548-554.
- Kim, S.K., H.J. Shim, J.Y. Roh, B.R. Jin, K.S. Boo and Y.H. Je. 2005. Isolation and characterization of benomyl-resistant mutants in an entomopathogenic Fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Industrial Entomology and Biomaterials* 10(2): 119-123.
- Latifian, M., B. Rad, M. Amani and E. Rahkhodaei. 2013. Mass production of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) by using agricultural products based on liquid-solid diaphasic method for date palm pest control. *Agriculture and Crop Sciences* 5(19): 2337-2341.
- Lomer, C.J., M.B. Thomas, O.K. Douro-Kpindou, C. Gbongboui, I. Godonou, J. Langewald and P.A. Shah. 1997. Control of grasshoppers, particularly *Hieroglyphus daganensis*, in northern Benin using *Metarhizium flavoviride*. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada* 129(171): 301-311.
- Luan, F., S. Zhang, B. Wang, B. Huang and Z. Li. 2012. Genetic diversity of the fungal pathogen *Metarhizium* spp., causing epizootics in Chinese burrower bugs in the Jingting Mountains, eastern China. *Molecular Biology Reports* 40(1): 515-532.
- Meyling, N.V. and J. Eilenberg. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control* 43: 145-155.
- Mochi, D.A., A.C. Monteiro, L.D. Simi and A.A.M.

- Sampaio. 2009. Susceptibility of adult and larval stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under field conditions. *Veterinary Parasitology* 166: 136-143.
- Muazu, S.A., P. Cobelli and T. Wangsomboondee. 2024. Gamma irradiation induced thermotolerance in *Metarhizium* spp. *Biological Control* 194: 105542.
- Ortiz-Urquiza, A.Z., Z. Luo and N.O. Keyhani. 2015. Improving mycoinsecticides for insect biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99: 1057-1068.
- Pathak, M.D. and Z.R. Khan. 1994. Rice leafhoppers and planthoppers. pp. 18-19. *In: Insect Pest of Rice*. International Rice Research Institute. Manila, Philippines.
- Roberts, D.W. and R.J. St. Leger. 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: Mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology* 54: 1-70.
- Scholte, E.J., K. Ng'Habi, J. Kihonda, W. Takken, K. Paaijmans, S. Abdulla, G.F. Killeen and B.G.J. Knols. 2005. An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. *Science* 308(5728): 1641-1642.
- Sega, G.A. 1984. A review of the genetic effects of ethyl methanesulfonate. *Mutation Research/Review in Genetic Toxicology* 134: 113-142.
- Sonune, B., M.J. Patil, R.B. Kothikar, H.R. Sawai, V.S. Wargane and K. Mane. 2019. Studies on entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* isolated from *Spodoptera litura*. *International Journal of Chemical Studies* 7(5): 1681-1685.
- St. Leger, R.J. and J.B. Wang. 2020. *Metarhizium*: Jack of all trades, master of many. *Open Biology* 10: 200307.
- Suzuki, Y., Y. Kobori and Y. Sato. 2006. Sustainable management of migratory rice planthoppers by conservation biological control combined with endophyte-infected plants. pp. 79-84. *In: Proceeding of International Symposium on Area-Wide Management of Insect Pests*. Okinawa: Okinawa Prefectural Agricultural Research Center.
- Tang, J., X. Liu, Y. Ding, W. Jiang and J. Xie. 2019. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* for rice planthopper control and its synergy with selected insecticides. *Crop Protection* 121(6): 132-138.
- Usta, C. 2013. Microorganisms in biological pest control- a review (bacterial toxin application and effect of environmental factors. *Current Progress in Biological Research*. Available source: <http://dx.doi.org/10.5772/55786>. (August 12, 2015)
- Wang, Z., Y. Cheng, Y. Wang and X. Yu. 2022. Topical fungal infection induces shifts in the gut microbiota structure of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Insects* 13: 528.
- Walstad, J.D., F.R. Anderson and W. Stambaugh. 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). *Journal of Invertebrate Pathology* 16(2): 221-226.
- Wongwanich, Y., P. Cobelli, D. Boonchuay and T. Wangsomboondee. 2017. Development of thermotolerant isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. with ethyl methanesulfonate. *Journal of Plant Protection Research* 57(4): 338-346.
- Yosri, M., M.M. Abdel-Aziz and R.M. Sayed. 2018. Larvicidal potential of irradiated myco-insecticide from *Metarhizium anisopliae* and larvicidal synergistic effect with its mycosynthesized titanium nanoparticles (TiNPs). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 11(4): 328-334.
- Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 17(9): 879-920.