

# 中部地區番椒炭疽病菌之鑑定及其對藥劑與友善資材之感受性分析<sup>1</sup>

黃于芳<sup>2</sup>、王照仁<sup>2\*</sup>

## 摘 要

番椒為臺灣重要經濟作物之一，然其產量與品質受到多種病害的威脅，其中又以危害果實的炭疽病最為嚴重。本研究以中部地區番椒為對象，針對炭疽病進行病原菌鑑定與藥劑、資材防治效果評估，旨在探討更有效的防治策略。病果由臺中、彰化及南投三地收集並分離出 5 株炭疽病菌，並進行形態觀察，結果顯示供試菌株菌落皆呈灰白色密集菌絲，分生孢子呈短圓柱形且透明。進一步經多重序列比對[包含 Actin (*ACT*)、Calmodulin (*CAL*)、Chitin synthase-1 (*CHS-1*)、Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*)、Internal transcribed spacers (*ITS*)及 Beta-tubulin(*TUB2*)等片段] 並結合親緣演化樹分析，確認 5 株供試菌株均屬於 *Colletotrichum fructicola*。藥劑感受性測試發現，賽普護汰寧對供試菌株的菌絲生長及孢子發芽抑制率為 87-100%，抑制效果最佳；而友善資材中，二氧化氯 200 ml/L 對孢子發芽和菌絲生長抑制率均有 78-100%，抑制效果佳。

**關鍵字：**番椒、炭疽病、*Colletotrichum fructicola*、賽普護汰寧、二氧化氯

## 前 言

番椒(學名：*Capsicum annum* L.)，包含青椒、甜椒、辣椒及羊角椒等，為茄科辣椒屬單年生草本植物。全國各地皆有栽種番椒，因其適合生長於 20-30℃、具連續採收特性，山區產區主要栽培期為 6-11 月，平地則為 12-5 月。根據 112 年農情調查統計([https://agr.afa.gov.tw/afa/afa\\_frame.jsp](https://agr.afa.gov.tw/afa/afa_frame.jsp))，總栽培面積達 1,112 公頃、總生產量為 15,450,817 公斤，前 5 大產區分別為南投縣、雲林縣、嘉義縣、屏東縣及彰化縣，其中南投縣以信義鄉與仁愛鄉為最大宗。其交易量佔北農交易市場全蔬菜的第 20 位，交易額佔全蔬菜的第 7 位(臺北農產運銷股份有限公司，2024)，是國內重要的經濟作物之一。

番椒在種植過程中易受多種病蟲害危害，常見的病害如細菌性青枯病(Bacterial wilt)、疫病(Phytophthora blight)、菌核病(Sclerotinia)、細菌性斑點病(Bacterial spot)、病毒病(Virus

1 農業部臺中區農業改良場研究報告第 1094 號。

2 農業部臺中區農業改良場研究助理及副研究員。

\*通訊作者 chaowang@tcdares.gov.tw

diseases)及果實的炭疽病(Anthracnose)等，此外細蟎(Broad mite)、薊馬(Thrips)及蚜蟲(Aphid)等蟲害也對番椒的生長和產量造成威脅(楊與余，2012)。番椒炭疽病由炭疽菌屬(*Colletotrichum*)菌株感染番椒所致，為最嚴重的果實病害。此病菌感染果實後，產生圓形至不規則形的褐色或黑色病斑，隨感染時間變長，病斑凹陷會產生粉橙色分生孢子堆，後續發展為裂果或腐敗情形，嚴重者導致果實提早轉色與落果等情形(彭，2004；郭，2020)。病害常見於高溫高濕環境，於園區發現病害發生初期多為點狀分布，尤其於溫室及水槽漏水處出現。此病原菌分生孢子藉由風吹或雨水飛濺傳播(沈等人，2011)，若園中病果未即時移除，孢子容易隨著葉噴非適當之藥劑和肥料四處飛濺，導致病害擴大影響附近健康之果實。除了栽培期外，後熟儲藏期及運輸中，若環境適合亦會造成病害發生與擴展(Ali *et al.*, 2016)。炭疽病於臺灣有記錄的菌種包括*Colletotrichum acutatum*、*C. boninense*、*C. capsici*、*C. coccodes*及*C. gloeosporioides* (Kim *et al.*, 1999；Liao *et al.*, 2012；Pakdeevaporn *et al.*, 2005；Sheu *et al.*, 2020；Tozze *et al.*, 2009)，其中*C. gloeosporioides*和*C. boninense*皆為複合種群(species complex)(Damm *et al.*, 2012；Weir *et al.*, 2012)。所謂複合種群為一群形態相似的物種，過往受限於研究方法，被歸類為同一物種，現今透過核酸序列得以將物種區分開來。常見的分子方法為透過多基因分析，如Actin (*ACT*)、Calmodulin (*CAL*)、Chitin synthase-1 (*CHS-1*)、Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*)、glutamine synthetase (*GS*)、Internal transcribed spacers (*ITS*)、manganese superoxide dismutase (*SOD2*)及Beta-tubulin (*TUB2*)等基因或核酸序列，以PCR增幅及比對定序結果的方式進行(Weir *et al.*, 2012)。以*C. gloeosporioides* species complex (CGSC)來說，過去的研究透過類似的方法，於2012年共發表22個物種，後續也有多個新種持續發表(Guevara-Suarez *et al.*, 2022；Liu *et al.*, 2013；Talhinhas & Baroncelli, 2021)。CGSC感染作物相當廣泛，從葉片到果實，如葡萄、番石榴、草莓等作物都有紀錄(Lin *et al.*, 2017；Xiao *et al.*, 2004；蔡等人，2021)。

番椒生長對環境條件較為敏感，在病蟲害防治面臨多重挑戰。傳統上，番椒炭疽病的防治主要仍仰賴化學藥劑。依農藥服務資訊網(<https://pesticide.aphia.gov.tw/information/Query/Bug>)的推薦藥劑，農民可使用三氟派瑞(Fluopyram + Trifloxystrobin)、三氟得克利(Tebuconazole + Trifloxystrobin)、百克敏(Pyraclostrobin)、待克利(Difenoconazole)、氟殺克敏(Fluxapyroxad + Pyraclostrobin)及腈硫脲(Dithianon)等，且考量果實表皮特性需適時添加展著劑以增強藥效(陳與楊，2005)。然而，2023年起，本場陸續接獲農民反映(林小姐，私人聯絡)使用目前推薦之化學藥劑，其防治效果不佳的情況，詢問是否有其他化學農藥可以推薦使用。而農民為了加強控制病害並確保收成，往往混用多種化學農藥，當稀釋倍率不當或預留的安全採收期不足時，更容易產生農藥殘留超標的食安疑慮。尤其番椒具營養生長和生殖生長同時進行的特點，具有連續採收特性(王等人，2022)，因此發展化學農藥以外的防治方法，讓農友得以在採收前的停藥期間得以控制病害，更顯得重要。

