

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและรวบรวมเชื้อ *Metarhizium* spp.

ตัวอย่างดินและแมลงที่สุ่มรวบรวมได้จาก 17 จังหวัด ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นั้นสามารถแยกได้เชื้อ *Metarhizium* spp. จำนวน 82 ไอโซเลต (isolate) จากตัวอย่างดิน 13 จังหวัด (ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม ยโสธร ร้อยเอ็ด เลย ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองคาย อุบลราชธานี และอำนาจเจริญ) ด้วยวิธีใช้หนอนนก (yellow mealworm: *Tenebrio molitor*) เป็นเหยื่อล่อ (baiting technique) ซึ่งสามารถแยกเชื้อได้ตลอดเกือบทั้งปี โดยพบทั้งในดินป่า (โดยไม่ได้จำแนกประเภทของป่า) และดินเกษตรกรรมจากแปลงปลูกพืช ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด มะเขือเทศ หอม ยาสูบ ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วลิสง และยางพารา และจากผลการสุ่มตัวแทน ไอโซเลตมาวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบส (sequencing analysis) ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA, rDNA) บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) และ 5.8S คือเชื้อ *M. anisopliae* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Davet และ Rouxel (2000) และ Zimmermann (1986) ว่าการใช้หนอนนก หรือหนอนผีเสื้อกินไขผึ้ง (waxmoth; *Galleria mellonella*) สามารถแยกได้เชื้อ *M. anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *P. fumosoroseus* และ *Beauveria bassiana* ส่วนการแยกหาเชื้อราจากตัวอย่างแมลงโดยตรงพบเชื้อ *Metarhizium* spp. จำนวน 3 ไอโซเลต จากจังหวัดร้อยเอ็ด โดยแยกได้จากด้วงดำ (black beetle; *Heteronychus* spp.) สำหรับด้วงดำนั้นจัดเป็นแมลงศัตรูข้าวชนิดใหม่ที่พบมีการระบาดในประเทศไทย โดยเริ่มพบแมลงชนิดนี้เข้าทำลายข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตอนล่าง ในฤดูนาปี พ.ศ. 2541 เฉพาะอย่างยิ่งในเขตทุ่งกุลาร้องไห้ ได้แก่ จังหวัด ร้อยเอ็ด ยโสธร ศรีสะเกษ และสุรินทร์ ซึ่งพบในสภาพนาดินทรายที่มีความชื้น แต่ไม่มีน้ำขัง (จิรพงศ์ และคณะ, 2542) สำหรับการค้นพบเชื้อ *M. anisopliae* var. *anisopliae* (จากการนำเชื้อ *Metarhizium* sp. IPKKU 247 ซึ่งเป็นตัวแทนไอโซเลตที่สุ่มเลือกได้มาบ่งชี้ชนิดโดยอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบส) ที่ทำลายด้วงดำศัตรูข้าวนี้ จัดเป็นรายงานการค้นพบครั้งแรกในประเทศไทย

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Metarhizium* spp.

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Metarhizium* spp. ทั้งจาก ขนาด รูปร่าง และลักษณะ รวมทั้งสีของโคนิเดีย พบว่าเมื่อแบ่งตามขนาด (พื้นที่ของโคนิเดีย กว้างxยาว) ของโคนิเดียเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มโคนิเดียขนาดเล็ก กลาง และใหญ่ มีจำนวน 43, 29 และ 13 ไอโซเลต ตามลำดับ ซึ่ง

