篩選抑制*Alternaria* spp.生長之植物水萃液[1]

林依佳[2]、林盈宏[3]、沈原民[4*]

摘　　要

本研究篩選31種植物，以水浸方式取得水萃液，測試對黑斑病菌之抑制效果。其中，辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液經高溫高壓滅菌處理後能抑制*Alternaria alternata*與*A. brassicicola*之菌絲生長，而且這4種植物水萃液可抑制*A. brassicicola*的分生孢子發芽，但僅有辣椒、刺芫荽、福木水萃液可抑制*A. alternata*的分生孢子發芽。提高植物水萃液濃度(至20%) 對黑斑病菌菌絲生長及孢子發芽具更好的抑制效果。這些植物水萃液對黑斑病菌的影響，也透過評估菌絲細胞外導電率、菌絲細胞內容物滲漏、以及分生孢子細胞活性來作探討，結果顯示這些植物水萃液可傷害菌絲細胞使電解質滲漏、細胞內容物滲漏，並降低分生孢子的細胞活性。於甘藍幼苗接種試驗中顯示，施用20%辣椒與福木水萃液可預防或防治*A. brassicicola*所造成的甘藍黑斑病，未來可嘗試以辣椒及福木應用於植物病害管理。

關鍵詞：十字花科植物、植物病原菌、植物源農藥、植物病害管理、鏈格孢菌

前　　言

十字花科黑斑病由黑斑病菌(*Alternaria* spp.)所引起，為栽培過程中普遍發生且嚴重的病害之一，臺灣植物病害名彙已有*Alternaria alternata*, *A. brassicicola*, *A. brassicae*危害*Brassica*屬植物之紀錄[(1)]，針對病害的管理方法包括了種子處理、化學防治、生物防治或施用植物源農藥等[(30)]。其中，植物源農藥包括植物萃取液(plant extract)、精油等，被認為是對環境較為友善、安全的防治方法[(5,7,17,21)]。製備植物萃取液的考量因素有植物的樣本前處理、溶劑選擇、萃取方法等[(17)]，常用的萃取方法包括了浸漬、微波萃取、索氏萃取等方法，並可搭配攪拌、離心、過濾等步驟以獲得植物萃取液[(9)]，然而植物萃取液之萃取流程往往較為繁複，為使植物萃取液適合自行製備與易於施用，本研究以簡易、快速的萃取流程製備植物水萃液，篩選出對十字花科黑斑病菌具抑制效果的植物水萃液，測試水萃液對黑斑病菌菌絲生長與分生孢子發芽之影響，並以接種試驗評估植物水萃液對於甘藍黑斑病的防治效果，本篇研究期望可作為植物水萃液應用在作物病害管理的研究參考。

---

[1] 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0955 號。
[2] 行政院農業委員會農業試驗所研究助理（前臺中區農業改良場研究助理）。
[3] 國立屏東科技大學植物醫學系副教授。
[4] 行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員。*通訊作者 shenym@tdais.gov.tw。

材料與方法

一、供試菌株鑑定及病原性測試

兩供試黑斑病菌分離自十字花科葉菜類作物，來自屏東科技大學植物醫學系林盈宏老師實驗室(分離自青花椰菜)及臺灣大學植物病理與微生物學系謝煥儒老師實驗室(分離自*Brassica* sp.)，已進行初步鑑定並分別於2019年及2007年由我們寄存於新竹市食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心，菌株編號BCRC FU31170、BCRC 34176，本研究中除形態鑑定外，再輔以核酸序列資料確認鑑定結果。供試菌株培養於馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基(potato dextrose agar, PDA) (Difco™ potato dextrose media, BD)，形態鑑定參考Simmons[31]並以光學顯微鏡(Leica)放大倍率400倍觀察，記錄30個分生孢子之大小。為了進行核酸序列特徵分析，先將純化培養於PDA上的病原菌菌絲以核酸萃取套組(plant genomic DNA extraction miniprep system, Viogene)萃取核酸，再利用針對核醣體內轉錄區間(internal transcribed spacer, ITS)、轉譯延長因子(elongation factor 1α, EF-1α)、互生鏈格孢菌致敏原基因(*Alternaria alternata* allergen 1 gene, Alt a 1)及RNA聚合酶II (RNA polymerase II)之引子對ITS1/ITS4[39]、EF1-728F/EF1-986R[11]、Alt-for/Alt-rev[19]、RPB2DF/RPB2DR[20]，以聚合酶連鎖反應增幅及電泳分析後，進行核酸定序。

病原性測試實驗將BCRC FU31170、BCRC 34176兩菌株接種於青花椰菜、白花椰菜、甘藍等三種植苗上，每種植苗準備15株，其中10株進行接種處理(兩種菌株各接種5株)，5株作為對照。接種源製備將分生孢子從培養在PDA上的菌落刮下，將分生孢子分散在0.05% Tween 20溶液中，使孢子懸浮液終濃度為2×10^4個分生孢子/ml以上，用噴霧的方式均勻噴灑於植物幼苗，每株噴施約5 ml，對照組噴施不含分生孢子之Tween 20溶液。接種後將不同處理之植物幼苗分別放置於塑膠盒中並蓋上塑膠蓋保濕，3天後移除塑膠蓋，於接種後1週檢視結果，並選擇具有病徵的植物組織以0.6%次氯酸鈉作表面消毒，將組織放置在PDA培養基上檢視再分離之菌株，另外，應用前述核酸抽取方式及ITS1/ITS4引子對增幅及定序確認再分離之菌株。兩菌株BCRC FU31170與BCRC 34176在實驗結果中分別鑑定為*A. alternata*、*A. brassicicola*，後續皆以此兩菌株進行實驗。

二、篩選可抑制黑斑病菌菌絲生長之植物水萃液

(一)試驗植物收集及水萃液製備

本研究測試31種植物(包括3種雜草、6種藥用植物及22種作物與觀賞植物)，以水浸方式獲取其水萃液，並評估植物水萃液的抑菌效果。試驗方法為：(1)收集試驗植物：於彰化縣大村鄉臺中區農業改良場內與臨近地區收集不同植物種類，作為水萃液材料來源。(2)前處理：將植物檢體切成小於10 cm的片段，以60℃烘箱烘乾 (視植物種類不同約4~8 hr)後備用。(3)植物水萃液製備：秤取定量試驗植物加入無菌水中(依據所需濃度準備不同植物量；10%水萃液即為100 ml水中含有10 g乾重植物)，密封後於室溫下陰暗靜置3天，去除植物殘體，即完成植物水萃液製備。

(二)水萃液對*A. alternata*菌絲生長之影響

初步測試以*A. alternata*黑斑病菌對31種植物水萃液之感受性，分別以兩種方法將植物水萃液添加到培養基內，配製終濃度含2%植物水萃液之PDA培養基。方法一：植物水萃液通過0.2 µm針筒過濾濾頭(syringe filter, PALL)，過濾後添加於已滅菌之PDA培養基中。方法二：植物水萃液直接與PDA培養基混合，再以121℃高溫高壓滅菌15 min。製備含2%不同植物水萃液之PDA培養基後，以打洞器切取直徑5 mm之*A. alternata*菌絲塊移至含水萃液之培養基上，於28℃恆溫培養箱(Panasonic MIR-154-PT)培養8天後，從培養皿的兩個垂直方向量取菌絲生長長度，換算每日菌絲生長速率(radial growth rate, mm/day)。本試驗每種植物萃取液之抑菌處理組安排至少3個重複，以初步篩選可能具有抑制黑斑病菌菌絲生長之植物萃取液種類。