友善環境資材已被報導具有抗病防蟲的效果(Holb, 2009)，比如微生物製劑、含氟物質、含銅物質、波爾多液、中性化亞磷酸、碳酸氫鉀、碳酸氫鈉、石灰硫磺合劑、氫氧化鉀、礦物油、皂鹽類及天然油脂等(蔡等人, 2021)。針對炭疽病菌，已有精油類、芽孢桿菌屬、揮發性有機化合物、殼聚醣(甲殼素)和矽等友善資材，應用在酪梨果實炭疽病防治的紀錄(Herrera-González *et al.*, 2021)。由於這些資材的使用方式、時機及濃度等關鍵因素對防治效果有重要影響(陳, 2010)，目前在這些方面的研究資料仍較為不足，因此迫切需要深入探討，以確保這些友善資材能在實際農田中被有效應用，並達到長期穩定的病害防治效果。

因番椒炭疽病於臺灣有多種菌種記錄，為解決農民反映化學農藥對甜椒炭疽病藥效不佳，以及釐清友善資材對炭疽病防治效果。本研究進行番椒炭疽病菌株的鑑定，並測試化學藥劑及友善資材對番椒炭疽病菌的抑制率。擬建立一套番椒安全生產管理體系，以減少農藥用量、提升番椒生產品質，並保障農民收益。

## 材料與方法

### 一、病原菌分離與培養條件

本研究由中彰投 3 地取得 5 處番椒罹病果樣本，各田區取 1 個樣本，編號為 CC01-05。樣本分別為 CC01 南投埔里甜椒、CC02 南投信義甜椒、CC03 南投仁愛辣椒、CC04 彰化大村甜椒及 CC05 臺中西屯辣椒。分離方式如下：分離組織健部，放入 1:1 (v:v) 的漂白水與 95% 酒精混合液中消毒 30 秒後，切出 5×5 mm 的組織塊，移至無菌水漂洗，將消毒後之組織去除多餘水分放在 1.5% 的水瓊脂(water agar, WA) 培養基中，隨後置於 28°C、12 小時光照的定溫培養箱(Sanyo Co., MIR-154) 中，培養 7-10 天且觀察到孢子長出後，挑取單孢移至馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (potato dextrose agar, PDA) 中，供後續試驗之用。

### 二、病原菌鑑定

#### (一) 形態鑑定

將單孢培養後之菌株的 PDA 置於 28°C、12 小時光照的培養箱中進行培養，並於 6 天後觀察其菌落形態並加以記錄。上述供試菌株亦利用單孢方式將各菌株分別培養於 WA 上，同上述培養環境培養 14 日後，以移殖環刮取表面孢子，於顯微鏡下觀察記錄其孢子形態，並測量 50 粒孢子的長寬，計算平均。

#### (二) 分子鑑定

##### 1. 供試菌株全基因組 DNA 抽取

取長滿菌絲的培養基，以移殖環刮取少量菌絲移入 1.5 mL 的微量離心管，放在 -80°C 環境中 10 分鐘，以提升破菌效果。利用植物基因組 DNA 純化試劑組(Quick-DNA Miniprep Kit, Zymo Research)抽取真菌全基因體 DNA，以 50  $\mu$ l 滅菌水回溶 DNA。

## 2. 特定基因區間 PCR 增幅與其條件介紹

Weir 等人(2012)提出 CGSC 時，共使用 8 段基因片段進行多基因比對，以區別出種間差異。參考其提供的序列及 NCBI (gene bank) 上資料，找出最多物種共有的參考序列的基因片段，方便後續序列比對(BLAST)。本文多基因分析採用 *ACT*、*CAL*、*CHS-1*、*GAPDH*、*ITS* 及 *TUB2* 等 6 個片段。PCR 增幅條件為先 94°C 5 分鐘，再 94°C 45 秒、55-60°C 45 秒、72°C 2 分鐘 35 個循環，接著 72°C 7 分鐘，最後保持於 4°C，詳細的引子序列及黏合溫度(annealing temperature)如附(表一)。PCR 產物則交由源資國際生物科技(Tri-I Biotech Inc.)進行定序。

表一、本研究使用不同基因片段之引子對與 PCR 條件

Table 1. Primer pairs and PCR conditions for different gene fragments used in this study

Gene	Primers	Annealing temperature	References
ITS	ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	55°C	White <i>et al.</i> , 1990
	ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'		
ACT	ACT512F: 5'-ATGTGCAAGGCCGTTTCGC-3'	59°C	Carbone & Kohn, 1999
	ACT783R: 5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-3'		
CAL	CL1C: 5'-GARTWCAAGGAGGCCTTCTC-3'	59°C	O'Donnell <i>et al.</i> , 2000
	CL2C: 5'-TTTTTGCATC ATGAGTTGGAC-3'		
CHS-1	CHS79F: 5'-TGGGGCA AGGATGCTTGGAA GAAG-3'	59°C	Carbone & Kohn, 1999
	CHS345R: 5'-TGGAAGAACCATCTGTGA GAGTTG-3'		
TUB2	T1: 5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3'	56°C	O'Donnell & Cigelnik, 1997
	T2: 5'-TAGTGACCCTTG GCCCAGTTG-3'		
GAPDH	GDF: 5'-GCCGTCAACGAC CCCTTCATTGA-3'	60°C	Guerber <i>et al.</i> , 2003
	GDR: 5'-GGGTGGAGTCGTACTIONGAGCATGT-3'		

## 3. 親緣演化分析

序列分析使用 BioEditor version 7.2.5 (Hall *et al.*, 1999) 整理序列和合併不同片段，以軟體內建的 clustalW (Thompson *et al.*, 1994) 進行多重序列比對(alignment)。將合併完成的序列檔，透過 MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) 採用最大簡約法(Maximum parsimony, MP) 重建親緣關係樹，並執行靴帶分析(bootstrap)重複 10,000 次。

