

## บทคัดย่อ

เชื้อราในสกุล *Colletotrichum* (หรือ “Glomerella”) ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสโดยเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจ อาทิเช่น ธัญพืช พืชผัก พืชตระกูลถั่ว ไม้ดอกไม้ประดับ และ ไม้ผล และทางด้านการควบคุมและกักกัน อันรวมไปถึงการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* สามารถแพร่ระบาดได้อย่างกว้างขวาง โดยเชื้อราในสกุลนี้ยังเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการพืชอาศัยและจะปรากฏร่วมกับบริเวณที่เกิดอาการของโรคคล้ายเชื้อราแอนโดไฟต์ ในอดีตการจัดจำแนกนี้พิจารณาจากลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและชนิดของพืชอาศัยซึ่งพบว่ามี ความซับซ้อนเป็นอย่างมาก จึงได้มีการใช้ ITS ยีนส์ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ตามก็ยังไม่สามารถจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ได้อย่างแม่นยำ เมื่อไม่นานมานี้ จึงมีการใช้ความหลากหลายของยีนส์ actin (act), calmodulin (cal), chitin synthase (chs1), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (gapdh) และ ITS ร่วมกับการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยารวมไปถึงการทดลองความสามารถในการก่อโรค ทำให้ขณะนี้มีการรายงานจะนวนสปีชีส์กว่า 100 สปีชีส์ โดย 4 สปีชีส์ได้รับการยอมรับว่าเป็นสปีชีส์ที่มีความซับซ้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *C. gloeosporioides* ประกอบไปด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา 22 ลักษณะที่มีความคล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตาม ITS, beta tubulin (tub2), DNA lyase และ the intergenic region of apn2 และ MAT1-2-1 genes (ApMat) ได้ใช้ในการจัด ดังนั้น 28 สปีชีส์ จึงได้รับการยอมรับ ในงานวิจัยฉบับนี้ผู้วิจัยได้ยืนยันผลการวิจัยทางด้านชีวโมเลกุล มากกว่า 50 สปีชีส์ โดย 15 สปีชีส์ค้นพบภายในประเทศไทยและได้สำรวจเชื้อราในกลุ่มดังกล่าวที่เข้าทำลายพืชผลและแอนโดไฟต์ในพืชตระกูลหญ้า โดยได้มีการรวบรวมจากตัวอย่างสดในแต่ละสถานที่กว่า 200 ตัวอย่าง โดยผู้วิจัยได้มีการนำเสนอผลงานการวิจัย 5 ฉบับ ตั้งแต่เชื้อราในสกุลนี้ได้เป็นปัญหาที่พบได้ทั่วโลกดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้เลือกการติดต่อประสานงานกับคณะวิจัยในประเทศบราซิล จีน และ อินเดีย เพื่อให้เกิดการศึกษาอย่างกว้างขวางและครอบคลุม ทางคณะผู้จัดมี

ความรู้สึกว่างานวิจัยในครั้งนี้ได้ประสบความสำเร็จอย่างดีเยี่ยม เนื่องจากโดยรวมได้มีการตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารนานาชาติรวมถึง 11 ชิ้นงานด้วยกันที่และยังคงเหลืออีก 3 ผลงานตีพิมพ์ที่อยู่ในกระบวนการตีพิมพ์ในขณะนี้ ในปัจจุบัน *Colletotrichum* มากกว่า 100 สายพันธุ์ได้รับการวิเคราะห์แต่ยังคงต้องการการศึกษาที่ลึกซึ้งยิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่น *C. gloeosporioides* อย่างไรก็ตามทางคณะผู้จัดทำได้มีความมุ่งมั่นที่จะดำเนินงานวิจัยนี้ต่อไปโดยจะมีการเก็บรวบรวมตัวอย่าง ในประเทศไทย และรายงานหรือตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับสายพันธุ์ใหม่ๆ เนื่องจากยังมีการค้นพบสายพันธุ์อย่างต่อเนื่องเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงการกำจัดแมก ขณะนี้ IST สามารถที่จะใช้ในการแยกสายพันธุ์ใน 7 สายพันธุ์หลักที่มีความซับซ้อนได้ ในขณะเดียวกัน 6-7 ยีนส์ ยังคงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาในความซับซ้อนนั้น ในลำดับต่อไปในการทำลองจีโนมทั้งหมดสามารถทำได้ใน *Colletotrichum* 3 สายพันธุ์ และใช้ ข้อมูลนี้สร้าง 1 หรือ 2 ยีนส์ที่มีความสามารถในการระบุปีชีส์อย่างแม่นยำได้ งานวิจัยที่กล่าวอ้างนี้ได้อยู่ภายใต้ความร่วมมือกับนักวิจัยใน Beijing และภายใน 1-2 ปี คณะผู้วิจัยคาดหวังว่าจะมีการตีพิมพ์ผลงานวิจัยที่เป็นประโยชน์ขึ้น โดยสรุปเกี่ยวกับสถานะของการกำจัดแมกของเชื้อราในกลุ่ม *Colletotrichum* ได้ระบุไว้ในงานตีพิมพ์ที่คณะผู้ทำวิจัยได้จัดเตรียมไว้เพื่อการตีพิมพ์ใน Hyde et al. (in prep).

