

# 拮抗微生物於有機作物病害防治之研發與應用

## Research and application the anti-microbe to control the organic plant disease

朱盛祺<sup>1</sup>、鐘珮哲<sup>1</sup>、吳登楨<sup>2</sup>

行政院農業委員會苗栗區農業改良場 作物環境課

助理研究員<sup>1</sup>、研究員兼課長<sup>2</sup>

Shan-Chi Chu<sup>1</sup>, Pei-Che Chung<sup>1</sup>, Den-Jen Wu<sup>2</sup>

Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan

Crop Environment Division

Assistant Researcher<sup>1</sup>, Researcher and Supervisor<sup>2</sup>

### 摘要

將分離自苗栗地區之作物土壤根部病害以及採集自較原始之土壤樣本之枯草桿菌、木黴菌及酵母菌等拮抗微生物，測試對於秧苗、草莓及柑桔重要病害的防治效果，利用枯草桿菌*Bacillus subtilis* BS15-4發酵液(濃度約 $10^7$ CFU/ml)澆灌處理，可將秧苗立枯病不施藥對照組的罹病率由66.7%降至16.7%；效果優於市售聯發枯草桿菌3號處理組41.7%；亞磷酸溶液處理組50%；化學藥劑處理組罹病率為0%。以玻璃紙抗生法測試18株木黴菌對草莓病害之抑制率分別為：果腐病菌達84-100%，灰黴病菌達53.8-97%及炭疽病菌達56.8-73.1%。另草莓育苗期炭疽病田間防治試驗，經連續灌菌處理六周後，結果為ML031  $10^5$  spore/ml 罹病度5.56%，相較於對照組罹病度14.24%，減少罹病程度。植株冠腐死亡部分則以ML001  $10^5$  spore/ml、ML056  $10^5$  spore/ml各罹病死亡3株，相較於對照組死亡8株，初步結果顯示木黴菌對草莓冠部腐壞有抑制之效果。利用C8酵母菌株基準濃度為 $3.95 \times 10^8$  CFU/ml，稀釋50倍處理於接種青黴菌 $10^4$  spore/ml之柑桔表皮，可降低感染率為20.8%，相較對照組83.3%達顯著差異；酵母菌經調查發現於傷口可隨時間增加而增加，至20小時達最高峰，增殖為原來的4.56倍，此顯示如提早噴灑或先接種酵母菌，

將更有助於預防青黴菌之功效。

## 中文關鍵字

枯草桿菌、草莓病害、拮抗微生物、秧苗立枯病、拮抗酵母菌

## 英文關鍵字

*Bacillus subtilis*、strawberry diseases、antagonistic microorganism、seedling blight、antagonistic yeast

## 前言

秧苗立枯病之病原菌大多為土壤棲息真菌，包含有 *Sclerotium rolfsii*、*Fusarium spp.*、*Pythium spp.*、*Mucor spp.* 及 *Rhizopus spp.* 等為主要病原菌，發生於稻種播種後在堆積期間，嚴重者將無法發芽，縱能發芽長出之芽亦因已受病菌危害而呈黃褐色，移出綠化時即枯死（張，2003）。枯草桿菌屬革蘭氏陽性，好氣性桿狀細菌，具週生鞭毛及內生孢子為其形態上主要特徵，此類細菌普遍存在於土壤及植物體表，由於可以產生內生孢子，在逆境下易於存活，且在產孢過程中，可產生對多種病原菌具有抑制作用之抗生物質（antibiotic substances），因而在植物病害防治應用性之開發，多年來寄予厚望。近年來許多研究指出：枯草桿菌具應用潛力的病害標的，包括康乃馨莖腐病、玉米苗枯病、甜菜舞病、洋蔥白腐病、菊花莖腐病及柑橘綠黴病等（謝，2005）。中興大學植病系（王及曾，2002）測試枯草桿菌 BS1 與 WG6-14 發酵液，對於 *Xanthomonas oryzae* 引起的水稻白葉枯病菌及 *Sclerotium rolfsii* 所引起的秧苗立枯病菌，均具有很好的抑制能力（林等，2008）。水稻為國人的主要食物也是種植面積最廣的作物，近年來也積極推動有機稻米的生產與行銷，雖然有機稻米生產過程中，針對主要的病害，均可用有機資材與策略控制得宜，達到有機稻米生產規範的標準；但在水稻秧苗生產的階段，為防治育苗土中帶有的立枯病菌，仍然需要依賴化學農藥的使用，導致種植於有機稻田所用的並非真正的有機秧苗；本研究一：擬篩選本土性拮抗細菌（如枯草桿菌屬或放線菌屬菌種）防治秧苗立枯病，期望能應用於有機秧苗的生產，使有機稻米生產由秧苗到田間均符合有機生

