

主題二： 草莓病蟲害與生物防治

草莓萎凋病菌之分子檢測技術

張碧芳^{1,2,*}、張道禾^{1,2}、林盈宏^{3,4}、林雯琪¹、李玟儀¹、張文苡¹、楊子葳³

¹ 國立中興大學植物病理學系

² 國立中興大學永續農業創新發展研究中心

³ 國立屏東科技大學植物醫學系

⁴ 國立屏東科技大學植物醫學教學醫院

* 聯繫人 E-mail: pfchang@nchu.edu.tw

摘要

本研究團隊於 2017-2018 年期間利用前人所設計之引子對 FofraF/FofraR 進行聚合酵素連鎖反應 (PCR)，測試其對臺灣本土草莓萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *fragariae* Winks & Williams, Fofra) 之專一性，結果顯示以 FofraF/FofraR 引子對進行 PCR 除對供試的臺灣本土草莓萎凋病菌之再現性不佳，且在西瓜蔓割病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *niveum*)、番茄萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) 和香蕉黃葉病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) 等菌株也曾產生大小相近的增幅片段，確定 FofraF/FofraR 引子對並不適用於檢測臺灣草莓萎凋病菌。然而菌株樣品若同時利用 2019 年新發表的 Frag_F/Frag_R 引子對和前述 FofraF/FofraR 引子對與韓國學者再設計之 Fofra qF/Fofra qR 引子對分別進行 PCR，因其針對草莓萎凋病菌之再現性不佳，仍需接種草莓確認其病原性。故臺灣草莓萎凋病菌之檢測技術仍需要繼續研究，希望未來能開發出對草莓萎凋病菌具專一性且再現性佳的分子檢測技術。

關鍵詞：分子檢測、草莓、草莓萎凋病菌、聚合酵素連鎖反應

引言

草莓學名為 *Fragaria × ananassa* Duchesne，是薔薇科 (Rosaceae)、草莓屬 (*Fragaria*) 的多年生草本作物，性喜冷涼，生長在溫帶地區如日本、韓國、澳洲等地。草莓風味佳且含有多種養分，深受國人喜愛，是重要的經濟作物之一。根據統計至 2018 年為止，臺灣草莓的栽培面積約為 500 公頃，在臺灣的總產值已經超過 14

億。僅在苗栗地區的栽種面積就有 454 公頃，尤其集中在大湖地區（行政院農業委員會，2018）。草莓為大湖地區重要的經濟作物，也是最重要的觀光休閒產業。然而自 2012 年開始，臺灣苗栗縣大湖、獅潭及其他草莓栽種地區已經陸續發現新的草莓病害，經鑑定為草莓萎凋病，由草莓萎凋病菌（*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *fragariae* Winks & Williams，簡稱 Fofra）所引起，其病徵包括：植株矮化、新葉偏上生長、黃化、葉部萎凋乾枯、冠部及根部壞疽、維管束褐化，最後導致植株死亡（陳等人，2017）。此真菌病原最早在西元 1965 年於澳洲首次報導（Winks and Williams, 1965），隨後相繼在於日本、韓國、西班牙、中國和美國等地陸續有草莓萎凋病的報導（Okamoto et al., 1970; Kim et al., 1982; Arroyo et al., 2009; Zhao et al., 2009; Koike et al., 2009; Williamson et al., 2012）。臺灣安氏等人於 2012 年曾有草莓萎凋病的初步報導（安等人，2012），而國立中興大學植物病理學系黃振文教授研究室已經從罹病的草莓植株分離出超過 30 株的草莓萎凋病菌分離株，並確定該些菌株為有寄主專一性之草莓萎凋病菌（陳等人，2017）。

鐮孢菌（*Fusarium* spp.）是廣泛存在自然界的真菌，其中又以尖鐮孢菌 *F. oxysporum* Snyder & Hanson 引起的病害為最嚴重，可以感染超過 100 種植物（Armstrong and Armstrong, 1981; Smith, 2007），然而目前尚無有效的化學藥劑來防治由尖鐮孢菌引起的作物萎凋病，且 *F. oxysporum* 可以藉由厚膜孢子於土壤中存活達數十年之久，難以滅除，往往造成各連作田中作物萎凋或蔓割病害大發生，因此，種植抗病品種或以抗病根砧嫁接，是最好的防治方法（陳等人，2003）。然而在沒有抗病品種或合適的抗病根砧之下，防止病原菌進入田間是最根本的方法，因此開發快速檢測作物萎凋病菌以達到正確偵測與診斷非常重要。

日本 Suga 等學者曾發表對草莓萎凋病菌具專一性的引子對供聚合酵素連鎖反應（polymerase chain reaction, PCR）檢測（Suga et al., 2013），但由於臺灣氣候較日本溫暖潮濕，病原菌的變異度較大，因此本研究團隊在 2017-2018 年執行防檢局計畫期間持續收集臺灣的草莓萎凋病菌株，以日本發表之 PCR 法測試其對臺灣菌株之適用性及專一性，並希望以 Random Amplified Polymorphic DNA（RAPD）特異性 DNA 條帶或 rDNA 定序比對序列之差異等方式來找出對臺灣草莓萎凋病菌具專一性的序列，進而設計 PCR 引子對，以開發臺灣草莓萎凋病菌之專一性 PCR 檢測技術。

材料與方法

真菌核酸萃取

真菌核酸 DNA 之萃取採用洪氏等人 (2008) 之傳統核酸萃取法、市售之核酸萃取套組 (Genomic purification kit, GeneMark, Taiwan) 或利用微波爐法快速萃取核酸。洪氏等人 (2008) 的方法取 1 g 之乾燥菌絲進行核酸萃取；核酸萃取套組方法參照該套組所附之操作流程，以約 30 mg 之凍乾菌絲進行核酸萃取；微波爐快速萃取核酸法修改參照 張景宜 (2005) 與 Saini 等人 (1999) 的方法，以無菌牙籤沾取培養基中之菌絲，並將菌絲混入 200 μ L 之萃取液 (TE buffer; 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)，於 1.5 mL 微量離心管中 均勻震盪後，以功率為 600 W 之微波爐在全功率下加熱處理一分鐘後，將粗萃取液置於冰上一分鐘，高速離心 (17,000 \times g, 5 分鐘) 後取上清液用做後續之分析。

聚合酵素連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)

將前述所萃取之 DNA 稀釋十倍後取 1 μ L (約 10 ng) 作為 PCR 之模板 (template) DNA，所使用之 PCR 引子對如表一，其中 FnSc-1/FnSc-2 為適用於所有尖鐮孢菌 *F. oxysporum* 之專一性引子對，其他引子對為前人發表可檢測草莓萎凋病菌 *Fofra* 之專一性引子對。PCR 反應條件如表一所示，結束後再以 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 分鐘完成 PCR 反應。之後以 1.5 或 2.5% 瓊脂膠體電泳分析 PCR 產物之核酸條帶，預期合成片段大小如表一所示。

隨機增幅多型性核酸 (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) 技術

將前述所萃取之 DNA 取 1 μ l 作為 PCR 之模板 (template) DNA。參考 Lin 等人於 2009 與 2010 年 (Lin et al., 2009; 2010) 發表針對 *F. oxysporum* 所設計之 RAPD 引子對進行增幅。PCR 反應條件為 94 $^{\circ}$ C 90 秒；之後以 94 $^{\circ}$ C 30 秒，分別以 36 $^{\circ}$ C 30 秒 5 次、34 $^{\circ}$ C 30 秒 5 次及 32 $^{\circ}$ C 30 秒 20 次，於 72 $^{\circ}$ C 下反應 1 分鐘，共計 30 個循環，結束後再以 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 分鐘完成 PCR 反應。以 1.5% 瓊脂膠體電泳分析 RAPD 產物之核酸條帶，尋找差異性片段。

結果與討論

本研究團隊先以 2013 年日本學者發表之 FofraF/FofraR 引子對 (Suga et al., 2013) 進行 PCR 測試所蒐集到的草莓萎凋病菌 (Fofra)，但發現經接種測試對草莓有病原性的 Fofra 菌株，有部分無法以 FofraF/FofraR 引子對增幅出 239 bp 的目標條帶 (其序列如圖一)，或是部分 Fofra 菌株的 PCR 結果再現性不佳，甚至曾在西瓜蔓割病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *niveum*，簡稱 Fon)、番茄萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) 和香蕉黃葉病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) 等樣品中增幅出大小約 239 bp 的 DNA 條帶，其中 Fon 的 DNA 條帶經定序後，和 Fofra 的目標核酸序列只有少數幾個單一核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位點。因此確定 FofraF/FofraR 引子對無法適用於檢測臺灣草莓萎凋病菌株，後續以隨機增幅多型性核酸 (RAPD) 技術，尚未篩選到可以利用之專一性核酸片段。

而 2018 年，韓國學者以日本學者發表之 FofraF/FofraR 引子對所增幅出的 239 bp 目標片段，從中設計出 Fofra qF/Fofra qR 引子對 (Hong et al., 2018)，以該引子對進行 PCR 可以在 Fofra 菌株樣品中增幅出 123 bp 的目標條帶 (其序列如圖一)，並開發出定量 PCR 檢測技術，以這組引子對來測試臺灣的菌株，也不完全適用。

此外，美國加州有一群學者在 2019 年發表一個可供偵測 Fofra 的基因座，並設計出 Frag_F/Frag_R 引子對 (Burkhardt et al., 2019)，以該引子對進行 PCR 可以在 Fofra 菌株樣品中增幅出 176 bp 的目標條帶 (其序列如圖二)，但似乎比日本學者發表的 FofraF/FofraR 引子對更不適用於臺灣的菌株。

本研究團隊的初步結果顯示，如果以日本學者發表的 FofraF/FofraR 引子對，搭配美國學者發表的 Frag_F/Frag_R 引子對，再加上韓國學者重新設計的 Fofra qF/Fofra qR 引子對進行三個單獨的 PCR，分別可獲得 239 bp、176 bp 和 123 bp 的目標條帶，則可以確定是草莓萎凋病菌株。即三種引子對都有在 PCR 增幅出目標條帶者確認是草莓萎凋病菌；只有 1-2 組引子對可以 PCR 增幅出目標條帶者不一定是草莓萎凋病菌；而 PCR 都沒有增幅出目標條帶者也不一定不是草莓萎凋病菌，應由後續接種試驗證實是否為草莓萎凋病菌。

結 語

病害防治首重病原菌的診斷鑑定，確定發病原因才能對症下藥，然而草莓萎凋病目前無防治藥劑，其病原菌又是可以厚膜孢子殘存於土壤數十年的尖鏟孢菌，尤其容易因為農民的走動（鞋子或衣物沾附帶菌土壤、植物殘體或介質）、操作器械工具、灌溉水及無病徵的走莖或幼苗而傳播，因此開發快速又準確的草莓萎凋病菌分子檢測技術實為必須，由於目前已發表的三種供試引子對針對草莓萎凋病菌之 PCR 結果再現性不佳，仍需後續接種試驗證實其病原性。未來希望能夠開發出更專一且再現性佳之分子檢測技術，避免臺灣草莓產業受到草莓萎凋病的危害。

參考文獻

1. 行政院農業委員會。2018。107 年農業統計年報。行政院農業委員會編印。台北。
2. 安寶貞、蔡志濃、徐子惠、楊正偉、林筑蕓。2012。草莓萎凋病之研究初報。植物病理學會刊 21: 148-149。
3. 洪爭坊、張碧芳、黃久菱、萬宥伶、黃振文。2008。萵苣萎凋病菌的生理小種鑑定與抗病品種篩選。植物病理學會刊 17(3): 233-242。
4. 張景宜。2005。香蕉黃葉病菌的分子鑑定及其於罹病香蕉苗之偵測技術。中興大學植物病理學碩士論文。84 頁。
5. 陳甘澍、劉政道、張碧芳、黃振文。2003。西瓜抗蔓割病品種之篩選與其抗病遺傳分析。植物病理學會刊 12(3): 173-180。
6. 陳冠霖、張碧芳、黃振文。2017。臺灣草莓萎凋病菌之生理生化特性分析。植物醫學 59(4): 13-22。DOI:10.6716/JPM.201712_59(4).0003
7. Armstrong, G. M. and J. K. Armstrong. 1981. *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases*. In: *Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy* (Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Cook, R.J. Eds.). Pages 391-399. University Park, PA: Penn. State Univ. Press, 457 pp.
8. Arroyo, F. T., Y. Llergo, A. Aguado, and F. Romero. 2009. First report of *Fusarium wilt* caused by *Fusarium oxysporum* on strawberry in Spain. *Plant Disease* 93(3): 323. DOI: 10.1094/PDIS-93-3-0323B
9. Burkhardt, A., P. M. Henry, S. T. Koike, T. R. Gordon, and F. Martin. 2019. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* from infected strawberry plants. *Plant Disease* 103(5):1006-1013. DOI: 10.1094/PDIS-08-18-1315-RE.
10. Hong, S. W., D.-R. Kim, J. S. Kim, G. Cho, C. W. Jeon, and Y.-S. Kwak. 2018. Development qRT-PCR protocol to predict strawberry *Fusarium wilt* occurrence. *The Plant Pathology Journal* 34(3): 163-170. DOI: 10.5423/PPJ.OA.12.2017.0265.
11. Kim, C. H., H. D. Seo, W. D. Cho, and S. B. Kim. 1982. Studies on varietal resistance and chemical control to the wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum*. *Korean Journal of Plant Protection* 21(2): 61-67.
12. Koike, S. T., S. C. Kirkpatrick, and T. R. Gordon. 2009. *Fusarium wilt* of

- strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in California. *Plant Disease* 93(10): 1077. DOI: 10.1094/PDIS-93-10-1077A.
13. Lin Y.-H., J.-Y. Chang, E.-T. Liu, C.-P. Chao, J.-W. Huang, and P.-F. L. Chang. 2009. Development of a molecular marker for specific detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *European Journal of Plant Pathology* 123(3): 353–365. DOI: 10.1007/s10658-008-9372-4.
 14. Lin, Y.-H., K.-S. Chen, J.-Y. Chang, Y.-L. Wan, C.-C. Hsu, J.-W. Huang, and P.-F. L. Chang. 2010. Development of the molecular methods for rapid detection and differentiation of *Fusarium oxysporum* and *F. oxysporum* f. sp. *niveum* in Taiwan. *New Biotechnology* 27(4): 409-418. DOI: 10.1016/j.nbt.2010.05.005.
 15. Saini, H. S., M. Shepherd, and R. J. Henry. 1999. Microwave extraction of total genomic DNA from barley grains for use in PCR. *Journal of the Institute of Brewing* 105(3): 185-190. DOI: 10.1002/j.2050-0416.1999.tb00018.x.
 16. Smith, S. N. 2007. An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. *Plant Pathology Bulletin* 16: 97-120.
 17. Suga, H., Y. Hirayama, M. Morishima, T. Suzuki, K. Kageyama, and M. Hyakumachi. 2013. Development of PCR primers to identify *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. *Plant Disease* 97(5): 619-625. DOI: 10.1094/PDIS-07-12-0663-RE.
 18. Okamoto, H., S. Fujii, K. Kato, and A. Yoshioka. 1970. A new strawberry disease 'Fusarium wilt'. *Plant Protection Science* 24: 231-235.
 19. Williamson, M., D. Fernandez-Ortuno, and G. Schnabel. 2012. First report of Fusarium wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in South Carolina. *Plant Disease* 96 (6): 911. DOI: 10.1094/PDIS-02-12-0164-PDN.
 20. Winks, B. L. and Y. N. Williams. 1965. A wilt of strawberry caused by a new form of *Fusarium oxysporum*. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Science* 22: 475-479.
 21. Zhao, X., W. Zhen, Y. Qi, X. Liu, and B. Yin. 2009. Coordinated effects of root autotoxic substances and *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *fragariae* on the growth and replant disease of strawberry. *Frontiers of Agriculture in China* 3 (1): 34-39. DOI: 10.1007/s11703-009-0006-1

表一、草莓萎凋病菌之 PCR 引子和反應資訊

Table 1. PCR primer and program information for *Fuvarium oxysporum* f. sp. *fragariae*

Primer name	Primer sequence (5'-3')	PCR program	Product size (bp)	References
FnSc-1 FnSc-2	TACCACTTGTTCCTCGGCGGATCAG TTGAGGAACGCGAATTAACGCGAGTC	94° C 90 s 94° C 30 s, 62° C 30 s, 72° C 60 s (30 cycles) 72° C 10 min	327	Lin et al., 2010
Fofra qF Fofra qR	TTCGCTCCTCCATACAA AAACCACGCAGAGATAAA	95° C 1 min 95° C 15 s, 51° C 15 s, 72° C for 45 s (40 cycles)	123	Hong et al., 2018
FofraF FofraR	CAGACTGGGGTGCTTAAAGTT AACCCTAGGGTCGTAACAAA	94° C 2 min 94° C 1 min, 63° C 1 min, 72° C 1 min (30 cycles)	239	Suga et al., 2013
Frag_F Frag_R	GTGAGACGGACATCTTGAAG AGGAACATTCCAGCACCGA	95° C 2 min 95° C 30 s, 56° C 30 s, 72° C 30 s (35 cycles) 72° C 5 min	176	Burkhardt et al., 2019

CACGATTCACACTAATATCTGACACCAC **CAGACTGGGGTGCTTAAAGTT** TAT
FofraF
TACCATCCAGGACCACCTAATGCATAACTAAAAT **TTCGCTCCTCCATACAAA**
Fofra qF
ATCCAAATTTTGATGTCCACAAAAAGGCCCGATTCTCAATTAATAAATGAGA
CTTTGGAGAAAGTTTCTAGAAAATTGCTCAAAT **TTACTCTCTGCGTGGTTT**
Fofra qR
TTTGACCTCCCGACCGCTGCGTGTGCGCTGGCAGTGC **TTTGTTACGACCCT**
FofraR
AGCGGTTA

Adapted from Suga et al 2013 and Hong et al 2018

圖一、Suga 等人於 2013 年發表使用 HanRC 與 SkippyFC 引子對增幅所得之草莓萎凋病菌 DNA 片段。綠色區塊為 FofraF/FofraR 引子對序列，黃色區塊為 Hong 等人於 2018 年發表的 Fofra qF/Fofra qR 引子對序列

Fig. 1. Sequence of DNA fragment of *Fuvarium oxysporum* f. sp. *fragariae* amplified by HanRC and SkippyFC primer sets published by Suga et al. (2013). Those boxed in green are FofraF/FofraR primers. Those boxed in yellow are Fofra qF/Fofra qR primers published by Hong et al. (2018)

ACAGGAGTGTAGCCGTTTCAAATAGTGCGTCCTGTCTCCCCCTCTCGAGCTCGTGCGTGC
 AAGAACAATATAGGATCGTGCTGTTGATAGACTTACTTTGAACAAAGAAGTGTGTCACCGCC
 CATGCGCATCCCAAG**GTGAGACGGACATCTTGAAG**CAAGGAAGCGGACCCAGTGTCTTGGG
 Frag_F
 AGTTCTCATCAACCTTGGCGACATTGATGCTGCCACTTGCCTTTGGGCTCTGGATACTAACTC
 CAGCAGCAATTCGAGTGCGATCCTTGACTTGATCGAGATGGGAAGTT**TCGGTGCTGAAAAT**
 Frag_R
GTTTCCTTGTACTIONGCAAGAAACCCAGTGTGAATTGAGAAACAAATACGGATCCTGCA
 GGCAAAGACTTGGGTTAGCAACATGCACGTAA
 Adapted from Burkhardt et al 2019

圖二、Burkhardt 等美國加州學者於 2019 年發表一段可供偵測草莓萎凋病菌之基因座，供設計 PCR 檢測引子對之用。紫色區塊為 Frag_F/Frag_R 引子對之區域

Fig. 2. A gene locus of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* (Fofra) suitable for Fofra detection was used to design primers by Burkhardt et al. (2019). Those boxed in purple are Frag_F/Frag_R primers

Molecular Technique for *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*

Pi-Fang Linda Chang^{1,2,*}, Tao-Ho Chang^{1,2}, Ying-Hong Lin^{3,4}, Wen-Chi Lin¹,
Wen-Yi Li¹, Wen-Yi Chang, and Zi-Wei Yang³

1Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung City,
Taiwan, R. O. C.

2Innovation and Development Center of Sustainable Agriculture (IDCSA),
National Chung Hsing University, Taichung City, Taiwan, R. O. C.

3Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and
Technology, Pingtung, Taiwan, R. O. C.

4Plant Medicine Teaching Hospital, General Research Service Center,
National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, R. O. C.

*Corresponding author, E-mail: pfchang@nchu.edu.tw

Abstract

We assessed the specificity of the FofraF/FofraR primer pair from previous report to *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* (Fofra) in Taiwan via polymerase chain reaction (PCR) in 2017 and 2018. Results showed that using primer pair FofraF/FofraR for PCR could not generate reproducible results on the tested isolates of Fofra. Besides, FofraF/FofraR primer pair could produce DNA fragment of similar size in some other isolates such as *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopercisi*, and *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. It was obvious that FofraF/FofraR primer pair was not suitable for Fofra detection in Taiwan. When the Frag_F/ Frag_R primer pair was reported in 2019, this primer pair together with the above-mentioned FofraF/FofraR primer pair, and the redesigned Fofra qF/Fofra qR primer pair from Korea were used for PCR separately on the same isolates, the results still showed poor reproducibility. Therefore, the pathogenicity of Fofra isolates to strawberry still depends on the inoculation technique. Further study to develop the PCR detection technique for Fofra with specificity and reproducibility in the near future is warranted in Taiwan.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*, molecular detection, polymerase chain reaction, strawberry

臺灣草莓炭疽病菌族群分析與 檢測技術開發

鐘珮哲^{1*}、吳竝毅²、洪挺軒²、鍾嘉綾²

¹ 行政院農委會苗栗區農業改良場

² 國立臺灣大學植物病理與微生物學系

* 聯繫人 E-mail: peiche@mdais.gov.tw

摘要

草莓為臺灣具高經濟價值之作物，栽培面積為 500 公頃左右。近 10 年來炭疽病成為草莓頭號殺手，自 2010~2018 年間調查草莓主要產區，高達 50% 以上的病株呈現典型冠腐病徵，經過型態及多基因分析 52 株菌，確認造成臺灣草莓炭疽病之病原菌包含 *Colletotrichum siamense*、*C. fructicola* (*C. gloeosporioides* species complex)、*C. karstii*、*C. boninense* (*C. boninense* species complex) 及一種歸類於 *C. acutatum* species complex 的新種 *Colletotrichum miaoliense* sp. nov.。其中又以 *C. siamense* 為最主要且生長速度快、病原性強之病原菌，瞭解炭疽病菌種類將有助於後續防治策略之開發。由於炭疽病菌能潛伏感染寄主，種植健康不帶菌的草莓苗，將可大幅降低本田期病害的發生，同時減少化學藥劑的使用。而為生產健康的草莓苗，準確、靈敏、快速又合乎成本效益的檢測技術便是其中最重要的關鍵，因此以現有的炭疽病菌基因體資料庫，搜尋適合的目標區域，並以臺灣草莓炭疽病菌的序列進行引子設計，開發巢式聚合酶鏈鎖反應技術。本技術可以偵測最主要的炭疽病菌 *C. siamense* 與 *C. fructicola*，但不會偵測到其他草莓病原菌或土壤中常見的腐生菌，可偵測到低至 100 fg 之 *C. siamense* DNA (約 2 個病原菌細胞)，代表具有高度專一性及靈敏度。

關鍵詞：潛伏感染、健康種苗、巢式聚合酶鏈鎖反應

臺灣草莓炭疽病菌族群分析

臺灣草莓栽種面積約 500-600 公頃，每年產值超過 18 億元，平均每公頃產值超過 300 萬元，為一極具經濟價值之水果。每年草莓大約於初秋 (9 月底至 10 月初) 定植，約於 11 月底至 12 月初開始採收，一直至隔年 3 至 4 月結束。草莓主要藉由走蔓進行無性繁殖，育苗的時間落在每年 3 月至 9 月之間，這期間包括了 5 至 6 月的梅雨季節與 7 至 9 月的颱風季節，高溫高濕加上氣候變遷所造成的強降雨現象，導致近年來草莓炭疽病的發生頻率居高不下 (鐘及彭，2013)。臺灣每年對於草莓苗的需求高達 2500 萬株，近年來平均因炭疽病造成植株死亡的比例高達 20-30% (育苗期 30%，本田期 20%) 有時更因病害發生嚴重，造成全臺缺苗嚴重，出現有錢也買不到苗的現象發生，因此如何有效防治草莓炭疽病實為一亟待解決的重要問題。炭疽病 (anthracnose) 是草莓最主要的病害之一，其病原菌屬於炭疽刺盤孢菌屬 (*Colletotrichum*) 之真菌，近年來因分子生物學發展之影響，以往用傳統型態與寄主範圍做為主要鑑定病原真菌的方法，已逐漸轉變為以分子特徵為主要鑑定依據，特別是炭疽病菌屬之真菌，許多種皆無法以型態特徵來鑑定，需要以分子特徵才能準確鑑定。

