

## [Research Note]

## 北海道における QoI 剤耐性ブドウべと病菌の発生調査

青木是直<sup>1\*</sup>・河西由喜<sup>2</sup>・池原作務<sup>3</sup>・笹田武志<sup>3</sup>・鈴木俊二<sup>1</sup><sup>1</sup>山梨大学ワイン科学研究センター 果実遺伝子工学研究部門 〒400-0005 山梨県甲府市北新 1-13-1<sup>2</sup>北海道ワイン 〒047-0154 北海道小樽市朝里川温泉 1-130<sup>3</sup>富良野市ぶどう果樹研究所 〒076-0048 北海道富良野市清水山Monitoring QoI Fungicide Resistance in *Plasmopara viticola* Populations in HokkaidoYoshinao Aoki<sup>1\*</sup>, Yuki Kasai<sup>2</sup>, Samu Ikehara<sup>3</sup>, Takeshi Sasada<sup>3</sup> and Shunji Suzuki<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratory of Fruit Genetic Engineering, The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan<sup>2</sup>Hokkaido Wine, Asarigawaonsen, Otaru, Hokkaido 047-0154, Japan<sup>3</sup>Furano Viticulture and Enology Experiment Station (Furano Wine), Simizuyama, Furano, Hokkaido 076-0048, Japan

Grapevine downy mildew caused by *Plasmopara viticola* is one of the major grapevine diseases worldwide. *P. viticola* infection occurs at the early growth stage of grapevine, resulting in reduced yield and berry quality. Although the use of QoI inhibitor (QoI) fungicide is a simple strategy to protect grapevines against downy mildew, the increasing occurrence of QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations is becoming a serious problem in the control of grapevine downy mildew worldwide. In 2009, QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations in vineyards was first reported in Japan except Hokkaido Island. In this study, we monitored QoI fungicide resistance in *P. viticola* isolates collected from two vineyards in Hokkaido in 2008-2016. Resistant *P. viticola* isolates were not detected in the vineyard where QoI fungicide has never been applied before, whereas 30 resistant *P. viticola* isolates were detected from 131 isolates in 2014 growing season in the vineyard where QoI fungicide has been applied every year from 2014 growing season. In 2015 and 2016 growing seasons, QoI fungicide resistance in *P. viticola* isolated from the vineyard was chronically detected. These results suggested that the sporadic single application of QoI fungicide does not exert selection pressure toward QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations whereas multiple applications of QoI fungicide every year may exert a high selection pressure toward QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations. This study also revealed that it has become extremely difficult for viticulturists to select the appropriate QoI fungicide for controlling grapevine downy mildew in all the grape-growing regions in Japan.

**Key words:** downy mildew, Hokkaido, *Plasmopara viticola*, QoI inhibitor, QoI resistance

## 緒言

ここ数年の全国的な異常気象は、ブドウべと病の被害拡大につながっており、ブドウべと病を効率的に

抑制するための研究が現場側から研究者側に求められている。山梨県においても 2010 年にブドウべと病菌の大量発生が起こり、県内のブドウ生産に甚大な被害を与えた(綿打 2012)。ブドウべと病は、ブドウべと病菌 *Plasmopara viticola* によって引き起こされる。ブドウべと病菌は主に葉に感染するが、新梢、巻きひげ、幼果にも感染する。発病葉の病徴が融合し大きな病斑になり黄化・落葉すると、ブドウ樹の光合成能低下につな

\*Corresponding author

(e-mail: yaoki@yamanashi.ac.jp)

2018 年 6 月 7 日受理

がり、ブドウの新梢伸長や果実肥大に大きく影響する (Polesani et al. 2008). また、より若い幼果および房に感染する傾向があり、発病すると鉛色に変色し果皮が裂けるか、萎びて落果するなど収穫量の低下につながる (岸 1998, Kennelly et al. 2007).

