

第二十一屆旺宏科學獎

創意說明書

參賽編號：SA21-319

作品名稱：尋找木瓜病原菌的天然抑制劑與抑菌
機制

姓名：劉子熊

關鍵字：植物精油、黑色素、天然抑菌劑

壹、摘要

我們在潰爛的木瓜中純化出 *Lasiodiplodia theobromae* 與 *Neofusicoccum parvum* 兩種真菌，會使木瓜組織產生軟腐之現象，容易造成水果採收及運送時的大量損失。研究結果顯示，兩菌亦會感染其他植物，但部分具濃烈氣味的植物有較高的耐受性，且薰衣草氣味可使該二菌種的菌絲與黑色素含量下降，藉以降低致病力。其中，薰衣草氣味中的芳樟醇是抑菌的關鍵成分。此外，我們發現無光環境會誘導病原菌的黑色素累積，並提升其致病力。綜上所述，未來在木瓜運送與保存上，若能透過照光並配合薰蒸微量薰衣草精油或芳樟醇氣味，應可有效降低病原菌感染機率，以此減少農損。

貳、研究動機

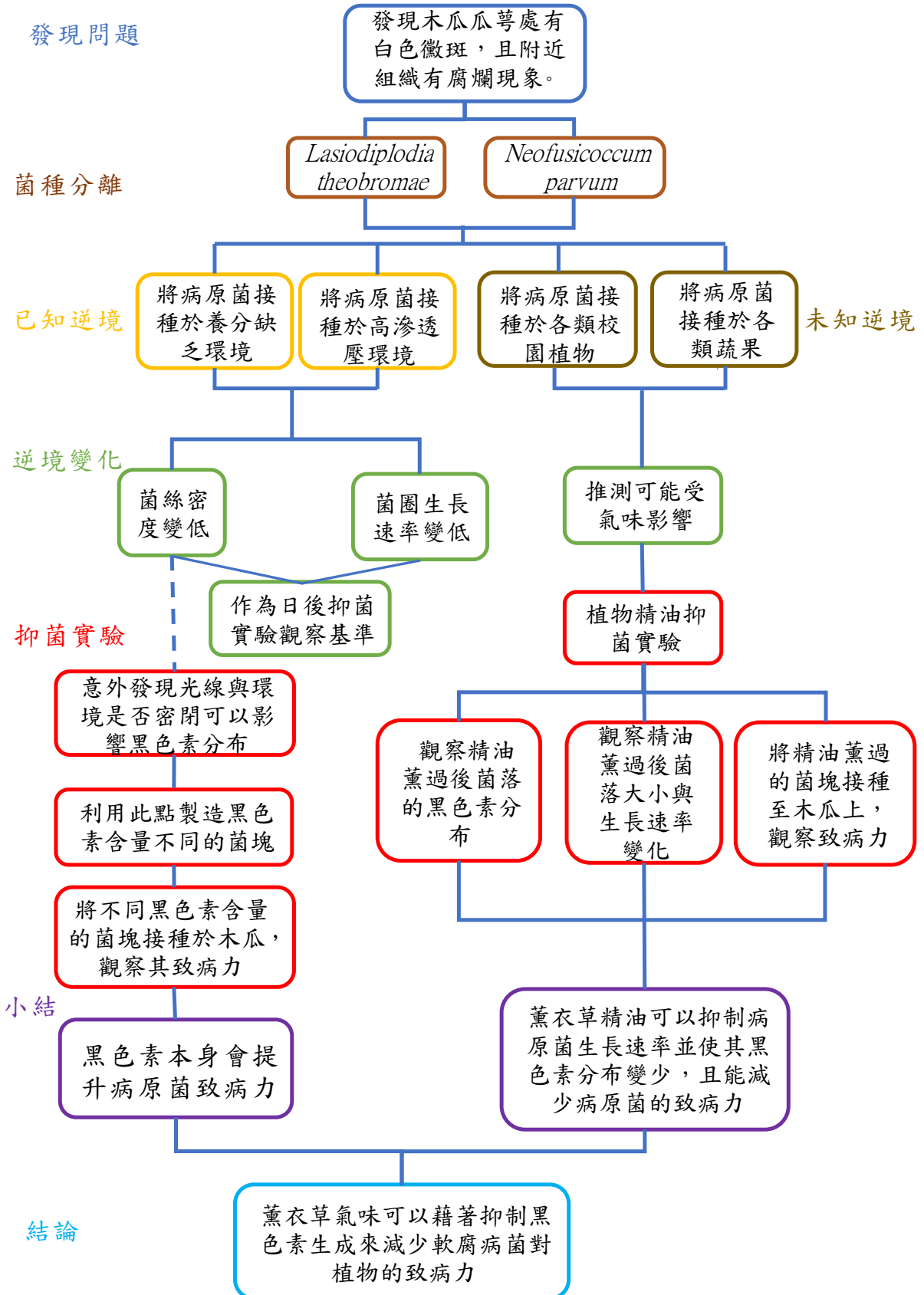
在清理廚房時，觀察到木瓜上有幾片黴斑。經查詢資料，得知在木瓜採收後，瓜萼切口處常常出現此類症狀並進一步導致果肉腐爛並造成嚴重損失。我們好奇是何種菌種致使木瓜組織腐爛，且欲了解這些菌種是否只感染特定植物？其生長條件與致病機制又是什麼？為了解答上述疑問，我們進行了一系列的實驗，並欲嘗試找到可減緩感染之方法，藉以減少農損。我們針對以下內容深入研究：

參、研究目的

- 一、尋找並分離可能造成木瓜腐爛的菌種
- 二、探討不同環境對菌種生長速率影響
- 三、比較光線與通氣與否對其黑色素生成之差異
- 四、觀察菌種在不同種植物上的感染差異
- 五、研究不同精油對菌種生長狀況的影響
- 六、研究不同精油對其黑色素生成之差異
- 七、探討精油處理後對真菌感染力影響
- 八、探討芳樟醇氣味對菌種生長的影響
- 九、探討黑色素對真菌感染力的影響
- 十、探討芳樟醇氣味抑菌效果的持續時間

肆、程或方法

一、研究流程



二、研究方法

(一) 培養基配置

(1) 一般培養基

15.6g 的 PDA 粉末與 400mL 的蒸餾水製成培養液，每盤 20mL 培養液。

(2) 鹽分培養基

成分同上，另加 5g 或 10g 的食鹽，NaCl 莫爾濃度為 0.21M 與 0.42M 之培養基，以製造鹽分逆境。

(3) 半養分培養基

7.8g 的 PDA 粉末與 400mL 的水製成培養液，以製造缺乏養分的環境。

(二) 菌落大小測定

因菌落生長不成正圓形，在五個方向測定後取平均作為半徑大小。

(三) 黑色素量化

將菌落置於同光源下，利用 Image J 測量，作為黑色素的量化標準。

(四) 植物接種

(1) 校園植物

從活植株上剪下較新鮮的枝條，將莖刮去部分表皮，將菌塊放置於傷口處，使菌絲面與傷口處相接合。放於培養皿中，放置於恆溫箱。

(2) 蔬菜類

作法同上，但蔬菜類葉片較大無法放入培養皿，故直接置於恆溫箱中。

(3) 水果類

在水果打出空洞，再將菌塊菌絲面朝內放入，放入恆溫箱。

(五) 氣味抑菌實驗

在培養皿中滴入精油或氣味物質，作為氣味來源。另將菌接在培養基上，並與精油培養皿接合，置於恆溫箱，並記錄菌圈大小。

(六) 光照與通氣實驗

做法與上述精油培養皿相同，但不加任何物質。光照組將培養皿置於燈光

下；黑暗組置於不透光容器，放入恆溫箱中。培養皿側面封條接合處戳洞，作為通氣組。未開洞為不通氣組。利用此兩變因觀察菌落黑色素分布。

(七) 致病力實驗

為探討菌塊在活體中生長的真實狀況。在紅灰木瓜上打入空洞，並放入經不同處理的菌塊，接種 Lt 菌與 Np 菌後，隔一段時間後將木瓜切開，觀察其切面。已知 Lt 菌和 Np 菌皆會使組織軟腐，進而於健康組織之間出現一明顯的邊界（如下圖）。藉著測量此腐爛圈的大小將致病力量化。

(八) 菌絲分布觀察

利用解剖顯微鏡分別以上光源與下光源，以菌塊接種處拍照。上光源觀察菌絲生長型態，下光源則觀察菌絲厚度。

伍、研究結果

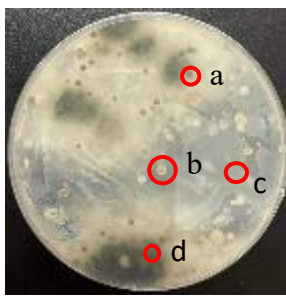
一、菌種發現與柯霍氏假說

在清理廚房時，我們找到一顆腐爛的木瓜（如 a.所示），其中 b.處可見黑色筍狀凹陷，c.處可見白色霉斑。為了得知是什麼菌種造成此病癥，因此取出此兩處之組織液進行了柯霍氏假說的驗證。



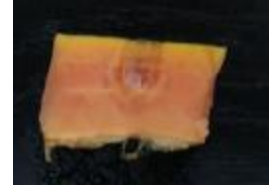
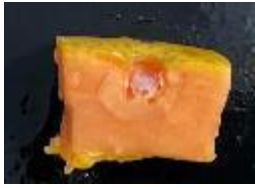
(圖 1-1) 木瓜腐爛情形

經由將組織液塗抹培養皿，我們觀察出如圖 1-2 之狀況，便從中隨機選取不同菌落，再接種回健康木瓜。觀察後，得知只有 k.、n.、p. 處出現明顯腐爛（圖 1-3），經送菌種鑑定後，得知 a.和 d.為 *Lasiodiplodia theobromae* (Lt)，而 h.為 *Neofusicoccum parvum* (Np)。



(圖 1-2) 木瓜發霉處組織液塗盤情形之一 (圖 1-3) 木瓜發霉處組織液塗盤情形之二

(圖 1-4) 空洞組



(圖 1-5) a.處菌感染狀況

(圖 1-6) b.處菌感染狀況

(圖 1-7) c.處菌感染狀況

(圖 1-8) d.處菌感染狀況



(圖 1-9) e.處菌感染狀況

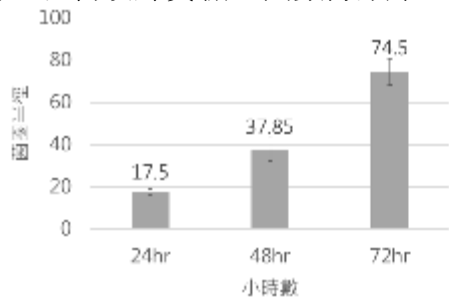
(圖 1-10) f.處菌感染狀況

(圖 1-11) g.處菌感染狀況

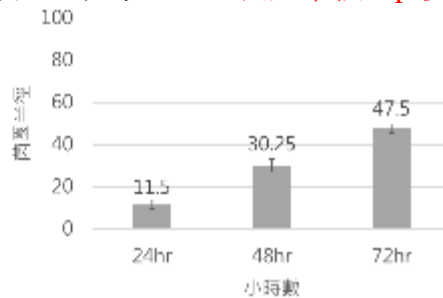
(圖 1-12) h.處菌感染狀況

找出可能致病的菌種後，我們便對其每日半徑總長測量，並藉此瞭解未來觀察所需

之時間，以利設計實驗。由數據顯示，於 72 小時，Lt 生長速率較 Np 快了 50%。



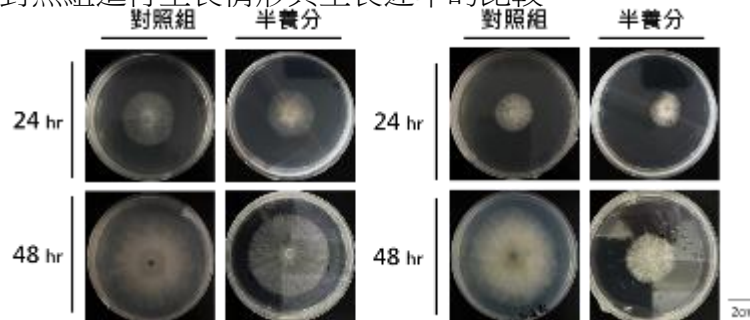
(圖 1-13) Lt 每日半徑總長測量結果



(圖 1-14) Np 每日半徑總長測量結果

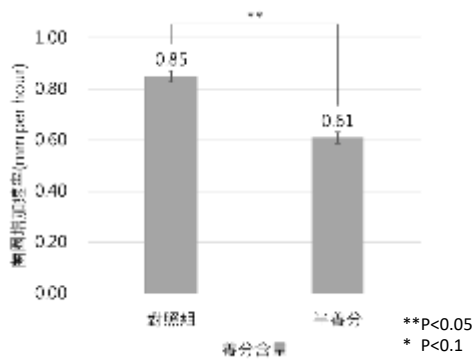
二、探討不同環境對菌種生長速率影響

在瞭解其一般生長狀況後，我們試著觀察菌種在不同生長條件下生長會受到什麼影響，藉以瞭解其生長特性。由於具有不同的蔬果具有不同的養分含量與滲透壓，會提供菌種不同的生長環境，於是我們調整培養基的養分含量與滲透壓大小，藉以模擬上述的生長環境，與對照組進行生長情形與生長速率的比較。

