

# 植物源保護製劑之研發趨勢

謝廷芳

行政院農業委員會農業試驗所 花卉研究中心

通訊作者。E-mail: tfhsieh@tari.gov.tw

## 摘 要

植物富含許多特殊的抑菌物質如配糖體、生物鹼、萜類、酚類、鞣質、類黃酮素、皂素、單寧、香豆素等，具有特定之生物活性，可抑制多種植物病原菌，是開發植物源保護製劑或植物源農藥的材料。植物源農藥具有環境友善、符合農業永續、易於生物分解、可降低病蟲害發生、有機可用及可納入綜合管理體系之中等特性與優點，廣受研究人員青睞與投入研究。開發植物源農藥均由評估植物萃取物的抑菌效果及分析抑菌成分著手，再進行製劑研發，並評估田間病害防治之藥效。除中國大陸提出超過 20 種已開發的植物源農藥之外，目前國外登記用於防治植物病害的商品尚不多見，計有具廣效性的 30% cinnamaldehyde 之可濕性粉劑，29.2% gamma-aminobutyric acid 與 29.2% L-glutamic acid 複合劑防治葡萄白粉病和核果類作物的褐腐病 (*Monilia* sp.) 與穿孔病 (*Stigmia carpophila*)，荷荷巴油(jojoba oil) 預防觀賞植物的粉蝨和白粉病，褐藻多糖 (laminarin) 防治小麥白粉病，中草藥博落回 1.5% 水溶液作為抗病誘導劑，日本大黃可濕粉製劑 (RK) 防治胡瓜白粉病，虎杖 (*Reynoutria sachalinensis*) 萃取液 (商品名 Milsana®) 防治作物之白粉病及灰黴病。而國內成功開發用於防治植物病害的植物源農藥或天然植物保護製劑計有中興 100 (CH 100) 植物健素防治多種植物病害，乳化葵花油 (葵無露) 防治作物白粉病，五倍子中草藥製劑 (活力能) 防治作物炭疽病，以及肉桂油微乳劑 (黑修羅) 防治蔬菜黑斑病與根瘤線蟲等。目前實際應用天然植物成分防治作物病害的成果有限，多數研究僅局限於實驗室內的抑菌測定與溫室防病試驗階段，未來應加強評估田間的防病成效，並完備各項農藥登記應備資料，以順利將植物源農藥商品化。利用天然植物成分據以研發植物源農藥，用於防治植物病害的潛力無窮，是防治植物病害的另一新的研究課題。

**關鍵詞：**植物源農藥、誘導抗病、抑菌、病害防治、研究趨勢。

## 前 言

根據美國環境保護署之定義，生物性農藥包括「微生物農藥」、「植物源保護製劑」(plant-incorporated protectants, 簡稱 PIPs) 及「生化農藥」等。相較於化學農藥，生物農藥對人畜較無毒害，不易危及非標的生物，對生態環境較為友善，除可防治作物病蟲害之外，尚有益於作物生長，並維護自然生態和諧。

在自然界中存在的植物，富含許多特殊的抑菌物質如生物鹼、配糖體、酚類、帖類、鞣質、類黃鹼素、皂素、類胡蘿蔔素、香豆素等 (Cowan 1999)，具有特定的生物活性，可抑制多種植物病原菌，是開發植物源保護製劑 (natural plant protectants derived from plants) 或植物源農藥 (botanical pesticides) 的材料。天然植物保護製劑或植物源農藥屬於生物農藥範疇的一個分支，為利用植物所含的穩定有效成分，按一定方法對目標植物進行施用後，以降低病、蟲、雜草等有害生物危害的植物源植物保護製劑。植物源農藥成分複雜多變，通常是植物有機體的一部份或全部，依植物種類與來源不同，可能含有生物鹼、糖苷、毒蛋白質、揮發性香精油、單寧、樹脂、有機酸、酯、酮、萜等各類物質 (譚 et al. 2003)。

全世界可作為植物源農藥應用的植物約有二千種以上。就中國大陸而言，大多數植物源農藥都是從中草藥中發掘出來的，其中已知可用於調配植物源農藥的植物種類約 500 種 (無名氏 1959)。植物源農藥的種源十分廣泛而豐富，但被利用者微乎其微，僅魚藤酮、苦參鹼、煙鹼、棟素、藜蘆鹼、茴蒿素、木煙鹼、苦皮藤素、苦豆子總鹼等被少數農藥公司所開發生產，用於防治作物害蟲。中國大陸利用植物性物質防治作物病蟲害已經有二百多年的歷史，但真正有目的、科學地進行開發利用則是近二十年的事。目前中國大陸用於防治作物病害的植物主要有大蒜、板藍根、商陸、大黃、連翹、苦棟等幾十種；有些天然植物成分已被研發成商品，如市售的大蒜素、中草藥製劑“912”、MH11-14 可濕性粉劑等，並推廣給農民使用。依據我國科技政策中心科技產業資訊服務-熱點專輯的資料，中國大陸在 1987 - 2004 年間已登錄核可的植物源農藥專利達 196 項 (無名氏 2005)。另外，德國研究利用虎杖 *Reynoutria sachalinensis* 萃取液對數種作物之白粉病及灰黴病有良好的防治效果，並在美國以商品名 Milsana® 登錄使用。

本文擬由目前植物源保護製劑或植物源農藥，尤其是植物源殺菌劑的發展現況切入，探討開發植物源殺菌劑之必要條件，並提出未來植物源農藥的研發趨勢，以作為我國開發該類天然植物保護製劑之參考。

## 植物萃取物的研究現況

植物萃取物防治作物病蟲害是開發植物源保護製劑或植物源農藥的初階研究。目前研究植物萃取物防治作物病害的成果頗多，經歸納可分成二大類，第一類為直接使用萃取抗菌物質或含抗菌成分的萃取液抑制病原菌生長，第二類為利用植物萃取物可誘導植物產生抗病性而防治病害的發生 (Das et al. 2010)。

### 一、直接抑制病原菌生長

於健康植物體內固存一些抗菌物質，當病原菌侵染時，產生具抗菌活性的水解產物，當該類植物體以適當的方法萃取其抗菌物質，可用於抑制植病病原菌的研究。國外在植物萃取液的抑菌特性研究上著墨甚多，如苦楝葉萃取液對數種真菌孢子、細菌均有抑制發芽或靜菌作用 (Coventry & Allan 2001)；黃堇 (*Corydalis chaerophylla*) 之根葉萃取液含 berberine，可抑制多種真菌孢子發芽 (Basha et al. 2002)；胡椒科植物萼撥果實萃取液 1,000 倍可完全抑制小麥赤銹病菌 (*Puccinia recondite*) 孢子發芽 (Lee et al. 2001)；鳳梨花 pineapple lily (*Eucomis autumnalis*) 鱗莖粗萃取液，可完全抑制豌豆褐斑病菌 (*Mycosphaerella pinodes*) 孢子發芽 (Pretorius et al. 2002)；具揮發性的抑菌物質大蒜素 allicin (diallyl thio sulphinate) 合成於大蒜組織受傷時，大蒜素可有效防治胡蘿蔔種子傳播病害 (*Alternaria* spp.)、番茄和馬鈴薯晚疫病、水稻稻熱病及阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) 露菌病 (Slusarenko et al. 2008)；丁香羅勒油與香茅油在 250ppm 下可完全抑制白粉病菌 (*Erysiphe polygoni*) 孢子發芽 (Raj & Shukla 1996)；土壤中添加 10% 的荊椒/芥菜精油、70% 丁香油乳劑可分別降低 99.9 和 97.5% 的菊花萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi*) 孢子數量，而 90% 苦楝油乳劑則會增加病原菌族群數量 (Bowers & Locke 2000)。紅辣椒萃取液含 meta-coumaric 和 trans-cinnamic acids，對細菌性軟腐病菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) 的生長具抑制作用；芫荽、刺芫荽和苦瓜萃取液可抑制 *Erwinia* 屬細菌的生長，而 mamon (*Melicocca bijuga*) 對香蕉的 *Pseudomonas* 細菌具抑制作用 (Guevara et al. 2000)；南美紫茉莉 (*Mirabilis jalapa*) 葉片萃取液完全抑制茄子 (*Solanum melongena*) 的胡瓜嵌紋病毒 (Cucumber mosaic cucumovirus, CMV) (Bharathi 1999)，而雜草 *Clerodendrum aculeatum* 的部份純化葉萃取液 2:1 濃度連續噴佈大豆植株 6 次後，可明顯抑制大豆嵌紋病毒 (Soybean mosaic potyvirus, SMV) 的為害 (Alpana et al. 1992)。

