

植物精油抑制灰黴病菌孢子發芽與防治蝴蝶蘭灰黴病之效果

陳俊宏¹ 謝廷芳^{2,3}

¹ 台中縣霧峰鄉 行政院農業委員會農業試驗所植物病理組

² 雲林縣古坑鄉 行政院農業委員會農業試驗所花卉研究中心

³ 聯絡作者, E-mail : tfhsieh@wufeng.tari.gov.tw ; 傳真 : +886-5-5820835

接受日期 : 中華民國 94 年 12 月 1 日

摘要

陳俊宏、謝廷芳. 2005. 植物精油抑制灰黴病菌孢子發芽與防治蝴蝶蘭灰黴病之效果. 植病會刊 14:257-264.

蒐集市面上常見十種植物精油包括天竺葵 (geranium)、橙花 (neroli)、快樂鼠尾草 (clary sage)、佛手柑 (bergamot)、香蜂草 (lemon balm)、依蘭 (ylang ylang)、萊姆 (lime)、洋甘菊 (chamomile)、迷迭香 (rosemary) 及花梨木 (rosewood) 等, 經稀釋 1000 與 2000 倍後, 分別測試其抑制灰黴病菌 *Botrytis cinerea* (B-134) 孢子發芽之效果。於相同倍數稀釋下, 植物精油在水瓊脂培養基平板上抑制孢子發芽之能力普遍較無菌水中為佳, 其中以天竺葵、橙花、依蘭、花梨木等四種植物精油之效果最好。另外, 天竺葵與花梨木稀釋 1000 倍亦具有良好之燻蒸抑菌功效。天竺葵等四種植物精油經系列稀釋後測試其對灰黴病菌孢子發芽之影響, 結果顯示天竺葵 1000 倍與 2000 倍稀釋液及橙花、依蘭、花梨木等 1000 倍稀釋液均具顯著之抑菌效果, 將之噴施於蝴蝶蘭花瓣上, 發現均具有預防灰黴病菌孢子感染花器之效果, 其中以依蘭及天竺葵最佳, 效果等同或優於推薦藥劑甲基多保淨 (Thiophanate-methyl, Topsin M) 之施用。另外, 本研究結果亦顯示植物精油在水瓊脂培養基平板上之抑菌結果與在蝴蝶蘭花瓣上之結果較為相符, 所得結果更可作為研發非農藥植物保護製劑之參考。

關鍵詞：植物精油、蝴蝶蘭、灰黴病、孢子發芽率、防治

緒言

蘭花為台灣花卉產業主要栽植作物之一, 於 2004 年之種植總面積約 475 公頃, 產量逾四千九百萬盆, 而蝴蝶蘭更為其中之重要且具高經濟價值之切花與盆花作物⁽¹⁾。每年於濕冷氣候下, 各地蘭花栽培區均常見由灰黴病菌 *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. 所引起之蘭花灰黴病, 花瓣上之病斑使蝴蝶蘭品質與產量大為降低, 尤其是對以切花或盆花為輸出產品之大規模企業化栽培蘭園, 該病害具有潛在致命之威脅^(34, 36)。栽培蝴蝶蘭之溫室或設施內, 由於塑膠布、玻璃或簡易設施阻隔, 溫室內之相對濕度較高, 且空氣較不流通, 在此高濕、通風不良之環境下, 正是蝴蝶蘭灰黴病發生及蔓延最有利之條件。病原菌在適當環境下, 於短時間內可形成大量分生孢子, 作為二次感染源, 而分生

孢子藉空氣流動、雨水及噴灌時飛濺之水滴可迅速蔓延傳播^(1, 34, 36)。當病害發生時, 農民或業者經常需投入大量藥劑防治, 無形中對於環境及人體皆具潛在性之危險及傷害, 也容易誘使病原菌產生抗藥性⁽³²⁾。

近年來政府與各界大力推行永續農業, 期能充分利用各種栽培管理之制度與設施, 以及對環境及人體具較低危險或傷害性之資材, 減少甚或取代化學藥劑之施用, 生產無化學藥劑殘留之農產品。而在栽培過程中, 病蟲害之有效管理為當前亟需重視與克服之課題⁽²²⁾。目前開發有關非農藥防治之技術為主要有效可行途徑之一, 其中利用植物成分以防治植物病蟲害之作法為目前較具安全性之主流研究^(5, 8, 10, 19, 20, 22, 25, 26, 27, 28, 33)。健康植物體中先天固存或是經由後天刺激誘發, 會產生許多種類之抑菌或抗菌物質, 如寡醣類

(oligosaccharides)、醣蛋白 (glycoprotein)、酚類 (phenol compounds)、單寧 (tannins)、類黃鹼素 (flavonoids)、皂素 (saponins)、配醣體 (glucosides)、生物鹼 (alkaloids)、植物抗菌素 (phytoalexins)、香豆素 (coumarin) 等 (2, 6, 9, 12, 18, 24, 33, 35)，用以防禦抵抗植物病原菌之攻擊。植物精油經由提煉萃取之過程後，亦富含某些抗菌或抑菌物質，故本研究選購市面上宣稱具有殺菌及消炎功效之植物精油，以灰黴病菌為對象，測試其抑菌及防病效果，期能作為研發非農藥植物保護製劑之參考。