## ABSTRACT

The genus *Colletotrichum* (sexual state “Glomerella”) are important pathogens causing serious disease of plants and infected crops are subjected of import control (quarantine) and plant breeding programs. *Colletotrichum* species have a worldwide distribution and are associated with leaf spots, fruit anthracnose and when serious infections occur they are responsible for reducing economic plant yields (e.g. of cereals, vegetables, legumes, ornamental plants and fruits). They are also obligate symbionts and occur in a symptomless parts of plants as endophytes and the relationships between life modes (i.e. can the fungi switch modes) is poorly establish. Previous identification and classification was based on host association and morphological characteristics. Molecular sequence data analysis has become commonplace in classifying plant pathogenic genera like *Colletotrichum*, which have been found to comprise several species complexes. Initially ITS and morphology was used to characterize species, however, they could not resolve species well. Recent multigene phylogenetic analysis have involved actin (*act*), calmodulin (*cal*), chitin synthase (*chs1*), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*gapdh*) and ITS gene regions as well as morphology and pathogenicity testing so at present there are about 100 described species and this is increasing monthly. There are also four accepted species complexes and *C. gloeosporioides* is the most important. Recently multigene phylogenetic analysis confirmed that *C. gloeosporioides* is a species complex that comprises 22 morphologically similar, phylogenetically distinct species. However, ITS, beta tubulin (*tub2*), DNA lyase and the intergenic region of *apn2* and *MAT1-2-1* genes (*ApMat*) have also been used to identify new lineages and new species within this species-complex and presently, there are 28 accepted species names within the species complex. There is however, yet no consensus among mycologists as to which gene markers should be used to define and delimit a species within the species complex.

At the beginning of this study (October 2010) there were more than 50 confirmed “molecular” species in the genus causing plant diseases often known as anthracnose with 15 species known from Thailand. We therefore initiated a survey of *Colletotrichum* species infecting fruits in Thailand and also those which are

endophytes of healthy grasses. In the first, second and third year we collected and isolated strains from more than 200 fresh specimens of various disease plants and fruits and asymptomatic grass endophytes from different places in Thailand. We also sequenced these isolates and carried out morphological as well as pathogenicity studies. We identified several new species and also worked towards epitypification of other species and five publications (four SCI) appearing in year two (Oct 2011-Sept 2012) of the grant. In the final year of the project we published six SCI papers. We were involved in developing a practical phylogeny and morphology based approach for the identification of *Colletotrichum* species, focusing on Thai species. However, since this is a global problem we have also chosen to collaborate with Brazilian, Chinese and Indian colleagues in order to bring greater depth to the research and international agreement to the findings. The latter was achieved with the formation of the International Subcommittee on *Colletotrichum* taxonomy (<http://www.fungaltaxonomy.org/subcommissions>) of which our group is a founder member. We feel this has been a remarkably successful research project. In total we published 11 international papers. We also have three papers in preparation.

At the present time more than 100 species of *Colletotrichum* are recognized but there is still considerable work needed to establish how many species exist in species complexes such as *C. gloeosporioides*. We will continue this work and continue collecting in Thailand and publish new species as they are found and resolved. At present ITS can separate species into the seven main species complexes, while a 6-7 gene combined phylogeny is needed to resolve species within these complexes. Identification is therefore difficult and costly. The next step is to examine the whole genome sequences that are available for three *Colletotrichum* species and use data mining to establish one or two genes that can more accurately resolve species. This work is now underway in collaboration with colleagues in Beijing and within 1-2 years we hope to publish these results. A summary of the status of *Colletotrichum* species identification will be given in a paper we are preparing for publication in Hyde et al. (in prep).

Keywords: *Colletotrichum*, Phylogeny, Plant pathogen, Taxonomy