

特集：QoI 剤耐性菌の発生状況とその対策

静岡県における QoI 剤耐性チャ輪斑病菌の発生とその対策

静岡県農林技術研究所 茶業研究センター 生産環境科 と がわ まさ ゆき
外 側 正 之

はじめに

チャ輪斑病は、糸状菌 *Pestalotiopsis* 属 (旧: *Pestalotia* 属) 菌によって生じるチャの代表的な病害であり、葉に褐色で年輪模様を有する斑点を生じる。病斑上にはやがて黒点が散在するようになるが、これは分生子層と呼ばれる皿状の器官で、この上 (中) に多量の無性胞子を形成する。本病原として *P. longiseta*, *P. theae* の2種が知られているが、病原性が強く日本国内で本病を引き起こしているのは、実質的に *P. longiseta* 1種と考えてよい。チャ炭疽病が明治時代から既に重要病害であったのに対し、輪斑病が問題となるのは、1970～75年ころ (昭和40年代後半)、感受性品種‘やぶきた’が広く普及してからである。さらに、手摘みの時代から可搬型摘採機 (図-1)・乗用型摘採機といった機械摘みに切り替わったことも本病による被害を大きくした要因であった (堀川, 1984)。傷口の有無に関係なく、葉裏の毛茸 (もうじ) から感染し発病が可能な炭疽病菌と異なり、輪斑病は発病に傷口を必要とするため、摘採機によって葉の切断痕が多量に形成された結果、輪斑病の発生が大幅に増加した。発病に傷口が必要なことから、輪斑病は原則として葉先の摘採痕から発病が始まる (図-2)。葉縁から発病が始まる場合にも、何らかの傷口が必ずあるので、本病と同様に褐色の斑点を生じる他の病害との識別に役立つ。なお、「傷口」が「侵入・感染に必要」ではなく「発病に必要」と記していることに注目されたい。輪斑病菌は健全なチャ葉内部に潜在感染している (成澤, 1988)。*Pestalotiopsis* 属菌の有する内生菌的な性質 (渡辺・小野, 2010) から考えても、侵入・感染に傷口を必須とはしていないと考えられる。したがって、感受性品種の傷口に蓄積される何らかの物質が病徴の発現に関与しているのではないかと筆者は考えている。カミソリのような鋭利な刃物で生じた傷口 (堀川, 1990) や、注射器を用いて

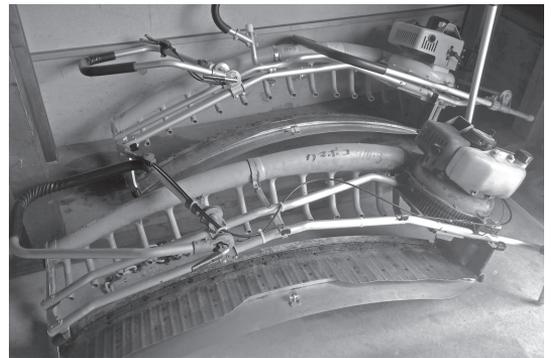
胞子を直接葉肉内に注入する人工接種 (外側, 未発表) では発病効率が極めて低いことも、そうした推測をさせる理由である。

また、輪斑病菌が茎・枝の傷口から侵入し菌糸伸長が進むと「枝枯れ」および「新梢枯死症」を引き起こすが、「新梢枯死症」の発生には気象や植物体側の生理的面など複数の要因が複雑に絡み合っていることが推察され、輪斑病菌と傷口の存在だけでは発症に至らない。

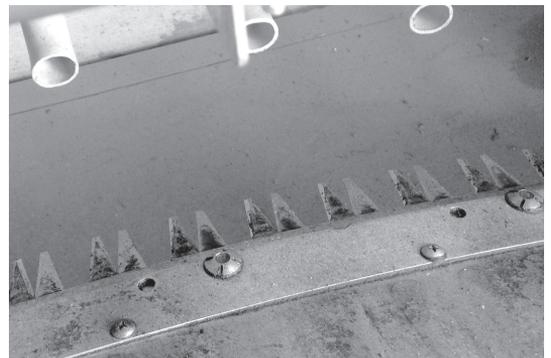
I 輪斑病防除の歴史

1 QoI 剤がチャに登録されるまで

表-1に「静岡県 農薬安全使用指針・農作物病害虫防除基準」(静岡県, 1975～; 以下、「防除基準」と記す)



