

山梨県における QoI 剤耐性ブドウべと病菌の発生

綿打享子・村上芳照・内田一秀・功刀幸博

キーワード：ブドウ，べと病，QoI 剤，耐性菌

緒言

山梨県の露地ブドウ栽培における主要病害として、べと病があげられる。2008～2010 年は欧州系品種を中心に花穂や幼果への被害が認められており、特に 2010 年は開花期前後の低温・多雨および 6 月下旬～7 月の連続降雨の影響等により県下全域で多発生となった。

本県ではブドウべと病の防除薬剤として、2000 年以降 QoI 剤であるアゾキシストロビン水和剤、クレソキシムメチル水和剤等が使用されてきたが、2009 年、現地での薬剤使用状況およびべと病の発生状況から QoI 剤の効力低下が疑われた。QoI 剤に対するブドウべと病菌の耐性発現については、海外では、1999 年にフランスおよびイタリアで QoI 剤耐性ブドウべと病菌が初めて確認されており¹⁾、フランスでは QoI 剤の使用制限にもかかわらず、耐性菌は 2001 年の 15%から 2002 年には 80%に増加したとの報告がある²⁾。また、イタリア北東部では、2001 年から 2003 年の調査で 64 圃場のうち 60 圃場で耐性菌が確認されている³⁾。

そこで、山梨県内で発生しているブドウべと病菌について、QoI 剤に対する感受性を調査するとともに、防除対策として、各種薬剤の効果を調査したので、その結果について報告する。

材料および方法

1. アゾキシストロビン水和剤に対する感受性評価

試験は 2009 年 8～9 月に実施した。べと病が多

発している‘赤嶺’6 圃場から、罹病葉を採取した。病斑上に形成された分生子を蒸留水に懸濁後、健全な‘甲斐路’の葉に噴霧接種し、再び発病したものを分離菌株とした。供試菌株は A～F 菌株とした。対照として、山梨県果樹試験場保存菌（10 年以上前にブドウから分離；以下当該保存菌）を供試した。

薬剤感受性調査（生物検定）は、ガラス温室で管理した鉢植えの‘ネオマスカット’を供試し、切り葉試験により実施した。供試薬剤は、べと病菌を採取した現地圃場の使用状況から、アゾキシストロビン水和剤 1000 倍、対照としてマンゼブ水和剤 1000 倍を用い、‘ネオマスカット’にハンドスプレーで十分量散布した。薬剤散布 4 日後に葉を採取し、あらかじめ健全な‘甲斐路’の葉で増殖した各菌株の分生子懸濁液（濃度 1×10^5 個/ml）をハンドスプレーで噴霧接種した。接種後は 20℃の多湿条件下に保ち、接種 6 日後にそれぞれの区の発病状況を「発生予察事業調査実施基準」（以下；調査基準）に基づき調査した。

2. 各種 QoI 剤に対する感受性評価

試験は 2009 年 10 月に実施した。供試菌株は D 菌株および E 菌株とし、対照として、当該保存菌を供試した。供試薬剤は QoI 剤のうち、クレソキシムメチル水和剤 2000 倍、シモキサニル・ファモキサドン水和剤 2500 倍、対照としてアゾキシストロビン水和剤 1000 倍およびマンゼブ水和剤 1000 倍を‘ネオマスカット’にハンドスプレーで十分量散布した。薬剤散布 5 日後に葉を採取し、あらかじめ健全な‘甲斐路’の葉で増殖した各菌株の分生子懸濁液（濃度 1×10^5 個/ml）をハンドスプレーで噴霧接種した。接種 8 日後にそれぞれの区

の発病状況を調査基準により調査した。

3. 遺伝子診断法 (PCR-RFLP) によるチトクローム *b* 遺伝子の耐性変異の確認

海外では, QoI 剤耐性ブドウベと病菌は, チトクローム *b* 遺伝子の 143 番目のアミノ酸を構成する塩基の一つが G から C に置換され, グリシンからアラニンに変異することが確認されている⁴⁾. この原理を利用した QoI 剤耐性ブドウベと病菌の遺伝子診断法 (PCR-RFLP) が国内でも既に確立されていることから⁵⁾, 2009 年に分離した A~F 菌株および当該保存菌株を供試し, チトクローム *b* 遺伝子の PCR-RFLP 解析を行った。