โคนิเดียมีรูปทรงกระบอก (cylindrical shape) มีเซลล์เดี่ยว บางไอโซเลตพบมีบางโคนิเดียคอดตรงกลางเล็กน้อย มีสีเขียวปนน้ำตาลซีด และจากการศึกษาลักษณะของโคโลนีพบว่า ระยะแรกเชื้อเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวปนเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สีเหลืองปนน้ำตาล, สีเหลืองปนเขียว, สีเขียวปนน้ำตาล หรือสีเขียวปนเหลือง เมื่ออายุมากขึ้น ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละไอโซเลต สำหรับการศึกษากาการเจริญเติบโตของเชื้อโดยการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเมื่อเลี้ยงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar ที่เติม yeast extract (SDAY) นาน 21 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 50.83-90.00 มิลลิเมตร ซึ่งไอโซเลต IPKKU 222 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต IPKKU 219 และ IPKKU 178 ตามลำดับ ส่วนไอโซเลต IPKKU 218 มีการเจริญเติบโตช้าที่สุด

3. การศึกษาความสามารถและประสิทธิภาพของเชื้อ *Metarhizium* spp.

3.1 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์

ผลการศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ 3 ชนิด คือ protease, lipase และ chitinase ของเชื้อ *Metarhizium* spp. โดยเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activity) โดยใช้ค่าที่คำนวณจากอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีต่อเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสที่เกิดจากการย่อยสลายชั้นเตรทของเอนไซม์ (Rosato et al., 1981 cited after Samuels et al., 1989) นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ โดยพบว่า

3.1.1 เอนไซม์ protease เชื้อ *Metarhizium* sp. IPKKU 239 มีการสร้างเอนไซม์ protease สูงสุดและมีระดับกิจกรรมของเอนไซม์สูง (กิจกรรมของเอนไซม์ระหว่าง 0.33-0.01) และมีจำนวน 15 ไอโซเลต (IPKKU 170, IPKKU 171, IPKKU 192, IPKKU 193, IPKKU 206, IPKKU 210, IPKKU 211, IPKKU 212, IPKKU 223, IPKKU 224, IPKKU 226, IPKKU 234, IPKKU 237, IPKKU 243 และ IPKKU 245) ที่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ protease (กิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 1)

3.1.2 เอนไซม์ lipase เชื้อ *Metarhizium* spp. ทุกไอโซเลตสามารถสร้างเอนไซม์ lipase ได้ ซึ่งไอโซเลต IPKKU 224 มีการสร้างเอนไซม์ lipase สูงสุด โดยมีระดับกิจกรรมของเอนไซม์ปานกลาง (กิจกรรมของเอนไซม์ระหว่าง 0.66-0.34) ส่วนไอโซเลต IPKKU 165 มีการสร้างเอนไซม์ lipase ต่ำสุด และมีระดับกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำ (กิจกรรมของเอนไซม์ระหว่าง 0.99-0.67)

3.1.3 เอนไซม์ chitinase เชื้อ *Metarhizium* spp. IPKKU 191, IPKKU 222, IPKKU 223, IPKKU 224, IPKKU 225 และ IPKKU 231 ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase แต่ไอโซเลต

IPKKU 241 นั้นมีการสร้างของเอนไซม์ chitinase ได้สูงสุด โดยมีระดับกิจกรรมของเอนไซม์ปานกลาง รองลงมาคือไอโซเลต IPKKU 213

สำหรับความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease และ chitinase มีบางไอโซเลตไม่สามารถสร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้ ทั้งนี้อาจจะมีการสร้างเอนไซม์แต่มีการสร้างในปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ได้ เนื่องจากวิธีการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์เป็นแบบกึ่งเชิงปริมาณ นอกจากนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมาระหว่างการเข้าทำลายแมลงนั้นเป็นปัจจัยหลักสำหรับขั้นตอนการผ่านทะลุเข้าไปยังภายในลำตัวแมลง ซึ่งเชื้อ *M. anisopliae* สามารถผลิตเอนไซม์ protease และเชื่อว่ามีสำคัญต่อการย่อยสลายผนังลำตัวของแมลงอาศัยและมีบทบาทในการเข้าทำลายแมลงอาศัย (Krieger de Moraes et al., 2003) โดยได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ protease และได้มีการตัดต่อยีนที่สร้างเอนไซม์ protease (Pr1) ลงในเชื้อ *M. anisopliae* เพื่อให้สร้างเอนไซม์ protease ที่มากขึ้น พบว่าสามารถลดเวลาในการตายและอัตราการกินของหนอนหอนยาสูบ (tobacco hornworm; *Manduca sexta*) ลงเท่ากับ 25 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมทั้งให้ค่า LC_{50} ที่ต่ำกว่าสายพันธุ์ธรรมชาติ (St. Leger et al., 1996)

