Agricultural Sci. J. 52 : 2 (Suppl.) : 49-52 (2021) ว. วิทย. กษ. 52 : 2 (พิเศษ) : 49-52 (2564)

ความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI และ DMI ของเชื้อรา *Colletotrichum siamense* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole

Cross-resistance to the QoI and DMI Fungicides in Benzimidazole-resistant *Colletotrichum siamense*; Causal Agent Mango Anthracnose Disease

รัติยา พงศ์พิสุทธา[1,2] ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล[1,2]และสัณฐิติ บินคาเดอร์[1,2]

Ratiya Pongpisutta[1,2], Chainarong Rattanakreetakul[1,2] and Santiti Bincader[1,2]

Abstract

Anthracnose disease affects to quantity and quality of mango production. Nowadays, disease controlling method apply by using fungicide which more efficient to against mango anthracnose. Whilst fungicide resistance occurred influencing to disease control failure because the farmer uses the fungicide for very long period. Other fungicide classes as a new choice for the grower should be tried. The objective of this research was to investigate fungicide resistance of *Colletotrichum siamense* isolate RB006. The results showed that the fungi can grow on PDA containing benzimidazole fungicide at the concentration of 1,000 mg/L. Molecular detection showed the mutation of amino acid at codon E198A compared with reference sequence. Cross-resistance with QoI fungicides indicated that *C. siamense* RB006 can be grown on high concentration at 1,000 mg/L, while it could not grow on DMI fungicides (inhibitory concentration at 10 – 100 mg/L). This research was a preliminary study of fungal resistance to comprehend and learn how to protect and reduce fungal resistance affecting control of plant pathogenic fungi from this point forward.

Keywords: cross-resistance, mango disease, fungicide chemical

บทคัดย่อ

โรคแอนแทรคโนสส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตมะม่วง การควบคุมในปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีซึ่งง่าย และมีประสิทธิภาพ แต่พบว่าเชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีซึ่งใช้มาเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้การควบคุมโรคเป็นไปได้ยากขึ้น การเลือกใช้สารเคมีกลุ่มอื่นๆ จึงน่าจะเป็นทางเลือกของเกษตรกรในปัจจุบัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะตรวจสอบความต้านทานของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราของ *Colletotrichum siamense* ไอโซเลท RB006 ต่อสารเคมี พบว่าเชื้อรามีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole โดยสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีที่ความเข้มข้นสูงถึง 1,000 mg/L จากตรวจสอบข้อมูลทางอณูชีวโมเลกุล พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ codon E198A จากการทดสอบความต้านทานข้ามกลุ่ม พบว่าเชื้อรา *C. siamense* RB006 สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในกลุ่ม QoI ที่ความเข้มข้นสูง 1,000 mg/L แต่ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมสารเคมีในกลุ่ม DMI (ความเข้มข้นควบคุม 10 – 100 mg/L) งานวิจัยนี้เป็นเพียงจุดเริ่มต้นของการศึกษาเชื้อราที่แสดงความต้านทาน เพื่อทำความเข้าใจและเรียนรู้หนทางที่จะป้องกัน รวมทั้งลดความเสี่ยงในการกลายพันธุ์ของเชื้อรา ซึ่งส่งผลต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในอนาคตต่อไป

คำสำคัญ: การดื้อยา โรคของมะม่วง สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

คำนำ

การดื้อยาแบบข้ามกลุ่ม หรือ cross-resistance จัดเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการป้องกันและควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงหลังการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูง จากข้อมูลของ Mahoney and Tattar ในปีค.ศ. 1980 พบว่าการใช้สารเคมีที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบ single-site ซึ่งใช้กันอย่างมากในการใช้ควบคุมโรคแอนแทรคโนส โดยสารเคมีดังกล่าว มักอยู่ในกลุ่ม benzimidazole เช่น benomyl, thiophanate-methyl และ carbendazim (Prakash and Pandey, 2000; Devi *et al.*, 2014) หลังจากใช้สารเคมีกลุ่มดังกล่าวมาอย่างยาวนาน พบว่าการควบคุมโรคกลับไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาและจัดแบ่งกลุ่มสารเคมีออกเป็นหมวดหมู่ตามกลไกการออกฤทธิ์ เพื่อลดการใช้สารเคมีชนิดเดิมซ้ำกันเป็นระยะเวลานาน (Fungicide resistance action committee: FRAC, 2020)

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10400

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Ministry of High Education, Science, Research and Innovation, Bangkok 10400.