三、不同濃度植物水萃液對黑斑病菌菌絲生長及孢子發芽之影響

選擇經高溫高壓滅菌後仍對*A. alternata*較具抑制菌絲生長效果的4種植物水萃液(辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮)，進一步測試此4種植物水萃液在4種不同濃度下對*A. alternata*、*A. brassicicola*菌絲生長與分生孢子發芽之影響。

(一)量測每日菌絲生長速率

依據前述方法二，將辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液直接與PDA培養基混合再以高溫高壓滅菌，製備含2%、5%、10%、20%植物水萃液之PDA培養基，將*A. alternata*、*A. brassicicola*的菌絲塊移至含不同濃度水萃液的培養基正中間，於28℃恆溫培養箱培養8天，依前述方法測量菌絲生長長度並換算每日菌絲生長速率。本試驗每種處理經3個重複，以確認植物水萃液對供試菌株之抑菌效果。

(二) 計算分生孢子發芽率

辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液經高溫高壓滅菌過後，將植物水萃液與從培養基上以無菌水洗下的*A. alternata*、*A. brassicicola*分生孢子混合，並使植物水萃液終濃度為2%、5%、10%、20%，內含分生孢子懸浮液終濃度約10^3個分生孢子/ml，以水處理作為對照組。將混合液取20 µl滴於玻片上，每處理5重複。於28℃下培養24 hr後，以光學顯微鏡鏡檢並計數分生孢子發芽數量(發芽之認定為發芽管長度大於分生孢子長度的1/2)，每重複計數20個分生孢子。分生孢子發芽率(%)計算方式如下：(發芽的分生孢子數量/觀察的分生孢子總數) × 100。

四、植物水萃液對黑斑病菌菌絲細胞之影響

為評估4種植物水萃液(辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮)在2種不同水萃液濃度處理下對兩種黑斑病菌菌絲體電解質滲漏及細胞內容物滲漏之影響，試驗分別參考Tao等人及Tian等人的方法[35,37]並作微幅調整，將*A. alternata*、*A. brassicicola*以10 ml PDB液態培養基在離心管中震盪培養3天，以針筒過濾培養液後，將菌絲體以無菌水洗滌2次，並分別進行後續試驗，步驟分述如下：

(一)量測電解質滲漏

加入10 ml終濃度為2%與20%之植物水萃液(對照組為無菌水處理)，覆蓋菌絲體並與菌絲體混合均勻。而後於室溫下震盪24 hr後去除上清液，並將菌絲體以10 ml無菌水回溶，再利用攜帶型水質測量儀CON200 (CLEAN Instruments Co., Ltd)量測導電率(conductivity, μS/cm)，每種處理3重複，以評估2%與20%植物水萃液對*A. alternata*及*A. brassicicola*菌絲的胞外電解質滲漏之影響。

(二)評估細胞內容物滲漏

將菌絲體以磷酸緩衝鹽溶液(phosphate buffered saline) (Bioman, pH 7.4)回溶，而後加入植物水萃液並混合均勻，使終濃度為2%、20% (總體積為10 ml)。於室溫下震盪24 hr後，取上清液離心2 min，以紫外光/可見光分光光度計(NanoDrop micro-UV/Vis spectrophotometers) (NanoDrop One)量測260 nm波長之吸光值，藉以推估*A. alternata*、*A. brassicicola*上清液中細胞內容物釋出的情形，本試驗每種處理各4個重複。

五、分析植物水萃液對黑斑病菌分生孢子細胞活性之影響

為評估4種植物水萃液(辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮)在2種不同濃度處理下對兩種黑斑病菌分生孢子細胞活性之影響，利用錐藍質染色排除測試法(trypan-blue exclusion test)觀察細胞存活率，方法參考Coder[12]的研究方法：將*A. alternata*、*A. brassicicola*分生孢子與定量後之2%、20%植物水萃液混合均勻，對照組以無菌水處理，於28℃培養箱內培養24 hr後，離心去除上清液，隨後加入0.4% trypan blue (Thermo Fisher Scientific)進行細胞染色，靜置3 min，再以光學顯微鏡觀察，計算20個分生孢子受染色的情況，每種處理重複3次，以染色與未染色分生孢子數量(當分生孢子有一細胞有被染色，即判別分生孢子不具活性)比例計算細胞存活率(cell viability)，細胞存活率(%) = (未染色分生孢子數量/觀察的分生孢子總數) × 100，藉以評估植物水萃液對黑斑病菌分生孢子細胞活性之影響。

六、植物水萃液在甘藍上對十字花科黑斑病之防治效果評估

以噴霧方式均勻噴灑*A. brassicicola*接種源(約10^5個分生孢子/ml)於甘藍幼苗上(購自興農種苗股份有限公司－大村營業所，株高約6~8 cm)，並處理2%、20%的辣椒果實與福木果皮水萃液，藉此評估植物水萃液對十字花科黑斑病之預防及治療效果。依據試驗方式區分成預防試驗(接種前6 hr)及治療試驗(接種後24 hr)施用植物水萃液，於接種病原菌後第8天調查病害發生情形，每種處理記錄3盆植物中葉片的罹病級數(每種處理17~21片葉片)。罹病級數根據病斑數量區分為0~4級：分別為0級(無病斑)、1級(1~5個病斑)、2級(6~15個病斑)、3級(16~30個病斑)、4級(31個病斑以上)，再依3個重複的植物罹病級數換算病害嚴重度(disease severity)。病害嚴重度(%) = [調查葉片數之發病級數總合/ (最高級數 × 調查之葉片總數)] × 100，以初步評估植物水萃液對作物病害在預防及治療上的效果及潛力。

七、統計分析方法

數據統計方法以IBM SPSS Statistics 20軟體執行變異數分析(Analysis of Variance, ANOVA)，利用Tukey HSD進行多重比較分析。

結果與討論

一、供試菌株鑑定及病原性測試

BCRC FU31170黑斑病菌菌株之分生孢子呈窄圓形、橢圓形，大小為25.0~42.5 (平均33.1) × 7.5~12.5 (平均10.3) µm，具有3~5個橫隔膜、0~2個縱隔膜。而BCRC 34176黑斑病菌菌株之分生孢子為長窄圓形，大小為32.5~55.0 (平均46.0) × 7.5~15.0 (平均11.3) µm，具有0~2個縱隔膜。兩菌株之ITS、EF-1α、Alt a 1、RNA聚合酶II基因序列核酸定序結果詳如表一，BCRC FU31170菌株的序列在NCBI資料庫中取得之登錄號為MK880426, MK862259-MK862261，與NCBI資料庫內*A. alternata*之序列具高序列相同度(sequence identity)；BCRC 34176菌株的序列在NCBI資料庫中取得之登錄號為MK880427, MK862262-MK862264，與NCBI資料庫內*A. brassicicola*之序列具高序列相同度。經形態特徵及分子定序結果，兩供試菌株BCRC FU31170與BCRC 34176分別鑑定為*A. alternata*、*A. brassicicola*。

