

บทที่ 4

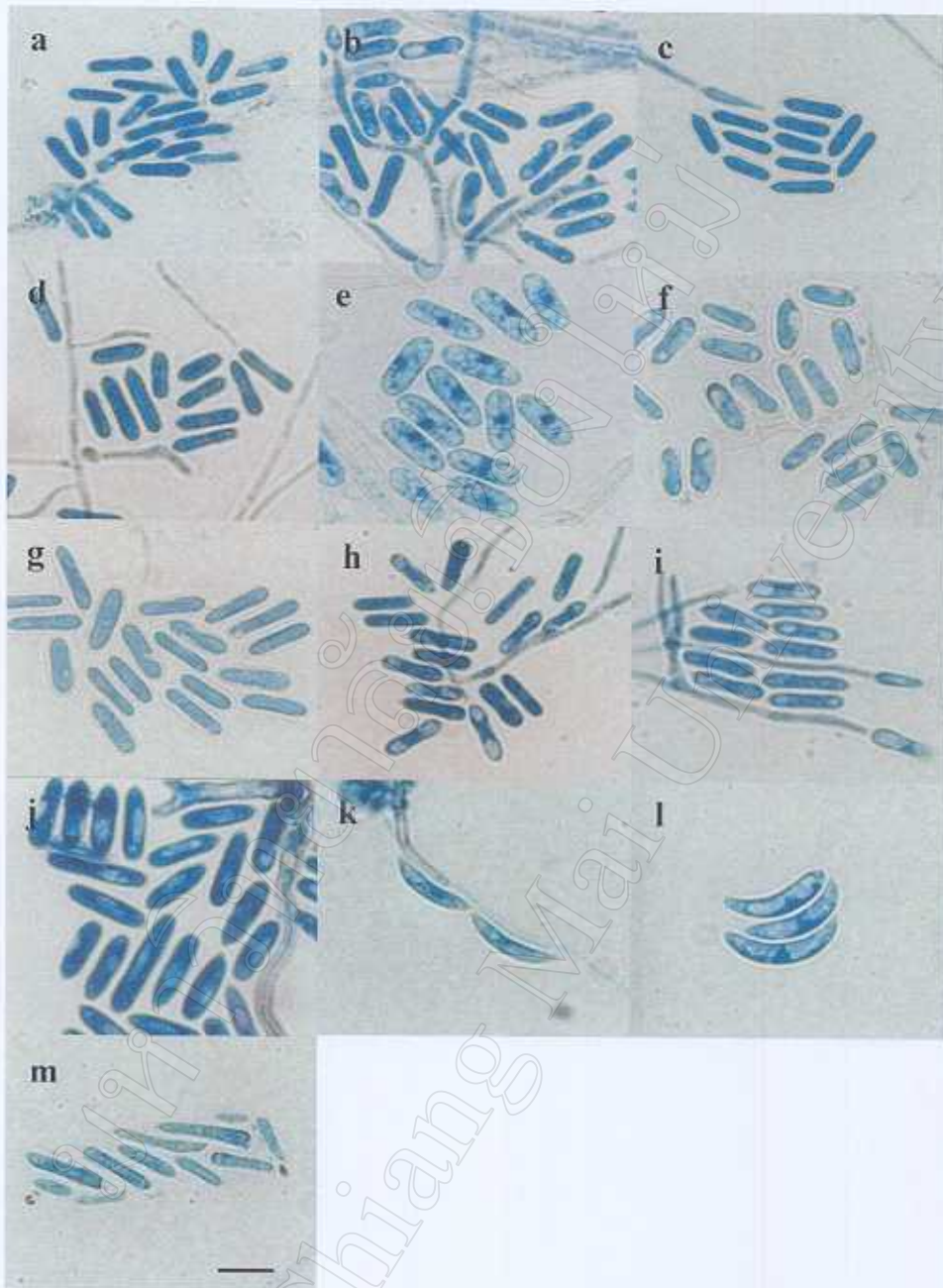
ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

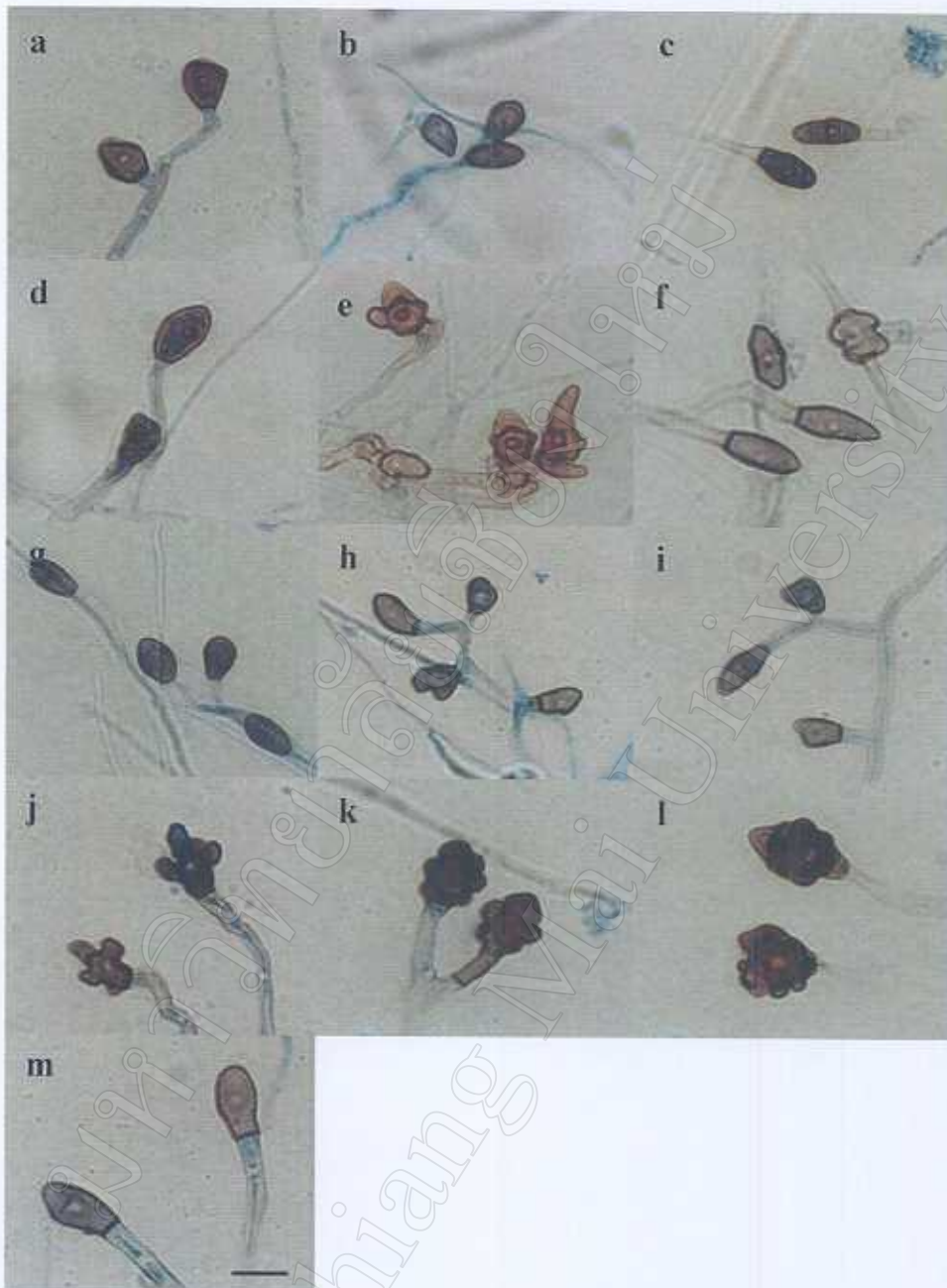
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 13 ไอโซเลท ที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ กันคือ กาแฟ ข้าวฟ่าง บีโกเนีย ลำไย พลับ ส้ม สแตติส บอนสี โกสน ถั่วเขียว ถั่วลิสง และกระเจียว โดยทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และทำ slide culture ด้วยอาหาร potato carrot agar (PCA) พบว่าเชื้อราที่แยกได้ส่วนใหญ่มี conidia รูปทรงกระบอก (cylindrical) ยกเว้นไอโซเลทที่แยกได้จากบอนสี (สปอร์รูปเคียว) และกระเจียว มี conidia รูปร่างคล้ายเคียว (falcate) และไอโซเลทที่แยกได้จากมะเขือเทศ มี conidia รูปร่างยาวเรียวยาวหัวท้ายแหลม (fusiform) (ภาพที่ 3) appressoria ที่พบส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายข้าวหลามตัด (cleavate) และมีเพียงสองไอโซเลทคือ ไอโซเลทที่แยกได้จากบอนสี (สปอร์รูปเคียว) และกระเจียวที่มี appressoria ผิวยรุขระ (irregular) (ภาพที่ 4) ลักษณะโคโลนีบนอาหารของเชื้อราแต่ละไอโซเลทจะมีความแตกต่างกัน โดยพบโคโลนีที่มีสีแตกต่างกันตั้งแต่สีขาว สีมชมพู สีมสีเทา ไปจนถึงสีเทาเข้ม และสีดำ (ภาพที่ 5) เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเทียบกับวิธีการของ Sutton (1980) สามารถจัดจำแนกเชื้อราทั้ง 13 ไอโซเลท ได้ดังนี้คือ เชื้อราไอโซเลทที่แยกได้จากกาแฟ ข้าวฟ่าง บีโกเนีย บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก) ส้ม โกสน พลับ ลำไย ถั่วลิสง และสแตติส ถูกจัดจำแนกเป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* สำหรับเชื้อราไอโซเลทที่แยกได้จากบอนสี (สปอร์รูปเคียว) และกระเจียว ถูกจัดจำแนกเป็น *C. capsici* และเชื้อราไอโซเลทที่แยกจากมะเขือเทศ ถูกจัดจำแนกเป็น *C. coccodes* (ตารางที่ 3)

2. การสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อรา

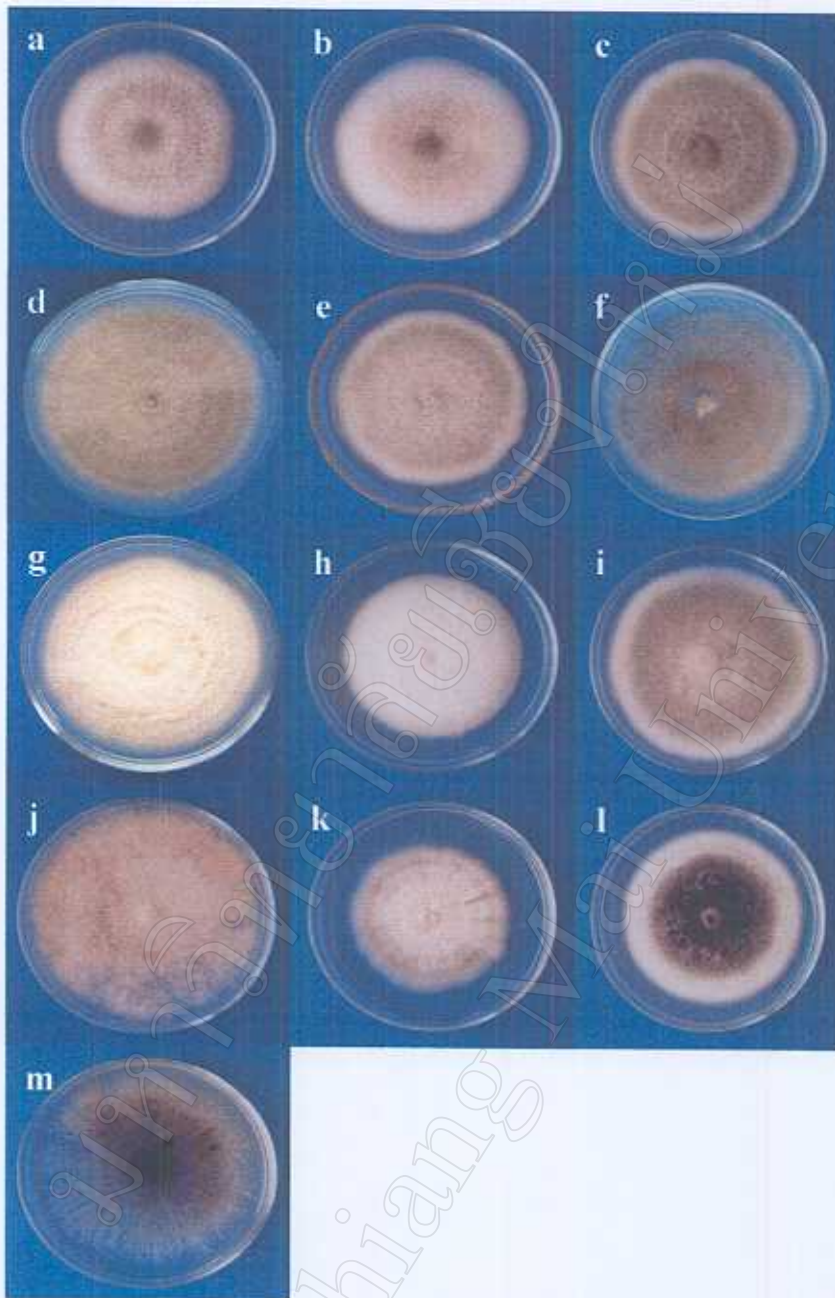
จากการนำเส้นใยของเชื้อรามาสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Rogers and Bendich (1998) เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธีการ agarose gel electrophoresis พบว่าในทุกไอโซเลทที่ใช้ในการทดลองปรากฏแถบดีเอ็นเอชัดเจน โดยเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ได้กับดีเอ็นเอมาตรฐานคือ λ Hind III



ภาพที่ 3 ลักษณะ conidia ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 13 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร potato carrot agar (PCA) และทำการย้อมด้วย lactophenol cotton blue
 a: กานแฟ, b: ขี้าวฟาง, c: บีโกเนีย, d: ลำไย, e: พลับ, f: ส้ม, g: สแตคิส,
 h: บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก), i: โกสน, j: ก้านน้ำว้า, k: บอนสี (สปอร์รูปเคียว),
 l: กระจับจิว, และ m: มะเขือเทศ (บาร์ = 10 μ m)



ภาพที่ 4 ลักษณะ appressoria ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 13 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร potato carrot agar (PCA) และทำการย้อมด้วย lactophenol cotton blue
 a: กาแฟ, b: ข้าวฟ่าง, c: บีโกเนีย, d: ลำไย, e: พลับ, f: ส้ม, g: สแตคิส,
 h: บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก), i: โกสน, j: กล้วยน้ำวัว, k: บอนสี (สปอร์รูปเคียว),
 l: กระจี๊ว, และ m: มะเขือเทศ (บาร์ = 10 μm)



ภาพที่ 5 ตักขณะ โกลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 13 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร potato dextrose agar (PDA)

- a: กาแฟ, b: ข้าวฟ่าง, c: บีโกเนีย, d: ลำไย, e: พลับ, f: ส้ม, g: สแตติส,
 h: บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก), i: โกสน, j: ก้านน้ำว้า, k: บอนสี (สปอร์รูปเกี้ยว),
 l: กระจับจิว, และ m: มะเขือเทศ

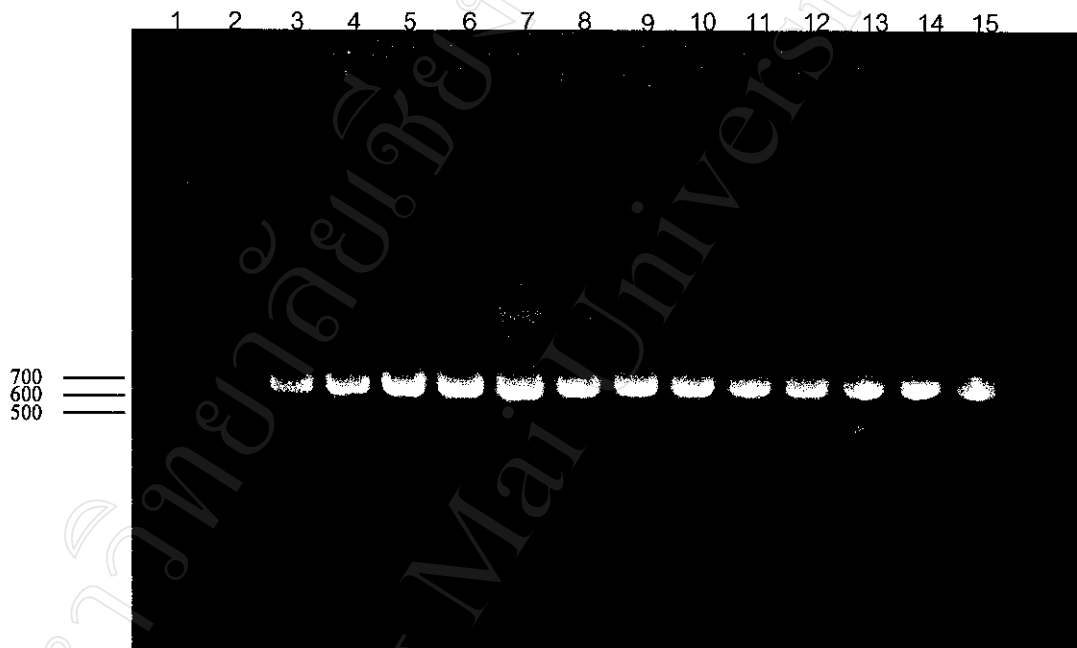
ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ

| ชื่อโพลีเพลท | พืชอาศัย | Conidia | | Appressoria | | Sclerotia | Setae on PDA | อัตราการเจริญ (cm/day) | การจัดจำแนกสปีชีส์ |
|---------------------------|---------------------------------------------|--------------|-------------|--------------|-----------|-----------|--------------|------------------------|---------------------------|
| | | ขนาด (µm) | ลักษณะ | ขนาด (µm) | ลักษณะ | | | | |
| มะเขือเทศ | <i>Lycopersicon esculentum</i> ^a | 3.11 x 15.13 | fusiform | 7.89 x 13.47 | cleavate | มี | ไม่มี | 0.75 | <i>C. coccodes</i> |
| บีโกเนีย | <i>Begonia</i> sp. | 4.19 x 14.66 | cylindrical | 6.50 x 10.22 | cleavate | มี | ไม่มี | 1.36 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| กาแฟ | <i>Coffea arabica</i> | 3.21 x 14.60 | cylindrical | 6.17 x 10.10 | cleavate | ไม่มี | ไม่มี | 1.15 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| บอนสี (สปอร์รูปคิชา) | <i>Caladium bicolor</i> | 3.24 x 16.09 | falcate | 7.25 x 12.56 | irregular | มี | ไม่มี | 1.12 | <i>C. capsici</i> |
| บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอง) | <i>Caladium bicolor</i> | 3.08 x 12.68 | cylindrical | 6.21 x 10.51 | cleavate | ไม่มี | มี | 1.24 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| ส้ม | <i>Citrus reticulata</i> | 4.37 x 12.90 | cylindrical | 6.54 x 13.73 | cleavate | มี | ไม่มี | 1.59 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| กระเทียม | <i>Curcuma sessilis</i> | 3.00 x 16.62 | falcate | 8.59 x 10.30 | irregular | ไม่มี | ไม่มี | 1.37 | <i>C. capsici</i> |
| โกสน | <i>Codiaeum variegatum</i> | 3.00 x 12.15 | cylindrical | 6.00 x 9.86 | cleavate | ไม่มี | ไม่มี | 1.09 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| พลับ | <i>Diospyros kaki</i> | 4.47 x 14.34 | cylindrical | 6.35 x 11.20 | cleavate | ไม่มี | ไม่มี | 1.12 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| ลำไย | <i>Euphoria longana</i> | 3.13 x 12.51 | cylindrical | 6.58 x 11.15 | cleavate | ไม่มี | ไม่มี | 1.46 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| สนเดคิต | <i>Limonium</i> sp. | 3.00 x 12.23 | cylindrical | 5.98 x 10.59 | cleavate | ไม่มี | ไม่มี | 1.40 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| กล้วยน้ำว้า | <i>Musa sapientum</i> | 3.58 x 12.69 | cylindrical | 7.86 x 11.18 | irregular | มี | ไม่มี | 1.72 | <i>C. gloeosporioides</i> |
| ข้าวฟ่าง | <i>Sorghum bicolor</i> | 3.44 x 12.56 | cylindrical | 7.07 x 11.08 | cleavate | มี | ไม่มี | 1.15 | <i>C. gloeosporioides</i> |

^a ตัวอย่าง จาก Mie University, Japan

3. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS โดยเทคนิค PCR

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ ITS5 และ P3 ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ทั้ง 13 ไอโซเลท และทำการตรวจสอบบน 1.5 % agarose gel electrophoresis พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 600-700 คู่เบส (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 PCR product ที่เกิดจากการเพิ่มปริมาณ rDNA ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 13 ไอโซเลท

lane 1 และ lane 2 คือ Molecular size markers (1 kb และ 100 bp ladder ตามลำดับ),

lane 3 กาแฟ, lane 4: ข้าวฟ่าง, lane 5: บีโกเนีย, lane 6: ลำไย, lane 7: พลับ, lane 8: ส้ม,

lane 9: สแตติส, lane 10: บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก), lane 11: โกสน, lane 12:

กล้วยน้ำว้า, lane 13: บอนสี (สปอร์รูปเดี่ยว), lane 14: กระจับปี่, และ lane 15: มะเขือเทศ

4. การวิเคราะห์หาลำดับเบส

จากการวิเคราะห์หาลำดับเบสของเชื้อรา *Colletotrichum* จำนวน 13 ไอโซเลท พบว่า ลำดับเบสที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตรงตำแหน่ง ITS ซึ่งรวมบางส่วนของยีน 18S และ 28S บน rDNA มีขนาดทั้งหมด 639-645 คู่เบส สำหรับลำดับเบสในตำแหน่ง ITS มีขนาด 487-492 คู่เบส โดยตำแหน่ง ITS1 มีขนาด 171-177 คู่เบส และ ITS2 มีขนาด 160-162 คู่เบส เมื่อตรวจสอบลำดับเบสที่ได้พบว่าเปอร์เซ็นต์ G+C content ในตำแหน่ง ITS1 มีค่าในช่วง 59.32-63.22 % และในตำแหน่ง ITS2 มีค่าในช่วง 53.13-56.17 % เมื่อเปรียบเทียบขนาดลำดับเบสที่ได้ในตำแหน่งต่างๆ พบว่า ลำดับเบสตรงตำแหน่งของยีน 5.8S มีขนาดคงที่ (154 คู่เบส) และมีเปอร์เซ็นต์ G+C content ในช่วง 47.40-48.05 % จากข้อมูลลำดับเบสตรงตำแหน่ง ITS พบว่ามีเป็นเปอร์เซ็นต์ความผันแปรสูงสุดเท่ากับ 14.08 % โดยในตำแหน่ง ITS1 มีความผันแปรมากที่สุด (27.07 %) เมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่ง ITS2 (11.73 %) และตำแหน่งของยีน 5.8 S (0.65 %) (ข้อมูลแสดงใน ภาพที่ 7)

5. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการจากลำดับเบส

ลำดับเบสของเชื้อรา *Colletotrichum* ที่แยกได้จากพืชทั้ง 13 ไอโซเลท คือ กาแฟ ข้าวฟ้าง บีโกเนีย ลำไย พลับ ส้ม สแตติส บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก) โกสน กล้วยน้ำว่า บอนสี (สปอร์รูปเลี้ยว) กระจับจิว และมะเขือเทศ นำไปหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ลำดับเบสตรงตำแหน่ง ITS1 เปรียบเทียบกับลำดับเบสของเชื้อรา *Colletotrichum* สปีชีส์ต่างๆ ที่มีรายงานใน the DNA databank of Japan (DDBJ) จากนั้นวิเคราะห์หาค่า distance coefficient และทำการสร้าง neighbor-joining tree โดยใช้ distance method เพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในกลุ่มเชื้อราดังกล่าว ได้ผลดังนี้คือ

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของเชื้อราทั้ง 13 ไอโซเลท กับเชื้อรา *Colletotrichum* 17 สปีชีส์ (Sreenivasprasad et al., 1996) และมีเชื้อรา *Nurospora crassa* เป็น out group (ภาพที่ 8) พบความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ของเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้งหมด โดยมีค่า distance coefficient ตั้งแต่ 0.0 ถึง 19.1 % (ตารางที่ 4) สำหรับค่า distance coefficient น้อยที่สุด (0.0 %) พบในกลุ่มของเชื้อราสามกลุ่มคือ กลุ่มแรกประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จาก กาแฟ และข้าวฟ้าง กลุ่มที่สองประกอบด้วยเชื้อรา *C. fuscum* และ

| [| 10 | 20 | 30 | 40 | 50] |
|------------------------------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|----------------|------|
| [| . | . | . | . | .] |
| <i>C. graminicola</i> | CTGAGTT--- | ACCGCTCTATAACCC | TTTGTGAA-CATACCT-- | AACTGTT | [44] |
| <i>C. sublineolum</i> | *****-- | ***** | ***** | ***** | [44] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กาแฟ) | *****T-- | *-***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | *****T-- | *-***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>C. fuscum</i> | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บีโกเนีย) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พลับ) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (สแตลิส) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>C. gloeosporioides</i> | *****T-- | *-***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>C. fragariae</i> | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AC***** | [46] |
| <i>C. kahawae</i> | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปทรงระฆัง)) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โสน) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | *****T-- | *-*****GC***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>C. musae</i> | *****T-- | *-*****GC***** | ***** | *****AT***** | [46] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | *****-- | ***** | ***** | *****-C***** | [45] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปเคียว)) | *****-- | ***** | ***** | *****-T***** | [45] |
| <i>C. capsici</i> | *****-- | *****ATC***** | ***** | *****-T***** | [45] |
| <i>C. destructivum</i> | *****-- | *****C***** | ***** | *****-T***** | [45] |
| <i>C. linicola</i> | *****-- | *****C***** | ***** | *****-T***** | [45] |
| <i>C. trichellum</i> | *****-- | *****C***** | ***** | *****-***** | [44] |
| <i>C. dematium</i> | *****-- | ***** | ***** | *****-***** | [44] |
| <i>C. coccodes</i> | *****-- | ***** | ***** | *****-***** | [44] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (มะเขือเทศ) | *****-- | ***** | ***** | *****-***** | [44] |
| <i>C. trifolii</i> | *****T-- | *-*****C***** | ***** | *****--*C*** | [44] |
| <i>C. lindemuthianum</i> | *****T-- | *-***** | ***** | *****--A**C*** | [44] |
| <i>C. orbiculare</i> | *****T-- | *A***** | ***** | *****--*C*** | [45] |
| <i>C. acutatum</i> | *****-- | ***** | ***** | *****--*C*** | [44] |
| <i>Nurospora crassa</i> | *A****GCA*AACTC* | C*C**ACCAT**C**T* | T***CGT*-* | G*** | [49] |