植物精油使用於防治貯藏期病害是相當具吸引力的，大多數研究植物精油對植物病原真菌抑菌能力的報告都以測定菌絲生長與孢子發芽之抑制作用為主。在抑制菌絲生長方面，如 Ranasinghe et al. (2002) 指出肉桂及丁香油在 0.03 - 0.11% (v/v) 下可抑制 *Fusarium proliferatum*、*Lasiodiplodia theobromae* 和 *Colletotrichum musae* 等引起香蕉冠腐及炭疽病的病原菌菌絲生長；百里香精油在 0.06% 下可讓 *C. gloeosporioides* 和 *Rhizopus stolonifer* 二者的菌絲停止生長 (Bosquez-Molina et al. 2010)，而 0.05% 的香茅精油和 0.4% 的肉桂精油對香蕉炭疽病菌 *C. musae* 和木瓜炭疽病菌 *C. gloeosporioides* 具有殺菌效果 (fungicidal effect) (Maqbool et al. 2011)。植物精油包括 *Lippia sidoides*、丁香羅勒 (*Ocimum gratissimum*)、馬鞭草檸檬桉 (*Lippia citriodora*) 和香茅在 1,000  $\mu$ l/l 下可完全抑制炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 菌絲生長 (Souza Júnior et al. 2009)，而柑桔油在 150  $\mu$ g/ml 可完全抑制芒果炭疽病菌菌絲生長 (Abd-Alla & Haggag 2013)。亦有一些報告利用精油的揮發性物質來達到抑菌的功效，如百里香精油在 76  $\mu$ l/l 下的揮發氣體可完全抑制炭疽病菌 (*Colletotrichum acutatum*) 的菌絲生長。亞香茅 (*Cymbopogon nardus* L.)、羅勒 (*Ocimum basilicum* L.)、檸檬桉和白豆蔻 (*Elettaria cardamomum* Maton) 等精油在 0.03 - 0.66% (v/v) 下對 *L. theobromae*、*F. proliferatum* 和 *C. musae* 具靜菌作用 (fungistatic effect)，而在 0.05 - 0.66% (v/v) 下有殺菌效果 (Abeywickrama et al. 2003)。在抑制孢子發芽方面，50 mg/l 的芥子精油 (mustard oil) 抑制 70.8 % 炭疽病菌孢子發芽，而羅勒精油則抑制 64.7% 孢子發芽 (Abd-Alla & Haggag 2013)。Midhila & Janardhana (2012) 測試 7 種植物精油抑制咖哩炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 孢子發芽與發芽管長度，發現不同精油的抑菌濃度不一，柑桔油在 1,360 mg/l 時達最大抑制量，其次為 1,720 mg/l 的香茅油和 2,260 mg/l 的薄荷精油。而 Souza Júnior et al. (2009) 以 1,000  $\mu$ l/l 的精油包括 *Lippia sidoides*、丁香羅勒、馬鞭草檸檬桉、香茅和番石榴 (*Psidium guayava* var. *pomifera*) 等具有完全抑制 *C. gloeosporioides* 孢子發芽的效果。肉桂與丁香精油對黑胡椒 (*Piper nigrum* L.) 炭疽病菌 (*C. gloeosporioides*) 孢子發芽的半致死濃度小於 650 mg/l (Yulia et al. 2006)。Rozwalka et al. (2010) 指出精油對炭疽病菌 (*C. gloeosporioides* 和 *C. musae*) 孢子的殺菌作用主要是使細胞解體或退化而導致孢子無法發芽。

國內對植物萃取液的抑菌能力測定亦有諸多研究，農業試驗所的研究團隊測試評估 33 科 67 種植物萃取液對蕙蘭細斑病菌 (*Fusarium proliferatum*)、百合灰黴

病菌 (*Botrytis elliptica*) 和及小白菜炭疽病菌 (*Colletotrichum higginsianum*) 的孢子發芽影響，其中以山韭菜及大風子抑制孢子發芽的效果最佳 (謝 et al. 2005)。何 et al. (2002) 亦篩選 64 種植物萃取液，發現其中的 23 種對甘藍黑斑病菌 (*Alternaria brassica*)，14 種對火鶴花花腐病菌 (*Corynespora cassicola*) 孢子發芽有抑制效果。另何 & 吳 (2002) 發現扛板歸的萃取液，對甘藍黑斑病菌孢子發芽有非常強的抑制作用，而且不同地方採的材料，抑菌程度也不同。黃 et al. (2003) 發現百餘種植物萃取液中，有多種具抑制甜瓜白粉病菌的效果。武藤 et al. (2005a) 評估 14 種臺灣原住民鄒族常用藥用植物之水溶液與酒精抽出物的抗菌活性，發現龍葵 (*Solanum nigrum*) 的水與酒精萃取物均能完全抑制十字花科蔬菜黑斑病菌 (*A. brassicicola*) 的孢子發芽；新鮮琉球鐵線蓮 (*Clematis tashiroi*) 與新鮮山葛 (*Pueraria montana*) 水萃取物可抑制白菜炭疽病菌 (*C. higginsianum*)；而新鮮琉球鐵線蓮水萃取物亦可抑制蕃茄晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) (Muto et al. 2005a)

## 二、誘導植物抗病性

目前多數研究指出，植物的系統性抗病能力可被誘導，抗病性的發生與植物體產生抗菌物質—植物防禦素 (phytoalexin) 有關。此類抗菌物質只有當植物受外來的刺激物質如微生物、紫外光或其他化學物質刺激時才被誘導產生。

在植物萃取液誘導作物抗病性的報告頗多，如油菜、萵苣、豌豆、煙草、番茄、玉米、小麥和胡瓜的葉片酒精萃取液可誘導胡瓜抗炭疽病 (Foughtk & Kuc 1996)；利用苦楝 (*Azadirachta indica* Juss.) 葉水萃取液可以有效防治大麥葉條病 (*Drechslera graminea* 所引起) (Paul & Sharma 2002)，經處理的大麥葉片含 phenylalanine ammonia lyase 和 tyrosine ammonia lyase 酵素活性明顯增加，並累積抑菌的酚化合物，但病原菌的孢子發芽不受苦楝萃取液的影響，顯示其作用機制在於間接誘導植物抗病性 (Paul & Sharma 2002)。以 2% 虎杖 (*R. sachalinensis*) 水溶性萃取液每星期噴佈於胡瓜植株上，噴施後植體葉片的抑菌物質酚化合物會累積，進而抵抗白粉病菌的入侵 (Daayf et al. 1995; Konstantinidou-Doltsinis & Schmitt 1998)；另外，鹿蹄草萃取液可增加胡瓜葉片中過氧化酵素及幾丁質分解酵素的含量，進而抑制細菌性斑點病的發生 (Ribnicky et al. 2001)。Lychnis viscaria 種子萃取液含有不同的 brassinosteroids 可誘導植物產生抗病性，以 0.5-1mg/l 乾粉水萃取液可促進煙草、胡瓜和番茄對病毒及真菌病原的抗性達 36% (Roth et al.