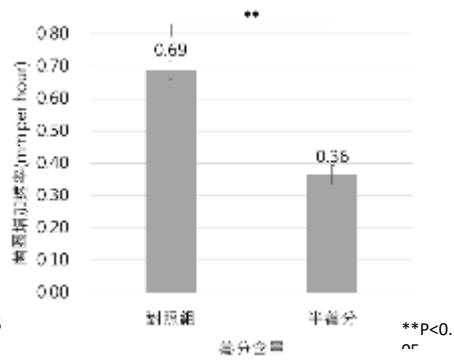


(圖 2-1) Lt 半養分與正常狀況生長情形之比較

(圖 2-2) Np 半養分與正常狀況生長情形之比較



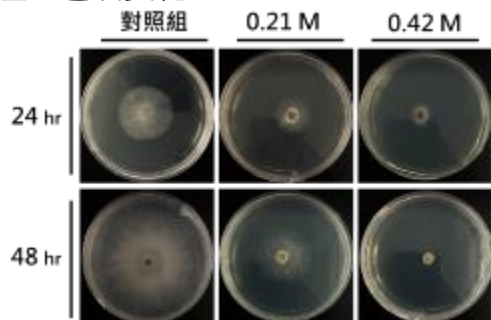
(圖 2-3) Lt 半養分與正常狀況生長速率之比較



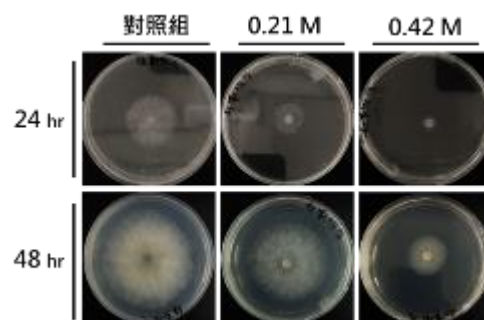
(圖 2-4) Np 半養分與正常狀況生長速率之比較

經過觀察，看出於半養分配置的培養基上菌絲密度會變低，生長中心黑色素會變少；分析後我們亦得知菌圈大小與菌圈增加速率皆明顯變小，其中 Lt 生長速率約減少 29%，而 Np 則減少約 48%，可以得知 Np 比 Lt 對生長環境的養分含量較為敏感。

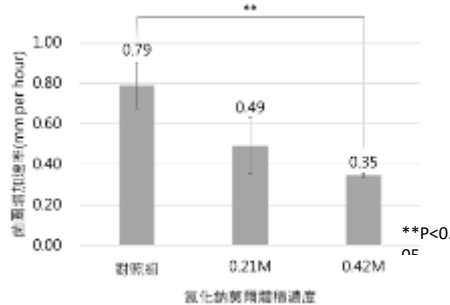
接下來，我們將菌種接種在不同滲透壓的環境下，以了解在鹽逆境下，菌種生長會受產生甚麼變化。



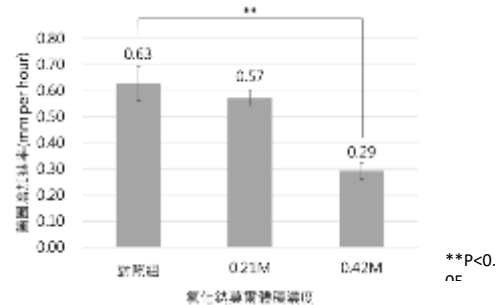
(圖 2-5) Lt 鹽逆境與正常狀況生長情形之比較



(圖 2-6) Np 氯化鈉莫爾濃度對菌圈生長速率影響



(圖 2-7) Lt 鹽逆境與正常狀況生長情形之比較



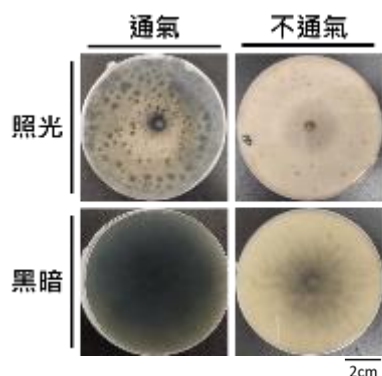
(圖 2-8) Np 氯化鈉莫爾濃度對菌圈生長速率影響

由圖 2-5 與 2-6 我們可觀察隨著鹽濃度提高，兩菌種菌絲密度與菌圈半徑皆下降，顏色也都較淡。而 Np 菌展現出了較 Lt 強的耐鹽能力。經過分析後可知，兩菌種的菌圈生長速率隨著鹽濃度上升明顯變小，且菌圈的密度也降低。但可以明顯看出兩種菌對鹽分的耐受性不同。在 0.21M 的鹽濃度下 Lt 的生長速率下降 38.0%，而 Np 的生長速率未達顯著差異；在 0.42M 鹽濃度下，Lt 生長速率下降 49.3%，而 Np 下降 54.6%。如此可得

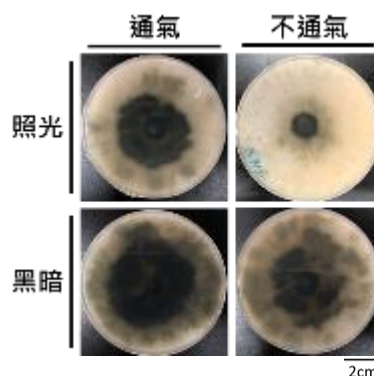
知，Np 在 0~0.21M 生長狀況較 Lt 良好，而在 0.21~0.42M 下則是 Lt 生長較 Np 良好。

三、比較光線與通氣與否對其黑色素生成之差異

實驗的過程中，我們發現光線與通氣與否似乎會影響其生長狀況因此，我們設計實驗，欲探討光照、通氣與否對菌盤產生的影響。

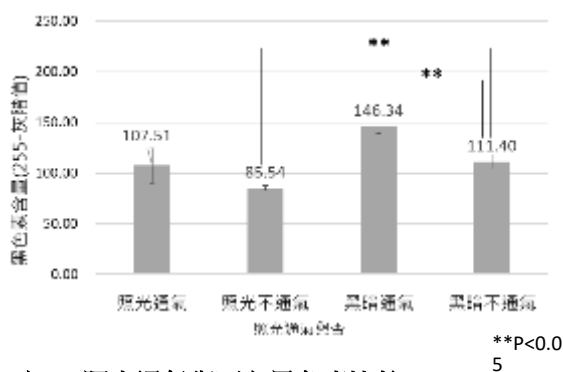


(圖 3-1) Lt 照光通氣與否之黑色素生成比較

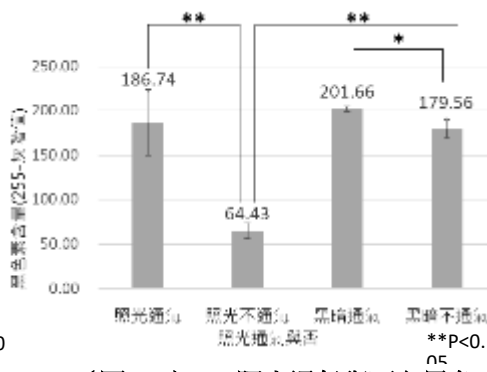


(圖 3-2) Np 照光通氣與否之黑色素生成比較

在 Lt 菌的部分，光照與密閉環境則會使黑色素生成減少，通氣與黑暗環境會使黑色素增加。在光照組中的黑色素為隨機的斑點狀分布，黑暗組則以接種處為中心放射狀分布；Np 同樣在光照或密閉的環境黑色素會減少，通氣與黑暗中會增加，而黑色素分布皆以接種處為中心呈斑塊狀分布。



(圖 3-3) Lt 照光通氣與否之黑色素比較

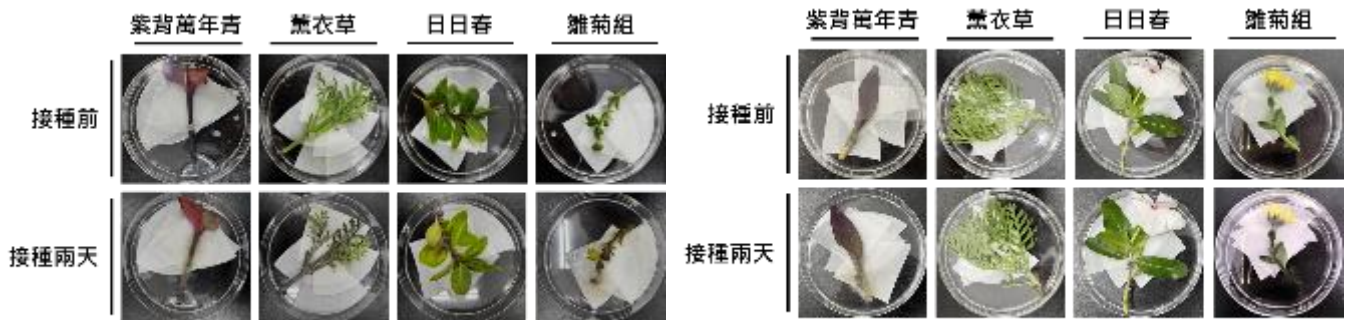


(圖 3-4) Np 照光通氣與否之黑色素比較

透過灰階值分析，可以發現在針對光照的分析下，Lt 跟 Np 兩菌種在通氣的環境下，光照造成的黑色素未成差異，但卻在不通氣的情況下皆產生達到顯著差異；在針對通氣的分析下，Np 無論照光有無，通氣皆造成差異，Lt 則僅在不照光出現顯著差異。總而言之，其黑色素分布受到光的調控，光照會使兩種菌種黑色素減少，推測此兩類菌種很可能具備感光能力，而 Np 對光線的感應能力可能較 Lt 來的敏感。另外，通氣的環境可能會使菌種黑色素增加（參見討論一）。