先の山梨県の事例は、ブドウの開花期である5月下旬から6月上旬にかけて降雨が多く薬剤散布が十分に行えなかったことが一つの要因であると言われていた。ブドウベと病を効率よく防除する方法として、化学合成農薬の散布が一般的である。多くの化学合成農薬が使用されているが、ブドウの成長初期にアゾキシストロビン含有の薬剤を世界レベルで使用していた事実は特筆すべきであった (Chen et al. 2007). アゾキシストロビンは、チトクロム *bc1* 複合体の Qo 部位にある ATP 合成を行うユビキノールと結合する。これにより、電子伝達系が阻害されることで、ミトコンドリアの呼吸を妨げるという非常に選択性の高い殺菌剤であり、ブドウベと病菌を含む多くの病原菌対策として使用されている (Gisi et al. 2002). このような作用機構から、アゾキシストロビンは Qo Inhibitor (QoI) 剤のグループに分類される。しかしながら、QoI 剤に耐性を示すブドウベと病菌は QoI 剤使用開始直後の 1999 年にフランスとイタリアで発見された (Heaney et al. 2000). フランスでは 1997 年、イタリアでは 1998 年に QoI 剤が登録されている。日本では 1997 年に登録されたが、しばらくは QoI 剤耐性ブドウベと病菌の報告はなされなかった。しかし、2009 年、日本で初めてとなる QoI 剤耐性ブドウベと病菌の報告が山梨大学ワイン科学研究センターからなされ (Furuya et al. 2009), その後、北海道を除く日本各地で QoI 剤耐性ブドウベと病菌が確認された (Furuya et al. 2010). この報告により、先の山梨県の事例においても QoI 剤耐性ブドウベと病菌の感染拡大がひとつの要因であると考えられ、2012 年山梨県のブドウ防除暦から QoI 剤が削除された。

ブドウベと病菌は絶対寄生菌であるため、他の病原菌のような人工培養ができない。人工培養が可能な病原菌は、寒天培地上で生育増殖するため、新しい培地に植え継いでの長期継代保存が可能である。これを応用し、培地に所定濃度の農薬を含有させることで、圃場から分離した病原菌の農薬に対する感受性を検定する農薬耐性試験も可能となる。しかし、ブドウベと病菌のような絶対寄生菌は人工培養ができないため、

常時宿主となる植物の葉上で病原菌を継代培養しなければならず、農薬耐性試験も容易ではない。このような状況から、ブドウベと病菌の農薬耐性試験は、ブドウ葉から切り取ったリーフディスク等を用いる比較的手間、時間、そして研究者の経験に左右されやすい方法が用いられてきた (Wong et al. 2000). しかし、近年、分子生物学的手法を応用することによりブドウベと病菌の農薬耐性菌の検出が可能となってきている。QoI 剤に関しては、QoI 剤の標的タンパク質であるチトクロム *b* のアミノ酸変異がブドウベと病菌の耐性獲得に関与している。すなわち、チトクロム *b* の 143 番目のコドンが通常 GGT (グリシン) であるが、GCT (アラニン) に変換されると、ブドウベと病菌は QoI 剤に対して耐性を獲得する (Grasso et al. 2006). 先の Furuya ら (Furuya et al. 2009) の報告では、この一遺伝子置換を検出するために PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragments length polymorphism) 法を応用し、圃場のブドウベと病菌から DNA を抽出するだけで簡単に QoI 剤に対する耐性を判断することに成功したため、現在では QoI 剤耐性ブドウベと病菌のモニタリングは難しいものではなくなった。

QoI 剤耐性ブドウベと病菌の発生メカニズムは分かかっておらず、QoI 剤の連続的な使用による選択圧により出現するとだけ推察されている。しかし、どのような防除体系が耐性菌の出現に関与するかはいまだ明らかになっていない。本論文では、Furuya ら (Furuya et al. 2010) の報告時点において QoI 剤ブドウベと病菌の出現が確認されていなかった北海道の 2 つの圃場における 9 年間にわたるモニタリング調査から、QoI 剤の防除圧が QoI 剤耐性ブドウベと病菌の出現にどのように関与しているか検討した。

## 材料および方法

### 1) ブドウベと病菌の収集

2008 年から 2016 年に渡って、北海道ワインおよび富良野市ぶどう果樹研究所が北海道に所有するブドウ園 (本論文ではそれぞれ A 園および B 園とする) よりブドウベと病の標徴が肉眼で確認できる罹病葉を分譲して頂いた。罹病葉のサンプリングは 10 月に実施した。10 月にサンプル採集を行った理由としては、収穫後の防除が一通り終了する 9 月以降の採集を目指したこと、ブドウの糖熟を待ったこと、サンプル数が多いためワ

