

ベンズイミダゾール系薬剤耐性リンゴ褐斑病菌の出現

佐 藤 裕 ・ 水 野 昇

目 次

I. 緒 言	14
II. 薬剤感受性検定	14
1. 材料及び方法	14
1) 病原菌株の由来及び分離方法	14
2) 各薬剤に対する感受性検定	14
2. 結果	15
1) 薬剤感受性検定の結果	15
2) 検定培地における培養後の分生子の動態について	17
III. ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌に対する 薬剤防除効果	18
1. 材料及び方法	18
2. 結果	18
IV. 考 察	18
V. 摘 要	19
VI. 引用文献	19

I. 緒 言

リンゴ褐斑病（7）は多発すると果実発病や激しい落葉を引き起こし、果実品質の低下や翌年の花芽形成に悪影響を与えることから、本県でもリンゴの主要病害として防除を行っている。本病はボルドー液を始めとした無機銅剤による防除効果が高く、現地では発生が見られない時期が長く続いたが、リンゴ栽培における無袋栽培化、非ボルドー体系への移行とともに、再び各地で発生が見られるようになってきた。

高橋ら（21）は、7月中旬から8月中旬に1～2回チオファネートメチル水和剤（以下TM水和剤）を保護殺菌剤に加用した場合、本病の防除に有効であることを見いだした。その後、この防除方法は褐斑病の特別散布として、いち早く本県で普及し、現在でも広く使用されている。

リンゴ褐斑病に卓効を示したベンズイミダゾール系薬剤は、連続又は連年使用により耐性菌の出現が様々な病原菌で報告されている薬剤でもある。本県の果樹病害では、リンゴの黒星病（1）、ブドウ灰色かび病（4）、芽枯病（5）、オウトウ灰星病（17）などで耐性菌の出現が問題となっており、薬剤の使用が大きく制限されている。

本病原菌について、筆者らが1992年と1995年にチオファネートメチル（以下TM）感受性検定を行った結果、耐性菌は検出されず、本県におけるTM耐性菌はないと考えら

2000年8月31日受理

れてきた（15, 16）。

1998年9月上旬から本県を含め各地のリンゴ栽培地で褐斑病が急激に増加し、激しい落葉と果実発病が認められ、多発園では樹の全体が落ち、翌年の花芽が10月頃から咲き始める現象も見られた。このため、本病原菌に対するベンズイミダゾール系薬剤感受性検定を行い、耐性菌の有無を明らかにする必要がある。

そこで、県南部を中心に12園地から採集したリンゴ褐斑病菌について、4種のベンズイミダゾール系薬剤とジエトフェンカルブ、他6薬剤に対する感受性を調査した。さらに、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌のTM水和剤に対する防除効果も検討したので、ここに報告する。

本報告を取りまとめるに当たり、多くのご助言をいただいた農林水産省農業環境研究所殺菌剤動態研究室長石井英夫博士、国内では入手の困難なMBC剤「Derosalフロアブル」を分譲下さった日本曹達(株)大庭一夫氏、ジエトフェンカルブを分譲下さった住友化学工業(株)河合史郎氏、褐斑病菌の分離に協力をいただいた果樹試験場臨時職員の矢野由紀子、熊谷淳子両氏並びに本稿を取りまとめるに当たりご校閲、ご教示いただいた当試験場職員の方々に心より感謝申し上げます。

なお、本研究の一部は1999年10月に行われた日本植物病理学会東北部会にて発表したものである。

II. 薬剤感受性検定

1. 材料及び方法

1) 病原菌株の由来及び分離方法

1998年9月から11月にかけて、秋田県果樹試験場ほ場の他、県南部の1市3町の現地ほ場、合計12地点から褐斑病の発病葉を採取し、25℃暗黒下の湿室で数日間保持した後、分生子層から噴出した分生子塊を滅菌針でかき取り、少量の滅菌水で懸濁させた分生子懸濁液をジャガイモ煎汁ブドウ糖寒天培地（以下PDA培地）あるいはジャガイモ煎汁ショ糖寒天培地（以下PSA培地）に滴下した。その後、23℃暗黒下で7～10日間ほど培養し形成された菌そうを供試した。分離菌株はすべて1葉から1分生子層を選び、単胞子分離したものを供試した。

