

植物病原細菌と薬剤感受性



東京農業大学 農学部 農学科 植物病理学研究室

篠原 弘亮

Hirosuke Shinohara

1. はじめに

2020年は東京オリンピックとパラリンピックの開催で賑やかな年となるはずが、新型コロナウイルス (COVID-19) による感染症の世界的な流行によって、生活が一変してしまいました。皆さんもご承知のとおり、大学も感染防止のためにこれまでとはまったく異なる悲劇的な状況が続いています。某農薬会社の方も大学生の息子や娘が「お父さんやお母さんは会社に出勤、弟や妹は小・中学校や高校に登校、なんで僕たち私たちが家で巣ごもり」とぼやいているとおっしゃっていました。本学でも学生は4月から9月下旬までキャンパスに来ることができないため、ZOOM等による遠隔授業となり、ほぼ毎回の授業でレポート提出を課せられ、その作成に追われる日々でした。教員もまた、そのレポートを読みながら不慣れな遠隔授業の準備と実施に追われる日々でした。10月からは遠隔授業と対面授業の併用により、これもまた学生も教員も未知なる領域で四苦八苦です。入学から半年後にはじめて大学

のキャンパスに入れた1年生も気の毒ですが、大学院や学部の修了が掛かった院生や学生も研究が半年間も停止しており、これを何とかするべく苦悩の日々が続いています。本誌で紹介をさせていただく「植物病原細菌と薬剤感受性」についても、当研究室で10年来の修士論文や卒業論文の研究として取り組んできましたが、今年のはかつてない危機的な状況となっています。それでも、これまでに多くの卒業生が取り組んできた成果に支えられながら、かつそれらを継続させるために院生、学生と教員とが一丸となって日々奮闘しています。

2. 植物病原細菌とは

植物に病気（生理病を除く）を引き起こす主な病原体は、糸状菌（カビ）、細菌（バクテリア）、ウイルスおよび線虫です。イネいもち病をはじめとする植物の病気のほとんどは糸状菌が原因であり、細菌やウイルスが原因の病気は全体のそれぞれ1割程度です。植物に病気を引き起こす細菌が植物病原細菌であり、それらが原因の病気が植物細菌病です。こ



図1. モモせん孔細菌病



図2. トマト青枯病

れらは糸状菌に比べて数は少ないですが、重要病害や難防除病害と呼ばれるものは少なくないです。例えば、モモ生産県の多くで数年来続いて病害虫発生予察情報注意報が発表されるほど問題となっているモモせん孔細菌病（主な病原菌：*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*）（図1）や、病原細菌が土壌中に存在するために土壌消毒や抵抗性台木を用いた接ぎ木栽培など様々な手段での防除が必要なトマトやナスの青枯病（病原菌：*Ralstonia solanacearum*）（図2）があります。

分類学の発展に伴って、植物病原細菌も遺伝子解析等を基にした再分類により、学名もここ20年程度で変更、増加しています。植物病原細菌の主な属は、*Acidovorax* 属、*Brenneria* 属、*Burkholderia* 属、

Clavibacter 属（図3）、*Dickeya* 属、*Erwinia* 属、*Pantoea* 属、*Pectobacterium* 属、*Pseudomonas* 属（図4）、*Ralstonia* 属、*Rhizobium* 属、*Xanthomonas* 属（図5）などです。図3～5のとおり、糸状菌と異なり細菌の多くは属が異なっても培地上では色の違いがあるか無いか程度でほとんど同じです。

3. 薬剤感受性

ある細菌種に対して薬剤がその生育に与える影響を調べるのが薬剤感受性試験です。これを調査することで、植物病原細菌の薬剤に対するもともとの感受性程度（ベースライン）が判明し、さらにベースラインを上回るものがあれば薬剤耐性菌や感受性低下菌が存在することが判明します。

薬剤耐性菌の定義はいくつかありますが、石井^{(1),(2)}は、当初、耐性菌を「菌の野生型集団の多くがもともと示す薬剤感受性よりも感受性の低いものを耐性菌とよぶ」と定義しています。その後、「この定義は生物学的には妥当であるが、病害防除の場面では薬剤の効果との関係がより重要である」として、次のように定義を改められています。すなわち、実用濃度の薬剤の効果に有意に影響するほど菌の薬剤感受性が低下しているものを「耐性菌」、菌の感受性は低下しているが薬剤の効果には影響がみられないものを「感受性低下菌」、さらに感受性がもともと低いかまったくない場合を「低感受性菌」または「非感受性菌」としています。

これに基づき、薬剤に対する感受性の違いで細菌



図3. トマトかいよう病菌 (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, ASA 培地)



図4. ウメかいよう病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*)



図5. モモせん孔細菌病菌 (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*)

