

# 日本におけるフェニルアマイド系殺菌剤耐性の ジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) の発生

堀田 治邦\*<sup>1</sup> 故谷井 昭夫\*<sup>2</sup>

1989年、十勝地方の馬鈴しょ栽培地でフェニルアマイド系薬剤を使用した圃場に疫病が多発し、問題となった。これら圃場の罹病葉から疫病菌を分離し、同系薬剤に対する感受性検定を行った。メトラキシル剤に対してライ麦A寒天培地を用いた検定ではすべての菌株が耐性菌で耐性強度が異なる3群(弱、中および強耐性菌)に分かれた。Tuber diskを用いた検定法でも同様に3群に分かれ、ライ麦A寒天培地での結果と良く対応していたが、そのMICは低かった。すべてのメトラキシル剤耐性菌はオキサジキシル剤に対しても耐性を示した。しかし、メトラキシル剤で見られた3菌群は、オキサジキシル剤に対し、ライ麦A寒天培地を用いた検定で同一の耐性程度となった。また、Tuber diskを用いた検定では2群の耐性菌群に分かれ、中間耐性を示す菌群はメトラキシル弱耐性菌、強耐性菌はメトラキシル中耐性菌と強耐性菌を合わせたものと一致した。塊茎スライスを用いた検定法では弱耐性菌は検出されず、中耐性菌以上が検出された。

## I 緒言

ジャガイモ疫病は馬鈴しょの生産上最も重要な病害である。そのため、従来から保護剤である各種薬剤(銅剤、マンゼブ剤、TPN剤など)がその防除に広く用いられてきた。1980年代の中頃になって、これらに加え、浸透移行性のフェニルアマイド系薬剤(メトラキシル、オキサジキシル)を含む混合剤の使用は増加していた。

フェニルアマイド系薬剤は浸透移行性および残効性に優れ<sup>1)</sup>、防除効果が高い反面、耐性菌の発生し易いことが指摘されていた<sup>5,7,12)</sup>。このため、耐性菌の発生を防止するため、使用は薬剤散布の前半3回以内、散布間隔は2週間以内が推奨されてきた。

しかし、1989年7月下旬、十勝管内の浦幌町、豊頃町と同系薬剤を使用した圃場で本病が多発し、本病に対する同系薬剤の耐性菌の発生が懸念された。そのため、これら圃場から罹病葉を採取し、本病菌を分離するとともに、フェニルアマイド系薬剤に対する感受性を試験した。本報では感受性検定の結果と発生した耐性菌の諸性質について報告したい。

## II 試験方法

### 1. 病原菌の採取と分離

豊頃町および浦幌町でフェニルアマイド系薬剤を使用し、防除効果が低かった圃場を対象に薬剤の散布状況の調査と罹病葉の採取を行った。また、同系薬剤の散布歴のない十勝農試予察圃場(芽室町)からも罹病葉を採取した。採取後、新聞紙を袋状にしたバックに入れて持ち帰り、5°Cに保存し、順次分離を行った。分離法はSatoらの方法<sup>14)</sup>に従った。すなわち、5°C下で貯蔵したジャガイモ塊茎(「メークイン」)を約1cm程度のスライスとし、これをプラスチックケースに並べ、これに1~2cmの罹病葉切片を載せ、20°C下で培養した。4~6日後、スライス上に生じた菌叢を白金針で掻き取り、形成された遊走子のうを滅菌水に懸濁した。懸濁液を5段階希釈し、滅菌した脱脂綿を用いて新しい塊茎スライス上に塗布した。20°C下、6~7日間培養後、生じた菌叢から、ライ麦A寒天培地<sup>2)</sup>(1日間流水に浸したライ麦種子60gを300mlの蒸留水に1日間浸漬。その後、浸漬液を別に移し、ライ麦粒をミキサーで磨砕後、蒸留水を加え、50°C、3時間抽出。濾液に浸漬液を加え、しょ糖20g、寒天15gを加え、蒸留水で1ℓとし、オートクレーブで滅菌)の小片で遊走子のうを釣る、これを同寒天培地平板に置床して、20°C下で培養し供試菌株とした。

### 2. ライ麦A培地を用いた検定

ライ麦A寒天培地<sup>2)</sup>を用いて感受性検定を行った。メトラキシルおよびオキサジキシルを2ppmおよび200

1997年11月25日受理

\*<sup>1</sup> 北海道立十勝農業試験場(現北海道立花・野菜技術センター, 073-0026 滝川市東滝川)

\*<sup>2</sup> 同上(故人)

Table 1 Strains of *Phytophthora infestans* used in this study.