四、探討菌種對不同植物的感染情形

在了解菌種的相關特性後，我們好奇除了木瓜以外，其他類型的植物是否也會受到感染，於是從園藝植物類、水果類、蔬菜類植物各挑選四種進行接種並觀察其感染情形。

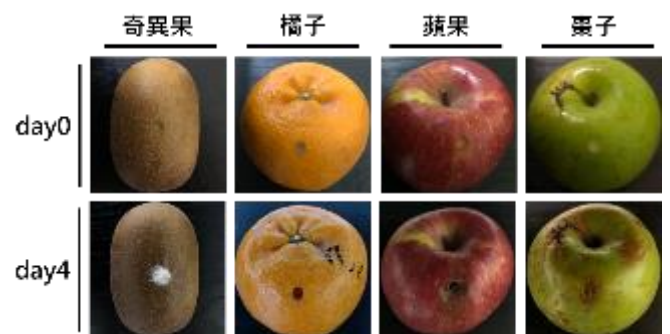


(圖 4-1) 以 Lt 接種園藝植物

(圖 4-2) 以 Np 接種園藝植物



(圖 4-3) 以 Lt 接種水果



(圖 4-4) 以 Np 接種水果



(圖 4-5) 以 Lt 接種蔬菜

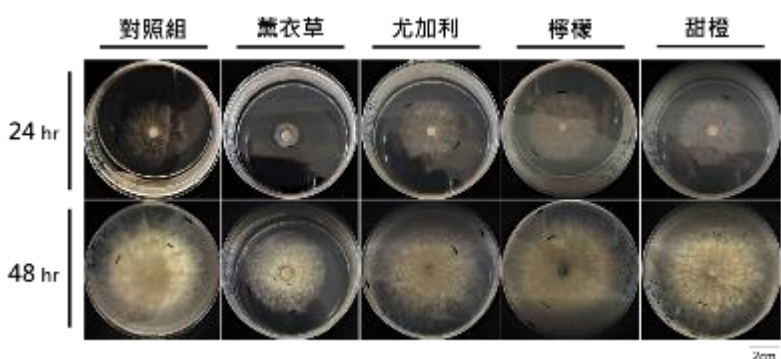


(圖 4-6) 以 Np 接種蔬菜

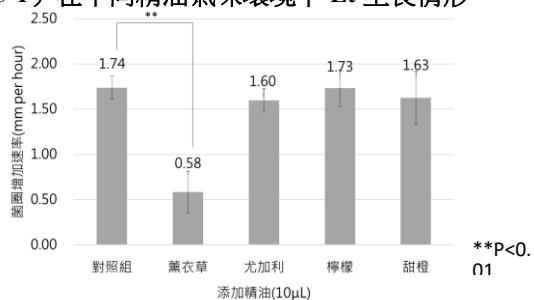
上述實驗中，我們所選的植物皆有受到感染，可以證明 Lt 與 Np 菌的感染對象並不只限於木瓜，而是對大多數植物都具有感染力。然而，有部分植物受感染情形較不顯著，如：水果組的橘子、蔬菜組的九層塔、校園植物組的薰衣草與日日春，這些植物組織病變情況在各組中都是較不明顯的。相較而言，奇異果、地瓜葉、紫背萬年青……等都出現嚴重的組織潰爛，菌絲也遍布植物表面。由於較不受感染的植物皆帶有較強烈氣味，我們推測植物的氣味或許與菌種的感染受到抑制有所關聯，或許可作為天然抑菌劑。

五、比較不同精油氣味對菌種生長情形的影響

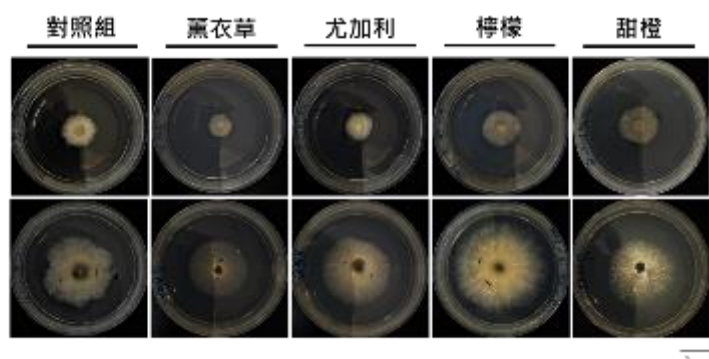
延續上述的植物接種實驗，我們決定往氣味的方向深入探討，於是利用前述結果選擇四種植物精油作實驗。我們選擇了與橘子同為芸香科的檸檬與甜橙精油、薰衣草則是直接選用薰衣草精油，而九層塔的精油較不易取得，因此選了同為芳香類植物的尤加利精油。以上述的精油氣味處理真菌，觀察並記錄其生長情形。



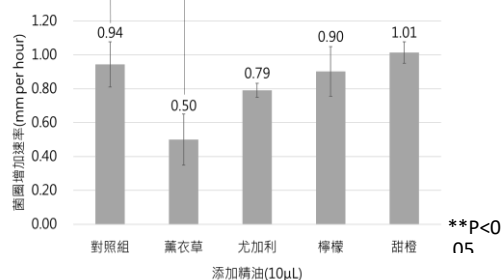
(圖 5-1) 在不同精油氣味環境下 *Lt* 生長情形



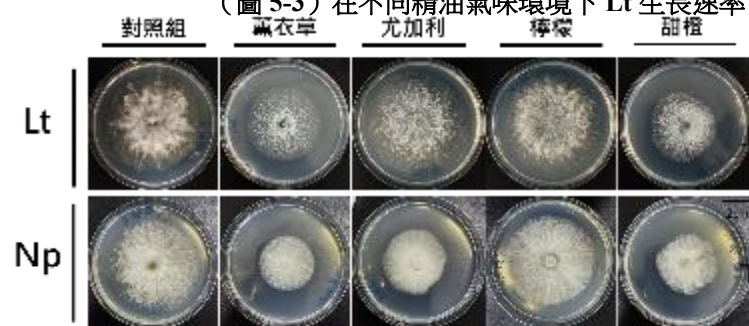
(圖 5-3) 在不同精油氣味環境下 *Lt* 生長速率



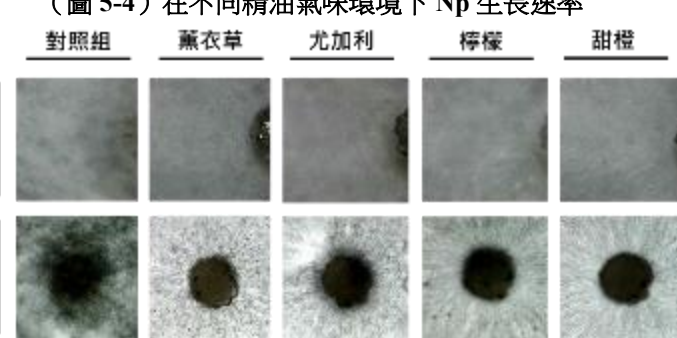
(圖 5-2) 在不同精油氣味環境下 *Np* 生長情形



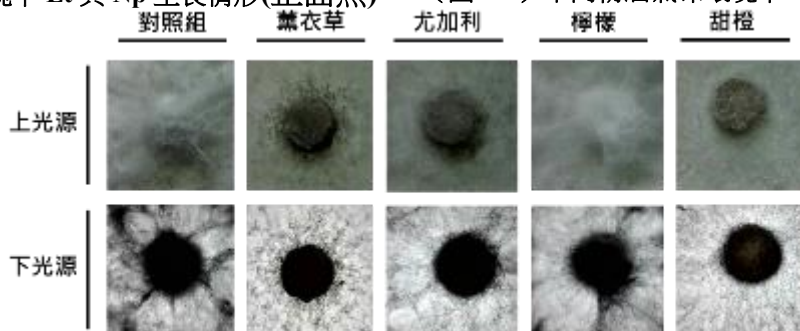
(圖 5-4) 在不同精油氣味環境下 *Np* 生長速率



(圖 5-5) 不同精油氣味環境下 *Lt* 與 *Np* 生長情形(正面照)



(圖 5-6) 不同精油氣味環境下 *Lt* 與 *Np* 生長情形 (顯微鏡下照片)

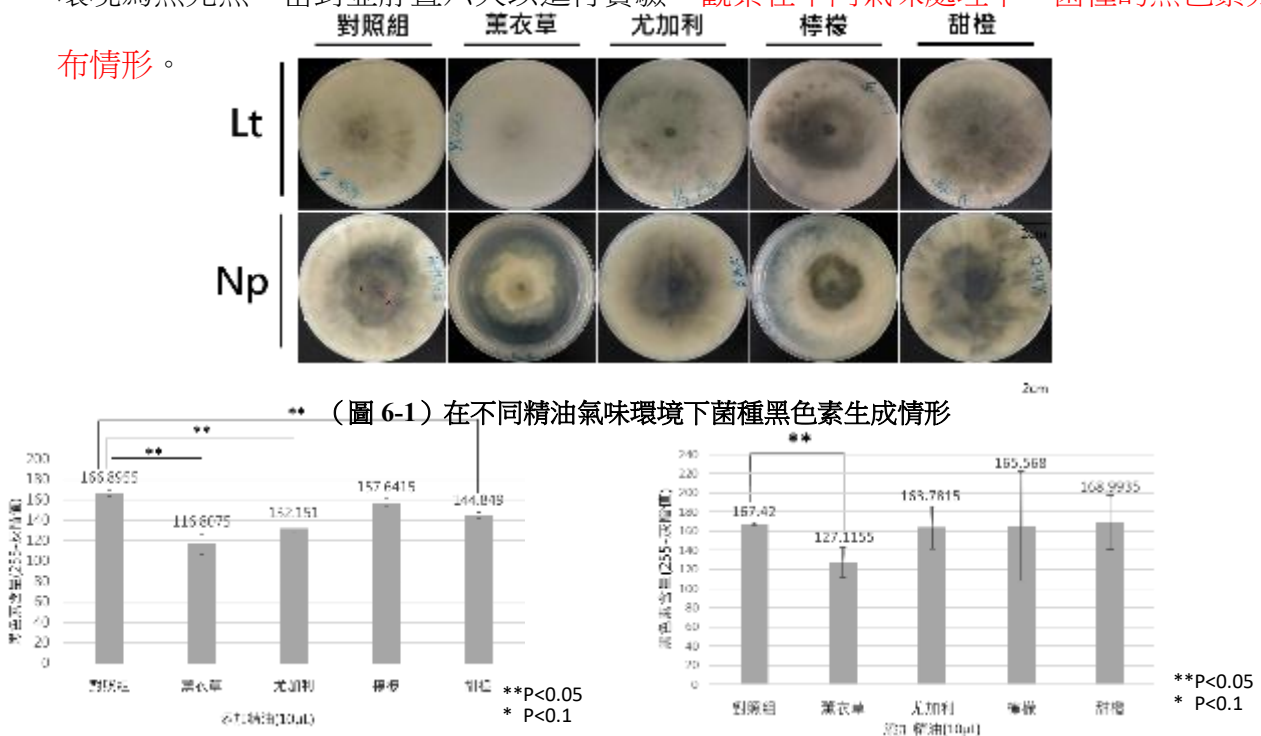


(圖 5-7) 在不同精油氣味環境下 *Np* 生長情形 (解剖顯微鏡下菌絲照片)

從圖 5-3、5-4 中可見，**薰衣草精油抑制菌種生長效果特別突出** (P-value < 0.05)，且其生長速率分別可減至對照組的 33.1% (Lt) 與 53.2% (Np)；相較之下，其他精油在生長速率方面皆未達顯著差異。而在菌絲型態方面，氣味處理後的菌絲密度除檸檬精油外皆可明顯受影響，可從圖中觀察出其菌絲較對照組稀疏，亦可看出其菌絲濃密程度較對照組來的濃，其中仍以薰衣草最為顯著。而**檸檬組的菌絲最為濃密**，菌絲的生長甚至比對照組旺盛。綜上所述，**薰衣草對兩種菌種皆能抑制生長，而檸檬會使菌種的菌絲生長更為旺盛。**

六、比較不同精油氣味對菌種黑色素生成的影響

我們於幾日後觀察實驗五留下之菌盤，得知經氣味處理的菌盤黑色素含量明顯較低。**我們好奇精油能否抑制黑色素生成**，為了避免光照與通氣因素影響實驗結果，便在固定環境為無光照、密封並靜置六天以進行實驗，**觀察在不同氣味處理下，菌種的黑色素分布情形。**



