

大蒜水萃液對水稻紋枯病的防治效果評估

張再得¹、林芷菁^{1, †}、許雅真^{1, †}、王郁霧¹、陳綦筠¹、陳俞臻¹、吳榮彬^{2*}、林盈宏^{1*}

¹ 國立屏東科技大學植物醫學系，屏東縣，臺灣

² 國立臺東專科學校園藝暨景觀科，臺東縣，臺灣

* 聯絡作者，E-mail: pmyhlin@mail.npu.edu.tw; zhong.binwu@ntc.edu.tw

† 林芷菁與許雅真於本篇為相同貢獻作者

摘要

張再得、林芷菁、許雅真、王郁霧、陳綦筠、陳俞臻、吳榮彬、林盈宏。2023。大蒜水萃液對水稻紋枯病的防治效果評估。植物醫學65(3): 115-124。

水稻是臺灣最重要的糧食作物，其種植面積與產值皆為農作物之冠。在水稻生產過程中，立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani*) AG-1 IA 引起的水稻紋枯病 (rice sheath blight, ShB) 為最主要的病害之一，一旦爆發將嚴重影響水稻的產量與品質。目前防治水稻紋枯病的方法普遍依賴化學農藥，但長期大量使用化學農藥有污染環境及危害人畜健康的風險，且可能導致病原體產生抗藥性。相較之下，天然植物保護資材具有對人畜毒性低、殘留量少、對病害作用獨特等優勢，能有效防治病蟲害且不易產生抗藥性。因此，本研究旨在開發簡易的大蒜 (*Allium sativum L.*) (品種為和美蒜) 水萃液 (aqueous garlic extract) 製備方法，並評估其在以下三方面的應用：1. 對水稻紋枯病菌的抑菌效果；2. 儲存條件；3. 對水稻紋枯病的防治效果。透過這些評估，提供一個安全有效的植物源防治資材替代化學農藥的選擇。根據試驗結果顯示，使用 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水所製備的大蒜水萃液 (原液)，能夠抑制水稻紋枯病菌菌絲生長達 79.78%。將原液稀釋兩倍、或將大蒜與無菌水依等比例放大水量 (使用 200 g 大蒜與 1000 mL 無菌水) 時，其抑制率分別為 58.09% 和 46.54%。在儲存方面，大蒜水萃液原液儲放效果最佳，於 -20°C 儲存 28 天後仍具有 50.99% 的抑菌率。儘管於 25°C 和 4°C 儲存之大蒜水萃液抑菌效果降低，但仍有超過 45.93% 的抑菌率。大蒜水萃液對菌核發芽抑制效果試驗之結果顯示，大蒜水萃液原液之抑菌率可達 92.95%，與施用濃度為 150 µg/mL (150 ppm) 之市售大蒜素水溶液效果相近。本研究試驗亦使用不同重量的大蒜 (1、3、5、7 及 10 g) 製備大蒜水萃液，噴施於水稻上後，防治水稻紋枯病的效果與大蒜水萃液中大蒜含量成正比，分別為 31.35%、57.06%、79.18%、80.85% 及 84.76%。相較之下，噴施 150 ppm 的大蒜素水溶液之對照組

對水稻紋枯病的防治率可達 94.88%。綜合上述結果，本研究評估之大蒜水萃液具有非農藥防治水稻紋枯病、降低糧食損失的潛力，可作為防治水稻紋枯病的替選方案。

關鍵詞：天然植物保護資材、立枯絲核菌、非農藥防治技術、病害管理

緒言

稻米是人類糧食的主要來源。由於集約化的稻作農業，根據農業部的農業統計資料顯示，臺灣水稻年產量占糧食總產量的比例一直很高，通常佔糧食總產量的 70% 以上，2012 至 2021 年間，全台水稻的收穫面積約為 262,973 公頃，其年產量約為 3,058,053 公噸⁽⁸⁾，顯示水稻在臺灣糧食生產中具有非常重要的地位。

臺灣地處亞熱帶，為高溫多濕的海島型氣候，適合各種稻作病原菌繁殖及危害，病害種類包含稻熱病、徒長病、小粒菌核病、紋枯病、胡麻葉枯病、葉鞘腐敗病及稻麴病等，其中由立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani*) 所引起的水稻紋枯病，寄主範圍甚廣且遍佈於世界各地，根據已知分離株間之菌絲融合反應進行種內歸類，目前已歸類 14 個具高遺傳多樣性的菌絲融合群 (Anastomosis groups, AGs) (AG1 至 AG13 及 AG-B1)⁽⁴⁸⁾。其中 *R. solani* AG1 可基於菌核形態、致病性、DNA 序列同源性及寄主植物差異，細分出三個種內亞群 (Interspecific group, ISGs)，包括 AG1-IA、AG1-IB 及 AG1-IC，皆可引起水稻紋枯病^(47, 48)，其中 AG1-IA 被報導為引起水稻紋枯病最重要的致病因子^(2, 18)。發病初期普遍從下位葉鞘開始出現汙綠色水浸狀病斑，至後期擴大呈中央灰白色、邊緣褐色的橢圓形至不規則形病斑，且病組織表面附著深褐色菌核，若稻叢間密度及濕度高，數個病斑會互相癒合並擴展至葉片，罹病程度輕則影響植株水分運輸，重則導致整株水稻枯死，影響收成，據前人調查結果，我國水稻紋枯病於一期作之平均發病面積率為

15.80%，二期作為 16.70%，顯示紋枯病為臺灣水稻栽培上不可忽視的病害^(6, 29)。

在集約農業社會中，作物病蟲害防治是農民必須面對的重要課題，為了及時有效地保護農作物，最常仰賴化學農藥 (chemical pesticides) 進行病蟲害管理⁽³⁰⁾。然而化學農藥的無限制使用會造成許多不良的後果，例如環境退化 (environmental degradation)、對非目標生物的傷害，農藥殘留等負面影響，為了滿足糧食安全，有必要以安全及可持續的方式生產更多的糧食^(16, 26)。事實上，最初的農藥為植物萃取而來，天然植物保護資材 (natural plant protection products) 是生物農藥 (biopesticides) 中非常重要的一種，其抗菌成份是萃取自植物中天然存在的次級代謝物 (plants produce a diversity of secondary metabolites, PSMs)，可以控制或殺死病蟲，從而助於農業病蟲害管理，通常較傳統化學農藥對人類和環境更安全^(7, 14)。天然植物保護資材有諸多優點，其中包括：1. 在環境中容易分解，作物上殘留量低或無殘留，且對人畜毒性低，不會對生態環境造成汙染；2. 由多種抗生物質混合而成，對病原菌的作用機制多樣，使病菌不易產生抗性；3. 可從廣泛的植物來源中取得，成本相對較低，是一種環境友善且符合永續農業減少使用化學農藥的替代品⁽¹⁹⁾。時至今日，儘管化學農藥仍是防治水稻紋枯病的主要且有效手段，但其使用可能導致病原產生抗藥性，且大量施用可能對人畜及農業環境造成不良影響^(51, 56)，因此仍需提供替選方案給水稻種植者，或實行農藥減量策略時使用^(8, 30)。