ส่วนสารเคมีในกลุ่ม QoI (quinone-outside inhibitor) เช่น azoxystrobin, kresoxim-methyl และ pyraclostrobin และสารเคมีในกลุ่ม DMI (demethylation inhibitors) เช่น cyproconazole, difenoconazole และ prochloraz เป็นสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ทดแทนสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole เพื่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* เนื่องจากมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างไปจากเดิม ด้วยเหตุนี้จึงมีเกษตรกรจำนวนไม่น้อยหันมาใช้สารเคมี 2 กลุ่ม ดังกล่าว แต่ด้วยพฤติกรรมการใช้สารเคมีชนิดเดิม ซ้ำๆ เป็นระยะเวลานาน ก็ส่งผลกระทบให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารชนิดนี้เช่นกัน จากรายงานของ Ma and Michailides (2005) ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี และพบว่าสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole นั้นมีผลทำให้เชื้อราเกิดความต้านทานค่อนข้างสูง ทำให้การควบคุมโรคไม่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้สารเคมีกลุ่มนี้ยังส่งผลกระทบให้เชื้อราแสดงความต้านทานต่อสารเคมีแบบข้ามกลุ่ม ซึ่งเป็นปัญหาในการจัดการโรคแอนแทรคโนสเป็นอย่างมาก งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum siamense* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสอีกชนิดหนึ่งของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองซึ่งต้านทานสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ต่อการตอบสนองต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI และ DMI เพื่อใช้เป็นแนวทาง หรือวิธีการในการแก้ปัญหาการใช้สารเคมีให้มีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อราที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อรา *Colletotrichum siamense* ไอโซเลท RB006 (ITS-accession number: MK215699.1) ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นำมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มใต้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Pongpisutta *et al*. (2013) โดยใช้ protease และสารละลาย phenol chloroform isoamyl alcohol (25:24:1) ในการตกตะกอนโปรตีน จากนั้นกำจัด RNA ด้วยการเติมเอนไซม์ RNase และหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย chloroform isoamyl alcohol (24:1) และตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย absolute alcohol ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ใน 1XTBE buffer เก็บดีเอ็นเอที่ได้ใน -20°C เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การตรวจสอบความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole

นำเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 5 วัน มาตรวจสอบความต้านทานต่อสารเคมีด้วยวิธี minimum inhibitory concentration (MIC) โดยการเจาะเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีด้วย cork borer ขนาด 0.6 cm จากนั้นย้ายลง 24 microwell plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ benomyl, carbendazim และ thiophanate methyl ความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 (control), 0.1, 1.0, 10.0, 100.0 และ 1,000 mg/L บ่มใต้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25°C ตรวจสอบ และบันทึกภาพและผลการเจริญของเส้นใยตามวิธีการของรัติยา และชัยณรงค์ (2563) ทุกวัน จนครบ 7 วัน

จากนั้นตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเชื้อราในระดับอณูชีวโมเลกุลที่กรดอะมิโนลำดับ 198 โดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ß-tubulin gene ด้วยไพรเมอร์ TB2L (5' GTTTCCAGATCACCCACTCC '3) and TB2R (5' TGAGCTCAG GAACACTGACG '3) (Peres *et al*., 2004) ส่งวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์กับเชื้อรามาตรฐาน *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*

3. ตรวจสอบการดื้อยาแบบข้ามกลุ่มของเชื้อรา

นำเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 5 วัน มาตรวจสอบความดื้อยาแบบข้ามกลุ่มด้วยวิธี minimum inhibitory concentration (MIC) โดยการเจาะเชื้อราบริเวณขอบโคโลนีด้วย cork borer ขนาด 0.6 cm จากนั้นย้ายลง 24 microwell plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมกับสารเคมีในกลุ่ม QoI จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, kresoxim-methyl และ pyraclostrobin และสารเคมีกลุ่ม DMI จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ cyproconazole, difenoconazole และ prochloraz ความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 (control), 0.1, 1.0, 10.0, 100.0 และ 1,000 mg/L บ่มใต้แสง near UV สลับมืด 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25°C ตรวจสอบ และบันทึกภาพและผลการเจริญของเส้นใยตามวิธีการของรัติยา และชัยณรงค์ (2563) ทุกวัน จนครบ 7 วัน

ผล

1. เชื้อราที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 5 วัน มีการสร้างเส้นใยสีขาวปนเทา เจริญฟูจากผิวหน้าอาหาร พบการสร้างกลุ่มสปอร์ (spore mass) สีส้ม ด้านหลังโคโลนีมีสีเทาสลับส้ม เจริญซ้อนกันเป็นวง ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบสปอร์รูปร่างทรงกระบอก ฐานตัด ใสไม่มีสี 1 เซลล์ ขนาดประมาณ 4.78 – 7.50 x 7.35 – 14.29 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae พบ appressorium มีรูปร่าง clavate ถึง irregular สีน้ำตาลอ่อน ทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Pongpisutta *et al*. (2013) ได้ดีเอ็นเอความเข้มข้นประมาณ 80 นาโนกรัม ไม่พบการปนเปื้อนของโปรตีนและ RNA

2. การตรวจสอบความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole

ตรวจสอบความต้านทานของเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole จำนวน 3 ชนิด พบว่าเชื้อราสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (1,000 mg/L) ในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ เมื่อทำการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ß-tubulin gene เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์เชื้อรามาตรฐาน *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* ที่ใช้อ้างอิง พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 1,285 – 1,287 คู่เบส ที่แตกต่างกัน (GAG ⟶GCG) ส่งผลให้มีการแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนที่แตกต่างไปจากเดิม (E198A)

3. ตรวจสอบการดื้อยาแบบข้ามกลุ่มของเชื้อรา

จากการทดสอบความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI พบว่าหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน สารเคมี pyraclostrobin มีศักยภาพในการควบคุมการเจริญเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 10 mg/L ไม่พบการเจริญของเส้นใย ในขณะที่สารเคมี azoxystrobin และ kresoxim-methyl นั้น พบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (100 mg/L) ไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา แต่หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน เชื้อรา*C. siamense* สามารถเจริญได้ในทุกความเข้มข้นของสารเคมีทั้ง 3 ชนิด (ความเข้มข้นสูงสุด 1,000 mg/L) สำหรับสารเคมีในกลุ่ม DMI นั้น พบว่าหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน สารเคมีทั้ง 3 ชนิดสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดี โดยไม่พบการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 mg/L (ความเข้มข้นต่ำสุด) และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 7 วัน เชื้อราสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้ที่ความเข้มข้น 10 mg/L และ 100 mg/L ซึ่งเมื่อตรวจสอบจากอัตราแนะนำของสารเคมีที่ระบุในฉลาก พบว่าความเข้มข้นดังกล่าวยังเป็นความเข้มข้นที่ต่ำกว่าอัตราแนะนำ

Table 1 Efficiency of different fungicide classes to control benzimidazole-resistant *Colletotrichum siamense* isolate RB006

Fungicide classes	MIC assay (mg/L)*	
	3 days	7 days
Benzimidazole		
Benomyl	>1,000	>1,000
Carbendazim	>1,000	>1,000
Thiophanate methyl	>1,000	>1,000
QoI		
Azoxystrobin	100	>1,000
kresoxim-methyl	100	>1,000
pyraclostrobin	10	>1,000
DMI		
Cyproconazole	0.1	10
Difenoconazole	0.1	100
Prochloraz	0.1	10

*วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ

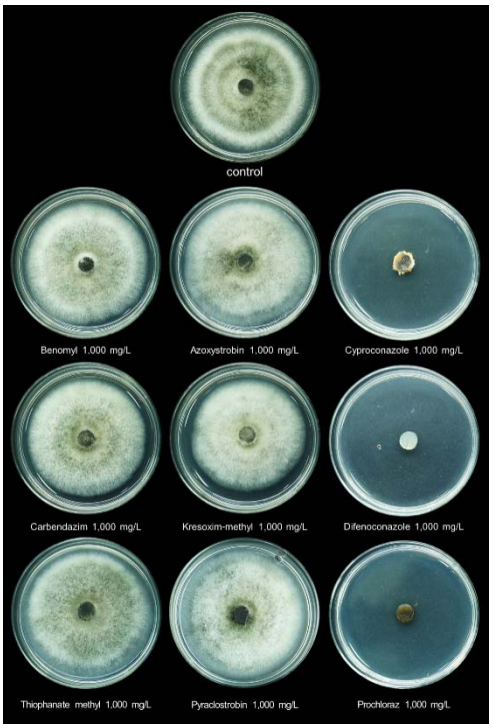

Figure 1 Colony of *C. siamense* isolate RB006 on PDA culture contained with different fungicides.

วิจารณ์ผล

จากการตรวจสอบเชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 โดยอาศัยลักษณะทางฟีโนไทป์และข้อมูลทางอณูชีวโมเลกุล พบว่าเชื้อรานี้มีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole โดยสามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ในความเข้มข้นที่สูง และมีการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่ง codon 198 สอดคล้องกับรายงานของ Nalumpang *et al*. (2010) และ Poti *et al*. (2020) ที่พบว่าเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* ที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole จะมีการเปลี่ยนแปลงของ codon ที่ 198 (E198A) ส่งผลให้การแปรรหัสจาก glutamic acid เปลี่ยนเป็น alanine ซึ่งสัมพันธ์กับเชื้อราอ้างอิง (U14138) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอ (Buhr and Dickman, 1993) สำหรับการแสดงความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI พบว่าสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. siamense*