表一、黑斑病菌供試菌株之分子序列特徵
Table 1. Molecular characteristics of the *Alternaria* isolates in this study

Isolates	GenBank accession numbers			
	ITS	EF-1α	Alt a 1	RNA polymerase II
Alternaria alternata (BCRC FU31170)	MK880426	MK862259	MK862260	MK862261
Alternaria brassicicola (BCRC 34176)	MK880427	MK862262	MK862263	MK862264

接種試驗後一週，接種組的植株出現黑斑病病徵，而對照組的植株未出現類似黑斑病之病徵。接種*A. alternata* BCRC FU31170的青花椰菜、白花椰菜、甘藍各有一株幼苗葉片上呈現黑色病斑，從三種植物的病斑邊緣組織分離取得之菌落形態與原先*A. alternata*的菌落相同，而且取得之ITS序列與原*A. alternata*菌株相同，此結果顯示所取得的*A. alternata*可能對十字花科植物具有病原性，但因菌株特性、持續繼代培養後之菌株狀況等因素，無法透過接種穩定在十字花科作物上表現出黑斑病病徵；接種*A. brassicicola* BCRC 34176的青花椰菜、白花椰菜、甘藍所有植株上都呈現黑色斑點於葉片及葉柄，從三種植物的病斑邊緣組織分離取得之菌落形態與原先*A. brassicicola*的菌落相同，且ITS序列亦與*A. brassicicola*原菌株相同，顯示*A. brassicicola* BCRC 34176可普遍在青花椰菜、白花椰菜、甘藍等十字花科作物上造成黑斑病。

二、篩選可抑制黑斑病菌菌絲生長之植物水萃液

31種植物水萃液對*A. alternata*菌絲生長之影響結果詳如表二。植物水萃液經過濾後添加

表二、植物水萃液對黑斑病菌菌絲生長之影響

Table 2. Effect of plant extracts on mycelial growth of *Alternaria alternata*

Family	Common name	Scientific name	Part	Radial growth rate (mm/day)[2]	
				Filter[3]	Autoclave
Acanthaceae	Britton's wild petunia (翠盧莉)	*Ruellia brittoniana*	L[1]	7.55±0.10	7.82±0.27
Agavaceae	Common dracena (朱蕉)	*Cordyline fruticosa*	L	2.79±1.13	6.15±0.06
Anacardiaceae	Mango (檬果)	*Mangifera indica*	L	7.67±0.30	7.72±0.28
Apiaceae	Culantro (刺芫荽)	*Eryngium foetidum*	L	3.91±0.65	2.94±0.18
Apocynaceae	Periwinkle (日日春)	*Catharanthus roseus*	L	3.57±0.17	5.99±0.52
Apocynaceae	Mexican frangipani (緬梔)	*Plumeria acuminata*	L	7.59±0.68	9.14±0.05
Clusiaceae	Common garcinia (福木)	*Garcinia spicata*	FR	5.29±0.68	3.64±1.87
Combretaceae	Madagascar almond (小葉欖仁)	*Terminalia boivinii*	L	6.24±0.48	7.76±0.64
Compositae	Pilose beggarticks (大花咸豐草)	*Bidens pilosa*	FL	5.52±0.07	6.95±0.73
Compositae	Asiatic wormwood (艾草)	*Artemisia indica*	L	7.27±0.31	7.13±0.20
Euphorbiaceae	Autumn maple tree (茄苳)	*Bischofia javanica*	L	8.01±0.90	8.51±0.23
Euphorbiaceae	Chinese tallow tree (烏臼)	*Sapium sebiferum*	L	4.47±0.13	6.89±0.98
Fabaceae	Butterfly pea (蝶豆花)	*Clitoria ternatea*	L	3.60±0.23	8.86±0.22
Labiatae	Basil (羅勒)	*Ocimum basilicum*	L	2.74±0.37	8.01±0.60
Lauraceae	Camphor tree (樟樹)	*Cinnamomum camphora*	L	7.34±0.33	6.86±0.33
Leguminosae	Golden shower tree (阿勃勒)	*Cassia fistula*	L	8.34±0.39	8.16±0.40
Malvaceae	Chinese hibiscus (朱槿)	*Hibiscus rosa-sinensis*	L	8.01±0.26	7.65±0.27
Moraceae	Marabutan (榕樹)	*Ficus microcarpa*	L	7.71±0.46	8.98±0.43
Moraceae	Botree (菩提)	*Ficus religiosa*	L	8.86±0.43	8.59±0.47
Myrtaceae	Guava (番石榴)	*Psidium guajava*	L	8.43±0.21	9.00±0.08
Oleaceae	Sweet osmanthus (桂花)	*Osmanthus fragrans*	L	7.36±0.15	8.57±0.40
Poaceae	Lemongrass (香茅)	*Cymbopogon nardus*	L	6.37±0.47	7.67±1.07
Portulaceace	Purslane (馬齒莧)	*Portulaca oleracea*	L	6.92±0.08	7.76±0.38
Rutaceae	Common jasmin orange (七里香)	*Murraya paniculata*	L	7.08±0.18	7.23±0.53
Rutaceae	Pummelo (柚子)	*Citrus maxima*	FR	7.00±0.07	7.56±0.35
Rutaceae	Sweet orange (柳橙)	*Citrus sinensis*	FR	1.84±0.24	4.94±0.07
Sapindaceae	Balloon vine (倒地鈴)	*Cardiospermum halicacabum*	SL	6.93±0.27	8.15±0.16
Solanaceae	Chilli (辣椒)	*Capsicum annuum*	F	1.75±0.19	0.11±0.07
Umbelliferae	Celery (西洋芹)	*Apium graveolens*	SL	7.16±0.33	8.08±0.33
Verbenaceae	Golden dewdrop (金露花)	*Duranta repens*	L	6.79±0.57	6.22±0.26
Verbenaceae	Common lantana (馬纓丹)	*Lantana camara*	L	7.03±0.77	8.05±0.08
CK (PDA)				8.19±0.31	8.35±0.28

[1] FL: flower, L: leaf, F: fruit, FR: fruit rind, SL: stem and leaf.

[2] Radial growth rates (mm/day) of *A. alternata* on PDA treated with different plant extracts after 8 days inoculation. The values are the means ± standard deviations.

[3] "Filter" means the plant extracts were filter-sterilized; "Autoclave" means the plant extracts were autoclaved and then added in PDA medium. The final concentration of plant extracts was 2% (w/v) in the medium.