4. 県内における QoI 剤耐性べと病菌の分布実態

2009 年 9 月に県下 7 圃場 (品種 ‘赤嶺’), 2010 年 6~9 月に 70 圃場 (品種 ‘巨峰’, ‘ピオーネ’, ‘甲斐路’, ‘甲州’, ‘ロザリオビアンコ’, ‘シャインマスカット’, ‘ネオマスカット’, ‘マスカットベリーA’, ‘紫玉’, ‘マニキュアフィンガー’, ‘シャルドネ’, ‘甲斐ノワール’, ‘ユニバラセブン’) から発病葉を複数採取し, 分離菌株としてチトクローム *b* 遺伝子の PCR-RFLP 解析を行った。

5. QoI 剤耐性べと病菌に対する各種薬剤の防除効果

1) 2010 年試験

供試菌株は A 菌株および G 菌株 (2010 年分離菌) とした。供試植物はガラス温室で管理した鉢植えの ‘ネオマスカット’ を用いた。供試薬剤および希釈倍率は第 4 表のとおりとし, 2010 年 5 月 17 日に鉢植えの ‘ネオマスカット’ に各種薬剤をハンドスプレーで薬液がしたたる程度に十分量を散布した。5 月 17 日 (薬剤散布当日) および 5 月 24 日 (散布 7 日後) に葉を採取し, 予め健全な ‘ネオマスカット’ の葉で培養した供試菌株の分生子懸濁液 (濃度 1×10^5 個/ml) を噴霧接種した。処理は 1 薬剤あたり 5 葉とし, 接種後は 20°C の多湿条件下に保った。接種 7 日後に発病状況を調査基準により調査した。

2) 2012 年試験

2010 年試験と同様の方法で実施した。供試薬剤

は第 5 表のとおりである。2012 年 7 月 25 日に各種薬剤をハンドスプレーで薬液がしたたる程度に十分量散布した。7 月 26 日 (薬剤散布翌日) および 8 月 8 日 (薬剤散布 14 日後) に葉を採取し, 予め健全な ‘ネオマスカット’ の葉で増殖した各菌株の分生子懸濁液 (濃度 1×10^5 個/ml) を噴霧接種した。接種後は 20°C の湿室条件下に保った。処理は 1 薬剤あたり 7 葉とし, 2010 年試験と同様に病原菌接種 7 日後にそれぞれの薬剤の発病状況を調査基準により調査した。

結果および考察

1. アゾキシストロビン水和剤に対する薬剤感受性評価

アゾキシストロビン水和剤処理葉において, 当該保存菌株では発病が認められなかったのに対し, 現地から採取した 6 菌株では無処理と同程度の発病が認められた。マンゼブ水和剤処理葉ではいずれの菌株も発病が認められなかった (第 1 表, 第 1 図)。アゾキシストロビン水和剤処理葉では, いずれの菌株も実用濃度で無散布と同程度の発病が認められたことから, これらは高度耐性菌であると考えられた。

2. 各種 QoI 剤のべと病に対する効果

D 菌株および G 菌株について, QoI 剤のうち, クレソキシムメチル水和剤, シモキサニル・ファモキサドン水和剤に対する発病抑制効果を調査した (第 2 表)。アゾキシストロビン水和剤, クレソキシムメチル水和剤処理葉において, 当該保存菌株では発病が認められなかったのに対し, D および E 菌株では無処理と同程度の発病が認められ, クレソキシムメチル水和剤についても耐性を示すことが確認された。シモキサニル・ファモキサドン水和剤, マンゼブ水和剤ではいずれの菌株でも発病が認められなかった。ファモキサドンは QoI 剤であるが, 今回の試験ではファモキサドン単剤の効果は確認できなかった。ファモキサドンおよびシモキサニル単剤を供試した効果試験については今後の課題である。

第1表 アゾキシストロビン水和剤に対するブドウベと病菌の感受性検定 (2009年)