材料與方法

植物精油之收集與母液之製備

購買宣稱具有殺菌及消炎功效之植物精油 (德億化工原料有限公司, The Yih Chemical Co., LTD., Taichung) 十種，共計有天竺葵 (geranium, *Pelargonium graveolens* (L.) L'Her ex Ait.)、橙花 (neroli, *Citrus aurantium* L.)、快樂鼠尾草 (clary sage, *Salvia sclarea* L.)、佛手柑 (bergamot, *Citrus bergamia* Risso)、香蜂草 (lemon balm, *Melissa officinalis* L.)、依蘭 (ylang ylang, *Cananga odorata* (Lam.) Hook. F & Thoms.)、萊姆 (lime, *Limonia aurantifolia* (Christm.) Swingle)、洋甘菊 (chamomile, *Matricaria chamomilla* L.)、迷迭香 (rosemary, *Rosmarinus officinalis* L.) 及花梨木 (rosewood, *Rosmarinus officinalis* L.) 等，取植物精油原液與 Tween 20 以 9 : 1 之體積比例混合即成母液，震盪均勻後置於褐色玻璃瓶中，於室溫下儲存備用。

真菌接種源之製備

取農業試驗所植物病理組蔬菜花卉研究室保存之灰黴病菌 [*Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. (B-134)]，經兩次單孢分離培養於馬鈴薯葡萄糖洋菜培養基試管斜面中，置於 20 ± 2°C、24 小時近紫外光燈 (Black light blue lamp, F10T8BLB, Sankyo Denki, Japan) 光照下培養約 3-4 週。每一試管加入 10 ml 無菌水，經震盪後以兩層紗布過濾，以血球計數器計算孢子濃度，並以無菌水調整孢子懸浮液濃度為每毫升約含 10⁵ 個孢子。

植物精油對灰黴病菌孢子發芽的影響

玻片測試法：將十種植物精油以無菌水各稀釋至 500 倍及 1000 倍，並加入葡萄糖溶液使其最終濃度達 1%，分別與 B-134 孢子懸浮液等體積混和均勻，使植物精油最終稀釋倍數分別為 1000 倍及 2000 倍。分別

取各混合液 20 μl 滴於八孔載玻片上，每處理四重複，以無菌水作為對照組。八孔載玻片以三角玻璃環墊高，置於內含 10 ml 無菌水之 9 cm 培養皿中，蓋上皿蓋並以封口袋套袋保濕，靜置於 20 ± 2°C 定溫箱中，16 hr 後取出觀察計算孢子發芽率，發芽管長度超過孢子寬度始判定為發芽，每重複紀錄 100 個孢子。經三次之重複試驗。

水瓊脂培養基平板測試法：製備 2% 水瓊脂培養基平板，並加入葡萄糖溶液使其最終濃度達 1%，於滅菌後倒平板前分別加入各植物精油並搖晃混合均勻，成為稀釋濃度 1000 倍及 2000 倍之水瓊脂培養基平板，待其冷卻至室溫後，將 200 μl 之 B-134 孢子懸浮液以三角玻璃棒均勻塗抹於平板上，每處理四重複，以加入與精油同量之無菌水之水瓊脂培養基平板作為對照組，將各培養皿以石臘膜 (Parafilm, Pechiney Plastic Packaging, Menasha, WI 54952, Chicago, IL 60631, USA) 密封後置於 20 ± 2°C 定溫箱中，16 hr 後取出觀察計算孢子發芽率，發芽管長度超過孢子寬度始判定為發芽，每重複紀錄 100 個孢子。試驗重複三次。

精油燻蒸抑菌測試法：製備 2% 水瓊脂培養基平板，並加入葡萄糖溶液使其最終濃度達 1%，於滅菌後將 6 cm 培養皿上蓋置於 9 cm 培養皿中，再將水瓊脂培養基倒入 6 cm 培養皿上蓋與 9 cm 培養皿之間。各植物精油以無菌水分別稀釋至 1000 及 2000，待水瓊脂培養基冷卻至室溫後取各精油稀釋液 5 ml 注入 6 cm 培養皿上蓋中，使其與水瓊脂培養基隔絕，將 100 μl 之 B-134 孢子懸浮液以三角玻璃棒均勻塗抹於平板上，以 5 ml 無菌水加入 6 cm 培養皿上蓋中作為對照組。將各培養皿以石臘膜密封後置於 20 ± 2°C 定溫箱中，16 hr 後取出觀察計算其發芽率，發芽管長度超過孢子寬度始判定為發芽，每重複紀錄 100 個孢子。試驗重複三次。

