

โรคแอนแทรกโนสเป็นปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของการส่งออกมะม่วงในหลายๆ ประเทศ เนื่องจากเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของเนื้อเยื่อมะม่วงทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว การเข้าทำลายเกิดขึ้นตั้งแต่ระยะดอกบานและเชื้อราจะแอบแฝงอยู่ในผลมะม่วงที่ดิบ จากนั้นอาการของโรคจะปรากฏเมื่อผลมะม่วงเริ่มสุก ดังนั้นการศึกษาวิธีการตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แอบแฝงบนผลมะม่วงดิบอย่างรวดเร็วจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อช่วยในการประเมินการเน่าเสียและความสูญเสียของมะม่วงก่อนถึงตลาดปลายทาง ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลเพื่อเตรียมวิธีควบคุมโรคที่เหมาะสม เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ได้นำมาใช้บ่อยเพื่อตรวจสอบและจำแนกเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยการใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจง จากการทดลองพบว่าไพรเมอร์ CgInt-ITS4 (ที่จำเพาะต่อบริเวณอนุรักษของ 25S-28S rRNA gene) มีความจำเพาะต่อดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. เท่านั้น แต่ไม่มีความจำเพาะต่อดีเอ็นเอของเชื้อราชนิดอื่นที่เข้าทำลายมะม่วง ได้แก่ *Phomopsis* sp., *Botryodiplodia theobromae* และ *Aspergillus niger* ส่วนไพรเมอร์ ITS1-4 (ที่จำเพาะต่อยีนบริเวณ ITS1-ITS2 และ 5.8 rRNA), ITS4-5 (ที่จำเพาะต่อยีนบริเวณระหว่าง small-large nuclear rDNA และ 5.8 rDNA) และ CAP20 (ที่จำเพาะต่อยีนที่สร้าง appressorium ของเชื้อรา) สามารถใช้เพิ่มปริมาณยีนเหล่านี้ได้ในเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยมีขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอเท่ากับ 590, 590 และ 610 bp ตามลำดับ แต่ก็สามารถเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อราชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบได้ด้วย ในขณะที่ไพรเมอร์ CgmPG2 (ที่จำเพาะต่อยีน endopolygalacturonase ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*) ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อราในกลุ่ม *Colletotrichum* เนื่องจากได้แถบดีเอ็นเอหลายแถบ การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อราในปริมาณต่ำที่สุด พบว่าไพรเมอร์ ITS1-ITS4 และ ITS4-ITS5 สามารถใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราได้น้อยที่สุดคือเท่ากับ 1 fg ในขณะที่ไพรเมอร์ CgInt-ITS1 สามารถใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราได้น้อยที่สุดได้เท่ากับ 10 pg จากการตรวจสอบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แอบแฝงในผลมะม่วงดิบที่ยังไม่แสดงอาการของโรคและในมะม่วงสุกที่แสดงอาการของโรคแล้วโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ พบว่าไพรเมอร์ CgInt-ITS4 และ ITS1-ITS4 สามารถใช้ในการตรวจสอบเชื้อ *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วงดิบและสุกได้ ในทางตรงกันข้ามเป็นที่น่าแปลกกว่าการใช้ไพรเมอร์ ITS4-ITS5 จะพบแถบดีเอ็นเอที่ไม่ทราบเพิ่มขึ้นในตัวอย่างมะม่วงดิบ อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าชุดไพรเมอร์ CgInt-ITS1 น่าจะมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่แอบแฝงบนผลมะม่วงดิบต่อไปได้

Anthrachnose disease is a major postharvest problem of exporting mangoes in many countries due to invasion of *Colletotrichum gloeosporioides*. The fungi can infect all mango tissues during pre- and post-harvest. The initially infection is during flower bloom and fungi then exists as the latent infection in mature green-mangoes and the disease symptom appears when the fruits become ripening. Thus, a study of a rapid method for detecting the latent infection of *C.gloeosporioides* on green mangoes is become necessary for assessment of the decay and losses of mangoes before arrive to the terminal market, and also help to providing the suitable methods for disease control. Polymerase chain reaction (PCR) is often used to detection and identification of plant pathogens by using high specific oligonucleotide primers. In this experiment, CgInt-ITS4 primers amplifying the conserve regions of 25S-28S rRNA gene revealed to be specific only on genomic DNA of *Colletotrichum* sp. but not on other pathogens of mangoes such as *Phomopsis* sp., *Botryodiplodia theobromea*, and *Aspergillus niger* DNA. The ITS1-4 (ITS1-ITS2 and 5.8 rRNA gene), ITS4-5 (the region between small-large nuclear rDNA and 5.8 rDNA) and CAP20 (appressorium forming gene) primers showed the specific amplification on those genes of *Colletotrichum* sp., giving amplified fragment sizes of 590, 590 and 610 bp, respectively and also amplified unknown DNA region from other tested fungi. In contrast, CgmPG2 primer (designed from endopolygalacturonase gene of *C. gloeosporioides*) was not specific on *Colletotrichum* group because there were several DNA bands were observed. The sensitivity of primers for amplifying the minimum amounts of fungal genomic DNA was tested. The results revealed that the lowest amount of fungal DNA which could be amplified was 1 fg by ITS1-4 and ITS4-5 primers and 10 pg by CgInt-ITS1 primer. Latent infection of *C. gloeosporioides* in raw mangoes without disease symptom and ripen mangoes with disease symptom was detected by using specific primers. The results showed that CgInt-Its4 and ITS1-ITS4 primers could use to detect the latent infection from both samples. On the other hand, amplification by ITS4-ITS5 primers surprisingly showed on extra DNA band from raw mango samples. From these results, CgInt-ITS4 primers, therefore, are suite to use for detecting the latent infection of *C. gloeosporioides* in raw mangoes.