## 三、藥劑抑制效果測試

參考農業部動植物防疫檢疫署農藥資訊服務網紀錄之推薦用藥及施用倍率，選擇 4 種不同作用機制的殺真菌劑測試對病菌抑制效果。供試藥劑及施用倍率如下：62.5%賽普護汰寧(Cyprodinil + Fludioxonil)水分散性粒劑 2,000 倍(312 mg a.i. L<sup>-1</sup>，台灣先正達股份有限公司)、24.9%待克利

(Difenoconazole)水懸劑 3,000 倍(83 mg a.i. L<sup>-1</sup>, 台灣先正達股份有限公司)、42.2%腈硫醃(Dithianon)水懸劑 700 倍(603 mg a.i. L<sup>-1</sup>, 台灣巴斯夫股份有限公司)及 23.6 %百克敏(Pyraclostrobin)乳劑 3,000 倍(79 mg a.i. L<sup>-1</sup>, 台灣巴斯夫股份有限公司)。每個藥劑進行 3 重複, 測試 5 株供試菌株的菌絲生長量及孢子發芽率, 並換算其抑制率。菌絲生長實驗利用 3 號打孔器取出直徑 0.5 mm 菌絲塊, 平貼於含藥劑的 PDA 上, 靜置於 28°C、光照 12 小時的培養箱中。3 日後, 放射狀隨機選取菌絲塊 3 個方位, 記錄從菌絲塊邊緣至菌絲尖端的長度, 與對照組(未含藥)相比計算其抑制率。孢子發芽率實驗則取 50  $\mu$ L 濃度為 10<sup>4</sup> conidia/mL 孢子懸浮液, 均勻塗佈於含藥劑的 1.5% WA 上。靜置於室溫中 16 小時後, 於解剖顯微鏡(Leica MZ125, 200 倍) 觀察 100 顆孢子, 記錄其發芽率並進一步計算其抑制率。菌絲生長抑制率(mycelial growth inhibition rate, %) = (對照組-處理組) / 對照組 x100。實驗所得之供試菌株抑制率, 透過 PASW Statistics18 (SPSS)統計軟體進行分析, 以 LSD (Fisher Least Significant Difference)分析比較各處理間之顯著差異(P<0.05)。

#### 四、友善資材抑制效果測試

選擇 4 種不同非化學農藥友善資材測試對病菌抑制效果。供試資材與施用倍率如下: 二氧化氯溶液(Chlorine dioxide) 100 和 200 mg L<sup>-1</sup>、肉桂油乳劑(Cinnamon oil emulsion) 300 mg L<sup>-1</sup> (富豪生物科技公司)、石灰硫磺(Lime-Sulfur) 275 mg L<sup>-1</sup> (株式會社さくら化興)、柑橘精油(Citrus Oil) 340 mg L<sup>-1</sup> (巨聖油脂化學股份有限公司)。每種資材進行 3 重複, 測試 5 株供試菌株的菌絲生長與孢子發芽率, 並換算成抑制率。菌絲生長及孢子發芽實驗方法與統計方法, 如前文藥劑抑制效果測試所述。

## 結 果

### 一、病徵類型

番椒炭疽病多於果實接近成熟時開始發生, 發病果實上出現紅褐小點, 逐漸擴大呈下凹與黑色病斑, 粉橘色分生孢子堆呈輪狀分布於罹病組織上。發病初期病斑附近果表組織出現軟化、薄膜化現象, 嚴重者會由罹病部產生果實乾裂的情形(圖一)。

### 二、病原菌鑑定

由罹病果組織分離之供試菌株, 於 PDA 上生長 6 日約長到半滿。菌落正面呈灰白色緻密菌絲, 中央部位偶有橘色的分生孢子堆, 背面以灰白色為主, 中間可見一些黑色色素沉澱分布(圖二)。分生孢子均呈現透明長橢圓形, 外緣平滑、兩端圓鈍、內部無隔, 長度 × 寬度為 12-16 × 4  $\mu$ m (圖三)。將 5 株番椒炭疽病菌的 ITS 序列以經 NCBI GenBank BLAST 比對, 這 5 株菌株與 *Colletotrichum gloeosporioides* 複合種內菌株之序列具有 99%以上的相同度, 表示這 5 株病菌菌株均屬於 CGSC。為了精確鑑定番椒炭疽病菌, 故使用 ITS、ACT、GAPDH、TUB2、CHS-1 及 CAL 等基因片段序列進行多基因序列分析。親緣關係樹顯示 5 株菌株與 *C. fructicola* 為同一支序, 確認 5 株供試菌株皆為 *C. fructicola* (圖四)。

### 三、藥劑感受性測試

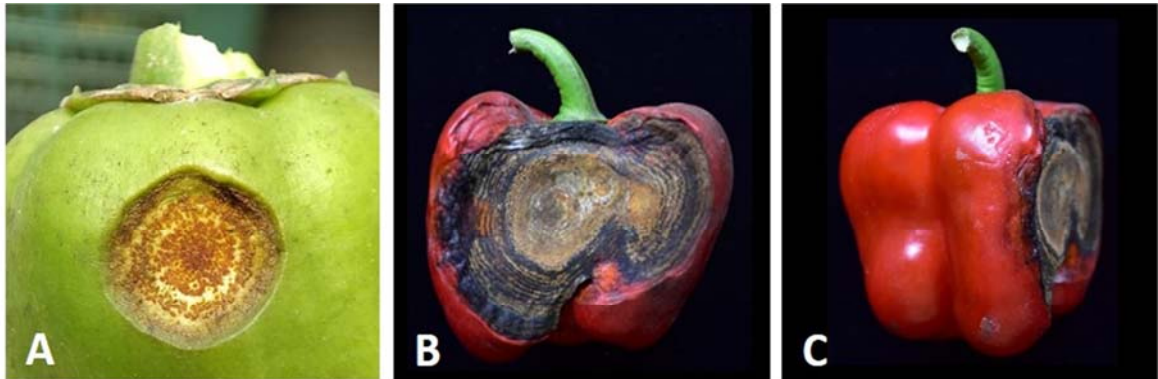
將 CC01-CC05 共 5 株供試菌株培養於含有藥劑的培養基上，觀測對藥劑之感受性，結果顯示。針對番椒炭疽病菌的菌絲生長抑制效果，賽普護汰寧(312 mg a.i. L<sup>-1</sup>)對多數供試菌株(CC01-CC03) 達 100%的抑制率，對 CC04 抑制率 96%、CC05 抑制率 87%。待克利(83 mg a.i. L<sup>-1</sup>)對各菌株的抑制率則有所不同，最高對 CC02 達到 100%，對 CC03 則僅有 69%。腈硫醯(603 mg a.i. L<sup>-1</sup>)對菌絲生長的抑制效果較弱，對菌株的抑制率介於 20%至 48%之間。百克敏(79 mg a.i. L<sup>-1</sup>)對菌絲生長的抑制效果穩定，抑制率多數菌株約在 85%至 100%之間。