菌株 ^z	供試薬剤	希釈倍率	発病葉数 ^y /調査葉数	発病葉率(%)
A	アゾキシストロビン水和剤	1000	7/7	100
	マンゼブ水和剤 ^x	1000	0/8	0
	無散布	—	6/6	100
B	アゾキシストロビン水和剤	1000	7/7	100
	マンゼブ水和剤	1000	0/8	0
	無散布	—	6/6	100
C	アゾキシストロビン水和剤	1000	7/7	100
	マンゼブ水和剤	1000	0/8	0
	無散布	—	6/6	100
D	アゾキシストロビン水和剤	1000	6/6	100
	マンゼブ水和剤	1000	0/8	0
	無散布	—	6/6	100
E	アゾキシストロビン水和剤	1000	7/7	100
	マンゼブ水和剤	1000	0/8	0
	無散布	—	7/7	100
F	アゾキシストロビン水和剤	1000	6/6	100
	マンゼブ水和剤	1000	0/8	0
	無散布	—	7/7	100
当场保存	アゾキシストロビン水和剤	1000	0/6	0
	マンゼブ水和剤	1000	0/8	0
	無散布	—	6/6	100

^z ストロビルリン系薬剤の散布履歴

A アゾキシストロビン水和剤 (5/16, 6/9), クレソキシムメチル水和剤 (7/5)

B アゾキシストロビン水和剤 (6/10, 6/20), クレソキシムメチル水和剤 (6/29, 7/9), シモキサニル・ファモキサドン水和剤 (5/31)

C アゾキシストロビン水和剤 (5/27, 6/18)

D アゾキシストロビン水和剤 (6/7, 6/17), クレソキシムメチル水和剤 (8/5), シモキサニル・ファモキサドン水和剤 (5/4)

E アゾキシストロビン水和剤 (5/9, 6/12, 6/23)

F アゾキシストロビン水和剤 (6/10, 6/19), クレソキシムメチル水和剤 (7/3), シモキサニル・ファモキサドン水和剤 (5/4, 7/12)

^y いずれの薬剤も葉面積の51%以上に分生子の形成を認めた.^x 対照薬剤

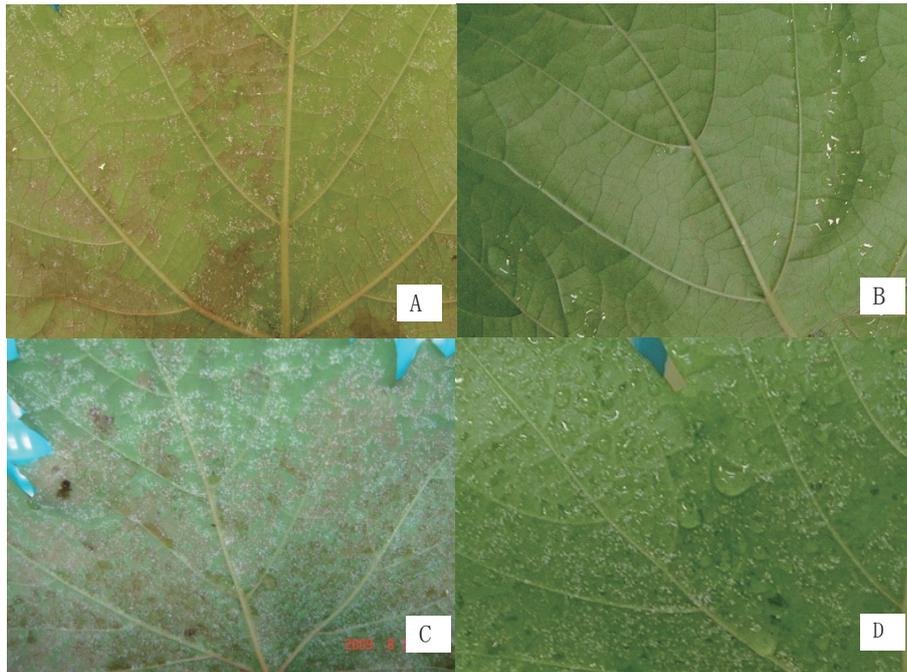
第2表 アゾキシストロビン水和剤耐性ブドウベと病菌に対する同系統薬剤の発病抑制効果 (2009年)

菌株	供試薬剤	希釈倍率	発病葉数 ^z /調査葉数	発病葉率(%)
D	アゾキシストロビン水和剤	1000	5/5	100
	クレソキシムメチル水和剤	2000	5/5	100
	シモキサニル・ファモキサドン水和剤	2500	0/5	0
	マンゼブ水和剤 ^y	1000	0/8	0
	無散布	—	6/6	100
E	アゾキシストロビン水和剤	1000	6/6	100
	クレソキシムメチル水和剤	2000	6/6	100
	シモキサニル・ファモキサドン水和剤	2500	0/6	0
	マンゼブ水和剤	1000	0/7	0
	無散布	—	7/7	100
当场保存	アゾキシストロビン水和剤	1000	0/4	0
	クレソキシムメチル水和剤	2000	0/5	0
	シモキサニル・ファモキサドン水和剤	2500	0/5	0
	マンゼブ水和剤	1000	0/7	0
	無散布	—	6/6	100

^z 当场保存菌の無散布区では供試した6葉のうち4葉は葉面積の51%以上に, 2葉は10%以下に分生子の形成を認めた.