Resistant group*	Strain	Field	Location	Cultivar
R1	6-1, 6-2, 6-3, 6-4, 6-5	T1	Toyokoro	Eniwa
	7-1, 7-2, 7-3, 7-4, 7-5	T2	Toyokoro	May Queen
	8-1, 8-2, 8-3, 8-4, 8-5	T3	Toyokoro	May Queen
R2	1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5	U1	Urahoru	Hokkaikogane
	2-1, 2-3, 2-4, 2-5	U2	Urahoru	May Queen
	4-1, 4-2, 4-3	U4	Urahoru	Irish Cobbler
	5-3	U5	Urahoru	?
	9-2	T4	Toyokoro	Waseshiro
R3	10-2, 10-5	T5	Toyokoro	Toyosiro
	3-1, 3-2, 3-3, 3-4	U3	Urahoru	May Queen, Waseshiro
	4-4	U4	Urahoru	Irish Cobbler
	5-1, 5-2, 5-4, 5-5	U5	Urahoru	?
	9-3, 9-5	T4	Toyokoro	Waseshiro
S	10-3, 10-4	T5	Toyokoro	Toyosiro
	C-1, C-2, C-3, C-4	M1	Memuro	Irish Cobbler

\* R 1=high level resistance, R 2=immediate level resistance, R 3=low level resistance, S=sensitive.

ppm含有する同培地平板に、予め5日間前培養した検定菌株を5mm径のコルクボーラーで打ち抜いて置床し、20°C、5日間培養後に菌叢の直径を測定した。試験は2反復で行った。

また、耐性強度の異なる3菌群および感受性菌群についてそれぞれ2菌株を供試し、メタラキシルおよびオキサジキシル剤を0.02, 0.2, 1, 2, 20, 200, 1,000 ppmとなるよう添加し、前出の方法で検定した。なお、培養は7日間、2反復で行った。

### 3. Tuber disk を用いた検定

方法は Kadish and Cohen<sup>9)</sup> に準じた。すなわち、ジャガイモ塊茎(「男爵薯」)を電動スライサーで3mm厚のスライスとし、これを2cm径のコルクボーラーで打ち抜き、Tuber disk とした。これらを薬剤を十分に浸み込ませたろ紙上に静置し、これに孢子懸濁液(約 $2 \times 10^4$ 個/ml)をdisk当たり10 $\mu$ l接種し、1菌株当たり10個のTuber disk に接種した。その後、20°Cで7日間培養し、菌叢が形成されたdisk数を調査した。検定薬剤のメタラキシルおよびオキサジキシルの濃度はそれぞれ0.1, 25, 200 ppmとし全供試菌株を試験した。また、耐性強度が異なる3菌群および感受性菌群の中から2菌株ずつを供試し、0.02, 0.2, 1, 2, 20, 200, 1,000 ppmの濃度で同様に試験した。

### 4. 塊茎スライスをを用いた検定

厚さ8~10mmの塊茎スライス(「メークイン」)を用い、これをメタラキシル200ppmの水溶液に数秒間浸漬、風乾後、プラスチックケースに並べ、0.1mlの遊走子の懸濁液をスライス当たり3ヶ所接種した。20°C、

Table 2 Application of phenylamide fungicides in potato fields where effective and reliable control of late blight was not observed.

Field*	Total	Metalaxyl + mancozeb	Oxadixyl + copper	Oxadixyl + TPN
T1	3	3		
T2	2	2		
T3	2	2		
T4	2	1		1
T5	2	2		
U1	2	2		
U2	2	2		
U3	2		2	
U4	2	2		
U5	?			

