

宜花地區梨黑星病之發生與其病原菌對殺菌劑及 植物保護資材感受性評估¹

蔡依真²

摘 要

梨黑星病為梨園內之重要病害之一，為確認宜花地區梨黑星病菌之種類，本研究自宜蘭及花蓮縣共蒐集 62 株梨黑星病菌菌株，經孢子形態觀察及分子生物學比對，鑑定宜花地區梨黑星病菌菌株為 *Venturia nashicola* Tanaka & Yamamoto。於馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (potato dextrose agar, PDA) 上測試 62 株梨黑星病菌菌株對 6 種不同殺菌劑及 9 種植物保護資材之感受性。結果顯示菲克利 (Hexaconazole) 對所有供試菌株菌絲生長抑制之 EC_{50} 值小於 $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ；克熱淨 (Iminoctadine)、比多農 (Bitertanol) 和待克利 (Difenoconazole) 之 EC_{50} 值小於 $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 。測試藥劑之中，亞托敏 (Aoxystrobin) 對 87% 菌株菌絲生長抑制之 EC_{50} 值小於 $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 有效濃度，而有 7 株菌株之 EC_{50} 值大於 100 或 $500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ，表現低感受性；22.6% 供試菌株對免賴得 (Benomyl) 表現低感受性，與農友反映其田間的防治效果不彰的現象符合，推論田間可能已出現對免賴得和亞托敏具抗藥性之族群。在其它植物保護資材方面，肉桂油稀釋 1,500 倍及農皂稀釋 200 倍對病原菌菌絲生長抑制率達 100% 最佳，其次為碳酸氫鈉 200 倍 (87.3%) 及碳酸氫鉀 200 倍 (79.7%)。本項試驗結果可做為梨黑星病田間防治作業選用防病資材之參考。

關鍵詞：梨黑星病、殺菌劑、植物保護資材

1. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場研究報告第 274 號。

2. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場助理研究員。

前 言

梨黑星病為台灣各地梨樹栽培專業區常發生之重要病害，尤其雨季時為害嚴重 (Li *et. al.*, 2003)，可感染葉片、果實及枝條，葉片被害時，病斑多出現於葉脈、中肋及葉柄，呈黑色長條形，尤以葉背主脈間最為明顯，病斑佈滿黑色黴狀物，為病原菌之分生孢子；於果實為害時，果皮表面出現圓形至不規則形病斑，病斑處稍凹陷，多數病斑可互相癒合而成為大病斑，嚴重時導致果實畸形。枝條頂端受害部分呈現深褐色橢圓凹陷病斑，中央有黑色黴狀物，嚴重時枝條枯死 (余等 2010；黃 2005)。病組織成為梨黑星病菌的越冬場所，隔年春天產生分生孢子，成為初次感染源。梨黑星病發病適溫為 15-20℃，連續高濕度狀態可提高病害的嚴重度；在低海拔地區，黑星病於三月間多雨低溫環境發生，夏季高溫時轉輕，但入秋後變嚴重，高海拔則全年生長季皆嚴重發生，一般常見栽植之商業梨品種如豐水等都會受本病為害 (王和沈 2011)。

根據研究指出，引起梨黑星病的病原菌主要有兩種，一種為 *Venturia pirina* (Cooke) Aderhold，分布於歐美地區，寄主為西洋梨 (*Pyrus communis* Linnaeus)；另一種為 *Venturia nashicola* Tanaka & Yamamoto，造成中國、日本、韓國等地區的梨黑星病 (吳等 2009)。自高接梨生產技術開發成功後，每年從日本、韓國大量引進梨穗，梨黑星病菌易隨著梨穗被帶進臺灣，加上台灣目前無栽種西洋梨品系的紀錄，故後續吳氏等人深入釐清引起台灣梨黑星病的種類 (吳等 2009)，惟當時採集地區為新竹及台中，未涵蓋東部地區。

臺灣目前用於防治梨黑星病的藥劑種類超過 20 種，國內外已有報告指出梨黑星病病原菌對 benzimidazole 類及 strobilurin 類藥劑已出現抗藥性族群 (Ishii and Yamaguchi, 1981；吳等 2009)，因此本研究希了解宜花地區梨黑星病菌對農友常用藥劑的感受性。