不同濃度植物精油對灰黴病菌孢子發芽之影響

製備 2% 水瓊脂培養基平板，並加入葡萄糖溶液使其最終濃度達 1%，於滅菌後倒平板前分別加入初步篩選出抑菌效果較佳之各植物精油，並搖晃混合均勻，使成為稀釋 1000 倍、2000 倍、4000 倍及 8000 倍之水瓊脂培養基平板，待其冷卻至室溫後，將 200 μl 之 B-134 孢子懸浮液以三角玻璃棒均勻塗抹於平板上，每處理四重複，以加入無菌水替代植物精油之水瓊脂培養基平板作為對照組，將各培養皿以石臘膜密封後置於 20 ± 2°C 定溫箱中，16 hr 後取出觀察計算其發芽率，發芽管長度超過孢子寬度始判定為發芽，每重複紀錄 100 個孢子。本試驗重複三次。

蝴蝶蘭切花試驗

向育品生物科技股份有限公司 (Yu Pin Biological Technology Co., LTD., Chiayi) 購得單一品種之蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis* sp.) 開花植株 (品種編號#88), 以已滅菌之剪刀剪下帶有花梗且花瓣表面無傷口與病斑之蝴蝶蘭花朵, 將花梗插入 10 ml 小試管內, 並加入濃度 0.5 % 葡萄糖溶液 8 ml, 將各試管放置於試管架上。以 100 ml 容量之塑膠噴霧瓶將 50 ml 天竺葵 1000 倍及 2000 倍稀釋液、橙花、依蘭和花梨木等 1000 倍稀釋液均勻噴佈於蝴蝶蘭花瓣表面, 每朵花瓣接種量約為 1 ml, 另以植物保護手冊⁽²⁾推薦之 70% 甲基多保淨 (Thiophanate-methyl, Topsin M) 可濕性粉劑 2500 倍稀釋液均勻噴佈於花瓣表面, 每處理花瓣四重複, 並以噴佈無菌水作為對照組, 室溫下靜置約 2 hr 晾乾。然後以 100 ml 容量之塑膠噴霧瓶將孢子懸浮液 50 ml 分別均勻噴佈於花瓣表面, 將試管架置於加入 300 ml 逆滲透水之塑膠盆中, 以乾淨塑膠袋套袋保濕後, 靜置於 20±2°C 定溫箱中。接種後當天起每兩天觀察花瓣上病徵發展, 並以直徑 1 cm 圓孔之尺規為觀察圈, 於每朵花瓣上隨機取兩處計算觀察圈內之病斑數計算平均值, 並推估每朵花瓣上病斑佔花瓣之面積百分比,

另於每朵花瓣上隨機選取十個病斑, 量取病斑直徑大小。試驗重複二次。

結果

植物精油對灰黴病菌孢子發芽的影響

以玻片測試法評估各種植物精油對灰黴病菌 B-134 孢子發芽之影響, 發現 1000 倍稀釋之天竺葵、橙花、佛手柑及萊姆等具顯著抑制孢子發芽之效果 (表一), 其他植物精油在 1000 倍及 2000 倍稀釋下, 對於 B-134 孢子發芽抑制之效果與對照組相較下並無明顯之差異 ($p<0.05$), 其中橙花 2000 倍、快樂鼠尾草 2000 倍、佛手柑 2000 倍、香蜂草 1000 倍及 2000 倍、依蘭 2000 倍、萊姆 2000 倍、洋甘菊 1000 倍及 2000 倍、迷迭香 1000 倍及 2000 倍、花梨木 1000 倍及 2000 倍等甚至有促進孢子發芽之效果 (表一)。

而水瓊脂培養基測定法檢測各種植物精油對灰黴病菌 B-134 孢子發芽之影響, 發現天竺葵 1000 倍及 2000 倍、橙花 1000 倍、佛手柑 1000 倍、依蘭 1000 倍及 2000 倍、花梨木 1000 倍及 2000 倍稀釋液均顯著

表一、植物精油對灰黴病菌 B-134 孢子發芽的影響

Table 1. Effect of plant essential oils on spore germination of *Botrytis cinerea* B-134 *in vitro*

Essential oil	Diluted fold	Spore germination (%)		
		Glass slide	Agar plate	Fumigation (on agar plate)
Check (Water)		86 bc ¹	95 ab	8 a
Geranium (天竺葵)	1000X	49 g	0 f	5 l
	2000X	79 cd	3 f	36 i
Neroli (橙花)	1000X	70 e	0 f	27 j
	2000X	94 ab	87 abcd	63 gh
Clary sage (快樂鼠尾草)	1000X	89 ab	84 bcd	39 i
	2000X	93 ab	95 abc	71 def
Bergamot (佛手柑)	1000X	75 de	55 e	69 efg
	2000X	93 ab	92 abcd	82 ab
Lemon balm (香蜂草)	1000X	92 ab	93 abcd	78 bcd
	2000X	95 ab	97 a	82 ab
Ylang ylang (依蘭)	1000X	88 ab	0 f	66 fg
	2000X	94 ab	82 d	74 cde
Lime (萊姆)	1000X	61 f	89 abcd	83 ab
	2000X	91 ab	93 abcd	82 ab
Chamomile (洋甘菊)	1000X	95 ab	93 abcd	59 h
	2000X	97 a	96 a	78 bc
Rosemary (迷迭香)	1000X	92 ab	91 abcd	86 a
	2000X	95 ab	96 a	88 a
Rosewood (花梨木)	1000X	91 ab	0 f	13 k
	2000X	93 ab	84 cd	42 i