ภาพที่ 8 ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอตรงตำแหน่ง ITS1 ของเชื้อรา *Colletotrichum spp.* จำนวน 30 ไอโซเลท โดยเครื่องหมาย * แสดงลำดับเบสที่คล้ายกันกับเชื้อรา *C. graminicola* และ เครื่องหมาย - แสดงตำแหน่ง gap

| [| 60 | 70 | 80 | 90 | 100] |
|------------------------------------------------------|------------|------------------------------|------------------------|-----------------|------|
| [| . | . | . | . | .] |
| <i>C. graminicola</i> | GCTTCGGCGG | GTTAGGGG | -----GTCCCCCGGGG | --ACGCCCTCCCGGC | [87] |
| <i>C. sublineolum</i> | ***** | ***** | -----*****T***** | -----*****C* | [87] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กาแฟ) | ***** | **AG* | -----**T** | -----*CG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | ***** | **AG* | -----**T** | -----*CG** | [81] |
| <i>C. fuscum</i> | ***** | **AG* | -----**T** | -----GCG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บึงไถ) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GCG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GCG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พลับ) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GCG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (แตงคืด) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GCG** | [81] |
| <i>C. gloeosporioides</i> | ***** | **AG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>C. fragariae</i> | ***** | **AG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>C. kahawae</i> | ***** | *CAG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปทรงระบอบ)) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โสน) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GGG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | ***** | **AG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>C. musae</i> | ***** | **AG* | -----**T** | -----GTG** | [81] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | ***** | **AGT | -----C*****TGAAAAGG*** | -T***** | [87] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปเคียว)) | ***** | **AG* | -----C*****TGAAAAGG*** | -T***** | [87] |
| <i>C. capsici</i> | ***** | **AG*C*T | -----C***-TAAAAGG*** | -T***** | [87] |
| <i>C. destructivum</i> | ***** | *CAG*A**ACAACCC**T** | -----**GGG*-GGTC**CT* | | [92] |
| <i>C. linicola</i> | ***** | *CAG*A**ACAACCC**T** | -----**GGG*-GGTC**CT* | | [94] |
| <i>C. trichellum</i> | ***** | *CAG*A**-----TC***** | -----**GG**-----**CT* | [81] | |
| <i>C. dematium</i> | ***** | *CAG**-----TC**T** | -----**GG**-----**CT* | [81] | |
| <i>C. coccodes</i> | ***** | *CAG**-----T*C*G**T | -----*CGG**-----C**CT* | [83] | |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (มะเขือเทศ) | ***** | *CAG**-----T*C*G**T | -----*CGG**-----C**CT* | [83] | |
| <i>C. trifolii</i> | ***** | *CGG*A*-----**G* | -----CT**CC* | [74] | |
| <i>C. lindemuthianum</i> | ***** | *CGG*A*-----**G* | -----CT**CC* | [74] | |
| <i>C. orbiculare</i> | ***** | *CGG*A*-----**G* | -----CT**CC* | [75] | |
| <i>C. acutatum</i> | ***** | *CAG**-----AAG-***TCTC*CGGG* | -----**CT* | [84] | |
| <i>Nurospora crassa</i> | **C***** | -C*GGC**TCCGGAAAGG**TT | ---CGGG*CT**CGGATC* | [95] | |

ภาพที่ 8 (ต่อ)

| [| 110 | 120 | 130 | 140 | 150] |
|-------------------------------------------------------|---------------|------------------|----------------------|-----------|-------|
| [| | | | | .] |
| <i>C. graminicola</i> | CGCGCCCTCC | TCCCTCCGGGAGGGGT | CGCGCGCCCGCCGAGGATAA | --- | [134] |
| <i>C. sublineolum</i> | G***** | ***** | ***** | ***** | [134] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กาแฟ) | ----*T*C*GC* | ----*GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | ----*T*C*GC* | ----*GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>C. fuscum</i> | ----*T*C*GC* | ----*C*G* | ***** | ***** | [119] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บีโกเนีย) | ----*T*C*GC* | ----*GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | ----*T*C*GC* | ----*GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พลับ) | ----*T*C*GC* | ----*GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (สมศคิส) | ----*T*C*GC* | ----*C**GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>C. gloeosporioides</i> | ----*T*C*GC* | ----*C**GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>C. fragariae</i> | ----*T*C*GC* | ----*C**CC*GC* | ***** | ***** | [121] |
| <i>C. kahawae</i> | ----*T*C*GC* | ----*C**GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก)) | ----*T*C*GC* | ----*C**GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โสม) | ----*T*C*GC* | ----*C**GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | ----*T*C*GC* | ----*GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | ----*C**GC* | ----*C**GC* | ***** | ***** | [120] |
| <i>C. musae</i> | ----*C**GC* | ----*C**G*GC* | ----*A* | ***** | [119] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | ----*C**CT*C* | ----*GT*C-G-C* | ***G-G* | ***** | [126] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปเคียว)) | ----*TCT*C* | ----*GT*C-G-C* | ***G-G* | ***** | [126] |
| <i>C. capsici</i> | ----*TCT*C* | ----*G***C*GGT* | ***** | ***** | [126] |
| <i>C. destructivum</i> | *CG***GCG* | *C*T---- | *C*** | ***T* | [132] |
| <i>C. linicola</i> | *CG***GCG* | *C*T---- | *C*** | ***T* | [134] |
| <i>C. trichellum</i> | *CG***CG* | *C*TC---- | *GCA** | ***GA* | [121] |
| <i>C. dematium</i> | *CG***ACG* | *C*T---- | *CG***G**A* | ***** | [123] |
| <i>C. coccodes</i> | *CG***G*G* | *C*T---- | *C*** | ***GA* | [123] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (มะเขือเทศ) | *CG***G*G* | *C*T---- | *C*** | ***GA* | [123] |
| <i>C. trifolii</i> | *CG***CG* | ----- | *GC*** | ----- | [110] |
| <i>C. lindemuthianum</i> | *-G***CG* | ----- | *GC*** | ----- | [108] |
| <i>C. orbiculare</i> | *CG***CG* | ----- | *GC*** | ----- | [111] |
| <i>C. acutatum</i> | *CG***G*CGGC* | *C*ACCAC* | ***A**G* | ***** | [130] |
| <i>Nurospora crassa</i> | TCG*GTC* | ---C**G---- | CTC* | ---*G-CT* | [135] |

ภาพที่ 8 (ต่อ)

| | 160 | 170 | 180 | 190 | 200] |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|-----|-----|-------|
| [| | | | | |
| [| | | | | . |
| <i>C. graminicola</i> | CCAAACTCT-GATTT-- | AACGACGTTTCTTCTGAGTGGCACAAGCAAAT | | | [180] |
| <i>C. sublineolum</i> | *****_****_ | ***** | | | [180] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กาแฟ) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>C. fuscum</i> | *****_****_ | *****T***** | | | [165] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บีโกเนีย) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พลับ) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ตะเคิล) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>C. gloeosporioides</i> | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>C. fragariae</i> | *****_****_ | *****T***** | | | [167] |
| <i>C. kahawae</i> | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปทรงระบอบ)) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โสม) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | *****_****_ | *****T***** | | | [166] |
| <i>C. musae</i> | *****_****_G***** | *****T***** | | | [165] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | *****_****_ | *****A***** | | | [172] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปเดี่ยว)) | *****_****_ | *****A***** | | | [172] |
| <i>C. capsici</i> | *****_****_ | *****A***** | | | [172] |
| <i>C. destructivum</i> | *****ACTCT-****T- | ***** | | | [179] |
| <i>C. linicola</i> | *****-CTCT-****T- | ***** | | | [180] |
| <i>C. trichellum</i> | *****T-****T*G***** | ***** | | | [170] |
| <i>C. dematium</i> | *****-CTCT-****T- | ***** | | | [169] |
| <i>C. coccodes</i> | *****-CTCT-****T- | ***** | | | [169] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (มะเขือเทศ) | *****_****_ | *****T***** | | | [169] |
| <i>C. trifolii</i> | **C*****T-****T- | *****C***** | | | [157] |
| <i>C. lindemuthianum</i> | **C*****-****T- | *****C***** | | | [154] |
| <i>C. orbiculare</i> | **C*****T-****T- | *****C***** | | | [158] |
| <i>C. acutatum</i> | *****_****_A--C*****C***** | ***** | | | [176] |
| <i>Nurospora crassa</i> | *T*****T*****T-----T**C*****-AA**TTTT** | | | | [178] |