2) 各薬剤に対する感受性検定

本病原菌の培養株は、菌糸伸長が極めて遅く、形成された分生子の粘性も高いことから、リンゴ斑点落葉病や核果

類灰星病菌などでも広く用いられている菌そうディスクを薬剤感受性検定培地（以下検定培地）に置床する方法が困難である。そこで筆者らは以下のような方法で菌株を調整し、供試した。

まず、23℃暗黒下で2～3週間培養した菌そうを、滅菌水の入った試験管に寒天ごと入れ、超音波洗浄器を用いて振とうさせ、分生子懸濁液を作成した。その孢子懸濁液を滅菌ピペットで吸い上げ、検定培地上に滴下し、風乾後に23℃恒温器にて保持、観察を行った。

TM水和剤はオートクレープで加圧滅菌することにより抗菌活性が高まることが知られており（12）、本試験においても所定濃度の薬液を加圧滅菌（1.2kg/cm², 20分）した後、検定に供試した。

検定培地は、市販のPDA培地（DIFCO）にTMを100, 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01ppmになるように添加し高圧滅菌の後に供試した。

また、ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の研究においてはTMやベノミルの代謝化合物であるMBC（methyl-2-benzimidazole carbamate）が国内外で広く用いられていることからMBCフロアブル（「Derosal」フロアブル、MBC：360g/ℓ含有）をMBCが5000, 1000, 500, 100, 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01各ppmとなるよう培地に添加し加圧滅菌せずに供試した。

ベノミル水和剤、チアベンダゾール水和剤、ジエトフェンカルブ水和剤、イミノクタジナルベシル酸塩水和剤、プロシミドン水和剤、アゾキシストロビンフロアブル、ヘキサコナゾールフロアブル、イミノクタジン酢酸塩液剤、クレソキシムメチルドライフフロアブルは加圧滅菌せず100, 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01各ppmの濃度になるよう培地に添加し供試した。

それぞれ調整した検定培地に約1×10⁵個/mlの分生子懸濁液を100マイクロリットルずつ滴下風乾した後、23℃

暗黒下で2週間培養し、菌そうの有無を観察しMIC値を求めた。また、検定培地への接種4日後の分生子の菌糸伸長について光学顕微鏡により観察した。

2. 結 果

1) 薬剤感受性検定の結果

(1) チオファネートメチル水和剤

検定を行った62菌株中MIC値が100ppmを越える菌株が2菌株検出された。いずれも雄勝町東山B園から採集した4菌株中に認められた。この2菌株（以下HK-1菌株、HK-2菌株）は、TM100ppm添加培地上でも、おう盛な菌糸伸長が認められ、菌そう上には多数の分生子の形成が認められた。雄勝町東山B園から採集された他の2菌株（以下HK-101菌株、HK-102菌株）及び他の園地から採集された58菌株は、MIC値が0.1ppm以下であった（第1表、写真13）。

(2) ベノミル水和剤

検定を行った62菌株中HK-1菌株、HK-2菌株はMIC値が50ppmを示し、他の60菌株はMIC値がすべて0.1ppm以下であった（第2表）。

(3) チアベンダゾール水和剤

検定を行った62菌株中HK-1菌株、HK-2菌株はMIC値が100ppmを越えた。他の60菌株はMIC値がすべて0.5ppm以下であった（第3表）。

(4) MBCフロアブル

検定を行った62菌株中HK-1菌株、HK-2菌株はMIC値が5000ppmを越えた。他の60菌株はMIC値がすべて0.1ppm以下であった（第4表）。

(5) ジエトフェンカルブ

検定を行った62菌株中、MIC値が100ppmを越えたものが60菌株あり、他の2菌株はMIC値が5ppm以下であった。本薬剤においてMIC値が低かった2菌株は、ベンズイミダ

第1表 褐斑病菌のチオファネートメチル剤に対する感受性（1998年）

調査地点	試菌株数	MIC値(ppm)									
		0	<0.01	<0.05	<0.1	<0.5	<1.0	<5.0	<10	<50	<100
横手市柳田寺内	3				3						
〃 金 沢	8				8						
〃 大 屋 沼	4				4						
雄勝町東 山 A	2				2						
〃 東 山 B	4				2					2	
平鹿町金 麓 園	9				9						
〃 沖 田	4				4						
〃 下 夕 町	5				5						
増田町沢 口	10				10						
〃 真 人	3				3						
〃 半 助	8				8						
果 樹 試 験 場	2				2						
合 計	62				60					2	