為進行草莓炭疽病菌之族群調查，自臺灣地區之新竹縣、苗栗縣、嘉義縣與南投縣蒐集病株，這四個縣市的草莓栽種面積佔總栽種面積之 94%，其中以苗栗縣栽種面積最大，約佔總栽種面積之 90% (107 年農業統計資料)。分析 52 株炭疽病菌株，80% 以上於苗栗縣內不同地區分離出來。分離部位包含罹病株之冠部、葉片、走蔓、根部與果實等不同部位，經由 ITS 區域的序列比對結果顯示，有 45 株屬於 *Colletotrichum gloeosporioides* species complex，有 4 株屬於 *C. boninense* species complex，有 3 株屬於 *C. acutatum* species complex。結果顯示臺灣地區的草莓炭疽病菌至少有三種不同族群，其中又以 *C. gloeosporioides* species complex 的族群佔最大比例 (約 86%)，其分布區域亦包含了所有調查的縣市區域 (佔總栽種面積之 94%)。

為求更精確地鑑定不同族群內之炭疽病菌，所有分離純化的菌株皆以多基因並聯的方式進行類緣分析，分析的基因或區域包含 ITS、glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*)、chitin synthase (*CHS-1*)、actin (*ACT*)、 β -tubulin 2 (*TUB2*)、calmodulin (*CAL*) 與 intergenic region of *Apn2* and *MAT1-2-1* (*ApMAT*)。序列經由 PCR 增幅後進行雙向定序，同一族群之序列經由 multiple sequence alignment 後，分別進行貝葉氏分析 (Bayesian inference)，

最大似然法則分析 (Maximum likelihood) 與最大簡約法分析 (Maximum parsimony)，結果顯示 *C. gloeosporioides* species complex 的族群內包含兩種炭疽病菌，為 *C. siamense* 與 *C. fructicola*，*C. boninense* species complex 當中包含兩種炭疽病菌，為 *C. boninense* 與 *C. karstii*，*C. acutatum* species complex 包含一種炭疽病菌。在所有分離菌株當中，以 *C. siamense* (圖一) 出現的頻率最高，有約 75% 的出現頻率 (52 株當中佔 39 株) (Chung et al. 2019)。此外，於 *C. acutatum* species complex 當中分離的菌株，在演化樹分析上出現以獨立的分枝自成一個族群，且有著高度的可靠性，已命名為新種 *Colletotrichum miaoliense* sp. nov. (Chung et al. 2020)。

確立不同炭疽病菌族群後，於各族群當中各挑選至少 2 株菌作為代表性菌株，進行培養基上菌落生長速度及草莓葉上致病性強弱之比較，結果顯示 *C. siamense* 在不同溫度下 (18 °C、22 °C、25 °C、28 °C、30 °C 與 32 °C) 皆生長最為快速，病原性亦最強，推測臺灣草莓炭疽病菌雖然至少有五種，但 *C. siamense* 為田間最普遍的種類，亦為病原性最強的一種。

炭疽病檢測技術開發

由於炭疽病菌可以藉由壓器 (appressoria) 於植物組織表面潛伏感染，並且可以產生二次孢子 (secondary conidia)，因此潛伏感染時仍舊可以產生分生孢子，造成田間感染源的增加與散播 (Leandro et al., 2001)。經長期田間監測發現，炭疽病菌會潛伏於種苗，然後隨著種苗傳播至本田，因而偵測此病原菌潛伏感染情形，應有助於大幅降低其散播。炭疽病潛伏感染之偵測，可使用除草劑 (paraquat) 或冷凍法殺死植物組織後，加速其內潛藏的炭疽病菌之生長，並使分生孢子盤較易產生，藉此觀察是否有潛伏感染情形 (Mertely and Legard, 2004)。Dr. Ishikawa 則將外觀無病徵之草莓葉片以酒精表面消毒後，經 10-14 天可觀察潛伏感染之炭疽病的分生孢子堆產生情形 (Ishikawa, 2004)。分子生物學發展後，最常用來做為炭疽病菌種間鑑定及偵測潛伏感染情形之方法為聚合酶鏈鎖反應 (PCR)，然而當目標 DNA 量非常低時 (潛伏感染時期)，一般 PCR 不見得適用，此時需以高靈敏度之技術 (如 real-time PCR 等) 才能偵測得到。

為提升檢測速度，爰開發巢式聚合酶鏈鎖反應 (nested PCR) 引子對，此種方法是將第一次的 PCR 產物作為第二次 PCR 循環的模版，可以提高特異性及靈敏度。引子設計的目標區域設定在尋找 *C. gloeosporioides* complex 當中保守、

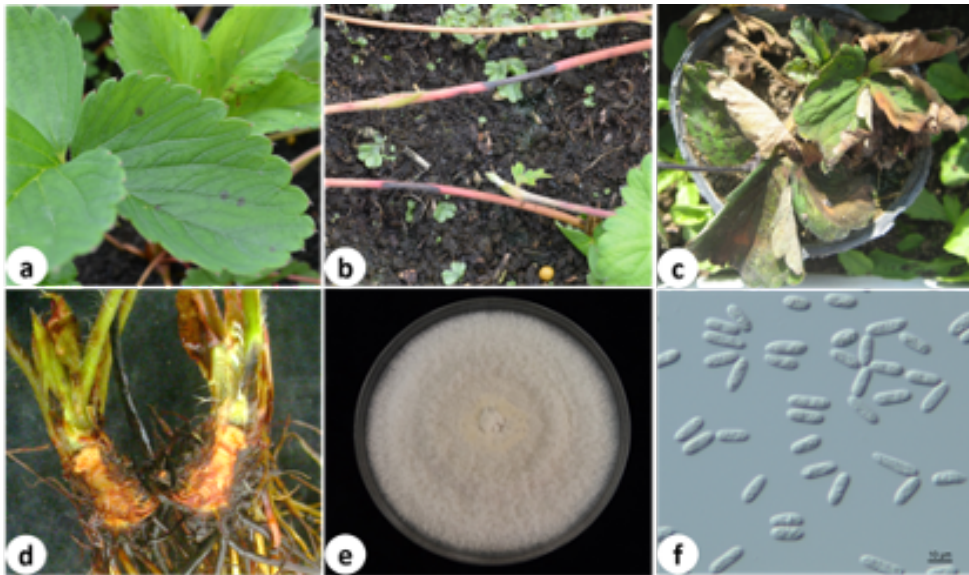
但對其他 *Colletotrichum* spp. 不保守，且其上下游序列對大部分 *Colletotrichum* 為保守的區域。設計的 nested PCR 引子對首先進行專一性的分析，分別以 *C. siamense* ML133 的 DNA (為正對照組)，比較對於其他 *C. siamense* 分離株及不同種類炭疽病菌菌株，如 *C. fructicola* 與 *C. karstii* 的專一性，結果顯示可偵測到目前田間最主要之炭疽病菌種類 *C. siamense* 及 *C. fructicola*，經第一次 PCR 增幅出 490 bp 片段，第二次 PCR 則增幅出 150 bp 片段 (圖二)。將 *C. siamense* ML133 的 DNA 序列稀釋 (1 ng、100 pg、10 pg、1 pg、100 fg、10 fg per μ L) 後進行測試，結果顯示 nested PCR 可以偵測低至 100 fg 之 *C. siamense* ML133 DNA，代表具有高靈敏度 (圖二)。

結 語

在發展草莓抗病育種技術與防治技術之前，必須先瞭解目前田間的草莓炭疽病是單一或多種病原菌所造成，才有可能針對主要病原菌研發相對應的整合性管理技術。目前所開發之 nested PCR 技術，可以檢測臺灣主要的草莓炭疽病菌 *C. siamense* 與 *C. fructicola*，但不會檢測出別種的炭疽病菌，且於土壤中常見的 *Fusarium* spp. 或木黴菌 (*Trichoderma* sp.) 亦不會被檢測出來，本檢測技術除了具有好的專一性，亦具有高度靈敏度，只要有 100 fg 的炭疽病菌 DNA (約 2 個病原菌細胞) 即可被偵測，適合檢測在草莓上潛伏感染的少量炭疽病菌。本檢測技術使用 nested PCR 反應，相較於一般 PCR，其靈敏度與專一性皆較高，到達與 real-time PCR 相當的靈敏度，且每次反應的成本較 real-time PCR 低，唯有其反應所需要的時間稍長，但相較於需要 10-14 天才能完成的酒精檢測法，整個檢測流程可在 1-2 天之內完成，已經符合快速檢測所需。國內目前正在積極推動草莓種苗三級繁殖制度，本檢測技術可以實際應用或支援種苗病害驗證作業 (鐘，2017)，未來將持續開發其他草莓病害檢測技術，以提高國內健康草莓苗的品質，減少病害發生與降低化學藥劑使用。

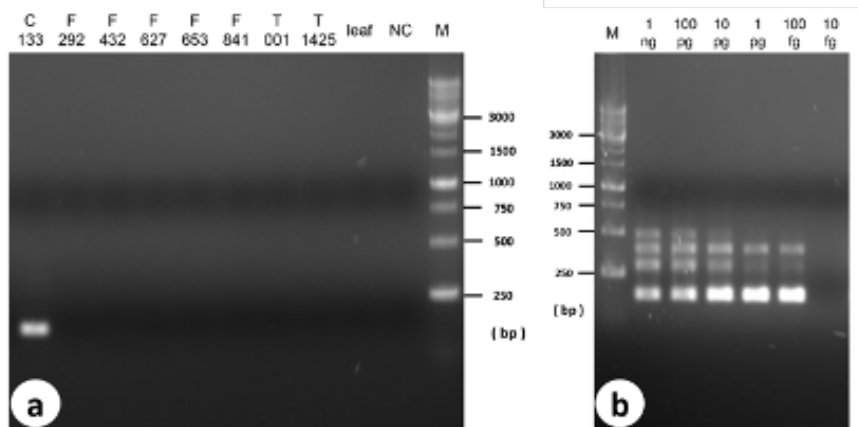
參考文獻

1. 鐘珮哲、彭淑貞。2013。草莓育苗期重要病害管理。苗栗區農業專訊 61 期：9-10。
2. 鐘珮哲。2017。草莓育苗主要病害監測檢測及防治技術。出國報告資訊網。
3. Ishikawa, S. 2004. Simple diagnosis using ethanol immersion of strawberry plants with latent infection by *Colletotrichum acutatum*, *Dendrophoma obscurans*, and *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. Journal of General Plant Pathology 70:249-255.
4. Leandro, L. F. S., Gleason, M. L., Nutter, F. W., Wegulo, S. N., Dixon, P. M. 2001. Germination and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. Phytopathology 91, 659-664.
5. Mertely, J. C., Legard, D. E., 2004. Detection, isolation, and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. from strawberry petioles. Plant Disease 88, 407-412.
6. Chung, P.-C., Wu, H.-Y., Ariyawansa, H. A., Tzean, S.-S., Chung, C.-L. 2019. First report of anthracnose crown rot of strawberry caused by *Colletotrichum siamense* in Taiwan. Plant Disease 103 (7), 1775-1776.
7. Chung, Pei-Che, Wu, Hung-Yi, Wang, Yen-Wen, Hu, Hsien-Pin, Ariyawansa, Hiran-A., Hung, Ting-Hsuan, Tzean, Shean-Shong and Chung, Chia-Ling. 2020. Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose in Taiwan and description of a new species, *Colletotrichum miaoliense* sp. nov. Scientific Reports. 10, 14664.



圖一、炭疽病菌在豐香草莓植株上各部位之病徵及菌落、分生孢子型態。a. 黑色壞疽葉斑。b. 走蔓上凹陷病斑。c. 炭疽病菌感染冠部造成草莓植株顯現出褪綠到枯萎症狀。d. 冠部的縱切面顯現褐色壞疽。e. 真菌菌落最初為白色，後來在上側逐漸轉為淺灰色。f. 分生孢子透明，長圓形到圓柱形，具圓形鈍角

Fig. 1. Anthracnose symptoms on strawberry and morphological characters of *Colletotrichum siamense*. (a) Black necrotic leaf spots. (b) Withering and girdling on a runner. (c) A strawberry plant with anthracnose crown rot showing chlorotic to blighted leaves and wilting symptoms. (d) Longitudinal section of an infected crown showing marbled reddish-brown necrosis. (e) The fungal colony was initially white, later became light gray on the upper side. (f) Conidia hyaline, oblong to cylindrical, with round obtuse ends. Scale bar = 10 μ m



圖二、巢式聚合酶鏈鎖反應之專一性及靈敏度測試。a. DNA 樣本包含 *Colletotrichum siamense* ML133 (C133)、*Fusarium* spp. (F292、F432、F627、F653、F841)、*Trichoderma* sp. (T001、T1425)、草莓葉片 (leaf) 及負對照 (NC)。M：1 kb DNA 分子標記 (Faith Biotechnology)。b. 測試樣本為序列稀釋之 *Colletotrichum siamense* ML133 的 DNA：1 ng/ μ L、100 pg/ μ L、10 pg/ μ L、1 pg/ μ L、100 fg/ μ L、10 fg/ μ L。M：1 kb DNA 分子標記 (Faith Biotechnology)

Fig. 2. Specificity and sensitivity test of the nestd-PCR assay. (a) Samples included the DNA of *Colletotrichum siamense* ML133 (C133), *Fusarium* spp. (F292, F432, F627, F653、F841), *Trichoderma* sp. (T001, T1425), strawberry leaf (leaf), and negative control (NC). M: 1 kb DNA ladder (Faith Biotechnology). (b) Samples included serial dilutions of *C. siamense* ML133 DNA: 1 ng/ μ L, 100 pg/ μ L, 10 pg/ μ L, 1 pg/ μ L, 100 fg/ μ L, 10 fg/ μ L. M: 1 kb DNA ladder (Faith Biotechnology)

Population analysis and development of a detection method for *Colletotrichum* species associated with strawberry anthracnose in Taiwan

*Pei-Che Chung¹, Hung-Yi Wu², Ting-Hsuan Hung², Chia-Ling Chung²

¹ Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, Miaoli, Taiwan, R. O. C.