\* T1~T5: Toyokoro, U1~U5: Urahoru

6日間培養後、スライス上の菌叢の生育および遊走子の形成の有無を調査した。接種遊走子の濃度は菌株により異なり、 $1.0 \times 10^4 \sim 1.2 \times 10^6$  個/mlを接種した。試験は3反復で行った。

## III 試験結果

### 1. 疫病菌の採取と分離

豊頃町および浦幌町でフェニルアマイド系薬剤を使用し、かつ防除効果の低下した圃場は10筆であった。同圃場と芽室町の農試圃場から疫病菌を分離し、48菌株を得た(Table 1)。これら圃場ではフェニルアマイド系薬剤を防除開始から2~3回使用していた(Table 2)。

2. ライ麦A寒天培地を用いた感受性検定

全分離株について2, 200 ppmで感受性を検定した結果、メタラキシル剤では2および200 ppmで菌糸の伸長程度が異なる菌株が得られた。これらは2 ppmおよび200 ppmで1.5cm以上の菌糸伸長が認められる菌群、2 ppmで菌糸伸長が良好で200 ppmで抑制される菌群、2 ppmで菌糸伸長が抑制されるが、菌糸の伸長は見られる菌群であった。これらを強耐性菌、中耐性菌および弱耐性菌(以下それぞれR1, R2およびR3菌と略す)と呼称した。現地圃場から得られた44菌株のうち15菌株が強耐性菌、16菌株が中耐性菌、13菌株が弱耐性菌であった(Table 1)。オキサジキシル剤では200 ppmですべての菌株が良好な生育を示した。芽室町分離株はメタラキシルおよびオキサジキシル剤ともに2 ppmで菌糸伸長が抑制され、感受性菌(以下S菌と略す)であった。

耐性強度の異なる菌群の代表菌株を用いて、メタラキシルおよびオキサジキシル剤の詳細な濃度で検定した結果、メタラキシル剤では菌糸伸長が抑制される薬剤濃度はR1菌で200~1,000 ppm, R2菌で20~200 ppm, R3菌で2~20 ppm, S菌は0.02~0.2 ppmであった。オキサジキシル剤ではいずれの菌群も200~1,000 ppmで、S菌は0.2~1 ppmであった(Figure 1, Table 3)。

3. Tuber diskを用いた感受性検定

メタラキシル剤に対する反応は、ライ麦A培地で検定した結果と同様、3つの菌群に類別された。R1菌の菌叢形成率は25 ppmで92%, 200 ppmで21.3%, R2菌は0.1 ppmで95%, 25 ppmで0.5%, R3菌は0.1 ppmで42.3%, 25 ppmで0%であった。オキサジキシル剤ではR1, R2菌とも200 ppmでの菌叢形成率は高かったが、R3菌は25 ppmで66.2%, 200 ppmで33.8%と抑制された。一方、S菌はメタラキシル剤の0.1 ppmで2.5%, オキサジキシル剤の0.1 ppmで30%の菌叢形成率に留まった(Figure 2)。

また、代表菌株における詳細な生育阻止濃度を検定した結果、メタラキシル剤に対し、R1菌は200~1,000 ppm, R2菌は2~20 ppm, R3菌は0.02~0.2 ppm, S

菌は0.02~0.2 ppmであった。オキサジキシル剤に対してはR1, R2菌は1,000 ppm以上, R3菌は20~200 ppm, S菌は0.2~1 ppmであった(Table 3, Table 4)。