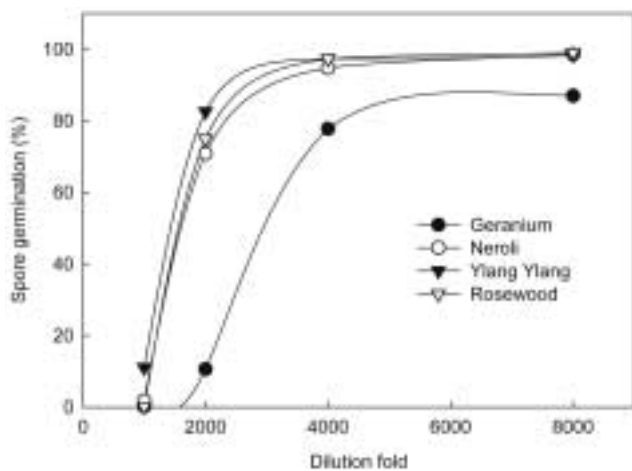
¹ Means followed by the same letter in the column are not significantly different ($P>0.05$) according to Duncan's multiple range test.

($p < 0.05$) 降低 B-134 孢子發芽率，其中以稀釋 1000 倍之天竺葵、橙花、依蘭及花梨木可完全抑制孢子發芽率(表一)；而其他植物精油在 1000 倍及 2000 倍稀釋下對於孢子發芽並無明顯抑制作用(表一)。

將植物精油與水瓊脂培養基隔離，測試植物精油對 B-134 孢子發芽之煙蒸抑制作用時發現，除佛手柑 2000 倍、香蜂草 2000 倍、萊姆與迷迭香 1000 及 2000 倍不具抑菌效果外，其餘均有降低孢子發芽之功效，其中以天竺葵 1000 倍稀釋液之煙蒸抑菌作用最為顯著($p < 0.05$)，而花梨木 1000 倍、橙花 1000 倍、天竺葵 2000 倍、快樂鼠尾草 1000 倍與花梨木 2000 倍之煙蒸抑制效果次之(表一)。

不同濃度植物精油對灰黴病菌孢子發芽之影響

進一步選出天竺葵、橙花、依蘭及花梨木四種植物精油分別作系列稀釋，以水瓊脂培養基測定法檢測其對 B-134 孢子發芽之影響，結果顯示天竺葵 1000 倍及 2000 倍、橙花、依蘭及花梨木 1000 倍稀釋液對 B-134 孢子具顯著之發芽抑制效果(圖一)，然而天竺葵高於 4000 倍、橙花、依蘭及花梨木高於 2000 倍的稀釋後，即不具顯著抑制灰黴病菌孢子發芽之效果(圖一)。



圖一、不同稀釋濃度的植物精油對灰黴病菌 B-134 孢子發芽的影響。

Fig. 1. Effect of different concentration of plant essential oils on spore germination of *Botrytis cinerea* B-134.

蝴蝶蘭切花試驗

將選出具有抑菌作用之植物精油稀釋液直接噴佈於蝴蝶蘭花瓣上，測試其抑制灰黴病發生之效果。經二次重複試驗結果顯示，各種處理在第二天觀察時即表

現明顯抑制灰黴病病徵之效果，與對照組比較呈顯著差異性($p < 0.05$)，於第六天觀察時不論在病斑數、病斑面積或病斑大小方面，仍然與對照組具明顯差異性(表二)；一般而言，以天竺葵及依蘭兩种植物精油 1000 倍稀釋液之效果最佳，具有明顯預防灰黴病之效果，與推薦藥劑甲基多保淨之效果相當甚至更佳(表二、圖二)。

討論

健康植物體中固存許多種類之抗菌或抑菌物質，經刺激後即會大量產生並累積以抵抗外來之侵害，而經適當之萃取或提煉過程可得到此類抑菌成分^(6, 9, 12, 18, 24, 33, 35)。本研究選購之十種植物精油中，以天竺葵、橙花、依蘭及花梨木等四種精油具有良好抑制灰黴病菌之效果，並可達到降低蝴蝶蘭遭受灰黴病為害之功效。本研究首先篩選供試植物精油對灰黴病菌 *B. cinerea* B-134 孢子之抑菌表現，初步於無菌水中測試各植物精油對 B-134 孢子發芽之影響，結果發現這些植物精油對 B-134 孢子發芽之抑制效果並不佳，其中橙花 2000 倍、快樂鼠尾草 2000 倍、佛手柑 2000 倍、香蜂草 1000 倍及 2000 倍、依蘭 2000 倍、萊姆 2000 倍、洋甘菊 1000 倍及 2000 倍、迷迭香 1000 倍及 2000 倍、花梨木 1000 倍及 2000 倍等稀釋液與對照組無異，甚至有促進孢子發芽之效果。根據相關研究推測，植物精油於水中可能無法發揮其抗菌或抑菌能力^(7, 9, 17)，或是所含抗菌或抑菌物質在水中無法對 B-134 孢子有效抑制，而該類成分可能為揮發性或非水溶性^(4, 6, 7, 12, 13, 14, 16, 17, 21)，故無法發揮有效之抑制功效。諸多研究指出植物精油所含之其他成分可能有促進孢子發芽之作用^(6, 9, 17, 23, 30)，在本研究中亦觀察到供試精油有促進 B-134 孢子發芽之現象，推測植物精油中除抑菌或抗菌成分之外，尚有許多可促進孢子發芽之成分，而當抑菌或抗菌成分無法有效作用時，此類成分即會促進孢子發芽。