第2表 褐斑病菌のベノミル剤に対する感受性 (1998年)

調査地点	試菌株数	M I C 値 (ppm)										
		0	《0.01	《0.05	《0.1	《0.5	《1.0	《5.0	《10	《50	《100	《
横手市柳田寺内	3				3							
〃 金 沢	8				8							
〃 大 屋 沼	4				4							
雄勝町東 山 A	2				2							
〃 東 山 B	4				2						2	
平鹿町金 麓 園	9				9							
〃 沖 田	4				4							
〃 下 夕 町	5				5							
増田町沢 口	10				10							
〃 真 人	3				3							
〃 半 助	8				8							
果 樹 試 験 場	2				2							
合 計	62				60						2	

第3表 褐斑病菌のチアベンダゾール剤に対する感受性 (1998年)

調査地点	試菌株数	M I C 値 (ppm)										
		0	《0.01	《0.05	《0.1	《0.5	《1.0	《5.0	《10	《50	《100	∞
横手市柳田寺内	3					3						
〃 金 沢	8					8						
〃 大 屋 沼	4					4						
雄勝町東 山 A	2					2						
〃 東 山 B	4					2						2
平鹿町金 麓 園	9					9						
〃 沖 田	4					4						
〃 下 夕 町	5					5						
増田町沢 口	10					10						
〃 真 人	3					3						
〃 半 助	8					8						
果 樹 試 験 場	2					2						
合 計	62					60						2

第4表 褐斑病菌のMBC剤に対する感受性 (1998年)

[illegible]

第5表 褐斑病菌のジエトフェンカルブ剤に対する感受性 (1998年)

調査地点	試菌株数	MIC値(ppm)									
		0	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	10	50	100 <
横手市柳田寺内	3										3
〃 金 沢	8										8
〃 大 屋 沼	4										4
雄勝町東 山 A	2										2
〃 東 山 B	4							2			2
平鹿町金 麓 園	9										9
〃 沖 田	4										4
〃 下 夕 町	5										5
増田町沢 口	10										10
〃 真 人	3										3
〃 半 助	8										8
果 樹 試 験 場	2										2
合 計	62							2			60

第6表 秋田県内12カ所で採集された褐斑病菌62菌株の各種薬剤に対する感受性(1998年)

供試薬剤	MIC値(ppm)									
	0	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0	10	50	100 <
イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤							62			
プロシミドン水和剤										62
アゾキシストロビンフロアブル					62					
ヘキサコナゾールフロアブル					62					
イミノクタジン酢酸塩液剤							62			
クレソキシムメチルドライフロアブル				62						

ゾール系に低感受性を示したHK-1菌株, HK-2菌株の2菌株であった(第5表, 写真14)。

(6) イミノクタジンアルベシル酸塩水和剤

検定を行った62菌株すべてMIC値は5 ppm以下であった(第6表)。

(7) プロシミドン水和剤

検定を行った62菌株すべてMIC値は100 ppm以上であった(第6表)。

(8) アゾキシストロビンフロアブル

検定を行った62菌株すべてMIC値は1 ppm以下であった(第6表)。

(9) ヘキサコナゾールフロアブル

検定を行った62菌株すべてMIC値は1 ppm以下であった(第6表)。

(10) イミノクタジン酢酸塩液剤

検定を行った62菌株すべてMIC値は5 ppm以下であった(第6表)。

(11) クレソキシムメチルドライフロアブル

検定を行った62菌株すべてMIC値は0.5 ppm以下であった(第6表)。

2) 検定培地における培養後の分生子の動態について

検定培地4日後に光学顕微鏡により検定培地上での分生子の菌糸伸長の状況を観察した結果, HK-101菌株はTMの濃度が0.01, 0.05 ppmではおう盛な菌糸伸長と菌糸の分岐が認められた。しかし0.1 ppm以上の濃度では発芽管の存在は認められるが, 発芽率は低く, 菌糸の伸長も極めて緩慢で, 菌糸の分岐は認められなかった。一方, HK-1菌株では供試した検定培地すべての濃度において, おう盛な菌糸伸長が認められた。TMの濃度による菌糸伸長への影響は認められず, TM無添加のPDA培地とTM 100 ppm添加PDA培地においても差は認められなかった(写真1~12)。