於培養基的實驗中，*A. alternata* 在部分植物水萃液培養基上菌絲生長速率較慢，平均菌絲生長速率從最緩慢依序為辣椒(果實)、柳橙(果皮)、羅勒(葉)、朱蕉(葉)、日日春(葉)、蝶豆花(葉)及刺芫荽(葉)。而水萃液經高溫高壓滅菌處理後，則以含有辣椒、刺芫荽、福木(果皮)、柳橙水萃液的培養基上*A. alternata*菌絲生長速率較為緩慢，平均每日菌絲生長速率分別為0.11、2.94、3.64、4.94 mm/day (對照組為8.35 mm/day)。本研究中，有部分植物水萃液添加至培養基經高溫高壓處理後，相較於過濾添加至培養基，植物水萃液抑制菌絲生長效果下降(如羅勒、朱蕉等)，推測這些植物所含有的抑菌物質可能易受高溫高壓處理破壞。由試驗結果顯示，辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液中的抑菌物質，可能較不易受到高溫高壓滅菌的影響，類似的結果也在其它研究報告中出現，Pane等學者的研究中[27]，部分植物萃取液在高溫高壓滅菌處理後，植物萃取液仍具抑菌效果；另外，Singh與Chittenden[32]亦指出，過濾與高溫高壓滅菌處理後之萃取液，在抗菌活性上無明顯差異，與本研究部分試驗植物水萃液結果相似。本研究以浸泡方式製備水萃液，初步已篩選出4種(辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮)能抑制*A. alternata*菌絲生長，且不受高溫高壓滅菌處理影響的植物水萃液。

三、不同濃度植物水萃液對黑斑病菌菌絲生長及孢子發芽之影響

辣椒、刺芫荽、福木、柳橙不同濃度水萃液對*A. alternata*、*A. brassicicola*菌絲生長及分生孢子發芽影響的結果詳如表三。實驗結果分述如下：

表三、不同濃度植物萃取液對 *A. alternata*、*A. brassicicola* 菌絲生長及孢子發芽之影響
Table 3. Effect of plant extracts in various concentrations on the mycelial growth and conidia germination of *A. alternata* and *A. brassicicola*

Plant extracts	Conc. (%)	Radial growth rate (mm/day)		Conidia germination rate (%)	
		A. alternata	*A. brassicicola*	*A. alternata*	*A. brassicicola*
Chilli	2	4.84±0.06 ef[1]	4.59±0.35 bcd	88±9 efg	25±5 cdef
	5	4.74±0.45 ef	3.51±0.30 b	96±4 g	24±11 bcde
	10	3.31±0.46 cd	1.11±0.59 a	80±14 cdefg	7±6 ab
	20	1.49±0.59 ab	0.00±0.00 a	48±13 a	7±6 ab
Culantro	2	7.51±0.16 i	6.35±0.24 f	70±8 abdef	56±10 hi
	5	6.12±0.15 fghi	6.00±0.39 ef	61±11 abc	42±6 fgh
	10	6.10±0.41 fgh	5.77±0.82 def	55±9 abc	22±6 bcde
	20	6.10±0.09 fgh	4.50±0.51 bc	63±8 abd	22±6 bcde
Common garcinia	2	4.53±0.68 de	5.56±0.19 cdef	84±7 defg	39±7 efgh
	5	5.60±0.62 efg	3.66±0.43 b	66±8 abcde	32±12 defg
	10	2.57±0.89 bc	0.85±0.74 a	61±13 abcd	9±4 abc
	20	0.50±0.12 a	0.00±0.00 a	67±10 abce	8±6 abc
Sweet orange	2	7.08±0.04 hi	4.99±0.34 cdef	94±7 g	48±14 ghi
	5	6.60±0.28 ghi	5.49±0.32 cdef	92±8 fg	16±7 abcd
	10	5.78±0.53 efgh	4.58±0.38 bcd	75±17 bcdefg	10±6 abc
	20	2.5±0.69 bc	0.00±0.00 a	84±10 defg	2±3 a
CK	-	9.10±0.78 j	6.08±0.13 ef	95±4 g	65±11 i

[1] The values are the means ± standard deviations; Different letters indicate statistically significant differences between columns at P = 0.05 (ANOVA, post-hoc Tukey-HSD test).

(一)菌絲生長試驗：

針對*A. alternata*，4種植物在所有測試濃度皆可抑制*A. alternata*的菌絲生長，與對照組呈顯著差異；針對*A. brassicicola*，僅辣椒水萃液在所有測試濃度下皆能顯著抑制其菌絲生長，而福木水萃液在5%以上、柳橙水萃液在10%以上、刺芫荽水萃液在20%才具明顯抑制*A. brassicicola*菌絲生長的效果。

(二)分生孢子發芽試驗：

針對*A. alternata*，刺芫荽水萃液在所有測試濃度下，皆具明顯抑制分生孢子發芽的效果，福木水萃液濃度在5%以上、辣椒水萃液濃度在20%時具明顯抑制*A. alternata*分生孢子發芽的效果，但柳橙水萃液在所有濃度測試結果與對照組無顯著差異；而針對*A. brassicicola*，辣椒水萃液與福木水萃液於所有測試濃度下皆可顯著抑制其分生孢子發芽，刺芫荽水萃液與柳橙水萃液則在濃度5%以上具有明顯抑制*A. brassicicola*分生孢子發芽的效果。

綜合菌絲生長速率與分生孢子發芽之試驗結果，高濃度水萃液對供試菌株生長影響較大，與前人[10,16,26,29,34]的研究結果相似，本研究中辣椒、刺芫荽、福木水萃液於高濃度下皆可降低*A. alternata*、*A. brassicicola*菌絲生長速率及分生孢子發芽率。在前人研究中，辣椒之溶劑及水萃取液[27]、藥用植物之酒精萃取液(如*Coscinium fenestratum*)[14]、柑橘副產物微波後之水萃取液[28]、薄荷精油[16]、百里香精油[29]、紫莖澤蘭之有機溶劑萃取液[23]等，皆已被證實可抑制*Alternaria* spp.菌絲生長；而辣椒之溶劑及水萃取液[27]、柑橘副產物萃取液[28]、福木汁液[18]、扛板歸汁液[2]、以及紫花曼陀羅、落地生根、香椿、朱槿、篦麻、虎杖、刺茄之酒精萃取液[8]，對*Alternaria* spp.的分生孢子發芽有抑制效果。而本研究結果顯示，以水作為溶劑製備辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液，能抑制黑斑病菌的菌絲生長及分生孢子發芽。後續試驗分別以2%、20%濃度的辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液處理，並評估水萃液對黑斑病菌菌絲細胞膜狀態與分生孢子細胞活性之影響。