在孢子發芽的抑制效果方面，賽普護汰寧及待克利皆在所有菌株上達到 100%的抑制效果，並達顯著差異。腈硫醯對大部分菌株的孢子發芽抑制率達 100%，僅對 CC02 的抑制效果略低(88%)。百克敏對大部分菌株的孢子發芽抑制率在 98%至 100%之間，對 CC02 的抑制效果略低(88%)。

### 四、友善資材感受性測試

將 CC01-CC05 共 5 株供試菌株培養於含有資材的培養基上，觀測菌株對資材之感受性，結果顯示針對番椒炭疽病菌的菌絲生長，二氧化氯(200 mg L<sup>-1</sup>)表現最佳，對各菌株的抑制率介於 78%至 100%之間。肉桂油(300 mg L<sup>-1</sup>)對 CC04 的抑制率達到 100%，其餘菌株的抑制率介於 51%至 72%之間。石灰硫磺(275 mg L<sup>-1</sup>)的抑制效果較低，對各菌株的抑制率僅介於 16%至 58%之間。柑橘精油(340 mg L<sup>-1</sup>)對各菌株的菌絲生長抑制率約在 26%至 65%之間(表三)。

在孢子發芽的抑制方面，二氧化氯 200 mg L<sup>-1</sup>、肉桂油及石灰硫磺對所有供試菌株的孢子發芽抑制率均達 100%。二氧化氯 100 mg L<sup>-1</sup>濃度下的孢子發芽抑制效果略低，抑制率在 88%至 96%之間。相較之下，柑橘精油對孢子發芽無任何抑制效果，抑制率為 0%(表三)。

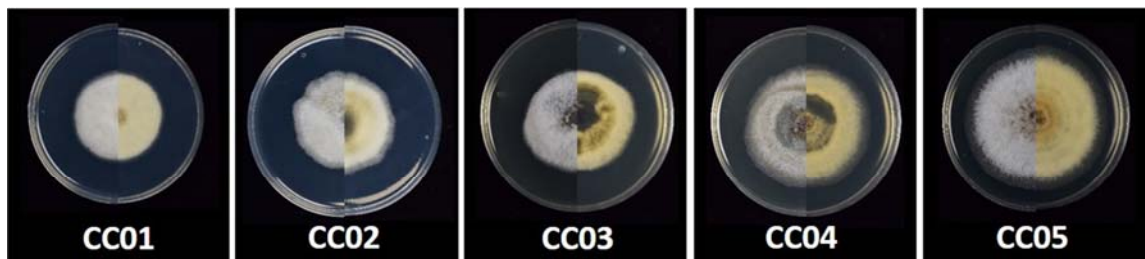


圖一、甜椒炭疽病之病徵照。

A 果實轉色前受感染，果表出現粉色孢子堆；B 成熟果實表面出現輪狀斑；  
C 受感染果實側視圖。

Fig 1. Symptoms of anthracnose on bell peppers.

A. Pre-ripening fruit infected with pink spore masses on the fruit surface. B. Concentric rings on the surface of mature fruits. C. Side view of infected fruit.