イナリーの繁忙期を避けたこと, 以上の3点が理由となる。ブドウべと病菌の複数株による複合感染を除外するため, 明らかに単一病斑を形成している罹病葉のみを実験に供試した。本論文では, この基準で選抜した罹病葉に感染しているブドウべと病菌を1株と定義した。

## 2) ブドウべと病菌からのDNA抽出

ブドウべと病菌からのDNA抽出はREDEExtract-N-Amp Plant PCR Kits XANP (SIGMA)を用いて行った。ブドウべと病に感染した罹病葉から穴あけパンチを用いて標徴部をくり抜き, 直径6 mmのリーフディスクを得た。リーフディスクを1.5 mL容チューブに入れ, Extraction Solutionを50 µL加え, 10分間95°Cで処理した。その後, リーフディスクを取り出し, Dilution Solutionを50 µL加え攪拌したものをDNA溶液とした。

## 3) PCR-RFLP法によるQoI剤耐性ブドウべと病菌の検出

ブドウべと病菌のチトクロム*b*遺伝子配列を標的にしたPCR-RFLP法はFuruyaら(2010)の方法に準じた。以下簡便に述べる。10×PCRバッファー(タカラバイオ), 0.2 mM dNTP(タカラバイオ), 2 µMの各プライマー, 0.5 U Taq DNA polymerase(タカラバイオ)および1 µL DNA溶液を混ぜ, 最終的に6 µLの水を加え, 全量10 µLのPCR反応溶液とした。PCR反応条件は, 前処理として95°C 3分, その後95°C 20秒, 55°C 30秒, 72°C 30秒を1サイクルとして25サイクル行った。後処理として72°C 5分処理することで増幅を完了した。*P. viticola*のチトクロム*b*遺伝子(accession no. DQ459468)の295-315番目および626-607番目の塩基配列に相当する5'-GGGGTTTGTATTACGGATCT-3'および5'-GGATTATTTGAACCTACCTC-3'をPCRプライマーとした。制限酵素*ApeKI*(New England Biolabs)でPCR反応物を75°Cで16時間処理した後, 2%アガロースゲルによる電気泳動を行い, *ApeKI*による切断パターンを確認した。

## 結果および考察

Furuyaら(2010)が確立したQoI剤耐性ブドウべと病菌検出法では, QoI剤耐性ブドウべと病菌のチトクロム*b*のアミノ酸変異を標的としてPCR-RFLP法によるバンドの切断パターンによって判断する。例として, QoI剤感受性べと病菌とQoI剤耐性ブドウべと病菌の

検出例をFigure 1に示した。山梨大学育種試験地から採取した2007年の株(Fig. 1A)はPCR産物がいずれも制限酵素*ApeKI*で切断されておらず330 bp付近にバンドが出現している。一方, 2010年の株(Fig. 1B)はPCR産物が制限酵素で切断され200 bpと130 bp付近にバンドが出現した。これらPCR産物のDNA塩基配列を調べた結果, 2007年の株はすべてチトクロム*b*の143番目のコドンがGGT(グリシン)だったのに対し, 2010年の株はGCT(アラニン)に変異していた。QoI剤耐性を示す菌株は, チトクロム*b*の143番目のコドンがGCT(アラニン)に変換されていること(以下, G143Aと呼ぶ)が確認されている(Grasso et al. 2006)。このことから, Furuyaらの検出法によりQoI剤耐性ブドウべと病菌を正確に検出できると判断した。

2008年から2016年に渡って, 北海道のA園, B園から合計999株(A園: 757株, B園: 242株)のブドウべと病菌を採集した。これらの株を用いたQoI剤耐性ブドウべと病菌検出結果をTable 1に示した。2008年から2013年まではいずれの圃場でもQoI剤耐性べと菌は検出されなかったが, 2014年のA園では131株中30株にG143Aが確認された。北海道においてQoI剤耐性ブドウべと病菌が確認されたのは本報告が初である。A園では, 2015年および2016年においても継続的にQoI剤耐性ブドウべと病菌が検出された。一方, B園では2016年まで一度もQoI剤耐性ブドウべと病菌が検出されなかった。

