

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและประเมินความรุนแรงของโรครากปม

จากผลการสำรวจการระบาดของโรครากปมในพืชจำนวน 17 ชนิด 31 แปลงปลูก ในเขตพื้นที่ จังหวัดอุบลราชธานี ยโสธร ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ และนครราชสีมา พบความรุนแรงในการเกิดปมที่รากอยู่ระหว่างร้อยละ 18-85 แสดงให้เห็นว่าโรครากปมเป็นโรคที่พบแพร่กระจายทั่วไปตามแหล่งปลูกพืชอาศัยที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง การพบความรุนแรงของการเกิดปมที่รากในระดับที่แตกต่างกันนั้น อาจเนื่องมาจากชนิดพืช ช่วงอายุที่ถูกทำลาย รวมทั้งสภาพพื้นที่ปลูกที่แตกต่างกัน (สืบทัด, 2524; สติรวงศ์, 2526) และพบความสัมพันธ์ระหว่าง เปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่ราก จำนวนไส้เดือนฝอยในราก และจำนวนไส้เดือนฝอยรากปม (J2) ในดินเป็นไปในทางบวก ทั้งตัวอย่างดินและรากที่เก็บมาจากดินแกระแกร็น รากเป็นปม (S-RN) และดินไม่มีอาการแกระแกร็น แต่รากเป็นปม (NS-RK) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.944 และ 0.891 ตามลำดับ แสดงว่า ความรุนแรงของการเกิดปมมีความเกี่ยวข้องกับจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมที่อยู่ในดิน และในรากเป็นอย่างมาก ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ อนันต์ และ พิศาล (2538) ที่สำรวจการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมในมะละกอ และ ความรุนแรงของโรคในพื้นที่จังหวัด นครราชสีมา สุรินทร์ อุบลราชธานี ยโสธร ร้อยเอ็ด ขอนแก่น เลย หนองคาย และนครพนม พบว่าระดับความรุนแรงของการเกิดปมที่รากมะละกอแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ที่ทำการสำรวจ และพื้นที่ที่มีปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมในดินมาก เป็นพื้นที่เดียวกับที่พบอาการรากปมรุนแรงมาก โดยที่นครราชสีมา และสุรินทร์ พบความรุนแรงของโรครากปมน้อย ขณะที่ที่ขอนแก่น อุบลราชธานีและบางพื้นที่ของจังหวัดร้อยเอ็ด มีความรุนแรงปานกลาง ส่วนที่ยโสธร ร้อยเอ็ด และเลยในบางพื้นที่พบความรุนแรงของโรครากปมในระดับที่รุนแรงมาก ดังนั้นถ้าสามารถลดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมในดิน ย่อม ส่งผลให้ไส้เดือนฝอยรากปมเข้าไปในรากพืชได้น้อยลง พืชก็มีแนวโน้มที่จะเกิดโรครากปมได้น้อยตามลงไปด้วย

2. การแยกเชื้อราบริสุทธิ์จากกลุ่มไส้เดือนฝอยรากปมและจากดินรอบรากพืชที่เป็นโรครากปม

สามารถแยกเชื้อราจากกลุ่มไส้เดือนฝอยรากปมและจากดินรอบรากพืชที่เป็นโรครากปม สามารถแยกเชื้อราจากกลุ่มไส้เดือนฝอยรากปมที่ปรากฏอาการของโรค (S-RK) และแปลงไม่ปรากฏอาการโรค (NS-RK) จากตัวอย่างรากพืชชนิดต่างๆ ได้ทั้งสิ้น 628 ไอโซเลต เช่น *Po. chlamydosporia*, *Pa. lilacinus*, *Tr. harzianum*, *Tr. hamatum*, *As. niger*, *F. oxysporum*,

As. parasiticus, *Al. lunata*, *Pe. digitatum* และ *Pe. purpurogenum* เป็นต้น ซึ่งผลการสำรวจนี้ สอดคล้องกับรายงานผลการสำรวจในสเปน โดย Olivares-Bernabeu และ Lopez-Llorca (2002) ที่พบว่าเชื้อราที่สำรวจพบอยู่เสมอๆคือ เชื้อ *Po. chlamydosporia* และ *Pa. lilacinus* และเช่นเดียวกับการสำรวจในประเทศจีนที่พบเชื้อราศัตรูไส้เดือนฝอยรากปมหลายชนิดแต่ที่พบมากคือ *Pa. lilacinus* (ร้อยละ 49.3), *Fusarium* spp. (ร้อยละ 7.9), *Po. chlamydosporia* (ร้อยละ 6.9), *Penicillium* spp. (ร้อยละ 5.7), *Aspergillus* spp. (ร้อยละ 3.2) (Sun et al., 2006) และมีรายงานว่าเชื้อรา *F. oxysporum* เป็นปรสิตต่อไข่ของ *M. hapla* โดยสามารถแยกได้จากกลุ่มไข่รวมทั้งเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Penicillium* sp. ในแปลงปลูกผักกาดหอมตามแหล่งปลูกต่างๆของเมืองนิวยอร์ก ประเทศสหรัฐอเมริกา (Viaene and Abawi, 1998) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Goswami และคณะ (1998) ที่พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากกลุ่มไข่อยู่เสมอคือเชื้อรา *F. oxysporum* และ *As. niger* โดยเชื้อราที่แยกได้จากกลุ่มไข่ที่มีการศึกษากันมากถึงศักยภาพในการนำไปใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยคือ *Po. chlamydosporia* และ *Pa. lilacinus* (Kerry, 2000)