ภาพที่ 8 (ต่อ)

| | | |
|--------------------------------------------------------|--------|-------|
| [| 206] | |
| [| . | |
| <i>C. graminicola</i> | AA-TTA | [185] |
| <i>C. sublineolum</i> | **-*C* | [185] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กาแฟ) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | **-*C* | [171] |
| <i>C. fuscum</i> | **-*C* | [170] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บีโกเนีย) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พลับ) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (แตงคืด) | **-*C* | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> | **-*C* | [171] |
| <i>C. fragariae</i> | **-*C* | [172] |
| <i>C. kahawae</i> | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปทรงระบอบ)) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โศสน) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | **-*C* | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | **-*C* | [171] |
| <i>C. musae</i> | **-*C* | [170] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | **-*C* | [177] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี (สปอร์รูปสี่เหลี่ยม)) | **-*C* | [177] |
| <i>C. capsici</i> | **-*C* | [177] |
| <i>C. destructivum</i> | **-*C* | [184] |
| <i>C. linicola</i> | **-*C* | [185] |
| <i>C. trichellum</i> | **-*C* | [175] |
| <i>C. dematium</i> | **-*C* | [174] |
| <i>C. coccodes</i> | **-*C* | [174] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (มะเขือเทศ) | **-*C* | [174] |
| <i>C. trifolii</i> | **-*C* | [162] |
| <i>C. lindemuthianum</i> | *-G*C* | [159] |
| <i>C. orbiculare</i> | **-*C* | [163] |
| <i>C. acutatum</i> | **-*C* | [181] |
| <i>Nurospora crassa</i> | **G*C* | [184] |

ภาพที่ 8 (ต่อ)

ตารางที่ 4 ค่า genetic distance ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS 1 ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 30 ไอโซเลท และเชื้อรา *Nurospora crassa*

(ครึ่งแถวล่างเป็นจำนวนเบสที่แตกต่างกัน และครึ่งแถวบนเป็นค่า distance coefficient)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
|--------------------------------------------------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 <i>C. graminicola</i> | | 0.016 | 0.066 | 0.066 | 0.073 | 0.072 | 0.072 | 0.072 | 0.084 | 0.072 | 0.084 | 0.084 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.072 |
| 2 <i>C. sublineatum</i> | 3 | | 0.078 | 0.078 | 0.085 | 0.084 | 0.084 | 0.084 | 0.096 | 0.084 | 0.096 | 0.096 | 0.090 | 0.090 | 0.090 | 0.084 |
| 3 <i>Colletotrichum</i> sp. (กานต) | 11 | 13 | | 0.000 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.018 | 0.012 | 0.035 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.035 |
| 4 <i>Colletotrichum</i> sp. (ข้าวฟ่าง) | 11 | 13 | 0 | | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.018 | 0.012 | 0.035 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.035 |
| 5 <i>C. fuscum</i> | 12 | 14 | 1 | 1 | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.030 |
| 6 <i>Colletotrichum</i> sp. (บีบีโก) | 12 | 14 | 1 | 1 | 0 | | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 |
| 7 <i>Colletotrichum</i> sp. (ข้าว) | 12 | 14 | 1 | 1 | 0 | 0 | | 0.000 | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 |
| 8 <i>Colletotrichum</i> sp. (ท่อน) | 12 | 14 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 |
| 9 <i>Colletotrichum</i> sp. (เมล็ด) | 14 | 16 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | | 0.018 | 0.029 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.023 | 0.029 |
| 10 <i>C. gloeosporioides</i> | 12 | 14 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | 0.023 | 0.012 | 0.006 | 0.006 | 0.023 | 0.023 |
| 11 <i>C. fragariae</i> | 14 | 16 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.023 |
| 12 <i>C. kahawae</i> | 14 | 16 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 | | 0.006 | 0.006 | 0.023 | 0.023 |
| 13 <i>Colletotrichum</i> sp. (บนสี (สายพันธุ์ทางทะเล)) | 13 | 15 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 | 1 | | 0.000 | 0.018 | 0.018 |
| 14 <i>Colletotrichum</i> sp. (อินท) | 13 | 15 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | | 0.018 | 0.018 |
| 15 <i>Colletotrichum</i> sp. (ส้ม) | 13 | 15 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 | 6 | 4 | 3 | 3 | | 0.035 |
| 16 <i>Colletotrichum</i> sp. (กล้วยไม้) | 12 | 14 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 6 | |
| 17 <i>C. musae</i> | 14 | 16 | 8 | 8 | 8 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 7 | 6 | 5 | 5 | 8 | 2 |
| 18 <i>Colletotrichum</i> sp. (กระเทียม) | 21 | 23 | 15 | 15 | 16 | 16 | 16 | 16 | 15 | 15 | 13 | 17 | 16 | 16 | 16 | 15 |
| 19 <i>Colletotrichum</i> sp. (บนสี (สายพันธุ์เดี่ยว)) | 21 | 23 | 14 | 14 | 15 | 15 | 15 | 15 | 14 | 14 | 14 | 16 | 15 | 15 | 15 | 14 |
| 20 <i>C. capsici</i> | 25 | 26 | 16 | 16 | 13 | 15 | 15 | 15 | 16 | 17 | 17 | 17 | 16 | 16 | 15 | 14 |
| 21 <i>C. destructivum</i> | 29 | 29 | 25 | 25 | 24 | 24 | 24 | 24 | 25 | 25 | 24 | 23 | 24 | 24 | 24 | 23 |
| 22 <i>C. lincicola</i> | 28 | 30 | 23 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 21 |
| 23 <i>C. trichellum</i> | 24 | 26 | 18 | 18 | 16 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 15 | 15 | 16 | 16 | 17 | 15 |
| 24 <i>C. dematium</i> | 23 | 23 | 19 | 19 | 20 | 20 | 20 | 20 | 22 | 20 | 20 | 20 | 21 | 21 | 20 | 20 |
| 25 <i>C. coccodes</i> | 22 | 24 | 20 | 20 | 21 | 21 | 21 | 21 | 22 | 20 | 21 | 20 | 21 | 21 | 21 | 21 |
| 26 <i>Colletotrichum</i> sp. (มะเขือเทศ) | 19 | 21 | 17 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 | 17 | 18 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 |
| 27 <i>C. trifolii</i> | 21 | 22 | 17 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 | 18 | 18 | 18 | 19 | 19 | 19 | 18 |
| 28 <i>C. lindemuthianum</i> | 19 | 20 | 17 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 | 18 | 18 | 18 | 19 | 19 | 19 | 18 |
| 29 <i>C. orbiculare</i> | 22 | 23 | 17 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 | 18 | 18 | 18 | 19 | 19 | 19 | 18 |
| 30 <i>C. acutatum</i> | 32 | 34 | 24 | 24 | 24 | 25 | 25 | 25 | 25 | 23 | 23 | 23 | 24 | 24 | 24 | 25 |
| 31 <i>Nurospora crassa</i> | 65 | 65 | 55 | 55 | 52 | 54 | 54 | 54 | 55 | 55 | 55 | 55 | 54 | 54 | 53 | 56 |

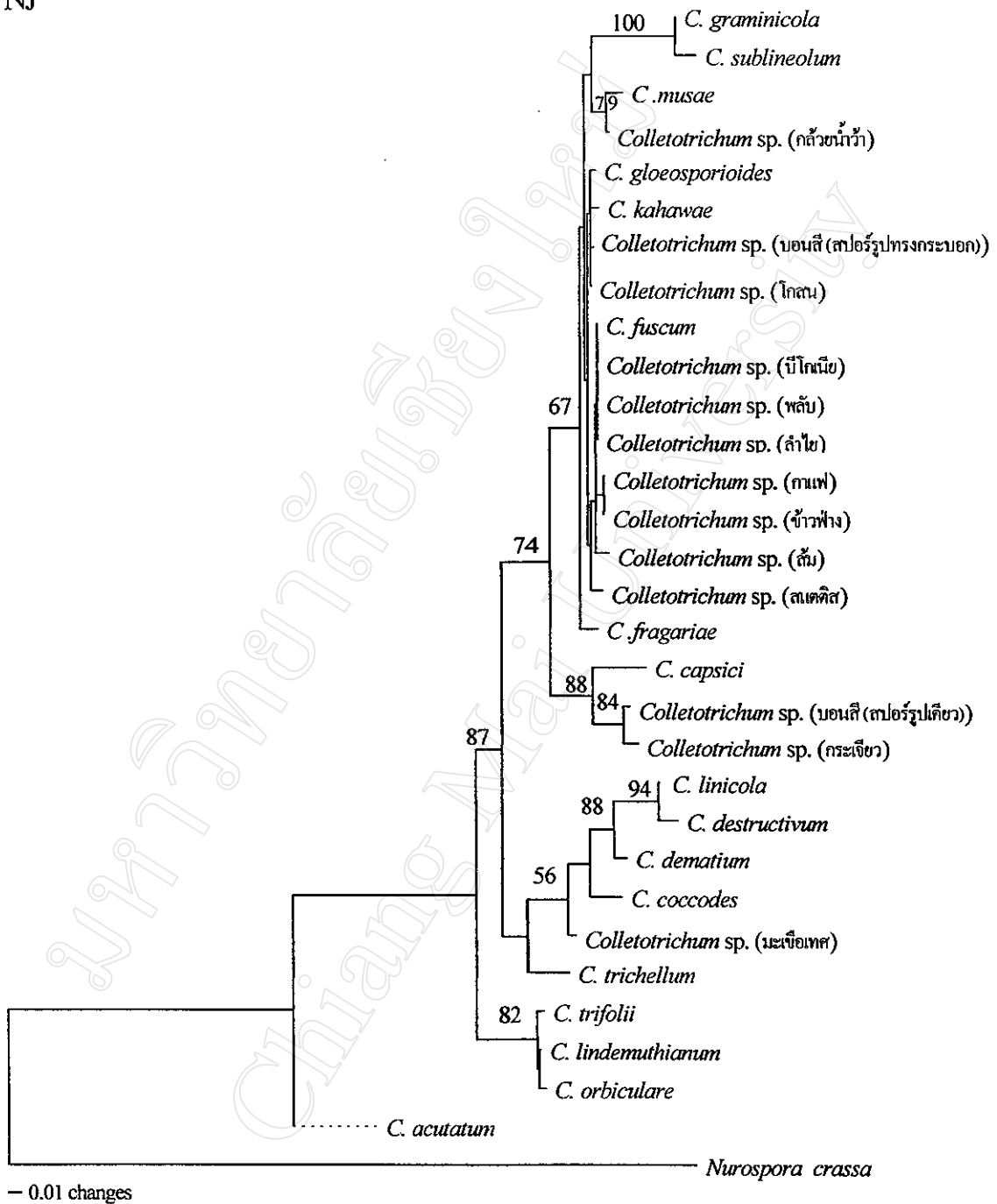
ตารางที่ 4 (ต่อ)

| | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 |
|---------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 <i>C. graminicola</i> | 0.085 | 0.121 | 0.121 | 0.144 | 0.167 | 0.160 | 0.142 | 0.135 | 0.130 | 0.112 | 0.133 | 0.123 | 0.138 | 0.180 | 0.396 |
| 2 <i>C. sublineolum</i> | 0.097 | 0.133 | 0.133 | 0.149 | 0.167 | 0.171 | 0.154 | 0.135 | 0.142 | 0.124 | 0.139 | 0.129 | 0.145 | 0.191 | 0.396 |
| 3 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 0.047 | 0.089 | 0.083 | 0.097 | 0.154 | 0.143 | 0.114 | 0.120 | 0.127 | 0.107 | 0.111 | 0.112 | 0.111 | 0.146 | 0.357 |
| 4 <i>Colletotrichum</i> sp. (จำพวกส้ม) | 0.047 | 0.089 | 0.083 | 0.097 | 0.154 | 0.143 | 0.114 | 0.120 | 0.127 | 0.107 | 0.111 | 0.112 | 0.111 | 0.146 | 0.357 |
| 5 <i>C. fuscum</i> | 0.047 | 0.096 | 0.090 | 0.079 | 0.150 | 0.138 | 0.103 | 0.128 | 0.135 | 0.115 | 0.119 | 0.120 | 0.119 | 0.147 | 0.342 |
| 6 <i>Colletotrichum</i> sp. (จำพวกส้ม) | 0.041 | 0.095 | 0.089 | 0.091 | 0.148 | 0.137 | 0.108 | 0.127 | 0.133 | 0.113 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.152 | 0.351 |
| 7 <i>Colletotrichum</i> sp. (จำพวกส้ม) | 0.041 | 0.095 | 0.089 | 0.091 | 0.148 | 0.137 | 0.108 | 0.127 | 0.133 | 0.113 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.152 | 0.351 |
| 8 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 0.041 | 0.089 | 0.083 | 0.097 | 0.154 | 0.143 | 0.108 | 0.139 | 0.139 | 0.119 | 0.124 | 0.125 | 0.124 | 0.152 | 0.357 |
| 9 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 0.036 | 0.089 | 0.083 | 0.103 | 0.154 | 0.143 | 0.108 | 0.127 | 0.127 | 0.107 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.140 | 0.357 |
| 10 <i>C. gloeosporioides</i> | 0.041 | 0.077 | 0.083 | 0.102 | 0.148 | 0.137 | 0.095 | 0.127 | 0.133 | 0.113 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.139 | 0.357 |
| 11 <i>C. fragariae</i> | 0.036 | 0.101 | 0.095 | 0.103 | 0.142 | 0.130 | 0.095 | 0.127 | 0.127 | 0.107 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.140 | 0.357 |
| 12 <i>C. kahawae</i> | 0.030 | 0.095 | 0.089 | 0.097 | 0.148 | 0.137 | 0.101 | 0.133 | 0.133 | 0.113 | 0.124 | 0.125 | 0.124 | 0.146 | 0.351 |
| 13 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก (พบอยู่ที่พริกขี้หนู)) | 0.030 | 0.095 | 0.089 | 0.097 | 0.148 | 0.137 | 0.101 | 0.133 | 0.133 | 0.113 | 0.124 | 0.125 | 0.124 | 0.146 | 0.351 |
| 14 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 0.047 | 0.095 | 0.089 | 0.091 | 0.148 | 0.137 | 0.108 | 0.127 | 0.133 | 0.113 | 0.124 | 0.125 | 0.124 | 0.146 | 0.344 |
| 15 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 0.012 | 0.089 | 0.083 | 0.085 | 0.142 | 0.130 | 0.095 | 0.127 | 0.133 | 0.113 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.152 | 0.364 |
| 16 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 0.102 | 0.096 | 0.096 | 0.091 | 0.150 | 0.138 | 0.096 | 0.135 | 0.141 | 0.121 | 0.126 | 0.127 | 0.126 | 0.153 | 0.362 |
| 17 <i>C. masae</i> | 17 | 0.102 | 0.096 | 0.091 | 0.150 | 0.138 | 0.096 | 0.135 | 0.141 | 0.121 | 0.126 | 0.127 | 0.126 | 0.153 | 0.362 |
| 18 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 16 | 0.017 | 0.017 | 0.076 | 0.168 | 0.161 | 0.118 | 0.136 | 0.123 | 0.104 | 0.113 | 0.113 | 0.113 | 0.171 | 0.363 |
| 19 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก (พบอยู่ที่พริกขี้หนู)) | 15 | 3 | 10 | 0.058 | 0.156 | 0.149 | 0.118 | 0.130 | 0.123 | 0.104 | 0.113 | 0.113 | 0.118 | 0.171 | 0.363 |
| 20 <i>C. capsici</i> | 24 | 13 | 26 | 28 | 0.168 | 0.167 | 0.130 | 0.136 | 0.160 | 0.141 | 0.138 | 0.146 | 0.150 | 0.188 | 0.369 |
| 21 <i>C. destructivum</i> | 22 | 28 | 26 | 28 | 0.168 | 0.011 | 0.088 | 0.041 | 0.075 | 0.098 | 0.127 | 0.130 | 0.133 | 0.162 | 0.414 |
| 22 <i>C. linicola</i> | 15 | 27 | 25 | 28 | 2 | 0.011 | 0.082 | 0.053 | 0.063 | 0.081 | 0.115 | 0.118 | 0.121 | 0.149 | 0.402 |
| 23 <i>C. trichellum</i> | 21 | 19 | 19 | 21 | 15 | 14 | 0.082 | 0.082 | 0.088 | 0.071 | 0.108 | 0.105 | 0.114 | 0.136 | 0.354 |
| 24 <i>C. dematium</i> | 21 | 22 | 21 | 22 | 7 | 9 | 14 | 0.082 | 0.058 | 0.076 | 0.110 | 0.106 | 0.115 | 0.147 | 0.403 |
| 25 <i>C. coccodes</i> | 22 | 20 | 20 | 26 | 13 | 11 | 15 | 10 | 0.058 | 0.017 | 0.115 | 0.112 | 0.121 | 0.124 | 0.356 |
| 26 <i>Colletotrichum</i> sp. (ขนาดเล็ก) | 19 | 17 | 17 | 23 | 17 | 14 | 12 | 13 | 3 | 0.096 | 0.096 | 0.092 | 0.102 | 0.105 | 0.338 |
| 27 <i>C. trifolii</i> | 19 | 17 | 17 | 21 | 20 | 18 | 17 | 17 | 18 | 15 | 0.006 | 0.006 | 0.012 | 0.121 | 0.353 |
| 28 <i>C. lindemuthianum</i> | 19 | 17 | 17 | 22 | 20 | 18 | 16 | 16 | 17 | 14 | 1 | 0.006 | 0.006 | 0.117 | 0.361 |
| 29 <i>C. orbiculare</i> | 19 | 18 | 18 | 23 | 21 | 19 | 18 | 18 | 19 | 16 | 2 | 1 | 0.127 | 0.127 | 0.351 |
| 30 <i>C. acutatum</i> | 25 | 29 | 29 | 32 | 28 | 26 | 23 | 25 | 21 | 18 | 19 | 18 | 20 | 0.127 | 0.312 |
| 31 <i>Nitrospora crassa</i> | 55 | 57 | 57 | 58 | 70 | 68 | 57 | 64 | 57 | 54 | 53 | 53 | 53 | 50 | |