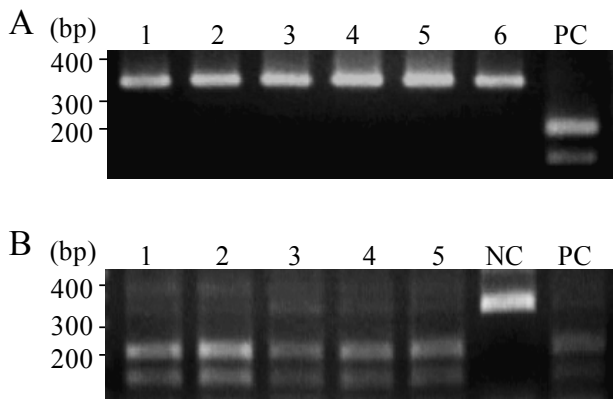
A園およびB園のQoI剤散布状況をTable 2にまとめた。2013年まではいずれの圃場もQoI剤の散布は実施していなかった。A園では2004年と2009年に一度ずつアゾキシストロビン(単剤)を散布した。その後, A園では2014年から年に2回のQoI剤散布をルーチン化しており, 6月にアゾキシストロビン(単剤)を, 7月にファモキサドン(シモキサニルとの混合剤)を散布した。一方, B園では2016年まで一度もQoI剤が散布されていなかった。農薬耐性菌は農薬を使用したから発生するのではなく, 自然界にもともとごく僅かに存在しているという考えが一般的である(Damicone J P et al. 2009)。以上のことに加えて, QoI剤耐性ブドウべと病菌検出結果(Table 1)とQoI剤散布状況(Table 2), そして罹病葉のサンプリングが収穫後の10月であったことを合せて考えると, A園で2014年にQoI剤耐性ブドウべと病菌が初めて検出された理由として, 年内にお

ける QoI 剤の連続的な散布に要因がある可能性が考えられた。A 園で使用された QoI 剤であるアゾキシストロビンならびにファモキサドンの両農薬は、無性生殖によるブドウベと病菌の 4 世代交代で QoI 剤感受性が 10%以下に低下することが知られている。さらに、ファモキサドンはアゾキシストロビンよりも選択圧が強いとも報告されており (Genet et al. 2006), シモキサニルと混合した場合でも QoI 剤感受性の低下を抑えきれなかった可能性が考えられた。2010 年に A 園から採取したブドウベと病菌は QoI 剤に感受性のべと病菌のみであったことから、単年度 1 回の QoI 剤散布は選択圧とならないことが示唆された。

A 園での G143A 検出率は 22.9%(2014 年), 7.6%(2015 年), 20.8%(2016 年)と、2014 年に初めて検出されてからの増加は認められなかった。Furuya ら (Furuya et al. 2010) の報告によれば、2008 年の山梨県では 25.3%であった QoI 剤耐性ブドウベと病菌が翌年には 56.5%まで増加していた。2011 年までの山梨県におけるブドウ防除暦では栽培末期の 9 月にクレソキシムメチル(単剤)の散布が推奨されていた。一方、北海道の A 園では、同タイミングに QoI 剤を散布しなかったことが QoI 剤耐性ブドウベと病菌の選択圧抑制に寄与したのかもしれない。農薬耐性菌の選択圧を高めるリスクがあるため、一般的には異なる作用機構を持つ殺菌剤をローテーションで使用する防除体系が推奨されている。A 園では、2014 年までは QoI 剤を使用しない代わりとして、ジアゾファミドを有効成分とする QiI 剤(チトクロム bc1 複合体の Qi 部位にある ATP 合成を行うユビキノールと結合)を使用してきた。Qo 部位と Qi 部位は 20Å と有意に離れているため、Qo 部位の構造変化による耐性獲得は Qi 部位に影響しないと考えられている (Mitani et al 2001)。

QoI 剤は、ブドウベと病を含めた多くのブドウ病害、例えば、黒とう病、灰色かび病、枝膨病、晩腐病、さび病などに対して効防除効果があるため、我が国のブドウ栽培において広く重宝されてきた。一方、北海道のブドウ栽培においても昨今の温暖化の進行に伴い、以前は北海道に発生しなかった梅雨前線による降雨数の増加などによりブドウベと病の感染が拡大している。これを抑えるために、圃場での農薬による防除回数は増加傾向にあり、農薬耐性菌発生のリスクが高まっている。Fungicide Resistance Action Committee (FRAC)