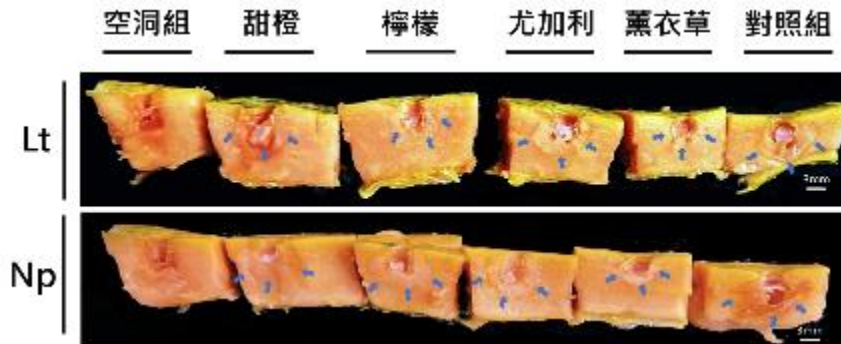
(圖 6-2) 在不同精油氣味環境下 Lt 菌盤黑色素含量

(圖 6-3) 在不同精油氣味環境下 Np 菌盤黑色素含量

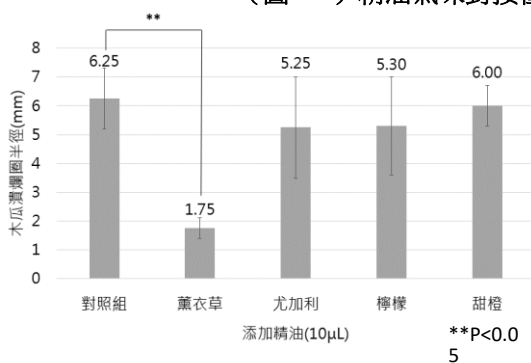
從實驗結果中，可見薰衣草精油對兩種菌種皆能顯著降低其黑色素生成 RGB，而甜橙、尤加利等只對 Lt 菌有顯著效果，對 Np 菌則沒有差異。而檸檬則是對兩菌種的黑色素生成皆沒有影響。四種精油中，**只有薰衣草對兩菌種的黑色素生成皆產生顯著影響。**

七、比較不同精油處理後對真菌感染力的影響

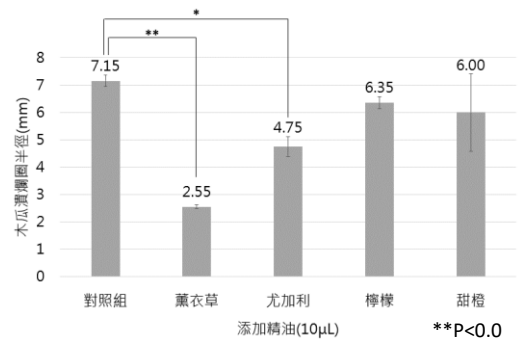
了解被精油處理過後的真菌對生長速率有影響後，為了確認精油處理後的病原菌對植物的致病力是否也有下降，我們將氣味處理後的病原菌接種回紅灰木瓜上，觀察潰爛圈的半徑大小差異，作為感染力量化的依據。



(圖 7-1) 精油氣味對接種菌種潰爛圈影響照片



(圖 7-2) 精油氣味對 Lt 潰爛圈半徑影響

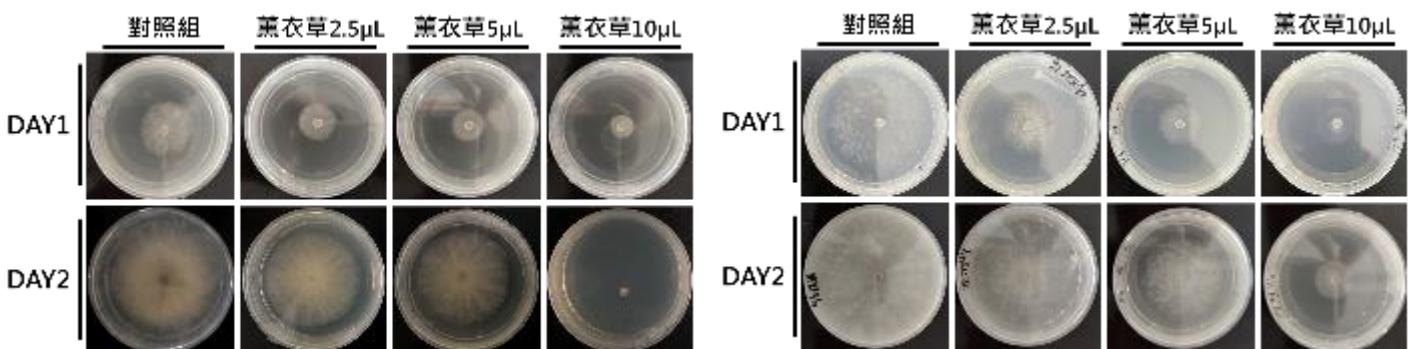


(圖 7-3) 精油氣味對 Np 潰爛圈半徑影響

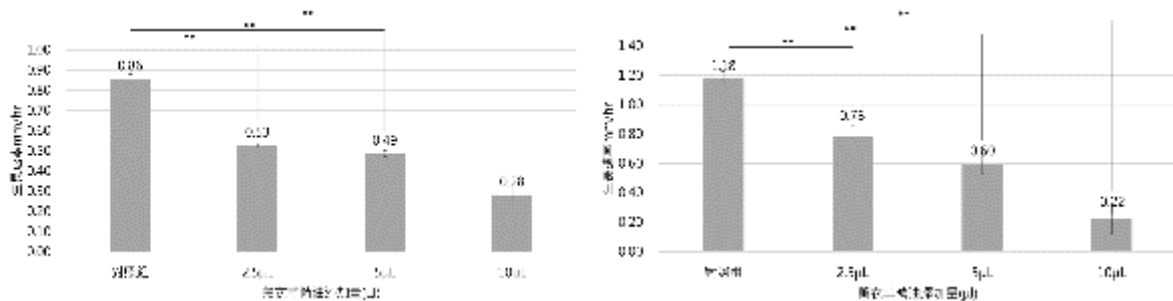
由實驗結果可判斷薰衣草對兩菌種的感染力皆出現明顯抑制，而經檸檬與甜橙精油處理後對感染力的影響微乎其微，尤加利在 Np 菌的表現達顯著差異但對 Lt 菌沒有影響。可由此推測，柑橘類抑制真菌生長可能另有他法，而非依靠氣味。綜上所述，四種精油中，僅薰衣草能同時降低兩菌種的感染力，推測薰衣草精油的抑菌效果可能具有廣效性。

八、不同濃度薰衣草精油對菌種生長速率的影響

由實驗七與實驗六可以確認薰衣草精油的益菌效果，於是我們想進一步測試不同濃度的薰衣草精油之抑菌效果如何，並將結果用於分析其實際應用價值。



(圖 8-1、8-2) 不同薰衣草精油添加量之氣味對菌種生長速率影響照片 (左為 Lt、右為 Np)

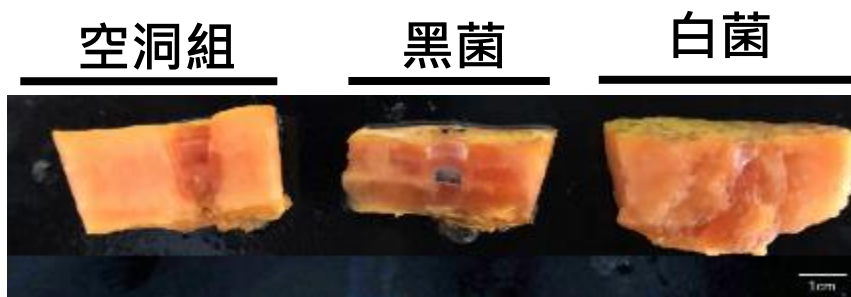


(圖 8-3、8-4) 不同薰衣草精油添加量之氣味對 Lt 與 Np 菌種生長速率影響(左 Lt、右 Np)

由上述實驗結果可以知道，各組均有達到顯著差異 (p-value<0.05)，而薰衣草精油的抑菌效果隨著濃度增加會顯著的提升，當加入的體積達到 10 µl 的時候菌絲幾乎無法生長。在各組中，Np 受抑制的程度皆大於 Lt 受抑制的程度。

九、黑色素對真菌感染力的影響

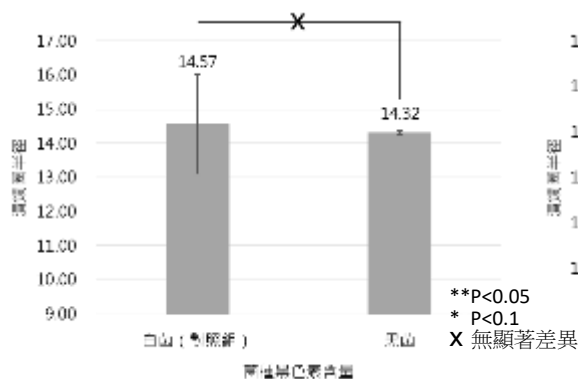
由實驗六中之結果，分析出精油除抑制真菌生長速率，亦會抑制其黑色素的生成。我們想了解黑色素本身是否對真菌感染力造成影響，因此選用生長狀態一致但黑色素含量較高的黑菌與黑色素含量較低的白菌進行接種，並觀察木瓜潰爛程度。