植物的次級代謝物可透過與周圍環境中的目標分子相互作用來保護植物免受外部環境的影響⁽²³⁾，如生物鹼 (alkaloids)、萜烯 (terpenes)、酚類 (phenolics)、精油 (essential oils, EO)、凝集素 (lectins) 和多肽 (polypeptides)⁽³⁴⁾。全球有超過 2,000 種植物可用作天然植物保護資材^(45, 49)，然而，這些植物用於植物病原菌的防治仍然只限於學術研究，並且商品化產品極少⁽²⁰⁾。

植物萃取物 (plant extracts) 或植物油 (plant oils) 對真菌具有抗菌活性⁽⁴⁾。其中，大蒜素 (allicin) 是大蒜萃取物中的主要成分之一，大蒜素具有優異的抗菌活性⁽¹⁰⁾。多項文獻證實，大蒜萃取液 (aqueous garlic extract) 可用於多種植物病原菌的防治^(17, 21, 36, 42)。例如，大蒜水萃液可以抑制小麥種子上 *Drechslera tritici-repetis*、*Bipolaris sorokiniana* 和 *Septoria tritici* 等病原真菌的菌絲生長⁽⁴²⁾；降低黃麻種子上 *Macrophomina phaseolina*、*Botryodiplodia theobromae*、*Fusarium* spp.、*Colletotrichum corchori*、*Curvularia lunata*、*Aspergillus flavus*、*A. niger*、*Penicillium* spp. 及 *Alternaria* spp. 之傳播⁽²¹⁾；減少 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 感染柑橘莖部後之壞死病斑面積⁽³⁶⁾；防治由 *Albugo candida* 引起之芥菜白銹病⁽¹⁷⁾。

針對水稻上的病原菌，研究表明，大蒜水萃液具有以下效果：抑制褐色菌核病菌 (*R. oryzae-sativae*) 菌絲的生長⁽⁴⁾；減少水稻種子上 *B. oryzae*、*C. oryzae*、*F. oxysporum*、

F. moniliforme、*Nigrospora oryzae*、*A. flavus*、*A. niger* 和 *Penicillium* spp. 等病原真菌的活性⁽⁵⁵⁾，此外，也有一些文獻指出，大蒜水萃液可抑制水稻紋枯病菌絲生長及降低垂直病斑擴展面積^(5, 25, 27, 54, 44)。然而，前述大蒜水萃液用於植物病原菌的防治仍然以學術研究為目的，與田間實際應用尚有距離，因此本研究希望能建立大蒜水萃液的簡易配取方法，來防治水稻紋枯病，評估大蒜水萃液對於水稻紋枯病菌之抑菌功效與使用方式，以推出安全有效的天然植物保護資材作為化學農藥之替選方案，推動化學農藥減量之政策。

材料與方法

供試菌株蒐集與準備

本研究將採集自高屏地區水稻田疑似罹患水稻紋枯病之水稻檢體，於無菌操作台內切下病健部組織，利用 1% 次氯酸鈉 (Clorox®) 進行消毒，再以無菌水漂洗 2 次，待無菌紙巾吸乾組織水分即置於水瓊脂培養基 (water agar, WA; Difco) 進行分離及純化，後續以馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (potato dextrose agar, PDA; Difco) 進行菌株的繼代及繁殖，並以無菌水保存菌株供後續實驗使用。本研究供試菌株之分子鑑定為使用核醣體內轉錄區 (internal transcribed spacer) 之引子對 ITS1/ITS4⁽⁵³⁾，將分離出之水稻紋枯病菌菌株進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 及電泳 (gel electrophoresis) 分析，隨後將 PCR 產物委託基龍米克斯生物科技公司 (Genomics BioSci. & Tech., New Taipei City, Taiwan) 進行定序 (sequencing)，並與美國國家生物資訊中心 (National center for biotechnology information, NCBI) 之資料庫 (GenBank) 進行序列比對確認為水稻紋枯病菌無誤。

大蒜水萃液製備方法

大蒜水萃液製備參考並修改 Lin et al. (2019)⁽³¹⁾ 之方法，分別秤取 1、3、5、7 及 10 g 市售新鮮大蒜鱗莖 (*Allium sativum* L.) (品種為和美蒜) 與 50 mL 無菌水直接至果汁機中進行 2 分鐘萃取 (250 瓦，約 19,000~23000 轉/分鐘)。將萃取完之大蒜水萃液取 1 mL 分裝至 1.5 mL 微量離心管，以 17,000 × g 高速離心 6 分鐘，為避免雜質干擾試驗結果，最後將上清液以 0.22 μm 濾膜過濾後使用。

不同重量大蒜製備之大蒜水萃液與水稻紋枯病菌對峙培養試驗

使用玻璃環法評估拮抗效果，首先將直徑 9 cm 的 PDA 培養基一側 (距離培養皿外緣 1 cm 處) 放上一直徑 1.5 cm 之玻璃環，另一側距離培養皿外緣 1 cm 處放上以內徑 5 mm 打孔器

切取之供試菌株菌絲塊，再以微量吸管吸取上述製備而成之大蒜水萃液 500 μL 滴於玻璃環中，放置於 28°C 恒溫箱培養，至對照組菌絲接觸到玻璃環後，記錄抑制圈大小及菌絲長度。抑制圈測量方法為以尺量取病原菌菌絲塊最外緣至菌絲最前端及菌絲最前端至玻璃環最外緣的直線距離。計算公式如下：抑菌率 (%) = [(對照組菌絲長度 - 處理組菌絲長度) / 對照組菌絲長度] × 100⁽⁵²⁾。對峙培養試驗每一重複共 3 塑膠皿，並進行三次重複數試驗。

不同水量製備之大蒜水萃液與水稻紋枯病菌對峙培養試驗

將原比例 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水混合磨碎之大蒜水萃液，以等比例放大為 100 g 大蒜與 500 mL 無菌水混合磨碎及 200 g 大蒜與 1000 mL 無菌水混合磨碎之處理組，使用前述玻璃環法評估其對於水稻紋枯病菌之拮抗效果，並置於 28°C 培養箱觀察直至對照組菌絲接觸到玻璃環。

不同稀釋倍率之大蒜水萃液與水稻紋枯病菌對峙培養試驗

將原比例 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水混合磨碎之大蒜水萃液原液，稀釋 2、4、6、8、10、100 及 1000 倍，使用前述玻璃環法評估其對於水稻紋枯病菌的拮抗效果，並置於 28°C 培養箱觀察直至對照組菌絲接觸到玻璃環。

儲放於不同溫度及天數之大蒜水萃液與水稻紋枯病菌對峙培養試驗

將不同重量 (1, 3, 5, 7 及 10 g) 大蒜與 50 mL 無菌水製備而成之大蒜水萃液原液，放置於約 25°C (常溫, normal atmospheric temperature)、4°C 及 -20°C 環境下，分別保存 7 天、14 天、21 天及 28 天，並於各天同一時間使用前述玻璃環法評估其對於水稻紋枯病菌的拮抗效果，用以評估大蒜水萃液之保存時效。

大蒜水萃液與市售大蒜素 (allicin) 對水稻紋枯病菌菌核之發芽抑菌試驗

以內徑 8 mm 打孔器取三塊 WA 塊並平均間隔置於已滅菌玻片上，於三塊 WA 中央各放上 1 水稻紋枯病菌菌核後，以微量吸管吸取 20 μL 含不同重量 (1, 3, 5, 7 及 10 g) 大蒜與 50 mL 無菌水製備而成之大蒜水萃液原液，滴於 WA 塊上，另外，將保存於 4°C 之市售大蒜素 (allicin, ACE Bio, USA) 製備出濃度為 25 μg/mL、75 μg/mL、100 μg/mL 及 150 μg/mL 之溶液後，對水稻紋枯病菌進行菌核發芽之抑菌效果評估，並置於 28°C 培養箱 24 小時後觀察。