由於近年來宜花地區梨黑星病發生較為嚴重，為增進果品及用藥安全，本研究為確認宜花地區梨黑星病病原，包括利用形態學與分子生物學技術鑑定梨黑星病種類，並了解本地區病原對不同種類殺菌劑之抗感性反應，同時了解農友用藥情形，並調查上開病害在田間發生情形，將蒐集之菌株進行農藥感受性測試，觀察是否已有抗藥性問題發生，以作為建議農友用藥之依據，並探討不同非農藥資材對梨黑星病之防治成效，以達減少化學用藥及降低果實殘留殺菌劑之疑慮。

材料與方法

一、宜花地區梨黑星病發生及農友用藥種類調查

於 2012 至 2013 年之 2 月至 5 月期間，於宜蘭縣三星鄉有機 (A₁)、慣行 (B₁) 及廢園 (C)，及花蓮縣壽豐鄉有機 (A₂) 及慣行果園 (B₂) 共五處田區調查梨黑星病發病情形，每月調查一次，每田區調查 5 株，調查時每株任選 20 枝條，每枝條由上向下調查 10 葉，若不足時由別枝條補足，每株調查 200 葉。罹病等級分級如下：葉面無病斑者為 0；1-3 病斑者為 1；4-9 病斑者為 2；10 病斑者以上為 3。並依下列公式計算：罹病度 = Σ (指數 × 該指數罹病葉數) / (3 × 總調查葉片數) × 100 (%)。

另於 2012 至 2014 年進行梨樹病蟲害診斷服務及相關輔導講習時進行農友訪談與記錄，統計用藥種類及比例。

二、供試菌株之分離、培養及保存

本試驗自 2013 年 1 月陸續採集宜花地區高接梨園之梨黑星病病葉及病果，自新鮮罹病組織上刮取分

生孢子堆並以單孢分離方式得到之菌株移植於 PDA (potato dextrose agar, PDA, Difco, Detroit, USA) 斜面培養基中，保存於 4℃ 備用。

三、 菌株鑑定

菌株鑑定主要是利用分生孢子形態及大小進行比對，並且輔以分子生物學鑑定。以移植環沾取無菌水自新鮮罹病組織上刮取分生孢子堆，並於光學顯微鏡下觀察並記錄分生孢子的形態與測量孢子大小。每個罹病標本均計算 50 個孢子，記錄分生孢子之形態、長、寬，並計算長寬比，所得之結果與文獻資料進行比較。

將所分離並純化之梨黑星病菌株進行 DNA 抽取 (吳等 2009)，以真菌通用性引子 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 及 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990) 進行 PCR 增幅，PCR 反應的內容物包括 12.5 µl 的 GoTaq qPCR Master Mix、100 ng/µl 的引子對，加入無菌水至 24 µl，最後加入 1 µl 模板 DNA。PCR 的反應條件為 94℃ DNA 變性 3 分鐘，以 94℃ 變性 1 分鐘、60℃ 黏合 30 秒，72℃ 延伸 2 分鐘，以上共 35 個循環，最後再以 72℃ 延伸 5 分鐘即完成。增幅後之產物則以 1.5% agarose 進行電泳分析。另將 PCR 產物委託源資生物科技有限公司進行解序後，利用 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 之 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 資料庫進行菌株之序列分析比對。

四、 梨黑星病菌對化學農藥之感受性分析

自 2012 年與 2013 年度共分離與鑑定菌株計 62 株，培養於 PDA 平板上。約 30 天後，利用直徑 0.5 cm 之打孔器於菌落邊緣挖取菌絲塊，放置於已添加 6 種不同藥劑成分之 PDA 平板中央，供試藥劑包括 50% 免賴得可濕性粉劑 (Benomyl, WP) (興農有限公司)、40% 克熱淨粉劑 (Iminoctadine, DP) (日本曹達有限公司)、25% 比多農可濕性粉劑 (Bitertanol, WP) (惠光股份有限公司)、23% 亞托敏水懸劑 (Azoxystrobin, SC) (嘉泰企業股份有限公司)、5% 菲克利水懸劑 (Hexaconazole, SC) (聯利農業科技股份有限公司) 及 10% 待克利水分散性粒劑 (台灣先正達股份有限公司) 等六種藥劑，各藥劑供試有效濃度為 1、10、100、500 mg·l⁻¹，含藥平板之製備為將滅菌過的 PDA 降溫至 65℃ 以下，依上述供試濃度加入藥劑，混合均勻後倒平板，並以 PDA 不添加藥劑作為對照組。每一試驗處理進行 4 重複，於無光照 20℃ 定溫箱培養，培養 30 天後記錄菌落直徑，計算抑制率並以半數有效抑制濃度 (EC₅₀) 做為菌株抗性的依據，本實驗重複兩次。

五、 梨黑星病菌對植物保護資材之感受性分析

自供試菌株中選取 10 株菌，培養於 PDA 平板上。約 7 天後，利用直徑 0.5 cm 之打孔器於菌落邊緣挖取菌絲塊，放置於已添加 9 種不同資材成分之 PDA 平板中央。含藥平板之製備為將滅菌過的 PDA 降溫至 65℃ 以下，依供試濃度 (最終濃度) 加入資材，混合均勻後倒平板，並以 PDA 不添加藥劑作為對照組。供試資材及稀釋倍數如下：亞磷酸 (振詠興業有限公司；配製方法為亞磷酸與氫氧化鉀以 1:1 等重量中和後加水稀釋至供試濃度使用) 1,000 倍及 500 倍、碳酸氫鉀 (微綠有限公司) 500 倍及 200 倍、碳酸氫鈉 (禾康肥料股份有限公司) 500 倍及 200 倍、葵無露 (振詠興業有限公司) 500 倍及 200 倍、苦楝油 (台灣花卉生物技術股份有限公司)、肉桂油 (有泰香料化學有限公司，調配時先將肉桂油與 Tween 20 以 10:1 充分混合) 1,500 倍、窄域油 (玉田地公司) 500 倍及 200 倍、無患子乳劑 (無患子生物科技有限公司) 500 倍及 200 倍、以及農皂 (東精生物科技有限公司) 500 倍及 200 倍。含菌絲塊之測試平板

置於 20℃ 培養箱不照光下培養 30 天；另以不添加藥劑之 PDA 做為對照組，每處理 4 重覆，測量菌落直徑與菌絲生長抑制率。抑制率 (%) = 「(對照組菌落直徑 - 試驗組菌落直徑) / 對照組菌落直徑 - 0.5 cm」 × 100%。本實驗重複兩次。

六、統計分析

本研究所得之數據以 Microsoft office Excel 2013 及 SAS 9.0 軟體進行分析，並以 LSD 行最小顯著差異分析 (least significant difference, LSD)，判定各處理間有無顯著差異。

結果與討論

一、宜花地區梨黑星病發生及用藥種類調查

有鑒於宜花地區農友反映梨黑星病近年較為嚴重，本試驗於 2012 及 2013 年之 2 至 5 月實地調查宜蘭三星及花蓮壽豐五處梨園葉片黑星病罹病情形，結果與王氏等人在中部地區觀察之發生狀況相近，於三月開始發病，四、五月時病原菌持續感染，感染葉片持續到落葉期 (王 2011)。調查期間均以未施藥管理之廢園罹病度最高，至 5 月時最高可達 41.51%，其次為有機栽培及慣行果園 (表一)。慣行及有機栽培農友均表示梨黑星病為園內為害最鉅之重要病害，慣行農友多依賴化學用藥，而有機栽培者之主要管理手段為清園，雖會使用有機農業可用之防治資材 (如：亞磷酸、葵花油乳化液)，然對於資材之實際效果及最適防治時機尚欠缺評估。

根據 40 位供試果園及輔導農友口頭訪談調查防治梨黑星病之用藥種類結果 (數據未顯示)，最多農友使用待克利 (21 位，約佔 53%)，其次為菲克利 (14 位，佔 35%)，再次者為亞托敏及比多農 (均 4 位，10%)；前兩名藥劑及比多農均為植物保護手冊中梨黑星病之推薦用藥，而亞托敏則推薦用於防治梨炭疽病和輪紋病，農友選擇用藥之主要考量為藥劑效果、價格及易取得性。此外，部分農友雖表示免賴得藥劑之防治效果不彰，然有些農民仍習慣將該藥連同其他藥劑一起混合施用。

表一、宜花地區梨園葉片罹黑星病之田間調查

Table 1. Disease severity of pear scab on leaves in Ilan and Hualien counties.

Orchard	Disease severity (%)					
	2012			2013		
	Mar	Apr	May	Mar	Apr	May
Organic orchard (A ₁)	2.65b ^c	12.10c	15.08c	0.56a	4.40b	7.24b
Organic orchard (A ₂)	2.33b	6.70b	5.01b	0.40a	1.90a	4.00ab
Conventional orchard (B ₁)	0.73a	5.90b	7.00b	0.30a	2.10a	5.52ab
Conventional orchard (B ₂)	0.56a	0.70a	1.40a	0.25a	1.11a	2.32a
Abandoned orchard (C)	18.20c	22.70d	41.51d	12.42b	26.33c	37.60c

^aData with the same letter in each column are not significantly different at 5% probability level by LSD test.

二、宜花地區梨黑星病菌之菌株蒐集及鑑定

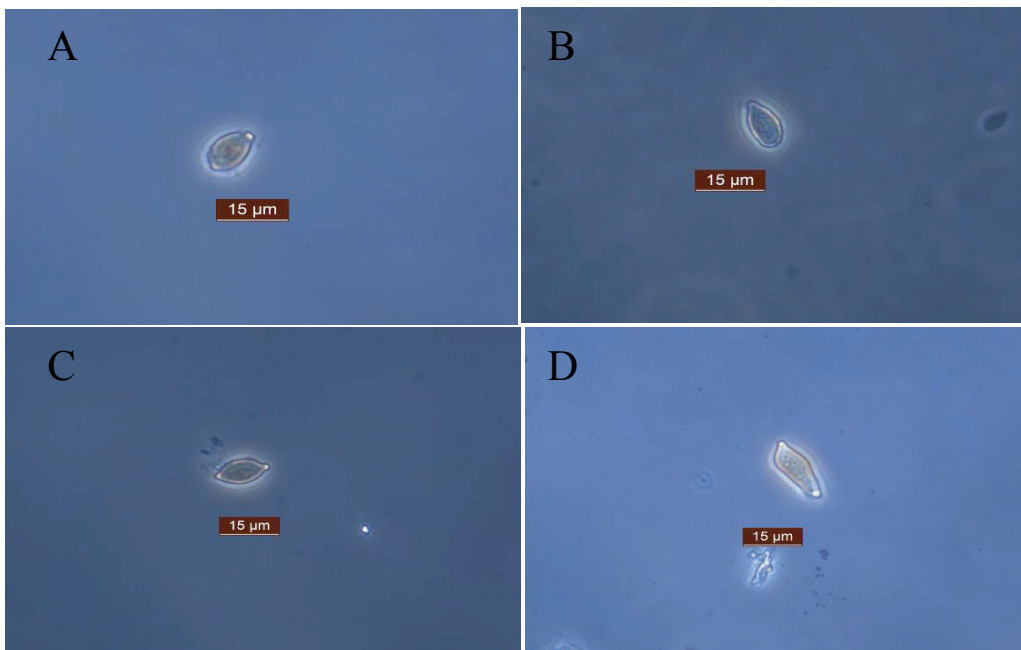
經由分生孢子的形態鑑定結果，可觀察到供試菌株之分生孢子為卵形 (ovarioform)、洋梨形 (pyriform)、紡錘型 (fusiform) 或不規則形 (irregular)。在分生孢子大小方面，分生孢子長為 12.7-23.1 μm，平均值為 15.1 μm；寬為 6.3-8.2 μm，平均值為 7.3 μm，分生孢子之長寬比 1.8-3.0 μm (表三)，得知本研究梨黑星病菌與吳等人所發表之台灣新竹新埔鎮、台中新社以及梨山地區之梨黑星病菌之形態相

近。另台灣地區梨黑星病菌株與歐洲地區 *V. pirina* 孢子（孫和杜 1967）大小和型態比較上，可看出明顯差異。以通用引子對 ITS1 和 ITS4 對供試菌株進行 PCR 反應後，可得到約 500 bp 的 DNA 條帶，經定序後與 *V. nashicola* 的序列相似度均達 99% 以上，故根據形態學觀察及分子生物學比對結果，鑑定宜花地區之梨黑星病菌株屬於 *V. nashicola*。

(A)



(B)



圖一、(A) 梨黑星病罹病葉片病徵 (B) 宜花地區梨黑星病菌株分生孢子型態觀察。圖(B) A-D 分別為卵形 (ovariform)、洋梨形 (pyriform)、紡錘形 (fusiform) 及不規則形 (irregular)。

Fig. 1. Symptoms of pear scab on leaf (A) and the conidial morphology of *Venturia* sp. isolates (B) obtained from Ilan and Hualien districts.

表二、本研究分離自宜花地區梨園梨黑星病之供試菌株

Table 2. Isolates of *Venturia* sp. collected from Ilan and Hualien counties used in this study.

Location	Amount	Isolate number	Collected time
Ilan County	52	Ppy13-Ppy18, Ppy29-62	2012/1/4-2014/8/4
Hualien County	10	Ppy19-Ppy28	2012/1/9-2013/5/30
Total	62		

表三、比較本研究分離之梨黑星病菌株 (*Venturia* sp.) 與臺灣已發表之菌株 (*Venturia nashicola*) 的孢子大小Table 3. Comparison of conidial characters of *Venturia* sp. collected in this study with *Venturia nashicola* isolated from Hsinchu and Taichung Counties.

Conidia	<i>Venturia</i> sp.	<i>Venturia nashicola</i> ^z
Shape	ovariform, pyriform, fusiform, or irregular	ovariform, pyriform, fusiform, or irregular
Length range (mean) μm	12.7-23.1 (15.1)	11.6-25.8 (14.6)
Width range (mean) μm	6.3-8.2 (7.3)	6.1-8.4 (7.0)
Length/Width ratio range	1.8-3.0	1.9-3.1

^zPublished by Wu *et. al.*, 2009.

三、梨黑星病菌對化學農藥之感受性分析

本試驗探討宜蘭及花蓮地區之梨黑星病菌對不同殺菌劑之感受性，測試待克利、菲克利、克熱淨、比多農、亞托敏及免賴得等 6 種本區農友常用之殺菌劑。結果菲克利對所有供試菌株菌絲生長抑制之 EC_{50} 值小於 $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ；克熱淨、比多農和待克利對菌絲生長抑制之 EC_{50} 值小於 $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 。亞托敏對 87% 菌株之 EC_{50} 值小於 $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ，有 7 株菌株之 EC_{50} 值大於 100 或 $500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ，表現低感受性；22.6% 供試菌株對免賴得表現低感受性（表四）。

表四、宜花地區梨黑星病菌對 6 種殺菌劑之感受性

Table 4. Sensitivity of *Venturia nashicola* to six fungicides.

Fungicide	Collected area	EC_{50}^z ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) of A. I. ^y				
		<1	1-10	10-100	100-500	>500
Benomyl	Ilan	1	5	41	4	1
	Hualien	0	0	1	6	3
Iminoctadine	Ilan	35	14	3	0	0
	Hualien	0	9	1	0	0
Bitertanol	Ilan	2	37	13	0	0
	Hualien	1	3	6	0	0
Aoxystrobin	Ilan	30	16	2	1	3
	Hualien	0	1	6	2	1
Hexaconazole	Ilan	52	0	0	0	0
	Hualien	10	0	0	0	0
Difenoconazole	Ilan	28	22	2	0	0
	Hualien	4	1	5	0	0

^z EC_{50} : Half maximal effective concentration is the concentration at which the inhibitive response present for 50 percent of population.^yA. I.: Active ingredient of fungicide.

根據上述結果，顯示無論來自宜蘭或花蓮的供試菌株對於免賴得已有表現低感受性之族群出現，與吳氏等人結果不同，推論可能與各地農友用藥習慣有關；而花蓮地區之梨黑星病菌株對免賴得及亞托敏之低感受性表現似較宜蘭更明顯，可能因花蓮地區梨栽培面積較小，便於購得之藥劑種類選擇與宜蘭梨農相較較為有限，對上述兩種藥劑使用之比例更高，而造成較大選汰壓力。免賴得屬於 benzimidazole 藥劑之一，作用機制為 FRAC B1 類，可抑制有絲分裂微管蛋白組合，進而干擾 DNA 生合成（李 2008），為宜花地區農友防治梨黑星病之常用殺菌劑之一，故可能使 B1 類藥劑因而產生高度抗藥性，導致農民反映藥劑效果差。在日本，benzimidazole 類殺菌劑中的甲基多保淨（thiophanate-methyl）與免賴得在田間已因長期用於防治梨黑星病，而導致抗 benzimidazole 類之病原菌族群出現（Ishii and Yamaguchi 1977；Ishii and Yanase 1983；Ishii *et al.*, 1985）。而供試菌株對另一支藥劑亞托敏亦有 7 株菌株表現低感受性，該藥屬於史托比類，因作用位置專一而較易有抗藥性產生，其本身雖非梨黑星病推薦藥劑，但農友常用於防治炭疽病，推論可能同時使梨黑星病菌產生抗藥性族群；另吳氏等人報告亦已檢測出抗史托比類藥劑之黑星病菌（吳等 2009）。另一類農友普遍使用並反映效果良好的菲克利，主要作用機制為抑制麥角醇的合成，雖然這類藥劑作用位置專一，室內試驗顯示其易產生抗藥性和交互抗藥性，但在田間抗藥性似乎不容易發生（行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 2005；Ishii *et al.*, 1990）。根據吳氏等人之藥劑感受性測試結果，除克收欣與三氟敏外，免賴得、克熱淨仍可抑制大部分臺灣梨黑星病菌之菌絲生長，本研究則觀察到供試菌株對 benzimidazole 類及 strobilurin 類兩種藥劑之感受性較低，推論可能已有抗藥性族群存在於田間，未來可進行基因分析進行進一步佐證。根據本研究觀察結果，建議農友調整用藥習慣，適度選擇不同作用機制和種類的藥劑，以降低黑星病菌對農藥產生抗藥性之風險。