ไอโซเลท RB006 ที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ได้ สอดคล้องกับรายงานของ Tachiro *et al*. (2019) ที่ศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของแพร์ในประเทศญี่ปุ่น และพบว่าการใช้สารเคมีในกลุ่ม benzimidazole ส่งผลให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีกลุ่มนี้ได้ง่าย ในขณะเดียวกันเชื้อราที่ต้านทานต่อสารในกลุ่มดังกล่าวยังมีแนวโน้มที่จะแสดงความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI ได้เช่นกัน สำหรับสารเคมีในกลุ่ม DMI นั้นพบว่าสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดี สอดคล้องกับรายงานของ FRAC (2020) ที่กล่าวว่าสารเคมีในกลุ่ม DMI ส่งผลให้เชื้อราเกิดความต้านทานต่อสารเคมีในระดับต่ำ แม้จะมีรายงานเรื่องความต้านทานข้าม แต่ความต้านทานข้ามนั้นเกิดเพียงความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่มเดียวกันเท่านั้น ไม่ได้ส่งผลต่อการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานข้ามต่อสารเคมีกลุ่มอื่นๆ แต่อย่างใด ดังนั้นการเลือกใช้สารเคมีเพื่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ควรเลือกใช้สารเคมีที่หลากหลายกลุ่ม ทั้งนี้เพื่อลดการเกิดความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการควบคุมโรคในอนาคตได้

สรุป

เชื้อรา *C. siamense* ไอโซเลท RB006 ที่แสดงความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม benzimidazole มีแนวโน้มที่จะต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม QoI ได้เช่นกัน เนื่องจากเป็นสารเคมีในรูปแบบที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบ single-site สำหรับสารเคมีในกลุ่ม DMI นั้น ยังคงพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. siamense* ได้ แต่มีข้อควรระวังเรื่องการใช้สารกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้เกิดความต้านทานข้ามกับสารเคมีในกลุ่ม DMI ได้เช่นกัน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กทม. และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

รัติยา พงศ์พิสุทธา และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2563. โรคกิ่งแห้งของทุเรียน. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Buhr, T. L.and M.B. Dickman. 1993. Isolation and characterization of a ß-tubulin-encoding gene from *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. Gene 124(1): 121-125. doi:https://doi.org/10.1016/0378-1119(93)90771-T

Devi, P., M. Paramasivam and V. Prakasam. 2014. Degradation pattern and risk assessment of carbendazim and mancozeb in mango fruits. Environmental Monitoring and Assessment 187: 1 – 6.

Fungicide resistance action commitee (FRAC). 2020. FRAC Code List©*2020: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including FRAC Code numbering). [Online]. Available source: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2020-final.pdf?sfvrsn=8301499a_2. (February 11, 2021).

Ma, Z. and T. Michailides. 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. Crop Protection 24: 853-863. doi:10.1016/j.cropro.200 5.01.011

Mahoney M.J. and R. Tattar. 1980. Identification, etiology, and control of *Euonymus fortunei* anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Disease 64: 854-856. doi:10.1094/PD-64-854.

Nalumpang, S., Y. Miyamoto, C. Miyake, Y. Izumi, K. Akitmitsu and P. Kongtragoul. 2010. Point mutations in the beta-tubulin gene conferred carbendazim-resistant phenotypes of *Colletotrichum gloeosporioides* causing 'Nam Dok Mai' mango anthracnose. Journal of Agricultural Technology 6(2): 365-378.

Peres, N. A. R., N.L. Souza, T.L. Peever and L.W. Timmer. 2004. Benomyl Sensitivity of Isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from Citrus. Plant Disease 88(2): 125-130. doi:10.1094/PDIS.2 004.88.2.125

Pongpisutta, R., W. Winyarat and C. Rattanakreetakul. 2013. RFLP identification of *Colletotrichum* species isolated from chilli in Thailand. Acta Horticulturae 973: 181-186. doi:10.17660/ActaHortic.2013.973.24

Poti, T., M. Kanyarat, C. Ratchadawan, A. Hatthaya, A. Kazuya and S. Nalumpang. 2020. Detection and molecular characterization of carbendazim resistant *Colletotrichum truncatum* Isolates causing anthracnose of soybean in Thailand. Journal of phytopathology 168(5): 1 – 12.

Prakash, O. and B. K. Pandey. 2000. Control of mango anthracnose by hot water and fungicides treatment. Indian Phytopathology 53: 92 – 94.

Tashiro, N., I. Youichi, N. Mayumi, H. Watanabe and N. Mizuho. 2019. Emergence of benzimidazole- and strobilurin-quinone outside inhibitor-resistant strains of *Colletotrichum gloeosporioides* sensu lato, the causal fungus of Japanese pear anthracnose, and alternative fungicides to resistant strains. Plant Diseases - Current Threats and Management Trends, Snje**Ž**ana Topolovec-Pintaric, IntechOpen DOI: 10.5772/intechopen.90018.