3.2 การเปรียบเทียบการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อ

ผลจากการนำเชื้อ *Metarhizium* spp. ตัวแทนไอโซเลตที่สุ่มเลือกได้ จำนวน 18 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต IPKKU 175, IPKKU 180, IPKKU 181, IPKKU 189, IPKKU 191, IPKKU 194, IPKKU 200, IPKKU 207, IPKKU 212, IPKKU 214, IPKKU 218, IPKKU 221, IPKKU 225, IPKKU 234, IPKKU 239, IPKKU 244, IPKKU 246 และ IPKKU 247 มาทดสอบเพื่อผลิตมวลชีวภาพของเชื้อด้วยอาหารต่างกัน พบว่า

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อ *Metarhizium* spp. สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (potato dextrose agar; PDA, Sabouraud dextrose agar; SDA, SDAY, fungus agar; FA และ yeast malt extract; YM) โดยไอโซเลต IPKKU 207, IPKKU 189 และ IPKKU 180 สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดได้ดีกว่าไอโซเลตอื่น และเมื่อเปรียบเทียบชนิดอาหารทั้ง 5 ชนิด พบว่า อาหาร FA และ SDAY นั้นเชื้อ *Metarhizium* spp. เจริญเติบโตได้ดี รองลงมา คือ อาหาร SDA, YM และ PDA ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกันกับรายงานของ Krutmuang (1996) ที่ศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อ *M. anisopliae* var. *majus* และ *M. anisopliae* var. *anisopliae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 12 ชนิด ซึ่งพบว่าอาหาร SDAY เชื้อ *M. anisopliae* var. *anisopliae* เจริญเติบโตได้ดี รองลงมาคือ อาหาร FA ส่วน *M. anisopliae* var. *majus* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร mungbean agar (MA) รองลงมาคืออาหาร FA เช่นเดียวกัน

3.2.2 เมล็ดข้าวฟ่าง โดยการใช้เมล็ดข้าวฟ่าง พบว่าเชื้อ *Metarhizium* spp. ทุกไอโซเลตสามารถเจริญและสร้างโคนิเดียได้ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.20×10^7 - 5.37×10^8 โคนิเดียต่อกรัม สำหรับการมุ่งผลิตมวลชีวภาพของโคนิเดียเชื้อราชนิดนี้ จัดว่าเป็นส่วนที่มีความสำคัญและเหมาะสมมากกว่าส่วนของเส้นใย (Soper and Ward, 1981) เพื่อใช้สำหรับการเข้าทำลาย จึงนิยมนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งการผลิตมวลชีวภาพโดยการใช้วัสดุที่หาง่ายในท้องถิ่น เช่น ข้าวฟ่างและข้าวเปลือกเหนียว พบว่า การใช้ข้าวฟ่างจะให้ผลผลิตของโคนิเดียสูงกว่าการใช้ข้าวเปลือกเหนียว (ศิริวิทย์ และคณะ, 2545) แต่หากต้องการผลิตเส้นใยก็สามารถใช้อาหารเหลว ซึ่งได้มีการศึกษาเพื่อผลิตมวลชีวภาพของเส้นใยโดยใช้อาหารเหลวและทำให้แห้งเพื่อผลิตเป็นรูปการก้า เช่น BIO 1020® เป็นต้น (Zimmermann, 1992)