四、梨黑星病菌對植物保護資材之感受性分析

利用不同資材添加於 PDA 培養基，評估其對梨黑星病菌之菌絲生長影響，結果以 1500 倍稀釋乳化肉桂油及 200 倍稀釋農皂之抑制率達 100% 為最高，其次為碳酸氫鈉與碳酸氫鉀 200 倍及苦楝油 200 倍，葵無露及窄域油處理組均無抑制效果。以後進行田間試驗所選用之資材及稀釋倍數，需就其易取得性、安全性及有機適用等條件再進行測試。根據前人研究，乳化葵花油等植物油對梨黑星病之孢子發芽有抑制作用（Northover and Schneider, 1993），在本研究之菌絲試驗結果，則顯示其對菌絲生長無抑制作用。在國外，蘋果黑星病[病原菌：*Venturia inaequalis* (Cke.) Winter.]非農藥防治相關報導較多，其中有部分種類微生物被證實有防治蘋果黑星病的效果，如有些木黴菌（*Trichoderma longibrachiatum*）菌株作為 *V. inaequalis* 的拮抗菌，可降低子囊孢子在自然感染病葉上的產生（Palani and Lalithakumari, 1999）。Jamar 等人（2007）的報導指出碳酸氫鉀與硫磺運用於防治蘋果黑星病之效果與農藥 Armicarb 相近（Jamar *et al.*, 2007）。Morgan 等人（2011）也測試了苦楝油、碳酸氫鉀、枯草桿菌與石灰硫磺合劑之田間防治成效及對其他非目標生物之影響（Morgan *et al.*, 2011）。經本試驗初步評估植物保護資材對抑制黑星病菌菌絲生長有一定的成效，然而尚需田間試驗進一步驗證，並考慮植物生育情形及天候等外在因素的影響，再加上配合清園等整合性方法，應可達較顯著之防治效果。

表五、梨黑星病菌對植物保護資材之感受性測試

Table 5. Sensitivity of *Venturia nashicola* to natural plant protectants.

Treatment	Dilution fold	Mycelial growth inhibition rate (%)
Phosphorous acid	1,000	9.2b
	500	11.6b
Potassium bicarbonate	500	14.9bc
	200	79.7ef
Sodium bicarbonate	500	28.5c
	200	87.3ef
Sunflower oil	500	-2.8a
	200	-0.6a
Neem oil	500	53.2e
	200	78.8ef
Cinnamon oil	1,500	100.0f
Mineral oil	500	-6.7a
	200	13.5b
Soapberry extract	500	16.1b
	200	35.0d
Agricultural soap	500	63.1e
	200	100.0f

結 論

綜上所述，宜花地區梨黑星病菌屬於 *Venturia nashicola*。農友常用之菲克利、克熱淨、比多農和待克利對所有黑星病菌株菌絲生長抑制之 EC_{50} 值均小於 $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ，顯示上述藥劑對梨黑星病仍有一定防治效果；然而，田間已出現對亞托敏及免賴得之抗藥性族群，建議農友應輪替使用其他作用機制之藥劑，以維推薦用藥之田間防效。經室內評估肉桂油等植物保護資材對黑星病菌之菌絲生長有抑制效果，然其於田間防治效果仍需進一步實地驗證。在合理用藥及配合天然植保資材之使用與田間衛生等整合性管理措施下，應可減少化學農藥使用及藥劑殘留，有效提升果品安全。