4. 塊茎スライスを用いた感受性検定

塊茎スライス上における菌叢生育および孢子形成についてはR1菌はすべての菌株に認められた。R2菌は16菌株中13菌株で認められた。R3およびS菌はいずれも

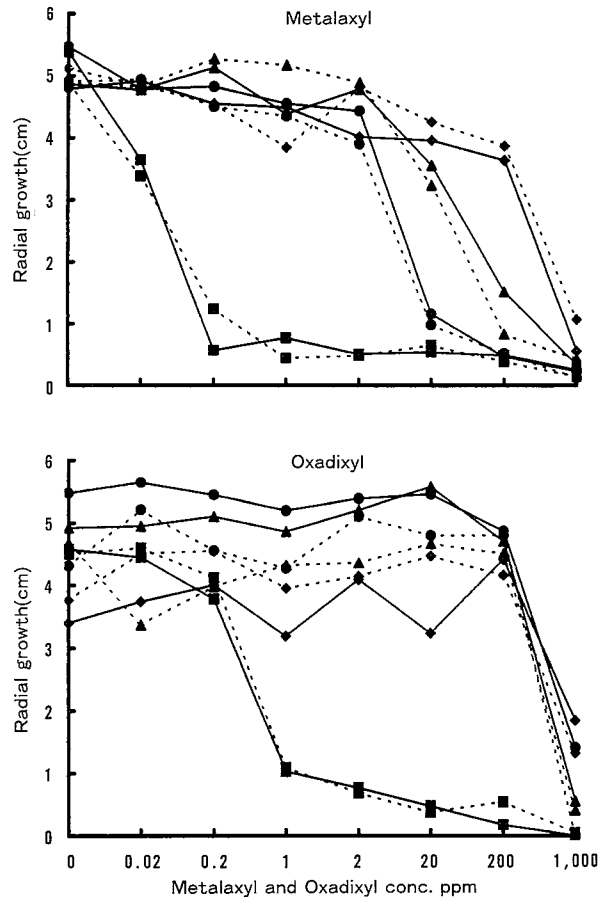


Figure 1 Dose responses of some resistant and sensitive strains to phenylamide fungicides at 7 days after inoculation on Rye A agar.

◆ 6-1) R1 ▲ 2-3) R2 ● 9-3) R3 ■ C-1) S  
 ... 8-1) ... 4-1) ... 10-3) ... C-2) S

Table 3 Comparison of resistant groups having different degrees of resistance to metalaxyl and oxadixyl on rye A agar and tuber disk.

Resistant group*	Metalaxyl		Oxadixyl	
	Rye A agar	Tuber disk	Rye A agar	Tuber disk
R1	+++ (200~1,000)**	+++ (20~200)	+++ (200~1,000)	+++ (>1,000)
R2	++ (20~200)	++ (0.2~2)	+++ (200~1,000)	+++ (>1,000)
R3	+ (2~20)	+ (0.02~0.2)	+++ (200~1,000)	++ (20~200)
S	- (0.02~0.2)	- (<0.02)	- (0.2~1)	- (0.2~1)

\* R1=high level resistance, R2=immediate level resistance, R3=low level resistance, S=sensitive.

\*\* degree of resistance (inhibition level, ppm)