その他の区の発病葉はすべて葉面積の51%以上に分生子の形成を認めた.

^y 対照薬剤



第1図 切り葉試験におけるべと病菌接種葉の標徴

- A : アゾキシストロビン散布葉(現地べと病菌接種) B : アゾキシストロビン散布葉 (当场保存菌接種)
 C : 薬剤無散布葉 (現地べと病菌接種) D : 薬剤無散布葉 (当场保存菌接種)

3. 遺伝子診断法 (PCR-RFLP) によるチトクローム *b* 遺伝子の耐性変異の確認

今回アゾキシストロビンに対する感受性を調査した 7 菌株についてチトクローム *b* 遺伝子の PCR-RFLP 解析を行った結果, 当场保存菌株および QoI 剤感受性菌 (山梨大学より分譲) は制限酵素 *Apek I* で切断されず, 652 bp のバンドが確認された. 一方, 現地 6 菌株および QoI 剤耐性菌 (山梨大学より分譲) は制限酵素で切断された(第 2 図). これより, 当场保存菌株は QoI 剤感受性菌, 現地 6 菌株は QoI 剤耐性菌であると判断され, 生物検定の結果と一致した. また, 現地 6 菌株の増幅産物について塩基配列を解析した結果, 制限酵素が作用する部位の塩基の一つが G から C に置換され (データ省略), 143 番目のアミノ酸変異が示唆された.

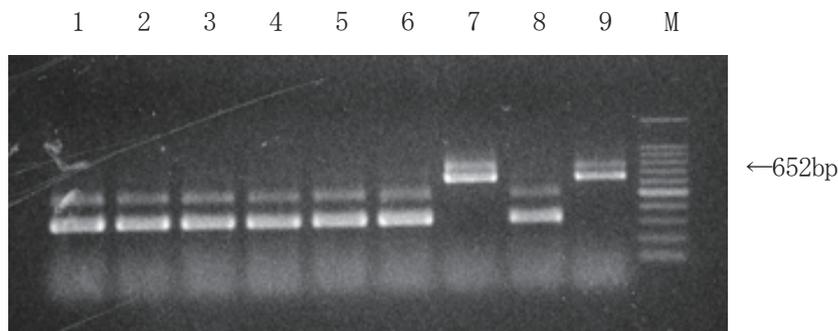
べと病菌は絶対寄生菌であるため, 菌株の分離や生物検定には, 常時健全な植物を準備しておく必要がある. また, 一度に検定できる菌株数にも限られる上, 発病がみられるまでに 7 日程度の日数を要する. 一方, 遺伝子診断法は, 現地から採取した罹病葉を直接検定に供試するため, 菌株を分

離する必要がなく, 一度に多数の検体を扱うことができる. また, 手法も簡便で, 検定当日に結果が判定できる. 今回実施した試験では, 遺伝子診断法と生物検定の結果が一致したことから, 多数の菌株を供試した QoI 剤の感受性調査については, 遺伝子診断法が簡易で有効な検定法であると考えられた.

4. 県内における QoI 剤耐性べと病菌の分布実態

県下各地のべと病発病圃場より罹病葉を採取し, PCR-RFLP 解析を行った結果, 感受性菌のみが検出されたのは 1 圃場 (1.3%), 耐性菌と感受性菌が混在して検出されたのは 16 圃場 (20.8%), 耐性菌のみ検出されたのは 60 圃場 (77.9%) であった (第 3 表). 県内における耐性菌の存在については既に報告されているが^{5, 6)}, 今回の調査により, 耐性菌は欧州系品種で被害が多い '赤嶺' や '甲斐路' だけでなく, '巨峰' や 'ピオーネ' など品種を問わず県内に広く分布していることが明らかとなった.