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการทำลายแมลงของเชื้อ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อนำตัวแทนเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่สุ่มเลือกได้จำนวน 18 ไอโซเลต ดังกล่าวข้างต้น ซึ่งเป็นไอโซเลตที่แยกได้จากตัวอย่างดิน จำนวน 17 ไอโซเลต และอีก 1 ไอโซเลต ที่แยกได้จากด้วงค้ำ มาทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายหนอนนกซึ่งเป็นแมลงมาตรฐานชนิดหนึ่งที่ยกมาใช้ในการทดสอบ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 36.67-100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) ซึ่งไอโซเลต IPKKU 247 ที่แยกได้จากด้วงค้ำโดยตรงนั้นมีเปอร์เซ็นต์การตาย 70 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวน 6 ไอโซเลตที่มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชื้อ *Metarhizium* spp. แต่ละไอโซเลตมีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคที่แตกต่างกัน และแหล่งที่มาของเชื้อไม่มีผลต่อความสามารถในการเข้าทำลายหนอนนก เพราะไอโซเลตของเชื้อ *Metarhizium* spp. ที่แยกได้จากด้วงค้ำก็ไม่ได้มีความสามารถในการทำลายหนอนนกได้สูงกว่าไอโซเลตที่แยกได้จากดิน ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับความเฉพาะเจาะจงของเชื้อด้วย แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้มีแนวโน้มให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการทำลายแมลงทดสอบของเชื้อแปรผันตามความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease และ chitinase นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าประสิทธิภาพของเชื้อไม่ได้แปรผันตามขนาดของโคนิเดีย (Samuels et al., 1989) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองนี้

4. การบ่งชี้ชนิดและการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อ *Metarhizium* spp. โดยอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณ ITS และ 5.8S rDNA

4.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS และ 5.8S rDNA ด้วยเทคนิค PCR

ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) TW81 และ AB28 เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนไรโบโซมอล

ดีเอ็นเอ (ribosomal DNA; rDNA) บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) และ 5.8S ของเชื้อ *Metarhizium* spp. [จำแนกเป็นสกุล (genus) นี้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก] จำนวน 18 ไอโซเลต และเมื่อวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product) (ITS1-5.8S-ITS2 rDNA) ด้วยเทคนิค อะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าว มีขนาดประมาณ 600 คู่เบส (base pair) ทุกไอโซเลต และการศึกษาดีเอ็นเอในส่วนเดียวกันนี้แต่ใช้ไพรเมอร์ต่างชนิดกัน คือ ITS1 และ ITS4 ก็ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 600 คู่เบส เช่นเดียวกัน ในเชื้อ *M. anisopliae* var. *anisopliae* และ *M. flavoviride* ส่วนเชื้อ *M. anisopliae* var. *anisopliae* (ไอโซเลตจากประเทศบราซิล) มีขนาดประมาณ 540 คู่เบส และเชื้อ *M. album* มีขนาดประมาณ 650 คู่เบส (Destefano et al., 2004)

4.2 การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสเพื่อบ่งชี้ชนิด

ผลจากการนำผลิตภัณฑ์ PCR (ITS1-5.8S-ITS2 rDNA) ของเชื้อ *Metarhizium* spp. มาหาข้อมูลลำดับเบส แล้วนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (data base) ของ GenBank (National Center for Biotechnology Information; NCBI) พบว่าข้อมูลลำดับเบสของเชื้อทุกไอโซเลตมีความเหมือน (identity) กับข้อมูลลำดับเบสของเชื้อ *M. anisopliae* จากฐานข้อมูล และบางไอโซเลตสามารถบ่งชี้ได้ถึงสายพันธุ์ (variety) คือ *M. anisopliae* var. *anisopliae* โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 88-99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่มีความเหมือนสูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา สำหรับบริเวณ ITS1 และ ITS2 เป็นบริเวณที่ไม่มีรหัสสำหรับยีน (non-coding region) นอกจากนี้ยังเป็นบริเวณที่มีความผันแปรสูง (variable region) บริเวณนี้จึงสามารถนำมาใช้แยกสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยทั่วไปใช้สำหรับแยกความแตกต่างระดับชนิด (species) (Guarro et al., 1999) และจากการศึกษานี้พบว่าบริเวณ ITS1 มีความผันแปรสูงกว่าบริเวณ ITS2 ซึ่งผลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 rDNA เพื่อบ่งชี้ชนิดนี้จึงน่าจะเชื่อถือได้ เพราะวิธีเปรียบเทียบลำดับเบสเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง และยังสามารถนำมาใช้วินิจฉัยร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาจึงยิ่งให้ความแม่นยำยิ่งขึ้น