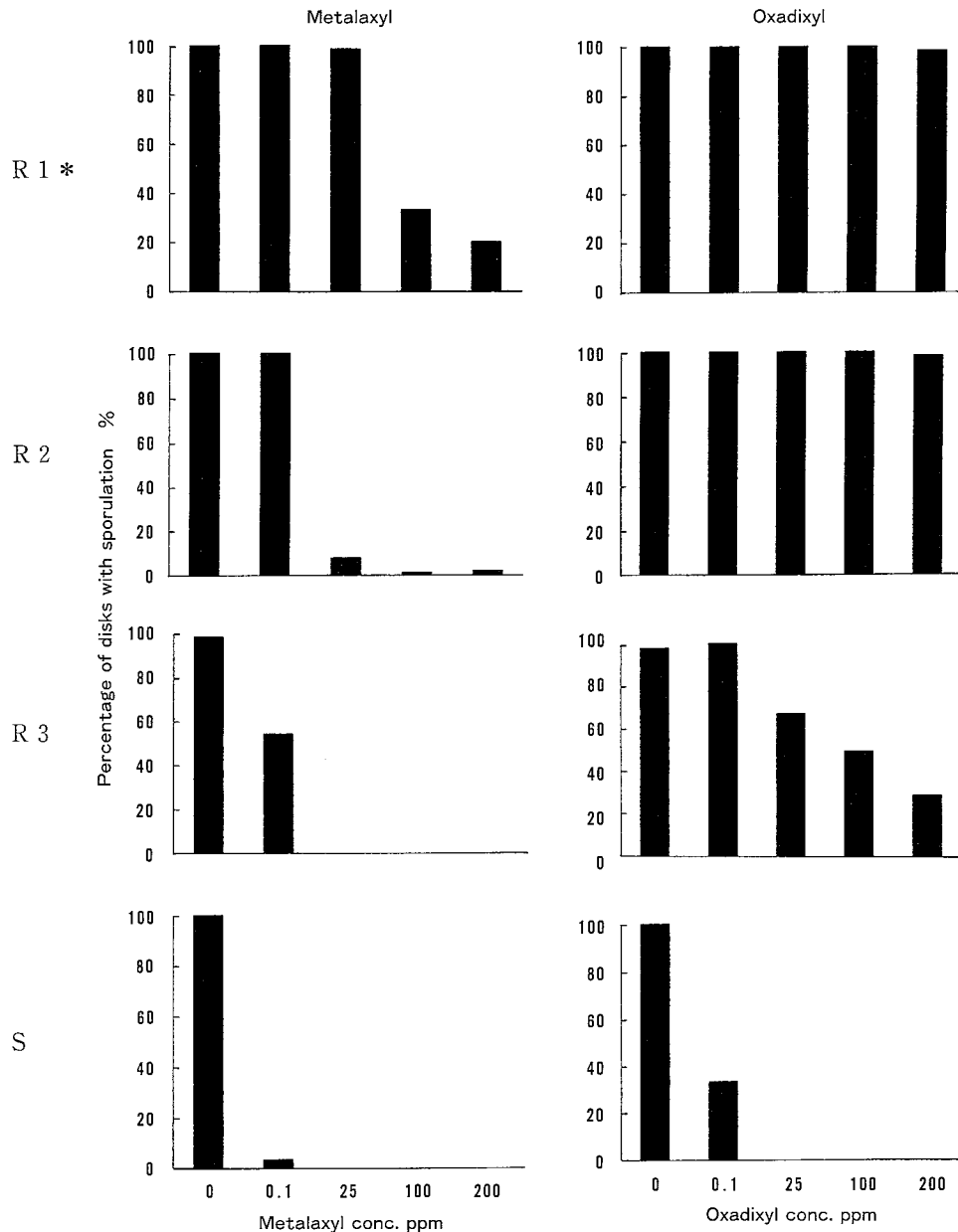


Figure 2 Resistant difference of *Phytophthora* strains on tuber disks in the presence of phenylamide fungicides.

\* R 1=high level resistance, R 2=immediate level resistance,  
R 3=low level resistance, S=sensitive.

生育および形成が認められなかった (Table 5)。

#### IV 論 議

疫病菌に対するフェニルアミド系薬剤は1987年頃から使用されたが、本試験の結果から1989年に採取した菌株で耐性菌の発生が確認された。これら耐性菌の発生は本邦において報告がなく、初確認であった。加藤ら<sup>11)</sup>および辻本ら<sup>18)</sup>も同年の北海道分離株において耐性菌の発生を確認し、前年(1988年)の菌株では見られなかったという。これらのことから使用からわずか3年目で耐

性菌が発生した。同系薬剤に対する耐性菌は諸外国で報告され<sup>5,7,12)</sup>、本邦でもキュウリのべと病菌<sup>17)</sup>で発生している。いずれも使用から短期間で耐性菌が発生し、本試験に類似した発生様式が示されている。また、耐性菌は同系の薬剤間で交差耐性が認められているが<sup>9)</sup>、本試験でも明らかにメタラキシル剤とオキサジキシル剤において交差耐性が認められた。

しかし、両薬剤に対する耐性強度を比較すると明らかに異なり、メタラキシル剤に対して中間的耐性を示す菌群(弱および中耐性菌)が得られた (Table 3)。これら

Table 4 Reaction of presented strains of resistant groups on tuber disks in the presence of phenylamide fungicide.