大蒜水萃液防治水稻紋枯病之溫室試驗

為評估本研究所使用大蒜水萃液防治水稻紋枯病的效果，將台南 11 號之水稻秧苗種植 1 個月後於溫室內進行試驗。參考 Park et al. (2008)⁽⁴⁰⁾ 將水稻紋枯病菌菌核接種於水稻葉鞘基部後，分別噴施以 1、3、5、7 及 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水製備而成的大蒜水萃液於水稻葉鞘，同時施用 150 ppm 的大蒜素水溶液作為正對照組，接種未處理作為負對照組，後以鋁箔紙包覆接種處進行保濕，接種第 9 天觀察發病情形。每一重複共 3 株水稻秧苗，並進行三次重複數試驗。使用 Image J 軟體量測病斑面積評估罹病程度，並參照 Peng et al. (2014)⁽⁴¹⁾ 以下列公式進行計算防治效果：防治效果 (%) = [(負對照組罹病程度 - 處理組罹病程度) / 負對照組罹病程度] × 100。

統計分析

本研究使用 SPSS versions 16.0 軟體進行執行變異數分析 (Analysis of Variance, ANOVA)，並利用 Tukey's honestly significant difference (HSD) test 進行多重比較分析，在 5% 顯著水準之下進行數據之統計分析。

結 果

不同重量大蒜製備之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌抑菌效果

分別秤取 1、3、5、7 及 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水混合磨碎後，觀察不同重量大蒜製備大蒜水萃液原液對水稻紋枯病菌之抑菌效果。結果顯示，使用 1 g 大蒜製備而成之大蒜水萃液對菌絲生長抑制率為 57.18%，使用 3、5、7 g 大蒜製備而成之大蒜水萃液對菌絲生長抑制率相近，分別為 71.16%、72.99%、72.96%，使用 10 g 大蒜所製備之大蒜水萃液抑菌效果最佳，對菌絲生長抑制率可達 79.78% (圖一)。綜合上述結果，使用 10 g 大蒜所製備之水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長具有較顯著之抑制效果。

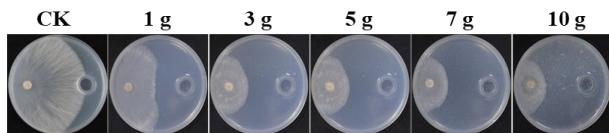
不同水量製備之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌抑菌效果

根據結果顯示 (表一)，使用兩種放大水量處理組 (分別為 100 g 大蒜和 500 mL 無菌水，以及 200 g 大蒜和 1000 mL 無菌水) 所製備的大蒜水萃液，對水稻紋枯病菌的菌絲生長抑制率分別為 47.85% 和 46.54%。與原先 10 g 大蒜和 50 mL 無菌水的製備比例相比 (抑菌率為 79.78%)，抑菌率下降約 30%，顯示放大水量製備的大蒜水萃液對水稻紋枯病菌仍具有抑菌效果。因此，未來可以推薦使用這種製備方式。

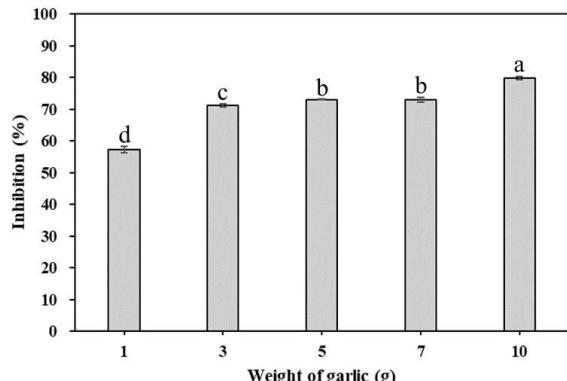
不同稀釋倍率大蒜水萃液對水稻紋枯病菌之抑菌效果

將原比例 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水混合磨碎之大蒜水萃液，稀釋 2、4、6、8、10、100 及 1000 倍。結果顯示，2 倍稀釋之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長抑制率達 58.09%，

(A)



(B)



圖一、不同重量大蒜製備之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長抑制效果。(A) 為本試驗以 50 mL 無菌水分別加入不同克數大蒜 (1 g、3 g、5 g、7 g、10 g) 進行萃取後，取大蒜水萃液進行平板對峙試驗。(B) 為不同重量大蒜製備之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長之抑制率(%)，根據 Tukey's HSD test 下， $p < 0.05$ 時，不同字母標示之平均值於比較後具顯著差異。

Fig. 1. The inhibitory effect of garlic water extract prepared from different garlic weights on the growth of *Rhizoctonia solani*. (A) In this experiment, 50 mL of sterile water was separately added to different weights of garlic (1 g, 3 g, 5 g, 7 g, 10 g) for extraction, and then the garlic water extracts were used for dual culture. (B) The inhibition rate (%) of *R. solani* mycelium by the garlic water extract prepared from different garlic weights was determined. Treatments with different letters indicate significant differences based on Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

表一、放大製備水量之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長之抑制效果

TABLE 1. The inhibitory effect of garlic extract prepared with enlarged water volume on the mycelial growth of rice sheath blight pathogen

Weight of garlic	Hyphae length (mm)	Inhibition (%)
CK	4.30 ± 0.00	-
10 g/ 50 mL	1.82 ± 0.03	79.78 ± 0.45
100 g/500 mL	2.24 ± 0.07	47.85 ± 1.87
200 g/1000 mL	2.30 ± 0.19	46.54 ± 4.49

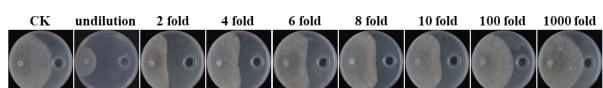
其次為 4 倍稀釋 (抑菌率為 43.04%)、6 倍 (抑菌率為 42.17%) 及 8 倍 (抑菌率為 32.68%)，至 10 倍稀釋後之大蒜水萃液抑菌率皆低於 30%。綜合上述結果可知，大蒜水萃液抑菌效果會隨著稀釋倍率提升而降低 (圖二)。