本研究進一步將植物精油添加於水瓊脂平板培養基中，測試植物精油對 B-134 孢子之抑制效果，發現十種供試植物精油中，天竺葵 1000 倍及 2000 倍、橙花、依蘭及花梨木等 1000 倍稀釋液對於 B-134 孢子發芽具顯著($p < 0.05$) 之抑制效果。此結果與無菌水中之表現大為不同，顯示於水瓊脂平板培養基中，天竺葵、橙花、依蘭及花梨木等植物精油之抗菌或抑菌成分能有效釋放，對於 B-134 孢子之發芽能達到明顯之抑制效果。事實上許多研究亦曾指出某些植物精油中所含有效之抑菌或抗菌成分為揮發性或非水溶性物質^(4, 6, 7, 12, 13, 14, 16, 17, 21)，據此推論天竺葵等植物精油中之有效抑

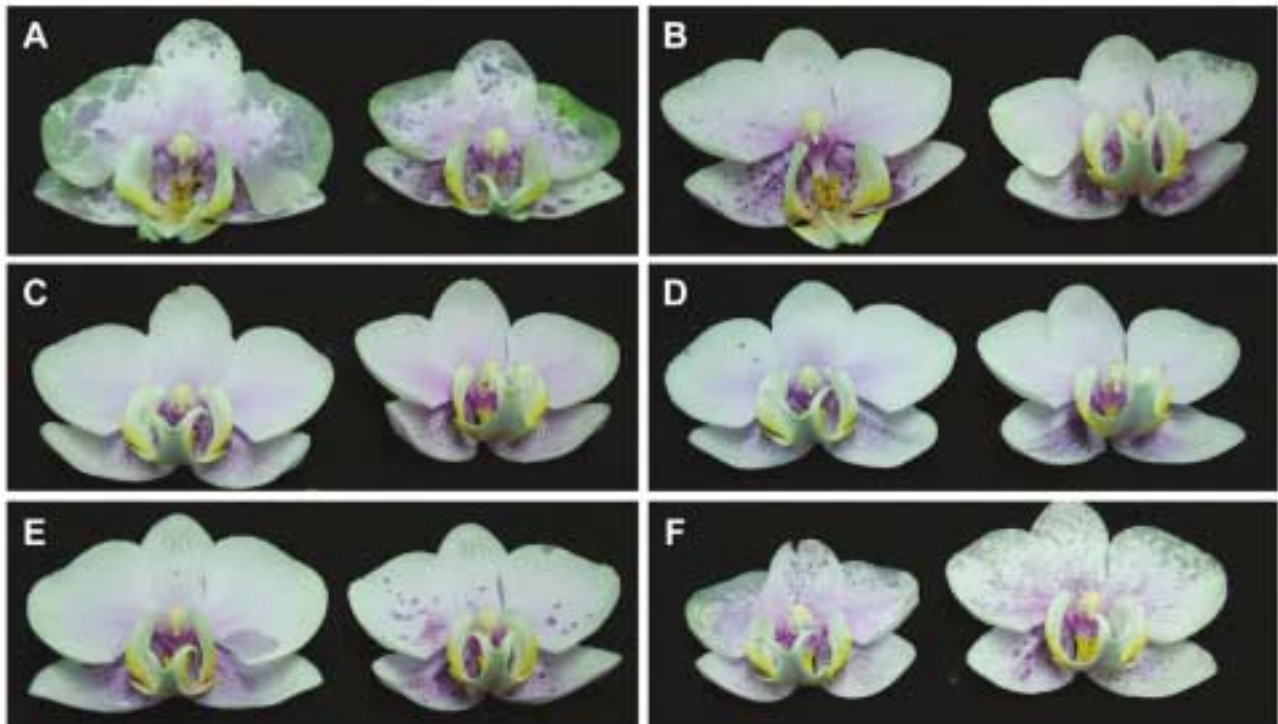
表二、植物精油防治蝴蝶蘭花瓣灰黴病的效果

Table 2. Effect of plant essential oils on control of gray mold of Phalaenopsis

Treatment	Two days after inoculation			Four days after inoculation			Six days after inoculation		
	Lesion number	Lesion area(%)	Lesion size(mm)	Lesion number	Lesion area(%)	Lesion size(mm)	Lesion number	Lesion area(%)	Lesion size(mm)
Experiment I									
Check (Water)	6.5	3.7 a ¹	1.5	8.5	13.1 a	2.5	15.1	38.4 a	5.4
Geranium 1000X	0.0	0.0 b	0.0	0.6	0.1 b	1.0	3.2	4.2 bc	1.3
Geranium 2000X	0.4	0.1 b	0.4	1.1	0.3 b	1.2	4.5	5.1 bc	1.5
Neroli 1000X	0.6	0.3 b	1.0	1.5	0.6 b	1.3	6.3	8.2 b	1.8
Ylang ylang 1000X	0.0	0.0 b	0.0	0.0	0.0 b	0.0	2.1	1.2 c	0.8
Rosewood 1000X	1.1	0.4 b	1.0	2.0	2.2 b	1.4	8.5	11.7 b	1.6
Topsin M 2500X	0.6	0.2 b	1.0	1.4	0.3 b	1.2	8.2	10.6 b	1.7
Experiment II									
Check (Water)	8.1	2.7 a	1.2	10.3	3.7 a	1.5	17.5	43.8 a	— ²
Geranium 1000X	0.6	0.4 b	1.0	1.1	0.4 c	1.0	5.4	6.4 c	1.4
Geranium 2000X	0.8	0.2 b	1.0	2.3	0.7 c	1.1	5.4	7.8 bc	1.3
Neroli 1000X	0.4	0.2 b	1.0	0.4	0.2 c	1.0	7.0	14.1bc	1.6
Ylang ylang 1000X	0.4	0.2 b	0.6	0.6	0.3 c	1.0	2.4	3.5 c	1.5