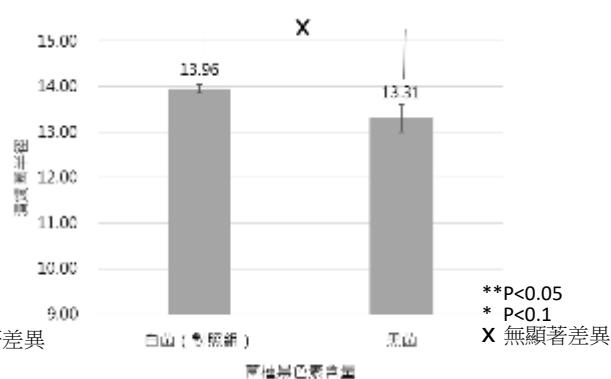
(圖 9-1) 黑色素對接種 Lt 潰爛圈影響照片



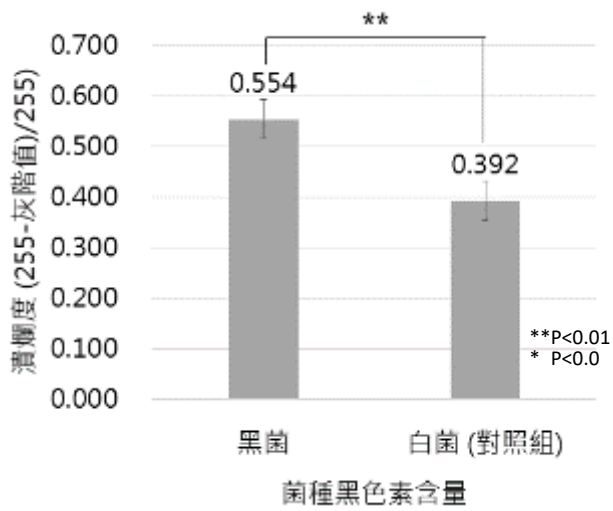
(圖 9-2) 黑色素對接種 Np 潰爛圈影響照片



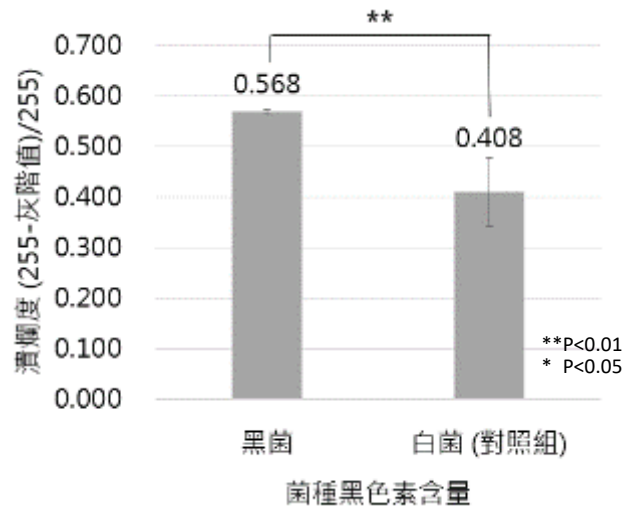
(圖 9-3) 黑色素對 Lt 潰爛圈半徑影響



(圖 9-4) 黑色素對 Np 潰爛圈半徑影響



(圖 9-5) 黑色素對 Lt 潰爛程度影響

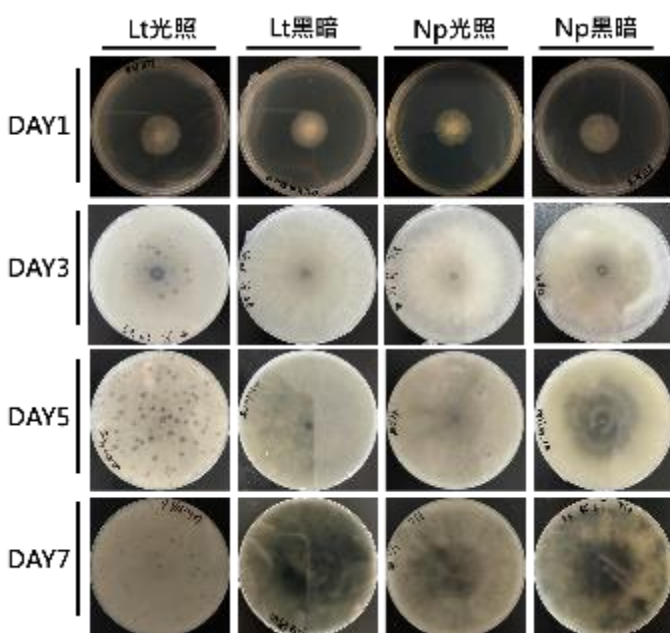


(圖 9-6) 黑色素對 Np 潰爛程度影響

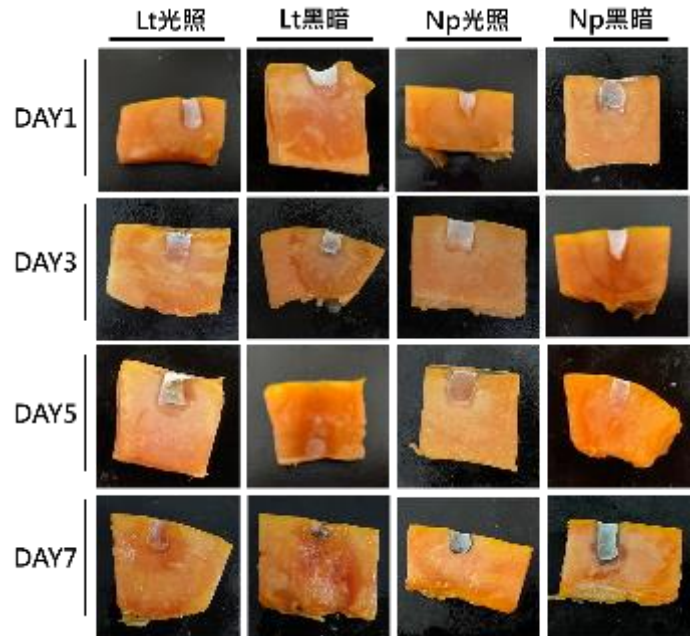
經分析實驗結果，黑色素含量在 Lt 與 Np 兩菌種上皆沒有對潰爛圈半徑造成顯著差異，但根據圖 9-1、9-2 與 9-5、9-6，可以發現黑菌感染區域腐爛程度較嚴重，RGB 值與對照組呈明顯差異 (P-value < 0.01)。

十、光照造成不同程度的黑色素差異的致病力影響

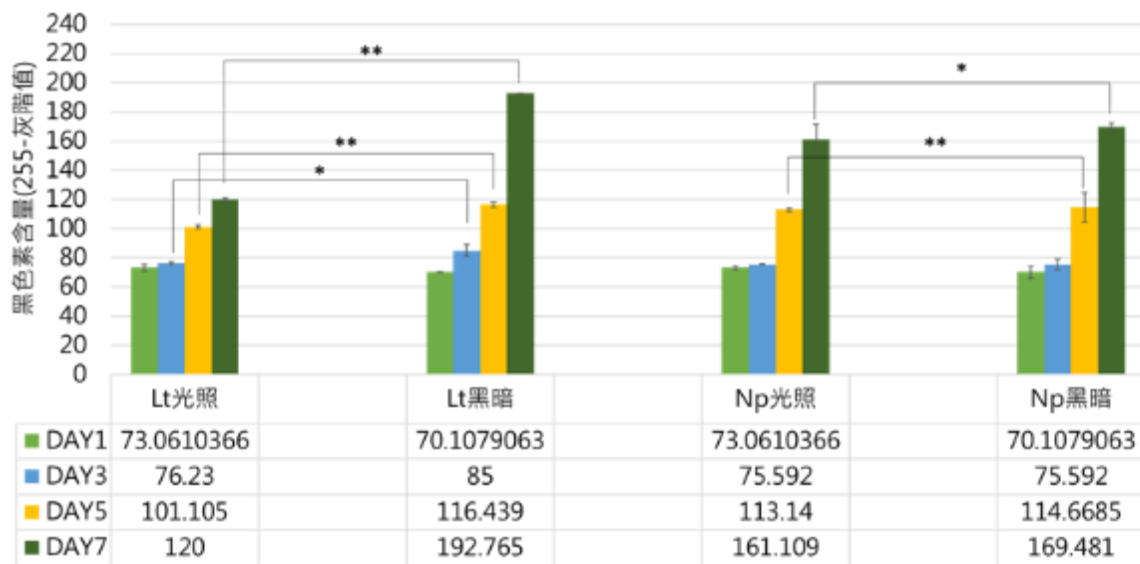
分析實驗六和實驗九的結果後，我們想進一步確認在光照的調控下，黑色素是否為影響真菌感染力的真正因素，於是我們將照光組與不照光組的菌分別放置 1、3、5、7 天後，取出並重新接回木瓜上，觀察隨著天數增加，黑色素差異出現時，致病力是否也同時出現差異。



(圖 10-1) 不同天數下光照對 Np 與 Lt 黑色素影響照片



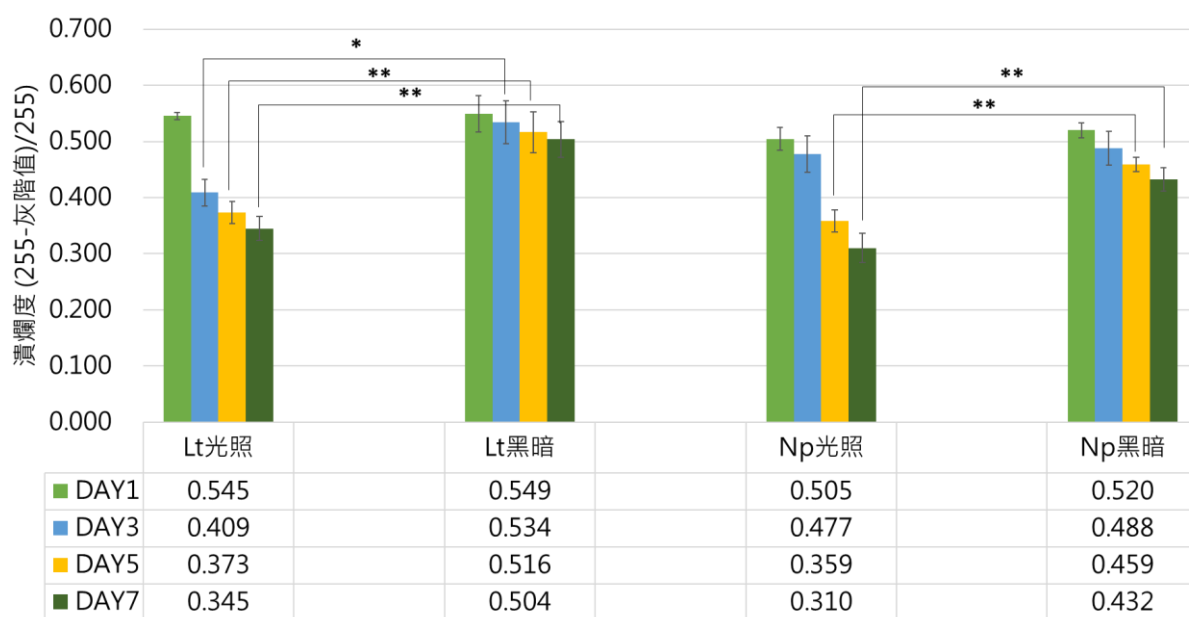
(圖 10-2) 不同天數下光照對 Np 與 Lt 致病力影響照片



**P<0.05
* P<0.1

菌種光照與否

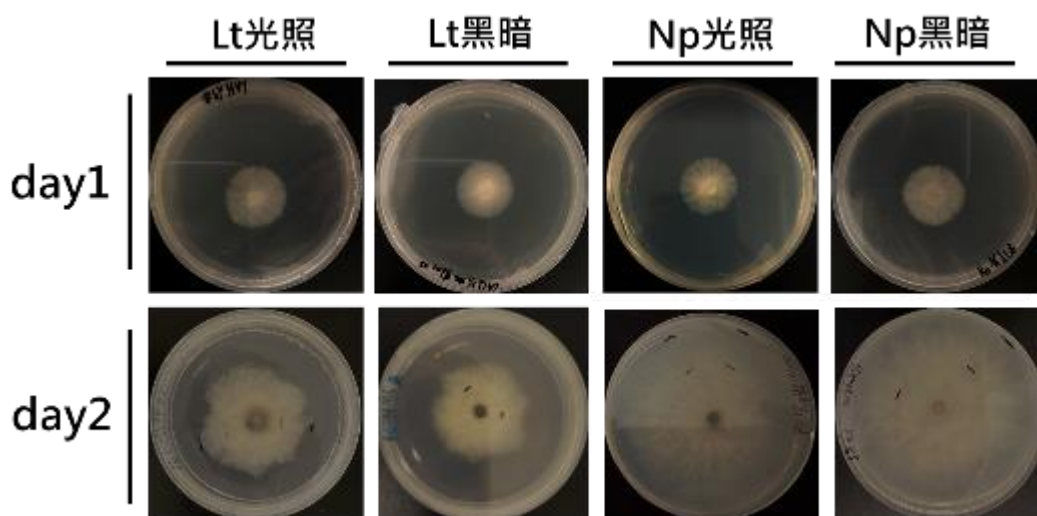
(圖 10-3) 不同天數下光照對 Np 與 Lt 黑色素含量影響圖表



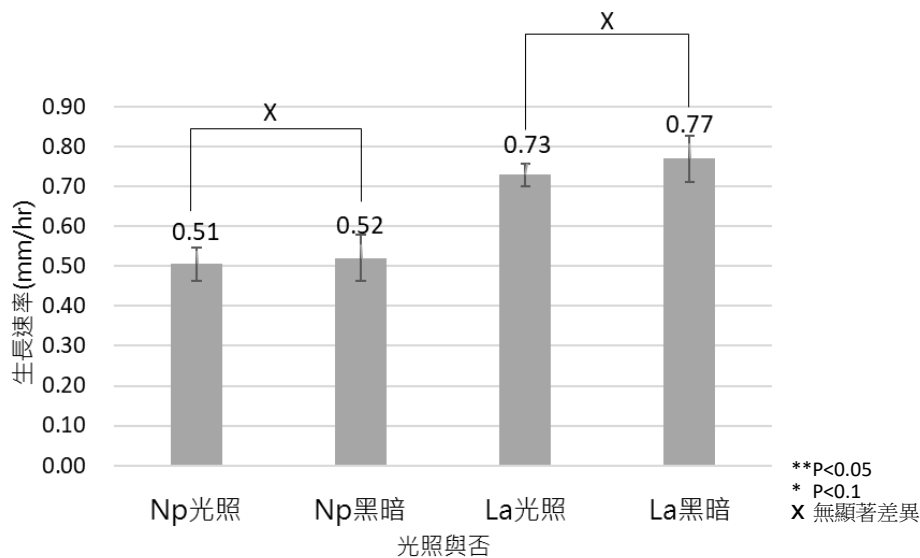
**P<0.05
* P<0.1

菌種光照與否

(圖 10-4) 不同天數下光照對 Np 與 Lt 致病力影響圖表



(圖 10-5) 光照對 Np 與 Lt 生長影響照片



(圖 10-6) 光照對 Np 與 Lt 生長影響圖表

由以上實驗可以發現，光照與否對於 Lt 與 Np 兩菌種皆不會影響生長速率，而兩菌種的黑暗組的菌盤黑色素皆大於光照組，且會隨著生長時間的增加，黑色素含量差異會越來越大。致病力方面，則是隨著生長時間增加，兩菌種的光照組與黑暗組致病力都有下降的趨勢。