2009 年に QoI 剤耐性べと病菌が確認された '赤嶺' や '甲斐路' は, 欧州系品種でべと病や晩腐



第 2 図 制限酵素 *ApeKI* で処理したブドウべと病菌チトクローム b 遺伝子の電気泳動パターン

1:現地 A, 2:現地 B, 3:現地 C, 4:現地 D, 5:現地 E, 6:現地 F

(1~6 は生物検定で耐性), 7:当场保存菌(生物検定で感受性), 8:耐性菌遺伝子(対照),

9:感受性菌遺伝子(対照), M:100bp ラダーマーカー

病に罹病しやすい。このため、栽培者は、袋かけ作業が終わる 6 月下旬~7 月上旬まで、果房に両病害を対象とした防除をしなければならない。耐性菌が確認された‘赤嶺’および‘甲斐路’圃場のうち、防除履歴が得られた 13 圃場では、QoI 成分を含む薬剤が 3~4 回使用されていた。また、‘巨峰’、‘ピオーネ’等では通常べと病の発生は少ないが、晩腐病に罹病しやすいため、防除効果の高い QoI 剤は多用される傾向にあった。一方、感受性菌のみ検出された‘マスカットベリー A’1 圃場はボルドー液中心の薬剤散布であり、QoI 剤の使用はなかった。今回調査した 12 品種の内、11 品種で耐性菌が確認されたことから、品種にかかわらず、圃場における QoI 剤の過度の使用が耐性菌の発現に影響したと思われる。

5. QoI 剤耐性べと病菌に対する各種薬剤の防除効果

2010 年試験(第 4 表)では、対照のマンゼブ水和剤は散布当日接種および 7 日後接種でも発病が見られなかった。ホセチル水和剤、有機銅水和剤は散布当日接種区でも発病が見られ、散布 7 日後接種区ではさらに発病が多くなり、マンゼブ水和剤と比較し防除効果は劣った。シモキサニル・ファモキサドン水和剤は、薬剤散布当日は発病が見られなかったが、散布 7 日後接種では発病が多く

なった。キャプタン水和剤は、散布当日は発病が見られず、散布 7 日後接種でも発病はわずかで、マンゼブ水和剤と比較し、ほぼ同等の防除効果であった。

2012 年試験(第 5 表)では、キャプタン・ホセチル水和剤、キャプタン水和剤、シアゾファミド・TPN 水和剤、マンジプロパミド水和剤は、対照のマンゼブ水和剤とほぼ同等で、散布 14 日後接種でも発病が認められず、防除効果は高かった。アミスブルロム水和剤、シモキサニル・ファモキサドン水和剤は、散布翌日接種では発病が見られなかったが、散布 14 日後接種では発病が見られ、残効が短い傾向であった。ジチアノン水和剤、無機銅水和剤、有機銅水和剤、ホセチル水和剤では、両接種区とも発病が多く、防除効果は低かった。

本県では、立木類の圃場とブドウ圃場が隣接する地域が多いため、現地では飛散防止対策として立木類にも作物登録のある防除薬剤を指導している。今回の試験結果から、防除暦における QoI 剤(単剤)の代替剤として、①べと病の防除効果が高い、②保護殺菌剤で耐性菌発生リスクが低い、③立木類に作物登録がある、等の理由からキャプタン水和剤を選定した。しかし、QoI 剤が使用できなくなったことに伴い、立木隣接圃場でも散布可能な薬剤が不足しているのが現状である。今後も新規薬剤を含め、より安定した防除体系の確立に

第3表 県下各地におけるQoI剤耐性べと病菌の分布状況 (2009, 2010年調査)

地域	品種	調査 圃場数	ストロビルリン系薬剤に対する感受性 ^z		
			感受性	混在	耐性
JA①管内	巨峰	3	0	0	3
	甲斐路	4	0	1	3
	シャインマスカット	2	0	0	2
	ロザリオビアンコ	1	0	0	1
	ネオ マスカット	1	0	1	0
	ベリーーA	1	1	0	0
	シャルドネ	1	0	1	0
	甲斐ノワール	1	0	0	1
JA②管内	ピオーネ	4	0	1	3
	甲斐路	15	0	0	15
	ロザリオビアンコ	3	0	1	2
	シャインマスカット	1	0	0	1
JA③管内	巨峰	1	0	0	1
	ピオーネ	1	0	0	1
	甲斐路	14	0	7	7
	ロザリオビアンコ	1	0	0	1
JA④管内	ピオーネ	1	0	0	1
	甲斐路	10	0	0	10
	ロザリオビアンコ	1	0	0	1
	マニキュアフィンガー	1	0	1	0
JA⑤管内	ピオーネ	3	0	1	2
	甲州	1	0	0	1
JA⑥管内	甲斐路	2	0	0	2
	紫玉	1	0	0	1
	ベリーーA	1	0	1	0
	ユニバラセブン	1	0	1	0
合計		77	1	16	60
(%)			(1.3)	(20.8)	(77.9)