(a) 可搬型摘採機



(b) 可搬型摘採機 (刃の部分拡大)

図-1

Occurrence and Chemical Control Method of QoI-Resistant *Pestalotiopsis longiseta* (Pathogen of Gray Blight of Tea) in Shizuoka Prefecture. By Masayuki TOGAWA

(キーワード: チャ, 輪斑病, QoI 剤, アゾキシストロビン)

に掲載された輪斑病の防除薬剤を示す。本病が防除基準に登場するのは1975年が初めてでありその後、1978年にチオファネートメチル（商品名：トップジン M 水和剤）、1981年にはベノミル（商品名：ベンレート水和剤）が掲載される。すなわち治療効果のあるベンズイミダゾ

ール系殺菌剤の登場である。これにより防除効果が一気に高まったものの、数年後には耐性菌が出現し、使用開始後10年を待たずに1984年をもって防除基準への掲載が終了した。その後、約15年の間、ベノミル・TPN（商品名：スパグリル）が平成3年まで掲載されていたのを除き、予防剤のみで本病を防ぐ時代が続いた。



図-2 摘採痕から発病した典型的な病徴

2 QoI 剤の登録から耐性菌発生前まで

2000年に掲載されたアゾキシストロピン（商品名：アミスター 20フロアブル）、数年遅れで掲載されたクレソキシルメチル（商品名：ストロビーフロアブル）やトリフロキシストロピン（商品名：フリントフロアブル 25）はいずれも QoI 剤に属する治療効果の高い殺菌剤である。予防剤の場合、摘採後、時間の経過とともに防除効果が急速に低下していくため、摘採と散布を同じ日に行うことが推奨されているが、生産者にとっては作業上の困難を伴う。すなわち、午前中に摘採された茶葉は、その日のうちに製茶工場に持ち込み荒茶の段階まで仕上

表-1 静岡県におけるチャ輪斑病防除剤の変遷

	S 50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	H 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27							
銅	←																																															
チオファネートメチル			←																																													
TPN			←																																													
カブタホール						←																																										
ベノミル						←																																										
ベノミル + TPN										←																																						
カスガマイシン・銅											←																																					
スルフェン酸																←																																
イミノクタジン酢酸塩																←																																
イミノクタジンアルベシル酸塩																						←																										
フルオルイミド																						←																										
フルアジナム																						←																										
アゾキシストロピン																												←																				
クレソキシルメチル																													←																			
トリフロキシストロピン																														←																		
ベンジルカーバメート																																																

げなければ品質が大幅に低下するので、摘採日に散布しようとするれば、製茶とは別に人手が必要となる。茶価が高かったころはともかく、平成に入り徐々に茶価が下がってきた状況では散布用に人を雇うことが困難な時代になった。したがって、摘採3日後の散布でも高い防除効果が得られるQoI剤の登場は輪斑病多発地域にとって救いの剤となった。輪斑病防除をQoI剤に完全に頼り切るようになったのも、上記理由から、やむを得ない面があったものと考えられる。

3 QoI剤耐性菌の出現

2008年度に、鹿児島県においてアゾキシストロピンの防除効果が著しく低下している事例が見られた。薬剤耐性検定を行ったところ高度耐性菌(今回の文中では、現場で用いられている「実用濃度」に耐性を有する菌を意味する)が発生していることが判明した。さらにその後の調査で、鹿児島県内の広い範囲で耐性菌が分布していることや薬剤の効果が顕著に低下していることも判明した(尾松ら, 2010)。静岡県におけるアゾキシストロピンの使用実績や使用実態は、鹿児島県と大きな差がないことから、静岡県においても2009年度に耐性検定を行ったところ、耐性菌の発生が確認された。そのため、2010年度から新規研究課題として取り上げ、発生実態と防除法を明らかにすることとした。