Colletotrichum sp. ที่แยกได้จาก บีโกเนีย ลำไย และพลับ และกลุ่มที่สามประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้จาก บอนสี ซึ่งมีสปอร์รูปทรงกระบอก และโกสน สำหรับกลุ่มของเชื้อราที่มีค่า distance coefficient สูงสุดคือ เชื้อรา *C. sublineolum* และ *C. acutatum* (19.1 %) เมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสของเชื้อรา *Colletotrichum* กับเชื้อรา *Nurospora crassa* พบว่ามีค่า distance coefficient ระหว่าง 31.2 ถึง 41.4 % เมื่อพิจารณา tree ที่ได้ (ภาพที่ 9) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อราทั้ง 13 ไอโซเลท เป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มแรกประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. 9 ไอโซเลท (ไอโซเลท บอนสี (สปอร์รูปทรงกระบอก) โกสน บีโกเนีย พลับ ลำไย กาแฟ ข้าวฟ่าง ส้ม และสแตคตัส) รวมทั้งเชื้อรา *C. fuscum* *C. gloeosporioides* และ *C. kahawae* กลุ่มที่สองประกอบด้วยเชื้อรา *C. musae* และ *Colletotrichum* sp. (ไอโซเลท กล้วยน้ำว้า) โดยมีค่า bootstrap สนับสนุน 79 % กลุ่มที่สามประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (ไอโซเลท บอนสี (สปอร์รูปเดี่ยว) และกระเจียว) และ *C. capsici* (88 % bootstrap) และกลุ่มที่สี่ประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (ไอโซเลท มะเขือเทศ) *C. linicola* *C. destructivum* *C. dematium* และ *C. coccodes* (56 % bootstrap)

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของเชื้อรา *Colletotrichum* จำนวน 25 ไอโซเลท โดยมีเชื้อรา *C. capsici* ไอโซเลท 223 และ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากกระเจียว และ บอนสี ซึ่งมี สปอร์รูปเดี่ยวเป็น out group (ภาพที่ 10) พบว่าค่า distance coefficient ที่ได้จากการเปรียบเทียบข้อมูลลำดับเบสตรงตำแหน่ง ITS1 มีค่าตั้งแต่ 0.0 ถึง 5.9 % (ตารางที่ 5) โดยค่า distance coefficient น้อยที่สุด (0.0 %) พบในกลุ่มของเชื้อราสี่กลุ่มคือ กลุ่มแรกประกอบด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท 203 และ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากกาแฟ และ ข้าวฟ่าง กลุ่มที่สองประกอบด้วย เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท 502 และ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากบีโกเนีย ลำไย และพลับ กลุ่มที่สามประกอบด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท CGcofC และ 498/150.28 กลุ่มที่สี่ประกอบด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate SAS1 และ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จาก บอนสี ซึ่งมีสปอร์รูปทรงกระบอก และโกสน สำหรับค่า distance coefficient มากที่สุดพบในกลุ่มของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท AV3/1 และ *C. musae* ไอโซเลท CMG (5.9 %) เมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสของเชื้อราทั้งหมดกับเชื้อราที่ใช้เป็น out group พบว่ามีค่า distance coefficient ตั้งแต่ 10.7 ถึง 13.0 % จาก tree ที่ได้ (ภาพที่ 11) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อราทั้ง 9 ไอโซเลท ซึ่ง tree (ในภาพที่ 10) จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แบ่งออกเป็นสี่กลุ่มคือ กลุ่มแรกประกอบด้วย *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากกาแฟ และ ข้าวฟ่าง และเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท 203 และ AV3/1 กลุ่มที่สอง ประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากบีโกเนีย พลับ ลำไย และส้ม รวมทั้งเชื้อรา

NJ



ภาพที่ 9 Neighbor-joining tree ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS 1 ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 30 ไอโซเลต และเชื้อรา *Nurospora crassa* เป็น out group (bootstrapping จำนวน 1,000 ครั้ง)
 แถบเส้นด้านใต้ tree แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบส (0.01 คือ มีการเปลี่ยนแปลงเบส 1 เบส ใน 100 ตำแหน่งของลำดับเบส)

| [| 10 | 20 | 30 | 40 | 50] |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----|----|----|------|
| [| . | . | . | . | .] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (AV3/1) | CTGAGTTA-CGCTCTATAACCCCTTGTGGAACATACCTATAACTGTTGCTT | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (203) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ถนนฝ) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (จำฬฝ) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (502) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บโหนฝ) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลฝ) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ตคคฝ) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (SAS8) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (CGcofC) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (498/150.28) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (503) | *****_***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (NT44) | *****_*****C*****AC***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (P2/10) | *****_*****C*****AC***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (501) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (SAS1) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนฝ (สปอรูปทรงระบอก)) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โถสน) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ฝฝ) | *****_*****C***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ถฝนฝ) | *****_*****GC***** | | | | [50] |
| <i>C. musae</i> (CMG) | *****_*****GC***** | | | | [50] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจฝ) | *****_*C*****_C***** | | | | [49] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนฝ (สปอรูปฝฝฝ)) | *****_*C*****_***** | | | | [49] |
| <i>C. capsici</i> (223) | *****_*C*****ATC*****_***** | | | | [49] |

ภาพที่ 10 ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีเอ็นเอตรงตำแหน่ง ITS1 ของเชื้อรา

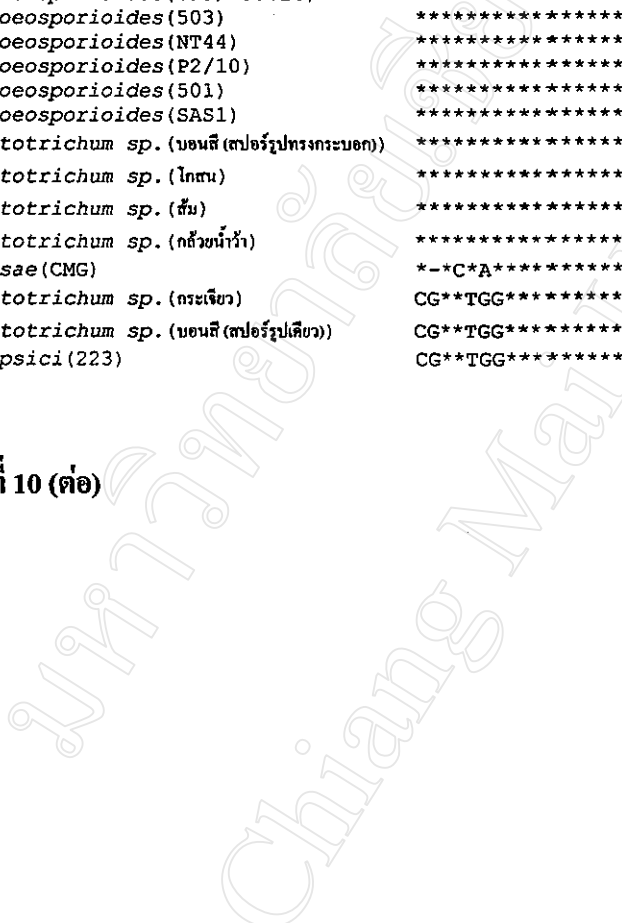
Colletotrichum gloeosporioides, *C. musae* และ *C. capsici* เทียบกับ *Colletotrichum* spp.

จำนวน 12 ไอโซเลทที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทย

โดยเครื่องหมาย * แสดงลำดับเบสที่คล้ายกันกับเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท AV3/1 และ เครื่องหมาย - แสดงตำแหน่ง gap

| [| 110 | 120 | 130 | 140 | 150] |
|------------------------------------------------------|--------------|----------------------|----------------------|-----|-------|
| <i>C. gloeosporioides</i> (AV3/1) | GCGGGTCGGCG | CCCCGCCGGAGGATAACCAA | ACTCTGATTTAACGACGTTT | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (203) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กาแฟ) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (502) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บีโกเนียม) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พลับ) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (สนเทศ) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (SAS8) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (CGcofC) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (498/150.28) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (503) | ***** | *****G***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (NT44) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (P2/10) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (501) | ***** | *****G***** | ***** | | [144] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (SAS1) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี(สปอร์รูปทรงกระบอก)) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โกนุ) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | ***** | ***** | ***** | | [144] |
| <i>C. musae</i> (CMG) | *-*C*A***** | *****G***** | ***** | | [143] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | CG**TGG***** | ***** | ***** | | [150] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี(สปอร์รูปเคียว)) | CG**TGG***** | ***** | ***** | | [150] |
| <i>C. capsici</i> (223) | CG**TGG***** | ***** | ***** | | [150] |

ภาพที่ 10 (ต่อ)