Resistant group*	Strain	Infected tuber disks															
		Metalaxyl (ppm)								Oxadixyl (ppm)							
		0	0.02	0.2	1	2	20	200	1,000	0	0.02	0.2	1	2	20	200	1,000
R1	6-1	10	10	10	10	10	10	1	0	10	9	10	10	10	10	10	10
	8-1	10	10	10	10	9	10	1	0	10	10	10	10	10	10	10	10
R2	2-3	10	10	10	5	4	0	0	0	10	10	10	10	10	10	8	8
	4-1	10	10	10	1	1	0	0	0	10	10	10	10	10	10	10	5
R3	9-3	10	10	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	7	0	0
	10-3	10	7	0	0	0	0	0	0	10	9	10	10	10	7	0	0
S	C-1	10	2	0	0	0	0	0	0	10	10	9	0	0	0	0	0
	C-2	9	3	0	0	0	0	0	0	9	9	10	0	0	0	0	0

\* R 1=high level resistance, R 2=immediate level resistance, R 3=low level resistance, S=sensitive.

Table 5 Pathogenicity of strains of different resistant groups to tuber slices (cv. Irish Cobbler) dipped into 200 $\mu$ g/ml solution of metalaxyl

Resistant group*	Number of inoculated strains	Number of sporulated strains
R1	15	15
R2	16	13
R3	13	0
S	1	0

\* R 1=high level resistance, R 2=immediate level resistance, R 3=low level resistance, S=sensitive

中間的耐性を示す菌株の存在についてはいくつかの記載がある<sup>3,10,11)</sup>。Shattock<sup>15)</sup>は耐性菌と感受性菌とを交配させ、その後代について感受性検定を行い、F<sub>1</sub>世代に中間的耐性を示す菌群が多数出現する結果を得た。さらにもどし交配を行った試験などから、不完全優性を示す一遺伝子が疫病菌の耐性化に関与していることを指摘した。本試験ではフェニルアミド系薬剤の散布が2回程度と少なく、また、8月上旬に採集したサンプルを用いたため、薬剤による選択圧が低く、疫病菌の世代も初期段階のものが採取されたため、中間的耐性を持つ菌株が多数得られたと考えられる。

十勝地方で防除効果の低下した圃場では耐性菌がほぼ100%に達していたが、これはフェニルアミド系薬剤を数回散布した後での結果である。Sozzi and Staub<sup>16)</sup>はメトラキシル剤処理前と処理後の耐性菌比率をリーフディスク上で試験し、耐性菌率が1%程度でディスク上の孢子形成が見られ始める結果を得た。混合剤(メトラキシル・マンゼブ)ではメトラキシル単剤に比べ、耐性菌比率の上昇を遅らせることができるが、さらに連用す

ると耐性菌の発達は増加に転ずる<sup>4)</sup>。また、散布前の耐性菌比率が10%程度で混合剤(オキサジキシル・マンゼブ)を4回散布すると耐性菌率は100%となった事例もある<sup>13)</sup>。混合剤を用いる意義は耐性菌の出現を遅らせることにあるが、急激な発病が起こった場合には適用できず、発病初期の蔓延が明らかに低い場合に有効であるとしている<sup>4)</sup>。十勝地方の耐性菌発生圃場では既に存在していた耐性菌密度は高かったと考えられ、2回程度の薬剤散布による選択圧によって耐性菌が優占し、ほぼ100%の耐性菌率となったと考えられる。

また、耐性菌が発生したとしても、自然条件下における病斑形成などの適応力が劣れば、耐性菌の問題は少なく済む。これらに対して耐性菌と感受性菌の適応力に関する要素を比較した報告では、耐性菌の感染頻度および孢子形成能力は有意な要素とはならないが、形成病斑が大きいことが有意な要素となることが述べられている<sup>8,10)</sup>。以上の結果は耐性化した疫病菌が植物体上で十分に適応し、次年度の感染源となりうることを意味している。