產規範與標準。

草莓為深受消費大眾喜愛之水果，然為防治病蟲害而使用農藥之安全性往往為消費者所疑慮，如何減少用藥、生產安全草莓，為一相當重要之課題。草莓重要之病害以灰黴病、果腐病、白粉病為危害果實最嚴重之病害，而炭疽病及青枯病則是苗期主要病害(呂等，1990；李及呂，1994)。自然界各種微生物間相互依存，其中拮抗現象即為發展生物防治的良好策略。一般而言，拮抗微生物的主要作用為營養競爭、直接寄生或分解造成病原菌死亡、釋放有毒物質等(林等，2004)。以往研究顯示木黴菌(*Trichoderma* spp.)及枯草桿菌(*Bacillus* spp.)對於草莓灰黴病菌之發芽有明顯之抑制效果，尤以先施用拮抗菌讓其有一段時間在草莓果實表面先發芽生長，對於灰黴病菌孢子之發芽有較好之抑制效果(劉，1993)。根據倪等篩選分離自台灣地區土壤之643株木黴菌中，得到對*Phellinus noxius*、*Botrytis elliptica*、*Phytophthora capacisi*等病原真菌菌絲生長具有100%抑制效果之木黴菌菌株(倪等，2010)。有關木黴菌防治病害或抑制病原的主要機制，目前已知有五大類，即產生抗生素、營養競爭、超寄生、細胞壁分解酵素、以及誘導植物產生抗性等(Benitez et al. 2004)。木黴菌產生之抗生物質以gliotoxin、viridin及gliovirin最廣為人知，*T. virens*所產生之gliotoxins能有效抑制*Phytophthora* spp. 菌絲之生長、產生孢子及游走孢子之能力(Wilcox et al. 1992)。而結合*Bacillus mycoides*及酵母菌(*Pichia guillemontii*)之作用，會抑制灰黴病菌之孢子發芽與破壞孢子結構(Guetsky et al., 2001)。*Bacillus 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)。本研究二：擬針對草莓病害如灰黴病、炭疽病、果腐病等篩選具有拮抗作用之微生物，如木黴菌，測試對草莓病害之抑制效果，期能篩選出具有預防或減低草莓重要病害之微生物，以減少草莓的藥劑使用量，推廣於草莓農戶，落實安全農業理念。

柑桔儲藏期的重要病害以青黴病、綠黴病、蒂腐病危害果實最為嚴重(Barmore and Brown, 1982；Loucks and Hopkins, 1946)。一般而言，拮抗微生物之作用機制為營養競爭、直接寄生造成病原菌分解死亡、釋放抗生物質等(林等，2004)。研究指出，假絲酵母(*Candida* species)CWW-4菌株對儲藏柑桔綠黴病有抑制作用，於接種綠黴病前一天接種假絲酵母，可在五天後完全抑制綠黴病的發生，進一步研究發現，此拮抗現象可能是基於營養競爭之機制(梁& 郭，2006)。Droby等人發現，在美國與以色列販賣的生物防

治商品Aspire，有效成分為*C. oleophila*，除了可防治青黴病與綠黴病外，亦對*Geotricum candidum*造成的酸腐病(Sour rot)有效(Droby et al., 1998)。假絲酵母(*Candida* spp.)Pg2-5菌株與畢赤氏酵母(*Pichia* spp.)H-20菌株對儲藏柑桔蒂腐病也有明顯的防治效果，皆可使發病率下降50%左右(陳，2007)。柑桔類作物是台灣地區產量最高的果樹作物，亦是苗栗縣排名相當重要的水果種類，農民以往在柑桔儲藏前慣行使用化學藥劑浸泡果實，是最簡單快速的方法，但是往往造成農藥殘留過量，隨著科技的進展、消費者認知程度的提高、環保意識的抬頭，本研究三：擬以拮抗酵母菌協助控制柑桔儲藏性病害的發生，對農民的經濟收入、消費者的食用安全、生態的永續經營都有很大的好處。

## 內容

### 一、枯草桿菌對秧苗立枯病之防治效果

由發生秧苗立枯病的植株，共分離純化到3株主要的病原真菌，分別為白絹病菌為*Sclerotium rolfsii*、腐黴病菌*Pythium* spp.及立枯絲核菌*Rhizoctonia solani*，再接種至健康稻種及育苗土中，可產生原相同的立枯病徵，完成克霍氏法則，確認分離病原菌之正確性。採集轄區內作物根圈土壤及水稻育苗土樣本共31個，陸續分離得106株耐高溫細菌，及72株能產生鏈狀孢子與菌絲的鏈黴菌屬細菌，再與上述3株病原菌進行平板對峙拮抗試驗，篩選到耐高溫菌15株(如表一)及鏈黴菌屬細菌1株具有良好的拮抗性，從中挑選S15-4菌株利用10L桌上型發酵槽於37°C、轉速200rpm、通氣量1vvm，條件下培養4天後，可獲得 $1 \times 10^9$  CFU/ml耐高溫(80°C、10min)的內生孢子液態培養液(如圖一)；內生孢子的生成，有助於後續粉劑製程、儲架壽命及逆境耐受性的優勢維持。S15-4與S4-4菌株，利用Biolog細菌鑑定系統分析為：枯草桿菌*Bacillus subtilis*，該類菌株已公告為對環境友善且不須嚴格管制的有益菌，並有許多研究指出該類菌對作物生長及養分吸收具有促進作用，亦可開發成兼具微生物肥料的多功能益菌製劑。利用秧苗立枯病菌所生產的菌核和菌絲塊，分批接種於已催芽稻種並盛有育苗土的塑膠盒中，再利用已篩選的枯草桿菌BS15-4發酵液(濃度約 $10^7$  CFU/ml)，與市售同類聯發枯草桿菌3號(濃度約 $10^7$  CFU/ml)、亞磷酸溶液稀釋1500倍，及對照推薦藥劑(賽座滅1000倍+依得利2000倍)進行防治效果比較試驗，綠化後10天調查並計算正常苗、黃化及出現病斑苗，所換算成

的罹病率如下:罹病率(%)=(黃化及出現病斑苗/調查總秧苗數)×100,每一處理共調查100株苗,共4重複。接種病原菌且不施藥處理對照組罹病率為49.3%,利用BS15-4發酵液澆灌處理組罹病率為5.6%;效果相當於使用化學藥劑處理組罹病率為4.7%;效果優於聯發枯草桿菌3號處理組罹病率為12.8%及亞磷酸溶液稀釋1500倍為10.9%。田間試驗:於苗栗縣西湖育苗場實地測試,利用育苗土自然發病感染,同上述之處理條件,比較對秧苗立枯病防治效果的差異,調查每盤秧苗立枯病的罹病率及量測發病面積,每處理四重複,每重複共5盤。結果以不施藥對照組罹病率最高為66.7%,利用枯草桿菌BS15-4發酵液澆灌組罹病率為16.7%;效果優於市售聯發枯草桿菌3號處理組罹病率為41.7%;亞磷酸溶液處理組50%;化學藥劑處理組罹病率為0%。每盤平均發病面積:枯草桿菌BS15-4處理組平均為29.8 cm<sup>2</sup>;效果同樣優於市售聯發枯草桿菌3號處理組109.1 cm<sup>2</sup>;亞磷酸溶液處理組160.5 cm<sup>2</sup>;不施藥對照組133.5 cm<sup>2</sup>;化學藥劑處理組為 0(如表二)。

## 二、木黴菌對草莓炭疽病之防治效果

於轄區之作物土壤根部病害以及採集自較原始之土壤樣本陸續分離得木黴菌(菌株編號:MD004、ML001、ML002、ML022、ML023、ML024、ML025、ML027~31、ML042、ML050、ML053~ML058 共計20株)。將其中18株木黴菌與分離自草莓之果腐病(ML036)、灰黴病(ML037)、炭疽病(ML038)進行玻璃紙抗生法測試,結果顯示其中13株木黴菌對果腐病菌有84-100%之抑制率(如圖二),11株對灰黴病菌有53.8-97%之抑制率(如圖三),3株對炭疽病菌有56.8-73.1%之抑制率(如表三及圖四)。後續欲進行草莓果實田間病害防治試驗時,若僅針對果腐病、灰黴病以ML001及ML057最佳,其抑制率分別為100%、90.31%及100%、97.47%,若同時防治果腐病、灰黴病及炭疽病三種果實病害,則以ML001(抑制率100%、90.31%及60.15%)、ML031(抑制率100%、82.21%及56.8%)及ML056(抑制率84%、87.25%及73.1%)為佳。另因近年草莓苗期炭疽病為育苗之重要病害,為篩選有效防治之木黴菌菌種,以對炭疽病菌有較佳抑制效果之菌株ML001、ML031及ML056進行灌菌試驗。經連續六周處理後,調查各組罹病度,ML031 10<sup>5</sup> spore/ml 罹病度5.56%,相較於對照組罹病度14.24%,減少罹病程度。植株冠腐死亡部分則以ML001 10<sup>5</sup> spore/ml、ML056 10<sup>5</sup> spore/ml各罹病死亡3株,相較於對照組死亡8株,初步結果顯示木黴菌對草莓冠部腐壞有抑制之效果。本次苗期試驗採用之植株並未採用健康種苗,未來進行菌株防治

試驗時將採用購買自種苗改良繁殖場之健康種苗培育出來之植株，以減少植株帶菌之疑慮及試驗之變異因子。本次田間試驗以藥劑處理之植株，其發病率並未顯著降低，可能原因為小盆栽保水力不佳，試驗期氣溫偏高，一天需澆灌兩次水，可能將藥劑濃度稀釋，以致防治效果不顯著，而木黴菌可以纏據根系，故其防治效果反而較為顯著。經由本次苗期田間試驗發現，草莓植株感染炭疽病菌可分為兩種感染模式，一種為地上部組織受到感染，如葉片、走莖感染產生典型病斑，不容易造成植株死亡。但若感染處為根冠部位，則植株死亡速度相當快，一旦地上部葉片呈現黃化萎凋病徵(無典型病斑)，根冠處剖開皆已褐化，因輸導組織受到破壞，故植株無法存活。故防治苗期炭疽病，應以預防為主，健康種苗為首要選擇，田間管理時宜多加預防根冠受到病菌感染，並適當施藥防治，以減少植株死亡情形。

### 三、酵母菌對柑橘果實儲藏病害之防治效果

分離純化本土酵母菌共 159 株，並以酵母菌懸浮液抑制青綠黴孢子萌芽能力做為實驗室拮抗性初篩之依據，篩選 5 株酵母菌具有強的拮抗效果，依據文獻認為柑橘青綠黴菌之感染與過時受傷否有極大關係，本是試驗以人為方式刺傷果皮，再接種青黴菌，發現刺傷感染率明顯比無刺傷感染率增加 32 及 50.5%，顯示傷口有助於孢子萌發感染，因此認為採收時應小心輕放盡量避免產生傷口，增加感染機率。比較不同分生孢子接種量  $1 \times 10^2$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^6$  個/ml 其感染率以  $1 \times 10^4$  最高達 100%，與  $1 \times 10^2$  感染率 79.2% 相差不大，故認為適當接種濃度為  $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$  個/ml。酵母菌具有微量養分之傷口增殖能力，本試驗將初步篩選具有拮抗能力之 A4 酵母菌接種在人為傷口上，經 24 小時，每隔 4 小時調查其在傷口之增繁數量，進一步了解該酵母菌增繁情形，經調查發現傷口之酵母菌隨時間增加而增加，至 20 小時時達最高峰，增殖為原來的 4.56 倍(如圖五)，此顯示如提早噴灑或先接種酵母菌，將更有助於預防之功效。2 種洗出酵母菌方式以超音波法較佳。另以 C8 酵母菌株基準濃度為  $3.95 \times 10^8$  CFU，經稀釋 50、100、200、500 倍，分別進行接種試驗，結果(如表四)發現酵母菌稀釋 50 倍處理組感染率為 20.8%，相較對照組 83.3% 具有顯著差異，稀釋倍數愈多，青黴菌感染率也愈高。

表一、篩選 15 株耐高溫細菌與秧苗、草莓病原菌進行平板對峙拮抗試驗

Table 1. Antagonism of fifteen isolates of heat-resistant bacteria on rice and strawberry pathogens, using plate confrontation test

	秧苗 白絹病菌	秧苗 腐霉病菌	秧苗 紋枯病菌	草莓 灰黴病菌	草莓 果腐病菌	柑橘 蒂腐病菌
BS4-2	+	++	++	++	++	++
BS4-4	+	++	++	++	++	++
S7-2- 紅	—	+	+	+	—	—
S7-2- 白	—	+	+	—	++	—
S15-1	++	++	+	++	++	++
S15-2	—	+	+	++	++	++
S15-3	+	++	+	++	++	++
BS15-4	++	++	++	++	++	++
S8-2- 紅	—	++	—	—	+	—
S8-4	—	++	++	++	++	++
S18-1	++	++	+	++	++	++
S18-3	—	+	+	++	—	—
S19-3	+	++	+	++	++	++
S23-2	+	++	+	++	++	++
S23-4	—	+	—	—	+	—

\*定義：++病原菌無碰觸拮抗細菌  
 +病原菌接觸拮抗細菌  
 —病原菌生長越過拮抗細菌

表二. 秧苗盤處理對立枯病罹病率與平均發病面積之比較

Table 2. Compare of different treatment on rice trays control seedling blight morbidity and the average incidence area

處理方式	罹病率%		每盤平均發病面積cm <sup>2</sup>	
枯草桿菌BS15-4處理組	16.7	b*	29.8	b
聯發枯草桿菌3號處理組	41.7	c	109.1	c
亞磷酸溶液處理組	50.0	cd	160.5	c
不施藥對照組CK1	66.7	cd	133.5	c
化學藥劑處理組CK2	0	a	0	a

\*：同欄位字母相同者表示 LSD 統計分析無顯著性差異存在。

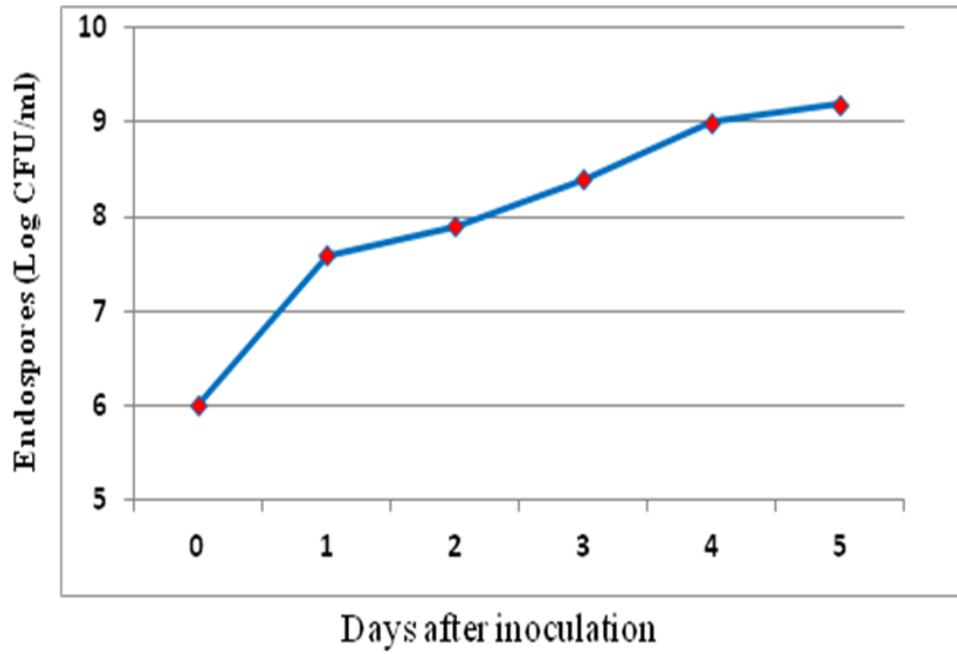
表三、 利用玻璃紙抗生法測定不同木黴菌株對草莓病原菌生長之抑制能力  
 Table 3. Antagonism of eighteen isolates of *Trichoderma* spp. on strawberry pathogens, using cellophane paper test

Isolates of <i>Trichoderma</i>	Growth inhibition of strawberry pathogens (%)		
	<i>P. parasitica</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
ML001	100%	90.31%	60.15%
ML002	100%	60.58%	28.55%
MD004	100%	78.87%	28.29%
ML024	5.39%	6.81%	0.94%
ML025	15.00%	6.29%	1.87%
ML027	100%	63.86%	27.85%
ML028	100%	73.79%	24.43%
ML029	100%	40.51%	32.16%
ML030	100%	49.04%	32.20%
ML031	100%	82.21%	56.80%
ML042	-	45.90%	43.70%
ML050	100%	45.39%	28.77%
ML053	-	19.37%	14.87%
ML054	-	58.53%	25.07%
ML055	88.60%	86.25%	43.80%
ML056	84%	87.25%	73.10%
ML057	100%	97.47%	37.94%
ML058	74.38%	53.83%	29.48%

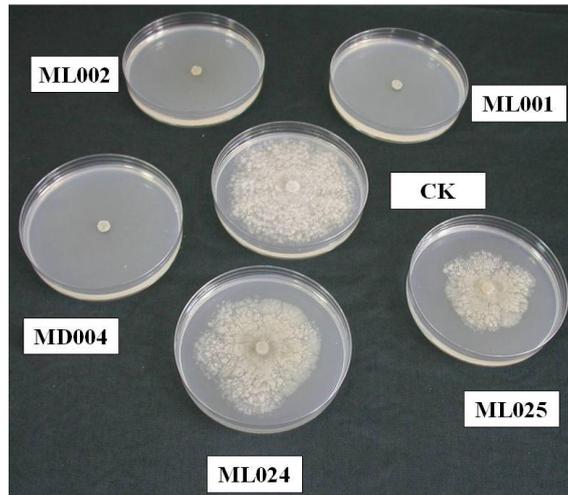
表四、刺傷處理與接種孢子濃度對青黴菌感染之關係

Table 4. Relationship of cut treatment and inoculated spore concentration of *Penicillium spp.* infection

處理項目	感染率(%)
Blank 無刺傷	45.3
0.1% Tween20	15.3
1x10 <sup>2</sup> 刺傷	79.2
1x10 <sup>4</sup> 刺傷	100
1x10 <sup>6</sup> 刺傷	95.8
1x10 <sup>6</sup> 無刺傷	62.8

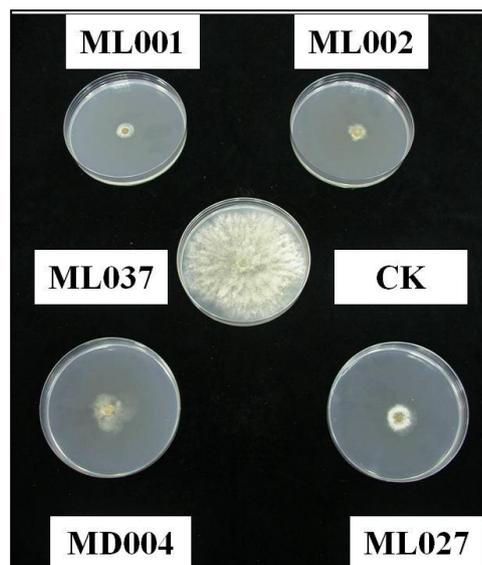


圖一、BS15-4 菌株利用 10L 桌上型發酵槽生產內生孢子的數量變化  
Fig 1. Using 10L liquid fermenter be produced BS15-4 endospores



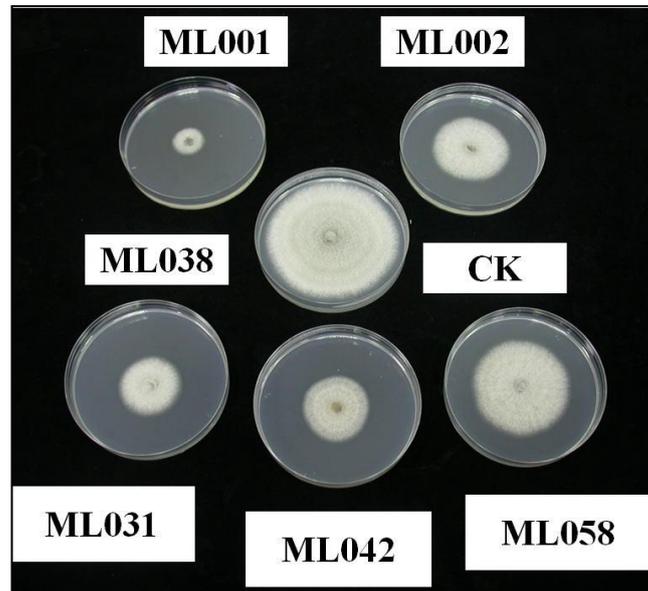
圖二、玻璃紙抗生法測試-木黴菌對果腐病抑制情形

Fig 2. Antagonism of different isolates of *Trichoderma* spp. on *Phytophthora* fruit rot, using cellophane paper test



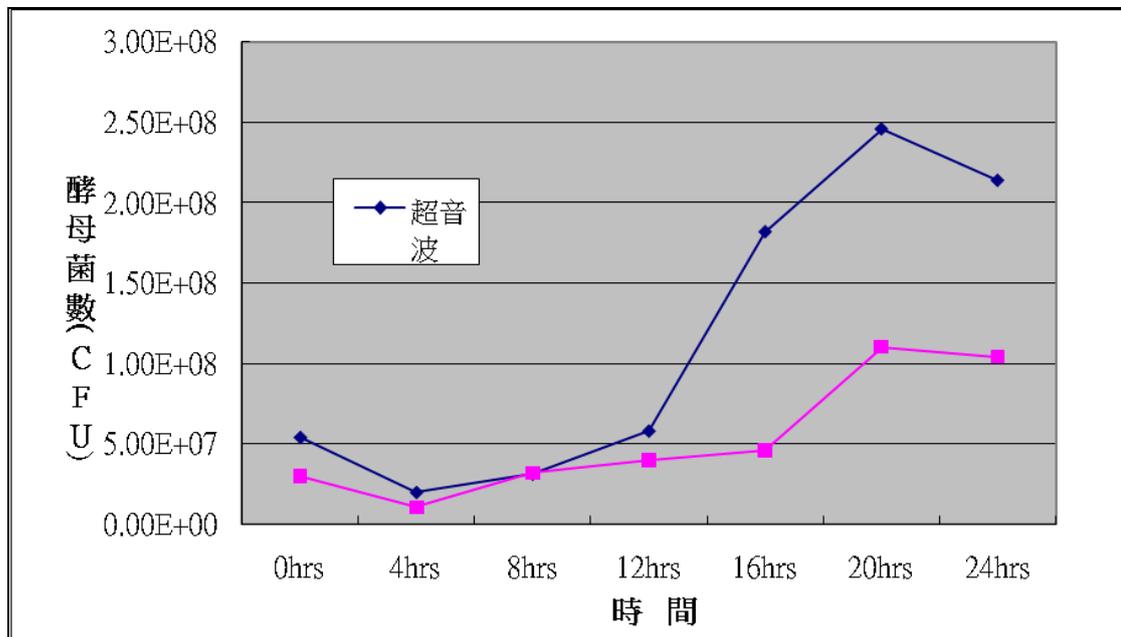
圖三、玻璃紙抗生法測試-木黴菌對灰黴病抑制情形

Fig 3. Antagonism of different isolates of *Trichoderma* spp. on Graymold rot, using cellophane paper test



圖四、玻璃紙抗生法測試-木黴菌對炭疽病抑制情形

Fig 4. Antagonism of different isolates of *Trichoderma* spp. on Anthracnose rot, using cellophane paper test