Rosewood 1000X	1.9	0.6 b	1.0	3.6	2.0 b	1.1	3.3	28.1 ab	1.3
Topsin M 2500X	0.5	0.3 b	0.8	8.0	2.0 b	1.0	12.3	21.9 bc	2.0

¹ Means followed by the same letter in the column are not significantly different ($P>0.05$) according to Dnucan's multiple range test.

² Do not determinate due to the lesion fusion together.



圖二、植物精油抑制蝴蝶蘭花瓣灰黴病的效果

Fig. 2. Effect of plant essential oils of geranium, neroli, ylang ylang and rosewood on suppression of Phalaenopsis gray mold caused by *Botrytis cinerea*. A. Check (Water), B. Geranium oil (1000X), C. Neroli oil (1000X), D. Ylang ylang oil (1000X), E. Rosewood oil (1000X), and F. Topsin M fungicide (2500X).

菌或抗菌成分，應為非水溶性或揮發性之物質，值得進一步試驗證明。綜合上述結果，筆者認為往後進行類似之抑菌篩選時，應注意篩選方法之選擇。

另外，許多植物精油具有濃烈芬芳香味，被證實其中部分抑菌或抗菌成分如酚類、醛類或醇類等的揮發性物質，可作為煙蒸劑抑制 *Phytophthora palmivora*⁽⁵⁾、*Rhizoctonia solani*⁽¹⁵⁾、*Ralstonia solanacearum*⁽³¹⁾ 等土壤病原菌，以及作為其他病原菌之殺菌劑^(7, 13, 16, 22, 33)、殺線蟲劑⁽²⁸⁾或農作物採後儲藏時之保護製劑^(3, 13, 16, 19, 24, 29, 33)，具有良好之效果。針對本研究供試之十種植物精油進行煙蒸抑菌試驗，發現天竺葵及花梨木兩種植物精油具有良好之煙蒸抑制 B-134 孢子發芽之能力，顯示本研究所初步篩選出之有效植物精油中亦具有揮發性之抑菌或抗菌成分，將來可進一步分析其中有效之抑菌或抗菌成分。

為探知篩選出之天竺葵、橙花、依蘭及花梨木等四種供試精油對 B-134 孢子發芽抑制之有效作用濃度，遂於水瓊脂培養基平板中進行系列稀釋的抑菌試驗，結果發現天竺葵 1000 倍及 2000 倍、橙花 1000 倍、依蘭 1000 倍及花梨木 1000 倍等稀釋液均為有效抑制 B-134 孢子發芽之作用濃度。進一步以此四種植物精油及其有效作用濃度來進行防治蝴蝶蘭花瓣灰黴病之試驗，發現均具有預防 B-134 孢子感染花器之功效，與推薦藥劑甲基多保淨之效果相近甚至更為優秀，試驗期間亦無發生藥害現象，顯示此四種精油具有發展天然植物保護製劑之潛力，日後可進一步進行大範圍之溫室試驗，以驗證篩選出之植物精油可否普遍應用於實際溫室狀況，未來更可將之應用於天然植物保護製劑之研發與製作。