また, TM100 ppm添加PDA培地上で2週間培養されたHK-1菌株のコロニーには豊富に分生子が形成されており, この分生子を再度TM感受性検定したが, MIC値は100 ppmを越える濃度にあった。その後, 同様の作業を3回繰り返したが, いずれもMIC値は100 ppmを越え, この程度の系代培養による感受性の変化は認められなかった。

胞子発芽については、分生子懸濁液調整時点で既に胞子発芽が低率ながら見られるため、胞子発芽阻止率による感受性の評価は困難であった。

Ⅲ. ベンズイミダゾール系薬剤耐性菌 に対する薬剤防除効果

1. 材料及び方法

2000年7月11日にワグネルポット（1/2,000 a）植えの‘スターキング・デリシャス’にTM水和剤1,500倍を散布し、風乾させた後、同日、HK-1菌株とHK-101菌株の分生子懸濁液を接種し、直ちにポリ袋で密封し、18時間温室状態とさせた。無散布区は各1鉢、TM水和剤散布区は各3鉢を供試し、調査は接種後13日目の7月24日に、新梢先端部の展開した5葉の発病の有無を調査した。

2. 結果

1) HK-101菌株接種

無散布区では調査した2新梢の10葉すべてで発病が認められた。TM水和剤散布区では調査した6新梢30葉中2葉に発病が見られ、高い防除効果が認められた。

2) HK-1菌株接種

無散布区では調査した3新梢の15葉すべてに発病が認められた。TM水和剤散布区においても8新梢の40葉中33葉に発病が見られ、TM水和剤のHK-1菌株接種区に対する防除効果は極めて低かった（第7表）。

第7表 2系統の褐斑病菌に対するTM水和剤の防除効果

菌株\処理	TM水和剤散布区	無散布区
HK-101	2/30*	10/10
HK-1	33/40	15/15

* 発病葉数/調査葉数

Ⅳ. 考 察

国内のリンゴ病害におけるベンズイミダゾール系薬剤耐性菌の出現は、リンゴ黒星病菌（*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.）が沢村ら（14）によって初めて報告され、その後、リンゴ腐らん病菌（*Valsa ceratosperma* (Tode ex Fries)）が福島ら（6）によって認められている。また、リンゴ斑点落葉病菌（*Alternaria mali* Roberts）においてはポリオキシシン剤耐性菌が大沼ら（11）、イプロジオン剤耐性菌が、浅利ら（2）によってその出現が報告されている。

TM水和剤はリンゴ褐斑病防除剤として、1979年に秋田県病害虫防除基準に採用され、その普及が図られている。ベンズイミダゾール系薬剤は長期間使い続けた場

合、耐性菌が出現する可能性があり、病原菌の薬剤感受性検定を定期的に行う必要がある。

リンゴ褐斑病菌のTMに対する感受性検定は、1993年に筆者らが明らかにするまで行われなかったことから、ベンズイミダゾール系殺菌剤による淘汰圧を受けていない、野生型の感受性検定結果いわゆるベースラインデータは明らかにされていない。しかし、1995年に行ったTM剤に対する感受性検定ではTMの散布実績が極めて少ない宮城県園芸試験場場内ほ場の樹と秋田県内9か所のは場から採集した褐斑病菌のMIC値は同一であり、すべてのTM感受性の菌群はTM0.1~0.5ppm付近にあると推察される。

したがって、MIC値が100倍を越えるHK-1、HK-2菌株は高度な耐性を獲得した強耐性菌と考えられる。

亀川ら（10）は山口県内でTM水和剤に高度に耐性を持ったリンゴ褐斑病菌の出現を報告し、その中で耐性菌は高度に感受性が低下した菌であると述べている。本県において検出された耐性菌も、それらと同様の薬剤感受性レベルであると考えられた。

各ベンズイミダゾール系薬剤に対する耐性菌のMIC値を比較すると、ベノミルがチオファネートメチル、チアベンダゾール、MBCに比べ低濃度であった。これはベノミルがMBC以外の変換物質BIC（butyl isocyanate）にも一部が変換することから、これが供試菌に作用したことが考えられる（13）が、詳細は不明である。