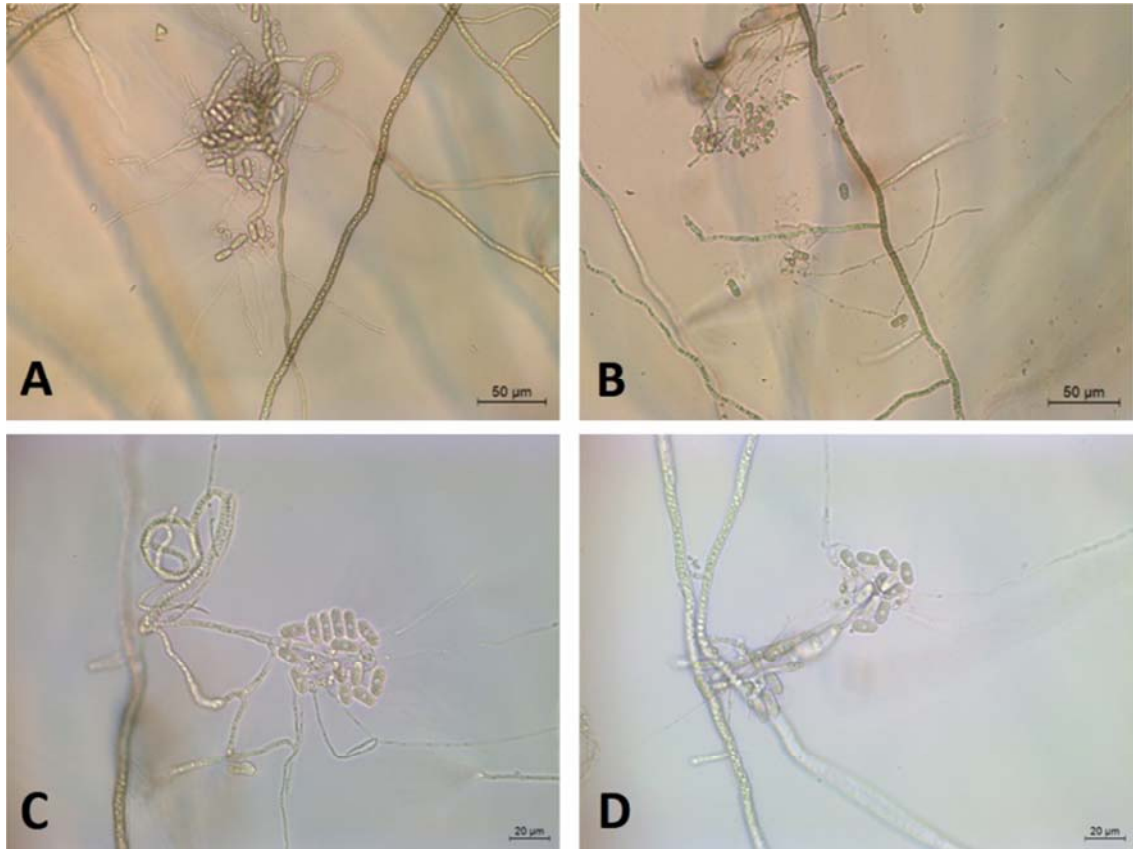


圖二、供試炭疽病菌株 CC01-CC05 於 PDA 上之菌落形態。

培養於 PDA 上 6 日，環境溫度 28°C、12 小時光照、12 小時黑暗。圖中左半為菌盤正面照，  
右半為背面照。

Fig 2. Colony morphology of anthracnose strains CC01-CC05 on PDA.

Cultures were grown on PDA for 6 days at 28°C with a 12-hour light/12-hour dark cycle. The left half of the figure shows the front view of the colony, and the right half shows the back view.



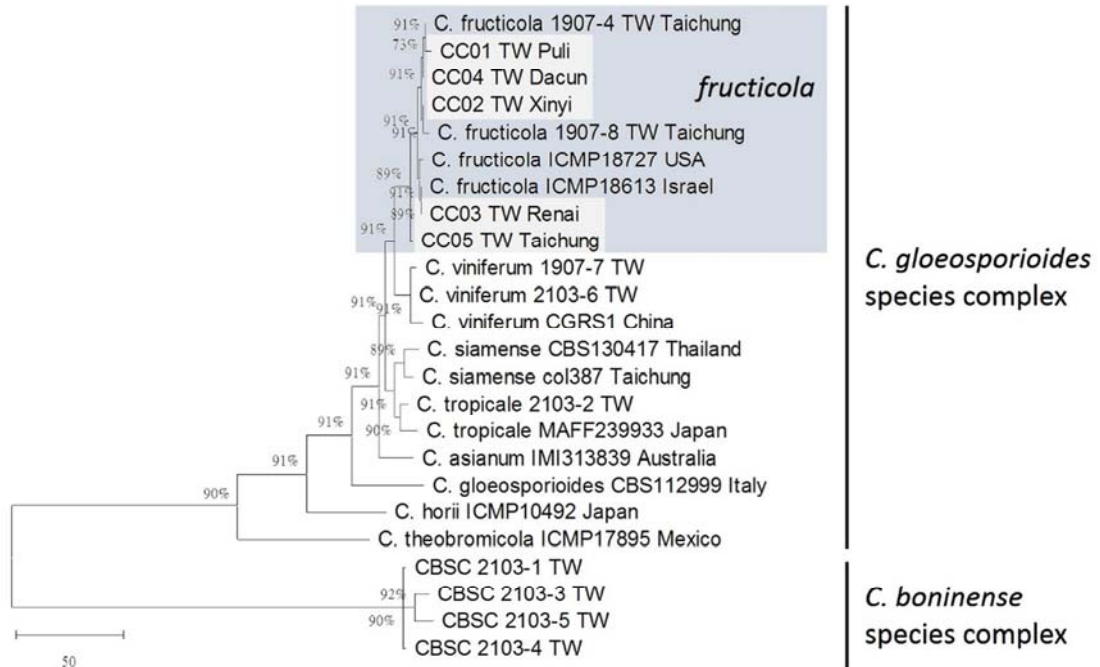
圖三、供試菌株 CC03 炭疽病菌之孢子形態。

A、B 為 200 倍焦距，C、D 為 400 倍焦距。

Fig 3. Spore morphology of anthracnose isolates CC03.

A and B: 200x magnification; C and D: 400x magnification.





圖四、分子親緣關係樹。

親緣關係樹採用 ITS、ACT、CAL、CHS-1、TUB2、GAPDH 等 6 個片段，以最大簡約法 (Maximum Parsimony, MP) 進行多基因分析。序列資訊依序為種名、樣本名稱、取樣地區。參考序列涵蓋 *C. gloeosporioides* 複合種群物種，採用 *C. boninense* 複合種群作為外群。

Fig 4. Phylogenetic tree.

The phylogenetic tree was constructed using six gene fragments (ITS, ACT, CAL, CHS-1, TUB2, and GAPDH) based on Maximum Parsimony (MP) analysis. Sequence data include species names, sample IDs, and sampling locations. Reference sequences represent species within the *C. gloeosporioides* species complex, with the *C. boninense* species complex used as an outgroup.

## 討 論

本研究由中部地區所蒐集 5 株番椒炭疽病原菌，經形態及分子生物學鑑定確認為 *Colletotrichum fructicola* Prihastuti, L. Cai & K.D. Hyde (圖四)。 *C. fructicola* 於 2009 年首次由咖啡果實 (*Coffea* sp.) 和花生 (*Arachis* sp.) 葉斑病中分離出 (Hyde *et al.*, 2009)。其在 PDA 培養基上的菌落形態以灰白色菌絲為主，混有粉紅色孢子堆及黑色沉澱。分生孢子多為兩端圓形的圓柱或橢圓形，直立，長度 11.8-14.1  $\mu\text{m}$ ，寬度 4.3-6.0  $\mu\text{m}$ 。依粉紅色及黑色沉澱的排列形態、有無、生長速度可分成 5 種 (Zhang *et al.*, 2015)。本研究的菌絲形態 (圖二) 接近文中的 IV (CC02-04)、V (CC01、05) 型，孢子大小落在前人紀錄的區間內。 *C. fructicola* 是一種具高度寄主適應性的植物病原真菌，於番椒上的病徵主要表現在果實成熟期，初期出現紅褐小點，隨後擴大形成黑色凹陷病斑，孢子成熟時可在