大蒜水萃液儲放不同溫度及天數對水稻紋枯病菌之抑菌效果

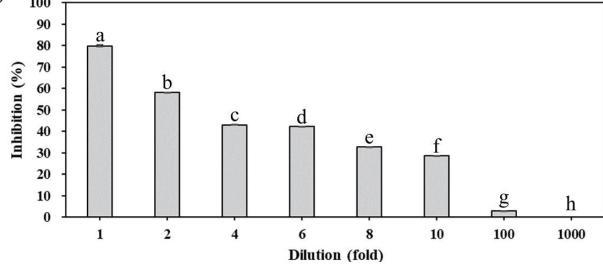
將不同重量 (1, 3, 5, 7 及 10 g) 大蒜與 50 mL 無菌水混合磨碎之大蒜水萃液，放置於 25°C (常溫)、4°C 及 -20°C 環境下，分別保存 0、7、14、21 及 28 天。結果顯示，存放第 0 天之大蒜水萃液，其抑菌率分別為 57.18%、71.16%、72.99%、72.96%、79.78%。將大蒜水萃液分別儲放於 25°C (常溫) 及 4°C 環境下至第 28 天，使用 5 g 以上大蒜所製備之大蒜水萃液，均仍保有 40.00% 以上的抑菌率 (圖三 A、B、C、D、E、F)，其中存放於 -20°C 下，使用 10 g 大蒜所製備之大蒜水萃液，其抑菌率可高達 50.99% (圖三 C、F)。綜合上述結果可發現，使用高克數大蒜製備之大蒜水萃液，經儲放不同時間後其抑菌率下降幅度較低克數大蒜製備之大蒜水萃液少，其中以抑菌效果最佳的條件，10 g 大蒜所製備之大蒜水萃液存放於 3 種不同的溫度下，可發現從第 0 天至第 28 天，抑菌率以存放 25°C (常溫) 下降最多 (抑菌率降低至 45.93%)，其次為 4°C (抑菌率降低至 48.94%)，最優則為 -20°C (抑菌率降至 50.99%)。

比較大蒜水萃液與市售大蒜素對水稻紋枯病菌菌核發芽之抑菌效果

(A)

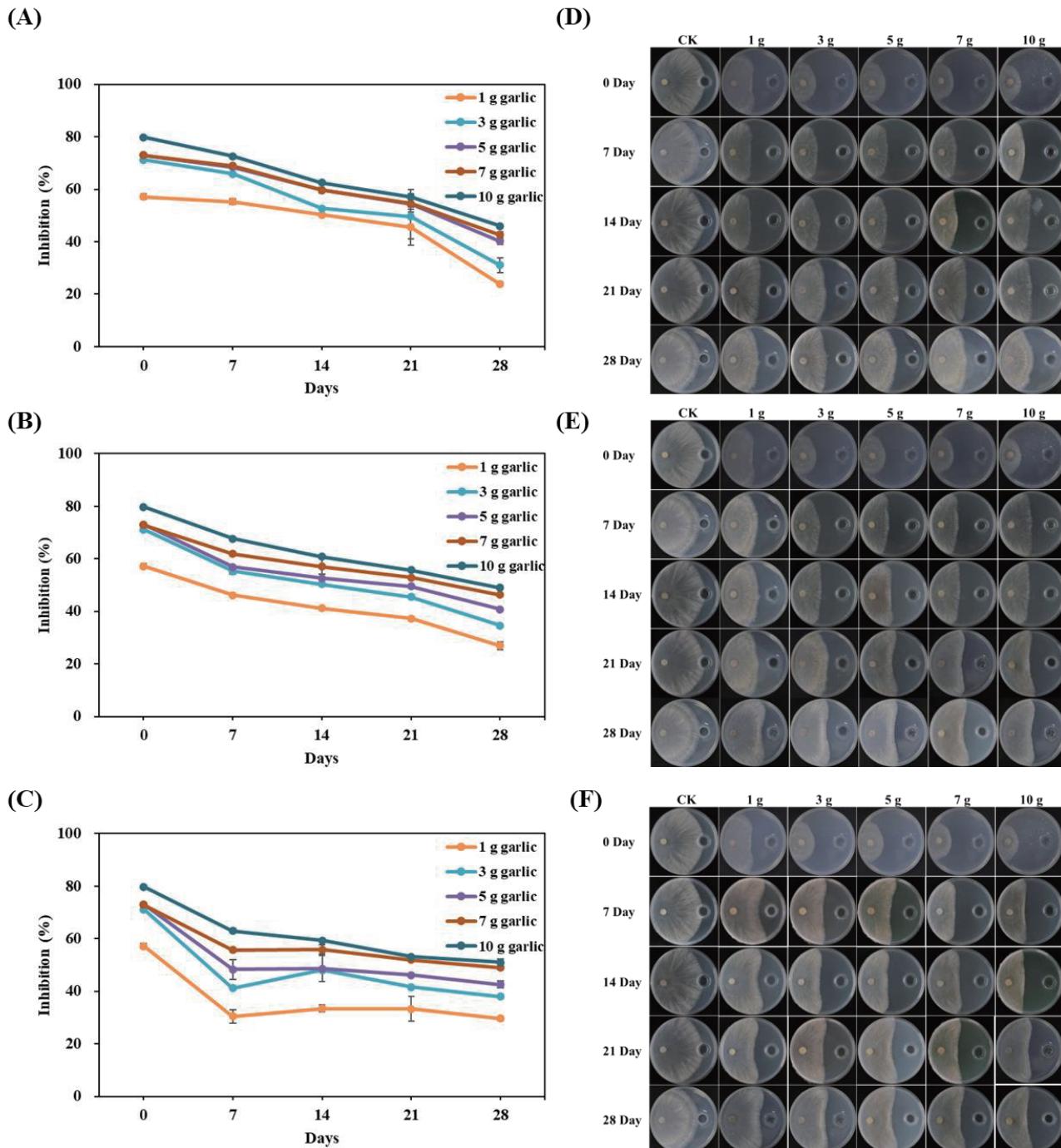


(B)



圖二、不同稀釋倍率之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長抑制效果。(A) 為本試驗以最佳萃取條件 (10 g 大蒜 : 50 mL 無菌水) 萃取後，以不同稀釋倍數 (1、2、4、6、8、10、100、1000 倍) 稀釋大蒜水萃液，再取稀釋後之大蒜水萃液進行平板對峙試驗。(B) 為不同稀釋倍率之大蒜水萃液對水稻紋枯病菌菌絲生長之抑制率(%)，根據 Tukey's HSD test 下， $p < 0.05$ 時，不同字母標示之平均值於比較後具顯著差異。

Fig. 2. The inhibitory effect of garlic water extract at different dilution rates on the growth of *Rhizoctonia solani*. (A) In this experiment, garlic water extract was prepared under the optimal extraction conditions (10 g of garlic: 50 mL of sterile water) and then diluted at various dilution rates (1, 2, 4, 6, 8, 10, 100, 1000 times) for dual culture. (B) The inhibition rate (%) of *R. solani* mycelium by the garlic water extract at different dilution rates was determined. Treatments with different letters indicate significant differences based on Tukey's HSD test ($p < 0.05$)。



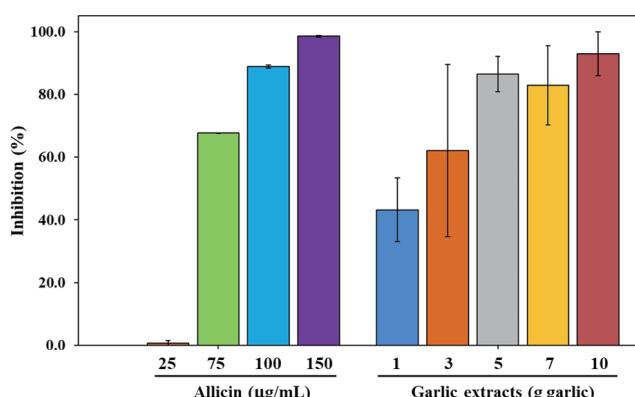
圖三、大蒜水萃液於不同溫度下儲放 0 至 28 天對水稻紋枯病菌菌絲生長抑制之影響。本試驗以 50 mL 無菌水分別加入不同克數大蒜 (1 g、3 g、5 g、7 g、10 g) 進行萃取後，分別儲放於不同溫度：(A&D) 25°C、(B&E) 4°C、(C&F) -20°C 下，再於不同時間 (0、7、14、21、28 天) 取出大蒜水萃液進行對峙試驗。根據 Tukey's HSD test 下， $p < 0.05$ 時，不同字母標示之平均值於比較後具顯著差異。