表1. 植物細菌病の病原における国内での主な薬剤耐性菌または感受性低下菌⁽⁸⁾

成分	病名	病原菌	報告
オキシリニック酸	イネ褐条病	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	守川ら, 1997
	イネもみ枯細菌病	<i>Burkholderia glumae</i>	守川ら, 1997
カスガマイシン	イネ褐条病	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i>	竹内・田村, 1991
	イネもみ枯細菌病	<i>Burkholderia glumae</i>	堀ら, 2007
ストレプトマイシン	ウメかきよう病	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i>	島津ら, 1997
	カンキツかきよう病	<i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	行方・小泉, 1966
	キウイフルーツかきよう病	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i>	中島ら, 1993
	キュウリ斑点細菌病	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	向ら, 1976
	コンニャク腐敗病	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	林・賛田, 1980
	モモせん孔細菌病	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	高梨, 1979
	レタス軟腐病	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	松崎ら, 1981
	レタス腐敗病	<i>Pseudomonas cichorii</i> , <i>Ps. viridiflava</i>	松崎ら, 1981
銅	チャ赤焼病	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>theae</i>	富濱, 2005
	ニンニク春腐病	<i>Pseudomonas marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	山下ら, 2011
	モモせん孔細菌病	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	加地ら, 2014

を類別するための指標のひとつが、最低生育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) です。薬剤を添加した培地で病原細菌を培養して、それらの生育を阻止する薬剤の最低濃度が MIC です。薬剤の細菌に対する静菌作用や殺菌作用の効力を抗菌力と言います。この抗菌力の程度は、薬剤を添加した培地での細菌の生育程度を評価し、判定します。すなわち、ある細菌に対するいくつかの薬剤の MIC を調査した時に、その値が小さい薬剤ほど抗菌力が強いということになります。また、同一の抗菌性物質であっても、細菌種の違いで MIC の値は異なります。さらに、同一の細菌種であっても薬剤を添加する基礎培地の種類によっても MIC の値は異なります。

ジャガイモ煎汁半合成寒天培地を基礎培地とした、植物病原細菌の薬剤感受性試験によるベースラインの例は次のとおりです。ウメかきよう病菌 (*Ps. syringae* pv. *morsprunorum*) やモモせん孔細菌病菌 (*X. arboricola* pv. *pruni*) では、ストレプトマイシンに対する MIC が ≤ 15 ppm 程度、オキシテトラサイクリンに対する MIC が ≤ 1 ppm 程度です⁽³⁾。一方、これら細菌のストレプトマイシン耐性菌でのストレプトマイシンの MIC は 2,000 ppm 以上です^{(4), (5), (6)}。

これらの結果を得るためには、多数の細菌株を用いた薬剤感受性試験が必要です。それにはかなり大量の基礎培地を作成しなければなりません。ジャガイモ煎汁半合成寒天培地はジャガイモ煎汁の作成に手間が掛かるため学生が悲鳴を上げていました。そこで、材料の入手や保存が容易な市販のリンゴジュース (濃縮還元果汁 100 %) を用いて、作成の手間を一部省いた基礎培地としてリンゴ果汁半合成寒天培地⁽⁷⁾を考案しました。この培地を基礎培地とした薬剤感受性試験での MIC は、ジャガイモ煎汁半合成寒天培地を基礎培地とした薬剤感受性試験での MIC とほぼ同様となるので、過去の MIC との比較が可能です。

4. 薬剤耐性菌

主に国内の植物細菌病では、表 1 に示したとおりカンキツかきよう病 (病原菌: *X. citri* subsp. *citri*) (行方・小泉, 1966; 松本ら, 1976) (図 6)、キュウリ斑点細菌病 (病原菌: *Ps. s.* pv. *lachrymans*) (向ら, 1976)、モモせん孔細菌病 (病原菌: *X. a.* pv. *pruni*) (高梨, 1979)、コンニャク腐敗病 (病原菌: *Pe. carotovorum* subsp. *carotovorum*) (林・賛田, 1980)、レタス腐敗病 (病原菌: *Ps. cichorii*, *Ps. viridiflava*) および軟腐病 (病原菌: *Pe. c.* subsp.

carotovorum) (松崎ら、1981)、キウイフルーツかいよう病 (病原菌: *Ps. s. pv. actinidiae*) (中島ら、1993; 中島、2002)、ウメかいよう病 (病原菌: *Ps. s. pv. morsprunorum*) (島津ら、1997) (図7) などの病原細菌で、ストレプトマイシン耐性菌が数多く報告されています。

オキシリニック酸については、イネ褐条病 (病原菌: *A. avenae* subsp. *avenae*) (守川ら、1997) およびイネもみ枯細菌病 (病原菌: *Bu. glumae*) (守川ら、1997; 曳地ら、2010) の病原細菌で耐性菌が報告されています。

カスガマイシンについては、イネ褐条病 (病原菌: *A. a. subsp. avenae*) (守川ら、1997; 大谷・竹内、2013) およびイネもみ枯細菌病 (病原菌: *Bu. glumae*) (堀ら、2007) の病原細菌で耐性菌が報告されています。