2000)。

### 三、植物萃取物防治作物病害的效果

國外利用植物萃取物防治作物病害的例子不少，日本大黃 (*Rheum undulatum*) 萃取物可濕粉製劑 (RK) 2,000 倍稀釋液，對胡瓜白粉病有 75 - 100% 的防治率 (Paik et al. 1996)；虎杖 (*R. sachalinensis*) 萃取液對數種作物之白粉病及灰黴病具有良好的防治效果 (Cheah & Cox 1995; Daayf et al. 1995; Herger et al. 1989)；大豆種子處理 0.1%明礬後的植株噴佈 1%指甲花 henna (*Lawsonia inermis* L.) 葉片萃取液混合 0.1%明礬可降低大豆炭疽病 (*Colletotrichum truncatum*) 的發生 (Chandrasekaran et al. 2000)；馬纓丹 (*Lantana camara* L.) 的花萃取液可降低由 *Aspergillus niger* 引起的番茄果腐病，也降低因 *Drosophila busckii* 造成傷害導致的果腐 (Purnima & Saxena 1990)；苦楝葉的酒精萃取液及種子的油萃取液明顯降低稻熱病菌孢子發芽及稻熱病的發生 (Amadioha 2000)；含洋香瓜萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *melonis*) 病土先以 5%和 10%的荊芥/芥菜和丁香油乳劑處理一星期後，可顯著降低幼苗死亡率 (Bowers & Locke 2000)。由 *Bougainvillea spectabilis* 和 *Prosopis chilensis* 萃取的抗病毒蛋白可有效地降低向日葵與豇豆的向日葵壞疽病毒 (sunflower necrosis virus) (Lavanya et al. 2009)。

另外，國際上許多植物病理學者利用植物油或礦物油來防治作物病害，如橄欖油 (olive oil)、菜籽油 (rapeseed oil)、苦楝油、Stylet-oil 可防治白粉病 (Cheah 1995; McGrath & Shishkoff 2000; Pasini et al. 1997)；1%乳化礦物油可防治胡瓜白粉病，但過高的濃度則易引起藥害 (Casulli 2000)。施用的方式多半將油脂以展著劑乳化後噴施於葉部或灌注於土壤中，以每週施用一次最普遍。可見植物萃取物可廣泛用於作物病害的防治用途上。而利用植物精油防治植物病害之報亦不少，如黃色百香果 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) 浸於 120 mg/l 香茅油溶液中 2 min 可防治由 *C. gloeosporioides* 引起的炭疽病 (Anaruma et al. 2010)，木瓜果實浸於 0.12% (w/w)百里香精和 0.1%(w/w) 墨西哥萊姆精油溶液中可預防炭疽病為害達 50% (Bosquez-Molinaa et al. 2010)，而 250 µl/l 芥子精油和羅勒精油分別降低芒果果實炭疽病達 79.9% 和 66.7% (Abd-Alla & Haggag 2013)。多數報告利用精油處理果實時都輔以佐劑配方或配合其他措施，以加強精油的防病效力，如木瓜浸於分別含 0.1%百里香或 0.5%墨西哥萊姆精油的牧豆樹膠乳劑 (mesquite gum emulsion) 中，可完全防治炭疽病的發生 (Bosquez-Molinaa et al. 2010)；以 10%阿

拉伯膠 (gum Arabic) 混合 0.4% 肉桂油作為植物源農藥可防治香蕉和木瓜果實炭疽病 (Maqbool et al. 2011); 另外以 150 MPa 高靜水壓 (high hydrostatic pressure) 配合 750 mg/L 植物精油 (柑桔與香茅) 可作為木瓜果實炭疽病的防治方法 (Palhanao et al. 2004)。然而, 使用精油防治果實炭疽病常會造成藥害的發生, Yulia et al. (2006) 測試多種植物精油發現高濃度下可抑制炭疽病菌的生長, 但會造成辣椒切離葉產生藥害的情形, 如由丁香芽和葉片萃取的精油造成中度毒害, 而由肉桂樹皮和葉片萃取的精油則產生嚴重毒害。百香果果實浸泡於 120 mg/l 香茅油中造成 33.3 % 果實之果皮發生褐變, 250 mg/l 時引起 76.6 % 果實褐變, 而 500 mg/l 時則發生 100 % 褐變, 嚴重影響外觀與品質, 且高濃度精油處理之下使果皮褐變而罹病化, 導致罹病指數偏高 (Anaruma et al. 2010)。

國內利用植物萃取物防治病害的例子亦不在少數, 如臺中區農業改良場曾大力推行利用天然植物資材, 如大蒜、辣椒、木醋液等來防治作物病蟲害的發生 (謝 1999)。另外, 花蓮改良場亦曾測試多種植物油對防病忌蟲的效果, 其中以丁香油及肉桂油之效果最佳 (陳 1996)。中興大學黃振文教授以甘藍下位葉及菸葉渣為主要成份, 製造液體的中興 100 (CH 100) 植物健素, 可防治許多種植物病害, 包括韭菜銹病、瓜類白粉病及馬鈴薯軟腐病, 而且已經商品化 (黃 1992; Huang, 1992, 1994; Huang & Chung 2003)。在黃氏的指導下, 林 (2000) 發現 0.5%(w/v) 的丁香及其主要抑菌成分丁香酚有防治甘藍立枯病的功效; 而 Muto et al. (2001) 測試 103 種藥用植物的萃取液後, 發現蘿蔔種子及大黃的萃取液, 均可有效降低萵苣褐斑病的發病率; 另外, 以龍葵根的乙醇萃取液亦可有效防治白菜黑斑病 (Muto et al. 2005a; 2005b)。農試所亦發現大風子酒精萃取液 200 倍稀釋液可抑制白菜炭疽病菌之孢子發芽率, 亦可降低此病之發病率 (謝 et al. 2003); 直接利用橙花、依蘭、花梨木與天竺葵等植物精油可有效降低蝴蝶蘭灰黴病的發生 (陳 & 謝 2005)。另外, 中興大學蔡東纂教授以天人菊根萃取液處理根瘤線蟲 24 小時後, 可 100% 殺滅線蟲, 種植天人菊或將天人菊植株混拌於土壤中, 皆可大幅降低土壤線蟲族群密度。

#### 四、植物抑菌二次代謝物質

植物富含生物活性物質, 所產生的二次代謝產物超過 40 萬種, 其中大多數的化學物質如萜烯類、生物鹼、黃酮類、固醇類、酚類、氨基酸和多糖等均具有殺蟲或抗菌活性 (表一)。因此, 植物被認為是化學合成殺菌劑替代品最好的開發來源 (Mensah et al. 2000)。

表一、植物富含抑菌活性物質 (Gurjar et al. 2012)

Table 1. Botanicals produced by plants having antimicrobial activity (Gurjar et al. 2012)

Common name	Scientific name	Compound	Class	Activity
Apple	<i>Malus pumila</i> Mill.	Phloretin	Flavonoid derivative	General
Ashwagandha	<i>Withania somnifera</i> Dunal.	Withafarin A	Lactone	Bacteria, fungi
Bael tree	<i>Aegle marmelos</i> Linn.	Essential oil	Terpenoid	Fungi
Blue gum tree	<i>Eucalyptue globulus</i> Libill.	Tannin	Polyphenol	Fungi, bacteria, viruses
Onion	<i>Allium cepa</i> Linn.	Allicin	Sulfoxide	Fungi, bacteria
Thyme	<i>Thymus vulgaris</i> Linn	Caffeic acid	Terpenoid	Fungi, bacteria, viruses
Turmeric	<i>Curcuma longa</i> Linn.	Curcumin	Terpenoids	Fungi, bacteria, protozoa
Thom apple	<i>Datura stramonium</i> Linn.	Hyoscymine Scopolamine	Alkaloids	Fungi
Black pepper	<i>Piper nigrum</i> Linn.	Piperine	Alkaloid	Fungi
Castorbean	<i>Ricinus communis</i> Linn.	Ricinine Ricinoleic	Alkaloids	Fungi
Neem/Margosa tree	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Azadirachtin	Terpenoids	Fungi, bacteria
Garlic	<i>Allium sativum</i> Linn.	Allicin	Solfoxide	Fungi, bacteria