四、植物水萃液對黑斑病菌菌絲細胞之影響

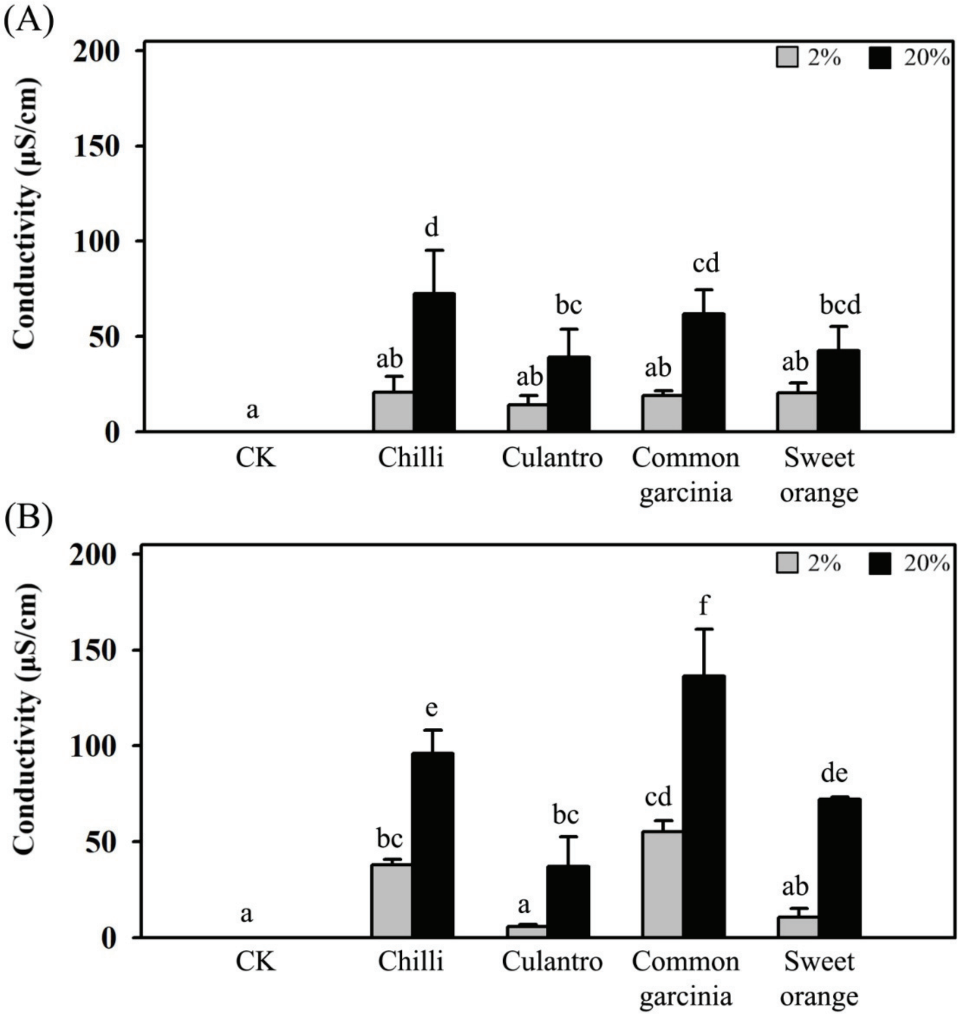
(一)電解質滲漏量測

以濃度為2%、20%的辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液與*A. alternata*、*A. brassicicola*菌絲體混合處理後，測得的細胞外導電率數值皆高於對照組(圖一)。在20%濃度下，辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液處理後，*A. alternata*菌絲體細胞外導電率分別為72.50、39.00、61.73、42.43 μS/cm (對照組為0.00 μS/cm)；*A. brassicicola*菌絲體細胞外導電率為96.10、37.16、136.50、72.06 μS/cm (對照組為0.00 μS/cm)，相較於對照組皆具顯著差異。此結果顯示，辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液處理，可能對菌絲體造成傷害而導致電解質滲漏。

(二)細胞內容物滲漏評估

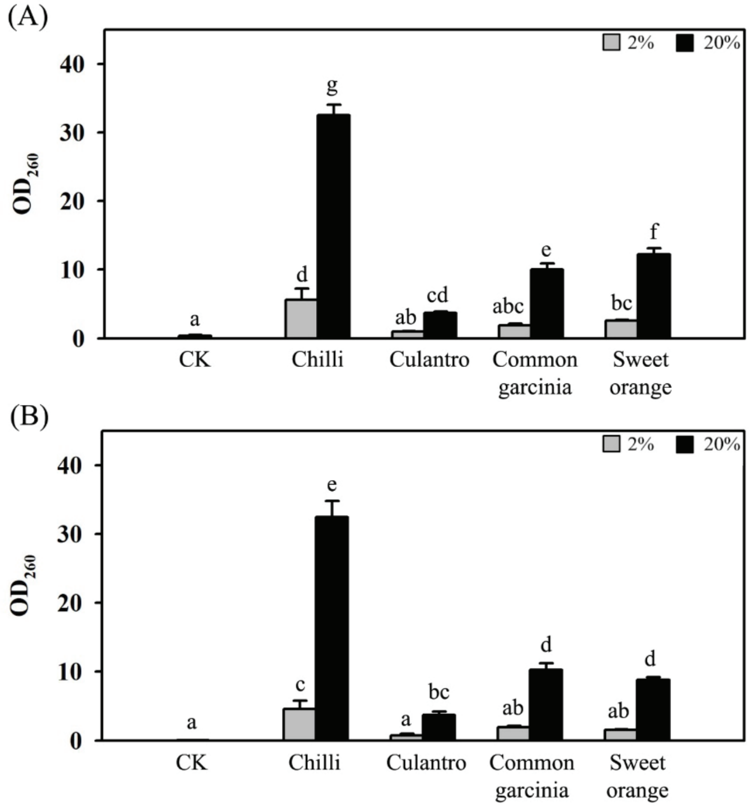
以2%、20%濃度的辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液與*A. alternata*、*A. brassicicola*菌絲體混合處理，對細胞內容物滲漏之影響，結果如圖二。所有植物水萃液處理組與對照組相比A260吸光值皆較高，辣椒水萃液在2%濃度下即可對黑斑病菌菌絲體

造成明顯影響，處理水萃液後之*A. alternata*菌絲體，其A260吸光值為5.61 (對照組為0.35)；*A. brassicicola*之A260吸光值為4.57 (對照組為0.01)，相較於對照組具顯著差異。且吸光值隨植物水萃液處理濃度增加而上升，在20%濃度下，4種植物水萃液處理過的菌絲體，A260吸光值與對照組相比具顯著差異。此些結果顯示，辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液處理，可能影響黑斑病菌菌絲體細胞，使細胞內容物滲漏。



圖一、辣椒、刺芫荽、福木及柳橙水萃液對(A) *A. alternata* 及(B) *A. brassicicola* 細胞外導電率之影響。誤差線為標準差，不同英文字為在 Tukey HSD 變異數分析於 P = 0.05 具顯著差異。

Fig. 1. Effect of plant extracts of chilli, culantro, common garcinia, and sweet orange on the extracellular conductivity of (A) *A. alternata* and (B) *A. brassicicola*. Error bars: standard deviations. Different letters indicate statistically significant differences between results at P = 0.05 (ANOVA, post-hoc Tukey-HSD test).