ดินรอบๆรากพืช (rhizosphere) เป็นบริเวณที่มีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชหนาแน่นกว่าดินทั่วไป (bulk soil) ดังนั้นดินบริเวณนี้จึงเป็นไปได้ที่จะพบเชื้อราศัตรูธรรมชาติของไส้เดือนฝอยมากด้วยเช่นกัน (Kerry, 2000) ผลการแยกเชื้อราในดินในการศึกษาครั้งนี้ เชื้อราที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตเป็นปรสิตชั่วคราว (facultative parasite) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม และสามารถดำรงชีวิตแบบ saprophyte ได้ในสภาพดินไม่มีไส้เดือนฝอย ตัวอย่างเชื้อราที่แยกได้เช่น *As. niger*, *As. oryzae*, *Auriobasidium* sp., *Botrytis* sp., *G. cadidum*, *L. tenuipes*, *M. anisopliae*, *Pe. spinulosum*, *Pe. frequentans*, *Pe. fungiculosum*, *Pe. marneffeii*, *Pe. nigrificans*, *Pe. islandicum*, *Pa. lilacinus*, *Po. chlamydosporia*, *T. flavus*, *Trichoderma* sp. และ *Tr. harmatum* เป็นต้น การศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Eapen และคณะ (2005) ที่ได้สำรวจพบเชื้อราปฏิปักษ์ในดินบริเวณรากพืชที่มีสารให้รสเผ็ด (spice crops) ตามแหล่งปลูกที่สำคัญในประเทศอินเดีย เช่น *Aspergillus* spp., *Auriobasidium* sp., *Fusarium* sp., *F. oxysporum*, *Pa. lilacinus*, *Pe. digitatum*, *Pe. fungiculosum*, *Po. chlamydosporia*, *Trichoderma* sp. และ *Tr. harmatum* โดยเฉพาะ *Po. chlamydosporia* เป็นเชื้อราที่พบอาศัยอยู่ในดินและพบมากในดินรอบๆรากพืชที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย (Kerry, 2000)

3. ประสิทธิภาพของเชื้อราต่อการเข้าทำลาย กลุ่มไข่ (egg mass) ไข่เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการ

เชื้อราที่แยกได้จากกลุ่มไข่ และดินรอบๆรากพืชจำนวน 1,835 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพเข้าเจริญปกคลุมกลุ่มไข่ได้ในระดับที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6) เชื้อราหลายชนิดสร้างสปอร์สีน้ำตาลจำนวนมากบนกลุ่มไข่ บางชนิดสร้าง fruiting bodies โดยมีเชื้อราที่เจริญเติบโตบนกลุ่มไข่ได้ดีเฉลี่ยในระดับ 2.5 - 3.0 จำนวนทั้งสิ้น 60 ไอโซเลต (หรือร้อยละ 3.29) ซึ่งตรวจสอบจากระดับการเจริญปกคลุมกลุ่มไข่ของเส้นใยเชื้อรา (colonization) และเมื่อนำเชื้อราทั้ง 60 ไอโซเลตทดสอบการเป็นปรสิตไข่ไข่เดือนฝอยรากปม พบว่าเชื้อราทั้ง 60 ไอโซเลต มีความสามารถเจริญปกคลุมไข่แตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 1.60 - 84 ซึ่งเชื้อราที่ทดสอบนี้หลายๆ ไอโซเลตมีรายงานว่าสามารถเข้าทำลายไข่ไข่เดือนฝอยสกุล *Heterodera* spp.ได้ในระดับที่แตกต่างกัน (Olivares-Bernabeu and Lopez-Llorca, 2002) ระดับความหนาแน่นของเส้นใยเชื้อราที่เจริญปกคลุมกลุ่มไข่ ส่วนใหญ่ไม่สอดคล้องกับระดับความรุนแรงของการเข้าทำลายไข่ ทั้งนี้เชื้อราหลายไอโซเลตสามารถเจริญปกคลุมกลุ่มไข่ได้ดี แต่พบเปอร์เซ็นต์ทำลายไข่ได้ต่ำ และในทางกลับกันเชื้อราบางไอโซเลตที่มีระดับการเจริญปกคลุมกลุ่มไข่ได้น้อย แต่กลับพบประสิทธิภาพการเข้าทำลายไข่ได้สูง เช่นเชื้อรา *As. niger* ไอโซเลต SYT64-06 และ เชื้อรา *Tr. hamatum* ไอโซเลต SSR79-12 เส้นใยเจริญบนกลุ่มไข่ได้ในระดับ 3 แต่พบไข่ถูกทำลายเพียงร้อยละ 3.69 และ 17.73 ตามลำดับ ส่วนเชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SYT46-11, *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-08, EUB26-02 และ *T. flavus* ไอโซเลต SSK49-07 มีเปอร์เซ็นต์การทำลายไข่สูงสุดเฉลี่ย ร้อยละ 84.08, 66.39, 62.97 และ 61.84 ตามลำดับ แต่มีระดับของการเจริญของเส้นใยบนกลุ่มไข่เฉลี่ย 2.58, 2.75, 2.75, และ 2.67 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Santos และคณะ (1992) และ Eapen และคณะ (2005) ที่พบว่าเชื้อราที่ทดสอบส่วนใหญ่เจริญเติบโตบนกลุ่มไข่ของ *M. incognita* ได้ดีแต่มีความสามารถเข้าทำลายไข่ไข่เดือนฝอยได้น้อย ความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นเพราะว่าเชื้อราทั่วไปสามารถใช้สารที่เป็นส่วนประกอบของ gelatinous matrix เพื่อการเจริญเติบโตได้ดี แต่อาจจะขาดกลไกสำคัญที่จำเป็นสำหรับการแทงเส้นใยผ่านเปลือกไข่เข้าไปภายใน หรือ gelatinous matrix ถูกทำลายได้ง่ายเนื่องจากเป็นที่รวมของไข่ (Santos et al., 1992) ซึ่ง Orion และคณะ (2001) พบว่ากลุ่มไข่ไข่เดือนฝอยรากปมจะถูกเชื้อจุลินทรีย์ในดินเข้าทำลายมากกว่าที่เป็นไข่เดี่ยวๆ และโดยทั่วไปพบว่าไข่ในระยะที่ยังไม่พัฒนาเต็มที่ จะมีความอ่อนแอต่อการถูกเชื้อราเข้าทำลายมากกว่าไข่ที่มีตัวอ่อนอยู่ภายใน (Irving and Kerry, 1986) ซึ่งไข่ไข่เดือนฝอยรากปมที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นไข่ทั้งในระยะที่เป็นไข่อ่อน (early developmental stages) และไข่ในระยะสมบูรณ์ (embryonic

development) จึงเป็นไปได้ที่พบความผันแปรในประสิทธิภาพของเชื้อราไอโซเลตต่างๆ ต่อการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม

ผลการศึกษาครั้งนี้เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการทำลายไข่ของ *M. incognita* ได้ดีที่สุดคือ เชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SYT46-11 โดยมีเปอร์เซ็นต์การทำลายไข่สูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 84.08 ส่วน *Po. chlamydosporia* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบเป็นจำนวนมากที่สุด (ร้อยละ 8.33) ในจำนวน 60 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบ ทำลายไข่ได้ร้อยละ 40.08-66.39 ซึ่งเป็นระดับการทำลายที่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Sun และคณะ (2006) ที่มีรายงานการทำลายไข่อยู่ระหว่างร้อยละ 23.8 - 64.1 แต่มากกว่าการศึกษาของ Eapen และคณะ (2005) ที่พบว่าเชื้อ *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต F.30 และ Vc.3 สามารถทำลายไข่ของ *M. incognita* ได้ร้อยละ 35.36 และ 26.42 ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้เชื้อรา *T. flavus*, *Pe. marneffeii*, *Trichoderma* sp. ไอโซเลต ESR 56-06, ESR53-09 และ *Paecilomyces* sp. ไอโซเลต ESR47-01 เป็นเชื้อที่พบความรุนแรงของการเข้าทำลายไข่มากกว่าร้อยละ 40 ซึ่งเชื้อราในสกุลเหล่านี้มีรายงานถึงประสิทธิภาพการทำลายไข่ไส้เดือนฝอยได้ในระดับที่แตกต่างกัน (Santose et al., 1992; Khan et al., 2001; Olivares-Bernabeu and Lopez-Llorca, 2002; Eapen, et al., 2005; Sun et al., 2006) เชื้อราบางไอโซเลต เช่น *Aureobasidium* sp. ไอโซเลต SSR61-07 นอกจากมีประสิทธิภาพการทำลายไข่ไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี (ร้อยละ 2.19) แล้ว ยังพบว่าเชื้อราไปกระตุ้นการฟักไข่ออกเป็น J2 เพิ่มมากขึ้นร้อยละ 10.31 (ตารางที่ 7) อาจเป็นไปได้ว่ามีสารบางชนิดที่เกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อราไปมีผลต่อการกระตุ้นการฟักไข่ เช่นเดียวกับเชื้อ *Pe. digitatum* ไอโซเลต EUB25-03 แม้จะสามารถทำลายไข่ได้สูงถึงร้อยละ 43.63 แต่พบว่าเชื้อไปกระตุ้นการฟักไข่ โดยตรวจพบการฟักออกเป็น J2 สูงถึงร้อยละ 96.99 หรือลดการฟักไข่ได้เพียงร้อยละ 3.00 เท่านั้น ซึ่งไข่ที่ถูกเชื้อราทำลายเป็นส่วนใหญ่อาจเป็นไข่อ่อน ดังนั้นไข่ที่อยู่ในระยะเป็นไข่ที่สมบูรณ์มีโอกาสฟักออกมาเป็น J2 ได้มาก