また、1995年ではベンズイミダゾール感受性菌のMIC値が0.5ppm以下である（16）のに対し、1998年ではMIC値が0.1ppm以下と異なる結果となった。追試を行ったが、ジャガイモ煎汁液を用いてのショ糖加用寒天培地あるいはブドウ糖寒天培地を基本培地としたTMの感受性検定を行った結果、TM感受性菌のMIC値は、すべて0.1ppm以下であった。MIC値の異なった原因は明らかにできなかった。なお、追試において、検定培地での培養期間3週間の後、さらに3か月近く培養した場合、感受性菌のMIC値が1段階高濃度側にシフトするケースが低い頻度ながら認められた。

ジエトフェンカルブは、ベンズイミダゾール系薬剤に耐性を獲得した病原菌にのみ強力な防除効果を示す殺菌剤であり、国内ではブドウやキュウリに対するベンズイミダゾール系薬剤耐性灰色かび病菌などに有効な薬剤として使用されている（3, 8）。1998年に採集された菌株のジエトフェンカルブに対する感受性を検定したところ、ベンズイミダゾール系薬剤耐性褐斑病菌HK-1菌株、HK-2菌株について、MIC値は5ppm以下にあり、他のベンズイミダゾール系薬剤感受性菌はMIC値100ppm以上であったことから、リンゴ褐斑病菌についても負相関交差耐性を有することが明らかとなった（18）。

ベンズイミダゾール系薬剤耐性褐斑病菌の場合、分生子懸濁液の検定培地滴下4日後には、TMが添加されたすべての検定培地上に分生子からの菌糸伸長と分岐が認

められた。一方、ベンズイミダゾール系薬剤感受性菌株では、TM0.1ppm添加培地と0.5ppm添加培地における菌糸伸長には明らかな生育差が認められることから、培養から4日後の状態を顕微鏡観察し、おう盛な菌糸伸長がどの濃度まで認められるかを、TM0.5ppm添加培地を中心に比較観察することによって、短期間で耐性菌が感受性菌かを判断できると考えられた。

TANAKAら(20)は山口県においてリンゴ褐斑病菌のTM耐性菌の出現並びに、耐性菌によるTM水和剤の防除効果の低下を報告している。同様に、本県で確認されたベンズイミダゾール系薬剤耐性褐斑病菌に対してもTM水和剤の防除効果が低下しているかどうかを明らかにすることが、本病の防除を行う上で重要である。

秋田県内で褐斑病防除剤として一般的に使用されているTM水和剤1,500倍散布後にHK-1菌株、HK-101菌株を接種しその防除効果を検討したところ、HK-1菌株では発病率が極めて高かった。一方、感受性菌であるHK-101菌株では薬剤散布により極めて低い発病率に抑えられた。この結果から、ベンズイミダゾール系薬剤耐性褐斑病菌に対するTM水和剤の防除効果は期待できないことが明らかとなった。この結果はTANAKAら(20)の結果と一致した。

HK-1菌検出ほ場である雄勝町東山B園の防除履歴を聞き取り調査した。園主によると、1997年に褐斑病が園内に多発し落葉が認められるまで当該園地での本病の発生は極めて少なく、過去20年以上にわたり褐斑病防除対策としてTM水和剤並びにベノミル水和剤を使用したことは無いとのことであった。ただし、リンゴモニリア病の常発地域であることから、展葉期(4月下旬頃)及び開花期間中に葉ぐされや実ぐされ防除のためにTM水和剤がたびたび使われていたようである。これらのTM水和剤の履歴と耐性菌出現との因果関係は明らかでないが、菌の母集団の遺伝子プールの中には薬剤の使用とは無関係に耐性を支配する遺伝子が低頻度で存在すると考えられている(9)ことから、1998年の多発によってサンプリングされ、耐性菌として検出されたものか、または、リンゴ褐斑病菌の子のう胞子は開花期間中に飛散を始めることから、モニリア病防除剤としてのTM水和剤散布がリンゴ褐斑病菌にも薬剤淘汰圧として作用し、耐性菌の出現を導いたものと考えられる。

また、薬剤耐性菌の発達パターンは、大きく2つのタイプに分類される。一つは短期間のうちに強い耐性を持つ菌が選抜される場合であり、一方は、菌の集団薬剤感受性が時間をかけて緩やかに耐性菌の強い方向へとシフトしていく場合である。耐性が主働遺伝子に支配されている場合、前者の様な短期間で強い耐性菌が出現すると考えられており(19)、今回検出されたリンゴ褐斑病菌のベンズイミダゾール耐性については、感受性菌に比べ100倍以上の濃度のMIC値のシフトが認められることから、主働遺伝子に支配されているものと推察された。