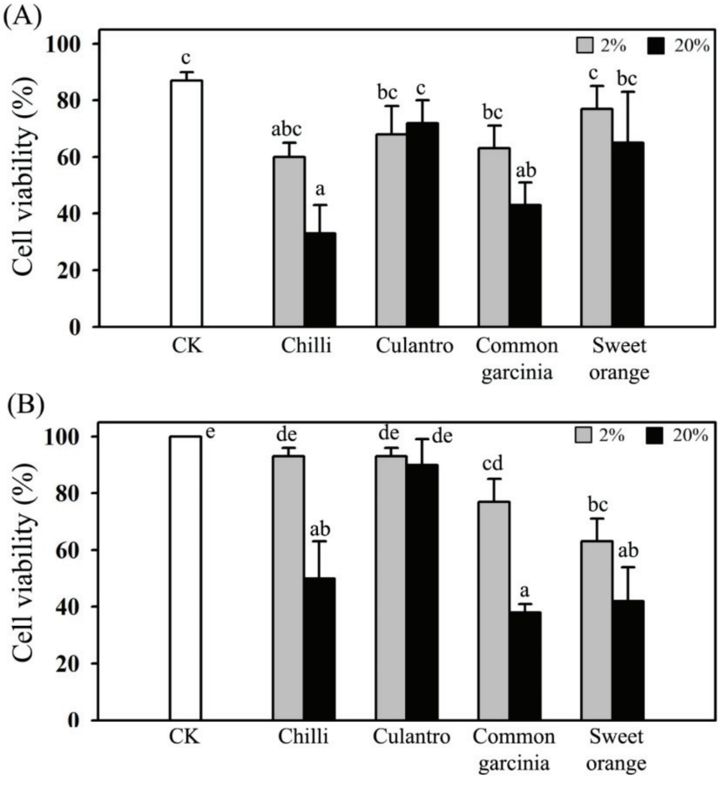
圖二、辣椒、刺芫荽、福木及柳橙水萃液對(A) *A. alternata* 及(B) *A. brassicicola* 細胞內容物滲漏(260 nm 波長吸光值)之影響。誤差線為標準差，不同英文字為在 Tukey HSD 變異數分析於 P = 0.05 具顯著差異。

Fig. 2. Effect of plant extracts of chilli, culantro, common garcinia, and sweet orange on the release of cellular materials (Absorbance 260 nm, OD_{260}) from (A) *A. alternata* and (B) *A. brassicicola*. Error bars: standard deviations. Different letters indicate statistically significant differences between results at P = 0.05 (ANOVA, post-hoc Tukey-HSD test).

在分析細胞外導電率及細胞內容物滲漏試驗結果中，顯示濃度為20%之辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液處理後的菌絲體，其導電率(圖一)與A260吸光值(圖二)數值較高，與對照組具有差異。此結果與這4種植物水萃液對黑斑病菌菌絲生速率影響之試驗結果相符：在20%植物水萃液濃度下，4種植物水萃液皆能顯著抑制*A. alternata*、*A. brassicicola*菌絲生長(表三)。過去研究中曾經提到，部分植物萃取液可能會增加細胞滲透性[23]、破壞細胞膜[35]等，進而影響或是抑制病原菌的生長，國內中興大學黃振文老師團隊亦曾發現丁香揮發物或萃取物可造成立枯絲核菌、炭疽病菌菌絲變形破裂及原生質滲漏等現象[3,4]。本試驗結果顯示，辣椒、刺芫荽、福木、柳橙水萃液或許能造成黑斑病菌菌絲細胞膜發生滲透改變、損傷，而使細胞內離子及內容物滲漏，致使黑斑病菌菌絲生長受到抑制。

五、植物水萃液對黑斑病菌分生孢子細胞活性之影響

本研究發現2%、20%的辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液可對*A. alternata*, *A. brassicicola*分生孢子細胞活性造成影響，結果如圖三。濃度為20%之辣椒、福木水萃液與黑斑病菌分生孢子混合處理後，*A. alternata*分生孢子細胞活性分別為33%、43% (對照組為87%)；*A. brassicicola*分生孢子處理後之細胞活性則為50%、38% (對照組為100%)，上述處理組之細胞活性顯然低於對照組。但在實驗條件下，柳橙水萃液僅對*A. brassicicola*之分生孢子細胞活性有影響，而刺芫荽水萃液並未明顯影響兩種黑斑病菌的分生孢子細胞活性。對應前述植物水萃液對分生孢子發芽率影響的實驗，辣椒、福木、柳橙水萃液影響黑斑病菌分生孢子細胞活性的實驗結果與其對分生孢子發芽率影響的結果(表三)吻合。綜合以上結果，本研究中觀察到20%的辣椒與福木水萃液能抑制*A. alternata*、*A. brassicicola*的分生孢子發芽並降低分生孢子的細胞活性，因此辣椒與福木水萃液對黑斑病菌的分生孢子最具病害防治潛力。

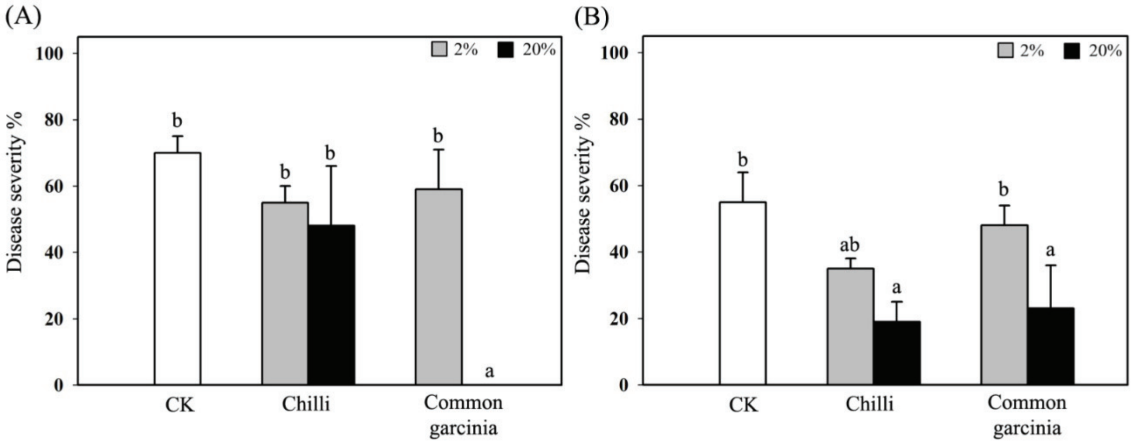


圖三、辣椒、刺芫荽、福木及柳橙水萃液對(A) *A. alternata* 及(B) *A. brassicicola* 分生孢子細胞活性之影響。誤差線為標準差，不同英文字為在 Tukey HSD 變異數分析於 P = 0.05 具顯著差異。

Fig. 3. Effect of plant extracts of chilli, culantro, common garcinia, and sweet orange on the conidial cell viability of (A) *A. alternata* and (B) *A. brassicicola*. Error bars: standard deviations. Different letters indicate statistically significant differences between results at P = 0.05 (ANOVA, post-hoc Tukey-HSD test).

六、植物水萃液在甘藍上對十字花科黑斑病之防治效果評估

以2%、20%辣椒果實及福木果皮水萃液應用於甘藍具有預防及治療病害的潛力，實驗結果如圖四。結果顯示，將20%福木水萃液預先噴灑於甘藍幼苗上再接種黑斑病菌，甘藍葉片上未出現明顯黑斑病病徵，與對照組有顯著差異，證實此水萃液具保護作物免受此病原菌感染的效果(圖四A)。而接種黑斑病菌於甘藍幼苗後，並施用20%的辣椒、福木水萃液，其病害嚴重度亦低於對照組(圖四B)，根據初步實驗結果顯示，20%的辣椒與福木水萃液於十字花科黑斑病之防治上具應用潛力。前人研究也指出，預先施用植物萃取液於植株上，可達到保護植物效果，但亦有些植物萃取液在治療方面較預先施用更能降低病害發生(14)，同樣地，在本研究中，將20%辣椒水萃液預先噴灑於甘藍幼苗上，黑斑病罹病度與對照組並無明顯差異(圖四A)，但於接種後施用水萃液可降低黑斑病罹病度，並具有治療此病害的效果(圖四B)。



圖四、辣椒、福木水萃液在甘藍幼苗上對十字花科黑斑病之(A)預防及(B)治療效果評估。誤差線為標準差，不同英文字為在 Tukey HSD 變異數分析於 P = 0.05 具顯著差異。

Fig. 4. Effect of plant extracts of chilli and common garcinia on *Alternaria* leaf spot disease severity of cabbage seedlings. (A) Preventive experiment (B) Curative experiment. Error bars: standard deviations. Different letters indicate statistically significant differences between results at P = 0.05 (ANOVA, post-hoc Tukey-HSD test).