เมื่อประเมินผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราต่อการทำลายไข่ การลดการฟักไข่ในห้องปฏิบัติการ และการควบคุมความรุนแรงของการเกิดปมรากถั่วเขียวที่ปลูกในกระถาง สามารถคัดเลือกเชื้อราจำนวน 11 ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการควบคุม *M. incognita* ได้ดีที่สุด ได้แก่ เชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SYT46-11 และ SNM01-06, *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-02, EUB26-08, EYT35-09 และ EUB47-01, *T. flavus* ไอโซเลต SSK49-07, *Pe. marneffeii* ไอโซเลต SUB33-13, *Pa. lilacinus* ไอโซเลต EUB48-06, *Trichoderma* sp. ไอโซเลต ESR56-06 และ *Paecilomyces* sp. ไอโซเลต SSR53-09 สำหรับทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมเรือนทดลองต่อไป

4. ประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมโรครากปมของพริกในเรือนทดลองและแปลงปลูกขนาดเล็ก

การวัดประสิทธิภาพเชื้อราทั้ง 11 ไอโซเลตโดยใช้เกณฑ์ความสูงของต้น น้ำหนักต้นสด ความรุนแรงของการเกิดปมราก จำนวนไข่ไส้เดือนฝอยรากปมต่อราก 1 กรัม และจำนวนไข่ไส้เดือนฝอย (J2) ต่อดิน 300 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-08, EYT35-09 และเชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SNM01-06 ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรไข่ไส้เดือนฝอยรากปมในพริกพันธุ์หัวเรือที่ปลูกในกระถางได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้ผลแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับต้นพริกในกระถางที่ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 9 - 14) เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถยับยั้งประชากรไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่อยู่ในดินได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ De Leij และคณะ (1993) ที่พบว่าเชื้อ *V. chlamydosporium* (Syn. *Po. chlamydosporia*) สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินรอบๆ รากพืช และเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยที่อยู่ภายในกลุ่มไข่บนผิวรากพืชและให้ประสิทธิภาพในการควบคุมไข่ไส้เดือนฝอยรากปมของมะเขือเทศที่ปลูกในกระถางได้ โดย Sun และคณะ (2006) พบว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถควบคุมความรุนแรงของการเกิดปมที่รากมะเขือเทศได้ร้อยละ 41.6 ซึ่งชนิดของดินที่นำมาทดสอบมีผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อราต่อการการยับยั้งไข่ไส้เดือนฝอย โดยดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูง ทำให้เชื้อราสามารถยับยั้งประชากร *M. incognita* ในมะเขือเทศที่ปลูกในกระถางได้ดีที่สุดคือร้อยละ 59 ในขณะที่ดินร่วนปนทราย และดินทราย การควบคุม จะยับยั้งได้เพียงร้อยละ 51 และ 39 ตามลำดับ (De Leij et al., 1993)

และเมื่อนำเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลตทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเพิ่มประชากรของไข่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในพริกที่ปลูกในแปลงขนาดเล็ก และประเมินผลพบว่าเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมไข่ไส้เดือนฝอยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 15) การเจริญของเชื้อราไม่มีผลกระทบกับการเจริญเติบโตของพืช (ตารางที่ 16) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Becker และคณะ (2003) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรากับมะเขือเทศที่ปลูกในแปลงพบว่า การเจริญเติบโตของมะเขือเทศทั้งในแง่ของความสูงลำต้นและน้ำหนักต้นแห้ง รวมทั้งจำนวนและน้ำหนักผลผลิตไม่แตกต่างกันระหว่างแปลงที่ใส่เชื้อรา และไม่ได้ใส่เชื้อรา *Po. chlamydosporia* ส่วนการวัดประสิทธิภาพการยับยั้งการเพิ่มประชากรไข่ไส้เดือนฝอยรากปมนั้น เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับแปลงพริกที่ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 17) โดยความรุนแรงของการเกิดปมที่รากมีสหสัมพันธ์ไปในทางบวกกับจำนวนไข่ และจำนวนตัวเต็มวัยในราก (ตารางที่ 18-20) ประสิทธิภาพของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลตทำให้ความรุนแรงของการเกิดปมที่รากพริกไม่แตกต่างทางสถิติกับแปลงที่ใส่สารเคมี