V. 摘 要

1998年リンゴ褐斑病が多発生したことから、現時点でのベンズイミダゾール系薬剤他数種薬剤に対する感受性を明らかにするため、県南部の12園地から合計62菌株の分離株を得て、薬剤感受性を調査した。

また、2系統の分離菌株について接種試験を行いチオファネートメチル水和剤の防除効果を検討した。

1. 1998年に秋田県県南部に位置する雄勝町東山の1園地からチオファネートメチル剤耐性褐斑病菌が検出された。
2. チオファネートメチル剤耐性褐斑病菌はベノミル、チアベンダゾール、MBCに対しても耐性を示し、正の交差耐性が認められた。
3. ベンズイミダゾール系薬剤感受性褐斑病菌はジエトフェンカルブに対して耐性を示した。また、ベンズイミダゾール系薬剤耐性褐斑病菌は低濃度でジエトフェンカルブに対して感受性を示したことから、ジエトフェンカルブとベンズイミダゾール系薬剤に対してこの二系統の菌株群間では負の相関交差耐性が認められた。
4. 短期間で耐性菌が感受性菌かを判断する方法として、培養から4日後に菌糸伸長がどの濃度まで認められるかを、TM0.5ppm添加培地を中心に顕微鏡観察することによって判断できると考えられた。
5. ベンズイミダゾール系薬剤耐性褐斑病菌はTM水和剤の常用濃度に接種しても高率に発病したことから、防除効果は期待できないと判断された。

VI. 引用文献

1. 浅利正義・高橋俊作(1985). 黒星病のベンズイミダゾール系殺菌剤耐性に関する調査. 秋田県果樹試験場業務報告29:95-96
2. 浅利正義・高橋俊作(1988). イプロジオン剤耐性リンゴ斑点落葉病菌の発生. 秋田県果樹試験場研究報告19号. 13-24
3. 藤村真(1993). ベンズイミダゾール耐性菌に対する「負相関交差耐性剤」の創製. 植物防疫47:222-225
4. 深谷雅子・加藤作美・神原廣(1976). ブドウ灰色かび病の薬剤感受性試験. 秋田県果樹試験場業務報告20:162-166
5. 深谷雅子・高橋功(1998). ブドウ芽枯病のベノミル剤に対する感受性. 秋田県果樹試験場業務報告42. 148-149
6. 福島千万男・藤田孝二・長内敬明・瀬川一衛(1981). 腐らん病菌の薬剤耐性に関する試験. 寒冷地果樹試験研究打ち合わせ会議資料(病害). 75-76

7. Harada, Y., Sawamura, K. and Konno, K. (1974).
Diplocarpon mali, sp. nov., the perfect stage of apple blotch fungus *Marssonina coronaria*. Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 40: 412-418
8. 久田芳夫・藤村真 (1989). 負相関交差耐性を利用した殺菌剤の開発. 植物防疫43: 590-594
9. 石井英夫 (1985) 果樹における薬剤耐性菌の現状と問題点. 植物防疫 39: 308-313
10. 亀川展枝・田中秀平ら (1999) チオファネートメチル耐性リンゴ褐斑病の検出. 日植病報 65: 692
11. 大沼幸男・真田輝夫・江口潤 (1973) リンゴ斑点落葉病における薬剤耐性菌について. 北日本病害虫研報 24: 70
12. 落合政文 (1982). 培地への薬剤混入調整方法とMIC値との関係. 昭和57年度福島県果樹試験場業務報告: 143-144
13. Richard S. Hammerschlag and Hugh D. Sisler (1973). Benomyl and Methyl-2-benzimidazolecarbamate (MBC): Biochemical, Cytological and Chemical Aspects of Toxicity to *Ustilago maydis* and *Saccharomyces cerevisiae*. Pesticide Biochemistry and Physiology 3: 42-54
14. 沢村健三・原田幸雄・藤田隆 (1973). リンゴ褐斑病の完全時代について. 日植病報 40: 121
15. 沢村健三 (1975). チオファネート及びベノミル耐性リンゴ黒星病菌の発生と対策. 植物防疫29: 187-189
16. 佐藤裕・浅利正義 (1992). 3) リンゴ褐斑病に関する試験④チオファネートメチル剤に対する感受性検定. 秋田県果樹試験場業務報告36: 145
17. 佐藤裕・浅利正義 (1995). 2) リンゴ褐斑病に関する試験 (1) チオファネートメチル剤に対する感受性の調査. 秋田県果樹試験場業務報告39: 112
18. 佐藤裕・水野昇 (1997). オウトウ灰星病菌の薬剤感受性検定. 秋田県果樹試験場業務報告41: 92-93
19. 佐藤裕・水野昇 (1999) リンゴ褐斑病菌のベンズイミダゾール系薬剤耐性の出現. 日植病報65: 668
20. S.G. Georgopoulos and G. Skylakis (1986). Genetic variability in the fungi and the problem of fungicide resistance. CROP PROTECTION 5. 299-305
21. Shuhei TANAKA, Nobue KAMEGAWA, Shin-ichi ITO and Misturo KAMEYA-IWAKI. (2000). Detection of Thiopantemethyl-resistant Strains in *Diplocarpon mali*, Causal Fungus of Apple Blotch
22. 高橋俊作・丹波仁・浅利正義 (1986) リンゴ褐斑病に関する研究. 秋田県果樹試験場研究報告号17. 13-26