フェニルアミド系薬剤の耐性菌の発達はその使用頻度と大きな関係があり、混合剤を用いても耐性菌の密度は増加する<sup>6)</sup>。そのため耐性菌の発生が確認された十勝地方などでは既に同系薬剤の使用を中止している。また、耐性菌の未発生地域でも発生が懸念されることから、基幹薬剤として使用しないことが求められている。しかし、感受性菌に対して同系薬剤は病斑拡大、孢子形成および遊走子のうの生成などを劇的に抑制する<sup>1)</sup>。耐性菌の発生が認められない、あるいはその密度が低い圃場ではフェニルアミド系薬剤の使用はなお有効と考えられるので、薬剤使用の判定基準として耐性菌密度のモニタリングが重要な事項となってくる。

本試験では検定法としてライ麦A寒天培地法, Tuber disk 法および塊茎スライス法を用いて比較したが, ライ麦A寒天培地法および Tuber disk 法はメタラキシルに対する耐性程度の異なる菌群をすべて検出できた。また, Tuber disk 法はオキサジキシルで検定した場合でも弱耐性菌を区別して検出でき, 検出精度は最も高かった (Figure 2, Table 4)。一方, 塊茎スライス法は 200 ppm 濃度のみでの検定であるが, 中耐性菌株をすべて検出できず, 検定精度は低い (Table 5)。さらに, Tuber disk 法は検定時の使用薬量が少ないこと, 反復を多くとることができ, データが安定的であるなどの利便性も高い。以上のことから, Tuber disk 法は最も有効な検定法と考えられた。なお, 検定時に使用する塊茎は一般的な実用品種 (「男爵薯」など) を用い, フェニルアマイド系薬剤の散布歴がないものを用いる。また, 塊茎は収穫直後から催芽前のものであれば十分使用が可能である。

今後は耐性菌の発生動向をふまえ, 適正な薬剤散布を維持することによって同系薬剤の有効性を発揮できるような散布体系を構築することが肝要である。

謝辞 本試験を行うに当たり, 試験法などに関し北海三共研究所 佐々木正人氏に多くのご助言をいただいた。サンプルの採取に際しては十勝東部普及所 (現十勝東部普及センター) のご協力をいただいた。中央農試病虫部宮島邦之部長および同畑作部大槌勝彦部長には本報の校閲をしていただいた。日本チバガイギー株式会社 (現ノバルティス・アグロ) および株式会社エス・ディ・エスバイオテックには薬剤の原体を提供していただいた。各位に厚く感謝の意を表す。

## V 参考文献

- 1) Bruck, R. I.; Fry, W. E.; Apple, A. E. "Effect of metalaxyl, an acylalanine fungicide, on developmental stages of *Phytophthora infestans*". *Phytopathology*. 70, 597-601 (1980).
- 2) Caten, C. E.; Jinks, J. L. "Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation". *Can. J. Botany*. 46, 329-348 (1968).
- 3) Cohen, Y.; Samoucha, Y. "Cross-resistance to four systemic fungicides in metalaxyl-resistant strain of *Phytophthora infestans* and *Pseudoperonospora cubensis*". *Plant Disease*. 68, 137-139 (1984).
- 4) Cohen, Y.; Samoucha, Y. "Selection for metalaxyl resistance in potato crops infected with *Phytophthora infestans*: effects of fungicides and initial frequency of resistant sporangia". *Plant Pathology*. 38, 382-390 (1989).
- 5) Davidse, L. C.; Looijen, D.; Turkensteen, L. J.; Van Der Wal, D. "Occurrence of metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields". *Neth. J. Pl. Path.* 87, 65-68 (1981).
- 6) Davidse, L. C.; Henken, J.; Van Dalen, A.; Jespers, A. B. K.; Mantel, B. C. "Nine years of practical experience with phenylamide resistance in *Phytophthora infestans* in the Netherlands." *Neth. J. Pl. Path.* 95, Suppl. 1, 197-213 (1989).
- 7) Dowley, L. J.; O'sullivan, E. "Metalaxyl-resistant strain of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Ireland." *Potato Research*. 24, 417-420 (1981).
- 8) Kadish, D.; Cohen, Y. "Competition between metalaxyl-sensitive and metalaxyl-resistant isolates of *Phytophthora infestans* in the absence of metalaxyl". *Plant Pathology*. 37, 558-564 (1988).
- 9) Kadish, D.; Cohen, Y. "Estimation of metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans*". *Phytopathology*. 78, 915-919 (1988).
- 10) Kadish, D.; Cohen, Y. "Fitness of *Phytophthora infestans* isolates from metalaxyl-sensitive and resistant population". *Phytopathology*. 78, 912-915 (1988).
- 11) 加藤雅康, Mosa, A. A., 佐藤章夫, 小林喜六, 生越明. "メタラキシル耐性ジャガイモ疫病菌の日本における分布". *日植病報*. 56, 145 (1990).
- 12) Reuveni, M.; Eyal, H.; Cohen, Y. "Development of resistance to metalaxyl in *Pseudoperonospora cubensis*". *Plant Disease*. 64(12), 1108-1109 (1980).
- 13) Samoucha, Y.; Gisi, U. "Use of two- and three-way mixtures to prevent buildup of resistance to phenylamide fungicides against *Phytophthora* and *Plasmopara*". *Phytopathology*. 77, 1405-1409 (1987).
- 14) Sato, N.; Kato, M.; Mosa, A. A.; Kobayashi, K.; Ogoshi, A. "A newspaper bag method for sample collection of blighted potato leaflets for isolation of *Phytophthora infestans*". *Ann. Phytopath. Soc. Japan*. 57, 573-576 (1991).
- 15) Shattock, R. C. "Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*". *Plant Pathology*. 37, 4-11 (1988).
- 16) Sozzi, D.; Staub, T. "Accuracy of methods to monitor sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamide fungicides". *Plant Disease*. 71, 422-425 (1987).