発病葉に形成された病斑を1菌株として検定に供試した。

^z 感受性 感受性菌のみ検出, 混在 感受性菌および耐性菌を検出, 耐性 耐性菌のみを検出。

第4表 QoI剤耐性ブドウベと病菌に対する各種薬剤の効果 (2010年)

供試薬剤	希釈倍率	接種 菌株名	薬剤散布当日接種		薬剤散布7日後接種	
			発病葉数 /調査葉数	発病度 ²	発病葉数 /調査葉数	発病度
有機銅水和剤	600	A	1/5	5.0	5/5	30.0
		G	1/5	5.0	4/5	25.0
ホセチル水和剤	800	A	5/5	25.0	5/5	45.0
		G	5/5	25.0	5/5	45.0
キャプタン水和剤	800	A	0/5	0.0	1/5	5.0
		G	0/5	0.0	0/5	0.0
シモキサニル ・ファモキサドン水和剤	2500	A	0/5	0.0	4/5	25.0
		G	0/5	0.0	2/5	10.0
マンゼブ水和剤	1000	A	0/5	0.0	0/5	0.0
		G	0/5	0.0	0/5	0.0
アゾキシストロピン水和剤	1000	A	—	—	5/5	100
		G	—	—	5/5	100
無散布	—	A	5/5	100	5/5	100
		G	5/5	100	5/5	100

薬剤散布：2010年5月17日

薬剤散布当日および7日後にQoI剤耐性ブドウベと病菌を噴霧接種した。

² 発病指数0 病斑なし，1 病斑面積が葉の10%以下，2 病斑面積が葉の11～30%，3 病斑面積が葉の31～50%，

4 病斑面積が葉の50%以上 発病度= { Σ (指数×程度別発病葉数) / 4×調査葉数 } × 100

第5表 ブドウベと病に対する各種薬剤の予防効果 (2012年)

供試薬剤	希釈倍率	薬剤散布翌日接種		薬剤散布14日後接種	
		発病葉数 /調査葉数	発病度 ²	発病葉数 /調査葉数	発病度
ジチアノン水和剤	1000	7/7	64.3	7/7	71.4
無機銅水和剤	40 (4-4式相当)	7/7	64.3	7/7	35.7
有機銅水和剤	600	6/7	21.4	6/7	21.4
ホセチル水和剤	800	7/7	78.6	7/7	100
ホセチル・キャプタン水和剤	800	0/7	0.0	0/7	0.0
キャプタン水和剤	800	0/7	0.0	—	—
シアゾファミド・TPN水和剤	2000	0/7	0.0	0/7	0.0
アミスルプロム水和剤	2000	0/7	0.0	4/7	14.3
マンジプロパミド水和剤	3000	0/7	0.0	0/7	0.0
シモキサニル ・ベンチアバリカルブイソプロピル水和剤	2000	0/7	0.0	0/7	0.0
シモキサニル・ファモキサドン水和剤	2500	0/7	0.0	6/7	21.4
マンゼブ水和剤	1000	0/7	0.0	1/7	3.6
無散布	—	7/7	100	7/7	100

薬剤散布：2012年7月25日

調査月日：2012年8月2日（薬剤散布翌日接種），8月16日（薬剤散布14日接種）

² 発病指数 0 病斑なし，1 病斑面積が葉の10%以下，2 病斑面積が葉の11～30%，3 病斑面積が葉の31～50%，

4 病斑面積が葉の50%以上 発病度= { Σ (指数×程度別発病葉数) / 4×調査葉数 } × 100

むけて継続した検討が必要である。

摘要

本県では、2000 年以降 QoI 剤であるアゾキシストロビン水和剤およびクレソキシムメチル水和剤をブドウべと病および晩腐病の防除薬剤として使用してきたが、2009 年のべと病多発に伴い QoI 剤の効力低下が疑われた。そこで、県下で採取したブドウべと病菌について QoI 剤に対する感受性を調査するとともに、有効な防除薬剤を選定した。