carbofuran แต่มีความแตกต่างในจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียในราก โดยแปลงที่ใส่สารเคมีพบจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียในราก (517.38 ตัว) น้อยกว่าแปลงที่ใส่เชื้อรา ทั้งนี้อาจเนื่องจากพิษของสารเคมีที่ถูกดูดซึมเข้าไปในท่อลำเลียงพืชจึงส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของตัวเต็มวัยเพศเมียที่ดักกินอยู่ภายในราก และปริมาณไข่ที่สร้าง ในทางตรงกันข้ามแปลงพริกที่ใส่เชื้อรา *Pa. lilacinus* ตรวจพบจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียในรากเป็นจำนวนมากถึง 1,037.44 ตัวต่อราก 1 กรัม และมีความรุนแรงของการเกิดปมที่รากร้อยละ 53.75 อาจเป็นเพราะใส่เชื้อราลงไปในดินในรูปสปอร์แขวนลอย ทำให้สปอร์เชื้อรางอกไม่ดีและเจริญเติบโตและตั้งรกรากได้ไม่ดีในบริเวณดินรอบๆรากพืชซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมใหม่ในช่วงแรกๆ ไข่ไส้เดือนฝอยจึงรอดพ้นจากการถูกทำลายและเข้าไปในรากพืชได้และเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณอย่าง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจำนวนไข่ต่อราก 1 กรัม พบว่าแปลงที่ใส่เชื้อรา *Pa. lilacinus* มีจำนวนไข่ไม่แตกต่างกับแปลงที่ใส่เชื้อรา *Po. chlamydosporia* และ *L. tenuipes* ซึ่งอาจเป็นเพราะเชื้อรา *Pa. lilacinus* เริ่มตั้งรกรากในดินได้ดี เชื้อจึงเข้าทำลายไข่ที่อยู่บริเวณรากได้มาก ดังนั้นการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ควรต้องทำการทดสอบซ้ำลงไปแปลงเดิมเพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพของการควบคุมของเชื้อราที่ทดสอบ

ผลการศึกษาเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-08, EYT35-09 และเชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SNM01-06 ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในพริกพันธุ์หัวเรือได้ดีไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ De Leij และคณะ (1993) ที่พบว่าเมื่อนำ chlamydospores ของเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ใส่ลงไปแปลงปลูกมะเขือเทศ สามารถลดจำนวนประชากรของ *M. incognita* และ *M. hapla* ในแปลงปลูกได้มากกว่าร้อยละ 90 และ *V. chlamydosporium* สามารถยับยั้งประชากรของไส้เดือนฝอยในกลุ่ม cyst nematode (*Heterodera avenae*) ในแปลงรัฐพืชที่เป็นพืชอ่อนแอได้ด้วยเช่นกัน (Kerry et al., 1982) แต่ในการศึกษาของ Gaspard และคณะ (1990) พบว่า *V. chlamydosporium* ไม่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเพิ่มประชากรของ *M. incognita* จากการเปรียบเทียบจำนวน J2 ที่ใส่ลงไปในระยะแรก และจำนวน J2 ในแปลงปลูกมะเขือเทศเมื่อ 10 สัปดาห์ผ่านไป (Pf/Pi) และพบปริมาณของเชื้อ *V. chlamydosporium* มีสหสัมพันธ์ไปในทางบวกเล็กน้อย ($r = 0.224$) กับความหนาแน่นของ *M. incognita*

แม้ผลศึกษาครั้งนี้เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลตให้ประสิทธิภาพควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* ได้ดี แต่เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงปลูกที่ใช้สารเคมี carbofuran แล้วพบว่ายังมีประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอยต่ำกว่าการใช้สารเคมี อาจจะเป็นเนื่องจากวิธีการทดสอบที่ใส่สปอร์เชื้อราลงไปดินพร้อมกับไข่ไส้เดือนฝอย สปอร์ของเชื้อราอาจจะงอกช้าหรือเจริญเติบโตได้ไม่ทันไข่ของไส้เดือนฝอยที่ฟักออกจากไข่แล้วสามารถเข้าทำลายรากได้ทันที่ รวมทั้งการใช้ inoculum

ในรูปสารแขวนลอยสปอร์อาจเป็นรูปแบบที่ไม่เหมาะสมต่อการตั้งรกรากและการเจริญของเชื้อราเมื่ออยู่ในดินในระยะแรก

การเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อรา *Po. chlamydosporia* เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงนั้นมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น อุณหภูมิดิน สภาพอากาศในดิน การแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นๆ ที่อยู่ในดินสายพันธุ์ของเชื้อรา อัตราความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา รวมทั้งความสามารถในการตั้งรกรากของเชื้อราในดินรอบๆ รากพืช (De Leij et al., 1992; Kerry, 2000) การเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอย คือการพยายามให้เชื้อราสามารถเจริญเติบโตในดินปลูกได้ดี ซึ่ง *V. chlamydosporium* เจริญเติบโตและมีชีวิตอยู่รอดในดินอินทรีย์วัตถุ (organic soil) ดีกว่าในดินที่เป็น mineral soil ชนิดพืชส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ในดินรอบรากได้ต่างกัน พืชที่ค่อนข้างทนทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย มักมีขนาดของปมที่รากเล็กกว่าและส่งเสริมการเจริญของเชื้อราได้มากกว่าชนิดพืชที่อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งให้ปมมีขนาดใหญ่กว่า และปมที่มีขนาดใหญ่จะทำให้กลุ่มไข้อ่างบางส่วนที่ฝังอยู่ภายในราก รอดพ้นจากการทำลายของเชื้อรา (Bourne and Kerry, 1999) เพราะเชื้อรา *Po. chlamydosporia* จะไม่สามารถแทงผ่านเนื้อเยื่อรากชั้น cortex ได้ (Kerry and Jaffee 1997) พริกจัดเป็นพืชที่อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปมน้อยกว่ามะเขือเทศ (Bafokzura, 1983) และให้ขนาดปมเล็กกว่าขนาดปมในรากมะเขือเทศ ทำให้มีกลุ่มไข้อ่างฝังตัวอยู่ในรากน้อย หรือมีปริมาณไข้อ่างอยู่ในกลุ่มไข้อ่างน้อย เชื้อราจึงสามารถทำลายไข้อ่างได้มาก ซึ่ง Kerry และ Jaffee (1997) ศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์กลุ่มไข้อ่างของ *M. hapla* ที่ถูกเชื้อรา *V. chlamydosporium* เข้าทำลาย ขึ้นอยู่กับจำนวนกลุ่มไข้อ่างบนราก และการที่กลุ่มไข้อ่างบนผิวรากได้สัมผัสกับเชื้อรา และมีการศึกษาพบว่าพริกเป็นพืชที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ของเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ในดินรอบๆ รากได้ดีกว่าพืชอื่นๆ หลายชนิดรวมทั้งมะเขือเทศ (Bourne and Kerry, 1999) ดังนั้นพริกจึงเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีแนวโน้มนำเชื้อรา *Po. chlamydosporia* มาใช้ในควบคุมโรครากปมได้ และเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-08 ซึ่งเป็นเชื้อราในท้องถิ่นจึงเป็น ไอโซเลตที่น่าสนใจที่จะนำไปใช้ศึกษาถึงศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยต่อไป ซึ่ง Hertz และคณะ (2002) กล่าวถึงแนวทางในการนำเชื้อรามาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยในแปลงปลูกประกอบด้วย 2 แนวทาง ได้แก่ การใส่เชื้อราเป็นจำนวนมากๆ ลงไปในดิน หรือกระตุ้นกิจกรรมของเชื้อราที่อยู่ในดินด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายไส้เดือนฝอย ซึ่งสอดคล้องกับที่ Sikora (1992) สรุปไว้ว่า การควบคุมโดยชีววิธี ไม่ได้เพียงพอใส่เชื้อราปฏิปักษ์ (antagonist) ลงไปในดินเท่านั้น แต่ต้องพยายามจัดการเชื้อปฏิปักษ์ต่างๆ เหล่านี้ให้สามารถอยู่ในระบบนิเวศน์วิทยาเกษตรให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใส่เชื้อรา *Po. chlamydosporia* ลงไปในดิน นอกจากเลือกใช้สายพันธุ์ของเชื้อราที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว

ควรมีความรู้เกี่ยวกับชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อ *Po. chlamydosporia* เป็นอย่างดี รวมทั้งหาวิธีการและรูปแบบ (formulation) ของการนำเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ไปใช้ในสภาพแปลงปลูกที่เหมาะสม เพื่อให้เชื้อสามารถตั้งรกราก และเพิ่มปริมาณได้ดีในแหล่งอาศัยใหม่เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

จากผลการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมโดยใช้ลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ส่วนของ ITS1-5.8S-ITS2 ของ rDNA ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา พบว่าเชื้อราที่มีศักยภาพสูงสุดในการเข้าทำลายไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) ในพริก คือเชื้อรา *Po. chlamydosporia* var. *catenulata* และ *Le. tenuipes* ซึ่งเป็นการรายงานผลการศึกษาก่อนเป็นครั้งแรกในประเทศไทย

5. การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์

เนื่องจากเปลือกไข่ (egg shell) ไส้เดือนฝอยรากปมมีไคตินเป็นองค์ประกอบหลักในผนังชั้นกลาง (chitinous layer) และเป็นบริเวณที่ถูกเชื้อราปรสิตเข้าทำลาย (infection sites) (Khan et al., 2004) ดังนั้นเอนไซม์ย่อยสลายที่ขับออกมานอกเซลล์อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องในขั้นตอนของการเข้าทำลาย จากผลการศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ chitinase ของเชื้อราจำนวน 11 ไอโซเลตในเชิงปริมาณ พบว่าเชื้อราปรสิตทั้งหมดซึ่งมีความสามารถทำลายไข่ไส้เดือนฝอยได้ดีจากการทดสอบบนอาหารวุ้น มีกิจกรรมของเอนไซม์จำเพาะของ chitinase และมีค่าอยู่ระหว่าง 1.22 – 6.46 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง โดยเชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SYT46-11 ซึ่งเป็นไอโซเลตที่ทำลายไข่ได้สูงสุดคือร้อยละ 84.08 ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์จำเพาะ chitinase มากที่สุดคือ 6.46 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง แต่เชื้อ *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB 26-08 ซึ่งสามารถทำลายไข่ได้รองลงมาคือร้อยละ 66.39 กลับตรวจพบกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ chitinase น้อยที่สุดเพียง 1.20 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง และไม่พบสหสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ chitinase ของเชื้อรากับจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงปลูกพริกขนาดเล็ก (ตารางที่ 19) แสดงว่าความรุนแรงในการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยของเชื้อราที่ทดสอบ อาจไม่มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase ซึ่งกลไกในกระบวนการแทงผ่านเปลือกไข่ไส้เดือนฝอยอาจต้องการปริมาณของเอนไซม์ chitinase จำนวนเพียงเล็กน้อยสำหรับการแทงเส้นใยผ่านเข้าไปเท่านั้น ไม่จำเป็นต้องสร้างในปริมาณมาก เพราะเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ chitinase สูง ไม่จำเป็นต้องมีประสิทธิภาพสูง (Samson et al., 1988) แต่ El-Sayed และคณะ (1989) พบกิจกรรมของเอนไซม์ endochitinase และ exochitinase ในปริมาณสูงในเชื้อราที่มีความรุนแรงในการก่อโรคกับแมลง อย่างไรก็ตาม

ประเมินกิจกรรมของเอนไซม์เป็นค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมด (total activity) อาจจะทำให้ สหสัมพันธ์ในทางบวกกับประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมก็ได้

สำหรับการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ protease ของเชื้อรา นั้น พบว่าเชื้อราทั้งหมดที่ ศึกษาตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ protease ได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.7 - 180.15 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง เชื้อ *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB 26-02, EUB 26-08 และ EUB 47-01 เป็นเชื้อราที่ทำลายไข่ได้ร้อยละ 62.97, 49.84 และ 66.39 และ ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงสุดเท่ากับ 180.15, 99.36 และ 70.05 ไมโครโมลต่อ มิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Lopez-Llorca และคณะ (2002) ที่ตรวจพบปริมาณของเอนไซม์ protease จากสปอร์ของเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ใน ปริมาณสูงขณะเข้าทำลายไข่ของ *M. javanica* ซึ่งเอนไซม์นี้เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งของเชื้อราใน การเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยในช่วงแรก เช่นเดียวกับ Tikhonov และคณะ (2002) ที่พบว่าเอนไซม์ proteases ทั้งหมดที่เชื้อรา *Po. chlamydosporia* สร้างคือ subtilisin-like serine proteases สามารถ ย่อยผิวหนังและเปลือกไข่ไส้เดือนฝอยได้ และโดยทั่วไปจะตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อย สลายไคตินในปริมาณที่ต่ำกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน (Olivares-Bernabeu and Lopez-Llorca, 2002) ดังนั้นจากผลการทดลองเอนไซม์ protease จึงน่าจะมีส่วนในการย่อย องค์ประกอบที่เป็นโปรตีนภายในไข่และตัวอ่อนไส้เดือนฝอย และเมื่อนำค่ากิจกรรมของเอนไซม์ จำเพาะของเอนไซม์ protease ของเชื้อรา มาหาสหสัมพันธ์กับประชากรไส้เดือนฝอยรากปมใน แปลงปลูกพริกที่ใส่เชื้อราพร้อมกับไส้เดือนฝอย พบว่า ปริมาณเอนไซม์ protease จากเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB 26-08 และ ไอโซเลต EYT35-09 มีสหสัมพันธ์น้อยหรือไม่ มีเลย แต่ในเชื้อรา *L. tenuipes* ไอโซเลต SNM01-06 มีสหสัมพันธ์ทางลบกับความรุนแรงของ การเกิดปมที่ราก ($r = -0.832$) จำนวนไข่ในราก ($r = -0.751$) และจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียในราก ($r = -0.712$) (ตารางที่ 22) ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งประชากรไส้เดือน ฝอยรากปมในสภาพดินปลูก สภาพแวดล้อมต่างๆที่อยู่ในดินอาจมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ของเชื้อรา *Po. chlamydosporia*

และการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์จำเพาะของเอนไซม์ glucoamylase ของเชื้อราปรสิติที่ นำมาทดสอบพบว่า ส่วนใหญ่มีความสามารถย่อยแป้งได้ดี โดยเชื้อ *L. tenuipes* ไอโซเลต SYT46-11 ซึ่งเป็นไอโซเลตที่ทำลายไข่ได้สูงสุดคือร้อยละ 84.08 ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ glucoamylase ได้มากที่สุดคือ 3.56 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง แต่ไม่พบกิจกรรม เอนไซม์ glucoamylase ในเชื้อ *Po. chlamydosporia* บางไอโซเลตคือ EUB26-08 และ EYT35-09