另外，比較植物精油在蝴蝶蘭花瓣上對灰黴病之抑病表現與植物精油初步篩選之抑菌結果，發現植物精油在蝴蝶蘭花瓣上，與其在水瓊脂平板培養基上對 B-134 孢子發芽抑制之結果相吻合，而與其在無菌水中對 B-134 孢子發芽抑制之結果較不相符。因此，於篩選植物精油防治植物病害之相關試驗時，可以水瓊脂培養基測試法作為主要之篩選方式，其篩選結果將較為接近植株上之防治表現。在近年來致力於開發有關非農藥防治技術之下，本研究所得各項結果期可提供日後研製相關非農藥植物保護製劑之參考。

謝 辭

本研 承蒙國科會計畫「NSC94-2313-B-055-002」經費補助，特致謝忱。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Agrios, G. N. 2004. Plant Pathology. 5th ed. Academic press. 510-514.
2. Anonymous. 2002. Plant Protection Manual. Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung, Taiwan. 510 pp. (in Chinese)
3. Arras, G., Piga, A. and D'Hallewin, G. 1993. The use of *Thymus capitatus* essential oil under vacuum conditions to control *Penicillium digitatum* development on citrus fruit. Acta Hort. 344: 147-153.
4. Arras, G., Agabbio, M., Piga, A. and D'hallewin, G. 1995. Fungicide effect of volatile compounds of *Thymus capitatus* essential oil. Acta Hort. 379: 593-600.
5. Awuah, R. T. 1994. In vivo use of extracts from *Ocimum gratissimum* and *Cymbopogon citratus* against *Phytophthora palmivora* causing blackpod disease of cocoa. Ann. Appl. Biol. 124: 173-178.
6. Baratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G. and Ruberto, G. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour Fragrance J. 13: 235-244.
7. Bhaskara Reddy, M. V., Angers, P., Gosselin, A., and Arul, J. 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus Vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry. 47: 1515-1520.
8. Bowers, J. H. and Locke, J. C. 2000. Effects of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in the greenhouse. Plant Dis. 84: 300-305.
9. Chen, C. M. 1996. Inhibitory effect of plant oils on spore germination of plant pathogenic fungi. Bull. Hualien Dist. Agric. Improv. Stn. 12 : 71-92. (in Chinese with English abstract)
10. Chung, W. C., Huang, J. W., Huang, H. C. and Jen, J. F. 2002. Effect of ground *Brassica* seed meal on control of *Rhizoctonia* damping-off of cabbage. Can. J. Plant Pathol. 24: 211-218.
11. COA. 2004. Agriculture Statistics Yearbook 2004. Council of Agriculture, Executive Yuan, Taipei, Taiwan. 295 pp. (in Chinese)
12. Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. 1999. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. Lett. Appl. Microbiol. 29: 130-135.
13. Crespo, M. E., Jimenez, J., Gomis, E. and Navarro, J. 1990. Antibacterial activity of the essential oil of