4.3 การหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationship) ของเชื้อ *M. anisopliae* ทั้ง 18 ไอโซเลต กับลำดับเบสของเชื้อ *Metarhizium* spp. และ *B. bassiana* จากฐานข้อมูลของ GenBank โดยนำค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic distance) มาสร้าง phylogenetic tree โดยวิธี Neighbor-joining ซึ่ง phylogenetic tree ที่ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Metarhizium* มีการกระจายตัวไปตาม clade ต่างๆ โดย *M. anisopliae* var. *anisopliae* และ *M. anisopliae* var. *majus* อยู่ในกลุ่มเดียวกัน แยกออกจาก *M. flavoviride* var. *flavoviride* และ *M. album* อย่างชัดเจน ซึ่งให้ผล

สอดคล้องกับงานของ Curran และคณะ (1994) และ Driver และคณะ (2000) ที่รายงานว่า การวิเคราะห์ phylogenetic นั้นสามารถแยกเชื้อ *Metarhizium* spp. ได้เป็น 3 ชนิด อย่างชัดเจน คือ *M. anisopliae*, *M. flavoviride* และ *M. album* นอกจากนี้ Driver และคณะ (2000) ได้ทบทวนการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานใหม่โดยอาศัยการวิเคราะห์ phylogenetic ของข้อมูลลำดับเบสของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ ซึ่งนอกจากจัดจำแนกเชื้อราสกุล *Metarhizium* ได้แล้ว ยังพบสายพันธุ์ใหม่ คือ *M. anisopliae* var. *lepidiotum*, *M. anisopliae* var. *acridum*, *M. flavoviride* var. *novazealandicum* และ *M. flavoviride* var. *pemphigum* และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแมลงอาศัยกับภูมิศาสตร์โดยวิเคราะห์ phylogenetic พบว่าภูมิศาสตร์มีอิทธิพลต่อความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมมากกว่าแมลงอาศัย (Kwong et al., 2004)

จากผลการศึกษาการแยกเชื้อราจากดินและแมลง ประสิทธิภาพ และการบ่งชี้ชนิดนี้ น่าจะเป็นแนวทางที่ดี และเป็นหนทางนำไปสู่การค้นพบสิ่งใหม่ๆ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ณ ที่ใด ทั้งนี้เพราะหากมีการค้นพบเชื้อ *M. anisopliae* ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพสูง ยังจะเป็นหนทางนำไปสู่การพัฒนาเพื่อใช้เชื้อรานี้ควบคุมแมลงศัตรูที่สำคัญได้ดีอีกทางหนึ่ง หรือเพื่อใช้ผสมผสานร่วมกับวิธีอื่นๆ นอกจากนั้นยังเป็นโอกาสที่ดีเพื่อการพัฒนาด้านพันธุวิศวกรรมในการสร้างพืชแปรพันธุ์ (genetically modified plant) และที่สำคัญเพื่อความชัดเจนในการบ่งชี้ชนิดเชื้อ *Metarhizium* spp. ในการแยกความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ระหว่างไอโซเลตที่มีลักษณะคล้ายกัน เนื่องจากการตรวจวินิจฉัยจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจทำให้การบ่งชี้ชนิดผิดพลาดได้ รวมทั้งยังสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป