

## 6. ผลการวิจัย

### การทดลองที่ 1 : ความทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับ

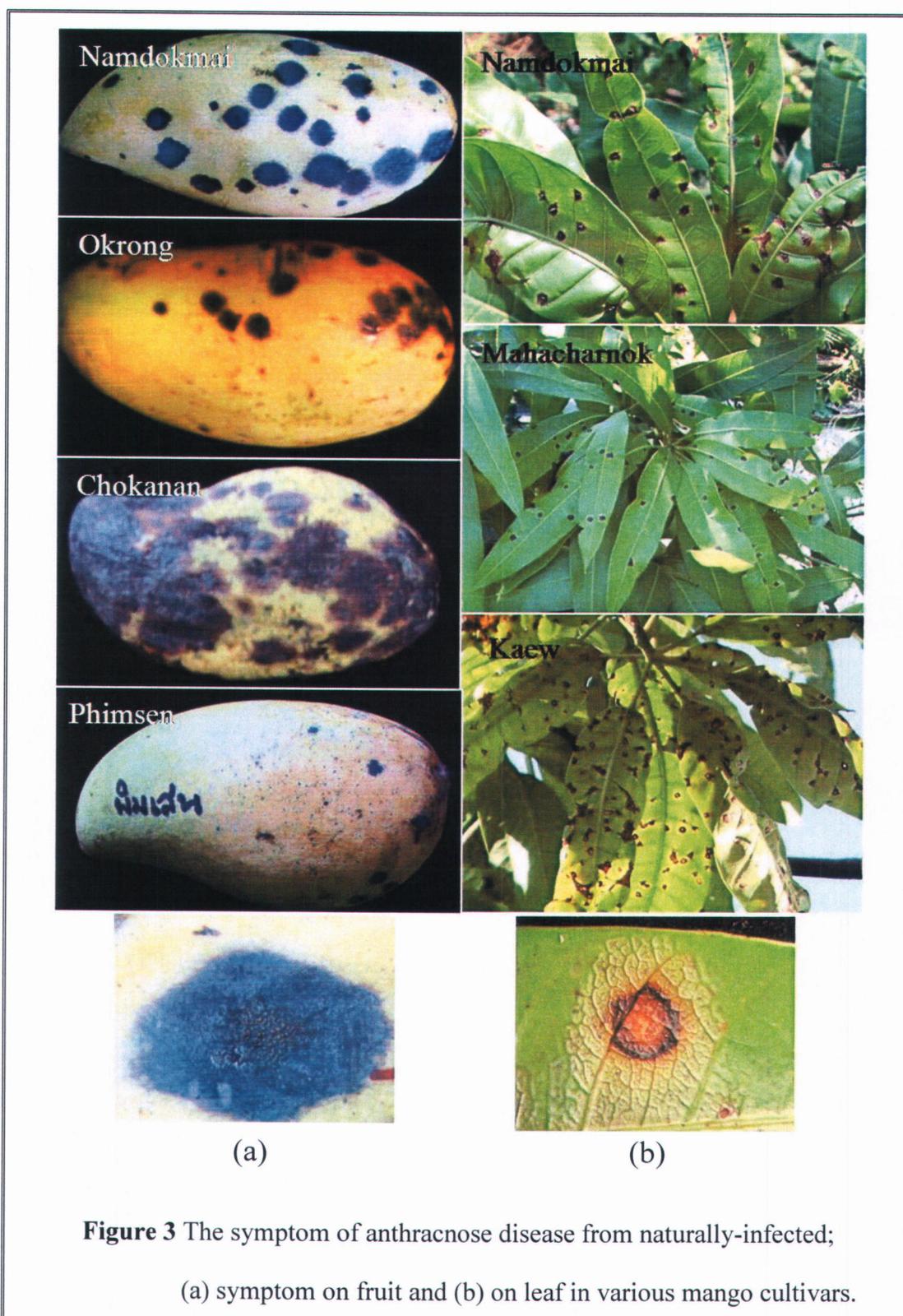
ความเข้มข้นต่าง ๆ และเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

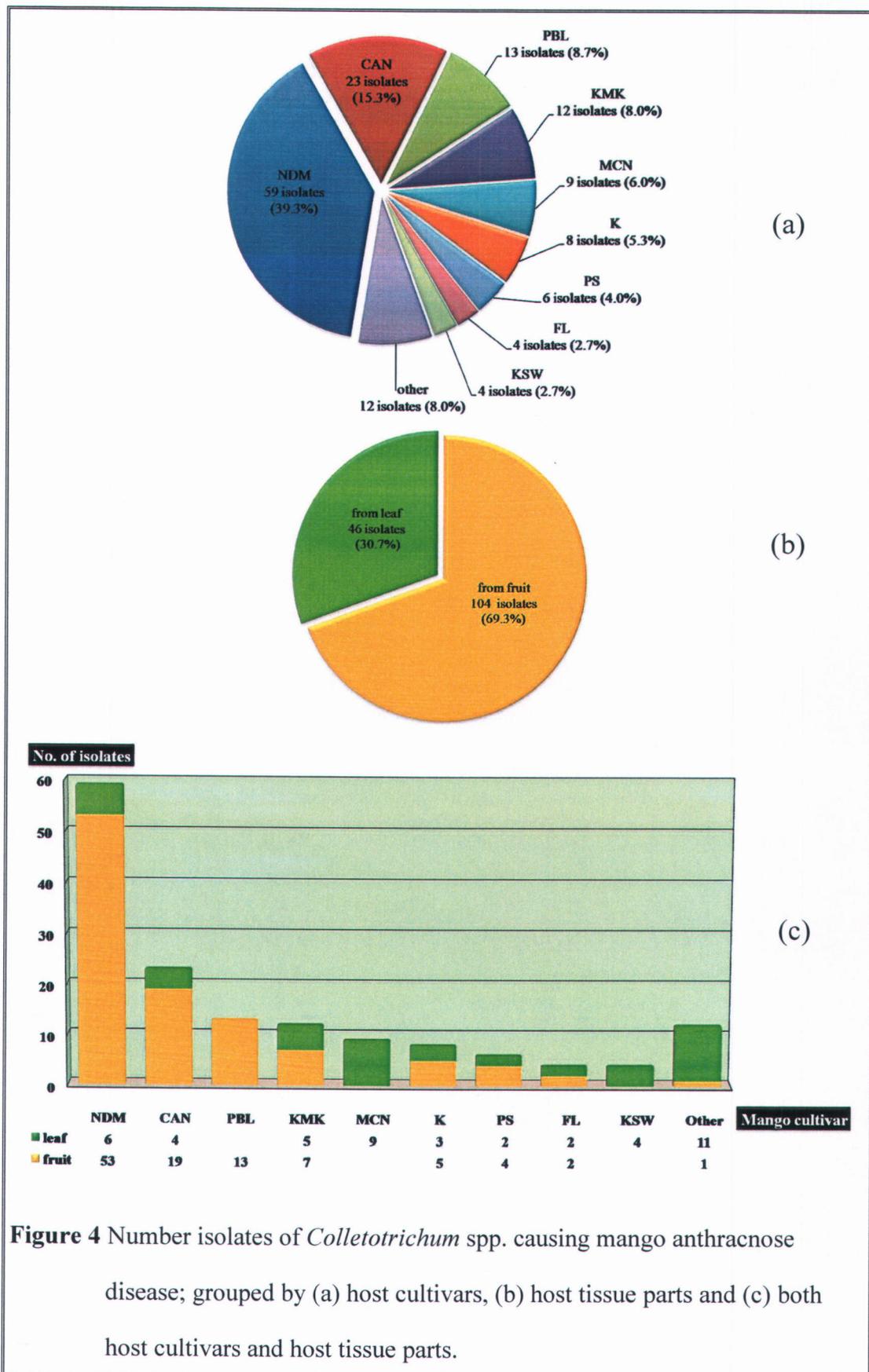
#### 1.1 การแยกเชื้อราบริสุทธิ์ และเก็บรวบรวมเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

จากการเก็บตัวอย่างโรคแอนแทรคโนสจากใบและผลของมะม่วงจำนวนทั้งหมด 17 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์ต่างๆ ดังนี้ 1. เจ้าคุณทิพย์ (Chaokhunthip; CKT), 2. โชคอนันต์ (Chokanan; CAN), 3. ฟาลัน (Falun; FL), 4. แก้ว (Kaew; K), 5. เขียวมรกต (Khiamorakod; KMK), 6. เขียวเสวย (Khiasawoey; KSW), 7. ลิ่นจูเห่า (Lingjuhao; LNH), 8. มหาชนก (Mahacharnok; MCN), 9. มั่นขุนศรี (Mankhunsri; MKS), 10. น้ำดอกไม้ (Namdokmai; NDM), 11. นารีสีมรัง (Nareeluemrang; NLR), 12. อกร่อง (Okrong; OR), 13. เพชรบ้านลาด (Phetbanlat; PBL), 14. พิมเสน (Phimsen; PS), 15. แรด (Raet; R), 16. ศาลายา (Salaya; SLY), และ 17. ดลบันดาล (Talapnak; TLN) (Table 1) ซึ่งแสดงลักษณะอาการบนใบเริ่มจากมีแผลจุดเล็กๆ สีเหลืองอ่อน และเมื่อขยายใหญ่จะเห็นเป็นแผลสีน้ำตาลรูปร่างไม่แน่นอน เนื้อเยื่อตรงกลางแผลฉีกขาด ใบที่อ่อนมากๆ แผลจะขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้ใบแห้งหรือบิดเบี้ยวเสียรูปทรง ส่วนอาการบนผลมักปรากฏบนผลที่แก่จัดหรือผลสุก เริ่มจากจุดสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำรูปร่างกลมขนาดไม่แน่นอน แล้วขยายเป็นแผลขนาดใหญ่ค่อนข้างกลมสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ เนื้อเยื่อบริเวณแผลยุบตัวกว่าระดับเดิมเล็กน้อย ตรงกลางแผลอาจพบเม็ดแข็งเล็กๆ สีดำเรียงเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้นหรือมีกลุ่มสปอร์ลักษณะเป็นของเหลวชั้นสีส้มกระจายอยู่ (Figure 3)

เมื่อแยกเชื้อราสาเหตุจากตัวอย่างที่แสดงอาการดังกล่าวโดยวิธี tissues transplanting technique พบว่าสามารถแยกเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้รวมทั้งหมด 150 ไอโซเลท ประกอบด้วย CKT จำนวน 1 ไอโซเลท (จากใบ), CAN จำนวน 23 ไอโซเลท (จากใบ 4 ไอโซเลท และจากผล 19 ไอโซเลท), FL จำนวน 4 ไอโซเลท (จากใบ 2 ไอโซเลท และจากผล 2 ไอโซเลท), K จำนวน 8 ไอโซเลท (จากใบ 3 ไอโซเลท และจากผล 5 ไอโซเลท), KMK จำนวน 13 ไอโซเลท (จากใบ 6 ไอโซเลท และจากผล 7 ไอโซเลท), KSW จำนวน 4 ไอโซเลท (จากใบ), LNH จำนวน 1 ไอโซเลท (จากใบ), MCN จำนวน 9 ไอโซเลท (จากใบ), MKS จำนวน 2 ไอโซเลท (จากใบ), NDM จำนวน 59 ไอโซเลท (จากใบ 6 ไอโซเลท และจากผล 53 ไอโซเลท), NLR จำนวน 2 ไอโซเลท (จากใบ), OR จำนวน 2 ไอโซเลท (จากใบและผลอย่างละ 1 ไอโซเลท), PBL จำนวน 13

ไอโซเลท (จากผล), PS จำนวน 6 ไอโซเลท (จากใบ 2 ไอโซเลท และจากผล 4 ไอโซเลท), R จำนวน 1 ไอโซเลท (จากใบ), SLY จำนวน 1 ไอโซเลท (จากใบ) และ TLN จำนวน 2 ไอโซเลท (จากใบ) (Table 2; Figure 4)





**Table 2** List of *Colletotrichum* spp. isolates causing anthracnose disease in various mango cultivars of naturally-infected fruits and leaves from markets and orchards.

No.	Isolate code	Collection date (month/year)	Tissue	Location
<b>1. Chaokhunthip cultivar (CKT) = 1 isolate</b>				
1.	CKT_L044	12/2007	leaf	T. Ban Hong, A. Ban Hong, Lamphun
<b>2. Chokanan cultivar (CAN) = 23 isolates</b>				
1.	CAN_L080	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
2.	CAN_L081	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
3.	CAN_L090	03/2008	leaf	T. Pa-nai, A. Phrao, Chiangmai
4.	CAN_F093	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
5.	CAN_F094	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
6.	CAN_F095	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
7.	CAN_F097	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
8.	CAN_F098	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
9.	CAN_L105	04/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
10.	CAN_F123	04/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
11.	CAN_F125	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
12.	CAN_F139	05/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
13.	CAN_F140	05/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
14.	CAN_F141	05/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
15.	CAN_F142	05/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
16.	CAN_F143	05/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
17.	CAN_F144	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
18.	CAN_F145	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
19.	CAN_F146	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
20.	CAN_F147	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
21.	CAN_F148	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
22.	CAN_F149	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
23.	CAN_F150	05/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
<b>3. Farlun cultivar (FL) = 4 isolates</b>				
1.	FL_F003	11/2007	fruit	Tesco lotus express, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
2.	FL_F066	01/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
3.	FL_L079	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
4.	FL_L111	04/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
<b>4. Kaew cultivar (K) = 8 isolates</b>				
1.	K_L053	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
2.	K_F069	01/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
3.	K_F099	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
4.	K_F100	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
5.	K_F101	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
6.	K_F103	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
7.	K_L120	04/2008	leaf	T. Makham-luang, A. San Pa Tong, Chiangmai

Table 2 Continued

No.	Isolate code	Collection date (month/year)	Tissue	Location
8.	K_L124	04/2008	leaf	Multiple Cropping Center (MCC), Faculty of agriculture, Chiangmai university, Chiangmai
<b>5. Khiaomorakod cultivar (KMK) = 12 isolates</b>				
1.	KMK_L041	12/2007	leaf	T. Ban Hong, A. Ban Hong, Lamphun
2.	KMK_L051	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
3.	KMK_L055	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
4.	KMK_L058	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
5.	KMK_L088	03/2008	leaf	T.Ping Khong, A. Chiang Dao, Chiangmai
6.	KMK_F132	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
7.	KMK_F133	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
8.	KMK_F134	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
9.	KMK_F135	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
10.	KMK_F136	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
11.	KMK_F137	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
12.	KMK_F138	04/2008	fruit	Research & development service section, Faculty of Agriculture, T. Lao-yao , A. Ban Hong, Lamphun
<b>6. Khiaosawoey cultivar (KSW) = 4 isolates</b>				
1.	KSW_L004	11/2007	leaf	T.Ping Khong, A. Chiang Dao, Chiangmai
2.	KSW_L062	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
3.	KSW_L085	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
4.	KSW_L119	04/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
<b>7. Linnguhao cultivar (LNH) = 1 isolates</b>				
1.	LNG_L031	11/2007	leaf	T.Ping Khong, A. Chiang Dao, Chiangmai
<b>8. Mahacharnok cultivar (MCN) = 9 isolates</b>				
1.	MCN_L013	11/2007	leaf	T. Choeng-doi, A. Doi-saket, Chiangmai
2.	MCN_L049	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
3.	MCN_L052	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
4.	MCN_L056	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
5.	MCN_L059	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
6.	MCN_L070	01/2008	leaf	T. Phrommani, A. Mueang, Nakhon-nayok
7.	MCN_L075	02/2008	leaf	T. Nam-dip, A. Pa-sang, Lamphun
8.	MCN_L089	03/2008	leaf	T.Ping Khong, A. Chiang Dao, Chiangmai
9.	MCN_L121	04/2008	leaf	Multiple Cropping Center (MCC), Faculty of agriculture, Chiangmai university, Chiangmai

Table 2 Continued

No.	Isolate code	Collection date (month/year)	Tissue	Location
<b>9. Mankhunyi cultivar (MKS) = 2 isolates</b>				
1.	MKS_L034	11/2007	leaf	T.Ping Khong, A. Chiang Dao, Chiangmai
2.	MKS_L086	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
<b>10. Namdokmai cultivar (NDM) = 59 isolates</b>				
1.	NDM_F001	10/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
2.	NDM_F002	10/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
3.	NDM_F005	11/2007	fruit	Faculty of agriculture, Chiangmai university, Chiangmai
4.	NDM_F006	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
5.	NDM_F007	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
6.	NDM_F008	11/2007	fruit	Varorot Market, T. Sripoom, A. Mueang, Chiangmai
7.	NDM_F009	11/2007	fruit	Varorot Market, T. Sripoom, A. Mueang, Chiangmai
8.	NDM_F010	11/2007	fruit	Varorot Market, T. Sripoom, A. Mueang, Chiangmai
9.	NDM_F011	11/2007	fruit	Varorot Market, T. Sripoom, A. Mueang, Chiangmai
10.	NDM_F012	11/2007	fruit	Varorot Market, T. Sripoom, A. Mueang, Chiangmai
11.	NDM_F014	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
12.	NDM_F015	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
13.	NDM_F016	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
14.	NDM_F018	11/2007	fruit	Rim Ping Supermarket, A. Mueang, Chiangmai
15.	NDM_F019	11/2007	fruit	Rim Ping Supermarket, A. Mueang, Chiangmai
16.	NDM_F020	11/2007	fruit	Rim Ping Supermarket, A. Mueang, Chiangmai
17.	NDM_F021	11/2007	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
18.	NDM_F022	11/2007	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
19.	NDM_F023	11/2007	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
20.	NDM_F024	11/2007	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
21.	NDM_F025	11/2007	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
22.	NDM_F026	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
23.	NDM_F027	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
24.	NDM_F028	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
25.	NDM_F029	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
26.	NDM_F035	11/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
27.	NDM_F036	11/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
28.	NDM_F037	11/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
29.	NDM_F038	11/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
30.	NDM_F039	11/2007	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
31.	NDM_F042	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
32.	NDM_F043	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
33.	NDM_F045	12/2007	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
34.	NDM_F046	12/2007	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
35.	NDM_F050	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
36.	NDM_L057	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
37.	NDM_F061	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
38.	NDM_F063	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
39.	NDM_L067	01/2008	leaf	T. Wat-bot, A. Wat-bot, Phitsanulok
40.	NDM_L068	01/2008	leaf	T. Mae-taeng, A. Mae-taeng, Chiangmai
41.	NDM_L071	01/2008	leaf	T. Phrommani, A. Mueang, Nakhon-nayok
42.	NDM_F072	01/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai

Table 2 Continued

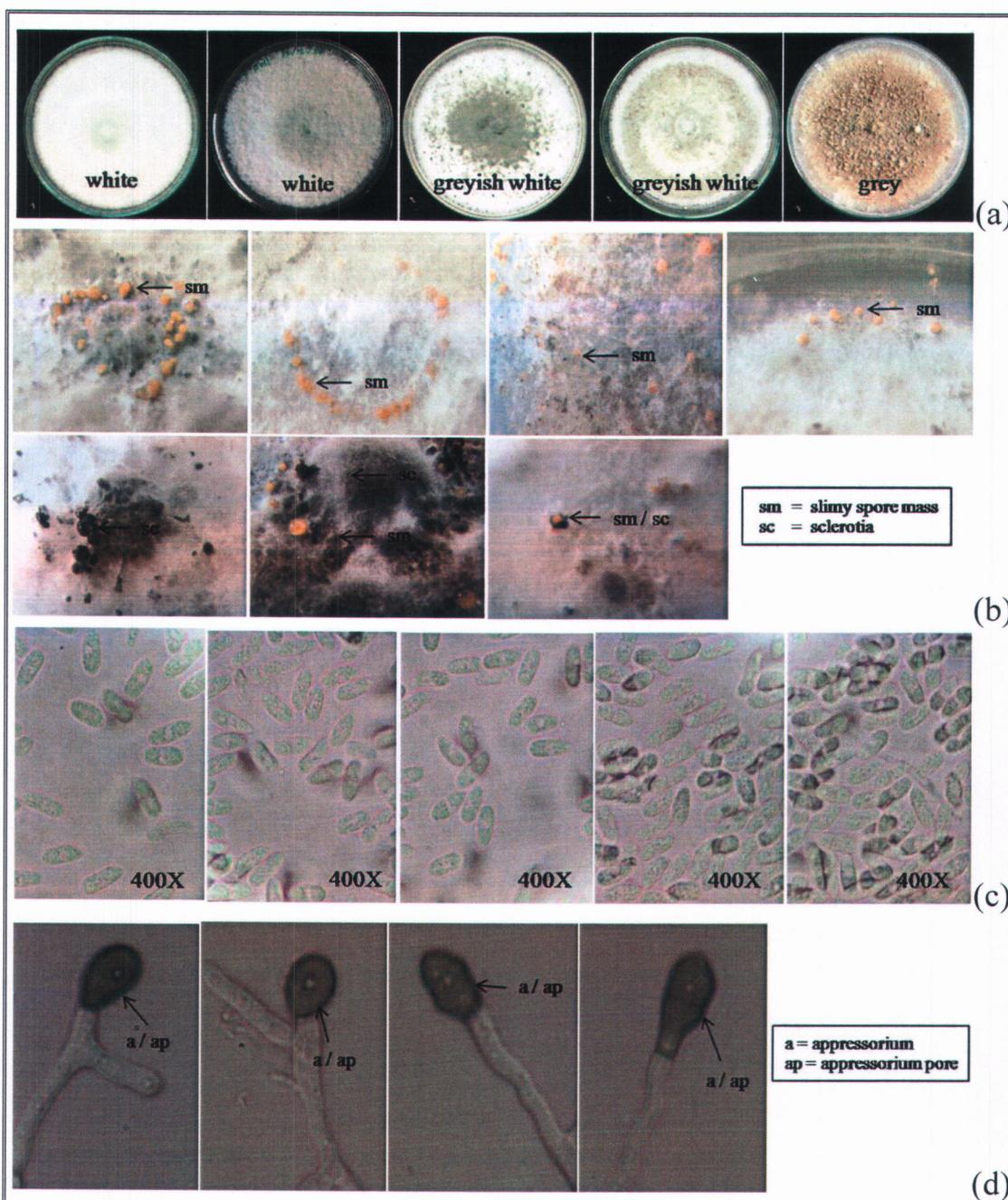
No.	Isolate code	Collection date (month/year)	Tissue	Location
43.	NDM_L078	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
44.	NDM_L096	04/2008	leaf	T. Pa-nai, A. Phrao, Chiangmai
45.	NDM_F104	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
46.	NDM_F106	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
47.	NDM_F107	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
48.	NDM_F108	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
49.	NDM_F109	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
50.	NDM_F110	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
51.	NDM_F112	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
52.	NDM_F115	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
53.	NDM_F116	04/2008	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
54.	NDM_F117	04/2008	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
55.	NDM_F118	04/2008	fruit	Tesco lotus supermarket, , A. Mueang, Chiangmai
56.	NDM_F127	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
57.	NDM_F128	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
58.	NDM_F129	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
59.	NDM_F130	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
<b>11. Nareeluemrang cultivar (NLR) = 2 isolates</b>				
1.	NLR_L047	12/2007	leaf	T. Ban Hong, A. Ban Hong, Lamphun
2.	NLR_L048	12/2007	leaf	T. Ban Hong, A. Ban Hong, Lamphun
<b>12. Okrong cultivar (OR) = 2 isolates</b>				
1.	OR_L040	12/2007	leaf	T. Ban Hong, A. Ban Hong, Lamphun
2.	OR_F126	04/2008	fruit	Sompath Market, T. Chang Klan, A. Mueang, Chiangmai
<b>13. Phetbanlat cultivar (PBL) = 13 isolates</b>				
1.	PBL_F030	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
2.	PBL_F033	11/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
3.	PBL_F054	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
4.	PBL_F064	12/2007	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
5.	PBL_F076	02/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
6.	PBL_F077	02/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
7.	PBL_F083	03/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
8.	PBL_F084	03/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
9.	PBL_F091	03/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
10.	PBL_F092	03/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
11.	PBL_F102	04/2008	fruit	Ton Payom Market, T. Suthap, A. Mueang, Chiangmai
12.	PBL_F113	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
13.	PBL_F131	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai



Table 2 Continued

No.	Isolate code	Collection date (month/year)	Tissue	Location
<b>14. Phimsen cultivar (PS) = 6 isolates</b>				
1.	PS_L032	11/2007	leaf	T.Ping Khong, A. Chiang Dao, Chiangmai
2.	PS_F073	01/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
3.	PS_F074	01/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
4.	PS_L082	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
5.	PS_F114	04/2008	fruit	Meung Mai Market, T. Chang-moi, A. Mueang, Chiangmai
6.	PS_F122	04/2008	fruit	Changphueak Market, T. Changphueak, A. Mueang, Chiangmai
<b>15. Raet cultivar (R) = 1 isolate</b>				
1.	R_L087	03/2008	leaf	T. Nam-phrae, A. Phrao, Chiangmai
<b>16. Salaya cultivar (SLY) = 1 isolate</b>				
1.	SLY_L017	11/2007	leaf	Multiple Cropping Center (MCC), Faculty of agriculture, Chiangmai university, Chiangmai
<b>17. Talapnak cultivar (TLN) = 2 isolates</b>				
1.	TLN_L060	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun
2.	TLN_L065	12/2007	leaf	T. Lao Khao, A. Ban Hong, Lamphun

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้ ทั้งหมด 150 ไอโซเลท โดยการเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) พบว่าเชื้อราทั้งหมดมีลักษณะ สีของโคโลนีบนอาหาร PDA ดังนี้ โคโลนีสีขาวจำนวน 125 ไอโซเลท, สีขาวปนเทาจำนวน 18 ไอโซเลท และ สีเทาจำนวน 7 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อราสามารถเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ระยะเวลาประมาณ 7-10 วัน อัตราการเจริญเฉลี่ยเท่ากับ  $9.97 \pm 0.81$  mm ต่อวัน ลักษณะสปอร์ของเชื้อราเป็นเซลล์เดี่ยว สี ไม่มีสี รูปทรงกระบอกหัวท้ายมน (cylindrical) ขนาดเฉลี่ยเท่ากับ  $4.24 \pm 0.11 \times 17.69 \pm 0.45$  บางไอโซเลทพบการสร้าง กลุ่มสปอร์สีส้ม (spore mass) หรือพบเม็ด sclerotium สีดำ (Figure 5; Table 3) จากลักษณะดังกล่าวจึงจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุเป็น *Colletotrichum gloeosporioides* ตามหลักเกณฑ์ของ Sutton (1992) (Table 3)



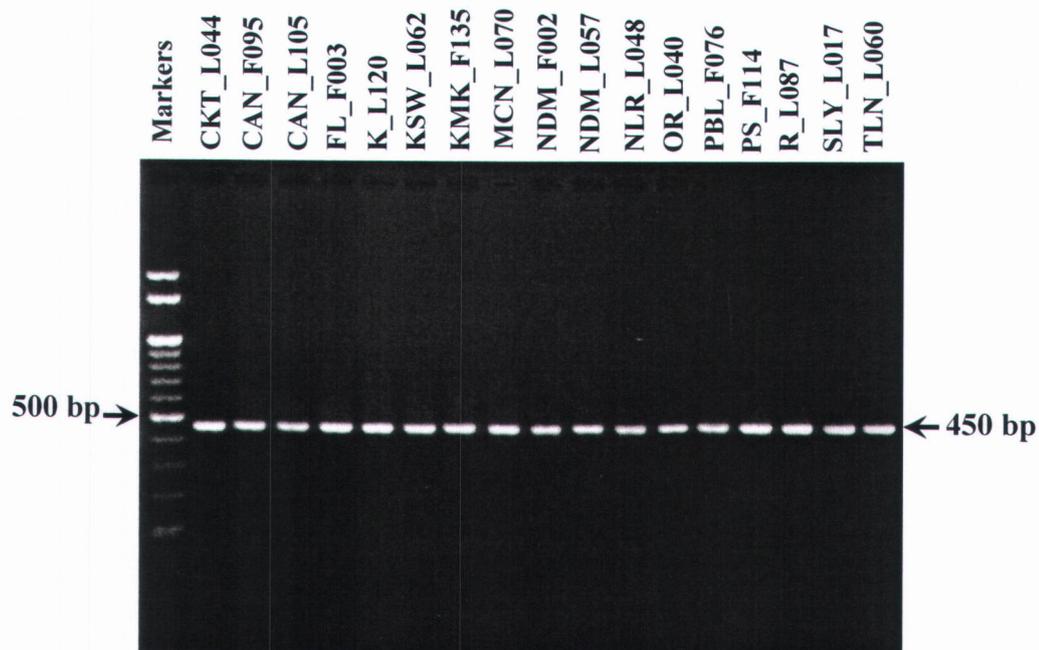
**Figure 5** Morphological characterizations of isolates causing mango anthracnose

disease is identical with that of *Colletotrichum gloeosporioides*;

(a) colony growth on PDA for 10 days, (b) slimy spore mass and sclerotia,

(c) conidia at 400X and (d) appressorium and appressorium pore.

ซึ่งการทดลองครั้งนี้ได้มีการยืนยันผลในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราอีกลวิธี โดยทำ polymerase chain reaction (PCR) ใช้ไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (species-specific primer; CgIT and ITS4) พบปรากฏแถบดีเอ็นเอ ขนาด 450 bp (Figure 6)



**Figure 6** Amplification of partial ITS region for species identification of various isolates of mango anthracnose pathogens by PCR using species-specific primers of CgIT and ITS4. Markers are 100 bp ladder, and arrow on the left side indicates the position of 500 bp. The arrow on the right marks the group-specific band.

**Table 3** Morphological characterizations of one hundred and fifty isolates causing various mango cultivars anthracnose disease are identical with that of *Colletotrichum gloeosporioides* on potato dextrose agar at room temperature (28-30°C).

No. Isolate code	Colony <sup>1/</sup>		After 14 days					
	Color <sup>3/</sup>	Growth rate (mm/day)	Color <sup>4/</sup>	Shape <sup>5/</sup>	Conidia <sup>2/</sup>		Slimy spore mass <sup>6/</sup>	Sclerotia
					Mean size (µm)			
					Length	Width		
<b>1. Chaokhunthip cultivar (CKT) = 1 isolate</b>								
Leaf								
1. CKT_L044	W	10.14±0.10 <sup>7/</sup>	Hya	Cyl	17.11±0.12	4.17±0.08	+	+
<b>2. Chokanan cultivar (CAN) = 23 isolates</b>								
Leaf								
1. CAN_L080	Wg	8.77±0.08	Hya	Cyl	16.95±0.11	4.16±0.12	+	+
2. CAN_L081	W	9.77±0.13	Hya	Cyl	17.36±0.26	4.18±0.11	-	-
3. CAN_L090	W	9.06±0.19	Hya	Cyl	18.18±0.15	4.35±0.08	+	-
4. CAN_L105	W	10.17±0.19	Hya	Cyl	17.69±0.14	4.24±0.11	+	+
Fruit								
5. CAN_F093	W	9.06±0.13	Hya	Cyl	17.56±0.16	4.21±0.13	-	-
6. CAN_F094	W	11.14±0.10	Hya	Cyl	17.77±0.13	4.26±0.12	-	-
7. CAN_F095	W	9.91±0.13	Hya	Cyl	18.07±0.09	4.33±0.12	-	+
8. CAN_F097	W	10.09±0.16	Hya	Cyl	16.75±0.11	4.01±0.12	+	-
9. CAN_F098	W	10.31±0.19	Hya	Cyl	17.35±0.18	4.16±0.10	+	-
10. CAN_F123	W	8.63±0.13	Hya	Cyl	16.46±0.22	3.94±0.13	+	+
11. CAN_F125	W	9.63±0.22	Hya	Cyl	16.95±0.11	4.06±0.10	+	+
12. CAN_F139	W	9.46±0.12	Hya	Cyl	17.19±0.15	4.12±0.11	-	+
13. CAN_F140	W	9.91±0.16	Hya	Cyl	17.86±0.11	4.28±0.12	-	-
14. CAN_F141	W	10.09±0.08	Hya	Cyl	17.54±0.20	4.20±0.09	-	+
15. CAN_F142	W	10.40±0.21	Hya	Cyl	16.95±0.16	4.06±0.12	-	+
16. CAN_F143	W	8.83±0.19	Hya	Cyl	17.08±0.18	4.09±0.13	-	+
17. CAN_F144	W	8.63±0.16	Hya	Cyl	17.47±0.12	4.19±0.12	-	-
18. CAN_F145	W	9.17±0.19	Hya	Cyl	17.16±0.20	4.11±0.09	-	+
19. CAN_F146	W	10.11±0.12	Hya	Cyl	17.46±0.25	4.18±0.11	+	+
20. CAN_F147	W	9.00±0.10	Hya	Cyl	16.95±0.11	4.06±0.11	-	-
21. CAN_F148	W	9.37±0.13	Hya	Cyl	18.36±0.21	4.40±0.11	-	+
22. CAN_F149	W	10.86±0.14	Hya	Cyl	16.86±0.14	4.04±0.10	-	+
23. CAN_F150	W	9.69±0.12	Hya	Cyl	17.39±0.13	4.17±0.13	-	+
<b>3. Farlun cultivar (FL) = 4 isolates</b>								
Leaf								
1. FL_L079	G	10.17±0.19	Hya	Cyl	18.26±0.16	4.37±0.11	+	+
2. FL_L111	W	9.23±0.16	Hya	Cyl	17.43±0.15	4.18±0.13	-	-

<sup>1/</sup>, <sup>2/</sup> five, ten replications, respectively.

<sup>3/</sup> Colony color: W = white, Wg = white gray, G = gray

<sup>4/</sup>, <sup>5/</sup> Conidia color: Hya = hyaline, conidia shape: Cyl = cylindrical, respectively.

<sup>6/</sup> Slimy spore mass or sclerotia production on PDA; + = present, - = absent.

<sup>7/</sup> Standard deviation.

Table 3 Continued

No.	Isolate code	Colony <sup>1/</sup>		After 14 days					
		Color <sup>3/</sup>	Growth rate (mm/day)	Conidia <sup>2/</sup>				Slimy spore mass <sup>6/</sup>	Sclerotia
				Color <sup>4/</sup>	Shape <sup>5/</sup>	Mean size ( $\mu\text{m}$ )			
						Length	Width		
Fruit									
3.	FL_F003	Wg	12.94±0.16	Hya	Cyl	16.89±0.15	4.05±0.13	+	+
4.	FL_F066	W	14.69±0.12	Hya	Cyl	17.55±0.16	4.20±0.13	+	+
<b>4. Kaew cultivar (K) = 8 isolates</b>									
Leaf									
1.	K_L053	W	13.94±0.16	Hya	Cyl	16.83±0.15	4.03±0.12	+	+
2.	K_L120	W	10.20±0.16	Hya	Cyl	18.24±0.14	4.37±0.12	+	+
3.	K_L124	W	9.14±0.23	Hya	Cyl	17.92±0.12	4.29±0.13	-	-
Fruit									
4.	K_F069	W	10.97±0.19	Hya	Cyl	16.87±0.13	4.04±0.12	-	+
5.	K_F099	W	8.89±0.12	Hya	Cyl	17.46±0.16	4.18±0.11	-	-
6.	K_F100	W	10.37±0.16	Hya	Cyl	18.19±0.18	4.36±0.13	+	-
7.	K_F101	W	10.06±0.16	Hya	Cyl	17.67±0.12	4.23±0.13	-	-
8.	K_F103	W	9.40±0.12	Hya	Cyl	18.37±0.15	4.40±0.12	+	+
<b>5. Khaomorakod cultivar (KMK) = 13 isolates</b>									
Leaf									
1.	KMK_L041	W	10.14±0.10	Hya	Cyl	17.88±0.18	4.28±0.12	-	-
2.	KMK_L051	W	9.83±0.12	Hya	Cyl	17.84±0.15	4.27±0.12	-	-
3.	KMK_L055	W	9.03±0.12	Hya	Cyl	18.1±0.24	4.34±0.15	-	-
4.	KMK_L058	W	8.60±0.12	Hya	Cyl	17.57±0.17	4.21±0.12	+	+
5.	KMK_L088	Wg	9.29±0.14	Hya	Cyl	16.87±0.18	4.04±0.13	+	+
Fruit									
6.	KMK_F132	W	8.94±0.16	Hya	Cyl	18.16±0.16	4.35±0.12	-	-
7.	KMK_F133	W	9.86±0.10	Hya	Cyl	17.94±0.14	4.30±0.12	-	-
8.	KMK_F134	W	10.11±0.12	Hya	Cyl	17.74±0.16	4.25±0.13	-	-
9.	KMK_F135	W	10.83±0.12	Hya	Cyl	17.81±0.09	4.27±0.12	+	+
10.	KMK_F136	W	9.14±0.17	Hya	Cyl	16.87±0.24	4.04±0.13	+	+
11.	KMK_F137	W	9.74±0.06	Hya	Cyl	17.65±0.27	4.23±0.08	-	-
12.	KMK_F138	W	10.66±0.16	Hya	Cyl	16.96±0.15	4.06±0.13	-	-
<b>6. Khaosawoey cultivar (KSW) = 4 isolates</b>									
Leaf									
1.	KSW_L004	W	8.97±0.06	Hya	Cyl	18.25±0.20	4.37±0.09	-	-
2.	KSW_L062	W	10.97±0.12	Hya	Cyl	17.61±0.11	4.22±0.13	+	+
3.	KSW_L085	W	10.37±0.08	Hya	Cyl	17.78±0.08	4.26±0.11	+	+
4.	KSW_L119	W	9.34±0.16	Hya	Cyl	16.83±0.11	4.03±0.11	-	-
<b>7. Lin Nguhao cultivar (LNH) = 1 isolate</b>									
Leaf									
1.	LNG_L031	Wg	9.09±0.22	Hya	Cyl	16.83±0.08	4.03±0.12	+	+

Table 3 Continued

No. Isolate code	Colony <sup>1/</sup>		After 14 days					
	Color <sup>3/</sup>	Growth rate (mm/day)	Conidia <sup>2/</sup>				Slimy spore mass <sup>6/</sup>	Sclerotia
			Color <sup>4/</sup>	Shape <sup>5/</sup>	Mean size ( $\mu\text{m}$ )			
					Length	Width		
<b>8. Mahacharnok cultivar (MCN) = 9 isolates</b>								
Leaf								
1. MCN_L013	W	9.23±0.13	Hya	Cyl	17.37±0.12	4.16±0.13	-	+
2. MCN_L049	W	10.00±0.10	Hya	Cyl	17.94±0.11	4.30±0.11	-	-
3. MCN_L052	W	9.91±0.08	Hya	Cyl	17.59±0.14	4.21±0.10	-	-
4. MCN_L056	Wg	10.94±0.16	Hya	Cyl	17.83±0.08	4.27±0.11	+	+
5. MCN_L059	W	10.23±0.13	Hya	Cyl	16.86±0.10	4.04±0.10	+	+
6. MCN_L070	Wg	8.83±0.12	Hya	Cyl	17.34±0.08	4.15±0.13	+	+
7. MCN_L075	W	9.57±0.10	Hya	Cyl	16.89±0.11	4.05±0.10	-	-
8. MCN_L089	W	10.46±0.12	Hya	Cyl	17.45±0.12	4.18±0.13	-	-
9. MCN_L121	W	10.34±0.08	Hya	Cyl	17.35±0.17	4.16±0.14	+	+
<b>9. Mankhunsu cultivar (MKS) = 2 isolates</b>								
Leaf								
1. MKS_L034	W	9.20±0.16	Hya	Cyl	18.16±0.	4.35±0.13	-	-
2. MKS_L086	W	9.71±0.10	Hya	Cyl	17.80±0.	4.26±0.13	+	+
<b>10. Namdokmai cultivar (NDM) = 59 isolates</b>								
Leaf								
1. NDM_L057	G	9.09±0.08	Hya	Cyl	18.14±0.16	4.35±0.14	+	+
2. NDM_L067	Wg	10.20±0.16	Hya	Cyl	17.82±0.13	4.27±0.13	+	+
3. NDM_L068	G	10.31±0.12	Hya	Cyl	18.28±0.15	4.38±0.13	+	+
4. NDM_L071	G	10.74±0.12	Hya	Cyl	17.61±0.13	4.22±0.13	+	+
5. NDM_L078	W	9.54±0.06	Hya	Cyl	18.14±0.12	4.35±0.13	+	+
6. NDM_L096	Wg	9.80±0.16	Hya	Cyl	17.54±0.12	4.20±0.12	+	+
Fruit								
7. NDM_F001	W	9.60±0.12	Hya	Cyl	17.78±0.15	4.26±0.14	-	-
8. NDM_F002	W	10.06±0.16	Hya	Cyl	17.95±0.11	4.30±0.13	+	+
9. NDM_F005	W	9.49±0.08	Hya	Cyl	18.08±0.21	4.33±0.14	-	-
10. NDM_F006	Wg	10.23±0.13	Hya	Cyl	16.95±0.14	4.06±0.12	+	+
11. NDM_F007	W	9.80±0.13	Hya	Cyl	18.20±0.15	4.36±0.10	-	-
12. NDM_F008	W	10.14±0.10	Hya	Cyl	18.10±0.11	4.34±0.12	-	-
13. NDM_F009	W	9.97±0.12	Hya	Cyl	18.37±0.08	4.40±0.12	-	+
14. NDM_F010	W	10.31±0.06	Hya	Cyl	18.35±0.14	4.40±0.12	-	-
15. NDM_F011	W	9.71±0.10	Hya	Cyl	17.91±0.10	4.29±0.11	-	-
16. NDM_F012	W	10.57±0.10	Hya	Cyl	17.89±0.14	4.29±0.14	+	+
17. NDM_F014	G	9.91±0.08	Hya	Cyl	18.12±0.11	4.34±0.13	+	+
18. NDM_F015	W	9.97±0.12	Hya	Cyl	17.65±0.20	4.23±0.15	-	-
19. NDM_F016	W	10.29±0.14	Hya	Cyl	17.92±0.10	4.29±0.12	-	-
20. NDM_F018	W	10.00±0.10	Hya	Cyl	17.66±0.15	4.23±0.12	+	+
21. NDM_F019	W	9.86±0.10	Hya	Cyl	17.83±0.13	4.27±0.12	-	-
22. NDM_F020	W	10.91±0.16	Hya	Cyl	16.89±0.17	4.05±0.13	-	-

Table 3 Continued

No.	Isolate code	Colony <sup>1/</sup>		After 14 days					Slimy spore mass <sup>6/</sup>	Sclerotia
		Color <sup>3/</sup>	Growth rate (mm/day)	Conidia <sup>2/</sup>			Mean size ( $\mu\text{m}$ )			
				Color <sup>4/</sup>	Shape <sup>5/</sup>	Length	Width			
23.	NDM_F021	W	9.89±0.12	Hya	Cyl	16.79±0.29	4.02±0.14	-	+	
24.	NDM_F022	W	10.14±0.10	Hya	Cyl	17.49±0.13	4.19±0.12	-	-	
25.	NDM_F023	W	10.49±0.16	Hya	Cyl	18.04±0.08	4.32±0.12	-	-	
26.	NDM_F024	W	9.97±0.12	Hya	Cyl	17.54±0.13	4.20±0.13	+	-	
27.	NDM_F025	W	10.34±0.13	Hya	Cyl	18.08±0.16	4.33±0.11	-	-	
28.	NDM_F026	W	9.00±0.14	Hya	Cyl	17.86±0.21	4.28±0.15	+	+	
29.	NDM_F027	Wg	9.83±0.12	Hya	Cyl	18.09±0.15	4.33±0.13	+	+	
30.	NDM_F028	W	10.03±0.19	Hya	Cyl	18.16±0.17	4.35±0.12	-	-	
31.	NDM_F029	W	9.43±0.10	Hya	Cyl	17.45±0.14	4.18±0.12	-	-	
32.	NDM_F035	W	10.97±0.12	Hya	Cyl	17.37±0.29	4.16±0.14	+	+	
33.	NDM_F036	W	10.63±0.08	Hya	Cyl	17.61±0.18	4.22±0.13	-	-	
34.	NDM_F037	W	10.86±0.14	Hya	Cyl	17.67±0.16	4.23±0.13	-	-	
35.	NDM_F038	Wg	9.26±0.12	Hya	Cyl	18.21±0.15	4.36±0.12	+	+	
36.	NDM_F039	W	9.63±0.08	Hya	Cyl	17.72±0.14	4.25±0.14	-	-	
37.	NDM_F042	W	10.31±0.12	Hya	Cyl	17.66±0.33	4.23±0.14	-	-	
38.	NDM_F043	W	10.77±0.16	Hya	Cyl	17.89±0.26	4.29±0.13	-	+	
39.	NDM_F045	W	9.94±0.08	Hya	Cyl	17.67±0.17	4.23±0.11	-	-	
40.	NDM_F046	W	10.60±0.12	Hya	Cyl	17.85±0.22	4.28±0.15	+	-	
41.	NDM_F050	W	10.49±0.08	Hya	Cyl	18.21±0.33	4.36±0.12	-	-	
42.	NDM_F061	W	10.06±0.16	Hya	Cyl	17.48±0.20	4.19±0.14	+	+	
43.	NDM_F063	W	9.66±0.08	Hya	Cyl	17.76±0.27	4.25±0.13	+	+	
44.	NDM_F072	W	10.14±0.10	Hya	Cyl	17.80±0.27	4.26±0.12	+	+	
45.	NDM_F104	W	9.31±0.12	Hya	Cyl	17.37±0.23	4.15±0.11	-	-	
46.	NDM_F106	W	9.51±0.19	Hya	Cyl	17.48±0.29	4.19±0.14	+	+	
47.	NDM_F107	W	9.97±0.12	Hya	Cyl	16.70±0.23	4.00±0.11	-	-	
48.	NDM_F108	W	10.17±0.12	Hya	Cyl	18.41±0.26	4.41±0.16	-	-	
49.	NDM_F109	W	9.20±0.16	Hya	Cyl	17.66±0.37	4.23±0.09	-	-	
50.	NDM_F110	W	9.74±0.12	Hya	Cyl	18.65±0.19	4.47±0.13	+	+	
51.	NDM_F112	Wg	10.89±0.06	Hya	Cyl	18.30±0.37	4.38±0.08	+	+	
52.	NDM_F115	Wg	10.29±0.00	Hya	Cyl	18.12±0.23	4.34±0.11	+	+	
53.	NDM_F116	Wg	10.03±0.12	Hya	Cyl	17.61±0.33	4.22±0.12	+	+	
54.	NDM_F117	W	10.20±0.08	Hya	Cyl	17.42±0.20	4.17±0.13	-	-	
55.	NDM_F118	W	9.57±0.14	Hya	Cyl	17.79±0.14	4.26±0.11	+	+	
56.	NDM_F127	Wg	9.97±0.12	Hya	Cyl	17.58±0.19	4.21±0.10	-	-	
57.	NDM_F128	Wg	10.14±0.10	Hya	Cyl	18.05±0.12	4.32±0.12	-	+	
58.	NDM_F129	Wg	10.03±0.12	Hya	Cyl	17.86±0.13	4.28±0.12	-	-	
59.	NDM_F130	Wg	9.91±0.08	Hya	Cyl	17.78±0.21	4.26±0.12	+	+	

**11. Naree Luemrang cultivar (NLR) = 2 isolates**

Leaf

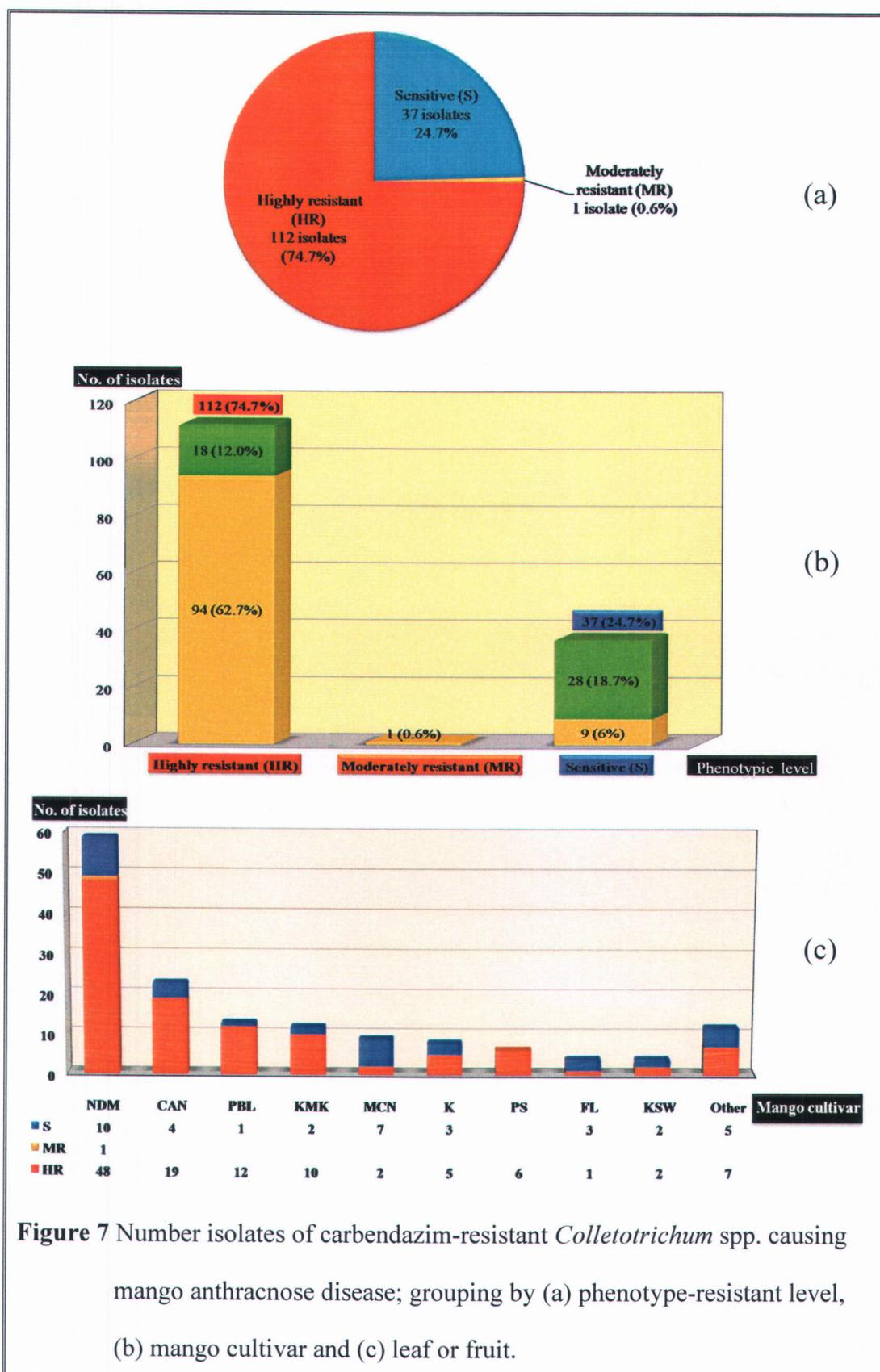
1.	NLR_L047	G	10.17±0.06	Hya	Cyl	17.69±0.25	4.24±0.13	+	+
2.	NLR_L048	W	9.34±0.16	Hya	Cyl	18.27±0.18	4.38±0.14	+	+

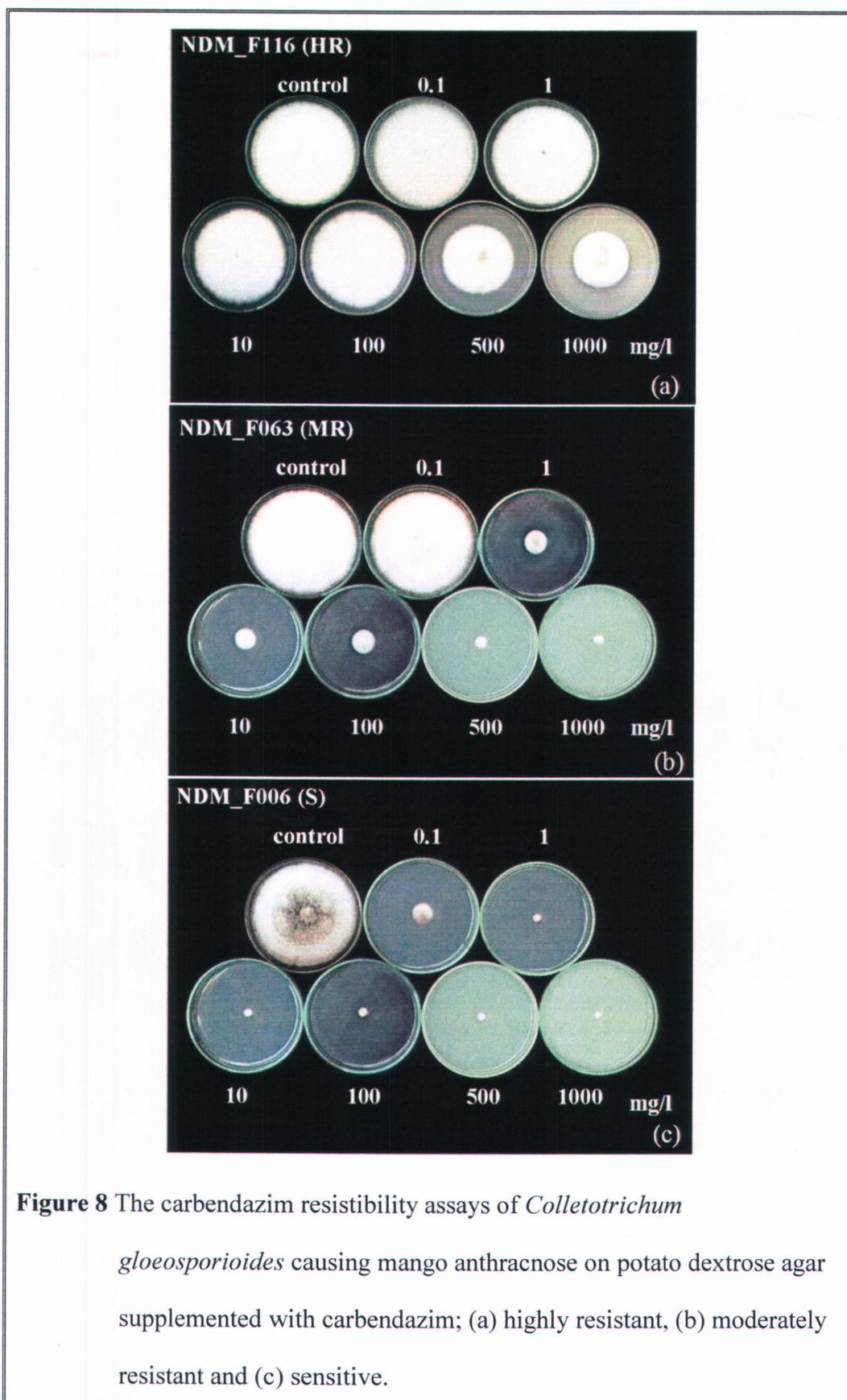
Table 3 Continued

No.	Isolate code	Colony <sup>1/</sup>		After 14 days					
		Color <sup>3/</sup>	Growth rate (mm/day)	Conidia <sup>2/</sup>			Slimy spore mass <sup>6/</sup>	Sclerotia	
				Color <sup>4/</sup>	Shape <sup>5/</sup>	Mean size ( $\mu\text{m}$ )			
						Length	Width		
<b>12. Okrong cultivar (OR) = 2 isolates</b>									
Leaf									
1.	OR_L040	W	10.06±0.08	Hya	Cyl	18.33±0.24	4.39±0.15	+	+
Fruit									
2.	OR_F126	W	9.34±0.13	Hya	Cyl	17.93±0.22	4.30±0.13	+	+
<b>13. Phetbanlat cultivar (PBL) = 13 isolates</b>									
Fruit									
1.	PBL_F030	W	10.86±0.10	Hya	Cyl	18.25±0.21	4.37±0.10	-	-
2.	PBL_F033	W	10.46±0.12	Hya	Cyl	17.85±0.19	4.28±0.13	+	+
3.	PBL_F054	W	10.66±0.13	Hya	Cyl	17.98±0.16	4.31±0.13	-	-
4.	PBL_F064	W	9.34±0.08	Hya	Cyl	17.58±0.20	4.21±0.09	-	-
5.	PBL_F076	W	9.71±0.20	Hya	Cyl	17.84±0.13	4.27±0.13	+	+
6.	PBL_F077	W	10.06±0.16	Hya	Cyl	17.67±0.18	4.23±0.10	-	-
7.	PBL_F083	W	9.77±0.13	Hya	Cyl	17.78±0.21	4.26±0.13	-	+
8.	PBL_F084	W	10.91±0.08	Hya	Cyl	17.85±0.17	4.28±0.12	+	-
9.	PBL_F091	W	9.37±0.08	Hya	Cyl	18.21±0.23	4.36±0.11	-	-
10.	PBL_F092	W	10.03±0.12	Hya	Cyl	18.15±0.18	4.35±0.11	-	-
11.	PBL_F102	W	9.23±0.08	Hya	Cyl	17.60±0.27	4.22±0.15	+	+
12.	PBL_F113	W	9.86±0.10	Hya	Cyl	17.80±0.12	4.26±0.09	-	+
13.	PBL_F131	W	10.11±0.12	Hya	Cyl	18.07±0.27	4.33±0.10	+	+
<b>14. Phimsen cultivar (PS) = 6 isolates</b>									
Leaf									
1.	PS_L032	W	9.06±0.16	Hya	Cyl	17.81±0.21	4.27±0.11	+	+
2.	PS_L082	G	10.09±0.13	Hya	Cyl	18.17±0.07	4.35±0.12	+	+
Fruit									
3.	PS_F073	W	9.66±0.13	Hya	Cyl	17.89±0.16	4.29±0.10	-	+
4.	PS_F074	W	9.86±0.10	Hya	Cyl	18.11±0.12	4.34±0.11	-	-
5.	PS_F114	W	10.20±0.08	Hya	Cyl	17.92±0.25	4.29±0.08	+	+
6.	PS_F122	W	10.23±0.08	Hya	Cyl	18.05±0.20	4.32±0.10	-	+
<b>15. Raet cultivar (R) = 1 isolate</b>									
Leaf									
1.	R_L087	W	10.31±0.12	Hya	Cyl	18.09±0.23	4.33±0.10	+	+
<b>16. Salaya cultivar (SLY) = 1 isolate</b>									
Leaf									
1.	SLY_L017	W	9.20±0.26	Hya	Cyl	17.66±0.12	4.23±0.12	+	+
<b>17. Talabnak cultivar (TLN) = 2 isolates</b>									
Leaf									
1.	TLN_L060	W	10.03±0.12	Hya	Cyl	17.74±0.14	4.25±0.13	+	+
2.	TLN_L065	W	9.51±0.16	Hya	Cyl	18.20±0.22	4.36±0.09	+	+

## 1.2 ทดสอบความทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

จากการศึกษาความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมที่ระดับ phenotypic mutation โดยประเมินระดับความต้านทานของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมบนอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิม 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 1, 10, 100, 500 และ 1000 mg/l ตามหลักเกณฑ์ที่แสดงข้างต้น พบเชื้อราที่ต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมในระดับสูง (highly resistant; HR) ซึ่งเจริญได้บนอาหารผสมคาร์เบนดาซิมได้ที่  $\geq 500$  mg/l จำนวน 112 ไอโซเลท (74.7%) ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากใบ จำนวน 18 ไอโซเลท (12%) และจากผล จำนวน 94 ไอโซเลท (62.7%), ระดับระดับปานกลาง (moderately resistant; MR) ซึ่งเจริญได้บนอาหารผสมคาร์เบนดาซิมได้ที่  $\leq 100$  mg/l จำนวน 1 ไอโซเลท (0.6%) เป็นเชื้อราที่แยกได้จากผล และพบเชื้อราระดับอ่อนแอ (sensitive; S) ซึ่งเจริญได้บนอาหารผสมคาร์เบนดาซิมได้ที่  $\leq 1$  mg/l จำนวน 37 ไอโซเลท (24.7%) ประกอบด้วยเชื้อราที่แยกได้จากใบ จำนวน 28 ไอโซเลท (18.7%) และจากผล จำนวน 9 ไอโซเลท (6%) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ไม่พบเชื้อราที่ต้านทานระดับต่ำ (weakly resistant; WR) (Figure 7 and 8; Table 4) จากผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นถึงการกลายพันธุ์ในระดับ phenotypic mutation ซึ่งบ่งชี้ว่ามีเชื้อราเกิดการปรับตัวเองเพื่อความอยู่รอดและเกิดการต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าวจำนวนมากอยู่ในธรรมชาติ หรือในแปลงปลูกเนื่องจากพบเชื้อรากลุ่ม HR ที่สามารถเจริญได้บนอาหาร PDA ที่ผสมสารคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น  $\geq 500$  mg/l ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่มากกว่าอัตราแนะนำ ทั้งนี้ผลมาจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคนี้น่าจะเกินอัตราแนะนำและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sarish (1989), Farungsang *et al.* (1994), Sander *et al.* (2000), และ Kumar *et al.* (2007) ที่ตรวจสอบความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มเบนซิมิดาโซลของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในระดับ phenotype mutation พบเชื้อราดังกล่าวต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มเบนซิมิดาโซลอยู่ในระดับสูง





**Figure 8** The carbendazim resistibility assays of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose on potato dextrose agar supplemented with carbendazim; (a) highly resistant, (b) moderately resistant and (c) sensitive.

**Table 4** Carbendazim-resistant level (phenotype) of *Colletotrichum*

*gloeosporioides* causing mango anthracnose on potato dextrose agar supplemented with carbendazim at control (0), 0.1, 1, 10, 100, 500, and 1,000 mg/l.