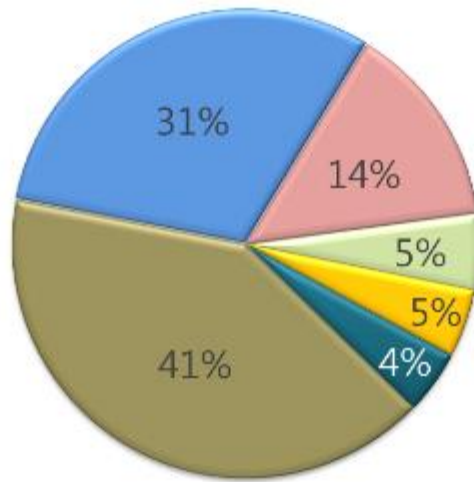
同時，我們注意到在第一天與第三天時，光照組與黑暗組的黑色素差異並不明顯，而其致病力也未出現顯著的差異，然而當菌種生長到第五或第七天，光照組與黑暗組出現了顯著的黑色素含量差異，他們的致病力也同時出現了差異，加上前述的實驗也證明光照對於 Lt 與 Np 皆不會直接影響生長速率，我們推測能造成菌種致病力差異的關鍵因素可能是黑色素。

菌種的致病力會隨著時間而下降，可能是因為菌種老化而導致致病力逐漸下降，而在黑暗環境中，菌種產生的黑色素可能具有延緩菌種老化的能力或是能夠增強菌種的致病力，使得在較長的生長時間下，黑色素含量高的黑暗組的致病力衰退程度較黑色素含量低的光照組來得低。

十一、芳樟醇氣味對菌種生長的影響

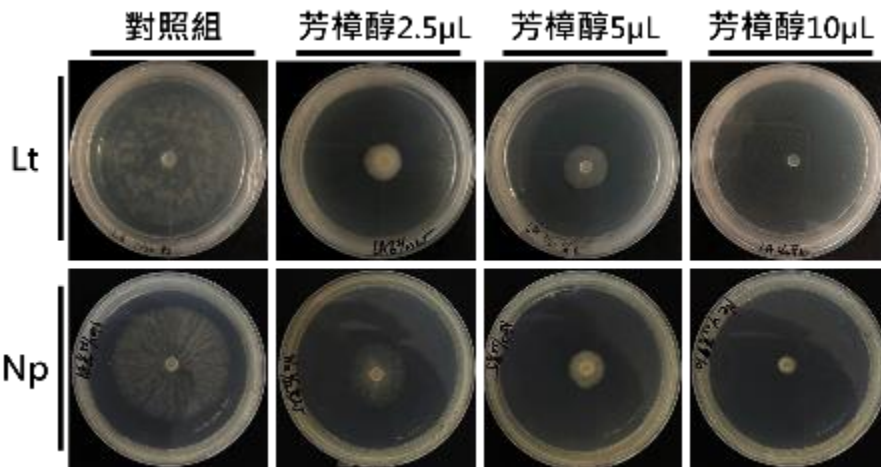
Krzysztof Smigielski 等 (2013) 的研究指出，薰衣草精油的成分為芳樟醇 (30.6%)、乙酸芳樟酯 (14.2%)、香葉醇 (5.3%)、 β -石竹烯 (4.7%)、乙酸薰衣草酯 (4.4%)，而其中含量最高的成分為芳樟醇，因此我們推測芳樟醇是使薰衣草精油產生顯著抑菌效果的關鍵成分。所以我們針對芳樟醇做與精油相同的氣味抑菌實驗，藉此找出薰衣草精油中關

鍵的抑菌成份。

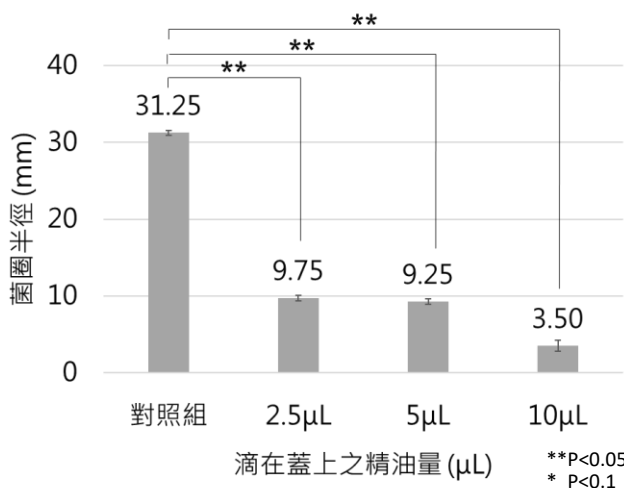


■ 芳樟醇 ■ 乙酸芳樟酯 ■ 香葉醇 ■ β-石竹烯 ■ 乙酸薰衣草醇 ■ 其他

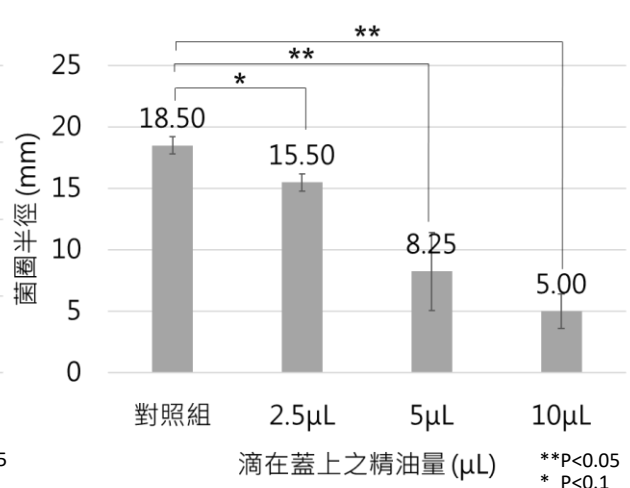
(圖 11-1) 薰衣草精油氣味成分圓餅圖 (Krzysztof Smigielski 等 (2013))



(圖 11-2) 芳樟醇氣味對菌種半徑影響照片



(圖 11-3) 芳樟醇氣味對 Lt 半徑影響照片



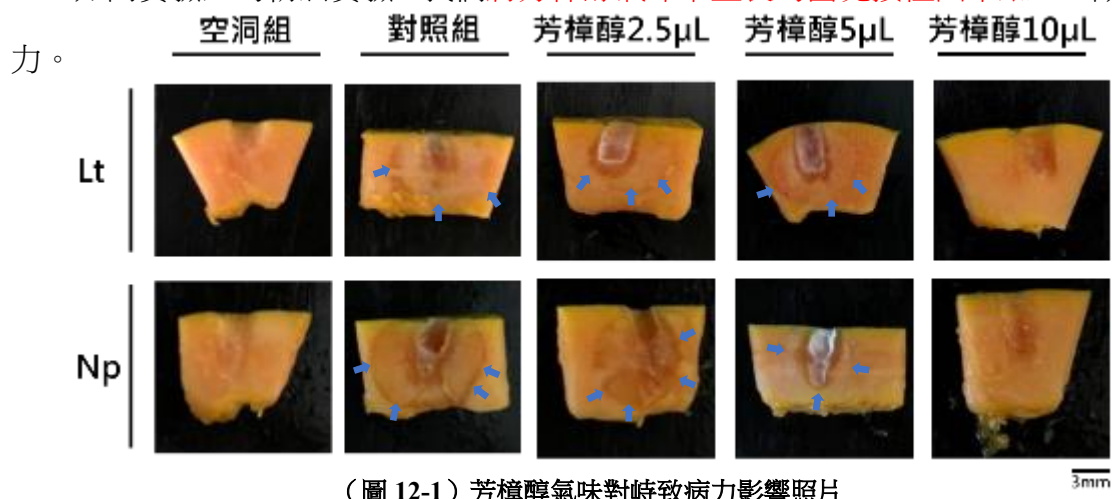
(圖 11-4) 芳樟醇氣味對 Np 半徑影響照片

我們發現芳樟醇可以顯著地抑制菌種的生長速率，且氣味濃度越高效果越顯著。而 Lt 受芳樟醇抑制的程度較 Np 菌來得明顯。此實驗足以證明，**芳樟醇對菌種的生長有明**