Fig. 3. The effect of garlic water extract storage at different temperatures (0 to 28 days) on the inhibition of *Rhizoctonia solani* mycelium growth. In this experiment, 50 mL of sterile water was separately added to different weights of garlic (1 g, 3 g, 5 g, 7 g, 10 g) for extraction. The garlic water extracts were then stored at different temperatures: (A & D) 25°C, (B & E) 4°C, and (C & F) -20°C, for different observation time (0, 7, 14, 21, 28 days) before being used for dual culture. Treatments with different letters indicate significant differences based on Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

結果顯示，使用 75 µg/mL (75 ppm)、100 µg/mL (100 ppm) 及 150 µg/mL (150 ppm) 之市售大蒜素水溶液對水稻紋枯病菌核發芽抑制率均可達到 60.00% 以上，其中，濃度為 150 µg/mL 之大蒜素水溶液具有最佳抑菌效果，抑菌率為 98.50%。另外，大蒜水萃液對菌核發芽抑制效果中，使用 1 g 大蒜製備大蒜水萃液之抑菌率為 43.21%、使用 3 g 大蒜製備大蒜水萃液之抑菌率為 62.08%、5 g 大蒜之抑菌率為 86.40%、7 g 大蒜之抑菌率為 82.92%，10 g 大蒜之抑菌率可達 92.95%，與施用濃度為 150 µg/mL 之市售大蒜素水溶液效果相近（圖四）。

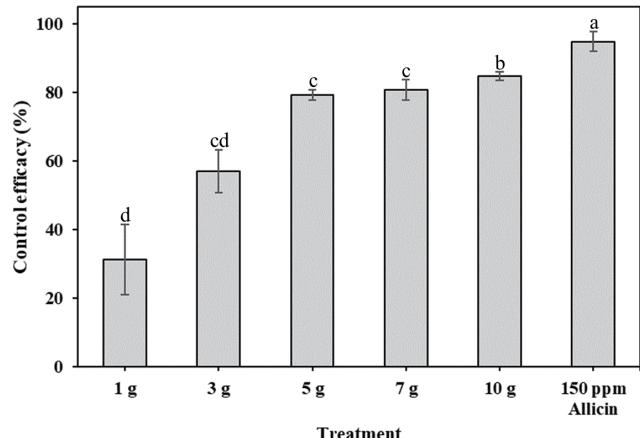
以溫室試驗評估大蒜水萃液對水稻紋枯病之防治效果

將菌核接種於水稻葉鞘基部後，使用 1、3、5、7 及 10 g 大蒜與 50 mL 無菌水製備而成的大蒜水萃液分別噴施於水稻葉鞘，同時施用 150 ppm 的大蒜素水溶液作為正對照組。試驗結果發現，單獨接種水稻紋枯病菌之處理組，其病斑面積約為 57.79 cm²，經由不同重量大蒜 (1、3、5、7 及 10 g) 製備而成的大蒜水萃液噴施處理後，對水稻紋枯病之防治率與大蒜水萃液所含之大蒜含量呈正比，分別為 31.35%、57.06%、79.18%、80.85% 及 84.76%。另外，噴施 150 ppm 的大蒜素水溶液作為對照組，對水稻紋枯病的防治率可以高達 94.88%（圖五），此結果證實：使用大蒜所製備而成之大蒜水萃液可以有效防治水稻紋枯病。



圖四、大蒜水萃液與大蒜素對水稻紋枯病菌核發芽之抑制效果。分別以大蒜素 (25 µg/mL、75 µg/mL、100 µg/mL、150 µg/mL) 與不同重量大蒜 (1 g、3 g、5 g、7 g、10 g) 及 50 mL 無菌水配製成大蒜水萃液對水稻紋枯病菌核進行發芽抑制試驗。根據 Tukey's HSD test 下， $p < 0.05$ 時，不同字母標示之平均值於比較後具顯著差異。

Fig. 4. Inhibitory effect of aqueous garlic extracts and allicin product on *Rhizoctonia solani* sclerotia germination. Garlic water extracts were prepared using different weights of garlic (1 g, 3 g, 5 g, 7 g, 10 g) and 50 mL of sterile water, as well as allicin at various concentrations (25 µg/mL, 75 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL), and were tested for their inhibition on sclerotia germination of *R. solani*. Treatments with different letters indicate significant differences based on Tukey's HSD test ($p < 0.05$)。



圖五、施用大蒜水萃液對水稻紋枯病之防治效果評估。本試驗分別以不同重量大蒜 (1 g、3 g、5 g、7 g、10 g) 及 50 mL 無菌水配製成大蒜水萃液，再取大蒜水萃液施用於人工接種水稻紋枯病菌核之水稻植株，於第七天觀察防治效果。施用 150 ppm 的大蒜素水溶液作為正對照組。根據 Tukey's HSD test 下， $p < 0.05$ 時，不同字母標示之平均值於比較後具顯著差異。

Fig. 5. Evaluation of aqueous garlic extracts for controlling rice sheath blight. In this experiment, garlic water extracts were prepared using different weights of garlic (1 g, 3 g, 5 g, 7 g, 10 g) and 50 mL of sterile water. The garlic water extracts were then applied to rice plants that were artificially inoculated with *Rhizoctonia solani* sclerotia, and control efficacy was observed on the 7 day. A 150 ppm allicin aqueous solution was used as a positive control. Treatments with different letters were significantly different according to the Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

討 論

大蒜成分中的大蒜素為大蒜鱗莖中主要的抗菌成份，每克新鮮大蒜含有 3.1 mg 的大蒜素 (allicin)⁽²⁸⁾，對多種病原皆具有良好的抗菌作用^(1, 10)，本研究採用較簡易且快速之水萃液製備方法，開發對水稻紋枯病較安全、有效的非農藥防治方法，將等量的 50 mL 無菌水與不同重量的大蒜以果汁機進行簡易萃取及過濾，篩選出 10 g 大蒜混合於 50 mL 無菌水製備而成的大蒜水萃液對於水稻紋枯病菌具有最佳的抑菌效果（圖一）。

本研究為探討大蒜水萃液的防治方法是否有機會於田間普及使用，因此將大蒜水萃液最佳製備條件 (10 g 大蒜混合於 50 mL 無菌水) 分別進行等比例放大體積及不同稀釋倍率測試，並以玻璃環法進行試驗，玻璃環法對於菌絲生長緩慢的病原菌觀察不易，然而對於菌絲生長快速的病原菌如水稻紋枯病菌，可在 1-2 天內快速獲得對峙結果。結果發現，大蒜水萃液經等比例放大無菌水體積至 500 mL 及 1000 mL，對水稻紋枯病菌菌絲生長的抑制效果均有 40.00% 以上 (前後分別為 47.85% 及 46.54%) (表一)，與最佳製備條件相比下抑制效果較為遜色，