No.	Isolate code	Carbendazim concentrations (mg/l) <sup>1/</sup>						Phenotype-resistant level <sup>2/</sup>
		0.1	1	10	100	500	1,000	
<b>1. Chaokhunthip cultivar (CKT) = 1 isolate</b>								
Leaf								
1.	CKT_L044	++++	+++	++	++	++	++	HR
<b>2. Chokanan cultivar (CAN) = 23 isolates</b>								
Leaf								
1.	CAN_L080	-	-	-	-	-	-	S
2.	CAN_L081	-	-	-	-	-	-	S
3.	CAN_L090	++++	++++	++++	++++	+++	++	HR
4.	CAN_L105	-	-	-	-	-	-	S
Fruit								
5.	CAN_F093	+++	+++	+++	+++	+++	++	HR
6.	CAN_F094	++++	++	++	++	++	+	HR
7.	CAN_F095	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
8.	CAN_F097	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
9.	CAN_F098	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
10.	CAN_F123	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
11.	CAN_F125	-	-	-	-	-	-	S
12.	CAN_F139	++++	++++	+++	++++	++	+++	HR
13.	CAN_F140	++++	++++	+++	+++	++	++	HR
14.	CAN_F141	++++	++++	+++	+++	++	++	HR
15.	CAN_F142	++++	+++	+++	+++	+++	+++	HR
16.	CAN_F143	++++	+++	+++	++	++	++	HR
17.	CAN_F144	++++	++++	+++	++++	++	+	HR
18.	CAN_F145	++++	+++	+++	++	++	++	HR
19.	CAN_F146	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
20.	CAN_F147	++++	++++	+++	++	+++	++	HR
21.	CAN_F148	++++	++++	+++	++	+++	+++	HR
22.	CAN_F149	++++	+++	+++	+++	++	++	HR
23.	CAN_F150	++++	++++	+++	++	++	+++	HR
<b>3. Farlun cultivar (FL) = 4 isolates</b>								
Leaf								
1.	FL_L079	-	-	-	-	-	-	S
2.	FL_L111	-	-	-	-	-	-	S

<sup>1/</sup> Five replications, Percentage of growth: -, +, ++, +++, +++++; >10%, 10-34%, 35%-64%, 65%-89%, ≤ 90%, respectively.

<sup>2/</sup> Resistant response against carbendazim on PDA: HR = highly resistant (≥ 500 mg/l), MR = moderately resistant (≤ 100 mg/l), S = sensitive (≤ 1 mg/l), respectively.



Table 4 Continued

No.	Isolate code	Carbendazim concentrations (mg/l) <sup>1/</sup>					Phenotype-resistant level <sup>2/</sup>	
		0.1	1	10	100	500		1,000
Fruit								
3.	FL_F003	-	-	-	-	-	-	S
4.	FL_F066	++++	++++	++++	+++	+++	++	HR
<b>4. Kaew cultivar (K) = 8 isolates</b>								
Leaf								
1.	K_L053	-	-	-	-	-	-	S
2.	K_L120	-	-	-	-	-	-	S
3.	K_L124	-	-	-	-	-	-	S
Fruit								
4.	K_F069	++++	+++	+++	+++	++	++	HR
5.	K_F099	+++	+++	+++	+++	++	++	HR
6.	K_F100	+++	+++	++	++	++	++	HR
7.	K_F101	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
8.	K_F103	++++	+++	+++	++++	+++	+++	HR
<b>5. Khiamorakod cultivar (KMK) = 13 isolates</b>								
Leaf								
1.	KMK_L041	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
2.	KMK_L051	-	-	-	-	-	-	S
3.	KMK_L055	++++	+++	+++	+++	+++	+++	HR
4.	KMK_L058	++++	++++	+++	+++	+++	+++	HR
5.	KMK_L088	-	-	-	-	-	-	S
Fruit								
6.	KMK_F132	++++	++++	++++	+++	++	++	HR
7.	KMK_F133	++++	++++	++++	+++	++	++	HR
8.	KMK_F134	++++	++++	++++	+++	++	++	HR
9.	KMK_F135	++++	+++	++	++	++	++	HR
10.	KMK_F136	++++	+++	+++	++	++	+++	HR
11.	KMK_F137	++++	++++	+++	+++	++	+	HR
12.	KMK_F138	++++	++++	+++	++	++	++	HR
<b>6. Khiaosawoey cultivar (KSW) = 4 isolates</b>								
Leaf								
1.	KSW_L004	-	-	-	-	-	-	S
2.	KSW_L062	-	-	-	-	-	-	S
3.	KSW_L085	++	+	+	+	+	+	HR
4.	KSW_L119	+++	+++	+++	+++	+++	++	HR
<b>7. Lin Nguhao cultivar (LNH) = 1 isolate</b>								
Leaf								
1.	LNG_L031	-	-	-	-	-	-	S

Table 4 Continued

No.	Isolate code	Carbendazim concentrations (mg/l) <sup>1/</sup>					Phenotype-resistant level <sup>2/</sup>	
		0.1	1	10	100	500		1,000
<b>8. Mahacharnok cultivar (MCN) = 9 isolates</b>								
Leaf								
1.	MCN_L013	-	-	-	-	-	-	S
2.	MCN_L049	+++	-	-	-	-	-	S
3.	MCN_L052	++++	++++	++++	+++	+++	+++	HR
4.	MCN_L056	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
5.	MCN_L059	-	-	-	-	-	-	S
6.	MCN_L070	-	-	-	-	-	-	S
7.	MCN_L075	-	-	-	-	-	-	S
8.	MCN_L089	++++	-	-	-	-	-	S
9.	MCN_L121	-	-	-	-	-	-	S
<b>9. Mankhunsu cultivar (MKS) = 2 isolates</b>								
Leaf								
1.	MKS_L034	++++	++++	++++	++++	++++	++++	HR
2.	MKS_L086	-	-	-	-	-	-	S
<b>10. Namdokmai cultivar (NDM) = 59 isolates</b>								
Leaf								
1.	NDM_L057	-	-	-	-	-	-	S
2.	NDM_L067	-	-	-	-	-	-	S
3.	NDM_L068	-	-	-	-	-	-	S
4.	NDM_L071	-	-	-	-	-	-	S
5.	NDM_L078	+++	+++	+++	+++	+++	++	HR
6.	NDM_L096	-	-	-	-	-	-	S
Fruit								
7.	NDM_F001	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
8.	NDM_F002	++++	+++	+++	+++	++	++	HR
9.	NDM_F005	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
10.	NDM_F006	+	-	-	-	-	-	S
11.	NDM_F007	+++	+++	+++	++	++	++	HR
12.	NDM_F008	-	-	-	-	-	-	S
13.	NDM_F009	++++	++++	++++	++++	+++	++	HR
14.	NDM_F010	++++	+++	+++	++	++	++	HR
15.	NDM_F011	++++	+++	++	++	++	++	HR
16.	NDM_F012	++++	+++	+++	+++	++	++	HR
17.	NDM_F014	++	+	+	+	+	+	HR
18.	NDM_F015	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
19.	NDM_F016	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
20.	NDM_F018	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
21.	NDM_F019	-	-	-	-	-	-	S
22.	NDM_F020	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
23.	NDM_F021	+++	+++	+	+	+	+	HR

Table 4 Continued

No.	Isolate code	Carbendazim concentrations (mg/l) <sup>1/</sup>					Phenotype-resistant level <sup>2/</sup>	
		0.1	1	10	100	500		1,000
24.	NDM_F022	+++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
25.	NDM_F023	++++	++++	++++	+++	+++	+++	HR
26.	NDM_F024	++++	++++	++++	+++	+++	+++	HR
27.	NDM_F025	++++	-	-	-	-	-	S
28.	NDM_F026	++	++	+	+	+	+	HR
29.	NDM_F027	+++	+++	+++	+++	+++	+++	HR
30.	NDM_F028	++++	++	++	++	++	++	HR
31.	NDM_F029	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
32.	NDM_F035	++++	++++	++++	++++	+++	++	HR
33.	NDM_F036	++++	+++	+++	+++	+++	+++	HR
34.	NDM_F037	++++	++++	++++	++++	++++	++++	HR
35.	NDM_F038	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
36.	NDM_F039	++++	++	++++	+++	+++	+++	HR
37.	NDM_F042	++++	++++	+++	++++	+++	+++	HR
38.	NDM_F043	++++	++	++	+++	++	++	HR
39.	NDM_F045	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
40.	NDM_F046	+++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
41.	NDM_F050	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
42.	NDM_F061	+++	++++	++++	++++	++	++	HR
43.	NDM_F063	++++	+	+	+	-	-	MR
44.	NDM_F072	++++	++++	++++	++++	++++	++++	HR
45.	NDM_F104	++++	++++	+++	++++	+++	+++	HR
46.	NDM_F106	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
47.	NDM_F107	++++	++++	++++	++++	++++	+++	HR
48.	NDM_F108	-	-	-	-	-	-	S
49.	NDM_F109	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
50.	NDM_F110	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
51.	NDM_F112	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
52.	NDM_F115	++++	++++	++++	++++	+++	++	HR
53.	NDM_F116	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
54.	NDM_F117	++++	++++	++++	+++	+++	++	HR
55.	NDM_F118	-	-	-	-	-	-	S
56.	NDM_F127	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
57.	NDM_F128	++++	++++	++++	++++	+++	+++	HR
58.	NDM_F129	++++	+++	+++	+++	+++	++	HR
59.	NDM_F130	++++	++++	+++	++++	+++	+++	HR
<b>11. Naree Luemrang cultivar (NLR) = 2 isolates</b>								
Leaf								
1.	NLR_L047	++++	++++	+++	++++	+++	+++	HR
2.	NLR_L048	+	-	-	-	-	-	S

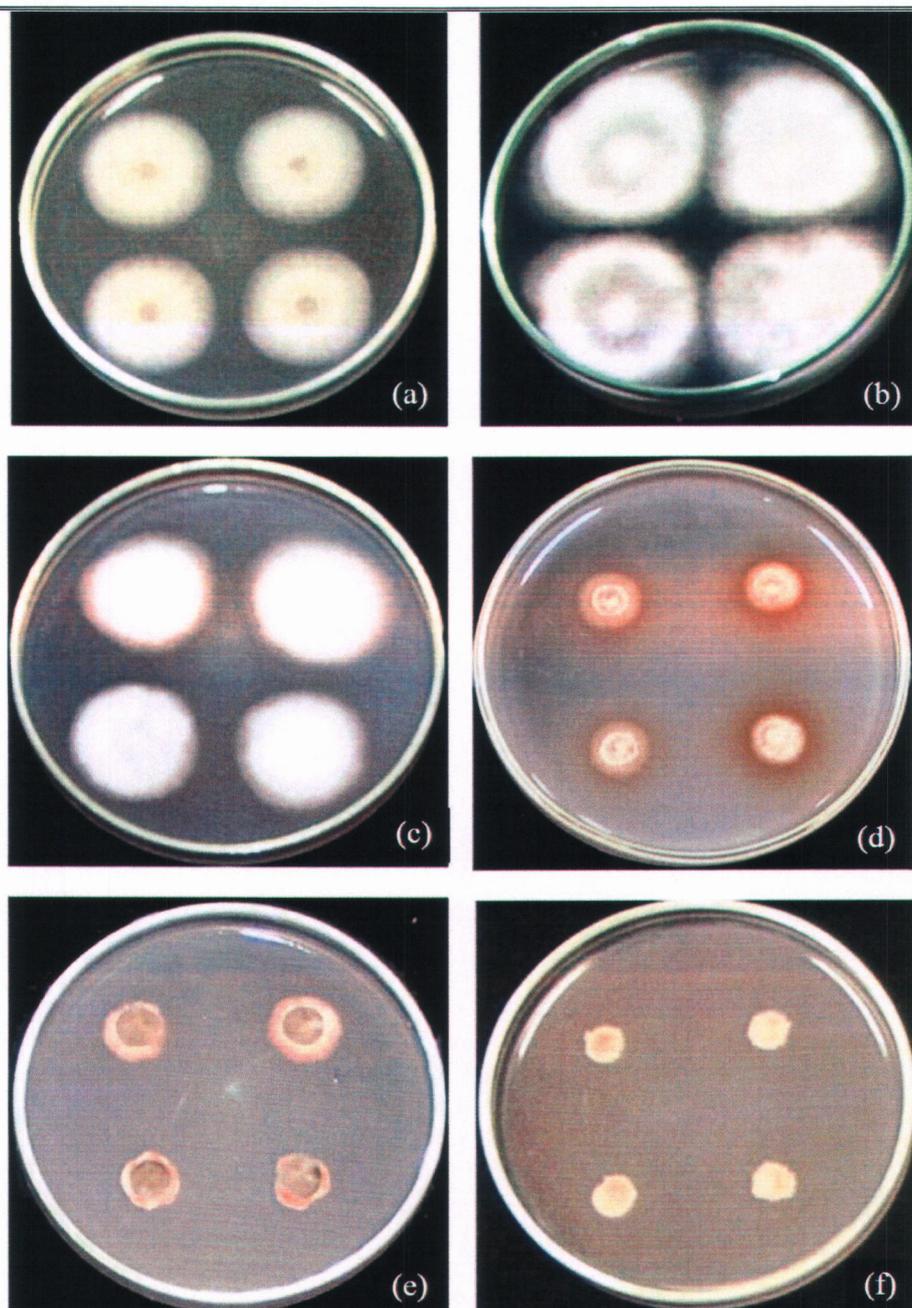


### 1.3 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S) และสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (HR)

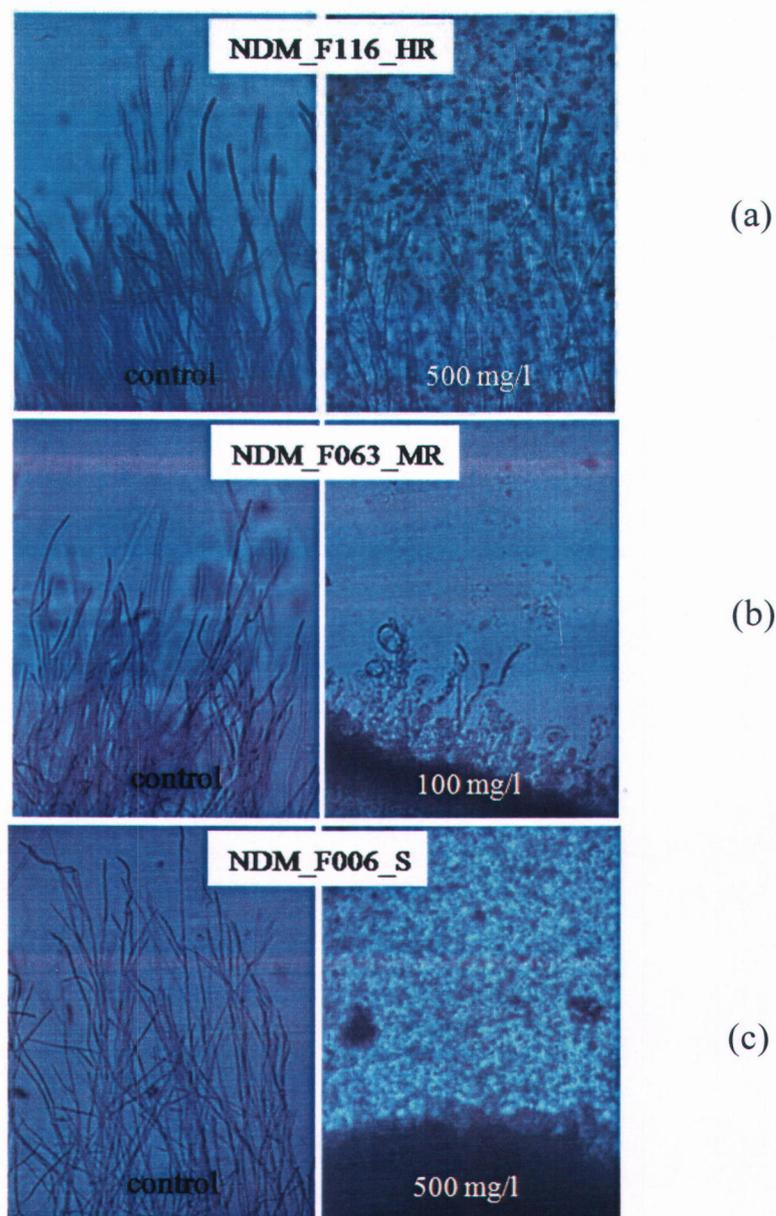
#### 1.3.1 ลักษณะโคโลนี และเส้นใยของเชื้อรา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยนำเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 20 ไอโซเลท ประกอบด้วยจากสายพันธุ์ปกติ (sensitive; S) จำนวน 10 ไอโซเลท และสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (highly resistant; HR) จำนวน 10 ไอโซเลท เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S) และสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (HR) พบว่าการเจริญของเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l โคโลนีของเชื้อราจะมีลักษณะกลม ขอบโคโลนีเรียบ เส้นใยเจริญฟู เส้นใยสีขาว ต่อมาจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเทาแกมเขียว หรือสีส้มอมเทา (Figure 9 a and 5 b) แต่ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l พบการเจริญของเชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (HR) เท่านั้น โดยโคโลนีของเชื้อราที่เจริญจะมีสองลักษณะคือ โคโลนีที่เจริญแบบปกติเช่นเดียวกับการเจริญที่ระดับความเข้มข้น 0 mg/l (Figure 9 c) และการเจริญแบบผิดปกติ คือเชื้อราบางไอโซเลทสร้าง pigment สีแดงม่วง ออกมาจากจุดเจริญก่อนที่เส้นใยจะเจริญออกมา (Figure 9 d) ในบางไอโซเลทเชื้อราที่เจริญแบบผิดปกติ โคโลนีจะมีขนาดเล็ก เจริญได้ช้า ขอบโคโลนีหยัก เส้นใยสานตัวกันแน่น เป็นกระจุกในบริเวณที่วางโคโลนีลงไปบนอาหาร (Figure 9 e and 9 f)