- Thymus serpylloides* sub. *gadorensis*. Microbios 61: 181-184.
14. Cruz, T., Cabo, M. P., Cabo, J. and Ruiz, C. 1989. *In vitro* antibacterial effect of the essential oil of *Thymus longiflorus* Boiss. Microbios 60: 59-61.
 15. Dhingra, O. D., Costa, M. L. N., Silva, JR. G. J. and Mizubuti, E. S. G. 2004. Essential oil mustard to control *Rhizoctonia solani* causing seedling damping off and seedling blight in nursery. Fitopatol. Bras. 29: 683-686.
 16. Dorman, H. J. D. and Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88: 308-316.
 17. Gangrade, S. K.; Shrivastava, R. D.; Sharma, O. P.; Jain, N. K.; Trivedi, K. C. 1991. *In vitro* antifungal effect of the essential oils. Indian Perfum. 35: 46-48.
 18. Hsieh, T. F., Huang, J. H., Hsieh, L. J., Hu, M. F., and Ko, W. H. 2005. Antifungal effect of plant extracts on phytopathogenic fungi. Plant Pathol. Bull. 14 : 59-66. (in Chinese with English abstract)
 19. Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.
 20. Ko, W. H., Wang S. Y., Hsieh, T. F. and Ann, P. J. 2003. Effects of sunflower oil on tomato powdery mildew caused by *Oidium neolycopersic*. J. Phytopathol. 151: 144-148.
 21. Letessier, M. P., Svoboda, K. P. and Walters, D. R. 2001. Antifungal activity of the essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis*). J. Phytopathol. 149: 673-678.
 22. Lin, C. Y., Ann, P. J., Chang, C. A., Lo, C. T., and Hsieh, T. F. 2004. Non-chemical Control of Plant Diseases. (2nd ed.). Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Republic of Chinese. Taichung, Taiwan. 20pp. (in Chinese)
 23. Lis-Balchin, M. and Deans, S. G. 1997. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. J. Appl. Microbiol. 82: 759-762.
 24. Liu, W. T., Chu, C. L. and Zhou, T. 2002. Thymol and acetic acid vapors reduce post-harvest brown rot of apricots and plums. Hort. Science. 37 : 151-156.
 25. Muto, M., Huang, J. W., and Takahashi, H. 2004. Effect of water-soluble extracts of radish seed meal on control of lettuce brown leaf spot (*Acremonium lactucae* Lin *et al.*). Plant Pathol. Bull. 13: 275-282.
 26. Muto, M., Takahashi, H., Ishihara, K., Yuasa, H., and Huang, J. W. 2005. Antimicrobial activity of medicinal plants used by indigenous people in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 14: 13-24.
 27. Muto, M., Takahashi, H., Ishihara, K., Yuasa, H., and Huang, J. W. 2005. Control of black leaf spot (*Alternaria brassicicola*) of crucifers by extracts of black nightshade (*Solanum nigrum*). Plant Pathol. Bull. 14: 25-34.
 28. Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z. and Spiegel, Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. Phytopathology 90: 710-715.
 29. Oxenham, S. K., Svoboda, K. P. and Walters, D. R. 2005. Altered growth and polyamine catabolism following exposure of the chocolate spot pathogen *Botrytis fabae* to the essential oil of *Ocimum basilicum*. Mycologia 97 : 576-579.
 30. Pattnaik, S., Subramanyam, V. R. and Kole, C. R. 1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils *in vitro*. Microbios 86 : 237-246.
 31. Pradhanang, P. M., Momol, M. T., Olson, S. M. and Jones, J. B. 2003. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. Plant Dis. 87 : 423-427.
 32. Pu., X. M. 1988. Studies on the fungicide resistance of *Botrytis cinerea* to vinclozolin. Department of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University. Master thesis. 54 pp. (in Chinese with English abstract)
 33. Thanassoulopoulos, C.C. and Yanna, L. 1997. On the biological control of *Botrytis cinerea* on kiwifruit cv. "HAYWARD" during storage. Acta Hort. 444:757-762
 34. Wey, G. C. 1994. Occurrence and chemical control of Phalaenopsis petal blight caused by *Botrytis cinerea*. Rept. Taiwan Sugar Res. Inst. 144: 11-23. (in Chinese with English abstract)
 35. Wilson, C. L., Solar, J. M., El Ghaouth, A., Wisniewski, M. E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Dis. 81 : 204-210.
 36. Yang, H. C. 1994. The occurrence and control of gray mold on ornamental plants. Pages 167-176 in: Proceeding of Symposium on Pests and Diseases of Floriculture in Taiwan. The Plant Protection Society of the Republic of China. Special Publication New No. 2. Taichung, Taiwan. (in Chinese with English abstract)

ABSTRACT

Chen, C. H.¹, and Hsieh, T. F.^{2,3} 2005. Effects of plant essential oils on *Botrytis cinerea* spore germination and gray mold incidence in Phalaenopsis. Plant Pathol. Bull. 14:257-264. (¹ Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, COA, Wufeng, Taichung, Taiwan; ² Department of Breeding, Floriculture Research Center, Agricultural Research Institute, COA, KuKeng, YunLin, Taiwan; ³ Corresponding author, E-mail: tfhsieh@wufeng.tari.gov.tw; FAX: +886-5-5820835)

Ten plant essential oils derived from geranium (*Pelargonium graveolens* (L.) L'Her ex Ait.), neroli (*Citrus aurantium* L.), clary sage (*Salvia sclarea* L.), bergamot (*Citrus bergamia* Risso), lemon balm (*Melissa officinalis* L.), ylang ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. F & Thoms.), lime (*Limonia aurantifolia* (Christm.) Swingle), chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and rosewood (*Rosmarinus officinalis* L.) were screened for antifungal activity against spore germination of *Botrytis cinerea* isolate B-134. Each plant essential oil was diluted to 1,000 and 2,000 folds and tested for their antifungal activity by glass slide method and water agar plate method. Results showed that the average ability of the tested plant essential oils to suppress spore germination of *B. cinerea* on the water agar plate was much better than that of in sterile distilled water on slide. Among ten different kinds of essential oils, geranium, neroli, ylang ylang and rosewood essential oils were the best four in suppression of spore germination. Meanwhile, the geranium and rosewood essential oil at 1,000 diluted fold also showed the good fumigated suppression to spore germination. The serial dilutions of four effective essential oils were further prepared to test their suppressive effectiveness for spore germination. Results showed that geranium essential oil at 1,000 and 2,000 diluted folds, and neroli, ylang ylang and rosewood essential oil at 1,000 diluted fold were the effective concentration to suppress the spore germination. Gray mold of Phalaenopsis caused by *B. cinerea* also significantly decreased after Phalaenopsis petal was sprayed with these effective plant essential oils at the suitable diluted concentration. The effect of disease suppression by essential oils of ylang ylang and geranium was equal to or better than that of the chemical Topsin M. Moreover, the results of the ability of plant essential oil in decreasing gray mold disease of Phalaenopsis petal were similar to the ability in suppressing spore germination of *B. cinerea* on water agar plate.

Key words: Essential oil, Phalaenopsis, *Botrytis cinerea*, gray mold, spore germination, control