ซึ่งเป็นไอโซเลตที่ให้ผลในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีในเรือนปลูกพืชทดลองและถูกคัดเลือกไปทดสอบในสภาพแปลงปลูก

จากผลการทดลองนี้ยังไม่อาจสรุปได้ว่าความรุนแรงในการทำลายไส้เดือนฝอยรากปมเป็นผลเนื่องจากการที่เชื้อรามีปริมาณกิจกรรมสูง เนื่องจากเชื้อราบางชนิดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ได้สูงในห้องปฏิบัติการ ไม่ได้เป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรค (Latge et al., 1984) อาจจะเป็นบทบาทของเอนไซม์ชนิดอื่นๆหรือเป็นกิจกรรมของสารพิษ (toxic) ชนิดต่างๆที่ไม่ได้ศึกษาในครั้งนี้นี้ที่มีผลต่อการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม ความสามารถของเชื้อราในการทำลายไส้เดือนฝอยเป็นเรื่องที่มีความซับซ้อน ไม่ได้เกิดจากบทบาทของเอนไซม์ย่อยสลายเพียงอย่างเดียว แต่ยังมีปัจจัยอื่นๆในสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องตั้งแต่ดิน รากพืช และพืชอาศัยของไส้เดือนฝอย รวมทั้งกระบวนการสร้าง appressorium เพื่อทำลายไส้เดือนฝอยของเชื้อราปฏิปักษ์ (Lopez-Llorca et al., 2002) ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มขึ้นทั้งในด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาที่เกี่ยวข้อง เพื่อที่จะช่วยให้เข้าใจถึงการทำลายไส้เดือนฝอยและพัฒนาให้มีศักยภาพในการนำไปใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

6. การบ่งชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อไส้เดือนฝอยรากปม

6.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS และ 5.8S rDNA ด้วยเทคนิค PCR

ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) ITS1 และ ITS4 เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ribosomal DNA; rDNA) บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) และ 5.8S ของเชื้อราปฏิปักษ์ จำนวน 10 ไอโซเลต และเมื่อวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ PCR (ITS1-5.8S-ITS2 rDNA) ด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าวมีขนาดประมาณ 500-600 คู่เบส (base pair) ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับชิ้นส่วนของ ITS1-5.8S-ITS2 ของ rDNA ในเชื้อรา *Verticillium* spp. (Syn. *Pochonia* spp.) ที่มีขนาดประมาณ 476 ถึง 558 คู่เบส (Zare and Gams, 2004)

6.2 การบ่งชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์โดยใช้ลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทด์

และเมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ITS1-5.8S-ITS2 ของ rDNA ของเชื้อราเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลของ GenBank พบว่าข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราไอโซเลต SYT14-11 และ SNM77-06 มีความเหมือน (identity) กับลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Engyodontium araneorum* ร้อยละ 94 และ 97 ตามลำดับ ซึ่ง Zare และ Gam (2004) ได้ใช้ลักษณะสัณฐาน และเทคนิคทางชีวโมเลกุลจัดจำแนกเชื้อราชนิดนี้ใหม่และเรียกชื่อ

ใหม่ว่า *Lecanicillium tenuipes* ส่วนเชื้อรา *Po. chlamydosporia* ไอโซเลต EUB26-02 และ EYT11-09 มีความเหมือนกับลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Pochonia chlamydosporia* ร้อยละ 98 และเมื่อตรวจสอบร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ตามวิธีการของ Zare และ Gams (2004) สามารถบ่งได้ในระดับสายพันธุ์ (variety) ของเชื้อ เป็น *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* เช่นเดียวกับเชื้อราไอโซเลต EUB02-08 ที่มีความเหมือนกับลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Verticillium catenulatum* strain IMI 113078 และเชื้อราไอโซเลต EUB47-01 ที่มีความเหมือนกับลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Diheterospora chlamydospora* มากถึงร้อยละ 99 ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ได้จัดอยู่ไว้ในกลุ่มเดียวกับเชื้อ *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* ตามวิธีการจัดจำแนกของ Zare และ Gams (2004) เช่นเดียวกัน ผลการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลต มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในฐานข้อมูลของ GenBank ระหว่างร้อยละ 94-99 ซึ่งเป็นค่าที่สูงและให้ผลสอดคล้องกับผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแต่ละชนิด สำหรับบริเวณ ITS1 และ ITS2 เป็นบริเวณที่ไม่มีรหัสสำหรับยีน (non-coding region) และเป็นบริเวณที่มีความผันแปรสูง (variable region) ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้แยกสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน โดยทั่วไปใช้สำหรับแยกความแตกต่างระดับชนิด (species) (Guarro et al., 1999) และผลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 rDNA เพื่อบ่งชี้ชนิดนี้จึงเป็นวิธีที่น่าจะเชื่อถือได้เพราะเป็นการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความแม่นยำสูง และยังสามารถนำมาใช้วินิจฉัยร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาจึงยังให้ความแม่นยำสูงขึ้น