推測原因可能為萃取時間較短，等比例放大水量的大蒜水萃液不易獲得相對等量之有效抑菌物質，未來可以改進萃取方式例如透過加熱後之無菌水、或是以其他溶劑例如 50% 甲醇或 50% 乙醇進行萃取⁽⁵⁰⁾ 亦或是先將大蒜磨成粉末後進行水萃取，來增加大蒜素或有效抑菌物質的含量；而大蒜水萃液原液(10 g 大蒜混合於 50 mL 無菌水) 經 2 倍稀釋後，對水稻紋枯病菌菌絲生長抑制率為 58.09%，至稀釋 10 倍之大蒜水萃液仍有 28.51% 抑菌效果(圖二)，故未來可透過適度的放大水量(依目前結果，無菌水體積可放大至 500 mL 及 1000 mL) 及稀釋(建議 6 倍以下)降低大蒜水萃液的製備成本。

大蒜水萃液成分簡單、無毒，僅使用天然植物材料及水萃取，然而天然成份之保質期短⁽¹¹⁾，因此本研究欲得知儲放於不同溫度下之大蒜水萃液，其有效抑菌的持續時間。結果發現使用 10 g 大蒜所製成的大蒜水萃液儲放效果最佳，直至 28 天儲放於 -20°C 的大蒜水萃液具有最高抑菌率(50.99%)，其次為儲放於 4°C (抑菌率為 48.94%) 及 25°C (抑菌率為 45.93%)，推測 -20°C 環境可延緩大蒜有效抗菌成分散失，儘管 25°C 及 4°C 儲放之大蒜水萃液抑菌效果降低，但仍有 45.00% 以上之抑菌率(圖三)，建議配製後一個月內可存放於常溫，惟需儘速施用。然而，考慮大蒜水萃液商業產品化，未來應進行常溫儲存 2-6 個月的抑菌效果消退測試，以評估大蒜水萃液商品化的可行性。此外，為了推廣農民自行製作大蒜水萃液防治水稻紋枯病，我們未來將進行以下測試：將大蒜加水後直接放入果汁機中打碎，然後使用經粗過濾處理後的濾液進行紋枯病防治效果評估。所獲之測試結果應更貼近田間應用，有助於大蒜水萃液防治水稻紋枯病之應用發展。除此之外，美國進口市售大蒜素每公克成本高達 7,900 元，相較之下，大蒜水萃液每公克成本僅為 0.0819 元，這表示大蒜水萃液的施用成本比美國進口大蒜素便宜了約 96.57 倍，若單以獲取方便及節省成本考量，施用大蒜水萃液應是一項不錯的選擇。水稻紋枯病菌之感染源除了菌絲外，還有菌絲特化纏聚而成的菌核，菌核不僅可抵禦外在不良的環境，更可藉由水流漂浮移動於田間進行長距離傳播⁽³⁵⁾，因此有效抑制菌核傳播及發芽亦為防治水稻紋枯病菌之關鍵。本研究使用 5 g 以上大蒜所製備而成之大蒜水萃液可以有效抑制菌核發芽，抑菌率則可高於 80.00% (圖四)，若施用於附著稻株上之菌核，將有機會降低病害發生。

天然植物保護資材的生產及應用相較於化學農藥有許多考量，包括植物原料供應、所需活性成分的標準化和質量控管、毒理學評估、萃取方法和保質條件⁽¹²⁾。此外，由於天然植物保護資材易於降解，因此在施用時需考量田間氣候及環境等因素，使其朝商業化發展更具挑戰性^(15, 22)。

然而隨著時代的轉變，農藥和環境用藥對於食品安全的問題逐漸受到重視。因此迫切需要可以替代化學農藥使用的防治資材，其中天然植物保護資材因為其易於分解、無殘留或殘留量較低、對人類和非目標生物毒性較低、不容易引起病蟲害

產生抗藥性等特點，仍然是現代農業中重要的防治資材之一⁽⁵⁸⁾。為了增強和推動天然植物保護資材的充分利用，未來可以從以下途徑進行產業建立和推廣：1. 對植物源進行細心耕種，確保原料供應；2. 研究出適當的配方、活性成分、施用率、儲存穩定性，以促進天然植物保護資材之商業化；3. 提高天然植物保護資材的市場滲透率；4. 解決監管程序的限制，提高企業的負擔能力，進而鼓勵業者積極從事天然植物保護資材的生產和銷售；5. 提高農民和業者的環保意識，轉向使用天然植物保護資材等⁽⁵⁸⁾。

至今，水稻紋枯病已有多種非化學農藥之防治方法，包括施用生物防治資材如細菌 *Bacillus*^(32, 41)、*Pseudomonas*^(38, 57)、放線菌 *Streptomyces*^(3, 43) 及真菌 *Trichoderma*^(13, 37)；使用非農藥防治資材如亞磷酸⁽²⁹⁾、香草萃取物⁽²⁴⁾ 等。本研究以大蒜水萃液所研擬之天然非農藥防治方法，不僅安全無毒，而且紋枯病病害防治率可達 80.00% 以上(圖五)。儘管大蒜水萃液中的硫化合物氣味不太受歡迎⁽¹⁰⁾，但確實是防治水稻紋枯病的一種有效替代方案之一。過去的研究指出，植物內生菌與植物萃取液對於病原菌有協同抑制效果^(31, 33, 46)，未來可以探討大蒜水萃液與其他非農藥防治資材的共同處理，以提高對水稻紋枯病的防治效果。此外，本研究目前僅在溫室內評估大蒜水萃液對水稻紋枯病的防治效果，並尚未進行正式的田間試驗。未來，我們團隊計畫將此大蒜水萃液的防治方式，實際在田間進行測試，以確認其在臺灣現行栽培模式下的防治效果。目前規劃的施用方式為：於水稻植株分蘖盛期前配合慣行農法使用，4-5 天施用一次，連續三次，或可有效減少紋枯病的發生。

引用文獻

1. Appendini, P., and Hotchkiss, J. H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innov. Food. Sci. Emerg. Technol.* 3: 113-126.
2. Bernardes-de-Assis, J., Storari, M., Zala, M., Wang, W. X., Jiang, D. H., Dong, L. S., Jin, M. S., McDonald, B. A., and Ceresini, P. C. 2009. Genetic structure of populations of the rice-infecting pathogen *Rhizoctonia solani* AG-1 IA from China. *Phytopathology* 99: 1090-1099.
3. Boukaew, S., and Prasertsan, P. 2014. Suppression of rice sheath blight disease using a heat stable culture filtrate from *Streptomyces philanthi* RM-1-138. *Crop Prot.* 61: 1-10.
4. Chaijuckam, P., and Davis, R. M. 2010. Efficacy of natural plant products on the control of aggregate sheath spot of rice. *Plant Dis.* 94: 986-992.
5. Chakrapani, K., Sinha, B., Chanu, W. T., Chakma, T., and Siram, T. 2020. Assessing in vitro antifungal activity of plant extracts