は農薬耐性獲得のリスクが高い病原菌のひとつとしてブドウベと病菌をリストアップしている (<http://www.frac.info/>)。したがって、今後も販売される新規化学合成農薬も耐性菌の出現に直面し、ブドウ栽培に携わる生産者や指導機関はその対策に追われることになる。QoI 剤が使用できなくなった北海道以外のブドウ栽培地では、カルボン酸アミド系殺菌剤、ピペリジニルチアゾールイソキサゾリン系殺菌剤が主流となりつつある。しかしながら、カルボン酸アミド系殺菌剤に耐性を付与する遺伝子変異が山梨県で採集されたブドウベと病菌から見つかっており (Aoki et al. 2015), また中国ではピペリジニルチアゾールイソキサゾリン系殺菌剤に耐性を付与する遺伝子変異が灰色疫病菌 (*Phytophthora capsici*) で同定されている (Miao et al. 2016)。今後我が国においても両薬剤に対する耐性ブドウベと病菌が出現すると思われる。このようなブドウ栽培における病害防除において不変と思われる状況を鑑みると、耐性菌に対応した新たな防除体系構築は必須であり、本研究のような農薬耐性ブドウベと病菌の発生状況をモニタリングし、それをもとにした防除圧の考察は、防除体系構築の指標となりうる。今後、他系統の農薬に対する調査が実施されれば、複数の農薬耐性ブドウベと病菌に対応した防除体系が確立できると考えられる。



**Figure 1. PCR-RFLP analysis of QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations.** (A) PCR-RFLP analysis was performed using QoI-susceptible *P. viticola* isolate nos. 1-6 collected from a test vineyard in the University of Yamanashi in 2007. (B) PCR-RFLP analysis was performed using QoI-resistant *P. viticola* isolate nos. 1-5 collected from a test vineyard in the University of Yamanashi in 2010. PC, QoI fungicide resistant cytochrome *b* gene fragment bearing single nucleotide mutation, G143A (199 bp and 132 bp). NC, QoI fungicide susceptible cytochrome *b* gene fragment (331 bp). Numbers on the left indicate positions of DNA molecular size markers.

**Table 1. Detection of QoI fungicide resistance in *P. viticola* populations isolated in Hokkaido**

| year | vineyard A |       | vineyard B |       |
|------|------------|-------|------------|-------|
|      | Tested     | G143A | Tested     | G143A |
| 2008 | 17         | 0     | 12         | 0     |
| 2009 | 7          | 0     | 18         | 0     |
| 2010 | 20         | 0     | 19         | 0     |
| 2011 | 72         | 0     | 32         | 0     |
| 2012 | 122        | 0     | 42         | 0     |
| 2013 | 22         | 0     | 27         | 0     |
| 2014 | 131        | 30    | 30         | 0     |
| 2015 | 260        | 20    | 30         | 0     |
| 2016 | 106        | 22    | 32         | 0     |

**Table 2. QoI fungicide application in vineyards tested**

| year | vineyard A   | vineyard B       |
|------|--|------------------|
|      | chemical (month)                                   | chemical (month) |
| 2004 | azoxystrobin (June)                                | N/A              |
| 2005 | N/A  | N/A              |
| 2006 | N/A  | N/A              |
| 2007 | N/A  | N/A              |
| 2008 | N/A  | N/A              |
| 2009 | azoxystrobin (June)                                | N/A              |
| 2010 | N/A  | N/A              |
| 2011 | N/A  | N/A              |
| 2012 | N/A  | N/A              |
| 2013 | N/A  | N/A              |
| 2014 | azoxystrobin (June)<br>cymoxanil/famoxadone (July) | N/A              |
| 2015 | azoxystrobin (June)<br>cymoxanil/famoxadone (July) | N/A              |
| 2016 | azoxystrobin (June)<br>cymoxanil/famoxadone (July) | N/A              |

N/A, No QoI fungicide was applied.