- 17) 竹内妙子. “フェニルアマイド耐性キュウリべと病菌の発生.” 日植病報. 56, 684-686 (1990).
- 18) 辻本一幸, 杉井信次, 横溝完二, 高松英明, 高桑亮. “北海道におけるジャガイモ疫病菌のフェニルアマイド剤感受性の推移—リーフディスク検定法による—”. 日植病報. 56, 145 (1990).

## Occurrence of Phenylamide-resistant Strain of *Phytophthora infestans* on Potato (*Solanum tuberosum* L.) in Japan

Harukuni HORITA\*<sup>1</sup> and Akio TANI\*<sup>2</sup>

### Summary

Late blight, caused by *Phytophthora infestans*, is the most destructive disease of potatoes in Japan. Prepacked mixtures of phenylamide fungicide and protectant fungicide have been formulated in 1987 and were widely used in commercial potato fields of Hokkaido, particularly Tokachi district. The systemic phenylamide fungicide effectively had inhibited the growth of causal pathogen and controlled the disease development in 1987-1988. In 1989, failure of the disease control, however, was observed in several fields of Tokachi where phenylamide fungicide was used. Since development of phenylamide-resistance might be involved, the sensitivity of the strains to metalaxyl and oxadixyl was determined by two methods using rye A agar plates and tuber disks. Resistance to metalaxyl was observed on all strains and the degree of resistance distinctly divided into three groups on rye A agar. Of the 44 strains, 15 had high resistance, 16 had medium resistance and 13 had low resistance. On tuber disks resistance were also divided into three groups but degree of resistance became lower than that on rye A agar. All the strains resistant to metalaxyl also showed resistance to oxadixyl. However the three groups, having different degrees of resistance to metalaxyl, showed the same degree of resistance to oxadixyl on rye A agar. Resistance on tuber disks was divided into two different degrees of resistance. The strains of intermediate resistance were the same strains as of low resistance and those of high resistance were the same strains as of medium and high resistance to metalaxyl. No fungal sporulation was observed in strains of low resistance to metalaxyl on tuber slice (10mm thick) dipped into 200 $\mu$ g/ml solution of metalaxyl.

\*<sup>1</sup> Hokkaido Prefectural Tokachi Agricultural Experiment Station (present: Hokkaido Prefectural Ornamental plants and Vegetables Research Center, Takikawa, Hokkaido, 073-0026 Japan.)

\*<sup>2</sup> ibid (the deceased)