(一) 萜類與揮發油類抑菌成分研究

萜類 (Terpinoids) 與揮發油類 (Volatile oil) 幾乎存在於自然界的各種植物體中，種類多且具有多樣的生物活性，在抑菌活性方面的研究頗多。由球花醉 (*Buddleja globos*) 中分離得到 5 種萜烯類化合物 diterpene buddlejone、bisditerpene maytenone、buddledin A、buddledin B 和 diterpene deoxybuddlejone 對 *Trichophyton rubrum*、*Tricophyton interdigitale* 和 *Epidermophyton floccosum* 等真菌有良好抑制作用 (Mensah et al. 2000)。由埃塞俄比亞茄的分泌物中分離到了 5 種倍半萜類 solavetivone、lubimin、lubiminoic acid、aethione 和 lubiminol 對 *Fusarium oxysporum* 和 *Verticillium dahliae* 具有抑制作用 (Nagaoka et al. 2001)。由藥用植物中萃取出的麻黃油和細辛油等揮發油對立枯絲核菌有較強的毒力，其 LC<sub>50</sub> 分別為 53.7mg/l 和 87.8mg/l (張 & 樊 1995)。山雞椒揮發油 (山蒼子油)



具有抑制植物病原真菌 *Fusarium oxysporum*、*Helminthosporium* sp. 和 *Stemphyllium* sp. 的活性，其主要抑菌成分為檸檬醛 (黃 & 陳 1994)。郝 et al. (2007) 利用 GC-MS 技術分析了小花假澤蘭全株精油的化學成分及其含量，其主要成分為 22.23-二羥基豆甾烷醇 (7.34%)、氧化丁子香烯 (3.34%) 及羅漢柏烯 (2.92%) 等，並初步測定該精油對番茄灰黴病菌、小麥紋枯病菌和小麥赤黴病菌菌絲生長具有抑制作用，且具有明顯防治番茄灰黴病的效果。Gallori et al. (2001) 對 *Tambourissa leptophylla* 果皮的揮發油成分進行分析，結果其主要成分為檸檬烯 (24.0%)、順-香檸檬烯 (23.2%)、3-萜烯 (8.2%) 和  $\alpha$ -薑黃烯 (6.0%)，對 *Cladosporium cucumerinum* 有強的抑菌效果。Dubey et al. (2000) 分析羅勒屬植物 *Ocimum gratissimum* 的精油具有乙基肉桂酸酯結構，表現廣譜的抑菌活性。Kobaisy et al. (2001) 利用 GC-MS 分析洋麻葉 (*Hibiscus cannabinus*) 精油主成分有 E-葉綠醇 (28.16%)、Z-葉綠醇 (8.02%) 和 n-nonanal (5.70%) 等，總精油對葛苳和翦股穎 (bentgrass) 具毒性，而對 *Colletotrichum fragariae*、*Colletotrichum gloeosporioides* 和 *Colletotrichum accutatum* 等炭疽病菌有良好的抑菌效果。

## (二) 生物鹼抑菌成分研究

生物鹼 (Alkaloids) 是一類重要的天然有機化合物，其抑菌活性廣為人知 (Dubey et al. 2000)。Hanawa et al. (2000) 以 cupric chloride 處理 skunk cabbage (*Lysichitum americanum*) 後，由葉片中分離到 2-(4-羥基苯基)-1-硝基乙烷對 *Fusarium oxysporum* 和 *Cladosporium herbarum* 有抑制作用。另外，從山毛櫸科樺屬植物白樺 (*Betula platyphylla* Suk.) 花粉中分離的 di-p-coumaroyl-caffeoylspermidine 和 tri-p-coumaroylspermidine 能抑制燕麥葉條紋病原菌菌絲的生長。而且此 2 種物質均能減輕白粉病菌對大麥幼苗的侵害，但只有 di-p-coumaroyl-caffeoylspermidine 可明顯預防白粉病的侵染 (Kim et al. 2004)。

## (三) 黃酮類抑菌成分研究

黃酮類化合物 (Flavonoides and isoflavonoides) 是植物界分佈廣泛的一大類天然酚類化合物，具有重要的醫藥與農藥用途，特別是異黃酮類具強的抗菌活性。Atindehou et al. (2002) 從豆科刺桐屬植物 *Erythrina vogelii* 根皮分離出 3 種新的異戊二烯化異黃酮，可以抑制 *Cladosporium cucumerinum* 的生長。Shahat et al. (2001) 分析鼠李科植物 *Zizyphus spinachristi* L. 的葉、果和種子含槲皮素、芸香

苷和 quercetin-3-O-[beta-xylosyl-(1-2)-alpha-rhamnoside]-4'-O-alpha-rhamnoside 等 3 種化合物，具有抗病毒、細菌及真菌的活性。

#### (四) 酚、醇類抑菌成分研究

酚類化合物 (Phenolic compounds) 偏酸性，具有不同程度的抑菌作用。洋蔥中的兒茶酚和原兒茶酚對蔥刺盤孢的孢子發芽有明顯的抑制作用 (吳 et al. 2004)。趙 et al. (1994) 從厚樸樹葉提取的總酚化合物對立枯絲核菌等 10 種植物病原真菌都具有很強的抑菌活性，盆栽和田間試驗均具防治效果。從苦皮藤 (*Celastrus angulatus*) 假種皮中分離到間苯二酚和麝香草酚，對馬鈴薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*) 有良好的抑制效果 (李 et al. 2006)。存在於亞麻中的松柏醇、軟骨藻中的環桉葉醇及來自于麝香草全草的 A-松油醇均有抑菌活性，而且後兩者已製成氣霧劑作為空氣消毒殺菌劑 (孫 & 繩 1998)。

#### (五) 有機酸類抑菌成分研究

從菊科絹毛菊中分離得到的 p-甲氧基苯甲酸和異番草酸對黑麴黴均有強抑制作用 (Meng et al. 2000)；從松蘿中分得的地衣酸，從鐵莧菜、翻白草、牡丹葉、細葉野牡丹及芒果葉等中分離得到的沒食子酸，白蒿中的香草酸，四季青中的原兒茶酸，百蕊草中的丁二酸，小青楊中的阿魏酸、水楊酸及對羥基苯甲酸等有機酸均具有強烈的抑菌活性 (韓 & 沈 1991)。從高山龍膽的丙酮提取物中分離出 2 個對植物病原真菌 *Cladosporium cucumerinum* 有強抑制作用的 anofinic acid 和 fomannoxin acid (Tan et al. 1998)。另外，從一枝黃花分離到的咖啡酸，肉桂中的桂皮酸，龍膽中的龍膽酸，甘草中的甘草次酸，掌葉大黃和何首烏中的大黃酸，白蒿中的丁香酸等有機酸均具有顯著的抑菌活性 (孫 & 繩 1998)。

#### (六) 固醇類 (Steroides) 及皂苷類 (Saponins) 抑菌成分研究

Atta-Ur-Rahman et al. (1997) 研究發現來自於植物 *Jolya rioides* 的岩藻固醇對 *Curvularia lunata*、*Stachybotrys atra* 和 *Microsporum canis* 等真菌具有顯著的抑菌活性；而王 et al. (2001) 研究發現 7-羥基-4'-甲氧基黃烷具有的抑菌活性在於抑制固醇生物合成途徑；余 et al. (2006) 對 B-穀固醇和豆固醇的抑菌活性研究，證明兩者均有抑制病原菌的活性，並對番茄灰黴病的抑制效果良好。有關皂苷的研究有 Marston et al. (1988) 從扁豆 (*Dolichos kilimandscharicus*) 中分離

得到 3 種具抗菌活性的皂苷如三萜類 hederagenin 的 3-O-β-D-glucopyranosides、bayogenin 和 medicagenic acid 等，對 *Cladosporium cucumerinum* 的最小抑菌濃度分別為 5.0、2.5 和 5.0μg。

除了上述幾類抑菌活性成分之外，尚有抗菌蛋白及多肽類、氨基酸、酯類及部分有機酸類等，均具有一定的抑菌活性，尚待研究開發。各類抑菌物質之作用機制如表二。

表二、植物抑菌成分的作用模式 (Cowan 1999)

Table 2. Mode of action of phyto chemicals (Cowan 1999)

Class	Sub-class	Mechanism
Phenolics	Simple phenols	Membrane disruption, substrate deprivation
Phenolic acids	Phenolic acids	Bind to adhesins, complex with cell wall, inactivate enzymes
Terpenoids, essential oils		Membrane disruption
Alkaloids		Intercalate into cell wall
Tannins		Bind to proteins, enzyme inhibition, substrate deprivation
Flavonoids		Bind to adhesins, complex with cell wall, Inactivate enzymes
Coumarins		Interaction with eukaryotic DNA
Lectins and polypeptides		Form disulfide bridges