致 謝

試驗期間感謝廖俊欽、古鳳秋、蔡惠芬、劉炳桑、翁松根等農友提供果園病害調查與用藥實務經驗交流，陳定琳、陳成發、陳志剛先生執行田間施藥及病害調查工作，胡逸琳、潘映潔及侯瑜小姐協助部份黑星病菌菌株分離與鑑定，感謝林瑞珍小姐處理分菌及保存、化學藥劑及資材之感受性試驗，文成後承蒙鍾文鑫教授及謝廷芳研究員悉心斧正，特此致謝。

參考文獻

1. 王文哲、沈原民 2011 梨樹有害生物之發生與管理策略 台中區農業技術專刊 177:2-4。
2. 余思葳、李昱輝、楊秀珠 2010 黑星病 害物管理手冊－梨樹篇 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所。
3. 吳舒雅、鍾文全、黃振文、石井英夫、鍾文鑫 2009 目前台灣地區梨黑星病菌之鑑定與其對藥劑的感受性 植物病理學會刊 18(3):135-143。
4. 李敏郎 2008 植物殺菌劑之使用介紹 p.61-89 作物診斷與農藥安全使用技術手冊 興大農業推廣中心印 興大農業推廣叢書第 970004 號。
5. 孫守恭、杜德一 1967 梨黑星病之生態及其防治研究 植保會刊 9:97。
6. 黃秀華 2005 梨主要病害之發生生態與防治 梨栽培管理技術研討會專輯 p.305-325 行政院農委會台中區農業改良場。
7. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 2005 殺真菌劑的種類與特性 臺北 1 Sep 2017 <https://pesticide.baphiq.gov.tw/web/briefDetailView.aspx?sn=46>
8. Baseline sensitivity and efficacy of the sterol biosynthesis inhibitor triflumizole against *Botrytis cinerea* (PDF Download Available). Available from: https://www.researchgate.net/publication/283560761_Baseline_sensitivity_and_efficacy_of_the_sterol_biosynthesis_inhibitor_triflumizole_against_Botrytis_cinerea [accessed Sep 8, 2017].
9. Ishii, H., and Yamaguchi, A. 1981. Resistance of *Venturia nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl: existence of weakly resistant isolates and its practical significance. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 4:528-533.
10. Ishii, H., and Yamaguchi, A. 1977. Tolerance of *Venturia nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 43:557-561.
11. Ishii, H. and Yanase, H. 1983. Resistance of *Venturia nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl: formation of the perfect state in culture and its application to genetic analysis of the resistance. Ann. Phytopath. Soc. Jpn 49:153-159.
12. Ishii, H., Udagawa, H., Yanase, H., and Yanaguchi, A. 1985. Resistance of *Venturia nashicola* to thiophanatemethyl and benomyl: build-up and decline of resistance in the field. Plant Pathol. 34:363-368.
13. Ishii H, Takeda H, Nagamatsu Y, and Nakashima H. 1990. Sensitivity of the pear scab fungus (*Venturia nashicola*) to three ergosterol biosynthesis-inhibiting fungicides. Pestic Sci 30:405-413.
14. Jamar, L., Lefrancq, B. and Lateur, M. 2007. Control of apple scab (*Venturia inaequalis*) with bicarbonate salts under controlled environment. J. Plant Dis. Protect. 114, 221-227.
15. Li, B., Zhao, H., Li, B., and Xu, X.M. 2003. Effects of temperature, relative humidity and duration of wetness period on germination and infection by conidia of the pear scab pathogen (*Venturia nashicola*). Plant Pathol. 52:546-552.
16. Morgan L. Cromwell, Lorraine P. Berkett, and Heather M. Darby. 2011. Alternative organic fungicides for apple scab management and their non-target effects. HortScience 46(9):1254-1259.
17. Northover, J. and Schneider, K.E. 1993. Activity of plant oils on diseases caused by *Podosphaera leucotricha*, *Venturia inaequalis*, and *Albugo occidentalis*. Plant Dis 77:152-157.
18. Palani P.V. and Lalithakumari D. 1999. Antagonism of *Trichoderma longibrachiatum* strains to fungicide-sensitive and resistant strains of *Venturia inaequalis*. Z Pflanzenkr Pflanzenschutz 106:581-589.
19. White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p.315-322 in: PCR Protocols: A guide to Methods and Applications. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (eds). Academic Press: San Diego, U.S.A.