เมื่อตรวจสอบลักษณะเส้นใยของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ (S และ HR) ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA และ อาหาร PDA ที่ผสมคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 500 mg/l ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า โดยวิธี slide culture พบเส้นใยของเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มีลักษณะเส้นใยไม่แตกต่างกัน และเชื้อราสายพันธุ์ HR ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ผสมคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 500 mg/l มีลักษณะเส้นใยไม่แตกต่างกัน ส่วนเชื้อราสายพันธุ์ S ไม่พบการสร้างเส้นใยบนอาหาร PDA ที่ผสมคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 500 mg/l (Figure 10)



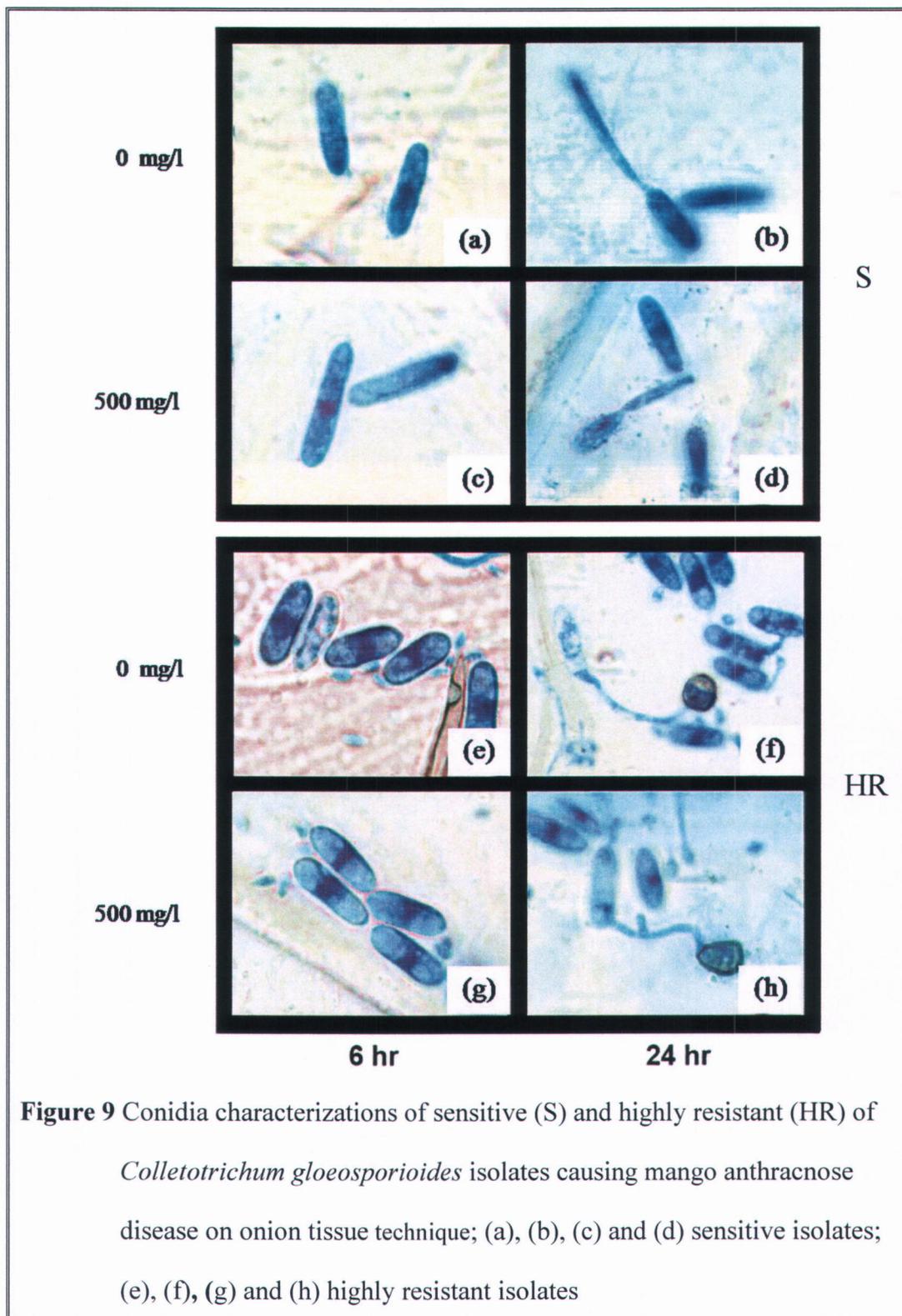
**Figure 9** Colony characterizations of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose disease on PDA for 3 days; (a) sensitive isolates, (b) highly resistant isolates, (c), (d), (e) and (f) highly resistant isolates on PDA amended with 500 mg/l carbendazim.



**Figure 10** Comparison the mycelial characterization of carbendazim-resistant *Colletotrichum* spp. on slide culture (200X); (left column) on only potato dextrose agar as control, (right column) on PDA amended with carbendazim; (a) highly resistant on 500 mg/l, (b) moderately resistant on 100 mg/l and (c) sensitive on 500 mg/l.

### 1.3.2 ลักษณะ conidium และการงอก germ tube บนเยื่อหอม

จากการทดสอบการงอกของ conidium เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากมะม่วงบนเยื่อหอมลอยอยู่บนน้ำกลั่น และบนสารละลายสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ความเข้มข้น 500 mg/l พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S) และสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (HR) เริ่มสร้าง germ tube หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (Figure 11, 12 and 13; Table 5) นอกจากนี้ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l เชื้อราสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสายกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม (HR) สร้าง germ tube ได้เร็วและยาวกว่าสายพันธุ์สายพันธุ์ปกติ (S) โดยในชั่วโมงที่ 24 หลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์มีอัตราการงอกสูงสุด และมีความยาวของ germ tube ใกล้เคียงกัน (Figure 11, 12 and 13; Table 5 and 6)



**Table 5** Germ tube germination of sensitive (S) and highly resistant (HR) *Colletotrichum gloeosporioides* isolates with 0 and 500 mg/l carbendazim on onion tissue technique.

Resistant level <sup>2/</sup>	Concentration of carbendazim (mg/l)	Germination of conidia <sup>1/</sup> (%)			
		Time (hour)			
		6	9	12	24
S	0	5.0	20.0	47.5	55.0
	500	2.5	17.5	30.0	32.5
HR	0	2.5	5.0	27.5	70.0
	500	2.5	7.5	10.0	37.5

<sup>1/</sup> Three replications (100 conidia/replication),

<sup>2/</sup> Resistant response: HR = highly resistant ( $\geq 500$  mg/l), S = sensitive ( $\leq 1$  mg/l), respectively.

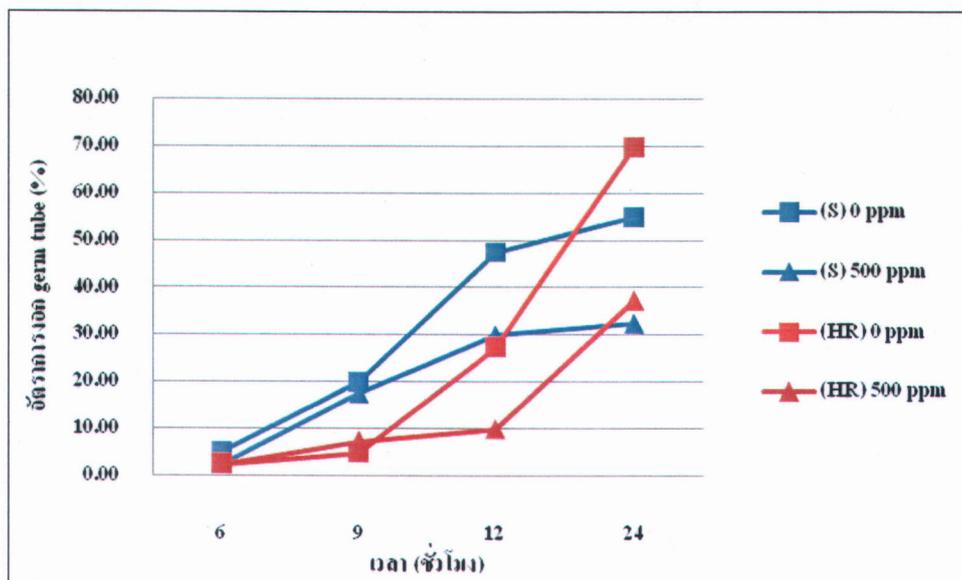
**Table 6** Germ tube length of sensitive (S) and highly resistant (HR)

*Colletotrichum gloeosporioides* isolates with 0 and 500 mg/l carbendazim on onion tissue technique.

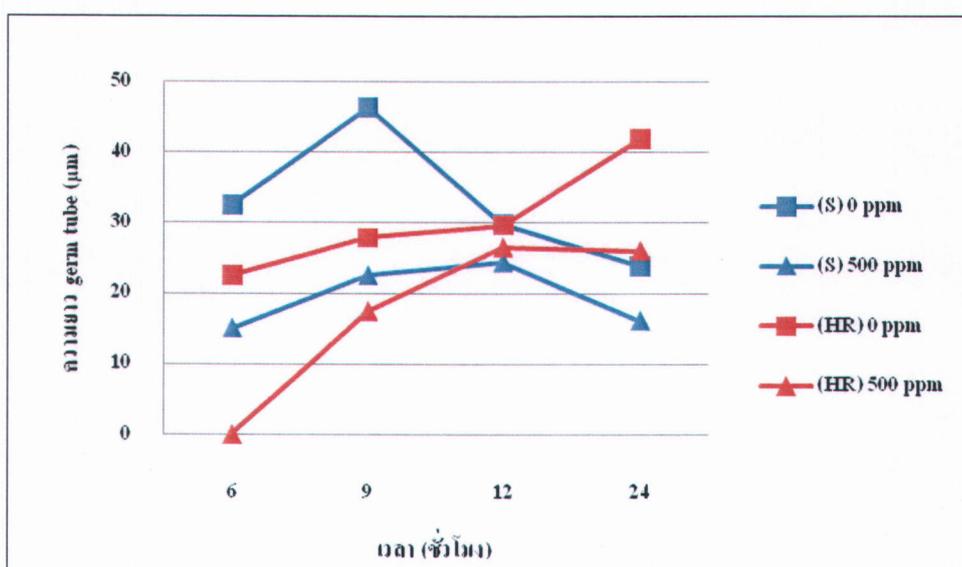
Resistant level <sup>1/</sup>	Concentration of carbendazim (mg/l)	Length of germ tube <sup>1/</sup> ( $\mu\text{m}$ )			
		Time (hour)			
		6	9	12	24
S	0	32.50	46.25	29.77	23.75
	500	15.00	22.50	24.38	16.07
HR	0	22.50	27.92	29.69	41.98
	500	0.00	17.50	26.56	26.04

<sup>1/</sup> Three replications (20 conidia/replication),

<sup>2/</sup> Resistant response: HR = highly resistant ( $\geq 500$  mg/l), S = sensitive ( $\leq 1$  mg/l), respectively.



**Figure 10** Germ tube germination of sensitive (S) and highly resistant (HR) *Colletotrichum gloeosporioides* isolates with 0 and 500 mg/l carbendazim on onion tissue technique for 6, 9, 12, and 24 hr.



**Figure 11** Germ tube length of sensitive (S) and highly resistant (HR) *Colletotrichum gloeosporioides* isolates with 0 and 500 mg/l carbendazim on onion tissue technique for 6, 9, 12, and 24 hr.

#### 1.4 วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

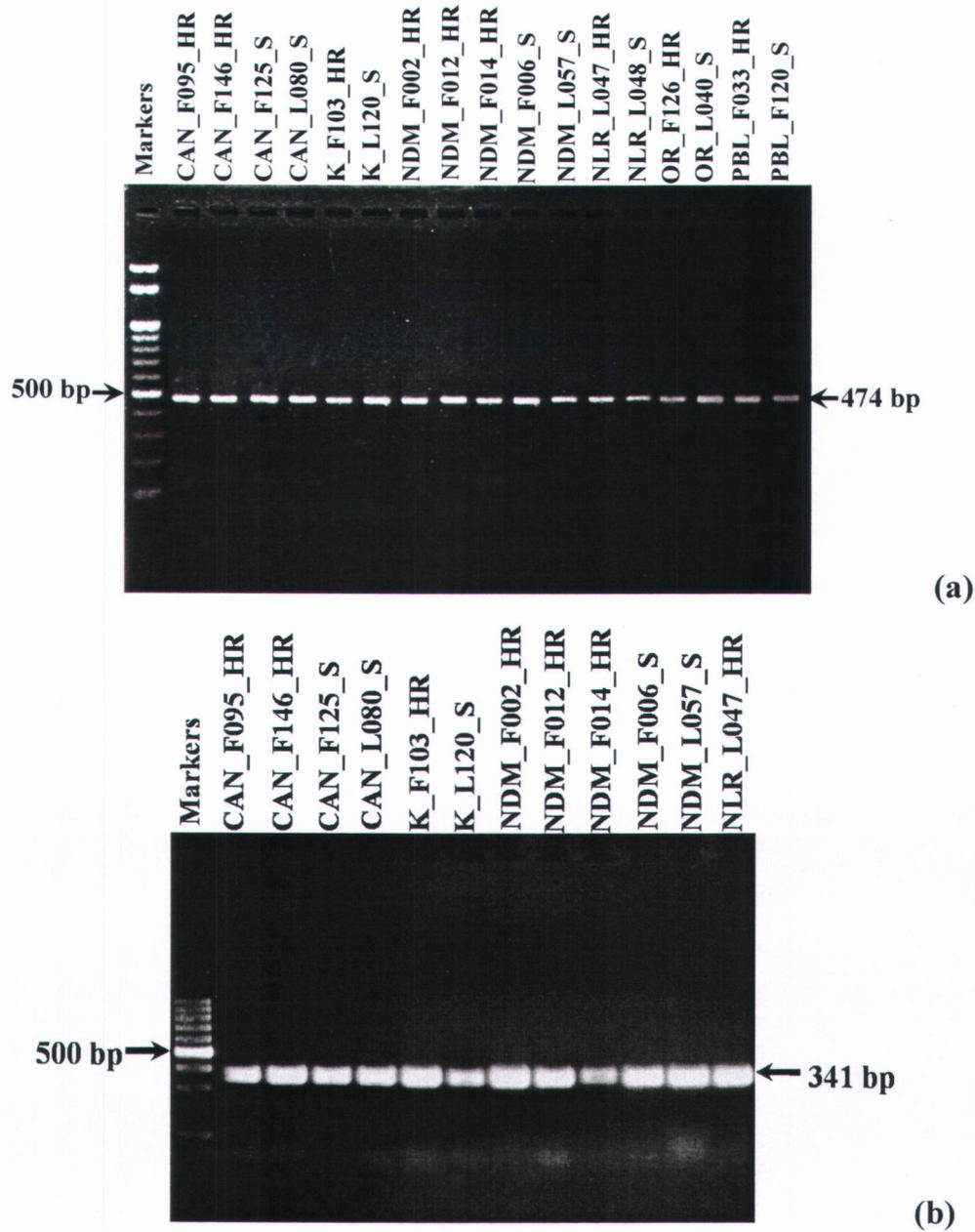
สกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยของตัวแทนเชื้อราดังกล่าวข้างต้น (ข้อ 1.3) ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป NuclioSpin Plant Kit (MACHREY-NAGEY<sup>®</sup>) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตรงตำแหน่งบางส่วนของยีน  $\beta$ -tubulin (*TUB2*) ด้วยปฏิกิริยา nested-PCR โดยรอบแรกใช้ไพรเมอร์ TUB2L (5' GTT TCC AGA TCA CCC ACT CC 3') และไพรเมอร์ TUB2R (5' TGA GCT CAG GAA CAC TGA CG 3') ส่วนการทำ PCR รอบที่สองใช้ไพรเมอร์ CTB2L (5' TCC AAG ATC CGT GAG G 3') และ CTB2R (5' AAG AAG TGG ACG GG 3') ซึ่งปฏิกิริยา nested-PCR จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบางส่วนตรงตำแหน่งยีน  $\beta$ -tubulin (*TUB2*) โดยมีส่วนประกอบของสารละลายปริมาตรรวม 50  $\mu$ l ดังนี้