## 五、植物源殺菌劑之開發

植物源農藥與化學合成農藥一樣具有許多優缺點，植物源農藥的優點有：(1) 低或無殘留之虞，不污染生態環境，亦不易危害人體健康；(2) 為多種抗菌物質的混合物，對病原菌的作用點多，不易造成病菌抗藥性問題；(3) 易與其他農藥混合施用。而植物源農藥的缺點有：(1) 病害防治效果不穩定，因植物的抗病蟲物質含量會受植物品種、產地、採收季節、植物成熟度及採收部位等影響；(2) 植物抑菌成分對作物或人畜可能造成危害，必須進行安全性評估；(3) 病原菌產生抗藥性的可能性仍存在，雖然植物源農藥是多種化合物的混合物，對病原菌的作用點多，一旦病原菌產生抗藥性時，會對病害防治帶來更大的困難。雖然植物源農藥具有以上各種優缺點，但我們可以揚長避短，篩選並研製出無污染、無殘留、無公害、符合健康食品生產需求的植物源農藥 (唐 2006)。

除中國大陸提出約 20 種已開發的天然植物製劑之外，目前開發植物源農藥的例子尚不多見，Yoon et al. (2013) 指出 1994 年美國二家公司以含 30% cinnamaldehyde 之可濕性粉劑登記為植物源農藥，一為美國 Monterey 實驗室 (Watsonville, CA 95076) 的 Vertigo 可濕性粉劑，另一為 Proguard 公司 (Suisun, CA 94585) 的 Cinnacure A3005。本製劑不易溶於水，但可在土壤中快速分解，對非標的生物或環境不造成危害。存在於所有活體生物中的 gamma-aminobutyric acid (GABA) (29.2%) and L-glutamic acid (29.2%) 也被作為植物源農藥的成分，兩種成分可促進扁桃、青花菜及洋蔥等植物生長，防止葡萄白粉病和其他核果類作物的褐腐病 (*Monilia* sp.)、穿孔病 (*Stigmata carpophila*) 等發生 (Copping 2004)。本複合劑可直接噴灑，施於土表或經由噴灌系統施用，對動物及人類無任何毒害作用，但本劑不建議直接施於水中或土表有水的區域。荷荷巴油 (jojoba oil) 為由 jojoba bean 種子萃取的植物油，物理性質與其他植物油一樣，可預防觀賞植物或其他作物的粉蝨和白粉病。主要作用機制之一為在葉表上形成一層薄膜，作為物理阻斷之作用 (Copping 2004)。褐藻多糖 laminarin (又名 laminaran) 為葡聚糖的一種，存在於藍綠藻 (*Laminaria digitata* (Hudson) J.V. Lamouroux) 中，可誘發葡萄植株對灰黴病 (*Botrytis cinerea*) 和露菌病 (*Plasmopara viticola*) 產生抗病性 (Copping 2004)，而含褐藻多糖的植物源農藥登記使用於防治小麥白粉病。中草藥博落回 (*Macleaya cordata* (Willd.) R. Brown) 萃取物含 sanguinaine 和 chelerythrine，具有殺菌與殺蟲活性，Liu et al. (2009) 指出由博落回分離的 isoquinoline alkaloids 對植物病原菌具抑菌效果，其 1.5% 水溶液已商品化 (Copping 2004)。儘管其作用機制尚未被確認，但其商品是作為植物抗病性誘導劑，處理後使作物體內累積酚類物質 (Copping 2004)。由隔山消 (*Cynanchum wilfordii* (Maxim.) Hemsl) 萃取的孕烷苷 (Pregnane glycosides) 對於降低白粉病具有高效 (Yoon et al. 2011)，並由隔山消根部的乙酸乙酯萃取物製成的可濕性粉劑在溫室中可抑制大麥及草莓白粉病的發生。另外，韓國以日本大黃萃取物製成可濕粉製劑 (RK)，以 2,000 倍稀釋液可防治胡瓜白粉病；德國 BASF 於 1993 年大量篩選植物萃取液的抑菌效果，得到一虎杖 giant knotweed (*R. sachalinensis*) 的乾抽出物，商品名為 Milsana®，是唯一在美國登錄的植物抽出物殺菌劑。義大利研究人員發現 Milsana® 可降低 50% 的胡瓜白粉病，對玫瑰白粉病亦有相同的效果，惟其效果比植物油的抑病效果差。重覆噴施 Milsana® 可使葉片變得翠綠及光滑，但亦變得易碎 (Daayf et al. 1995)。中興大學

以甘藍下位葉及菸葉渣為主要成份，製造成中興 100 (CH 100) 植物健素，用於防治多種植物病害，並已商品化 (Huang 1992, 1994)；另外，農試所研發乳化葵花油 (葵無露) 作為防治作物白粉病之用 (Ko et al. 2003)，研發「五倍子」中草藥製劑 (活力能) 用於防治作物炭疽病，而「肉桂油微乳劑 (黑修羅) 用於防治作物根瘤線蟲 (顏 et al. 2008)。

### 開發植物源農藥的必要條件

植物源農藥具有環境友善、符合農業永續、易於生物分解、可降低病蟲害發生、有機可用及可納入綜合管理體系之中等特性與優點 (Gurjar et al. 2012)，近年來廣受全世界研究人員青睞與投入研究。然而植物源農藥在植物病害管理之中尚有些許限制，如萃取方法未能標準化，有效成分易於被分解，大多為室內的抑菌效果，需要開發成為製劑，有些抑菌物質對人類和植物有害，抑菌的有效性較差，現有製劑尚少等 (Gurjar et al. 2012)。因此，研究抗菌成分之產品時，植物材料的準備，萃取時有機溶劑之選擇 (表三)，萃取方法及室內抑菌效果評估方法必須標準化，才能有科學再現性，以便更能系統化地研發具生物活性的植物保護製劑產品 (Gurjar et al. 2012)。於室內具有抑菌效果的千百種的植物萃取物應該進行溫室與田間試驗，以評估其防治作物病害之有效性 (Das et al. 2010)。另外，應積極開發植物源農藥的製劑製備技術，以強化其田間使用的有效性。

表三、有效抑菌成分的萃取溶劑 (Cowan 1999)

Table 3. Solvents used for active component extraction (Cowan 1999)

Water	Ethanol	Methanol	Chloroform	Dichloro-methanol	Ether	Acetone
Tannins	Alkaloids	Terpenoids	Terpenoids	Terpenoids	Alkaloids	Flavonols
Saponins	Tannins	Saponins	Flavonoids	-	Terpenoids	-
Terpinoids	Terpinoids	Tannins	-	-	Coumarins	-
-	Flavonol	Flavones	-	-	-	-

### 未來研發趨勢

由前面的植物萃取物抑菌或防治病害的研究現況發現，未來開發植物源農藥或植物源保護製劑時或精進其防治病害效果時，筆者認為可以朝向下面各項工作進行研發：

## 一、植物萃取物有效成分分析

現階段多數研究僅止於大量篩選抑菌之植物萃取物種類，而抑菌成分之分析雖有明顯增加趨勢，但仍待加強。因為瞭解植物萃取物中之主要抑菌成分時，有助於修正萃取條件及選擇適當之萃取溶劑，以便能大量且穩定地製備萃取物質，作為開發植物源農藥的基礎材料。

## 二、增效之萃取技術－奈米技術

將植物材料以奈米化技術磨成更細小之顆粒，以增加植物材料與萃取溶劑之接觸面積，理論上可提高抑菌成分之萃取率。

## 三、雙效製劑之配製技術

結合二種以上之植物萃取物，探討其間是否有具有協力作用或增效作用，以加強植物源農藥或植物源保護製劑之防病效果，或是增加製劑對防病範圍之廣度。

## 四、製劑穩定性之強化技術

配製植物源農藥或植物源保護製劑時，可以研究佐劑之添加用以強化製劑之病害防治效果穩定度，以及延長製劑本身之耐貯藏性或儲架壽命。因為產品貯存時的環境變化會影響製劑之病害防治有效性，理想的製劑應可在一般環境條件下貯放至少 3 年的時間。