² Department of Plant Pathology and Microbiology, National Taiwan University, Taipei City

* Corresponding author, E-mail: peiche@mdais.gov.tw

Abstract

In Taiwan, strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) is a high-value crop with an average annual cultivated area of ~500 ha in the last 5 years. Anthracnose has become more destructive over the past decade in Taiwan. From 2010 to 2018, we surveyed anthracnose in major strawberry cultivation areas in Taiwan, and observed that more than 50% of diseased plants showed typical anthracnose crown rot (ACR) symptoms. Multi-gene analysis and morphological characterization of 52 isolates revealed that *C. siamense*, *C. fructicola* (*C. gloeosporioides* species complex), *C. karstii*, *C. boninense* (*C. boninense* species complex) and *Colletotrichum miaoliense* sp. nov of the *C. acutatum* species complex were associated with strawberry anthracnose in Taiwan. *C. siamense* was recognized as the most dominant, fast-growing and highly virulent causative agent of strawberry anthracnose in Taiwan. Our results would help develop a comprehensive control strategy to alleviate strawberry anthracnose in the future. Because *Colletotrichum* spp. can cause latent infections, use of healthy and pathogen-free strawberry seedlings will greatly reduce the occurrence of anthracnose rot in the field and the usage

of fungicides. To produce healthy seedlings, it is important to diagnose anthracnose at the stage of latent infection. We conducted comparative genomics analysis of known *Colletotrichum* spp. genomes to search for ideal regions suitable for the design of specific primers. We developed a nested-PCR assay which can specifically detect *C. siamense* and *C. fructicola*, the predominant pathogens causing strawberry anthracnose in Taiwan, but not other pathogens and saprophytes associated with strawberry plants. It could detect as low as 100 fg genomic DNA of *C. siamense*, which corresponds to 2 cells of *C. siamense*, suggesting the high sensitivity of this new detection technique.

Key words: latent infection, healthy runner plants, nested-PCR

草莓主要蟲害之友善管理

余志儒*、許北辰

行政院農業委員會農業試驗所

* 聯繫人 E-mail: jzyu@tari.gov.tw

摘 要

有策略地運用生物天敵、植物油混方等資材，可有效且友善地管理草莓的主要蟲害。前者是在園區附近栽植天敵食餌的寄主植物與補充食物，進行天敵保育，期與蟲害之間形成高的同步性與動態平衡。後者，是以 200~300 倍植物油混方水稀釋液浸漬種苗 1 秒，去除苗植體上大部份的棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover)、二點葉蟎等 (*Tetranychus urticae* Koch) 等小體型害蟲。定植後噴佈同濃度之植物油混方防除此二種蟲；再配合懸掛黃色黏紙與土面鋪放印楝粕等，防除臺灣花薊馬 (*Frankliniella intonsa* Trybom) 與小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood)。由此可擺脫化學合成農藥的倚賴。

關鍵字：草莓主要蟲害、天敵保育、植物油混方、浸苗處理、防治策略

引 言

蟲害管理方式大致分生物、物理、化學三類，本文暫無敘述物理方法，餘二者分別是以友善植保資材的生物天敵與非化學合成資材應用為主。前者是透由田間保育，期使天敵與蟲害的發生有較高的同步性 (synchronization)，而適時抑制蟲害的猖獗；後者則以植物油混方為例，從預防、治療兩方面略作說明。由此可兼顧蟲害防治與生態保護，和生物多樣性、生態平衡、綠色保育等並行不悖。

害蟎、蚜蟲、薊馬等是目前臺灣地區草莓的主要蟲害，已記錄的害蟎有 6 種 (羅等 1984)，蚜蟲、薊馬 5 種 (黃等 2009)，其中較為普遍且嚴重者分別為二點葉蟎 (*Tetranychus urticae* Koch)、棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover)、臺灣花薊馬 (*Frankliniella intonsa* Trybom) 與小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood)。對此，妥善利用田間管理與友善植保資材，常有相輔相成的良好防治表現。但友善植保資材通常不及化學合成農藥的速效或長效，若只單純地取代，易有未竟全功的風

險。須賴細膩靈活的應用技術與策略，才能發揮預期的效果。應依據防治資材的特性、防治對象的生態與習性，再配合確實的田間監測，及時且合宜地調整防治資材、方法、強度與頻度，始能擺脫對化學合成殺蟲劑的倚賴。本文所述的天敵保育、資材及其應用策略等，僅是重點鋪陳，尚不盡週全，亟待諸方先進的不吝指正與補強。

田間天敵保育（余 2019）

生物防治的理想，是蟲害發生初期天敵就能及時出現，有高的同步性，且維持將蟲害的族群密度抑制在低而波動小的狀態下，形成動態平衡。天敵保育就是期望發揮上述功能，達到防治目的。

食物的持續存在是天敵保育的核心。包括可供天敵發育繁殖的如寄生性天敵的宿主 (host)、捕食性天敵的獵物 (prey) 等的寄主植物，或及僅補充體力與存活機會的補充食物，例如花粉、花蜜、水等。寄主植物上的宿主與獵物種類可與草莓不同（即是替代食物）。

天敵保育特區

- ◎**設置點**：栽培園區內、四週、或其他畸零地、農具間旁、庭院、水利地、農路肩、墳墓旁等，凡可利用者皆可考慮。
- ◎**面積**：不拘，小則僅容寄主植物，大則兼行棲地營造。
- ◎**數量**：至少於栽培園區上、下風處各有一個，越多當然越好。
- ◎**內容**：宿主與獵物的寄主植物為主，草莓或其蟲害種類近似且生命力強的他種植物（例如豆類）。補充食物（例如玉米，花粉誘引天敵）為輔。如面積、人力、物力許可，則可致力棲地營造（可參酌亞曼的樸門講堂 2015）。天敵保育加棲地營造，可形成生態保育。

植物油混方之應用（余與許 2019）

（一）預防－浸苗處理

可大幅清除苗株上的害蟎、蚜蟲等小體形害蟲（表一）。

處理方法及其注意事項：

1. **浸漬濃度**：植物油混方 200~300 倍水稀釋液。
2. **浸漬方式**：整株苗，連介質、育苗盤完全浸沒（圖一）。

3. **浸漬時間**：1 秒，延長時間有藥害風險 (圖二)。豐香品種浸 5 秒無藥害，但不同品種 (系) 間可能有差異，故正式處理前，應先行藥害測試。
4. **藥害測試**：取少量苗，浸漬 1~2 秒鐘，移出後靜置 48 小時以上，觀察確保無藥害反應，方可大量處理。
5. **其他**：(1) 浸苗處理須在栽培園區外進行，防活動力強的薊馬類等，因浸苗的驚擾而逃離散佈於園區。(2) 處理後必須盡快移入園區內，因植物油混方對浸漬後才來棲息的蟲無作用 (設施栽培者尤須注意)。

(二) 治療

1. 害蟎、蚜蟲

斟酌二點葉蟎、棉蚜的生活史 (余與陳，2011；何與羅，1979) 與植物油蟲的致死效果 (表二，余未發表)。應每週噴施 2 次，方可壓制，但無法完全滅除，須持續到採收完畢，或於族群量低時定期釋放天敵基徵草蛉 (*Mallada basalis* (Walker))(章與黃，1995)。

2. 薊馬

可利用噴佈 500 倍植物油混方的驚擾及其所含精油的驅避 (Picard et al., 2012)，配合懸掛黃色黏紙的誘引，產生推拉 (push-pull) 效果 (Cook et al., 2007)。再加上土面鋪放印楝粕，影響入土化蛹及羽化出土的薊馬 (Moorthy et al., 2014)，三管齊下來防治。但若有釋放天敵，則慎用黃色黏紙。

(三) 田間監測

監測時採重點式取樣，無論面積大小，皆取 5 個樣點，每點至少 5 株，以目測認為受害較嚴重者為對象。至少每週取樣 1 次，期能在蟲害立足初期 (圖三)，適時調整防治策略加以壓制。

結 語

策略地善用生物、物理、化學的友善植保資材，可有效防除草莓主要蟲害問題，效果不亞於慣行防治。利用天敵保育、浸苗處理是重點預防措施，而治療時的友善資材應用，則須整體性的策略構思。此友善管理方法，可應用於有機農法、自然農法、友善環境耕作等，使農作生產也兼顧生態。有生態的呈現，這些農法就更臻完善，讓食安、人安、環安都能夠更落實、更成熟。擺脫化學合成農藥的作物病蟲害整合管理，農試所已多有驗證且舉辦了數種作物的田間成果觀摩會，包括草莓 (表三)。

參考文獻

1. 余志儒。2019。生物防治的理想 - 天敵保育。農業世界 426: 16-21。
2. 余志儒、陳炳輝。2011。棉蚜在不同溫度下取食甜瓜之族群介量。臺灣農業研究 60: 1-10。
3. 余志儒、許北辰。2019。植物油混方防治蟲害策略之研擬。於：環境友善之植醫保健秘籍，黃振文等編著，第 12 章，235-247 頁。台中臺灣。
4. 何琦琛、羅幹成。1979。溫度對二點葉蟻 *Tetranychus urticae* 生活史及繁殖力之影響。中華農業研究 28: 261-271。
5. 章加寶、黃勝泉。1995。基徵草蛉 (*Mallada basalis* (Walker)) 防治草莓園葉蟻之效益評估。植保會刊 37: 41-58。
6. 黃勝泉、張廣焱、彭淑貞。2009。南方小黑花椿象對草莓薊馬類防治效果評估。苗栗區農業專訊 48:10-12。
7. 羅幹成、何琦琛、曾信光。1984。草莓葉蟻之生態研究。中華農業研究 33: 337-344。
8. Cook, S. M., Z. R. Khan, and J. A. Pickett. 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. Annu. Rev. Entomol. 52: 375-400.
9. Moorthy, P. N. K., S. Saroja, H. R. Ranganath, K. Shivaramu and K. A. Paripoorna. 2014. Controlled release formulation of oiled neem cake for insect pest management. Pest Manage Horticul. Ecosys. 20: 133-136.
10. Picard, I., R. G. Hollingsworth, S. Salmieri, and M. Lacroix. 2012. Repellency of essential oils to *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) as affected by type of oil and polymer release. J Econ Entomol. 105: 1238-47.

表一、植物油混方 200 倍水稀釋液浸漬四種節肢動物之致死效果

蟲別	蟲期	處理前蟲數 (隻)	處理後死亡率 (%)
棉蚜	若 + 成	33.5 ± 3.4	100
二點葉蟻	卵	23.5 ± 5.0	100
	幼 + 若 + 成	29.3 ± 6.7	100
神澤氏葉蟻	卵	12.0 ± 1.4	100
	幼 + 若 + 成	12.3 ± 1.4	100

註：浸漬 1 秒之效果。

表二、植物油混方對棉蚜、二點葉蟻之防除效果

處理	處理前蟲數 / 葉	防除率 (%)*	
		處理後 24 hr	處理後 72 hr
棉蚜 (若蟲成蟲混合)			
100 倍	47.0 ± 7.5	95.6 ± 2.2	99.8 ± 0.3
200 倍	50.7 ± 7.1	94.3 ± 2.1	99.2 ± 0.4
4000 倍	52.0 ± 6.1	32.49 ± 6.2	40.4 ± 12.9
對照 (水)	22.7 ± 3.2		
二點葉蟻 (成蟲)			
100 倍	20.7 ± 1.2	72.6 ± 2.5	76.3 ± 0.8
200 倍	22.0 ± 2.6	62.2 ± 3.8	72.8 ± 5.1
4000 倍	29.3 ± 9.3	37.9 ± 5.3	41.1 ± 12.0
對照 (水)	23.3 ± 3.0		

* : 防除率 (%) = 100 - 100 × 對照組處理前存活數 × 處理組處理後存活數 / (處理組處理前存活數 × 對照組處理後存活數)

表三、無化學合成農藥之病蟲害整合管理¹⁾ 成果觀摩會

作物 (栽培方式)	時間 (西元)	地點	面積 (ha)
草莓 (開放)	2012	南投縣國姓鄉	0.30
"	2013	南投縣國姓鄉	2.12
"	2015	苗栗縣獅潭鄉	1.70
木瓜 (設施)	2011	雲林縣林內鄉	0.25
"	2016	台中市霧峰區	0.30
"	2019	雲林縣林內鄉	1.50
小黃瓜 (設施)	2014	嘉義縣六腳鄉	0.10
"	2014	雲林縣台西鄉	0.10
蘆筍 (設施)	2016	台南市將軍區	0.45
甜瓜 (設施)	2015	雲林縣麥寮鄉	0.40
"	2017	雲林縣崙背鄉	0.25
芋頭 (開放)	2016、2018	台中市大甲區	0.40、0.40
甜椒 (設施)	2017	嘉義縣六腳鄉	0.26

¹⁾：病害與蟲害研究人員共同完成



A



B



C



D

圖一、浸苗處理：土拔苗以整把的方式浸沒 (A~C)，杯苗或穴管苗以苗盤方式浸沒 (D)



圖二、草莓苗浸苗處理時間過長後造成之藥害狀



A



B

圖三、二點葉蟻 (A)、棉蚜 (B) 有產卵、若蚜時，表示已立足

A Friendly Managemet of Strawberry Key Arthropod Pests

Jih-Zu Yu*, Pei-Chen Shu

Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Taiwan, R. O. C.