在前人研究中，也有以植物源農藥防治*Alternaria* spp.感染所引起的病害，如：*Coscinium fenestratum*萃取液可降低芥菜黑斑病罹病率(14)；羅勒等萃取液可降低*A. solani*引起的番茄早疫病(25)；以決明子精油處理番茄，可降低番茄在儲藏期受到*A. alternata*感染危害(15)。綜合本研究結果顯示，辣椒與福木等植物水萃液除了在實驗室試驗中具有抑制黑斑病菌菌絲生長與孢子發芽的效果外，施用20%的辣椒與福木水萃液於甘藍幼苗上，對十字花科黑斑病具有預防或治療的潛力。

七、植物萃取液之抑菌效果

在本研究中，辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液具有抑制黑斑病菌菌絲生長及孢子發芽之效果，前人研究中亦指出植物萃取液對其它微生物具有抑制效果，如：*Capsicum frutescens*萃取液處理花生，可避免儲藏期受真菌(*Aspergillus flavus*、*Penicillium* sp.、*Rhizopus* sp.)感染[33]、辣椒果實水萃液可抑制*Fusarium nygamai*、*Rhizoctonia solani*菌絲生長[38]、辣椒汁液及其萃取物對*Sphaeropsis sapinea*菌絲生長具抑制效果[32]、刺芹屬植物萃取液(如刺芫荽)具有抑制微生物生長的效果[22,36]、*Citrus* spp.果皮萃取液可抑制*Colletotrichum capsici*菌絲生長[24]、柳橙精油對*Staphylococcus aureus*等具有抑制效果[34]。未來可嘗試應用辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮水萃液抑制不同種類之植物病原菌或微生物。

本研究取得之植物水萃液在20%濃度下可抑制黑斑病菌之菌絲生長與分生孢子發芽，為提升成效，未來可考量從溶劑選擇、植物材料處理、搭配其它資材等方向作嘗試，期望能以較低濃度的植物萃取液達到抑菌效果。溶劑選擇可能影響所取得的成分，而使萃取液的抑菌效果有差異[13,27]，且篩選具有抑菌潛力的植物萃取液時，常以不同溶劑萃取進行試驗[40]，謝等人以酒精萃取紫花曼陀羅、落地生根、香椿、朱槿、篦麻、虎杖、刺茄等植物之萃取液，能夠抑制*A. brassicicola*的分生孢子發芽，但以水作為溶劑萃取這些植物，其水萃液則未呈現對*A. brassicicola*的分生孢子的抑制效果[8]。本研究初步以水浸方式製備水萃液，未來可測試運用其它種類的溶劑，如酒精等，嘗試提升萃取效果。植物材料的處理方面，萃取時植物材料愈細，增加溶劑與植物材料的接觸面積能夠提升萃取的效率[17]，許多研究將植物材料研磨為粉狀[5,10,13,14,27]，或是以果汁機[8]等方式將植物材料前處理後再進行萃取，而本研究中使用小於10 cm片段的植物材料，未來可採用更小片段的植物體、粉碎或磨粉以增加萃取效率。搭配其它資材提高應用效果的研究方面，有學者提到植物萃取液與內生菌對於抑菌有協同效果[32]，國內亦有研究發現植物油添加至微生物應用於防治芒果炭疽病，可提高病斑面積抑制率[6]。植物萃取液應用時如能搭配微生物製劑或整合其它資材一同處理，將能提高植物萃取液之應用潛力。

本研究以水浸方式製備植物水萃液，有簡單、快速的特點，篩選出辣椒果實、刺芫荽葉片、福木果皮、柳橙果皮4種植物水萃液，對*A. alternata*、*A. brassicicola*兩種黑斑病菌的菌絲生長或分生孢子發芽具有抑制效果，而且透過測量菌絲細胞外電解質滲漏、菌絲細胞內容物滲漏、以及確認分生孢子細胞活性等實驗佐證在培養皿內進行抑菌實驗的結果。此外，初步應用辣椒與福木水萃液於甘藍幼苗的測試中亦能達到病害管理的效果，未來可再進一步驗證這些植物水萃液在病害管理上的可行性，並嘗試以此策略於田間進行病害防治工作。

誌　謝

本研究感謝劉軒豪提供菌株，以及張再得、黃冬青協助菌株鑑定，在實驗過程中承蒙植物保護研究室在各方面的協助與建議才得以完成本研究，並感謝審稿人提供之建議，謹此表達感謝。

參考文獻

1. 中華民國植物病理學會 2002 台灣植物病害名彙 中華民國植物病理學會。
2. 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。
3. 林宗俊、鄭可大、黃振文 2002 丁香及其主成分防治甘藍苗立枯病的功效 植物病理學會刊 11: 189-198。
4. 林秋琍、林宗俊、黃振文 2010 丁香由與植物營養防治十字花科蔬菜炭疽病之效果評估 植物病理學會刊 19: 167-176。
5. 段中漢 2015 微量滴定板篩選植物萃取液與植物(精)油抑制菜豆銹病菌及草莓灰黴病菌 植物病理學會刊 24: 364-365。
6. 劉冠霆 2015 篩選及應用拮抗細菌與植物萃取液防治芒果炭疽病 中興大學植物病理學系所學位論文。
7. 謝廷芳 2014 植物源保護製劑之研發趨勢 p.117-140 農業生物資材產業發展研討會專刊 臺中區農業改良場特刊121號。
8. 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 植物病理學會刊 14: 59-66。
9. Azwanida, N. N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med. Aromat. Plants. 4: 196.
10. Bokshi, B., M. A. S. Sayeed, M. I. Ahmed, U. K. Karmakar and S. K. Sadhu. 2012. Assessment of antimicrobial and cytotoxic activities of ethanolic extract of leaves of *Acalypha hispida*. Int. J. Pharm. Sci. Res. 3: 1705-1708.
11. Carbone, I. and L. M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. Mycologia. 91: 553-556.
12. Coder, D. M. 2001. Assessment of cell viability. Curr. Protoc. Cytom. 15: 9.2.1-9.2.14.
13. Dellavalle, P. D., A. Cabrera, D. Alem, P. Larrañaga, F. Ferreira and M. D. Rizza. 2011. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. Chil. J. Agr. Res. 71: 231-239.
14. Dethoup, T., P. Songkumarn, S. Rueangrit, S. Suesa-ard and C. Kaewkrajay. 2018. Fungicidal activity of Thai medicinal plant extracts against *Alternaria brassicicola* causing black spot of Chinese kale. Eur. J. Plant Pathol. 152: 157-167.
15. Feng, W. and X. Zheng. 2007. Essential oils to control *Alternaria alternata in vitro* and *in vivo*. Food control. 18: 1126-1130.