- against *Rhizoctonia solani* causing sheath blight of rice (*Oryza sativa* L.). Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res. 9(1): 1497-1501.
6. Chang, Y. C. 2004. The ecology and control of major diseases of rice in Taiwan. Proceedings of 2004 Symposium on Rich Health Management. 111: 75-101.
 7. Chengala, L., and Singh, N. 2017. Botanical pesticides—A major alternative to chemical pesticides: A review. Int. J. Life Sci. 5(4): 722-729.
 8. Christian, E. J., and Goggi, A. S. 2008. Aromatic plant oils as fungicide for organic corn production. Crop Sci. 48: 1941-1951.
 9. COA. 2021. COA yearbook, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan. Annu. Rep. Agri. Stat.
 10. Curtis, H., Noll, U., Störmann, J., and Slusarenko, A. J. 2004. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. Physiol. Mol. Plant Pathol. 65: 79-89.
 11. Damalas, C. A., and Koutroubas, S. D. 2020. Botanical pesticides for eco-friendly pest management: Drawbacks and limitations. Pages 181-193 in: Pesticides in crop production: physiological and biochemical action. P. K. Srivastava, V. P. Singh, A. Singh, D. K. Tripathi, S. Singh, S. M. Prasad, and D. K. Chauhan eds. John Wiley & Sons, New York, 292 pp.
 12. Dayan, F., Romagni, J., Tellez, M., Romando, A., and Duke, S. 1999. Managing weeds with natural products. Pestic. Outlook 10: 185-188.
 13. de França, S. K. S., Cardoso, A. F., Lustosa, D. C., Ramos, E. M. L. S., de Filippi, M. C. C., and da Silva, G. B. 2015. Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. Agron. Sustain. Dev. 35: 317-324.
 14. Dimetry, N. Z. 2014. Different plant families as bioresources for pesticides. Pages 1-20 in: Advances in plant biopesticides. D. Singh ed. Springer, India, 400 pp. doi: 10.1007/978-81-322-2060_1
 15. Fischer, D., Imholt, C., Pelz, H. J., Wink, M., Prokop, A., and Jacob, J. 2013. The repelling effect of plant secondary metabolites on water voles, *Arvicola amphibius*. Pest Manag. Sci. 69: 437-443.
 16. Fountain, E. D., and Wratten, S. D. 2013. Conservation biological control and biopesticides in agricultural. Encyclopedia of Ecology 1: 377-381.
 17. Gairola, K., and Tewari, A. K. 2019. Management of white rust (*Albugo candida*) in Indian mustard by fungicides and garlic extract. Pestic. Res. J. 31: 60-65.
 18. Gonzalez-Vera, A. D., Bernardes-De-Assis, J., Zala, M., McDonald, B. A., Correa-Victoria, F., Graterol-Matute, E. J., and Ceresini, P. C. 2010. Divergence between sympatric rice and maize-infecting populations of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA from Latin America. Phytopathology 100: 172-182.
 19. Hsieh, T. F. 2014. Current trends on research and development of botanical fungicides or plant protection products derived from plant materials. Bull. Taichung Dist. Agri. Improv. Sta. 121: 117-140.
 20. Hsieh, T. F. 2021. Non-chemical control technology and materials-natural plant extracts. Pages 77-96 in: Introduction of eco-friendly approaches and practical experience in crop disease management. T. F. Hsieh, P. J. Ann, and C. P. Lin eds. Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, 238 pp.
 21. Islam, M. S., and Monjil, M. S. 2016. Effect of seed washing either alone or in combination with garlic extract and Knowin 50WP on quality of jute seeds. Asian J. Med. Biol. Res. 2: 318-323.
 22. Isman, M. B., and Paluch, G. 2011. Needles in the haystack: exploring chemical diversity of botanical insecticides. Pages 248-265 in: Green trends in insect control. L. Óscar, and J. G. Fernández-Bolaños eds. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 374 pp.
 23. Jha, Y., and Mohamed, H. I. 2022. Plant secondary metabolites as a tool to investigate biotic stress tolerance in plants: a review. Gesunde Pflanz. 74: 771-790.
 24. Khoa, N. Đ., Thúy, P. T. H., Thúy, T. T. T., Collinge, D. B., and Jørgensen, H. J. L. 2011. Disease-reducing effect of *Chromolaena odorata* extract on sheath blight and other rice diseases. Phytopathology 101: 231-240.
 25. Kumar, P., and Singh, R. 2019. Integrated management of *Rhizoctonia solani* causing sheath blight of rice (*Oryza sativa*). Indian J. Agric. Sci. 89: 2079-2084.
 26. Kumar, S. 2012. Biopesticides: A Need for Food and Environmental Safety. J. Biofertil. Biopestic. 3(4): 1000e107. doi: 10.4172/2155-6202.1000e107
 27. Kumar, V., Chaudhary, V. P., Kumar, D., Kumar, A., Sagar, S., and Chaudhary, S. 2017. Efficacy of botanicals and fungicides against *Rhizoctonia solani* inciting sheath blight disease on Rice (*Oryza sativa* L.). J. Appl. Nat. Sci. 9: 1916-1920.
 28. Lawson, L. D., and Gardner, C. D. 2005. Composition, stability, and bioavailability of garlic products used in a clinical trial. J. Agric. Food Chem. 53: 6254-6261.
 29. Lin, C. C., and Wang, C. W. 2017. Studies of fungicides used in sheath blight of rice and non-pesticide control. Taitung District Agricultural Research and Extension Station. 27: 61-78.