ส่วนประกอบ	ปริมาตร( $\mu$ l)	ความเข้มข้นสุดท้าย
น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ	34.75	-
10X PCR buffer	5	1X
25 mM MgCl <sub>2</sub>	3	0.5 mM
dNTP mixture (2.5 mM each)	4	0.2 mM
Primer (50 $\mu$ M)	1	1 $\mu$ M
Primer (50 $\mu$ M)	1	1 $\mu$ M
genomic DNA	1	25-100
Taq DNA polymerase (5 Unit/ $\mu$ l)	0.25	0.025 Unit

นำส่วนผสมดังกล่าวเข้าเครื่อง Programmable thermal controller, PTC-100<sup>TM</sup> (MJ Research, INC.) โดยกำหนดลำดับการทำปฏิกิริยาดังนี้

initial denaturation	ที่อุณหภูมิ 95 <sup>o</sup> C	เป็นเวลา 5 นาที	} 30 รอบ
denaturation	ที่อุณหภูมิ 95 <sup>o</sup> C	เป็นเวลา 1 นาที	
annealing	ที่อุณหภูมิ 35 <sup>o</sup> C	เป็นเวลา 1 นาที	
extension	ที่อุณหภูมิ 72 <sup>o</sup> C	เป็นเวลา 1 นาที	
final extension	ที่อุณหภูมิ 72 <sup>o</sup> C	เป็นเวลา 5 นาที	1 รอบ

นำผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ที่ได้ตรวจสอบโดยวิธีการ gel electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 0.5X TBE buffer ย้อมด้วยเอทิดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต และบันทึกภาพด้วยเครื่อง gel documentation (SYNGRNE; Gene Genius Bio Imaging System) พบว่าจากการทำ PCR ครั้งแรก และครั้งที่สอง ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 474 bp และ 341 bp ตามลำดับ (Figure 12)



**Figure 12** PCR amplification of the partial region of  $\beta$ -tubulin (*TUB2*) gene from various isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose; (a) primary PCR products using TB2L and TB2R primers and (b) the 2<sup>nd</sup> PCR products using CTB2F and CTB2R primers. Markers are 100 bp Ladder. Arrows on the right side mark group-specific band in both panels.

นำผลผลิตของ PCR ข้างต้น ที่มีระดับความเข้มข้นประมาณ 100 ng/μl โดยใช้ความเข้มข้นของ primer อย่างละ 3.2 pmole/μl ร่วมกับ ABI Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ ศึกษาเปรียบเทียบความเหมือนกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน  $\beta$ -tubulin (*TUB2*) ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschyromene* (accession number; U14138) ที่รายงานไว้ในฐานข้อมูล GenBank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI), USA ด้วยโปรแกรม BLAST โดยเข้าที่ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> จากนั้นแปลลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าวด้วยโปรแกรม BioEdit และเปรียบเทียบความเหมือนกับลำดับกรดอะมิโนของยีน  $\beta$ -tubulin (*TUB2*) (U14138) และจัดเรียงข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโน ทุกตัวอย่างด้วยโปรแกรม BioEdit และ ClustalX ซ้ำอีกครั้ง พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ในเชื้อรากลุ่มอ่อนแอ (S), เชื้อราต้านทานระดับปานกลาง (MR) และเชื้อรา กลุ่มต้านทานระดับสูง (HR) ทั้งแบบลำดับนิวคลีโอไทด์เปลี่ยนแปลงแต่ไม่ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลง (silent mutation) และแบบลำดับนิวคลีโอไทด์เปลี่ยนแปลงทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลง (missense mutation) โดยการเกิดแบบ silent mutation ปรากฏที่ตำแหน่ง codon 155, 178, 195, 217, 245, และ 263 และการเปลี่ยนแปลงแบบ missense mutation ปรากฏที่ตำแหน่ง codon 156, 176, 194, 198 และ 200 แต่พบว่าเฉพาะตัวอย่างเชื้อรา กลุ่มต้านทานระดับสูง (HR) ทุกไอโซเลทที่มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง codon 198 คือ glutamic acid (GAG) ถูกแทนที่ด้วย alanine (GCG) ตรงลำดับนิวคลีโอไทด์ ตำแหน่ง 1,286 มีการเปลี่ยนจาก adenine (A) เป็น cytosine (C) ซึ่งเป็นบริเวณ target site หรือ hot spot ของความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่ม benzimidazole การเปลี่ยนแปลงจุดกลายพันธุ์ (point mutation) ที่ปรากฏ ณ ตำแหน่งนี้ อาจเป็นตัวบ่งชี้ว่า จะต้องใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมให้มีประสิทธิภาพอย่างระมัดระวัง เพื่อป้องกันเชื้อราเกิดการต้านทานต่อสารเคมีดังกล่าวที่อาจจะเกิดขึ้น ส่วนเชื้อราที่แสดง ลักษณะความต้านทานระดับปานกลาง (MR) ซึ่งมีเพียงหนึ่งตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ พบ ตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่แตกต่างจากเชื้อราในกลุ่ม HR และ S ปรากฏที่ ตำแหน่ง codon 200 คือ phenylalanine (TTC) ถูกแทนที่ด้วย tyrosine (TAC) ตรงลำดับ นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 1,292 มีการเปลี่ยนจาก thymine (T) เป็น adenine (A) (Figure 13, 14; Table 7)

Isolate code	Phenotype	Sequence
U14138 <sup>1/</sup>	Wild type	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
1.CKT_L044	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
2.CAN_F095	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
3.CAN_F125	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
4.CAN_F146	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
5.CAN_L080	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
6.CAN_L105	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I H E E F P D R M M A T F S V V P S
7.FL_F003	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
8.FL_F066	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
9.FL_L079	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I H E E F P D R M M A T F S V V P S
10.K_F103	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
11.K_L120	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
12.KMK_F135	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I H E E F P D R M M A T F S V V P S
13.KMK_L058	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I H E E F P D R M M A T F S V V P S
14.KMK_L088	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
15.KSW_L062	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I H E E F P D R M M A T F S V V P S
16.KSW_L085	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
17.LNG_L031	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
18.MCN_L056	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
19.MCN_L059	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
20.MCN_L070	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
21.MCN_L121	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
22.MKS_L086	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
23.NDM_F002	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
24.NDM_F006	S	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
25.NDM_F012	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
26.NDM_F014	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
27.NDM_F018	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
28.NDM_F026	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S
29.NDM_F027	HR	TCCAAGATCCGTGAGGAGTCCCCGACCGCATGATGGCCACCTTCTCCGTCGTTCCCTCC S K I R E E F P D R M M A T F S V V P S

**Figure 13** Comparison of deduced nucleotide and amino acids sequences of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* the *TUB2* gene (<sup>1/</sup>accession no. U14138) (Buhr and Dickman, 1994) at the target sites of benzimidazole (Peres *et al.* 2004.) between carbendazim-resistant phenotype of *C. gloeosporioides* isolates causing anthracnose disease from various mango cultivars.



Isolate code	Phenotype	
U14138 <sup>1/</sup>	Wild type	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
1.CKT_L044	HR	CCCAAGGTCTACGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
2.CAN_F095	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
3.CAN_F125	S	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
4.CAN_F146	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
5.CAN_L080	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
6.CAN_L105	S	CCCAAGGTCTACGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
7.FL_F003	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
8.FL_F066	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
9.FL_L079	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
10.K_F103	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
11.K_L120	S	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
12.KMK_F135	HR	CCCAAGGTCTACGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
13.KMK_L058	HR	CCCAAGGTCTACGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
14.KMK_L088	S	CCCAAGGTCTACGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
15.KSW_L062	S	CCCAAGGTCTACGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
16.KSW_L085	HR	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
17.LNG_L031	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
18.MCN_L056	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
19.MCN_L059	S	CCCAAGGTCTACGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
20.MCN_L070	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
21.MCN_L121	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
22.MKS_L086	S	CCCAAGGTCTCCGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
23.NDM_F002	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
24.NDM_F006	S	CCCAAGGTCTACGACACCGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
25.NDM_F012	HR	CCCAAGGTCTACGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L
26.NDM_F014	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
27.NDM_F018	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
28.NDM_F026	HR	CCCAAGGTCTCCGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V S D T V V E P Y N A T L S V H Q L
29.NDM_F027	HR	CCCAAGGTCTACGACACTGTTGTGTCGAGCCCTACAACGCCACTCTCTCCGTCCACCAGCTG P K V Y D T V V E P Y N A T L S V H Q L

Figure 13 Continued.



Isolate code	Phenotype	Target site ↓
U14138 <sup>1/</sup>	Wild type	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
1.CKT_L044	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
2.CAN_F095	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
3.CAN_F125	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
4.CAN_F146	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
5.CAN_L080	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
6.CAN_L105	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
7.FL_F003	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
8.FL_F066	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
9.FL_L079	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
10.K_F103	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
11.K_L120	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
12.KMK_F135	HR	GTCAAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V K N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
13.KMK_L058	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
14.KMK_L088	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
15.KSW_L062	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
16.KSW_L085	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
17.LNG_L031	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
18.MCN_L056	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
19.MCN_L059	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
20.MCN_L070	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
21.MCN_L121	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
22.MKS_L086	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
23.NDM_F002	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
24.NDM_F006	S	GTCGAGAACTCCGACGAGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D E T F C I D N E A L Y D I C M
25.NDM_F012	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
26.NDM_F014	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
27.NDM_F018	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
28.NDM_F026	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M
29.NDM_F027	HR	GTCGAGAACTCCGACGCGACCTTCTGCATTGACAACGAGGCTCTCTACGACATTTGCATG V E N S D A T F C I D N E A L Y D I C M

Figure 13 Continued.



Isolate code	Phenotype	
U14138 <sup>1/</sup>	Wild type	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
1. CKT_L044	HR	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
2. CAN_F095	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
3. CAN_F125	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
4. CAN_F146	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
5. CAN_L080	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
6. CAN_L105	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
7. FL_F003	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
8. FL_F066	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
9. FL_L079	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
10. K_F103	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
11. K_L120	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
12. KMK_F135	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
13. KMK_L058	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
14. KMK_L088	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
15. KSW_L062	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
16. KSW_L085	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
17. LNG_L031	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
18. MCN_L056	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
19. MCN_L059	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
20. MCN_L070	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
21. MCN_L121	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
22. MKS_L086	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
23. NDM_F002	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
24. NDM_F006	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
25. NDM_F012	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
26. NDM_F014	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
27. NDM_F018	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
28. NDM_F026	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
29. NDM_F027	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGCTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V

Figure 13 Continued.

Isolate code	Phenotype	
30.NDM_F038	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
31.NDM_F061	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
32.NDM_F063	MR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
33.NDM_F106	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
34.NDM_F110	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
35.NDM_F116	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
36.NDM_F118	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
37.NDM_F130	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
38.NDM_L057	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
39.NDM_L067	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
40.NDM_L068	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
41.NDM_L071	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
42.NDM_L078	HR	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
43.NDM_L096	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
44.NLR_L047	HR	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
45.NLR_L048	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
46. OR_F126	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
47. OR_L040	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
48.PBL_F033	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
49.PBL_F076	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
50.PBL_F102	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
51.PBL_F131	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
52. PS_F114	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
53. PS_L032	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
54. PS_L082	HR	CGTACCCTCAAGCTCTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
55. R_L087	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
56.SLY_L017	S	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
57.TLN_L060	S	CGTACCCTCAAGCTGTCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
58.TLN_L065	HR	CGTACCCTCAAGCTATCCAACCCCTCTTACGGCGACCTGAACCACCTGGTCTCTGTGTT R T L K L S N P S Y G D L N H L V S A V
		Nucleotides -----*-----
		Amino acids - - - - -

240

80

Figure 13 Continued.

Isolate code	Phenotype	
U14138 <sup>1/</sup>	Wild type	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
1.CKT_L044	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
2.CAN_F095	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
3.CAN_F125	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
4.CAN_F146	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
5.CAN_L080	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
6.CAN_L105	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
7. FL_F003	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
8. FL_F066	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
9. FL_L079	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
10. K_F103	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
11. K_L120	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
12.KMK_F135	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
13.KMK_L058	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
14.KMK_L088	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
15.KSW_L062	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
16.KSW_L085	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
17.LNG_L031	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
18.MCN_L056	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
19.MCN_L059	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
20.MCN_L070	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
21.MCN_L121	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
22.MKS_L086	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
23.NDM_F002	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
24.NDM_F006	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAGCTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
25.NDM_F012	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
26.NDM_F014	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
27.NDM_F018	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
28.NDM_F026	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K
29.NDM_F027	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K

Figure 13 Continued.

Isolate code	Phenotype		
30.NDM_F038	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
31.NDM_F061	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
32.NDM_F063	MR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
33.NDM_F106	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
34.NDM_F110	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
35.NDM_F116	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
36.NDM_F118	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
37.NDM_F130	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
38.NDM_L057	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
39.NDM_L067	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
40.NDM_L068	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
41.NDM_L071	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
42.NDM_L078	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
43.NDM_L096	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
44.NLR_L047	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
45.NLR_L048	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
46. OR_F126	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
47. OR_L040	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
48.PBL_F033	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
49.PBL_F076	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
50.PBL_F102	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
51.PBL_F131	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
52. PS_F114	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
53. PS_L032	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
54. PS_L082	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
55. R_L087	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
56.SLY_L017	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
57.TLN_L060	S	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
58.TLN_L065	HR	ATGTCCGGTGTCACTACCTGCCTGCGTTTTCCCGGGTCAACTGAACTCTGACCTGCGCAAG	
		M S G V T T C L R F P G Q L N S D L R K	
	Nucleotides	-----*	300
	Amino acids	- - - - -	100

Figure 13 Continued.

Isolate code	Phenotype	
U14138 <sup>1</sup>	Wild type	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
1.CKT_L044	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
2.CAN_F095	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
3.CAN_F125	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
4.CAN_F146	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
5.CAN_L080	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
6.CAN_L105	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
7. FL_F003	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
8. FL_F066	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
9. FL_L079	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
10. K_F103	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
11. K_L120	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
12.KMK_F135	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
13.KMK_L058	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
14.KMK_L088	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
15.KSW_L062	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
16.KSW_L085	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
17.LNG_L031	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
18.MCN_L056	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
19.MCN_L059	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
20.MCN_L070	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
21.MCN_L121	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
22.MKS_L086	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
23.NDM_F002	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
24.NDM_F006	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
25.NDM_F012	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
26.NDM_F014	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
27.NDM_F018	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
28.NDM_F026	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F
29.NDM_F027	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTCCACTTCTT L A V N M V P F P R L H F

Figure 13 Continued.