## 五、田間藥效增強技術

植物源農藥本身對病蟲害的防治效果有其一定的限制，如預防性的效果比治療性佳。其他如田間應用時，施用的時間、施用植株部位、施用劑量及噴佈器具等均會直接影響其防治的有效性。另外在植物油的使用上，油滴的粒徑大小會影響其在植體表面的分布均勻性，且與是否造成藥害有密切關係。因此，植物油乳化技術相當重要，例如 Gan-Mor et al. (2010) 研發一台新型植物油均質機，每分鐘可製成 2 公升油滴粒徑  $4\mu\text{m}$  的 30% 乳化植物油，且介面活性劑的使用量少於 0.3%。經有效性測試芥子油、棉子油及花生油對於蚜蟲、粉蚧、白粉病各露菌病均有良效，且對捕植蟎無負面效果。

## 六、植物源農藥對土壤微生物相之影響

植物源農藥對於土壤微生物所造成的可能衝擊所知有限，Spyrou et al. (2009) 於實驗室與田間利用 phospholipid fatty acids (PLFA) 分析方法研究合成化學藥劑 (metham sodium [MS]、sodium tetrathiocarbonate [SoTe] 和 fosthiazate) 與植物源農藥 (azadirachtin、quillaja 和 pulverized *Melia azedarach* fruits [PMF]) 對土壤微生物相之影響，結果 PMF 增加土壤有機碳和營養而使革蘭氏陰性細菌和腐生真菌族群增量，而 MS 卻抑制革蘭氏陰性細菌和腐生真菌，但 fosthiazate 和植物源農藥 quillaja 和 azadirachtin 則不影響土壤微生物族群數量。一般而言，植物源農藥相對於化學合成農藥在推薦劑量下施用較不造成土壤微生物族群結構之改變。然而，植物源農藥的抑菌成分多樣，未來每種製劑產品應針對土壤微生物相之影響進行評估，以確保產品之使用不造成環境之壓力。

## 結 論

植物是天然的化工廠，藉由光合作用及根部所吸收的養份，持續不斷地生產天然的化合物，取之不盡，用之不竭。應用植物萃取物具有抑制植物病原菌及可以誘導植物產生抗病性的現象，據以研發植物源保護製劑，是現今的熱門課題，世界各地的研究人員正積極進行相關研究。目前已有少數植物源農藥問市，例如由虎杖 (*giant knotweed*) 的萃取物研製而成的 Milsana® 製劑和由藍綠藻萃取的褐藻多糖 Laminarin 製劑，均推薦於防治作物白粉病及灰黴病之用。該二種製劑的防病原理為誘導植物體產生系統性抗病的功效，此方面的研究空間相當大，目前較少研究，值得群策群力發展此一尚待開發的領域。筆者多年來已開發多項天然植物保護製劑，如肉桂油微乳劑及五倍子中草藥植保製劑，研究團隊並成功技轉多項植保製劑調製技術給業界，如「亞磷酸植物營養液簡便使用法」及「葵無露製劑調製技術」。分析植物萃取物的抑菌與誘導抗病成分，可從中發現病害防治的新化學物質或成分，提供作物病害防治研究的新發展方向。可建立植物源農藥或植物源保護製劑的調配及量產技術，開創植物病害防治研究的新領域，更可放眼國際市場，為我國農業研究開拓除化學農藥之外的另一扇作物病害防治之門。

## 參考文獻

王理達、胡迎慶、屠鵬飛、吳之偉、鄭俊華、果德安 2001 13種生藥提取物及化學

- 成分的抗真菌活性篩選 中草藥 32(3): 241-244。
- 余鑫平、馮俊濤、劉曉明、莊世宏、張興 2006 小花假澤蘭莖葉中殺菌活性成分的研究 西北植物學報 26(5): 1001-1006。
- 李廣領、陳錫嶺、郭彥亮 2006 新型植物源農藥苦皮藤素的研究綜述 安徽農業科學 34(21): 5594-5595。
- 吳光旭、何庭玉、劉愛媛、陳維信 2004 植物中抗病原真菌的活性物質 植物學通報 21(3): 367-375。
- 何婉清、李惠玲、李智緯、吳宗諭、李興進 2002 抑菌植物材料的篩選 植保會刊 44: 365。
- 何婉清、吳宗諭 2002 影響扛板歸抑菌效果的因子 植保會刊 44: 364-365。
- 林宗俊 2000 丁香及其主成份防治甘藍苗立枯病的功效 國立中興大學植物病理研究所碩士論文。
- 武藤真知子 2001 蘿蔔種子粉水溶性抽出物防治萵苣褐斑病的功效 國立中興大學植物病理研究所碩士論文。
- 郝彩琴、杜曉峰、莊世宏 2007 小花假澤蘭精油化學成分及其抑菌活性初步研究 西北植物學報 27(10): 2097-2103。
- 唐蕊 2006 淺談植物源農藥 邢臺學院學報 4: 124-125。
- 孫文基、繩金房 1998 天然活性成分簡明手冊 中國醫藥科技出版社 北京。
- 張國珍、樊瑛 1995 麻黃和細辛揮發油的抗真菌作用 植物保護學報 22 (4): 373-374。
- 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。
- 陳哲民 1996 植物油抑制植物病原真菌孢子發芽之效果 花蓮區農業改良場研究彙報 12: 71-90。
- 黃振文 1992 利用合成植物營養液管理蔬菜種苗病蟲害 病害非農藥防治技術研討會專刊 pp.221-232。
- 黃晉興、王毓華、羅朝村 2002 利用葉片圓盤接種法測定甜瓜抗白粉病品種 中華農業研究 51: 49-56。
- 黃晉興、謝廷芳、胡敏夫 2003 利用離葉接種法測定植物萃取液防治胡瓜白粉病 植病會刊 12: 278 (摘要)。
- 黃梁綺齡、陳培榕 1994 山雞椒揮發油成分分析及其抗真菌保鮮作用的研究 天然產物研究與開發 6(4): 1-5。
- 無名氏 1959 中國土農藥誌 中國土農藥誌編輯委員會編著 科學出版社 北京 281 頁。
- 無名氏 2005 植物源農藥/中草藥殺蟲劑—中國專利(1987-2004/10) 科技政策中心



產業資訊服務－熱點專輯。

[http://cdnet.stpi.org.tw/techroom/topics/bio\\_bot/cnp\\_bio\\_bot.htm](http://cdnet.stpi.org.tw/techroom/topics/bio_bot/cnp_bio_bot.htm)

- 趙純森、黃俊斌、周茂繁 1994 厚樸葉中抑菌活性成分鑒別及其防病效果 華中農業大學學報 13(4): 373-377。
- 顏志恒、陳殿義、鍾文全、蔡東纂、謝廷芳 2008 天然植物保護製劑防治植物線蟲病害之效果評估 植病會刊 17: 169-176。
- 謝廷芳、黃晉興、胡敏夫 2003 大風子抽出液防治白菜炭疽病的效果 植病會刊 12: 278-279 (摘要)。
- 謝廷芳、黃晉興、謝麗娟、胡敏夫、柯文雄 2005 植物萃取液對植物病原真菌之抑菌效果 植病會刊 14: 59-66。
- 謝慶芳 1999 天然藥劑與病害控制 興大農業 30: 14-17。
- 韓公羽、沈企華 1991 植物藥有效成分的研究與開發 杭州大學出版社 杭州 70 頁。
- 譚仁祥、王劍文、徐琛、崔桂友 2003 植物成分功能 科學出版社 北京 744 頁。
- Abd-Alla, M. A. and W. M. Haggag. 2013. Use of some plant essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of anthracnose disease of mango fruits (*Mangifera indica* L.) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). Intl. J. Agri. Forestry 3(1): 1-6.
- Abeywickrama, K., S. Anthony and R. Watawala. 2003. Fumigant action of selected essential oils against banana fruit pathogens. J. Natl. Sci. Found. Sri Lanka 31: 427-429.
- Alpana, V., R. B. Singh and H. N. Verma. 1992. Prevention of soybean mosaic virus infection in *Glycine max* plants by plant extract. Bioved 3: 225-228.
- Amadioha, A. C. 2000. Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. Crop Prot. 19: 287-290.
- Anaruma, N. D., F. L. Schmidt, M. C. T. Duarte, G. M. Figueira, C. Delarmelina, E. A. Benato and A. Sartoratto. 2010. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. Braz. J. Microbiol. 41: 66-73.
- Atindehou, K. K., E. F. Queiroz, C. Terreaux, D. Traore and K. Hostettmann. 2002. Three new prenylated isoflavonoids from the root bark of *Erythrina vogelii*. Planta Med. 68 (2): 181-201.
- Atta-ur-Rahman, M. I. Choudhary, A. Majeed, M. Shabbir and M. Shameel. 1997. A succinyl anthranilic acid and other bioactive compounds from *Jolyana laminarioides*. Phytochemistry 46(7): 1215-1218.