*Corresponding author, E-mail: jzyu@tari.gov.t

Abstract

The strategic application of materials such as natural enemies and Plant Oil Mixture (POM) can effectively and friendly manage the key arthropod pests of strawberry. The former is to plant host plants and supplementary food plants for natural enemies victims near the field that to be natural enemies conservation. And then a high degree of synchronization and dynamic balance between natural enemies and pests will be expected. The latter, seedlings were immersed in POM with 200-300 times water dilution for 1 second to remove most of small-sized pests such as cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover), two-spotted spider mites (*Tetranychus urticae* Koch), etc.. After planting, spray with the same concentration of POM to control above two pests; and combined with hanging yellow sticky papers and laying neem cake on soil surface for control the eastern flower thrips (*Frankliniella intonsa* (Trybom) and yellow tea thrips (*Scirtothrips dorsalis* Hood) . Thus can get rid of the reliece on chemically synthesized pesticides.

Key words: key arthropod pests of strawberry, natural enemies conservation, Plant Oil Mixture, seedling dipped, control strategy.

微生物與天敵昆蟲於草莓生物防治之應用

李怡蓓、鄭哲皓、朱盛祺*

行政院農業委員會苗栗區農業改良場

* 聯繫人 E-mail: 7124@mdais.gov.tw

摘要

草莓為一高經濟價值作物，全臺灣栽培面積約 550 公頃，苗栗縣佔全國總生產面積約 90%，由於草莓為連續採收型作物，農藥殘留風險高，食品安全備受消費者關注。草莓栽培上應用之天敵包括小黑花椿象、草蛉及捕植蟻，分別用於防治薊馬、蚜蟲及葉蟻有良好之防治效果。薊馬之防治可以草莓間植開花之綠籬植物，增加小黑花椿象 (*Orius laevigatus* Fieber) 族群數量，而將薊馬數量維持低於經濟危害水平；蚜蟲防治以普通草蛉 (*Chrysoperla carnea*) 防治效果最佳；葉蟻因繁殖速率快，世代繁衍迅速而致化學防治困難之問題，國外生物防治包括使用捕植蟻及食蟻蠅蚋 (*Feltiella occidentalis*) 進行控制，又以智利捕植蟻 (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot) 使用最多，可於高峰期先行施用化學藥劑進行控制，再進行捕植蟻之施放。草莓病害包含炭疽病、灰黴病、萎凋病，以及近年新興之病害—真菌性葉枯病、細菌性角斑病等，國外已針對這些病害推薦相關微生物製劑並進行應用研究。已經商品化並推薦使用在草莓病害的微生物種類包含 *Bacillus subtilis*、*Bacillus amyloliquefaciens*、*Gliocladium catenulatum*、*Streptomyces lydicus* 等；近幾年以草莓病害為防治對象，評估拮抗潛力的菌種以木黴菌 (*Trichoderma* spp.)、芽胞桿菌 (*Bacillus* spp.) 為主。施用方式在評估研究領域除了直接噴灑在植株體表外，亦有以揮發性微生物代謝物間接防治或與土壤介質混拌誘導植物抗病性。運用微生物與天敵昆蟲進行生物防治為永續且友善環境之方法，可藉由改變栽培模式、結合化學藥劑及物理防治進行病蟲害整合性綜合防治，達到穩定控制田間病蟲害之效益。

關鍵詞：微生物製劑、天敵昆蟲、生物防治、草莓

前 言

由於作物栽培之多樣化及新品種的引進等因素，病蟲害問題日趨嚴重，因而使用化學農藥在所難免，然而卻造成藥害、抗藥性、農藥殘留及環境污染等諸多問題，也因此引起人們對生物防治的重視，生物防治一詞首由美國學者於 1919 年提出，利用的天敵主要以捕食性及寄生性天敵為生物防治的主力，且在生態保育上扮演不可或缺的角色。適當的利用生物防治能降低化學農藥的使用量，減少環境污染，並抑制病蟲害發生，避免因害物而影響農產品的產量與品質。利用天敵防治作物病蟲害就是生物防治，此天敵泛指自然界中各種生物。目前病蟲害生物防治常用的資材，可分為天敵昆蟲、蟎類及具拮抗性的微生物。昆蟲與蟎類依其作用方式可分為寄生性天敵與捕食性天敵；微生物類通常又分為真菌類、細菌類、病毒類及線蟲類。

有關生物防治的運作，早在 1956 年已成立國際生物防治組織 (IOBC)，其主要目的係聯合全世界生物防治工作者，促進全球生物防治及綜合防治研究與推廣，其下更成立六個區域性生物防治組織，遍佈全球。在生物防治市場上，全世界有近百個生物防治公司，單就美國已有五、六十個生物防治公司在販賣天敵；在加拿大及歐洲也各有十幾家的天敵公司，法國、英國、荷蘭亦陸續成立天敵公司。(章，2011)

作物病害生物防治多以拮抗微生物進行，以其分泌拮抗物質、競爭養分與空間、寄生作物病原菌或誘發植物產生抗病性多重作用機制，抑制病原菌的侵染與繁殖，藉以達到控制與降低病害之發生。微生物製劑為生物農藥的其中一種，係指由微生物作為有效成份所產製的農藥，對於環境、人體及非標的生物無負面影響，依照微生物種類可分為細菌、真菌、病毒及原生動物等，一般由自然界分離所得，經試驗研發，商品化後可作為作物病蟲草害保護用之資材。(郭等，2018)

草莓從開花後 30~40 日開始採收，果皮薄，果肉軟(農，2005)，因此容易受到病蟲害侵襲，也不易保存。草莓重要之果實病害包含灰黴病 (*Botrytis cinerea*)、果腐病 (*Phytophthora cactorum* and *P. citrophthora*)、炭疽病 (*Colletotrichum siamense*) (Chung et. al, 2019)、及白粉病 (*Sphaerotheca macularis* f. sp. *Fragariae*, *S. humuli*)，其中炭疽病菌除可感染果實外，亦對草莓苗造成嚴重的危害而發生缺苗問題(李及呂，1994)；此外，草莓屬漿果類，為連續採收性的作物，採收期達 4 個月，採收時為防止灰黴病、白粉病等果實病菌侵染，農民均以化學農藥做為防治藥劑，使用率頻繁，時有發生農藥殘留事件，

為產業發展的隱憂；又部份草莓病害可自多種部位入侵或是感染時機難以察覺，如萎凋病從植株根部感染並經走蔓傳播，病徵出現緩慢致使農民錯過防治時機；炭疽病可從冠部、莖基部傷口入侵且具有潛伏感染的特性，農民無法精準用藥造成濫用，國內草莓病害防治急需尋找更多樣的防治手段。

草莓栽培主要害蟲有葉蟎類、斜紋夜盜蟲、薊馬類及蚜蟲類等。配合天敵捕食特性與行為，本場整合基徵草蛉、黃斑粗喙椿象、南方小黑花椿象及捕植蟎等多種天敵昆蟲，防治草莓栽培期間的害蟲，經初步田間試驗結果，害蟲發生初期或低密度時，進行釋放天敵，可有效抑制害蟲族群消長。利用多種捕食性天敵防治害蟲之技術，可彌補單一種天敵防治之不足，提高生物防治效果。(張等，2012)，隨著食安問題及環保意識興起，配合政府政策推動，有機栽培與友善耕作面積逐年增加，目前草莓栽培上非農藥資材種類仍較受限，蟲害防治多以蘇力菌、性費洛蒙、礦物油劑及少數天敵昆蟲為主，尚需加以開發以利提升田間害物防治的全面性。於小型昆蟲防治上，天敵昆蟲除了具有降低農藥施用，減少農藥殘留、避免施用礦物油劑造成葉面灼傷之情況外，其較佳的移動與搜索能力，具有減少防治死角之優勢，國外天敵昆蟲的使用多已普遍，天敵產品種類及防治成效皆可做為臺灣天敵應用與發展之參考。

一、草莓病蟲害之生物防治資材列表

行政院農業委員會為推動友善環境農業，降低化學肥料使用量及達成化學農藥十年減半政策目標，(一)補助標的：以農糧署網站 (<https://www.afa.gov.tw>) 首頁 / 農糧業務 / 土壤肥料專區 / 友善環境農業資材補助推薦名單為限。(二)生物防治資材：1. 生物農藥：由防檢局提供依據農藥管理法取得農藥許可證之「生物農藥品牌補助名單」。2. 免登記植物保護資材：由防檢局提供取得登錄字號且公告補助之「免登記植物保護資材品牌補助名單」，且應在業者指定通路購買。(三)補助基準：1. 生物防治資材依購買憑證所列金額補助 1/2。2. 生物農藥：每公頃最高補助 10,000 元。3. 免登記植物保護資材：每公頃最高補助 5,000 元。

二、國外草莓病害防治所推薦之微生物製劑商品

以美國有機草莓種植相關手冊為例 (Carroll et al., 2016)，國外已針對多種草莓病害制定推薦使用非農藥防治資材列表，並標記推薦劑量與使用時機，部份商

品名稱與有效成份可見表二。美國草莓病害推薦微生物製劑商品有效成份以 *B. subtilis*、*B. amyloliquefaciens*、*G. catenulatum*、*S. Lydicus* 為主，施用模式則是將微生物當成農藥，在病害發生前後進行週期性施灑，參考國內針對國外微生物農藥市場進行的調查報告（許，2010），上述 4 個菌種除 *B. amyloliquefaciens* 外，其他 3 種都是在 2010 年以前就已經存在的微生物製劑有效成份。國內草莓好發的主要病害，如疫病、灰黴病、白粉病、炭疽病，甚至新發生的細菌性角斑病都能從該手冊找到對應的為生物製劑商品；但也有部份病害尚無推薦商品，如萎凋病以及國內近年新發生真菌性葉枯病。

三、應用微製劑防治草莓病害之應用

(1) 草莓灰黴病菌 (*Bortrytis cinerea*) 可藉由空氣與雨水傳播，好發於低溫多濕季節，草莓採收期 12 月至隔年 4 月，若遇連續降雨，危害甚鉅（李，2005），灰黴病菌到處皆有散佈，三月春雨季節若陰雨綿綿不斷，則當季發生嚴重度極高。田間的病組織成為二次感染源，短時間形成大量分生孢子，藉由風與雨水散播。另外，栽植過密、偏施氮肥、植株生長旺盛、光照不足、排水不良等，均適於本病害發生（李，2005）。已取得生物農藥登記證，正式推薦於草莓果實灰黴病防治有 3 項產品（表一），可供農民選擇；然而，掌握用藥時機對草莓灰黴病的防治效果具有關鍵的影響，當萼片變紫色且鏡檢確定有灰黴病菌產孢構造時即需開始施藥，早期防治效果較佳，但若於連日陰雨高濕時可採預防性噴藥，此結果於國外同樣被驗證，*B. licheniformis* N1 對於灰黴病菌之抑制效果以預防為佳，故宜在灰黴病菌感染之前先行噴施保護（Kim et al., 2007）。灰黴病能感染危害草莓植株多個部位，其中以感染果實造成產量直接損失傷害最大，如何以微生物應用在採收期間減少灰黴病危害成為草莓灰黴病防治的熱門研究主題。中國嘗試以 *Sporidiobolus pararoseus* (Shen et al., 2019) 和 *Lactobacillus plantarum* (Chen et al., 2020) 為防治菌株，施用在採收後的草莓表面進行保護，這兩種微生物能在室溫及冷藏環境下順利建立族群，進而減少灰黴病的入侵感染。墨西哥則有研究是將草莓組培苗以 *Bacillus methylotrophicus* 進行處理 (Vicente-Hernández et al., 2019)，發現 *B. methylotrophicus* 可藉由揮發性分泌物或活菌直接刺激，造成組培苗胼胝質 (callose) 大量累積，藉此抵禦灰黴病菌入侵（圖一），此外，*B. methylotrophicus* 還能刺激組培苗根系發育，使植株更加健壯。

(2) 草莓炭疽病菌 (*Colletotrichum* sp.) 能感染果實、走蔓、植株冠部等部

位，走蔓感染傳播導致帶病母株垂直傳播病害給走蔓苗，若感染植株冠部則使植株枯萎死亡，且因具有潛伏感染的特性，造成化學防治時機難以掌握，因此部份國家嘗試以微生物進行長期保護。伊朗以 *Stenotrophomonas maltophilia* 作為防治菌種 (Zahra et al., 2020)，該菌株能產生多種分解酵素抑制炭疽病菌生長，且具有固氮、溶磷、分泌生長激素等促進植株發育的能力。摩洛哥除了將 *T. harzianum*、*B. amyloliquefaciens* 施用在植株表面防治炭疽病獲得不錯的成果外 (圖二) (Es-Soufi et al., 2020)，更測試這兩種微生物分別與栽培介質混合的防治效果，結果處理的田區植株發病數量就遠低於傳統化學防治，不但減少成本、降低病害侵襲、還能促進植株生長發育。

(3) 草莓萎凋病由病原菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* 所引起，經由草莓根部感染植株，嚴重堵塞基部維管束，導致植株生長不良最終死亡。該病原菌在土壤中能殘存許久，化學藥劑與其他物理 (如淹水、翻土曝曬) 防治效果不佳，因此國外研究開始以微生物保護植物根部的方式尋求對萎凋病及其他草莓根部病害的防治。將有益微生物與有機肥料混合施用為當前研究草莓土壤病害防治的主流趨勢，*Trichoderma viride*、*Trichoderma virinis*、*Trichoderma koningii*、*Trichoderma harzianum* 在埃及被報導具有抑制多種草莓土壤病害的功效 (Abd-El-Kareem et al., 2019)，這些菌株能刺激植物防禦反應同時分泌亢生物質減少土壤的其他病原菌，而四種 *Trichoderma* spp. 同時與栽培介質混合後的防治效果更好且能有效增加產量 (表三)，同時具有生物肥料與土壤殺菌劑的潛力。從健康草莓根系分離出的微生物有可能也有發展潛力，*Bacillus licheniformis* 以及 *B. methylotrophicus* 在中國研究發現能攻擊萎凋病菌的菌絲 (圖三)，與有機肥料共同施用後不但減少土壤萎凋病菌族群數量，還能提昇根圈微生物族群多樣性 (Chen et al., 2020)，顯示微生物抑制病害的方式除了分泌物抑制、刺激植物防禦系統、還可能藉由增進生物多樣性來減少病菌佔據空間與養分。

(4) 國內新興病害—真菌性葉枯病 (Leaf Blight) 相關報導的病原菌為 *Neopestalotiopsis rosae*，該病原菌尚未找到在草莓上的微生物防治文獻。在印度，同樣名稱的病害由 *Neopestalotiopsis clavisporea* 所引起，他們嘗試以 *Trichoderma asperellum* 來作為拮抗菌 (Amrutha et al., 2018)，研究結果顯示若能在病原菌感染前先讓 *T. asperellum* 佔據植株表面，微生物防治效果將和感染後才施用化學藥劑的抑制能力相當。

四、應用捕植蟎捕食草莓二點葉蟎之生物防治技術

二點葉蟎 (*Tetranychus urticae* Koch) 危害為世界性問題，其寄主範圍甚廣，許多野生植物及田間雜草都可能成為感染之媒介，族群數量高時，直接影響植物的光合與蒸散作用，而使果實產量與品質降低 (Sances *et al.*, 1982)，又其繁殖能力高，世代重疊且交替快速，容易對化學藥劑產生抗藥性，導致化學防治成效不彰。二點葉蟎發生常與草莓之生育期相配合，即在開花結果期普遍發生，均在葉背危害，一般先在較老之葉片出現，葉片被害之後，從葉表上可見灰白色斑點，葉背可見各生長期之葉蟎個體危害，常導致葉片呈現灰白枯乾狀，葉片邊緣向下微曲，嚴重者，葉片快速枯乾，甚至整株枯死。

捕植蟎為捕食性的蟎類，一般具有較長的腳、行動敏銳，捕食的對象包含小型節肢動物及其卵、線蟲等，其中最重要的種類為捕植蟎科 (*Phytoseiidae*)。捕植蟎科屬中氣門目，目前種類約有一千二百種，大多數的種類為肉食性，其中約有十餘種為重要的生物防治天敵。

臺灣利用捕植蟎防治草莓害蟎，有羅等 (1981) 釋放溫室捕植蟎防治草莓神澤氏葉蟎及二點葉蟎，每株草莓放 10 ~ 20 隻溫室捕植蟎，經 35 天後防治率可達 98 %。隨後於 1987 年再於草莓園釋放智利捕植蟎與法拉斯捕植蟎，每分地全栽種期共釋放 30-50 萬隻，防治效果良好。施等 (2004) 釋放溫氏捕植蟎防治草莓二點葉蟎，可維持 30 天防治效果，再以少量補充釋放方式防止再次入侵之葉蟎族群，可完全免用化學藥劑，且提高產量約 1.5~2.5 倍，果實大小增加 1~2 級，產品無農藥殘毒之慮。在澳洲，溫氏捕植蟎 (*Neoseiulus wornerleyi* Schicha) 具有於葉蟎感染初期即能夠於田區建立族群之優勢 (Waite, 1988)，北美、西班牙及英國分別以法拉斯捕植蟎 (*Neoseiulus fallacis*) 及加州捕植蟎 (*Neoseiulus californicus*) 最為常見。然而天敵產品最多且防治效果最成功的是智利捕植蟎 (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot)，配合適當施用時機與施放次數，於設施或開放田區皆有良好的防治效果，若葉蟎族群太高宜先施用殺蟎劑再施放智利捕植蟎，另外，在部份冬季較為寒冷的地區，像是英國，由於智利捕植蟎無法在冬季存活，故需要在每一個栽培期施放 (Easterbrook, 1992)。

五、應用南方小黑花椿象捕食草莓薊馬之生物防治技術

臺灣花薊馬 (*Frankliniella intonsa* (Trybom)) 於 2 月下旬至 4 月為發生高峰期，若蟲呈白色或乳黃色，成蟲具翅，褐色或黑褐色，遷移迅速，繁殖力高。在草莓，成蟲與若蟲棲息於未展開之心葉，以銼吸式口器銼食葉肉，被害心葉捲縮無法完全開展，葉面皺縮，沿著葉脈形成黑色條斑；幼果及走莖亦會受害，受害果面呈焦枯狀，失去商品價值。

小黑花椿象 (*Orius* spp.) 屬半翅目 (Hemiptera) 花椿象科 (Anthocoridae)，可捕食薊馬、粉蟲、蚜蟲、葉蟎等小型昆蟲以及蛾類、甲蟲或其它昆蟲的卵，臺灣在田間害蟲防治以南方小黑花椿象 (*Orius strigicollis* (Poppius)) 具有較高潛力。南方小黑花椿象若蟲的捕食能力隨體型增長而增強，捕食量也逐漸增加，若蟲期間可捕食薊馬或葉蟎 100 ~ 150 隻。成蟲捕食量更超過若蟲，加上若蟲期的捕食量，一生可捕食薊馬 200 ~ 300 隻，或葉蟎 500 ~ 600 隻。小黑花椿象食量大，生育繁殖快，若蟲及成蟲均能捕食薊馬或其他小型昆蟲，因此本場於 2006 年自農業試驗所技轉南方小黑花椿象，經過飼養研究與試驗，目前已經建立大量繁殖技術。

南方小黑花椿釋放方法為草莓薊馬發生時，連同包裝內可腐化填充物質，均勻散佈於植株上。釋放剛孵化的若蟲，經 7-10 天釋放第二批，以助其在田間建立穩定的族群。一般草莓園施放數量，視植株大小及害蟲密度而定。若尚未有害蟲發生預先釋放，會使小黑花椿象為了找尋食物四處遊走，數日後即消失。若害蟲密度過高才施放，害蟲繁殖速度大於小黑花椿捕食量，則無法有效抑制害蟲危害。國外應用在薊馬防治的天敵研究以小黑花椿象 (*Orius laevigatus* Fieber) 及巴氏小新綫蟎 (*Neoseiulus barkeri* Hughes) 兩種捕食性天敵防治臺灣花薊馬 (*Frankliniella intonsa* Trybom) 較多。*O. laevigatus* 於歐洲甚為常見，可透過地中海螟蛾 (*Ephestia kuehniella* Zeller) 卵量產 (Van Lenteren and Loomans, 1998)，並有學者將蠶豆栽培於草莓周圍，發現於蠶豆周圍的草莓花朵有較多的 *O. laevigatus*，因此能將此區域草莓上薊馬族群抑制於經濟危害水平之下 (Gonzalez-Zamora et al., 1994)。巴氏小新綫蟎為西班牙草莓田間常見的捕食性天敵，能夠利用腐蝕酪蟎 (*Tyrophagus putrescentiae* Schrank) 進行量產，亦可以花粉做為替代食餌飼養 (Solomon et al, 2001)。

六、應用基徵草蛉捕食草莓蚜蟲之生物防治技術

危害草莓的蚜蟲種類甚多，不同地區與環境好發的種類有所不同。草莓蚜蟲 (*Aphid ichigocola*) 之成蟲與若蟲均喜棲習於嫩芽或葉背吸食汁液，並分泌蜜露誘發煤病，被害嚴重葉片變黑皺縮，生育受阻，草莓蚜蟲同時也是傳播 strawberry mild yellow edge virus (SMYEV) 與 strawberry crinkle virus (SCV) 之媒介昆蟲。冬蔥瘤蚜 (*Myzus ascalonicus* Doncaster) 在冬季溫度較高時會產生地區性危害，受害之草莓植株容易有發育遲緩及葉片捲曲之情況 (Solomon et al, 2001)。棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover) 於溫暖氣候條件下，草莓亦為其寄主植物，常見於設施栽培之田區 (Solomon et al, 2001)。國外報告指出捕食蚜蟲之天敵種類包括七星瓢蟲 (*Coccinella septempunctata* Linnaeus)、食蚜絨蟻 (*Allothrombium* spp.)、小黑花椿象 (*Orius niger* WolV) 及草蛉 (*Chrysoperla* spp.)，其中又以普通草蛉 (*Chrysoperla carnea*) 對於草莓蚜蟲 (*Chaetosiphon fragaefolii* Cockerell) 與 *M. ascalonicus* 防治效果最佳，即便於開放田區也有助於抑制兩種蚜蟲族群於低密度狀態 (Solomon et al, 2001)。

基徵草蛉 (*Mallada basalis* Walker) 屬於脈翅目 (*Neuroptera*) 草蛉科 (*Chrysopidae*)，已記載約 90 屬 1400 種，所有捕食性草蛉均只在幼蟲期才能捕食害蟲。草蛉能捕食葉蟎類、蚜蟲類、粉蝨類、介殼蟲類、木蝨類，以及多種鱗翅目及鞘翅目昆蟲之初齡幼蟲及卵等，是種多功能的天敵昆蟲。

防治草莓葉蟎或蚜蟲時以草蛉幼蟲直接釋放，每分地釋放 20,000 隻，每株草莓釋放幼蟲 5 隻，釋放時應先摘除老葉後再釋放天敵，每葉有一隻葉蟎時為最佳釋放時機，並在天氣良好無露水時釋放，夏季以下午 3 點以後，冬季則在早上 9 點以後釋放為佳。由於害蟲密度分佈不均，所以應時常注意田間害蟲發生情形，機動調配投放量，並隨時檢視害蟲蟎密度，以補充天敵。章、黃 (1995) 針對釋放基徵草蛉防治草莓園葉蟎之效益進行評估，結果顯示釋放草蛉後，對神澤氏葉蟎及二點葉蟎防治率為 50 ~ 90%，釋放草蛉區之示範田由於不施藥或低頻率施藥，授粉昆蟲如蜜蜂等族群較高，使草莓畸型果率降低 6.1%，一級果率提高 7.7%，增產率 15%，每次每公頃至少可降低防治成本 6,100 元。

七、應用黃斑粗喙椿象捕食草莓斜紋夜盜蟲之生物防治技術

斜紋夜盜蟲 (*Spodoptera litura* Fabricius) 屬鱗翅目、夜蛾科，俗稱黑肚蟲、

黑蟲或行軍蟲。一年可發生 8 ~ 11 世代，成蟲之體及翅全身均呈黑褐色，成蟲翅中央有一條寬長灰白斜帶，有趨光性。雌蟲產卵於葉背，一百至數百粒成一卵塊，幼蟲群集啃食葉背葉肉，3 齡以後分散，日間潛伏於土中或枯葉中，黃昏後自葉緣蠶食全葉，嚴重時只留葉柄及葉脈。老熟後潛入土中作土窩化蛹，該蟲食性雜，一般農作物都會受害，草莓亦不例外。