Isolate code	Phenotype		
30.NDM_F038	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
31.NDM_F061	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
32.NDM_F063	MR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
33.NDM_F106	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
34.NDM_F110	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
35.NDM_F116	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
36.NDM_F118	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
37.NDM_F130	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
38.NDM_L057	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
39.NDM_L067	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
40.NDM_L068	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
41.NDM_L071	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
42.NDM_L078	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
43.NDM_L096	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
44.NLR_L047	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
45.NLR_L048	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
46. OR_F126	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
47. OR_L040	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
48.PBL_F033	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
49.PBL_F076	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
50.PBL_F102	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
51.PBL_F131	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
52. PS_F114	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
53. PS_L032	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
54. PS_L082	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
55. R_L087	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
56.SLY_L017	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
57.TLN_L060	S	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
58.TLN_L065	HR	CTGGCTGTCAACATGGTTCCTTTCCCCCGTCTTCACTTCTT	
		L A V N M V P F P R L H F	
	Nucleotides	-----*	341
	Amino acids	- - - - -	113

Figure 13 Continued.



**Table 7** Result nucleotide and amino acid substitution in  $\beta$ -tubulin at codon 198 and 200 can change the resistibility to carbendazim.

Phenotype	Genotype			
	Codon 198		Codon 200	
	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid
<b>Wild type</b> (U14138*)	(G <u>A</u> G) Adenine	Glu (E) Glutamine acid	(T <u>T</u> C) Thymine	Phe (F) Phenylalanine
<b>Sensitive (S)</b> (27 isolates)	(G <u>A</u> G) Adenine	Glu (E) Glutamine acid	(T <u>T</u> C) Thymine	Phe (F) Phenylalanine
<b>Moderately resistant (MR)</b> (1 isolate)	(G <u>A</u> G) Adenine	Glu (E) Glutamine acid	(T <u>A</u> C) Adenine	<b>Tyr (Y)</b> <b>Tyrosine</b>
<b>Highly resistant (HR)</b> (30 isolates)	(G <u>C</u> G) Cytosine	<b>Ala (A)</b> <b>Alanine</b>	(T <u>T</u> C) Thymine	Phe (F) Phenylalanine

**การทดลองที่ 2 : ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ที่ทนทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม**

**2.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย**

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ 2 ชนิด ได้แก่ น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส และน้ำส้มควันไม้สะเดา โดยผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 1, 1.5 และ 2% (v/v) ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อสายพันธุ์ปกติ (S53), เชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (MR63) และเชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR12) พบว่าน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดา เนื่องจากที่ความเข้มข้น 1.5 และ 2% (v/v) น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสยับยั้งการเจริญเส้นใยได้ในช่วง 81.33 - 100% และ 100% ตามลำดับ ในขณะที่น้ำส้มควันไม้สะเดา ยับยั้งการเจริญเส้นใยได้ในช่วง 51.47 - 100% และ 100% ตามลำดับ ซึ่งน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5% ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อสายพันธุ์ S และ MR ได้ 100% และน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 1.5 และ 2% ยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ HR ได้ 81.33 และ 100% ตามลำดับ (Table 8) ให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ วรชมน (2549) วิไลลักษณ์ (2549) และจุฑารัตน์ (2550) ได้ศึกษาว่าน้ำส้มควันไม้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้ม กล้วย พุทรา และพริกได้ ตามลำดับ และเมื่อศึกษาลักษณะโคโลนีเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ และเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยของเชื้อราทุกไอโซเลทมีลักษณะไม่แตกต่างกันจากชุดควบคุม ซึ่งจากผลการทดลองที่น้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทุกไอโซเลทนั้น แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มควันไม้ได้มาจากไม้ต่างชนิดกัน จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้แตกต่างกันด้วย

**Table 8** Efficiency of vinegar extracts for controlling mycelium growth of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose on PDA for 7 days

Kind of vinegar wood	Concentration		pH	Percentage of growth inhibition <sup>1/</sup>		
	%	µg/ml		S53 <sup>2/</sup>	MR63	HR12
Eucalyptus	0.5%	5,000	4.09	27.94 <sup>c3/</sup>	45.02 <sup>c</sup>	25.18 <sup>f</sup>
	1%	10,000	4.24	39.71 <sup>b</sup>	63.49 <sup>b</sup>	36.20 <sup>e</sup>
	1.5%	15,000	4.19	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	81.33 <sup>b</sup>
	2%	20,000	4.14	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Neem	0.5%	5,000	4.10	8.77 <sup>d</sup>	22.03 <sup>d</sup>	10.29 <sup>g</sup>
	1%	10,000	3.92	29.82 <sup>c</sup>	43.22 <sup>c</sup>	34.56 <sup>e</sup>
	1.5%	15,000	3.85	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	51.47 <sup>d</sup>
	2%	20,000	3.81	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	67.65 <sup>c</sup>
%CV				3.52	3.79	3.85
LSD <sub>0.05</sub>				3.83	4.70	3.39

<sup>1/</sup>Average from 3 replications

<sup>2/</sup>Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to CRD

<sup>3/</sup>S: sensitive, MR: moderately resistant and HR: highly resistant

## 2.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์

ศึกษาลักษณะโคโคนิเดียจาก slide culture เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบเชื้อราทุกไอโซเลทมีลักษณะโคโคนิเดียไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และจากการตรวจสอบการงอกของ germ tube ของเชื้อรา หลังจาก 24 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าน้ำส้มควันไม้จากยูคาลิปตัสมีประสิทธิภายยับยั้งการงอกของโคโคนิเดียเชื้อราดีกว่าน้ำส้มควันไม้สะเดา ซึ่งน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัสที่ 0.5% (v/v) ยับยั้งการงอกโคโคนิเดียได้ในช่วง 75.33 - 86.67% ในขณะที่น้ำส้มควันไม้สะเดา 0.5% (v/v) ยับยั้งการงอกของโคโคนิเดียได้ในช่วง 69.33 - 80.00% และน้ำส้มควันไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1% (v/v) ขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของโคโคนิเดียได้ 100% ส่วนที่ความเข้มข้น 0.5% (v/v) ยับยั้งการงอกของโคโคนิเดียได้มากกว่า 75% ทั้งหมด (Table 9) แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มควันไม้ไม่ได้มีผลทำให้เชื้อรามีรูปร่างลักษณะเปลี่ยนไป เพียงแต่มีผลทำให้เชื้อราเกิดการเจริญที่ช้าลง และยับยั้งการงอกของโคโคนิเดีย รวมถึง appressorium เท่านั้น

**Table 9** Efficiency of vinegar extracts for controlling conidial growth of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose on PDA for 24 hours

Kind of wood	Concentration		pH	Percentage of conidia growth inhibition <sup>1/</sup>		
	%	ppm		S53 <sup>2/</sup>	MR63	HR12
Eucalyptus	0%	10,000	5.15	0 <sup>d3/</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>
	0.5%	30,000	4.09	75.33 <sup>b</sup>	81.33 <sup>b</sup>	86.67 <sup>c</sup>
	1%	50,000	4.24	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
	1.5%	70,000	4.19	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
	2%	90,000	4.14	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Neem	0%	10,000	5.15	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>
	0.5%	30,000	4.1	69.33 <sup>c</sup>	78.67 <sup>c</sup>	80.00 <sup>b</sup>
	1%	50,000	3.92	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
	1.5%	70,000	3.85	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
	2%	90,000	3.81	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
%CV				1.55	0.75	0.47
LSD <sub>0.05</sub>				1.97	0.98	0.59

<sup>1/</sup>Average from 3 replications

<sup>2/</sup>Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to CRD

<sup>3/</sup>S: sensitive, MR: moderately resistant and HR: highly resistant

### 2.3 ประสิทธิภาพของน้ำส้มควันไม้ในการควบคุมโรคแอนแทรกซ์บนผลมะม่วง

จากการทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรกซ์บนผลมะม่วงภายหลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ระยะเวลา 16 วัน พบว่าการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 1% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคบนผลได้ในช่วง 55.17 - 100% โดยยับยั้งเชื้อราสายพันธุ์ปกติ (S53) และเชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับปานกลาง (MR63) ได้ 100% ส่วนในกรณีเชื้อสายพันธุ์ต้านทานสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิมระดับสูง (HR12) ยับยั้งการเกิดโรคได้ 55.17% ส่วนการแช่มะม่วงในน้ำส้มควันไม้ยูคาลิปตัส 1% (v/v) เป็นเวลา 3 และ 5 นาที มีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดโรคได้ในช่วง 35.86 - 55.78% และ 46.21 - 100% ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการ

แช่น้ำส้มคว้นไ้มยูคาลิปตัส 2% (v/v) เป็นเวลา 1 นาที และ 3% เป็นเวลา 5 นาที มีประสิทธิภาพในการเกิดโรคจากเชื้อสายพันธุ์ปกติ (S53) ได้ 100% (Table 10)

สำหรับการศึกษาถึงคุณภาพของมะม่วงภายหลังการแช่น้ำส้มคว้นไ้มยูคาลิปตัส พบว่ามะม่วงที่แช่น้ำส้มคว้นไ้มแสดงอาการของโรคเพียงเล็กน้อย จนถึงไม่แสดงอาการ บริเวณขั้วผลมีเส้นใยเชื้อราสีขาวฟูเจริญบริเวณขั้วผลเล็กน้อย ไม่ลุกลามบริเวณผล สีเปลือกไม่แตกต่างจากมะม่วงก่อนนำมาแช่น้ำส้มคว้นไ้ม นอกจากนี้มะม่วงมีรสชาติไม่เปลี่ยนแปลง (Figure 15) ในขณะที่ชุดควบคุมคือ มะม่วงที่ไม่แช่น้ำส้มคว้นไ้มและไม่ปลูกเชื้อ แสดงอาการของโรคทั่วทั้งผล (100%) การแช่มะม่วงในน้ำส้มคว้นไ้มที่ความเข้มข้นมาก รวมถึงระยะเวลาที่นาน ทำให้ผิวมะม่วงช้ำ แล้วเชื้อสาเหตุเข้าทำลายได้มากขึ้น จึงแสดงอาการของโรคและสีเปลือกเปลี่ยนแปลงไป

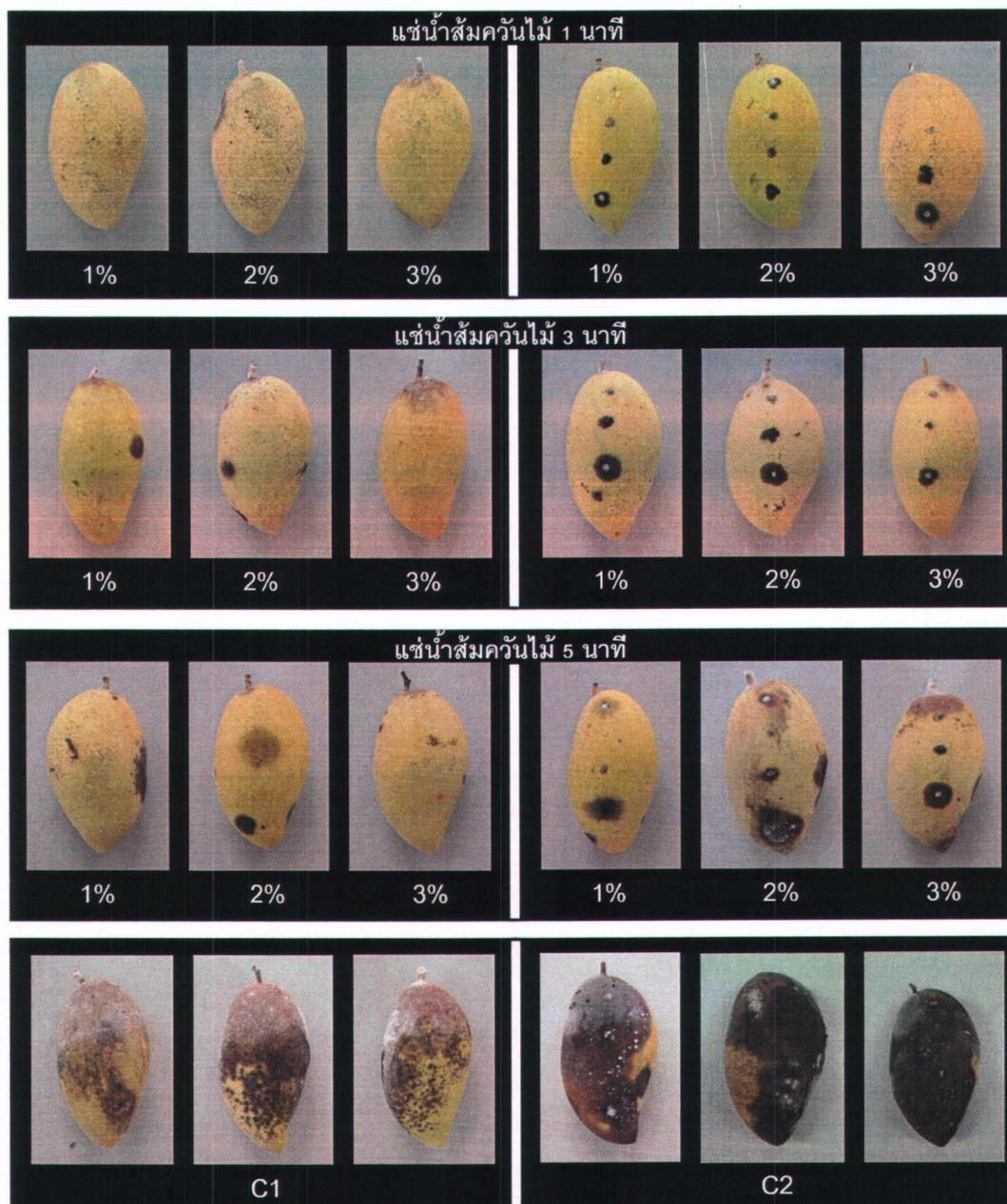
**Table 10** Efficiency of vinegar extracts from eucalyptus trees for controlling mango cv. 'Nam Dok Mai' causing anthracnose for 16 days

Concentration	Period	Percentage of growth inhibition <sup>1/</sup>		
		S53 <sup>2/</sup>	MR63	HR12
1%	1 min	100 <sup>a3/</sup>	100 <sup>a</sup>	55.17 <sup>a</sup>
	3 min	55.78 <sup>b</sup>	45.65 <sup>e</sup>	35.86 <sup>h</sup>
	5 min	100 <sup>a</sup>	42.03 <sup>f</sup>	49.66 <sup>b</sup>
2%	1 min	100 <sup>a</sup>	49.27 <sup>d</sup>	48.28 <sup>c</sup>
	3 min	55.78 <sup>b</sup>	49.27 <sup>d</sup>	46.21 <sup>d</sup>
	5 min	55.78 <sup>b</sup>	45.65 <sup>e</sup>	55.17 <sup>a</sup>
3%	1 min	55.78 <sup>b</sup>	51.45 <sup>bc</sup>	41.38 <sup>f</sup>
	3 min	55.78 <sup>b</sup>	52.90 <sup>b</sup>	44.83 <sup>e</sup>
	5 min	100 <sup>a</sup>	50.72 <sup>cd</sup>	40.00 <sup>g</sup>
%CV		1.07	2.31	1.54
LSD <sub>0.05</sub>		1.38	2.14	1.22

<sup>1/</sup>Average from 3 replications

<sup>2/</sup>Means in a column followed by the same letter are not significantly different according to CRD

<sup>3/</sup>S: sensitive, MR: moderately resistant and HR: highly resistant



**Figure 15** Anthracnose symptom on mango fruits soaking with eucalyptus vinegar extract 1, 2 and 3% (v/v) concentration for 1, 2 and 3 min before inoculated by *Colletotrichum gloeosporioides* of Mango cv. 'Nam Dok Mai' causing anthracnose disease for 16 days; (C1) non soaking and non inoculate control and (C2) non soaking and inoculate control