II QoI剤に対する耐性菌発生状況の把握

1 地域ごとの発生の有無

調査は基本的に、病虫害防除所の巡回調査地点(茶生産主要5地区、各地区10圃場づつ、1圃場について10~15枚の発病葉を採取)について行った。加えて現場から検定依頼があった圃場および輪斑病の発生が少なく防除が慣例化されていない天竜地区についても行った。なお、培地を用いた検定は、すべて農研機構 野菜茶業研究所の発表した統一検定法(山田ら, 2010)に従って行っている。また、静岡県で輪斑病防除に用いられているQoI剤はアゾキシストロピンが主流であることから、検定にもアゾキシストロピンを用いている。アゾキシストロピン耐性輪斑病菌が、クレソキシルメチルやトリフロキシストロピンに交差抵抗性を示すことは報告されている(富濱ら, 2009)。4年間の調査結果を表-2に示す。

主要5地区のいずれでも耐性菌が検出されたが、耐性菌検出圃場率・耐性菌株率ともに、牧之原・相良地区で高い傾向にあった。これは、この地区での輪斑病の発生が多く、アゾキシストロピンの使用頻度が高いことに起因すると考えられた。アンケートの結果から、この地区は年に複数回使用している圃場も少なからずあることが

表-2 チャ輪斑病菌のアゾキシストロピンに対する耐性検定
(2009~12年度検定分)

地区	調査圃場数	耐性菌検出圃場数(率%)	調査菌株数	耐性菌株数(率%)
富士山麓	18	1(5.6)	247	8(3.2)
静岡市	27	2(7.4)	447	31(6.9)
牧之原・相良	51	22(43.1)	672	124(18.5)
川根	24	6(25.0)	387	20(5.2)
磐田原	21	5(23.8)	412	38(9.2)
天竜	4	0(0.0)	31	0(0.0)
合計(平均)	145	36(24.8)	2,196	221(10.1)

明らかとなっている。これに対して、富士山麓、静岡市、川根および磐田原地区は、同一地区内でも輪斑病の発生程度が大きく異なり、使用頻度が少ない圃場もかなりあった。そのために、これらの地区では、牧之原・相良地区より耐性菌検出圃場率・耐性菌株率の両方が低くなっていると考えられた。また、輪斑病の発生が少なくアゾキシストロピンの使用実績が極めて少ない天竜地区では、耐性菌は検出されなかった。

2 耐性程度

病原菌の薬剤耐性化には、大きく二つのパターンがある。一つは、低濃度耐性菌の発生に始まって徐々に耐性が高度化するタイプで、種々の程度の耐性菌が存在するために、薬剤濃度と生育可能な菌株数との関係をグラフにすると三つ(以上)のピークが見られる。ベンズイミダゾール系殺菌剤はチャ炭疽病菌・輪斑病菌・赤葉枯病菌(西島, 1998)など多くの病原菌で明瞭な3峰性を示す。もう一つのタイプは、耐性を獲得すると同時に、一気に高度耐性化するタイプである。この場合は感受性菌と高度耐性菌のどちらかのみのため、ピークは二つのみとなる。アゾキシストロピン耐性菌は、野菜など他の農作物で後者のパターンであることが報告されている(稲田, 2009; 石井, 2009; 武田, 2009; 矢野・岡田, 2009)。チャ輪斑病菌に関しては、静岡茶研センターでの調査結果では明瞭な2ピーク型を示したことから、一気に高度耐性化するタイプであると判断された(外側, 2011; 図-3)。しかし、農研機構 野菜茶業研究所で2,000菌株以上の最小発育阻止濃度(MIC)を検定した結果、中度耐性菌も検出された。室内試験でのこれらの菌株による発病の抑制率が100%ではないことから、実際の圃場における防除効果にも影響がある可能性は高いものの、これらは静岡県内のごく一部地域のみで検出されていること、その地域内での検出率自体も低い状況である