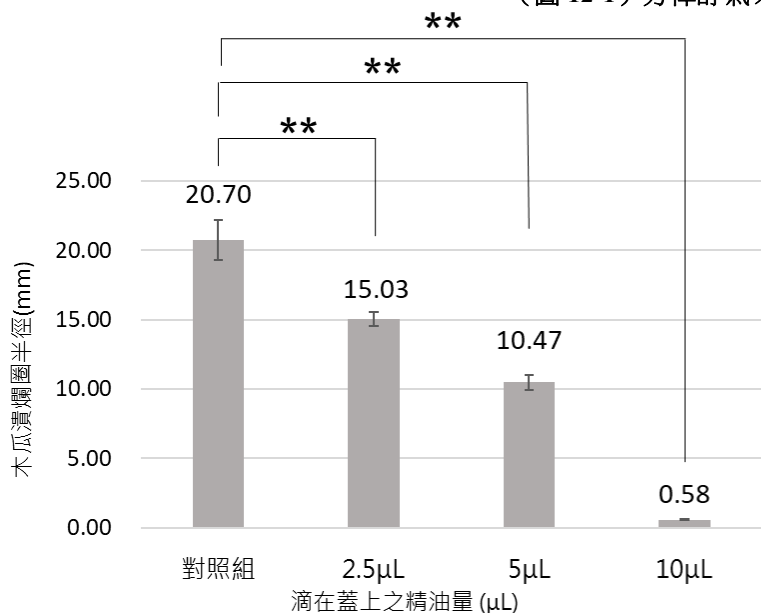
顯抑制，而 Np 菌對芳樟醇可能具備較 Lt 菌高的耐受性。

十二、芳樟醇氣味對菌種致病力的影響

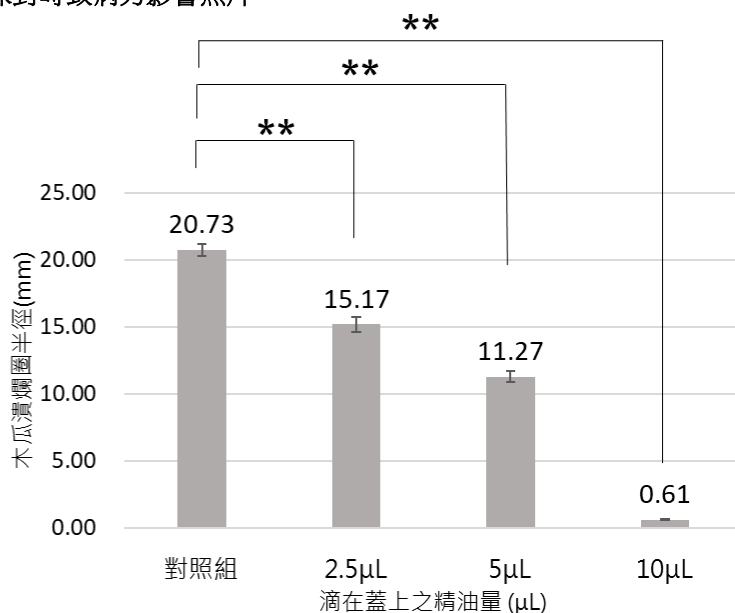
如同實驗六的精油實驗，我們將芳樟醇氣味下生長的菌塊接種回木瓜上，觀察其致病力。



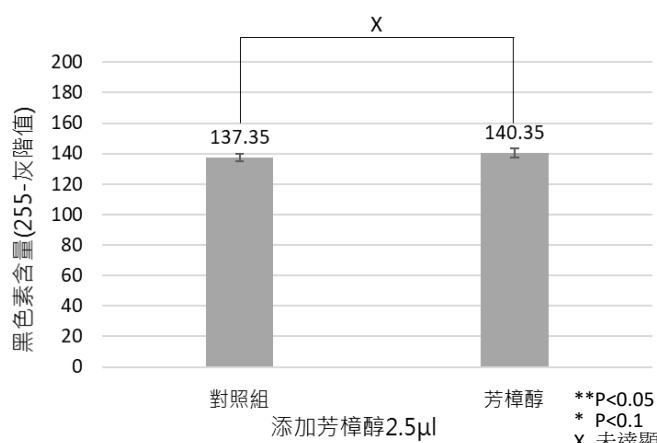
(圖 12-1) 芳樟醇氣味對峙致病力影響照片



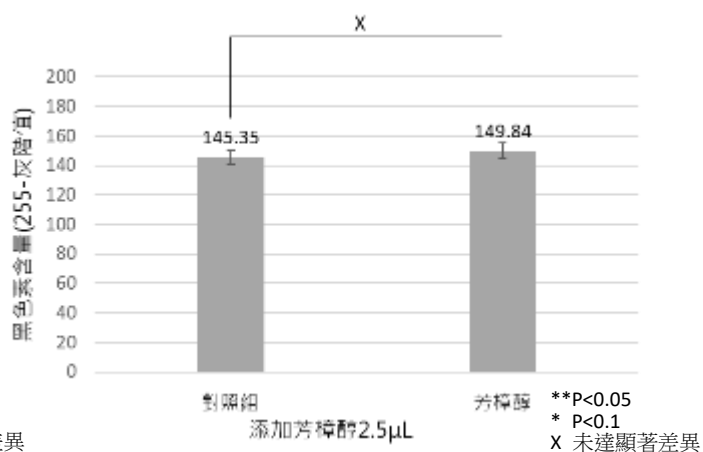
(圖 12-2) 芳樟醇氣味對 Lt 致病力影響圖表



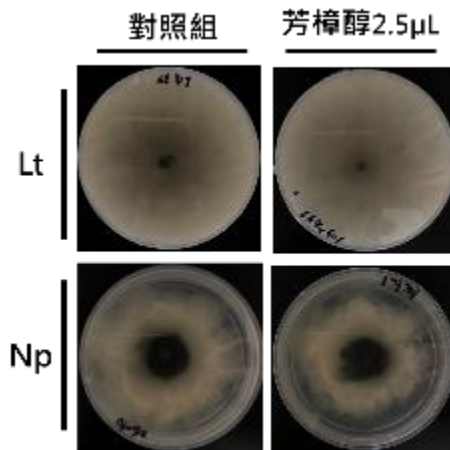
(圖 12-3) 芳樟醇氣味對 Np 致病力影響圖表



(圖 12-4) 芳樟醇氣味對 Lt 黑色素影響圖表



(圖 12-5) 芳樟醇氣味對 Np 黑色素影響圖表



(圖 12-6) 芳樟醇氣味對 Lt 黑色素影響照片

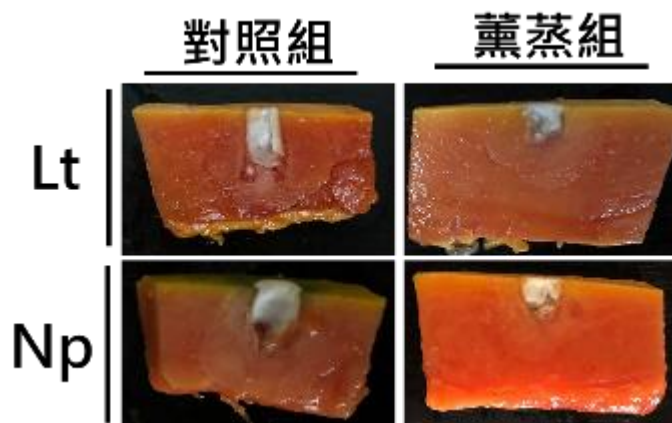
透過以上實驗結果可以得知，**芳樟醇氣味薰蒸後的菌種致病力明顯下降，且隨著濃度上升，抑制效果越來越強**。另外，芳樟醇對 Np 菌的抑制效果較 Lt 強，Lt 菌平均每微升降低的菌圈半徑 1.98mm/ μ l，Np 則為 1.89mm/ μ l。**而芳樟醇雖然能降低菌種的致病力，但是對於黑色素的影響並不明顯，結果皆未達顯著差異**。可以推知**薰衣草精油中應該具有其他成分具有抑制黑色素生成的效果**，此類成分配合著芳樟醇能降低菌種生長速率的能力，進而對菌種產生抑制。

利用前述的資料計算，薰衣草精油與芳樟醇在培養皿的中濃度分別為 0.026 及 0.013 μ l/ml 時可以使菌種生長速率下降達 50%，換算到一般裝運木瓜的紙箱中（容積約為 25 公升）分別需要 0.65 與 0.32 毫升的量，而薰衣草精油的市價為每毫升 5~60 元不等，芳樟醇則為每毫升 0.05~0.07 元，薰蒸一箱的水果，薰衣草需花費 3.25~39 元，而芳樟醇僅需花費 0.016~0.022 元，可見芳樟醇具有較高的經濟效益。

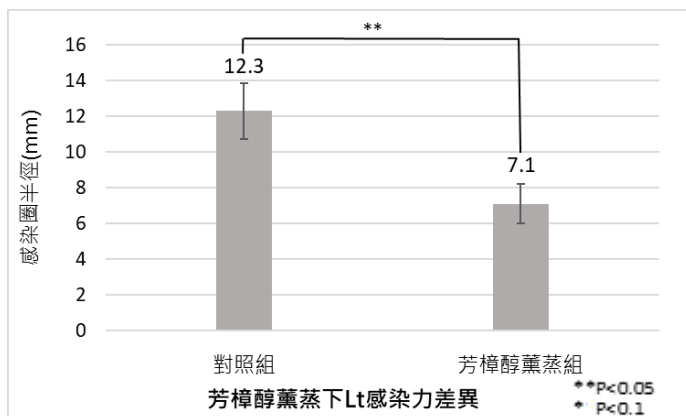
（以上幣值皆為新台幣）

十三、芳樟醇薰蒸對菌種致病力的影響

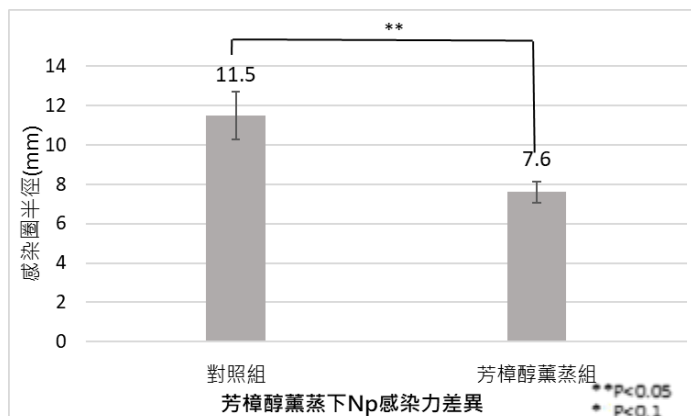
雖然已確定芳樟醇為有效抑菌劑，但為了**模擬農業應用的真實情況**，我們將菌種接種在木瓜，並將其放置在體積為立方公分的箱子，並加入 57.2 毫升的芳樟醇使其濃度達前述的 0.026 μ l/ml，觀察**先接種後才進行薰蒸是否真正能對木瓜致病力產生影響**。



(圖 13-1) 芳樟醇薰蒸對 Lt 和 Np 致病力影響照片



(圖 13-2) 芳樟醇薰蒸對 Lt 感染力影響圖表

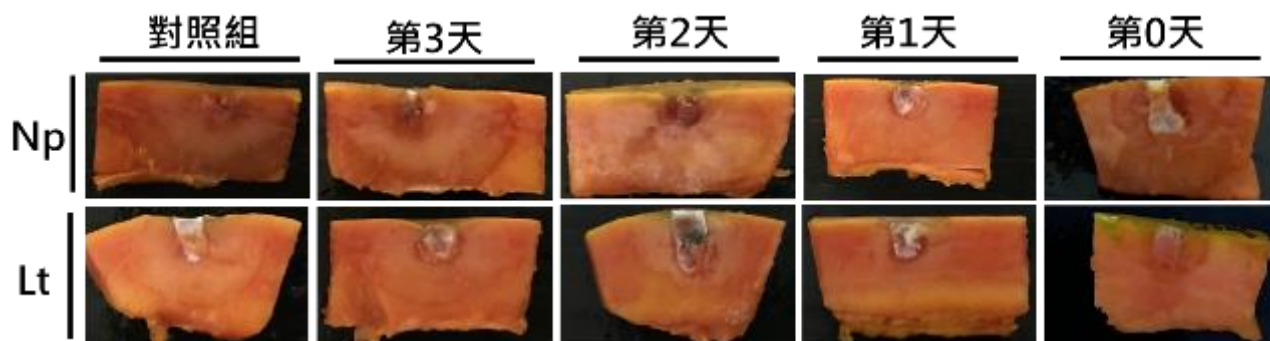


(圖 13-3) 芳樟醇薰蒸對 Np 感染力影響圖表

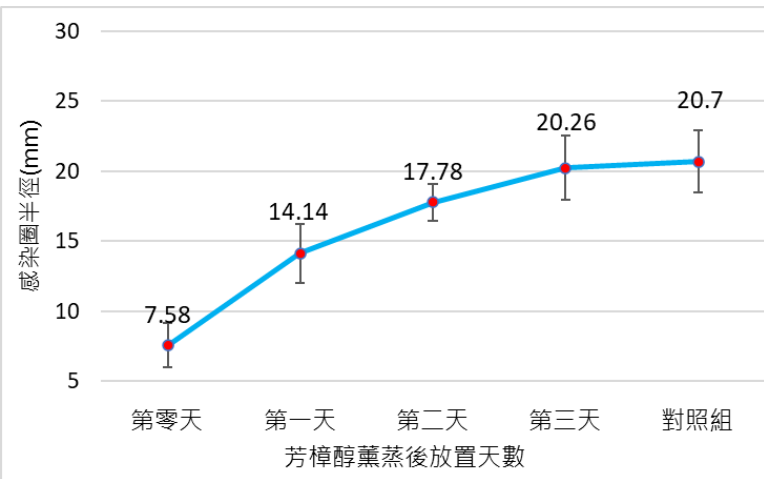
由以上的圖表可以發現，接種後再進行薰蒸，同樣可以對感染力造成顯著的抑制效果，且降低的感染力比率 Lt 從原本的 37% 提升為 43%，Np 則是從 34% 升為 44%，有顯著提升的跡象。此實驗證明了對已感染的木瓜薰蒸芳樟醇是可以減少其受感染的程度的。