果實上觀察到輪狀粉紅色孢子堆，並伴隨果實乾裂現象(圖一-三)。除了番椒以外此菌種已知能感染果樹如甜橙、核桃、蘋果等，根莖類作物如木薯也有紀錄，甚至在花卉樹木上如山茶花和紅樹林等多種經濟作物(Bragança *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2022; Hu *et al.*, 2019; Joa *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2018; Norphanphoun *et al.*, 2023; Sharma & Shenoy, 2014; Wang *et al.*, 2018)。在臺灣，*C. fructicola* 亦為重要的病原菌，已在草莓、棗子及芒果等多種果樹上被分離鑑定(Chung *et al.*, 2020; Chung *et al.*, 2022; Duan & Chen, 2022; Wu *et al.*, 2020)。國內研究更深入探討了此菌在草莓植株上的分布，發現從草莓的根、匍匐莖、花冠及葉片都可分離到該菌種(Chung *et al.*, 2020)。此外，Wu 等人(2020)的研究更進一步證實，從芒果果實分離得到的 *C. fructicola* 菌株，再接再至芒果上能感染葉片及果實，顯示其對寄主植物的感染部位不只果實。

本研究發現賽普護汰寧與百克敏對所有供試菌株的抑制效果最佳，對孢子發芽和菌絲生長的抑制率達 86-100%(表二)，與沈等人(2011)所研究的百克敏對病原菌菌絲生長抑制效果相符。然根據 Schnabel 等人(2021)的研究，部分 *C. gloeosporioides* 複合種群菌種(由蘋果及草莓上分離到的 *C. fructicola* 及 *C. siamense*)對賽普護汰寧具一定耐藥性，抑制率僅達 70%。因此，建議輪替使用不同藥劑，以降低抗藥性風險。透過友善資材感受性測試，二氧化氯在高濃度下對番椒炭疽病菌的孢子發芽和菌絲生長均有明顯的抑制作用，肉桂油和石灰硫磺對孢子發芽的抑制效果佳，但對菌絲生長的抑制效果相對較低(表三)。以上三個友善資材透過不同機制破壞細胞膜，使得細胞膜的通透性增加，導致細胞死亡。如肉桂油的主要成分肉桂醛和肉桂酸，可以破壞細菌細胞膜的脂質雙層(Vasconcelos *et al.*, 2018)；石灰硫磺稀釋後為強鹼溶液，這種強鹼性環境能夠破壞真菌細胞膜的完整性(Montag *et al.*, 2005)；二氧化氯則是透過強氧化，使得菌絲表面明顯皺縮。青椒果實經二氧化氯 150 mg L<sup>-1</sup> 處理後，表皮未見損傷(Fu *et al.*, 2019)，顯示其可應用於果實病害防治。

針對番椒的綜合防治，過去的防治策略建議落實清園、選種無菌種子、耐病品種、避免過度施肥與果實受傷、保持園區通風良好等(彭，2004；郭，2020)，在當前的綜合防治策略中依然扮演重要角色。本場服務對象埔里農友林小姐(私人聯絡)曾反映園區長期施用待克利，但防治效果不佳。她認為採收初期雖能控制發病率於 1%以下，然後期每批收成時，都可發現超過 5%的病果。經實驗確認，待克利對該園的菌株(CC01)有 88%以上的抑制率，表示並未產生抗藥性，顯示田間管理為重要的議題。進一步與農友討論後發現，雖該園區已定期施用待克利，但並未確實將病果移除園外，造成園中二次感染風險提升，因此我們建議農友確實移除病果，並避免長期使用單一藥劑。

根據本次實驗結果與栽培觀察，可以於風雨後、園區尚未出現炭疽病時，輪流使用賽普護汰寧、待克利或百克敏抑制孢子發芽。進入採收季或出貨前，則可使用高濃度的二氧化氯、石灰硫磺或肉桂油等資材，加強對孢子發芽的抑制效果。當園區發現炭疽病菌時，應立即移除病果，避免病果留在園內而引發二次感染。移除病果後，建議再噴灑賽普護汰寧或二氧化氯，抑制殘留的孢子發芽，降低病害擴散的風險。番椒炭疽病防治上，合併過去的防治意見，加上於高風險時期及病害初期輪用化學藥劑、適時加入友善資材輔助，並落實田間衛生管理，多管齊下找出最合適的防治策略，達成番椒炭疽病的綜合防治效果，確保產量與品質。

表二、番椒炭疽病菌對藥劑感受性之分析試驗

Table 2. Sensitivity analysis of pepper anthracnose pathogens to fungicides

Isolate		Inhibition rate (%)			
		Cyprodinil + Fludioxonil	Difenoconazole	Dithianon	Pyraclostrobin
CC01	hyphae	100 <sup>a1</sup>	88 <sup>b</sup>	47 <sup>c</sup>	100 <sup>a</sup>
	spore	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	98 <sup>a</sup>
CC02	hyphae	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	48 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>
	spore	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	88 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>
CC03	hyphae	100 <sup>a</sup>	69 <sup>b</sup>	20 <sup>c</sup>	96 <sup>a</sup>
	spore	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
CC04	hyphae	96 <sup>a</sup>	98 <sup>a</sup>	36 <sup>b</sup>	98 <sup>a</sup>
	spore	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
CC05	hyphae	87 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>	35 <sup>b</sup>	86 <sup>a</sup>
	spore	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> The same letter within the column shown as non-significant by LSD at p=0.05.

表三、番椒炭疽病菌對友善資材感受性之分析試驗

Table 3. Sensitivity analysis of pepper anthracnose pathogens to eco-friendly agents

Isolate		Inhibition rate (%)				
		Chlorine dioxide		Cinnamon oil	Lime-Sulfur	Citrus Oil
		100 <sup>1</sup>	200 <sup>1</sup>	300 <sup>1</sup>	275 <sup>1</sup>	340 <sup>1</sup>
CC01	hyphae	56 <sup>b2</sup>	89 <sup>a</sup>	68 <sup>c</sup>	23 <sup>d</sup>	26 <sup>d</sup>
	spore	96 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>
CC02	hyphae	36 <sup>b</sup>	78 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup>	45 <sup>b</sup>	36 <sup>b</sup>
	spore	88 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>
CC03	hyphae	55 <sup>c</sup>	100 <sup>a</sup>	51 <sup>c</sup>	58 <sup>c</sup>	65 <sup>b</sup>
	spore	94 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>
CC04	hyphae	45 <sup>d</sup>	83 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	33 <sup>c</sup>	60 <sup>c</sup>
	spore	92 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>
CC05	hyphae	36 <sup>c</sup>	87 <sup>a</sup>	53 <sup>b</sup>	16 <sup>d</sup>	59 <sup>b</sup>
	spore	90 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> concentration (mg L<sup>-1</sup>) using for test.