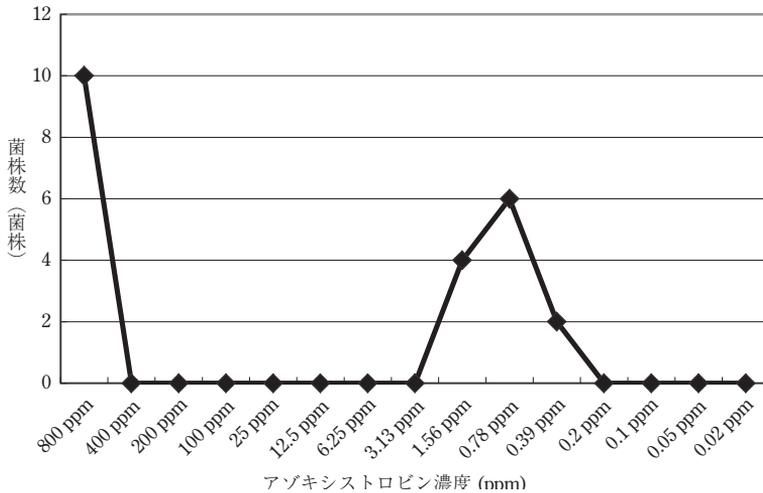


図-3 静岡県内で採取されたチャ輪斑病菌のアゾキシストロビンに対する MIC 検定結果 (外側, 2011)

ことから、今回はこれ以上触れない。興味のある方は文献を参照されたい (YAMADA and SONODA, 2012)

III QoI 剤耐性菌の遺伝子変異部位

QoI 剤耐性菌の遺伝子変異部位に関しては、既に他作物での耐性菌において明らかにされているが、アゾキシストロビン耐性輪斑病菌については、農研機構 野菜茶業研究所から検定法 (PCR-RFLP 法) が公開されている (山田ら, 2010)。この方法で解析を行った結果、検定した 7 菌株 (牧之原・相良地区および川根地区からの分離菌) は、アゾキシストロビン耐性菌で一般的に知られている、チトクローム *b* 遺伝子の 143 番目のコドンが変異したタイプの耐性菌であった (外側, 2012)。

IV 有効薬剤の検索

それでは、耐性菌が発生した栽培圃場では、実際にどのくらい防除効果が低下するのか、明らかにするために、耐性菌株率が 2009・10 年度ともに 90% を超えていた牧之原・相良地区の現地圃場で 2011 年度に試験を行った (表-3)。

アゾキシストロビンは予想通り、摘採直後の散布でも防除率 (= 防除価) 18.1 という、ほとんど防除効果が認められない数値となった。これに対し、TPN (商品名: ダコニール 1000) は摘採直後であれば 80 台という高い防除効果を示した。また、カスガマイシン・銅 (商品名: カスミンボルドー) は摘採 2 日後の散布でも 70 台の防除率を示し、ある程度治療効果も有しているのではないかと思わせる数値となった。ただし、1 作期に 1 回しか使えないので、可能ならば「赤焼病」防除用にとってお

くのが望ましいと思われる。最近になって上市されたピリベンカルブ (商品名: ファンタジスタ顆粒水和剤) およびピラクロストロビン・ボスカリド (商品名: ナリア WDG, 混合剤で成分の一つとして QoI 剤を含む) については、摘採直後・摘採 2 日後のいずれにおいても、ある程度の防除効果が認められた。特に、ピリベンカルブは摘採 2 日後でも 50 台の防除率だったことから、アゾキシストロビン耐性菌が高率で発生した圃場や、作業上の都合から予防剤が使えない場合に、緊急対策用として位置づけることは可能と考えられる。

2012 年度には、耐性菌株率の異なる各地の圃場で試験を行った。結果を表-4 に示す。耐性菌株率が高くなるのに伴って、アゾキシストロビンの防除率が低下していくことは明らかである。ただし、菊川市 2 圃場のように耐性菌株率が 1 割以下で少発生なのに防除率が 80 を切ってしまった場合もあれば、掛川市圃場のように、多発でしかも耐性菌株率が 20% 以上だったにもかかわらず、80 近い防除率を示した場合もあったが、この理由については不明である。

2012 年の現地試験では耐性菌株率 30, 40% 台の圃場での試験が実施できなかったが、別に行った室内試験 (外側, 2013) の結果を併せて考えると、「耐性菌株率が 30% 台までなら、まだ実用的な防除率を期待できる」という表現が可能と考えている。なお、TPN に関しては、アゾキシストロビン耐性菌株率の高低に関係なく、摘採当日の散布なら高い防除効果が得られただけでなく、2011 年度のデータも併せて見ると、予防剤ではあるものの、摘採 1~3 日後の散布でもある程度の防除効果は期待できると考えられた。