- Barnett, R. J. and A. M. Seligman. 1951. Histochemical demonstration of esterases by production of indigo. *Science* 114: 579-582.
- Basha, S. A., R. K. Mishra, R. N. Jha, V. B. Pandey and U. P. Singh. 2002. Effect of berberine and bicuculline isolated from *Corydalis chaerophylla* on spore germination of some fungi. *Folia Microbiol.* 47: 161-165.
- Bharathi, M. 1999. Effect of plant extract and chemical inhibitors on cucumber mosaic virus of brinjal. *J. Mycol. Plant Pathol.* 29: 57-60.
- Bosquez-Molinaa, E., E. Ronquillo-de Jesús, S. Bautista-Bañosa, J. R. Verde-Calvoa and J. Morales-López. 2010. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biol. Technol.* 57: 132-137.
- Bowers, J. H. and J. C. Locke. 2000. Effect 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.
- Chandrasekaran, A., V. Narasimhan and K. Rajappan. 2000. Integrated management of anthracnose and pod blight of soybean. *Ann. Plant Prot. Sci.* 8: 163-165.
- Casulli, F., A. Santomauro and F. Faretra. 2000. Natural compounds in the control of powdery mildew on Cucurbitaceae. *Bull. OEPP* 30: 209-212.
- Cheah, L. H. and J. K. Cox. 1995. Screening of plant extracts for control of powdery mildew in squash. p. 340-342. In: *Proceedings of the 48th New Zealand Plant Protection Conference*. 8-10 August, 1995. Hastings, New Zealand.
- Copping, L. G. 2004. *The Manual of Biocontrol Agents*. 702pp. 3rd Ed. BCPC Publications, Alton, Hants, UK.
- Coventry, E. and E. J. Allan. 2001. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: new data on antimicrobial activity. *Phytoparasitica* 29: 441-450.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol. Rev.* 12: 564-582.
- Daayf, F., A. Schmitt and R. R. Bélanger. 1995. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Dis.* 79: 577-580.
- Das, K., R. K. S. Tiwari and D. K. Shrivastava. 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *J. Med. Plants Res.* 4: 104-111.
- Dubey, N. K., T. N. Tiwari, D. Mandin, H. Andriamboavonjy and J. P. Chaumont. 2000.

- Antifungal properties of *Ocimum gratissimum* essential oil (ethyl cinnamate chemotype). *Fitoterapia* 71(5): 567-569.
- Foughtk, L. and J. A. Kuc. 1996. Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants to anthracnose. *J. Phytopathol.* 144: 1-6.
- Gallori, S; A. R. Bilia, N. Mulinacci, C. Bicchi, P. Rubiolo and F. F. Vincieri. 2001. Identification of volatile constituents of *Tambourissa leptophylla*. *Planta Med.* 67 (3): 290-293.
- Gan-Mor, S., S. Pivonia, A. Mizrach, B. Ronen and P. G. Weintraub. 2010. A new technology for application of freshly emulsified botanical pesticides. *Aspect. Appl. Biol.* 99: 395-400.
- Gasco, M. R. 1997. Microemulsions in the pharmaceutical field: perspectives and applications. p. 97-122. In: Solans, C. and H. Kunieda (eds.). *Industrial Applications of Microemulsions*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Guevara, Y., A. Maselli and M. C. Sanchez. 2000. Effect of plant extracts for the control on plant pathogenic bacteria. *Manejo Integrado de Plagas* 56: 38-44.
- Gurjar, M. S., S. Ali, M. Akhtar and K. S. Singh. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agri. Sci.* 3: 425-433.
- Hanawa, F., S. Tahara and G. H. N. Towers. 2000. Antifungal nitro compounds from skunk cabbage (*Lysichitum americanum*) leaves treated with cupric chloride. *Phytochemistry* 53(1): 55-58.
- Hayat, M. A. 1986. *Basic techniques for transmission electron microscopy*. Academic press, Inc., New York, USA. 411p.
- Herger, G., I. Harvey, T. Jenkins and R. Alexander. 1989. Control of powdery mildew of grapes with plant extracts. p.178-181. In: *Proceedings of the forty second New Zealand weed and pest control conference, Taranki Country Lodge, New Plymouth, August 8-10, 1989.*
- Hood, M. E. and H. D. Shew. 1996. Applications of KOH-aniline blue fluorescence in the study of plant-fungal interactions. *Phytopathology* 86: 704-708.
- Huang, J. W. 1992. Integrated management of vegetable seedling pests with a formulated plant nutrition. *Plant Prot. Bull.* 34: 54-63.
- Huang, J. W. 1994. Control of Chinese leek rust with a plant nutrient formulation. *Plant Pathol. Bull.* 3: 9-17.
- Huang, J. W. and W. C. Chung. 2003. Management of vegetable crop diseases with plant extracts. p. 153-163. In: Huang, H. C. and S. N. Acharya (eds.). *Advances in*

- Plant Disease Management. Research Signpost, Kerala, India.
- Kim, M. R., S. K. Lee, C. S. Kim, K. S. Kim and D. C. Moon. 2004. Phytochemical constituents of *Carpesium macrocephalum* Fr. et Sav. Arch. Pharm. Res. 27(10): 1029-1033.
- Ko, W. H., S. Y. Wang, T. F. Hsieh and P. J. Ann. 2003. Effects of sunflower oil on tomato powdery mildew caused by *Oidium neolycopersici*. J. Phytopathol. 151: 144-148.
- Kobaisy, M., M. R. Tellez, C. L. Webber, F. E. Dayan, K. K. Schrader and D. E. Wedge. 2001. Phytotoxic and fungitoxic activities of the essential oil of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) leaves and its composition. J. Agric. Food Chem. 49 (8): 3768-3771.
- Konstantinidou-Doltsinis, S. and A. Schmitt. 1998. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. Crop Prot. 17: 649-656.
- Lavanya, N., D. Saravanakumar, L. Rajendran, M. Ramiah, T. Raguchander and R. Samiyappan. 2009. Management of sunflower necrosis virus through anti-viral substances. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 42: 265-276.
- Liu, H., J. Wang, J. Zhao, S. Lu, J. Wang, W. Jiang, Z. Ma and L. Zhou. 2009. Isoquinoline alkaloids from *Macleaya cordata* active against plant microbial pathogens. Nat. Prod. Commun. 4: 1557-1560.
- Maqbool, M., A. Ali, P. G. Alderson, M. T. M. Mohamed, Y. Siddiqui and N. Zahida. 2011. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. Postharvest Biol. Technol. 62: 71-76.
- Marston, A., F. Gafner, S. F. Dossaji and K. Hostettmann. 1988. Fungicidal and molluscicidal saponins from *Dolichos kilimandscharicus*. Phytochemistry 27(5): 1325-1326.
- McGrath, M. T. and N. Shishkoff. 2000. Control of cucurbit powdery mildew with JMS Stylet-Oil. Plant Dis. 84: 989-993.
- Meng J C., Q. Zhu and R. X. Tan. 2000. New antimicrobial mono- and sesquiterpenes from *Soroseris hookeriana* subsp. *erysimiodes*. Planta Medica. 66: 541-544.
- Mensah, A. Y. P. J. Houghton, S. Bloomfield, A. Vlietinck and B. D. Vanden. 2000. Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. J. Nat. Prod. 63(9): 1210-1213.
- Midhila, P. and G. R. Janardhana. 2012. Screening for inhibitory activities of essential