30. Lin, J. Y., Chung, P. C., Liao, C. T., Chen, S. K., Chou, H. P., Lin, C. C., and Lee, K. L. 2020. The improvement for demonstration and promotion of pesticide reduction in crops integrated pest management. Spec. Publ. TARI No. 229: 153-161.
31. Lin, Y. J., Lin, Y. H., and Shen, Y. M. 2019. Effects of plant extracts on inhibition of *Alternaria* spp. Bull. Taichung Dist. Agri. Improv. Sta. 143: 1-17.
32. Liu, L., Liang, M., Li, L., Sun, L., Xu, Y., Gao, J., Wang, L., Hou, Y., and Huang, S. 2018. Synergistic effects of the combined application of *Bacillus subtilis* H158 and strobilurins for rice sheath blight control. Biol. Control 117: 182-187.
33. Lo, P. H., Wang, C. J., Lai, Y. T., and Chen, M. S. 2020. Analysis of the characteristics of *Penicillium digitatum* and evaluation the efficacy of non-pesticide materials and yeasts on controlling green mold of citrus. Bull. Taichung Dist. Agri. Improv. Sta. 147: 59-73.
34. Marutescu, L., Popa, M., Saviuc, C., Lazar, V., and Chifiriuc, M. C. 2017. Botanical pesticides with virucidal, bactericidal, and fungicidal activity. Pages 311-335 in: New pesticides and soil sensors. M. G. Alexandru ed. Academic Press, Cambridge, 766 pp.
35. Molla, K. A., Karmakar, S., Molla, J., Bajaj, P., Varshney, R. K., Datta, S. K., and Datta, K. 2020. Understanding sheath blight resistance in rice: the road behind and the road ahead. Plant Biotechnol. J. 18: 895-915.
36. Mougou, I., and Boughalleb-M'hamdi, N. 2018. Biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* affecting citrus orchards in Tunisia by using indigenous *Bacillus* spp. and garlic extract. Egypt. J. Biol. Pest Control 28: 1-11.
37. Naeimi, S., Khosravi, V., Varga, A., Vágvölgyi, C., and Kredics, L. 2020. Screening of organic substrates for solid-state fermentation, viability and bioefficacy of *Trichoderma harzianum* AS12-2, a biocontrol strain against rice sheath blight disease. Agronomy 10: 1258. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091258>
38. Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Raguchander, T., and Samiyappan, R. 2001. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. Soil Biol. Biochem. 33: 603-612.
39. Nkechi, E. F., Ejike, O. G., Ihuoma, N. J., Maria-goretti, O. C., Francis, U., Godwin, N., and Njokuocha, R. 2018. Effects of aqueous and oil leaf extracts of *Pterocarpus santalinoides* on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* pest of stored maize grains. Afr. j. agric. res. 13(13): 617-626.
40. Park, D. S., Sayler, R. J., Hong, Y. G., Nam, M. H., and Yang, Y. 2008. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. Plant Dis. 92: 25-29.
41. Peng, D., Li, S., Wang, J., Chen, C., and Zhou, M. 2014. Integrated biological and chemical control of rice sheath blight by *Bacillus subtilis* NJ-18 and jinggangmycin. Pest Manag. Sci. 70: 258-263.
42. Perelló, A., Gruhlke, M., and Slusarenko, A. J. 2013. Effect of garlic extract on seed germination, seedling health, and vigour of pathogen-infested wheat. J. Plant Prot. Res. 58: 317-323.
43. Prabavathy, V. R., Mathivanan, N., and Murugesan, K. 2006. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. Biol. Control 39: 313-319.
44. Punya, N. S., Kumar, N. K., Kumar, V. B. S., Yogananda, S. B., Ashoka, K. R., and Mahesh, H. B. 2022. Nature friendly solution for rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. Pharma innov. 11(2): 2870-2874.
45. Roy, S., Handique, G., Muraleedharan, N., Dashor, K., Roy, S. M., Mukhopadhyay, A., and Babu, A. 2016. Use of plant extracts for tea pest management in India. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100: 4831-4844.
46. Singh, T., and Chittenden, C. 2008. *In-vitro* antifungal activity of chilli extracts in combination with *Lactobacillus casei* against common sapstain fungi. Int. Biodeterior. Biodegradation 62: 364-367.
47. Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. Published by The American Phytopathological Society, USA.
48. Singh, P., Mazumdar, P., Harikrishna, J. A., and Babu, S. 2019. Sheath blight of rice: a review and identification of priorities for future research. Planta 250: 1387-1407.
49. Stevenson, P. C., Isman, M. B., and Belmain, S. R. 2017. Pesticidal plants in Africa: A global vision of new biological control products from local uses. Ind. Crops Prod. 110: 2-9.
50. Rasul Suleria, H. A., Sadiq Butt, M., Muhammad Anjum, F., Saeed, F., Batool, R., Nisar Ahmad, A. 2012. Aqueous garlic extract and its phytochemical profile; special reference to antioxidant status. Int. J. Food Sci. Nutr. 63:431-439.
51. Uppala, S., and Zhou, X. G. 2018. Field efficacy of fungicides for management of sheath blight and narrow brown leaf spot of rice. Crop Prot. 104: 72-77.
52. Vincent, J. M. 1947. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature 159: 850-850.
53. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA

- genes for phylogenetics. Pages 315-322 in: PCR protocols: a guide to methods and applications. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. Sninsky, and T. J. White eds. Academic Press, New York. 482 pp.
54. Yadav, V. K., Choudhary, V. P., Singh, S. K., Maurya, M. K., Vishwakarma, S. P., Prasad, R., Yadav, J., and Singh, A. 2021. In vitro efficacy of botanicals against *Rhizoctonia solani* Kühn inciting sheath blight of rice. *Pharma innov.* 10(8): 1144-1147.
55. Yeasmin, F., Ashrafuzzaman, M., and Hossain, I. 2012. Effects of garlic extract, allamanda leaf extract and provax -200 on seed borne fungi of rice. *The Agriculturists* 10(1): 46-50.
56. Yellareddygari, S. K. R., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., Lawrence, K. S., and Fadamiro, H. 2014. Rice sheath blight: a review of disease and pathogen management approaches. *J. plant pathol. microbiol.* 5: 1. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000241>
57. Yu, Y. Y., Jiang, C. H., Wang, C., Chen, L. J., Li, H. Y., Xu, Q., and Guo, J. H. 2017. An improved strategy for stable biocontrol agents selecting to control rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Microbiol. Res.* 203: 1-9.
58. Zhao, J., Liang, D., Li, W., Yan, X., Qiao, J., and Caiyin, Q. 2022. Research progress on the synthetic biology of botanical biopesticides. *bioengineering.* 9(5): 207. doi: 10.3390/bioengineering9050207

ABSTRACT

Chang, T.-D.¹, Lin, C.-C.^{1,†}, Xu, Y.-Z.^{1,†}, Wang, Y.-F.¹, Chen, Z.-Y.¹, Chen, Y.-Z.¹, Wu, Z.-B.^{2,*}, and Lin, Y.-H.^{1,*}. 2023. Evaluation of control effect of aqueous garlic extract on rice sheath blight. *J. Plant Med.* 65(3): 115-124. (¹Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, ²Department of Horticulture and Landscape Architecture, National Taitung Jr. College, Taitung, Taiwan)

*Corresponding author, E-mail: pmyhlin@mail.npu.edu.tw; zhongbinwu@ntc.edu.tw

[†]Lin, C.-C. and Xu, Y.-Z. contributed equally to this work.

Rice is the most important food crop in Taiwan, with the largest planting area and output among all crops. In the process of rice production, rice sheath blight (ShB) caused by *Rhizoctonia solani* AG-1 IA is one of the major diseases, which can seriously affect rice yield and quality once it breaks out. Currently, the prevention and control of ShB rely mainly on chemical pesticides, but long-

term and large-scale use of chemical pesticides has the risk of polluting the environment and harming human and animal health, as well as potentially leading to pathogen resistance. In contrast, natural plant protection products have advantages such as low toxicity to humans and animals, low residue, and unique effects on diseases and pests, which can effectively control pests and diseases and are less likely to develop resistance. Therefore, this study aims to develop a simple method for preparing aqueous garlic extract and evaluate its applications in three aspects: 1. inhibitory effect on ShB pathogen; 2. storage conditions; 3. prevention and control of ShB in rice. According to the experimental results, the aqueous garlic extract prepared from 10 g of garlic and 50 mL of sterile water (undiluted solution) can inhibit the growth of *R. solani*, the causal agent of rice sheath blight, by 79.78%. When the undiluted solution was diluted two-fold or the amount of garlic and sterile water was increased proportionally (using 200 g of garlic and 1000 mL of sterile water), the inhibition rates were 58.09% and 46.54%, respectively. In terms of storage, the undiluted aqueous garlic extract showed the best preservation effect, with a 50.99% inhibition rate after 28 days of storage at -20°C. Although the inhibition effect decreased when the garlic extract was stored at 25°C and 4°C, it still showed inhibition rates of over 45.93%. The results of the germ tube inhibition test showed that the undiluted aqueous garlic extract can inhibit germ tube growth by 92.95%, which is similar to the effect of a commercially available garlic extract solution at a concentration of 150 µg/ml (150 ppm). In addition, the efficacy of the garlic extracts in controlling rice sheath blight was proportional to the amount of garlic used (1, 3, 5, 7, and 10 g). The inhibition rates were 31.35%, 57.06%, 79.18%, 80.85%, and 84.76%, respectively. In comparison, the control group treated with 150 ppm garlic extract solution showed a disease control rate of 94.88%. Based on the comprehensive evaluation results, the evaluated aqueous garlic extract has the potential to be used as a non-pesticidal alternative and reduce food loss for controlling rice sheath blight.

Keywords: natural plant protection products, *Rhizoctonia solani*, non-pesticide control technology, disease management