Occurrence of Benzimidazole-resistant Isolate of Apple Blotch.

Yutaka Sato and Noboru Mizuno

Summary

In 1998, apple blotch was epidemic in wide area. At that time, 62 isolates were obtained from 12 orchards in the southern area of Akita Prefecture and their sensitivity to benzuimidazole-fungicides and other fungicides were investigated. Then, two types of isolates, inoculated to apple leaves after thiophanate-methyl wettable powder was sprayed, were examined to determine their control effects to apple blotch.

1. In 1998, thiophanate-methyl-resistant fungi of apple blotch were detected at an orchard in Higashiyama in Ogachi-machi, which is located in the south of Akita Prefecture.
2. Thiophanate-methyl-resistant fungi of apple blotch showed positive cross resistance to benomyl, thiabendazole, and MBC, too.
3. Benzimidazole-sensitive fungi of apple blotch showed resistance to diethofencarb. Besides, benzimidazole-resistant fungi exhibited sensitivity to diethofencarb in low concentrations. These characteristics indicate that two types of colonies have negative-correlation cross resistance to diethofencarb and benzimidazole.
4. It is possible to determine whether the subject fungi are the resistant fungi or sensitive fungi by the observation of mycelial growth under a microscope, which is performed four days after the cultivation on the culture medium with near 0.5 ppm thiophanate-methyl.
5. It could be concluded that disease prevention is impossible because benzimidazole-resistant fungi of apple blotch exhibited a high-rate onset in case of inoculation of thiophanate-methyl wettable powder at ordinary concentration.