- oils on the growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., the causal agent of leaf spot disease of *Murraya koenigii* L., Arch. Phytopathol. Plant Prot. 45(13): 1575-1581.
- Muto, M., H. Takahashi, K. Ishihara, H. Yuasa and J. W. Huang. 2005a. Antimicrobial activity of medicinal plants used by indigenous people in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 14: 13-24.
- Muto, M., H. Takahashi, K. Ishihara, H. Yuasa and J. W. Huang. 2005b. Control of black leaf spot (*Alternaria brassicicola*) of crucifers by extracts of black nightshade (*Solanum nigrum*). Plant Pathol. Bull. 14: 25-34.
- Nagaoka, T., K. Goto, A. Watanabe, Y. Sakata and T. Yoshihara. 2001. Sesquiterpenoids in root exudates of *Solanum aethiopicum*. Z. Naturforsch 56: 707-713.
- Paik, S. B., S. H. Kyung, J. J. Kim and Y. S. Oh. 1996. Effect of a bioactive substance extracted from *Rheum undulatum* on control of cucumber powdery mildew. Korean J. Plant Pathol. 12: 85-90.
- Palhanao, F. L., T. T. B. Vilchesb, R. B. Santosb, M. T. D. Orlandoc, J. A. Venturad and P. M. B. Fernandes. 2004. Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. Int. J. Food Microbiol. 95: 61-66.
- Pasini, C., F. D'Aquila, P. Curir and M. L. Gullino. 1997. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. Crop Prot. 16: 251-256.
- Paul, P. K. and P. D. Sharma. 2002. *Azadirachta indica* leaf extract induces resistance in barley against leaf stripe disease. Physiol. Mol. Plant Pathol. 61: 3-13.
- Pretorius, J. C., P. Craven and E. van der Watt. 2002. In vivo control of *Mycosphaerella pinodes* on pea leaves by a crude bulb extract of *Eucomis autumnalis*. Ann. Appl. Biol. 141: 125-131.
- Purnima, S. and S. K. Saxena. 1990. Effect of flower extract of *Lantana camara* on development of fruit rot caused by *Aspergillus niger* in the presence of *Drosophila busckii*. Acta Bot. Indica 18: 101-103.
- Raj, K. and D. S. Shukla. 1996. Evaluation of some innovatives vis-à-vis powdery mildew of opium poppy incited by *Erysiphe polygoni*. J. Living World 3: 12-17.
- Ranasinghe, L., B. Jayawardena and K. Abeywickrama. 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L. M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Lett.

- Appl. Microbiol. 35: 208-211.
- Ribnicky, D. M., I. Chet, D. Frisem, A. Poulev, I. Raskin and I. Yedidya. 2001. Extracts of *Gaultheria procumbens* L. promote disease resistance in *Cucumis sativus* challenged with *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans*. Plant Biology 2001 July 21-25, 2001 - Providence, Rhode Island, USA
- Roth, U., A. Friebe and H. Schnabl. 2000. Resistance induction in plants by a brassinosteroid-containing extract of *Lychnis viscaria* L. Zeitschrift für Naturforschung. Section C, Biosciences 55: 552-559.
- Rozwalka, L. C., E. Alves and D. C. do Amaral. 2010. Ultrastructural study of conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum musae* treated with essential oils. Interciencia 35(12): 912-915.
- Shahat, A. A., L. Piepers, S. Apers, N. M. Nazeif, N. S. Abdel-Azim, D. V. Berghe and A. J. Vlietinck. 2001. Chemical and biological investigations on *Zizyphus spina-christi* L. Phytother. Res. 15(7): 593-597.
- Slusarenko, A. J., A. Patel and D. Portz. 2008. Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study. Eur. J. Plant Pathol. 121: 313-322.
- Souza Júnior, I. T., N. L. Pereira Sales and E. Ronie Martins. 2009. Fungitoxic effect of concentrations of essential oils on *Colletotrichum gloeosporioides*, isolated from the passion fruit. Biotemas 22(3): 77-83.
- Spyrou, I. M., D. G. Karpouzas and U. Menkissoglu-Spiroudi. 2009. Do botanical pesticides alter the structure of the soil microbial community? Microb. Ecol. 58: 715-727.
- Tan, R. X., L. D. Kong and H. X. Wei. 1998. Secoiridoid glycosides and an antifungal anthranilate derivative from *Gentiana tibetica*. Phytochemistry 47(7): 1223-1226.
- Xu, X. L. and W. H. Ko. 1998. A quantitative confined inoculation method for studies of pathogenicity of fungi on plants. Bot. Bull. Acad. Sinica 39: 187-190.
- Yoon, M. Y., N. H. Choi, B. S. Min, G. J. Choi, Y. H. Choi, K. S. Jang, S. S. Han, B. Cha and J. C. Kim. 2011. Potent in vivo antifungal activity against powdery mildews of pregnane glycosides from the roots of *Cynanchum wilfordii*. J. Agric. Food Chem. 59: 12210-12216.
- Yoon, M. Y., B. Cha and J. C. Kim. 2013. Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. Plant Pathol. J. 29(1): 1-9.
- Yulia, E., W. A. Shipton and R. J. Coventry. 2006. Activity of some plant oils and extracts against *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Pathol. J. 5: 253-257.

# **Current Trends on Research and Development of Botanical Fungicides or Plant Protection Products Derived from Plant Materials**

**Ting-Fang Hsieh**

Floriculture Research Center, Taiwan Agricultural Research Institute, COA

Corresponding author. E-mail: tfhsieh@tari.gov.tw

## **ABSTRACT**

Plants synthesize aromatic secondary metabolites with antimicrobial activities against the infection of plant pathogens, such as  $\beta$ -glucan, alkaloids, terpenoids, phenols, phenolic acids, quinones, flavones, flavonoids, flavonols, saponins, tannins and coumarins. Those active properties of specific plant materials could be extracted by suitable solvents and be formulated into botanical fungicides or natural plant protectants. Botanical fungicides have showed some advantages with eco-friendly products, fitting the need of sustainable agriculture, easily biodegradable in environment, reducing crop diseases, useful for organic farming, easily incorporating into integrated diseases management. So that scientists put their efforts on developing the botanical fungicides. There are some steps to develop a botanical fungicide. First of all, to evaluate the antimicrobial efficacy of plant extracts and to analyze the active components were taken into consideration, then to develop the formulation techniques of botanical fungicides was necessary. Finally, to assess the efficiency of disease control in the field by application of botanical fungicides was also required. Up to date, just a few botanical fungicides were commercialized in the world. Exception of mainland China have released more than 20 kinds of botanical pesticides, the others of commercial products included as follows, 1) 30% cinnamaldehyde wettable powder (WP) formulation which registered and named Vertigo Wettable Powder Fungicide and Cinnacure A3005, 2) Gamma-aminobutyric acid (GABA) (29.2%) and L-glutamic acid (29.2%) mixture for control of powdery mildew of grapes and brown rot and shot hole of stone fruits, 3) Jojoba oil for control of white flies and powdery mildew on ornamental plants and grapes, 4) Natural fungicide containing laminarin for control of powdery mildew of wheat, 5) 1.5% pink plume poppy aqueous solution for inducing systemic acquired resistance through accumulation of endogenous phenolic substances in the treated plants, and 6) Milsana® derived from giant knotweed was registered to control powdery mildew and grey mold. In Taiwan, at least 4 kinds of botanical fungicides or natural

plant protectants were developed, such as CH 100 formulated nutrient solution, emulsified sunflower oil, gallnut Chinese herb plant protectants, and cassia oil micro-emulsifier. The limited products were registered as botanical fungicides, since most parts of researches were done in vitro antifungal activities but not in vivo control plant diseases in the field. The works should be done urgently to evaluate the efficiency in controlling the plant diseases by botanical fungicides or natural plant protectants. Once the data of physical and chemical properties as well as the toxicity of botanical fungicides or plant protectants were readily prepared, the plant protection products might be easily extended to market for the alternative needs of disease control.

**Key words:** Botanical fungicide, Induce resistance, Antimicrobial activity, Disease control, Research trends.