1. 2009 年 8～9 月にべと病が多発している県内ブドウ産地の 6 圃場（品種 ‘赤嶺’）から、罹病葉を採取した。現地から採取した 6 菌株はアゾキシストロビン水和剤処理葉において無処理と同程度の発病が認められ、感受性の低下が確認された。
2. 採取したべと病菌についてチトクローム *b* 遺伝子の PCR-RFLP 解析を行った結果、当场保存菌株は QoI 剤感受性菌、現地 6 菌株は QoI 剤耐性菌と判断され、生物検定の結果と一致した。
3. 2009 年に県下 7 圃場、2010 年に 70 圃場から罹病葉を採取し、チトクローム *b* 遺伝子の PCR-RFLP 解析を行った。耐性菌のみが検出された圃場は 77.9%（77 圃場のうち 60 圃場）で、QoI 剤耐性菌は県下に広く分布していることが確認された。
4. QoI 剤耐性菌を用いた接種試験の結果、キャプタン水和剤、キャプタン・ホセチル水和剤、シアゾファミド・TPN 水和剤、マンジプロパミド水和剤の防除効果が高かった。

本研究を進めるにあたり、PCR-RFLP によるチトクローム *b* 遺伝子の解析手法および変異部位の確認についてご指導いただき、実験の一部を共同研究して下さった山梨大学鈴木俊二准教授に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) S. P. Heaney, A. A. Hall, S. A. Olaya(2000). Resistance to Fungicides in the QoI-STAR Cross-Resistance Group: Current Perspectives. Proceeding of the BCPC International Congress-Pests and Diseases. 755-762.
- 2) Groupe de travail inter-organismes (2003). Notenationale mildioudela vigne 2003. La Défense des Végétaux. 556:42-44.
- 3) M. Collina, L. Landi, P. Guerrini, M. B. Branzanti and A. Brunelli(2005). QoI Resistance of *Plasmopara viticola* in Italy: Biological and Quantitative Real-Time PCR Approaches. Modern Fungicide and Antifungal Compounds IV. BCPC. Alton. UK. 81-88.
- 4) C. Sirven, E. Gonzales, E. Buffer, M. P. Latores, R. Beffa(2002). PCR-Based Method for Detecting Mutation Allele Frequencies for QoI Resistance in *Plasmopara viticola*. Proceeding of the BCPC International Congress-Pests and Diseases. 823-828.
- 5) S. Furuya, S. Suzuki, H. Kobayashi, S. Saito T. Takayanagi(2009). Rapid Method for detecting resistance to a QoI Fungicide in *Plasmopara viticola* Populations. Pest Management Science. 65:840-843.
- 6) S. Furuya, M. Mochizuki, S Saito, H Kobayashi, T Takayanagi, S Suzuki(2010). Monitoring of QoI Fungicide Resistance in *Plasmopara viticola* Populations in Japan. Pest Management Science. 66:1268-1272.

Occurrence of QoI Fungicide-resistant Strains of *Plasmopara viticola*, in Yamanashi Prefecture

Kyoko WATAUCHI, Yoshiteru MURAKAMI, Kazuhide UCHIDA and Yukihiro KUNUGI

Yamanashi Fruit Tree Experiment Station, 1204 Ezohara, Yamanashi-shi, 405-0043, Japan

Summary

Downy mildew, caused by *Plasmopara viticola*, is one of the most important diseases of grapevine in Yamanashi Prefecture. In 2009, failures by two QoI fungicides, azoxystrobin and kresoxim-methyl in the control of downy mildew were reported in some vineyards. Samples from six vineyards in the east and west side of Yamanashi Prefecture were tested for their sensitivity to azoxystrobin. The inoculation tests were carried out on fungicide-treated and detached grapevine leaves placed on petri dishes containing moistened paper towels. All of the six strains obtained from QoI-applied vineyards were resistant to azoxystrobin, however, the strain collected before the registration of QoI fungicides was sensitive. A single point mutation (G143A) was found in the cytochrome *b* gene from all resistant strains by a PCR-RFLP analysis. Using this analysis, resistance has been monitored in 77 vineyards in 2009 and 2010, and the frequency of QoI resistant strains was shown to be 77.9% (60 out of 77 strains). The QoI resistant strains have been widely distributed in Yamanashi Prefecture.