圖五、A4 酵母菌接種後在柑橘表皮增殖情形

Fig 5. Rate of increase A4 yeast be inoculated on citrus cuticle

## 參考文獻

1. 王詩雯 曾德賜 2002 拮抗性桿菌屬 (*Bacillus spp.*) 於水稻白葉枯病防治之應用及其作用機制 中興大學植病系碩士論文 84頁。
2. 李昱輝 呂理燊 1994 台灣草莓炭疽病 植病會刊 3: 256-257。
3. 呂理燊 許永華 李昱輝 1990 台灣草莓白粉病及其防治 植保會刊 32:24-32。
4. 林漢釗 黃文的 楊尙書 曾德賜 2008 枯草桿菌 *Bacillus subtilis* WG6-14對水稻秧苗之生長促進及對 *Sclerotium rolfsii* 所造成水稻秧苗立枯病之防治效果。
5. 林俊義 安寶貞 張清安 羅朝村 謝廷芳 2004 作物病害之非農藥防治 農業試驗所特刊110號 p.16-17。
6. 倪蕙芳 許淑麗 陳瑞祥 楊宏仁 2010 台灣地區土壤中木黴菌株對植物病原真菌拮抗能力之篩選 台灣農業研究 59:29-41。
7. 陳麗鋒 2007 柑橘採後蒂腐病菌生物學特性及其拮抗菌研究 華中農業大學農學系碩士論文 46頁。
8. 張義璋 2003 箱育秧苗立枯病 植物保護圖鑑系列8—水稻保護 第243-251頁 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局出版 臺北。
9. 梁學亮 郭小密 2006 假絲酵母對柑橘採後綠黴病的抑制效果 華中農業大學學報25(1):26-30。
10. 劉顯達 1993 草莓灰黴病之拮抗菌篩選與室內生物防治效果 植物保護學會會刊35:105-115。
11. 謝奉家 李美珍 高穗生 2003 枯草桿菌菌體及其代謝物質對病原真菌之抑菌效果評估 植保會刊 45: 155—162。
12. Benitez, T., A. M. Rincon, and A. C. Codon. 2004. Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 7:249-260.
13. Benbow, J. M., and Sugar, D. 1999. Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast applications. *Plant Dis.* 83:839-844.
14. Droby, S., Cohen, L., Daus, A., Weiss, B., Horev, B., Chalutz, E., Katz, H., Keren-Tzur, M., and Shachnai, A. 1998. Commercial Testing

- of Aspire: A yeast preparation for the biological control of postharvest decay of citrus. *Biol. Control* 12:97-101.
15. Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., and Dinoor, A. 2001. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. *Biol. Control* 91:621-627.
16. 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 gray mold caused by *Botrytis cinerea* using *Bacillus licheniformis* N1 formulation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17:438-444.

### 英文摘要

We separated *Bacillus* spp., *Trichoderma* sp. and antagonistic yeast from root with different soil pathogens in Miaoli county. These isolates were assayed in vitro for antagonism on the fungal pathogen of rice seedling, strawberry and citrus diseases, Irrigation of *Bacillus subtilis* BS15-4  $10^7$  CFU/ml fermentation broth, could reduced morbidity from 66.7%(CK) to 16.7%. Better than *Bacillus subtilis* 3<sup>®</sup>:41.7% and neutralized phosphorous acid solution: 50.0%, chemical treatment morbidity: 0%. Eighteen *Trichoderma* spp. isolates were assayed using cellophane paper method. Results showed that the mycelial suppressed rate of *Phytophthora parasitica* are 84-100%, *Botrytis cinerea* are 53.8-97%, and *Colletotrichum gloeosporioides* are 56.8-73.1%. For strawberry seedling anthracnose field test, ML001、ML031 and ML056 were chosen for biocontrol assay. After six weeks treatment, results showed that the disease rate of ML031  $10^5$  spore/ml was 5.56%, compared with control, the disease rate was decreased. The preliminary result showed that *Trichoderma* sp. could inhibit the crown rot of strawberry. Treatment of C8 antagonistic yeast  $7.9 \times 10^6$  CFU/ml on citrus cuticle be inoculated *Penicillium* spp.  $10^4$  spore/ml, could reduced infection rates to 20.8%, compared with the control 83.3% are significant differences. Antagonistic yeast by the survey found that

the increase in the wound can increase over time. Reached a peak at 20 hours, proliferation was 4.56 times the original. This result such as spraying or early inoculation antagonistic yeast, would further contribute to the prevention of the effect of *Penicillium* sp.