黃斑粗喙椿象 (*Eocanthecona furcellata* (Wolff)) 屬於半翅目，椿象科，因以臭氣來驅逐敵人而被稱為臭屁蟲。在 25~30 °C 約 20~25 天完成一個生活史，全年約可繁殖 5 ~ 6 世代，主要以多種鱗翅目幼蟲為食且捕食能力強，常見的捕食對象如紋白蝶、斜紋夜盜、甜菜夜蛾、小菜蛾，為臺灣果蔬作物常見捕食性天敵。本場利用代用食餌及改良飼育方式，已建立大量繁殖技術，提供田間生物防治所需的大量蟲源。

草莓園釋放黃斑粗喙椿象方法，每棵草莓上若有五隻斜紋夜盜蟲危害時為最佳釋放時機，可釋放 1 ~ 2 隻三齡以上椿象，並在天氣良好無露水時釋放，冬季在早上 9 點以後釋放為佳。隨時檢視害蟲密度，以補充天敵。

結 語

化學農藥對環境之污染、對非標的生物之傷害、生態平衡之破壞等副作用已成為全球農業發展必須面對的問題。生物農藥具有低殘留、對非標的生物低毒性、環境友善等優點，不論是站在降低對化學農藥之依賴性或在有害生物綜合管理 (IPM) 的策略應用上，生物農藥均提供另外一種安全、經濟且有效的選擇。在作物害蟲管理上，天敵昆蟲扮演舉足輕重角色，然而全面推動生物防治尚需突破許多障礙及困難，除了目前已推廣並略有成效之天敵昆蟲外，今後更應加強建立生物防治理念，並將研究與應用的結合，同時尋找提高天敵防治效果之方法。像是在田間設置天敵之食餌、寄主或花粉、花蜜等食物，或提供天敵之棲所，同時配合運用其他防治技術以提高防治成效。研究發展天敵貯存、天敵商品運輸、天敵商品管理及如何發展有效又具經濟利益之天敵大量繁殖技術等。藉由建立健康管理之觀念，於病蟲害未發生前事先預防及配合生物防治技術的應用，大幅減少化學藥劑之濫用，同時力行草莓生產履歷制度，生產優質安全草莓，提供消費者使用，消弭以往草莓多農藥之舊印象，提昇草莓產業之形象。

為減少農作物的化學農藥殘留、避免濫用農藥破壞生態環境，具有環境友善及低殘留風險特性的微生物製劑已成為世界各國研發及應用上所重視的焦點。臺

灣氣候炎熱潮濕適合草莓病害滋生危害，且政府推動「農藥十年減半」政策，對微生物製劑亦有強烈的需求。本回顧介紹國內草莓病害—灰黴病、炭疽病、萎凋病、葉枯病、細菌性角斑病在國外進行的研究與推薦的商品化微生物製劑。國外商品化微生物製劑目前沒有出現新的菌種，研究以 *Trichoderma* 屬、*Bacillus* 屬為大宗，研究目的除了評估這些菌株的防治效果，也有探討不同施用方式的效果差異以及菌株施用對草莓果實植株的影響，希望尋找能同時減少病害並增進草莓植株的健康微生物，值得國內微生物製劑研發參考。

國外天敵昆蟲使用多已普遍，天敵物種選擇多，得以因應田間多種害蟲。草莓栽培以薊馬、蚜蟲及葉蟻為主要害蟲，其中，薊馬之防治可以草莓間植開花之綠籬植物，增加小黑花椿象族群數量，藉此抑制薊馬族群；蚜蟲防治以普通草蛉 (*Chrysoperla carnea*) 為首選；葉蟻因繁殖速率快，世代繁衍迅速而造成化學防治困難，國外使用捕植蟻及食蟻蠅蚋 (*Feltiella occidentalis*) 進行控制，以智利捕植蟻 (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot) 使用最多，可於高峰期先行施用化學藥劑進行控制，再施放捕植蟻防治。國內市場上亦有小黑花椿象及草蛉之天敵產品，應用於薊馬及蚜蟲之防治，葉蟻之非農藥防治則多以礦物油劑或施放草蛉進行控制，惟於栽培後期仍有防治上困難，尚有待其他資材投入。運用天敵進行田間防治為一永續且友善環境之方法，並可藉由改變栽培模式、結合化學藥劑及物理防治進行病蟲害綜合防治，達到穩定控制田間蟲害之效益。

參考文獻

1. 李昱輝、呂理燦。1994。臺灣草莓炭疽病。植病會刊 3：256-257。
2. 許嘉伊。2010。全球生物農藥產業概況與未來展望。農業生技產業季刊 24:1-7。
3. 郭建志、林煜恒、廖君達、羅佩昕。2018。芽孢桿菌製劑導入有機與友善病害管理之研究。有機及友善環境耕作研討會論文輯。P.141-154。
4. 章加寶。2011。天敵在有機農業害蟲防治上的利用。農業生技產業季刊。第 28 期。p.41-47。
5. 章加寶、黃勝泉。1995。基徵草蛉 (*Mallada basalis* (Walker)) 防治草莓園葉蟻之效益評估。植保會刊 37: 41-58。
6. 黃勝泉、張廣焱、彭淑貞。2009。南方小黑花椿象對草莓薊馬類防治效果評估。苗栗區農業專訊 48:10-12。
7. 鄭志文、李吉峰、吳岱融、盧美君、林盈宏、朱盛祺。2017。開發生物農藥液化澱粉芽孢桿菌 ML15-4 防治草莓灰黴病。苗栗區農業改良場研究彙報。第 5 期。P51 – 67。
8. 農委會臺灣農家要覽增修訂三版策劃委員會。2005。臺灣農家要覽增修訂三版-農作篇(二)。575-580。
9. Chung P. C., Wu H. Y., Ariyawansa H. A., Tzean S. S. and Chung C. L., 2019. First Report of Anthracnose Crown Rot of Strawberry Caused by *Colletotrichum siamense* in Taiwan, Article in Plant Disease.
10. Kim, Ju, H., Lee, S.H., Kim, C.S., Lim, E.K., C, K.H., Kong, H.G., Kim, D.W., Lee, S.W., and Moon, B.J. 2007. Biological control of strawberry bray mold caused by *Botrytis cinerea* using *Bacillus licheniformis* N1 formulation. J. Microbiol. Biotechnol. 17:438-444.
11. Abd-El-Kareem, F., Elshahawy, I.E. and Abd-Elgawad, M.M.M. 2019. Local *Trichoderma* strains as a control strategy of complex black root rot disease of strawberry in Egypt. Bulletin of the National Research Centre. 43: 160-167. DOI: 10.1186/s42269-019-0206-7.
12. Atakan, E. (2008) Thrips (Thysanoptera) species and thrips damage associated with strawberry in Adana and Mersin provinces, Turkey. *Turkiye Entomoloji Dergisi* 32, 91-101.

13. Vicente-Hernández, A., Salgado-Garciglia, R., Valencia-Cantero, E. et al. 2019. *Bacillus methylotrophicus* M4-96 Stimulates the Growth of Strawberry (*Fragaria × ananassa* ‘Aromas’) Plants In Vitro and Slows *Botrytis cinerea* Infection by Two Different Methods of Interaction. *Journal of Plant Growth Regulation*. 38: 765–777. DOI: 10.1007/s00344-018-9888-6.
14. Amrutha P, Vijayaraghavan R. 2018. Evaluation of Fungicides and Biocontrol Agents against *Neopestalotiopsis clavispora* Causing Leaf Blight of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7(8): 622-628. DOI: 10.20546/ijcmas.2018.708.067.
15. Chen, C., Cao, Z., Li, J., Tao, C., Feng, Y. and Han, Y.. 2020. A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Biological Control*. 148: 1-10. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104306.
16. Chen Y, Xu YP, Zhou T, Akkaya MS, Wang LL, Li SY and Li XY. 2020. Biocontrol of *Fusarium* wilt disease in strawberries using bioorganic fertilizer fortified with *Bacillus licheniformis* X-1 and *Bacillus methylotrophicus* Z-1. *3 Biotech*. 10: 80. DOI: 10.1007/s13205-020-2060 -6.
17. Es-Soufi, R. , Tahiri, H. , Azaroual, L. , El Oualkadi, A. , Martin, P. , Badoc, A. and Lamarti, A. 2020. Biocontrol Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* Bc2 and *Trichoderma harzianum* TR against Strawberry Anthracnose under Laboratory and Field Conditions. *Agricultural Sciences*, 11, 260-277. doi: 10.4236/as.2020.113017.
18. Shen, H., Wei, Y., Wang, X., Xu, C. and Shao, X.. 2019. The marine yeast *Sporidiobolus pararoseus* ZMY-1 has antagonistic against *Botrytis cinerea* in vitro and in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 150: 1–8. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2018.12.009.
19. Carroll J, Pritts M and Heidenreich C. 2016. 2016 Organic Production and IPM Guide for Strawberries. New York. New York State Integrated Pest Management Program.
20. Alijani Z., Amini J., Ashengroph M., and Bahramnejad B.. 2020. Volatile compounds mediated effects of *Stenotrophomonas maltophilia* strain

- UN1512 in plant growth promotion and its potential for the biocontrol of *Colletotrichum nymphaeae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Vol. 112. DOI: 10.1016/j.pmpp.2020.101555.
21. Easterbrook, M.A. (1992) The possibilities for control of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on eld-grown strawberries in the UK by predatory mites. *Biocontrol Science and Technology*, p235- 245.
 22. Gonzalez-Zamora, J.E., Garcia-Mari, F., Benages, E. & Royo, S. (1992) Control biologico del thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en freson. *Boletin de Sanidad Vegetal, Plagas*, p265-288.
 23. Niemczyk, E. (1978) Food requirement, searching abilities and role of *Orius minutus* L. (*Heteroptera, Anthocoridae*) in controlling the two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch. *Polskie Pismo Entomologiczne*, p445-451.
 24. Opit, G.P., Roitberg, B. & Gillespie, D.R. (1997) The functional response and prey preference of *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae) for two of its prey: male and female twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: *Tetranychidae*). *The Canadian Entomologist*, p221- 227.
 25. Rondon, S.I., Cantliffe, D.J. (2005) Biology and Control of the Strawberry Aphid, *Chaetosiphon fragaefolii* (Cockerell) (Homoptera: Aphididae) in Florida. IFAS UF. Florida: USA, HS1009
 26. Sances, F.V., Toscano, N.C., Lapre, L.F., Oatman, E.R. & Johnson, M.W. (1982) Spider mites can reduce strawberry yields. *California Agriculture*, p15-16
 27. Solomon M. G., Jay C. N., Innocenzi P. J., Fitzgerald J. D., Crook D., Crook A. M., Easterbrook M. A., Cross J. V. (2001) Review: Natural Enemies and Biocontrol of Pests of Strawberry in Northern and Central Europe. *Biocontrol Science and Technology*, p167-193
 28. Tommasini, M.G. & Maini, S. (1995) *Frankliniella occidentalis* and other thrips harmful to vegetable and ornamental crops in Europe. Wageningen Agricultural University Papers, p1- 42.
 29. Van Lenteren, J.C. & Loomans, A.J.M. (1998) Is there a natural enemy good enough for biological control of thrips? *Proceedings of the 1998 Brighton Conference*, p401- 408.

30. Waite, G.K. (1988) Integrated control of *Tetranychus urticae* in strawberries in south-east Queensland. *Experimental and Applied Acarology*, p23-32.