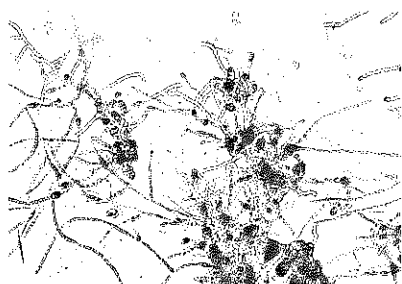


写真1 HK-1 TM0.05ppm

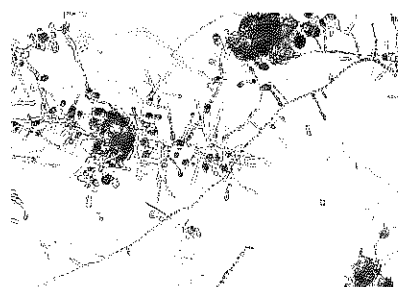


写真2 HK-1 TM0.1ppm

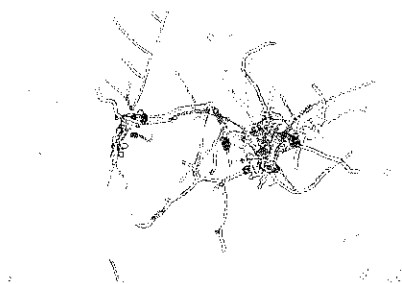


写真3 HK-1 TM0.5ppm

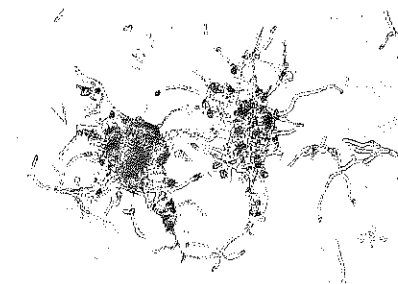


写真4 HK-1 TM 1 ppm

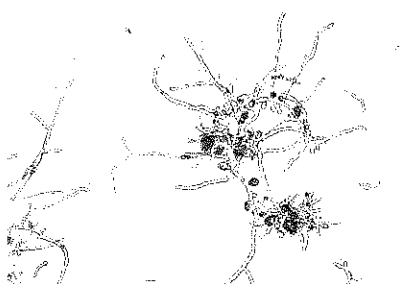


写真5 HK-1 TM 5 ppm



写真6 HK-1 TM10ppm

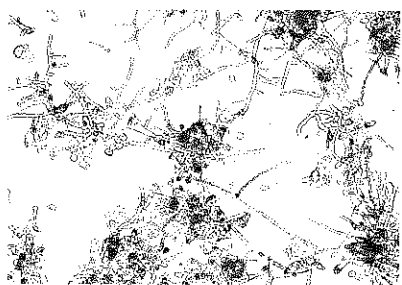


写真7 HK-1 TM100ppm

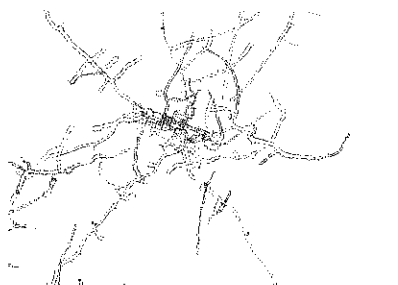


写真8 HK-101 TM0.01ppm



写真9 HK-101 TM0.05ppm



写真10 HK-101 TM0.1ppm

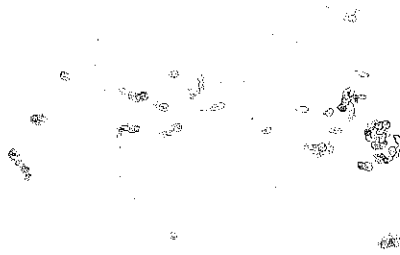


写真11 HK-101 TM0.5ppm



写真12 HK-101 TM 1 ppm

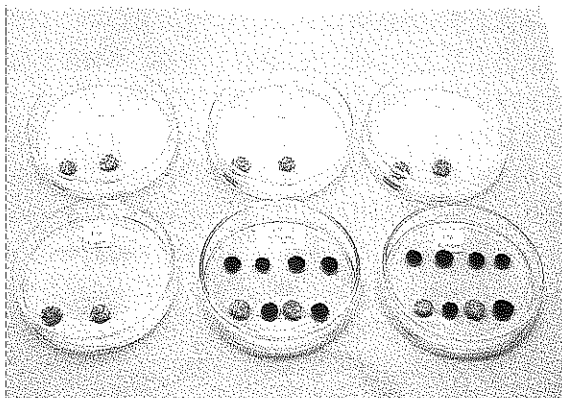


写真13 チオファネートメチル感受性検定

上段左から 100ppm, 10ppm, 1ppm

下段左から 0.1ppm, 0.05ppm, 0.01ppm

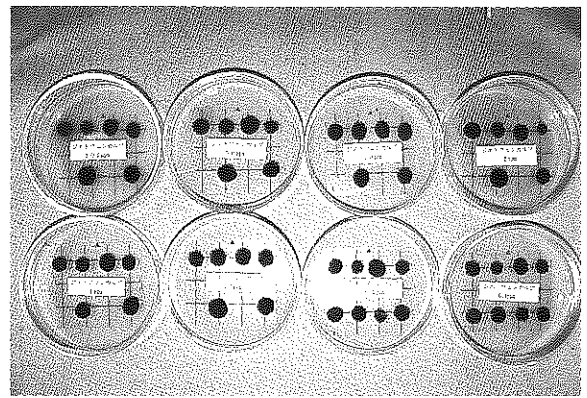


写真14 ジエトフェンカルブ感受性検定

上段左から 100ppm, 50ppm, 10ppm, 5ppm

下段左から 1ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.1ppm