16. França, K. R. S., T. L. Silva, T. A. L. Cardoso, A. L. N. Ugulino, A. P. M. Rodrigues and A. F. de Mendonça Júnior. 2018. *In vitro* Effect of *essential oil of pepp*ermint (*Mentha x piperita* L.) on the mycelial growth of *Alternaria alternata*. J. Exp. Agric. Int. 26(5): 1-7.
17. Gurjar, M. S., S. Ali, M. Akhtar and K. S. Singh. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. Agric. Sci. 3: 425-433.
18. Ho, W. C., T. Y. Wu, H. J. Su and W. H. Ko. 2007. Effect of oriental medicinal plant extracts on spore germination of *Alternaria brassicicola* and nature of inhibitory substances from speed weed. Plant Dis. 91: 1621-1624.
19. Hong, S. G., R. A. Cramer, C. B. Lawrence and B. M. Pryor. 2005. Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. Fungal Genet. Biol. 42: 119-129.
20. Lawrence, D. P., P. B. Gannibal, T. L. Peever and B. M. Pryor. 2013. The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. Mycologia. 105: 530-546.
21. Lecomte, C., C. Alabouvette, V. Edel-Hermann, F. Robert and C. Steinberg. 2016. Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: a review. Biol. Control. 101: 17-30.
22. Lingaraju, D. P., M. S. Sudarshana, C. Mahendra and K. P. Rao. 2016. Phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extracts of *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae). Indo Am. J. Pharm. Res. 6: 4339-4344.
23. Liu, X., C. Ouyang, Q. Wang, Y. Li, D. Yan, D. Yang, W. Fang, A. Cao and M. Guo. 2017. Effects of oil extracts of *Eupatorium adenophorum* on *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi *in vitro*. Pestic. Biochem. Phys. 140: 90-96.
24. Madhuri, S., A. U. Hegde, N. S. Srilakshmi and T. R. Prashith Kekuda. 2014. Antimicrobial activity of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* peel extracts. J. Pharm. Sci. Innov. 3: 366-368.
25. Nashwa, S. M. A. and K. A. M. Abo-elyousr. 2013. Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. Plant Prot. Sci. 48: 74-79.
26. Nicosia, M. G. L. D., S. Pangallo, G. Raphael, F. V. Romeo, M. C. Strano, P. Rapisarda, S. Droby and L. Schena. 2016. Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract. Postharvest Biol. Tec. 114: 54-61.
27. Pane, C., F. Fratianni, M. Parisi, F. Nazzaro and M. Zaccardelli. 2016. Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. Crop Prot. 84: 81-87.
28. Papoutsis, K., Q. V. Vuong, L. Tesoriero, P. Pristijono, C. E. Stathopoulos, S. Gkountina, F. Lidbetter, M. C. Bowyer, C. J. Scarlett and J. B. Golding. 2018. Microwave irradiation enhances the *in vitro*

antifungal activity of citrus by-product aqueous extracts against *Alternaria alternata.* Int. J. Food Sci. Tech. 53: 1510-1517.

29. Perina, F. J., D. C. Amaral, R. S. Fernandes, C. R. Labory, G. A. Teixeira and E. Alves. 2014. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: effects on growth, viability, early infection and cellular mode of action. Pest Manag. Sci. 71: 1371-1378.
30. Saharan, G. S., N. Mehta, P. D. Meena and P. Dayal. 2016. *Alternaria* diseases of crucifers: biology, ecology and disease management. Springer. Singapore.
31. Simmons, E. G. 2007. *Alternaria*: An identification manual. CBS. Utrecht.
32. Singh, T. and C. Chittenden. 2008. *In-vitro* antifungal activity of chilli extracts in combination with *Lactobacillus casei* against common sapstain fungi. Int. Biodeter. Biodegr. 62: 364-367.
33. Soumya, S. L. and B. R. Nair. 2012. Antifungal efficacy of *Capsicum frutescens* L. extracts against some prevalent fungal strains associated with groundnut storage. J. Agric. Technol. 8: 739-750.
34. Tao, N. G., Y. J. Liu and M. L. Zhang. 2009. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). Int. J. Food Sci. Tech. 44: 1281-1285.
35. Tao, N., Q. OuYang and L. Jia. 2014. Citral inhibits mycelial growth of *Penicillium italicum* by a membrane damage mechanism. Food Control. 41: 116-121.
36. Thiem, B., O. Goslinska, M. Kikowska and J. Budzianowski. 2010. Antimicrobial activity of three *Eryngium* L. species (Apiaceae). Herba Pol. 56: 52-59.
37. Tian, J., Y. Wang, H. Zeng, Z. Li, P. Zhang, A. Tessema and X. Peng. 2015. Efficacy and possible mechanisms of perillaldehyde in control of *Aspergillus niger* causing grape decay. Int. J. Food Microbiol. 202: 27-34.
38. Touba, E. P., M. Zakaria and E. Tahereh. 2012. Anti-fungal activity of cold and hot water extracts of spices against fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. Microb. Pathogenesis. 52: 125-129.
39. White, T. J., T. Bruns, S. J. W. T. Lee and J. L. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press. San Diego (California).
40. Yazdani, D., Y. H. Tan, M. A. Zainal Abidin and I. B. Jaganath. 2011. A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi. J. Med. Plants Res. 5: 6584-6589.

Effects of Plant Extracts on Inhibition of *Alternaria* spp.[1]

Yi-Jia Lin[2], Ying-Hong Lin[3] and Yuan-Min Shen[4*]

ABSTRACT

A total of 31 plant extracts prepared by soaking the plants in water were evaluated for the inhibitory effects on *Alternaria* spp.. The autoclave-sterilized extracts of chilli (*Capsicum annuum*) fruits, culantro (*Eryngium foetidum*) leaves, common garcinia (*Garcinia spicata*) fruit rinds, and sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit rinds inhibited the mycelial growth of *A. alternata* and *A. brassicicola*. The conidia germination rate of *A. brassicicola* decreased by the four plant extracts whereas that of *A. alternata* only decreased by the extracts of chilli, culantro, and common garcinia. An increase in the concentration (up to 20%) showed better fungal inhibitory effects. After plant extracts treatments, increasing extracellular hyphal conductivity, inducing cellular material release, and decreasing conidial cell viability of *Alternaria* spp. were demonstrated. The evidences may explain some of their antifungal mechanisms. Application of chilli and common garcinia extracts on cabbage seedlings produced comparable prevention and curative effects on black spot disease caused by *A. brassicicola*. The application of using chilli and common garcinia extracts on plant disease management would be studied in the future.

Key words: crucifers, plant pathogens, botanical pesticide, plant disease management, *Alternaria*

[1] Contribution No. 0955 from Taichung DARES, COA.

[2] Research Assistant of Taiwan Agriculture Research Institute, COA. (Former Research Assistant of Taichung DARES, COA.)

[3] Associate Professor of Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung.

[4] Assistant Researcher of Taichung DARES, COA. *Corresponding author: shenym@tdais.gov.tw.