表一、可用於草莓病蟲害之生物防治資材品牌補助名單一覽表

Tab 1. List of subsidies for brands of biological control materials that can be used for strawberry pests and diseases

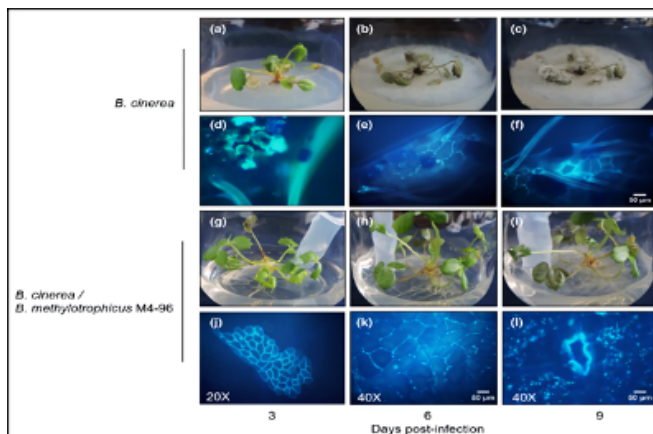
商品名 Trade Name	有效成份與含量 Active ingredient and content	劑型 Formulation	農藥許可證 字號 NO. of registration license	使用範圍 Usage range	業者名稱 Manufacturer
見達利	蘇力菌 48.100 (%)	WG 水分散性 粒劑	農藥進字 第 01543 號	小葉菜類、蔥、菠菜、胡蘿蔔、草莓、菊、野薑、蓮一夜蛾類	臺灣住友化學股份有限公司
義定勇	蓋棘木黴菌 ICC080/012 1×10 ⁷ CFU/g	WP 可溼性粉劑	農藥進字 第 03198 號	菊科（包葉菜類、小葉菜類、根菜類）、茄科（小葉菜類、根菜類、果菜類）、蔥科（小葉菜類、根菜類）、葫蘆科小葉菜類、香椿、甜菜、薑、芋、甜椒、金針、瓜菜類、果菜類、草莓、黃耆、當歸、丹參、地黃—疫病	易利特開發有限公司
綠寶 克蟲	苦參鹼 6.000 (%)	SL 溶液	農藥製字 第 05971 號	1. 蔬菜—鱗翅目、蚜蟲類 2. 竹、草莓—蚜蟲類	綠寶生物科技股份有限公司
神真水 3 號	液化澱粉芽孢桿菌 CL3 1×10 ⁸ CFU/mL	SC 水懸劑	農藥製字 第 06299 號	蔬菜、草莓、花木—灰黴病	興農股份有限公司
台肥 農眾賀	液化澱粉芽孢桿菌 Ba-BPD1 1×10 ⁹ CFU/mL	SC 水懸劑	農藥製字 第 06345 號	蔬菜、草莓、花木—灰黴病	臺灣肥料股份有限公司
強強菌	貝萊斯芽孢桿菌 BF 1×10 ⁹ CFU/g	WP 可溼性粉劑	農藥製字 第 06618 號	1. 水稻 - 白葉枯病 2. 油菜 - 黑腐病 3. 十字花科 (包菜類、小葉菜類、根菜類) - 黑腐病 4. 草莓 - 灰黴病 5. 椪果 - 細菌性黑斑病 6. 柿 - 灰黴病	亞亮生技股份有限公司

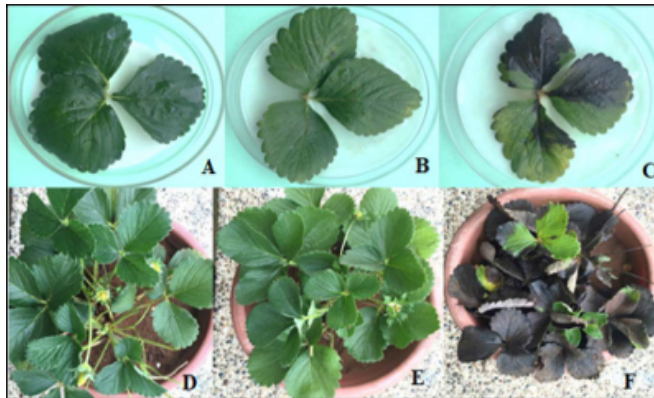
備註：上網日期：109 年 9 月 28 日

表二、美國草莓病害防治推薦微生物商品列表

Tab 2. The recommend biological control products for strawberry disease in America

病害名 (病原菌) Disease (pathogen name)	商品名 Commodity name	有效成份菌種 Active ingredients
白粉病 (<i>Podosphaera aphanis</i>)	Actinovate AG	<i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108
	Double Nickel 55	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> str D747
灰黴病 (<i>Botrytis cinerea</i>)	Prestop	<i>Gliocladium catenulatum</i>
	Optiva	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713
	Actinovate AG	<i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108
	Double Nickel 55	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> D747
疫病 (<i>Phytophthora cactorum</i>)	BIO-TAM	<i>Trichoderma asperellum</i> <i>Trichoderma gamsii</i>
	RootShield PLUS+ WP	<i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma virens</i>
	Actinovate AG	<i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108
	Double Nickel 55	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> D747
炭疽病 (<i>Colletotrichum acutatum</i>)	Serenade ASO	<i>Bacillus subtilis</i>
	Actinovate AG	<i>Streptomyces lydicus</i> WYEC 108
	Double Nickel 55	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> D747
細菌性角斑病 (<i>Xanthomonas fragariae</i>)	Double Nickel 55	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> D747

圖一、草莓組培苗以 *B. methylotrophicus* M4-96 揮發物處理 (下)，累積胼氈質進而減緩灰黴病菌 *B. cinerea* 感染Fig. 1. Slowing of *B. cinerea* infection in strawberry leaves by increasing callose deposition induced by volatiles from *B. methylotrophicus* M4-96



圖二、以 *B. amyloliquefaciens* Bc2 和 *T. harzianum* 拮抗炭疽病菌 *C. acutatum* 之離葉試驗 (上) 與盆栽試驗 (下), (A, D) 以 *B. amyloliquefaciens* Bc2 處理; (B, E) 以 *T. harzianum* 處理; (C, F) 以無菌水處理 (對照組)

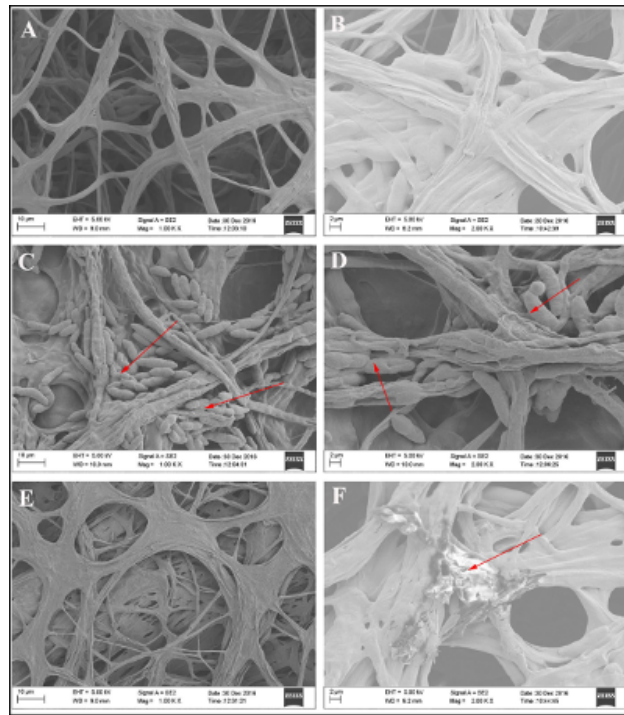
Fig. 2. Inhibition test in vitro (A, B, C) and vivo (D, E, F). (A, D) Inoculation of *C. acutatum* Ca6 and antagonist *B. amyloliquefaciens* Bc2. (B, E) Inoculation of *C. acutatum* Ca6 and antagonist *T. harzianum*. (C, F) Inoculation of Ca6 and distilled water (control)

表三 . 四種 *Trichoderma* spp. 對於田間草莓根部病害的抑制效果

Table 3. Effect of four *Trichoderma* spp. on black root rot disease of strawberry plants under field conditions. (Abd-El-Kareem et al., 2019)

Treatment	Black root rot disease			
	Disease incidence	Reduction, %	Disease severity	Reduction, %
<i>Trichoderma harzianum</i>	14.0c	70.8	10.0d	80.8
<i>T. viride</i>	12.0c	75.0	10.0d	80.8
<i>T. viridis</i>	21.0b	56.3	20.4b	60.8
<i>T. koningii</i>	14.0c	70.8	13.5c	74.0
<i>T. mixture</i> (<i>T. h.</i> + <i>T. v.</i> + <i>T. v.</i> + <i>T. k.</i>)	8.0d	83.3	6.0e	88.5
Actamyl 3 g/l (fungicide)	12.0c	75.0	13.0c	75.0
Control	48.0a	0.0	52.0a	0.0

Figures in a column with the same letter are not significantly ($P \leq 0.05$) different



圖三、拮抗細菌與萎凋病菌在 PDA 上的交互作用，以電子顯微鏡分別放大 1000 倍 (左) 與 2000 倍 (右) 之影像。(A, B) 對照組；(C, D) *B. licheniformis* X-1 圍繞在萎凋病菌菌絲周圍；(E, F) *B. methylotrophicus* Z-1 攻擊萎凋病菌菌絲

Fig. 3. SEM micrographs of antagonistic bacteria interacting with hyphae of Fof on PDA medium. A, C, E Magnification: 1000ification: 10000001000ng with hyphth *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* (Fof) hyphae alone; C, D Fof hyphae treated with strain X-1 (red arrows show Fof hyphae surrounded by X-1); E, F Fof hyphae treated with strain Z-1 (red arrows indicate Fof hyphae damaged by Z-1)



圖四、受葉蟎嚴重危害草莓葉片表面呈現白色斑點

Fig.4. Spider mite damage appears as a stippling, scarring and bronzing of strawberry leaves



圖五、智利捕植蟎 (*Phytoseiulus persimilis* Athias-. Henriot) 捕食二點葉蟎 (<https://www.koppertus.com/spidex-boost/>)

Fig.5. Predatory mite (*Phytoseiulus persimilis* Athias-. Henriot) preys on two spot spider mite (*Tetranychus urticae* Koch)



圖六、(a) 薊馬藏匿於草莓花器中 (b) 草莓成熟果實受薊馬危害狀 (Atakan, 2008)

Fig.6. (a) Thrip (*Frankliniella occidentalis* Pergande) in strawberry flower and (b) ripe strawberry fruit (signs of harm)



圖七、小黑花椿象 (*Orius laevigatus* Fieber) 捕食薊馬 (<http://bioaccio.com/es/productes/depredador-orius-laevigatus/>)

Fig.7. *Orius laevigatus* Fieber preys on thrip



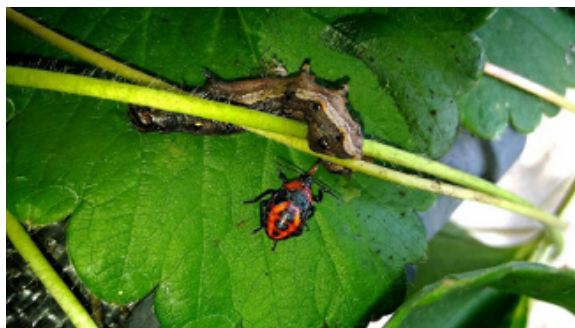
圖八、設施栽培的草莓受蚜蟲嚴重危害 (Rondon and Cantliffe ,2005)

Fig.8. Strawberry grown under protected cultivation heavily infested with aphids



圖九、草蛉用於防治蚜蟲

Fig.9. Lacewing is used for controlling aphid



圖十、黃斑粗椿象捕食斜紋夜盜蛾

Fig.10. Stingbug (*Eocanthecona furcellata* Wolff) preys on carterpillar (*Spodoptera litura* Fabricius)

Application of Microbial Agents and Natural Enemy Insects in Strawberry Biological Control

Yi-Pei Li, Che-hao Cheng, Sheng-Chi Chu *

Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture,
Executive Yuan, Miaoli, Taiwan, R. O. C.

*Corresponding author, E-mail: 7124@mdais.gov.tw

Abstract

Strawberry is a high economic value crop. The cultivated area in Taiwan is about 550 hectares. Miaoli County accounts for about 90% of the country's total production area. Since strawberry is a continuous harvest crop, that has a high risk of pesticide residues, food safety has become a major concern for consumers. Natural enemies used in strawberry cultivation include small black flower stink bugs, lacewings, and planting mites, which have good control effects on thrips, aphids, and spider mites, respectively. For thrips control, flowering hedge plants can be planted between strawberries to increase the number of small black flower stink bugs (*Orius laevigatus* Fieber) and keep the number of thrips below the economic injury level. For aphids control, common green lacewing (*Chrysoperla carnea*) can have the best control effect. For Spider mite control, phytoseiid mite and mite-eating gnats (*Feltiella occidentalis*) are common in foreign biological because of the limited effect of chemical control resulted from the high reproduction rate. In particular, *Persimilis* (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot) is the most common one, which can be used after the chemical agents in the peak period. Strawberry diseases include anthracnose, gray mold, wilt, as well as recent emerging diseases-fungal leaf blight and bacterial angular leaf spot. The microbiological preparations and disease prevention for these strawberry diseases have been studied abroad. The microbial species that have been commercialized and recommended for

use in strawberry diseases include *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Gliocladium catenulatum*, *Streptomyces lydicus*, etc.; in recent years, strawberry diseases have been used as the object of prevention and control, and the antagonistic potential strains are mainly *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp.. In addition to directly spraying them on the surface of plants, the indirect control is also used in evaluation research, such as using the volatile microbial metabolites or soil medium mixing to induce plant disease resistance. Biological control combining microorganisms and natural enemy insects is a sustainable and environmentally friendly method for controlling the field diseases and insect pests, which can be applied by manipulating the cultivation mode, chemical agents, and physical control for integrated comprehensive prevention and control of pests and diseases.

Key words: microbial agents, natural enemy insects, biological control, strawberry