表-3 アゾキシストロピン耐性菌発生圃場における輪斑病防除効果試験 (2011年度の耐性菌率: 94.2%)

農薬商品名 (略称)	希釈倍数	散布時期		区当たりの発病葉数 (枚)				防除率
		摘採直後	摘採2日後	反復1	反復2	反復3	平均	
アゾキシストロピン	2,000	○		125	112	84	107.0	18.1
ピリベンカルブ	3,000	○		72	56	49	59.0	54.9
ピラクロストロピン ・ボスカリド	2,000	○		66	83	47	65.3	50.0
TPN	700	○		28	18	18	21.3	83.7
カスガマイシン・銅	1,000	○		29	62	31	40.7	68.9
アゾキシストロピン	2,000		○	135	92	81	102.7	21.4
ピリベンカルブ	3,000		○	58	50	66	58.0	55.6
ピラクロストロピン ・ボスカリド	2,000		○	150	54	69	91.0	30.4
TPN	700		○	69	41	65	58.3	55.4
カスガマイシン・銅	1,000		○	47	31	17	31.7	75.8
無処理区				135	149	108	130.7	

1 m²当たりの発病葉数は無処理区で約34枚であったことから少発生条件となる。

9月14日に摘採および1回目散布, 9月16日に2回目散布。

表-4 アゾキシストロピンに対する耐性菌率と防除効果との関係

試験地	摘採日 or 整枝日	薬剤散布日 (摘採後日数)	調査日	発生状況 発生程度	耐性菌株率 (%)	アゾキシスト ロピン防除率	TPN 防除率
菊川市1	6月29日	当日	7月20日	多	0.0	94.2	94.2
		3日後				91.8	53.3
菊川市2	6月5日	当日	7月27日	少	7.7	76.4	-
川根本町	6月25日	当日	7月17日	少	15.2	93.2	80.0
		3日後				79.7	13.6
掛川市	7月8日	1日後	7月27日	多	23.3	79.0	62.3
静岡市	10月15日	当日	11月13日	少	59.6	36.2	-
御前崎市	9月11日	当日	10月3日	少	94.2	0.0	84.8

*発生程度は「新農薬実用化試験 試験実施方法」(日本植物防疫協会編)による。

V 防 除 対 策

3年間行った試験結果を基に、現在は以下のような防除対策を現場に勧めている。

1) まず、輪斑病の防除タイミングは「摘採直後」が最適であるという基本を確認すること。半日以上経過すると防除効果は徐々に低下し始める。ただし、アゾキシストロピンのように植物体内への浸透移行性を有する剤(治療剤と呼ばれる)では、3日後までなら高い効果が期待できる。防除規制や作業の都合上から摘採3日後までに防除ができない場合には、摘採1週間～

10日後の「ならし・整枝」後に防除を行うこと。TPNのような予防剤を使用する場合には、可能な限り「摘採直後」の散布か遅くとも翌日までの散布が望ましい。

2) 同一地区内・同一圃場内における耐性菌分布状況の結果から、耐性菌が空気伝染によって隣接圃場に拡散している率はかなり低いと考えられる。基本的には、その圃場での該当薬剤の使用実績が問題となる。ただし、耐性菌発生圃場で用いた農機具を消毒することで、摘採刃などに付着した耐性菌を他の圃場に持ち込まないように注意は必要である。