**要約**

ブドウべと病の発生はブドウの品質や収穫量に大きく影響する。化学合成農薬のQoI剤はブドウの成長初期段階においてブドウべと病を防除するために世界レベルで広く使用されてきたが、QoI剤耐性ブドウべと病菌の発生により使用が制限されている。我が国でも2009年にQoI剤耐性ブドウべと病菌が検出され、北海道を除いてQoI剤耐性ブドウべと病菌が蔓延していることが報告された。本研究では、QoI剤耐性ブドウべと病菌の発生、伝播および感染拡大を考察するために、これまでにQoI剤耐性ブドウべと病菌が検出されていない北海道を試験地としてQoI剤耐性ブドウべと病菌の発生調査を行った。2008年から2016年の9年間に、QoI剤をこれまで一度も散布したことのないB園ではQoI剤耐性ブドウべと病菌は検出されなかった。一方、2004年と2009年に1度ずつ、そして2014年からは年2度ずつQoI剤を散布したA園では、2014年に131株中30株がQoI剤耐性ブドウべと病菌であると診断された。その後、A園では2015年に採集した260株中20株が、2016年に採集した106株中22株がQoI剤耐性ブドウべと病菌であった。以上の結果から、通年複数回のQoI散布はQoI剤耐性ブドウべと病菌の選択圧となるが、単年度1回のQoI剤散布は選択圧とならないことが示唆された。

## 文献

- Aoki Y, Kawagoe Y, Fujimori N, Tanaka S, and Suzuki S. 2015. Monitoring of a single point mutation in the *PvCesA3* allele conferring resistance to carboxylic acid amide fungicides in *Plasmopara viticola* populations in Yamanashi prefecture, Japan. *Plant Health Prog.* **16**:84-87.
- Chen W-J, Delmontte F, Richard-Cervera S, Douence L, Greif C, and Corio-Costet M-F. 2007. At least two origins of fungicide resistance in grapevine downy mildew populations. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**:5162-5172.
- Damicone J P, Smith D L. 2009. Fungicide resistance management. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma State University. EPP-7663
- Furuya S, Mochizuki M, Saito S, Kobayashi H, Takayanagi T, and Suzuki S. 2010. Monitoring of QoI fungicide resistance in *Plasmopara viticola* populations in Japan. *Pest Manag. Sci.* **66**:1268-1272.
- Furuya S, Suzuki S, Kobayashi H, Saito S, and Takayanagi T. 2009. Rapid method for detecting resistance to a QoI fungicide in *Plasmopara viticola* populations. *Pest Manag. Sci.* **65**:840-843.
- Genet J L, Jaworska G, Deparis F. 2006. Effect of dose rate and mixtures of fungicides on selection for QoI resistance in populations of *Plasmopara viticola*. *Pest management science*, **62**:188-194.
- Gisi U, Sierotzki H, Cook A, and McCaffery A. 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to QoI inhibitor fungicides. *Pest Manag. Sci.* **58**:859-867.
- Grasso V, Palermo S, Sierotzki H, Garibaldi A and Gisi U. 2006. Cytochrome b gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. *Pest Manag. Sci.* **62**:465-472.
- Heaney S.P., Hall A.A., Davies S.A., and Olaya G. 2000. Resistance to fungicides in the QoI-STAR cross-resistance group: current perspectives, in Proc. Brighton Crop Protect Conf. – *Pests and Dis.*, BCPC, Farnham, Surrey, UK, pp. 755-762.
- Kennelly M M, Gadoury D M, Wilcox W F, Magarey P A, Seem R C. 2007. Primary infection, lesion productivity, and survival of sporangia in the grapevine downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytopathology.* **97**:512-522.
- 岸国平. 1998. 日本植物病害大事典 全国農村教育協会 pp,853.
- Miao J, Cai M, Dong X, Liu L, Lin D, Zhang C, Pang Z, and Liu X. 2016. Resistance assessment for oxathiapiprolin in *Phytophthora capsici* and the detection of a point mutation (G769W) in PcORP1 that confers resistance. *Front Microbiol.* **7**:1-14.
- Mitani S, Araki S, Takii Y, Ohshima T, Matsuo N, Miyoshi H. 2001. The biochemical mode of action of the novel selective fungicide cyazofamid: specific inhibition of mitochondrial complex III in *Phythium spinosum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* **71**:107-115.
- Polesani M, Desario F, Ferrarini A, Zamboni A, Pezzotti M, Kortekamp A, Polverari A. 2008. cDNA-AFLP analysis of plant and pathogen genes expressed in grapevine infected with *Plasmopara viticola*. *Bmc Genomics.* **9**: 142.
- 綿打享子. 2012. 山梨県のブドウべと病防除におけるベトファイター顆粒水和剤の使用について. *農薬時代.* 第193号.
- Wong F.P., and Wilcox WF. 2000. Distribution of baseline sensitivities to azoxystrobin among isolates of *Plasmopara viticola*. *Plant Dis.* **84**:275-281.