十四、氣味抑制效果持續時間

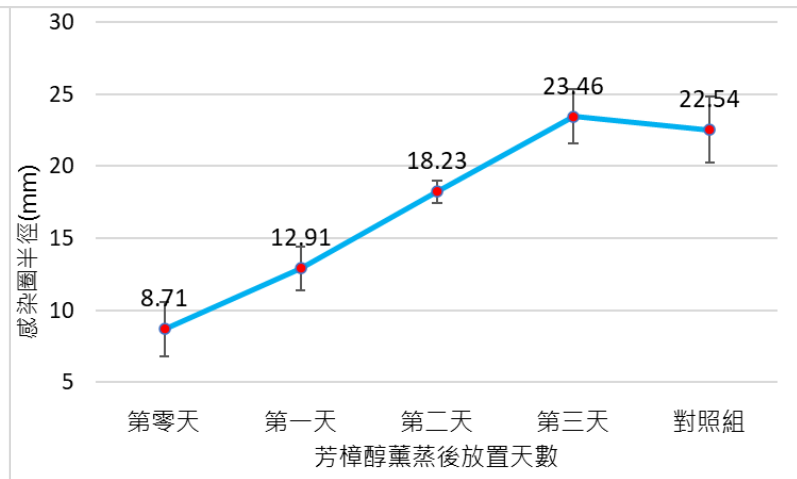
農業應用上，藥效持續時間是考量使用價值的一大關鍵因素，因此我們針對芳樟醇繼續深入實驗，觀察受到菌種在受到薰蒸後的 0~3 天內，感染力的變化。



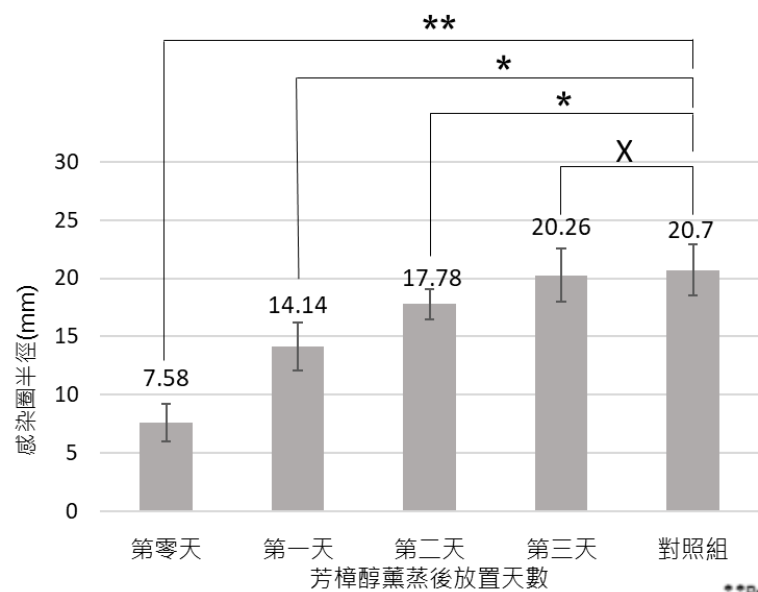
(圖 14-1) 芳樟醇薰蒸對 Lt 感染力影響圖表



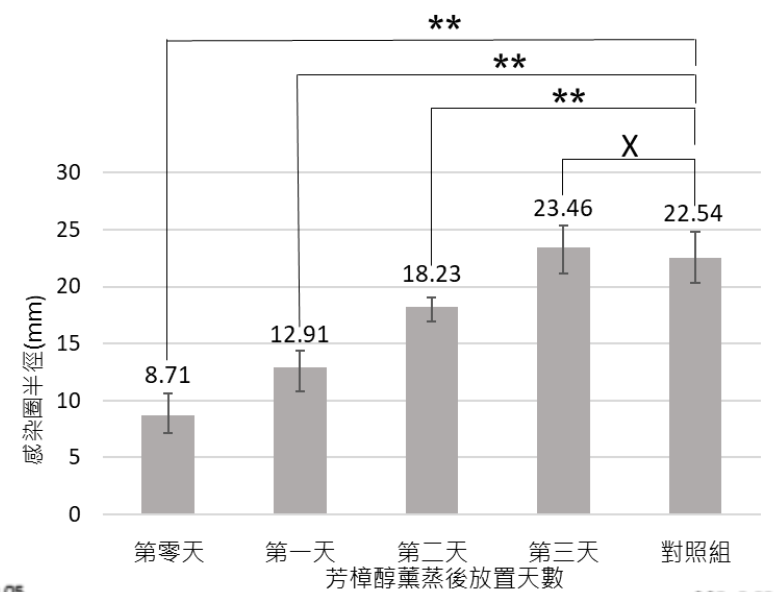
(圖 14-2) 放置天數對 Lt 感染力影響折線圖



(圖 14-3) 放置天數對 Np 感染力影響折線圖



(圖 14-4) 放置天數對 Lt 感染力影響長條圖

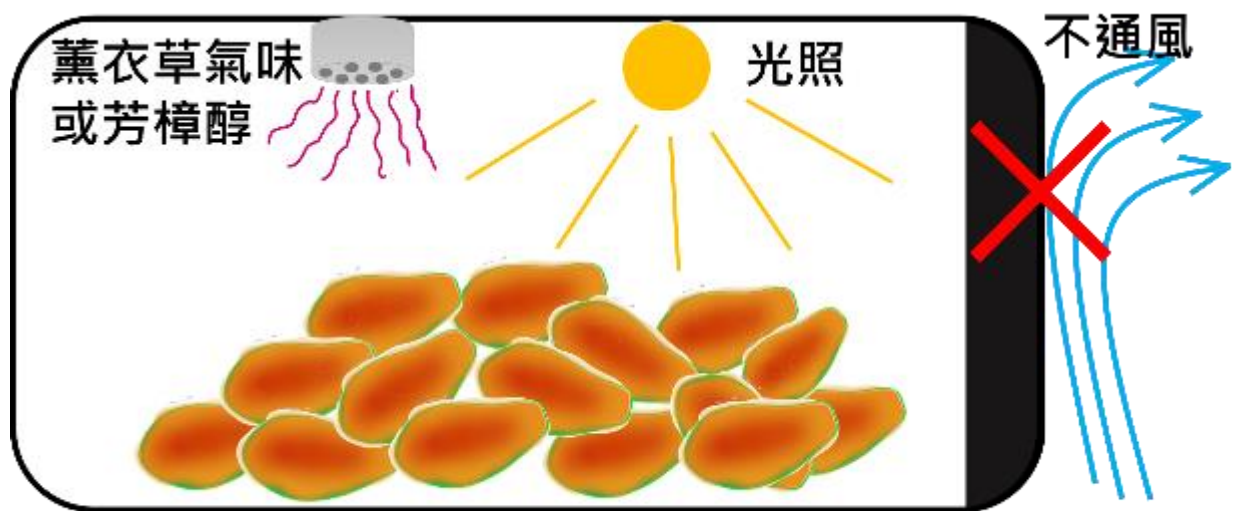


(圖 14-5) 放置天數對 Np 感染力影響長條圖

由以上圖表可以發現隨著放置時間的增加，菌種的致病力逐漸回升。Lt 與 Np 兩菌種在放置天數達三天之後，便與對照組沒有顯著差異，可以推斷芳樟醇抑菌效果的持續時間應小於 72 個小時。另外，從圖 14-2 與 14-3 可以發現 Lt 感染力回升的趨勢較 Np 來得平緩。

陸、未來展望

根據我們的實驗，光照、空氣流通等環境因子會增加 Lt 與 Np 菌種黑色素含量，藉以提升其致病力，而薰衣草精油可以抑制菌種的生長並降低其致病力，其中占比最大的成分——芳樟醇更能有效抑制菌種生長，在密閉空間中薰蒸，更能降低木瓜的潰爛程度。綜合以上成果，可以將其應用在木瓜採收後的儲存或運送環境。藉著推廣在木瓜存放空間外加光源並降低通風的程度，來於減少木瓜被感染的風險。此外在環境中添加微量的天然薰衣草精油或芳樟醇氣味，便能利用天然無毒之有機方式防止 Lt 與 Np 等病原菌在密閉空間大量散播、感染，藉此降低農損。



(圖 13-1) 木瓜理想儲存裝置示意圖

柒、參考文獻資料

1. Rodríguez-Piña, A.L., et al. (2019). The UstiLtgo maydis null mutant strains of the RNA-binding protein UmRrm75 accumuLtte hydrogen peroxide and meLtnin. *Sci Rep* 9, 10813.
2. Wang, C., et al. (2021). MolecuLtr characterization and overexpression of the difenoconazole resistance geNp CYP51 in Ltsiodiplodia theobromae field isoLttes. *Sci Rep* 11, 24299.
3. E. A. Rangel-Montoya, et al. (2020). The role of meLtnin in the grapeviNp trunk disease pathogen Ltsiodiplodia giLtNpnsis. *Phytopathologia editerraNpa* 59(3):549563.
4. Yang, SK. et al. (2020). Ltvender essential oil induces oxidative stress which modifies the

bacterial membrane permeability of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*. *Sci Rep* 10, 819.

5. Zheng, J. et al. (2019). Fumigation and contact activities of 18 plant essential oils on *Villosiclava virens*, the pathogenic fungus of rice false smut. *Sci Rep* 9, 7330.

6. Nili, O., Azizi, A. & Abdolmohammadi, J. (2021). Development of an efficient *Tef-1α* RNA hairpin structure to efficient management of *Synchytrium endobioticum* and *Neovossia parvum*.

7. Medina-Romero, Y.M. et al. (2021). Essential oils of *Bursera morelensis* and *Lippia graveolens* for the development of a new biopesticides in postharvest control. *Sci Rep* 11, 20135.

8. Gehan I. Kh. Marei, et al. (2012). Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Volume 103, Issue 1.

9. Tian F., et al. (2018). p-Cymene and its derivatives exhibit anti-fungal activities against *Aspergillus flavus* through multiple modes of action. *Appl Biol Chem* 61, 489–497.

10. Krzysztof Smigielski, et al. (2013). Chemical Composition of the Essential Oil of *Vandellia pinnatifida* Cultivated in Poland. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, Volume 12, Pages 338-347.

11. Guozheng Qin, et al. (2011). Hydrogen Peroxide Acts on Sensitive Mitochondrial Proteins to Induce Death of a Fungal Pathogen Revealed by Proteomic Analysis. *PLoS ONE* 6(7): e21945.

12. Zhang, H., et al. (2014). Germination and infectivity of microconidia in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Nat Commun* 5, 4518.

13. Wenjun Sun, et al. (2021). Light Signaling Regulates *Aspergillus niger* Biofilm Formation by Affecting Melanin and Extracellular Polysaccharide Biosynthesis. *ASM Journals, mBio*, Volume 12, No.1.

14. S.-M. Yu, G. Ramkumar, Y.H. Lee. (2013). Light quality influences the virulence and physiological responses of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in pepper plants. *Journals of Applied Microbiology*, Volume 115, Issue 2, Pages 509-516.

15. Hao Jie Wong, et al. (2018). Protective mechanisms and responses of micro-fungi towards ultraviolet-induced cellular damage. *Plant Science*, Volume 20, Part 1.
16. Eric S. Jacobson. (2020). Pathogenic Roles for Fungal Melanins. *ASM Journals, Clinical, Microbiology Reviews*, Vol. 13, No. 4.
17. Kwangwon Lee , et al. (2006). Light regulation of asexual development in the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Fungal Genetics and Biology*, Volume 43, Issue 10, October 2006, Pages 694-706.