<sup>2</sup> The same letter within the column shown as non-significant by LSD at p=0.05.

## 參考文獻

1. 王昭月、王怡雯、劉慧卿、林鳳琪、鄭櫻慧。2022。彩色甜椒設施栽培概述（二）設施彩椒的整枝要點與常見蟲害管理。農業試驗所技術服務季刊，132，11-15。
2. 沈原民、張淑婷、趙佳鴻、劉興隆。2011。甜椒果腐病及炭疽病之發生。臺中區農業改良場特刊，107，115-122。
3. 郭建志。2020。辣椒炭疽病之發生與防治。臺中區農情月刊第 249 期。
4. 陳任芳。2010。應用非農藥資材防治水稻稻熱病之研究。花蓮區農業改良場研究彙報，28，35-44。
5. 陳任芳、楊大吉。2005。番椒重要病蟲害防治技術。花蓮區農業專訊，53，5-11。
6. 彭淑貞。2004。甜椒常見病害及防治。苗栗區農業專訊，26，3-4。
7. 楊秀珠、余思葳。2012。甜椒、辣椒之病蟲害發生與管理，行政院農業委員會動植物防疫檢疫局、行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所編印。
8. 臺北農產運銷股份有限公司資訊部資管課。2024。112 年果菜運銷統計年報，臺北農產運銷股份有限公司。
9. 蔡志濃、謝廷芳、安寶貞、林筑蘋。2021。環境友善之病害防治資材應用。符合環境永續之作物友善管理研討會專刊（電子書）。
10. 蔡彝隍、陳冠蚊、黃健瑞。2021。台灣南部地區番石榴園炭疽病菌 (*Colletotrichum* spp.) 多樣性及對殺菌劑之敏感性。台灣農業研究，70，140-156。
11. Ali, A., Bordoh, P. K., Singh, A., Siddiqui, Y., Droby, S. 2016. Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Prot.* 90, 132-141.
12. Bragança, C. A. D., Silva, L. L., Haddad, F., Oliveira, S. A. S. 2016. First report of *Colletotrichum fruticola* causing anthracnose in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Brazil. *Plant Dis.* 100, 857.
13. Carbone, I., Kohn, L. M. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia.* 91(3), 553-556.
14. Chen, X. G., Liu, C. L., Liu, J. A., Zhou, G. Y. 2022. First report of *Colletotrichum fruticola* causing anthracnose on *Camellia yuhsienensis* in China. *Plant Dis.* 106(1), 321.
15. Chung, P. C., Wu, H. Y., Chen, Y. C., Hung, T. H., Chung, C. L. 2022. Development of a nested PCR assay for detecting *Colletotrichum siamense* and *Colletotrichum fruticola* on symptomless strawberry plants. *PLOS One.* 17(6), e0270687.
16. Chung, P. C., Wu, H. Y., Wang, Y. W., Ariyawansa, H. A., Hu, H. P., Hung, T. H., Tzean, S. S., Chung, C. L. 2020. Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose in Taiwan and description of a new species, *Colletotrichum miaoliense* sp. nov. *Sci Rep-UK.* 10(1), 14664.

17. Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., Johnston, P. R., Weir, B. S., Tan, Y. P., Shivas, R.G., Crous, P. W. 2012. The *Colletotrichum boninense* species complex. *Stud Mycol.* 73(1), 1-36.
18. Duan, C. H., Chen, G. Y. 2022. First report of *Colletotrichum fruticola* causing anthracnose on Indian Jujube (*Ziziphus mauritiana*) in Taiwan. *Plant Dis.* 106(6), 1751.
19. Fu, M. R., Zhang, X. M., Jin, T., Li, B. Q., Zhang, Z. Q., Tian, S. P. 2019. Inhibitory of grey mold on green pepper and winter jujube by chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) fumigation and its mechanisms. *Lwt-Food Sci Technol.* 100, 335-340.
20. Guerber, J. C., Liu, B., Correll, J. C., Johnston, P. R. 2003. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia.* 95(5), 872-895.
21. Guevara-Suarez, M., Cárdenas, M., Jiménez, P., Afanador-Kafuri, L., Restrepo, S. 2022. *Colletotrichum* species complexes associated with crops in Northern South America: a review. *Agronomy.* 12(3), 548.
22. Hall, T. A. 1999, January. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic Acids Symposium Series.* 41, 95-98.
23. Herrera-González, J. A., Bautista-Baños, S., Serrano, M., Romanazzi, G., Gutiérrez-Martínez, P. 2021. Non-chemical treatments for the pre-and post-harvest elicitation of defense mechanisms in the fungi-avocado pathosystem. *Molecules.* 26(22), 6819.
24. Holb, I. J. 2009. Fungal disease management in environmentally friendly apple production—a review. *Climate change, intercropping, pest control and beneficial microorganisms.* 219-292.
25. Hu, W. L., Ma, Y. Z., Chen, J. Z. 2019. First report of *Citrus sinensis* anthracnose caused by *Colletotrichum fruticola* in China. *Plant Dis.* 103(5), 1018.
26. Hyde, K. D., Cai, L., Cannon, P. F., Crouch, J. A., Crous, P. W., Damm, U., Goodwin, P.H., Chen, H., Johnston, P. R., Jones, E. B. G., Liu, Z. Y., McKenzie, E. H. C., Moriwaki, J., Noireung, P., Pennycook, S. R., Pfenning, L. H., Prihastuti, H., Sato, T., Shivas, R. G., Tan, Y. P., Taylor, P. W. J., Weir, B. S., Yang, Y. L., Zhang, J. Z. 2009. *Colletotrichum*—names in current use. *Fungal Divers.* 39(1), 147-182.
27. Joa, J. H., Lim, C. K., Choi, I. Y., Park, M. J., Shin, H. D. 2016. First report of *Colletotrichum fruticola* causing anthracnose on mango in Korea. *Plant Dis.* 100(8), 1793-1793.
28. Kim, C., Hassan, O., Lee, D., Chang, T. 2018. First report of anthracnose of apple caused by *Colletotrichum fruticola* in Korea. *Plant Dis.* 102(12), 2653-2653.
29. Kim, K. D., Oh, B. J., Yang, J. M. 1999. Differential interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* isolate with green and red pepper fruits. *Phytoparasitica.* 27, 97-106.

30. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol.* 35(6), 1547-1549.
31. Liao, C. Y., Chen, M. Y., Chen, Y. K., Wang, T. C., Sheu, Z. M., Kuo, K. C., Chang P. F. L., Chung, K. R., Lee, M. H. 2012. Characterization of three *Colletotrichum acutatum* isolates from *Capsicum* spp. *Eur J Plant Pathol.* 133, 599-608.
32. Lin, C. P., Ann, P. J., Huang, H. C., Chang, J. T., Tsai, J. N. 2017. Anthracnose of pitaya (*Hylocereus* spp.) caused by *Colletotrichum* spp., a new postharvest disease in Taiwan. *Journal of Taiwan Agricultural Research.* 66(3), 171-183.
33. Liu, F., Damm, U., Cai, L., Crous, P. W. 2013. Species of the *Colletotrichum gloeosporioides* complex associated with anthracnose diseases of Proteaceae. *Fungal Divers.* 61, 89-105.
34. Montag, J., Schreiber, L., Schönherr, J. 2005. An in vitro study on the postinfection activities of hydrated lime and lime sulphur against apple scab (*Venturia inaequalis*). *J Phytopathol.* 153(7-8), 485-491.
35. Norphanphoun, C., Hyde, K. D. 2023. First report of *Colletotrichum fructicola*, *C. rhizophorae* sp. nov. and *C. thailandica* sp. nov. on mangrove in Thailand. *Pathogens.* 12(12), 1436.
36. O'Donnell, K., Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 7(1), 103-116.
37. O'Donnell, K., Nirenberg, H. I., Aoki, T., Cigelnik, E. 2000. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience.* 41(1), 61-78.
38. Pakdeevaporn, P., Wasee, S., Taylor, P. W. J., Mongkolporn, O. 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. *Plant Breeding.* 124(2), 206-208.
39. Schnabel, G., Tan, Q., Schneider, V., Ishii, H. 2021. Inherent tolerance of *Colletotrichum gloeosporioides* to fludioxonil. *Pestic Biochem Phys.* 172, 104767.
40. Sharma, G., Shenoy, B. D. 2014. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. *Arch Phytopathol Pfl.* 47(10), 1179-1194.
41. Sheu, Z. M., Chiu, M. H., Chang, R. J., Kenyon, L. 2020. First report of *Colletotrichum coccodes* causing fruit anthracnose and leaf spot on sweet pepper in Taiwan. *New Dis Rep.* 42, 9-9.
42. Talhinhas, P., Baroncelli, R. 2021. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. *Fungal Divers.* 110(1), 109-198.
43. Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties

- and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22(22), 4673-4680.
44. Tozze Jr, H. J., Massola Jr, N. M., Camara, M. P. S., Gioria, R., Suzuki, O., Brunelli, K. R., Braga, R. S., Kobori, R. F. 2009. First report of *Colletotrichum boninense* causing anthracnose on pepper in Brazil. *Plant Dis.* 93(1), 106-106.
  45. Vasconcelos, N. G., Croda, J., Simionatto, S. 2018. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microb Pathogenesis.* 120, 198-203.
  46. Wang, Q. H., Li, D. W., Duan, C. H., Liu, X. H., Niu, S. G., Hou, L. Q., Wu, X. Q. 2018. First report of walnut anthracnose caused by *Colletotrichum fructicola* in China. *Plant Dis.* 102(1), 247-247.
  47. Weir, B. S., Johnston, P. R., Damm, U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Stud Mycol.* 73, 115-180.
  48. Wu, C. J., Chen, H. K., Ni, H. F. 2020. Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with mango anthracnose in Taiwan. *European. J Plant Pathol.* 157, 1-15.
  49. White, T. J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A guide to methods and applications/Academic Press, Inc.*
  50. Xiao, C. L., MacKenzie, S. J., Legard, D. E. 2004. Genetic and pathogenic analyses of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from strawberry and noncultivated hosts. *Phytopathology.* 94(5), 446-453.
  51. Zhang, P. F., Zhai, L. F., Zhang, X. K., Huang, X. Z., Hong, N., Xu, W., Wang, G. 2015. Characterization of *Colletotrichum fructicola*, a new causal agent of leaf black spot disease of sandy pear (*Pyrus pyrifolia*). *Eur J Plant Pathol.* 143, 651-662.

# Identification of Anthracnose Pathogens in Pepper Crops in Central Taiwan and the Sensitivity Analysis of these pathogens to Fungicides and Eco-friendly Agents<sup>1</sup>

Yu-Fang Huang<sup>2</sup>, Chao-Jen Wang<sup>2\*</sup>

## ABSTRACT

Peppers are one of Taiwan's most important economic crops. However, their yield and quality are threatened by various diseases, with anthracnose particularly damaging to the fruit. This study focused on peppers from the central region of Taiwan. We aimed to identify the pathogens responsible for anthracnose and assess the effectiveness of different fungicides and eco-friendly agents. Our goal was to explore strategies for improved disease management. Infected fruit samples were collected from Taichung, Changhua, and Nantou, resulting in five anthracnose pathogen isolates. Morphological observations revealed grayish-white colonies with dense mycelia, as well as short, cylindrical, transparent conidia. Phylogenetic analysis, including multi-gene sequencing of ITS, *ACT*, *GAPDH*, *TUB2*, *CHS-1*, and *CAL* gene regions, confirmed that all five isolates belonged to *Colletotrichum fructicola*. Among the tested fungicides, Cyprodinil + Fludioxonil showed the highest inhibition of the pathogen, with 87-100% suppression of mycelial growth and spore germination across the isolates. For eco-friendly agents, chlorine dioxide (200 mg/L) achieved significant inhibition of both spore germination and mycelial growth, with rates between 78% and 100%.

**Key words:** Pepper, Anthracnose, *Colletotrichum fructicola*, Cyprodinil + Fludioxonil, Chlorine Dioxide

---

<sup>1</sup>Contribution No. 1094 from Taichung DARES, MOA.

<sup>2</sup>Project Assistant and Associate Researcher of Taichung District Agricultural Research and Extension Station, MOA.

\*Corresponding Author: chaowang@tedares.gov.tw