- 3) 耐性菌の発生を防ぐ、または遅らせるために、ストロビリリン系殺菌剤（アゾキシストロビン、クレソキシルメチル、トリフロキシストロビン）の使用は、年1回を厳守すること。現在、十分な防除効果が得られている圃場でも、使用実績が10年近い場合や、10年に満たなくとも年複数回使用した実績がある場合には注意が必要である。耐性菌検定は随時行っているため、防除効果に疑問を生じた場合は、農林事務所やJA経由で茶業研究センターに相談いただきたい。
- 4) アゾキシストロビンに耐性を示す輪斑病菌は、他の同系統剤（クレソキシルメチル、トリフロキシストロビン）に対しても耐性を示す（交差耐性）ので、防除効果は期待できない。
- 5) 耐性菌が発生した場合、耐性菌株率が30%台までなら、まだ実用的な防除率が期待できる。40%以上になった圃場では、TPN、フルアジナム（商品名：フロンサイドSC）、イミノクタジンアルベシル酸塩（商品名：ベルクト水和剤）といった系統の異なる薬剤で防除する必要がある。なお、カスガマイシン・銅（商品名：カスミンボルドー、銅・シアン水和水剤）は輪斑病にも防除効果があるが、1作期に1回しか使用できないため、赤焼病の発生がある圃場では、赤焼病防除での使用を優先したほうがよいと考えられる。
- 6) 2014年に輪斑病に登録されたピラクロストロビン・ボスカリド（商品名：ナリアWDG）は混合剤で成分にストロビリリン系剤が含まれる。また、もう一つの成分は輪斑病には効果がない。したがって、アゾキシストロビン耐性菌が発生した圃場では効果が期待できない。なお、静岡県では現在、防除基準への掲載は原則として単剤のみに限っており、混合剤は相応のメリットがある場合にしか掲載していない。したがって、表-1でもわかるように、本剤は今のところ、静岡県の防除基準には掲載していない。
- 7) 2012年にチャ輪斑病に登録されたピリベンカルブ（商品名：ファンタジスタ顆粒水和水剤）はストロビリリン系ではなくベンジルカーバメート系剤ではあるが、QoI剤グループの1系統である。表-3に示したように、アゾキシストロビン耐性菌が高率で存在する圃場では高い防除効果は期待できない。ストロビリリン系剤を使用した圃場で、同一年にピリベンカルブ顆粒水和水剤を用いることは、同系統の剤を連用することになるので避ける。

おわりに

新規殺菌剤の登場と耐性菌の発生は、延々と「いたちごっこ」が続いている。「輪斑病防除の歴史」に記したように、治療効果の高い剤は耐性菌が発生しやすいことはわかっている、つついっ続けて使いたくなるのには生産者の事情があることは十分に理解できる。チャ輪斑病に関しては新規の治療剤が何年か後に登録される可能性もある。しかし、改めて言うまでもなく、耐性菌対策を考えるうえで、予防剤をいかに上手に組合せていくかは、極めて重要な問題である。耐性菌問題は研究者のための課題ではない。現場の防除に直結する課題である。その点を、病害担当者のみでなく農林水産省をはじめとする農業関係者全員が今一度再認識する必要性、そして生産者に対して耐性菌の発生を防ぐための技術指導を根気強く続けていくことが望まれる。

最後に、今回の取り組みに関しては、農研機構 野菜茶業研究所のほか、生産者、本川根町、JA、農薬メーカーの方々に大変にお世話になった。ここに記して謝意を表する。

引用文献

- 堀川知廣 (1984): 植物防疫 38: 275 ~ 279.
- (1990): 茶 43 (5): 24 ~ 31.
- 稲田 稔 (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ, 日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 編, 日本植物防疫協会, 東京, p.96 ~ 99.
- 石井英夫 (2009): 同上, p.93 ~ 95.
- 成澤信吉 (1988): 茶研報 67: 56 ~ 57.
- 西島卓也 (1998): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル, 日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 編, 日本植物防疫協会, 東京, p.98 ~ 101.
- 尾松直志ら (2010): 第20回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集: 21 ~ 28.
- 静岡県 (1975 ~): 農業安全使用指針・農作物病害虫防除基準, 静岡.
- 武田敏幸 (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ, 日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 編, 日本植物防疫協会, 東京, p.41 ~ 43.
- 外側正之 (2011): 静岡県茶業研究センター平成22年度成績概要集: 214 ~ 215.
- (2012): 日植病報 78: 243 (講要).
- (2013): 静岡県茶業研究センター平成24年度成績概要集: 342 ~ 343.
- 富濱 毅ら (2009): 九病虫研会報 55: 83 ~ 88.
- 渡辺京子・小野泰典 (2010): Microbiol. Cult. Coll. 26 (2): 103 ~ 108.
- 山田憲吾ら (2010): 茶研報 109: 73 ~ 78.
- YAMADA, K. and R. SONODA (2012): J. Gen. Plant Pathol. 78: 398 ~ 403.
- 矢野和孝・岡田清嗣 (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルⅡ, 日本植物病理学会 殺菌剤耐性菌研究会 編, 日本植物防疫協会, 東京, p.84 ~ 86.