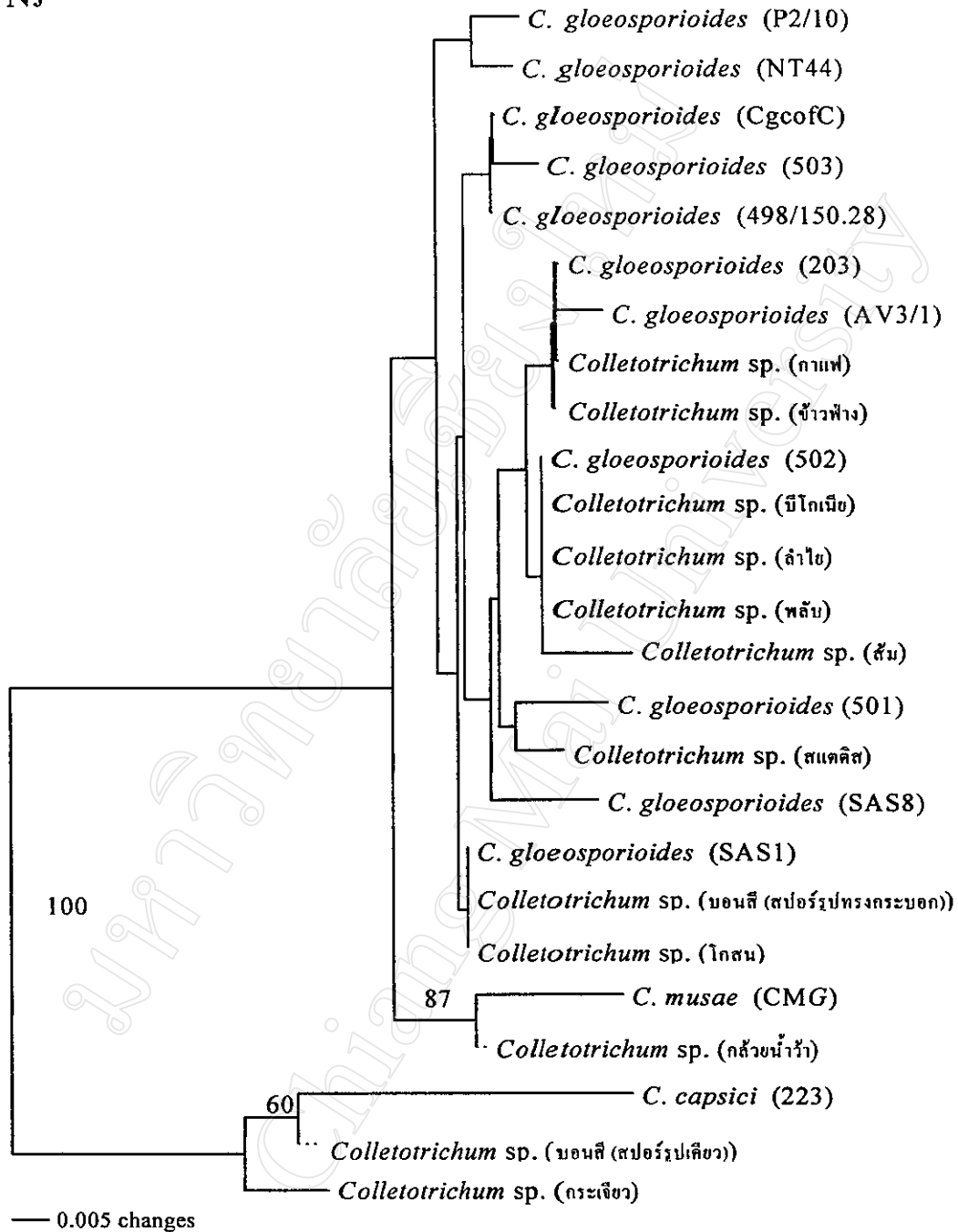
| [| 160 | 170 | 179] |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------|-----|-------|
| [| . | . | .] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (AV3/1) | CTTCTGAGTGGTACAAGCAAATAATCA | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (203) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ถนนเฟ) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ข้าวฟ่าง) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (502) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บีโกเนีย) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ลำไย) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (พริก) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (แตงคืด) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (SAS8) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (CGcofC) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (498/150.28) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (503) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (NT44) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (P2/10) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (501) | ***** | | [171] |
| <i>C. gloeosporioides</i> (SAS1) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี(สปอร์รูปทรงระบอบ)) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (โกศน) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (ส้ม) | ***** | | [171] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กล้วยน้ำว้า) | ***** | | [171] |
| <i>C. musae</i> (CMG) | ***** | | [170] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (กระเจียว) | *****AC***** | | [177] |
| <i>Colletotrichum sp.</i> (บอนสี(สปอร์รูปเดี่ยว)) | *****AC***** | | [177] |
| <i>C. capsici</i> (223) | *****AC***** | | [177] |

ภาพที่ 10 (ต่อ)

ตารางที่ 5 ค่า genetic distance ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS 1 ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides C. musae* และ *C. capsici* g
 เทียบกับ *Colletotrichum* spp. จำนวน 12 ไอโซเลตที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทย
 (ครึ่งแถวล่างเป็นจำนวนเบสที่แตกต่างกัน และครึ่งแถวบนเป็นค่า distance coefficient)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 <i>C. gloeosporioides</i> (AY31/1) | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.023 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.035 | 0.035 | 0.029 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.041 | 0.059 | 0.118 | 0.112 | 0.130 |
| 2 <i>C. gloeosporioides</i> (203) | | 0.000 | 0.000 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.018 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.029 | 0.029 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.053 | 0.112 | 0.107 | 0.124 |
| 3 <i>Colletotrichum</i> sp. (กวนพ) | | | 0.000 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.018 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.029 | 0.029 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.053 | 0.112 | 0.107 | 0.124 |
| 4 <i>Colletotrichum</i> sp. (ข้าวฟ่าง) | | | | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.018 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.018 | 0.029 | 0.029 | 0.029 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.053 | 0.112 | 0.107 | 0.124 |
| 5 <i>C. gloeosporioides</i> (502) | | | | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.047 | 0.118 | 0.112 | 0.118 |
| 6 <i>Colletotrichum</i> sp. (ฝ้าย) | | | | | | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.047 | 0.118 | 0.112 | 0.118 |
| 7 <i>Colletotrichum</i> sp. (ลำไย) | | | | | | | 0.000 | 0.012 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.047 | 0.118 | 0.112 | 0.118 |
| 8 <i>Colletotrichum</i> sp. (พริก) | | | | | | | | 0.000 | 0.012 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.047 | 0.118 | 0.112 | 0.118 |
| 9 <i>Colletotrichum</i> sp. (ทุเรียน) | | | | | | | | | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.018 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.023 | 0.029 | 0.047 | 0.112 | 0.107 | 0.112 |
| 10 <i>C. gloeosporioides</i> (SAS8) | | | | | | | | | | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.035 | 0.035 | 0.029 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.023 | 0.035 | 0.053 | 0.118 | 0.112 | 0.130 | 0.130 |
| 11 <i>C. gloeosporioides</i> (CGcoIC) | | | | | | | | | | | 0.000 | 0.006 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.023 | 0.023 | 0.041 | 0.112 | 0.107 | 0.124 |
| 12 <i>C. gloeosporioides</i> (498/150.28) | | | | | | | | | | | | 0.006 | 0.018 | 0.018 | 0.023 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.023 | 0.023 | 0.041 | 0.112 | 0.107 | 0.124 |
| 13 <i>C. gloeosporioides</i> (503) | | | | | | | | | | | | | 0.023 | 0.023 | 0.029 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.029 | 0.047 | 0.118 | 0.112 | 0.130 |
| 14 <i>C. gloeosporioides</i> (NT44) | | | | | | | | | | | | | | 0.012 | 0.029 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.018 | 0.035 | 0.107 | 0.112 | 0.118 |
| 15 <i>C. gloeosporioides</i> (P2/10) | | | | | | | | | | | | | | | 0.029 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.012 | 0.029 | 0.029 | 0.047 | 0.118 | 0.124 | 0.130 |
| 16 <i>C. gloeosporioides</i> (501) | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.018 | 0.029 | 0.035 | 0.053 | 0.124 | 0.118 | 0.124 |
| 17 <i>C. gloeosporioides</i> (SAS1) | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.118 | 0.112 | 0.118 |
| 18 <i>Colletotrichum</i> sp. (บอนสี (ตาโล่) ทุ่งกระเบอง) | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.000 | 0.000 | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.118 | 0.112 | 0.118 |
| 19 <i>Colletotrichum</i> sp. (โสม) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.018 | 0.035 | 0.118 | 0.112 | 0.118 | 0.118 |
| 20 <i>Colletotrichum</i> sp. (ส้ม) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.035 | 0.053 | 0.118 | 0.112 | 0.118 | 0.118 |
| 21 <i>Colletotrichum</i> sp. (กล้วยน้ำว้า) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.112 | 0.107 | 0.107 | 0.107 |
| 22 <i>C. musae</i> (CMG) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.112 | 0.107 | 0.107 | 0.107 |
| 23 <i>Colletotrichum</i> sp. (มะเขือ) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.112 | 0.107 | 0.107 | 0.107 |
| 24 <i>Colletotrichum</i> sp. (บอนสี (ตาโล่) ไร่เตย) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.112 | 0.107 | 0.107 | 0.107 |
| 25 <i>C. capsici</i> (223) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.018 | 0.112 | 0.107 | 0.107 | 0.107 |

NJ



ภาพที่ 11 Neighbor-joining tree ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่ง ITS 1 ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. musae* และ *C. capsici* เทียบกับ *Colletotrichum* spp. จำนวน 12 ไอโซเลท (bootstrapping จำนวน 1,000 ครั้ง) แถบเส้นด้านใต้ tree แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงลำดับเบส (0.005 คือ มีการเปลี่ยนแปลงเบส 1 เบส ใน 1,000 ตำแหน่งของลำดับเบส)

Colletotrichum gloeosporioides ไอโซเลขท 502 กลุ่มที่สามประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลขทที่แยกได้จาก สแตติส และ *C. gloeosporioides* ไอโซเลขท 501 และกลุ่มที่สี่ประกอบด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลขทที่แยกได้จากบอนสี ซึ่งมีสปอร์รูปทรงกระบอก และโกสน และเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลขท SAS1

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University