さらに、野菜類軟腐病 (病原菌: *Pe. c. subsp. carotovorum*) (Kyeremeh et al. 1998)、チャ赤焼病 (病原菌: *Ps. s. pv. theae*) (富濱、2005)、ニンニク春腐病 (病原菌: *Ps. marginalis* pv. *marginalis*) (山下ら、2011) およびモモせん孔細菌病 (病原菌: *X. a. pv. pruni*) (加地ら、2014) などの病原細菌で、銅に対する耐性菌や感受性低下菌 (Goto et al., 1994) が報告されています⁽⁸⁾。

5. おわりに

植物病原細菌でも薬剤感受性の調査は、農薬開発や既存剤の効果的かつ継続的な利用のための基礎的情報として有用です。先に述べた薬剤耐性菌の事例は、これまでに報告された主なものを挙げています。生産現場で耐性菌による防除効果の著しい低下が起

れば、関係機関などが調査します。しかし、耐性菌の存在の有無を常にモニタリングすることは大きな負担であることから、耐性菌の顕在化における初期段階を把握することは難しいです。その中で、マイコシールド (オキシテトラサイクリン剤) などについては、当初に販売を手掛けていたファイザー (株)、後にゾエティス・ジャパン (株) から、現在、本剤を販売している日本曹達 (株) と当研究室との継続的な共同研究として、一部とは言え植物細菌病の病原細菌について、毎年、薬剤感受性試験により耐性菌の存在の有無をモニタリングしていることは、生産現場の不安を解消する一助となると信じています。一方、培地を用いた薬剤感受性試験で、耐性菌が確認されていても圃場ではある程度の防除効果が認められるとの意見もあります。他方、薬剤感受性試験で細菌の生育阻止に優れた効果が認められても圃場での病害発生を抑え切れない現状も少なくありません。さらに基礎培地の種類により薬剤感受性試験での MIC の結果も異なります。薬剤感受性試験では培地がひとつの環境要因となります。圃場でも実験室でも結果を見ると薬剤の効果はやはり環境に大きく影響を受けます。

当研究室では、この基礎培地の種類による MIC の変化に着目して、耐性菌の MIC を低下させる物質の探索に取り組んでいます。現段階では、基礎培地にマンガンを添加することで、モモせん孔細菌病などのストレプトマイシン耐性菌の MIC が圃場での散布濃度程度にまで低下することを見出しました⁽⁹⁾。薬剤耐性菌の対策として、薬剤のローテーション使用はもちろん、関係者の努力によって新規の化学合成農薬や微生物農薬が開発され投入されていま



図 6. カンキツかいよう病



図 7. ウメかいよう病

す。当研究室では、先に述べた耐性菌の MIC を低下させる物質の探索を通して、現在は耐性菌が顕在化しているが、かつては極めて有効であった薬剤の復活を目標として教員と大学院生、学生とで奮闘しています。

謝辞

株式会社ニッソーグリーン 丸 章彦様

試料採取にご協力いただいた各地の JA および関係企業の皆様

東京農業大学 農学部 農学科 植物病理学研究室の先生方、卒業生、在校生の皆さん

(順不同)

誌面をお借りしてお礼申し上げます。ありがとうございました。

参考文献

- (1) 石井英夫 (1998). 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルの作成にあたって、植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル. 植物防疫 特別増刊号 4 : 1-9.
- (2) 石井英夫 (2010). 殺菌剤耐性菌研究会 20 年の歩み. 第 20 回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集 : 1-10.
- (3) 篠原弘亮 (2014). 植物病原細菌の薬剤感受性.

微生物遺伝資源利用マニュアル 36 : 1-18.

- (4) 高田郁哉・丸 章彦・伊山公二・キム オッキョン・根岸寛光・篠原弘亮 (2017). ウメ栽培圃場におけるストレプトマイシン耐性ウメかいよう病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*) の分離頻度. 日植病報 83 (1) : 4.
- (5) 荻谷和幸・七海隆之・柳沼久美子・篠原弘亮 (2016). 圃場内におけるモモせん孔細菌病菌の薬剤耐性菌の割合. 日植病報 82 (3) : 285.
- (6) 國京瑞季・七海隆之・柳沼久美子・キム オッキョン・根岸寛光・篠原弘亮 (2017). 福島県におけるモモせん孔細菌病菌のストレプトマイシン耐性菌の割合の調査. 日植病報 83 (3) : 237.
- (7) 森山みど玲・キムオッキョン・根岸寛光・對馬誠也・篠原弘亮 (2015). リンゴ果汁を用いた植物病原細菌の培養に適した培地. 日植病報 81 (3) : 297.
- (8) 篠原弘亮 (2016). 植物病原細菌の薬剤感受性について. 日本植物病理学会 第 27 回植物細菌病談話会論文集.
- (9) 高山浩太郎・キムオッキョン・根岸寛光・篠原弘亮 (2019). リンゴ果汁半合成寒天培地を用いたモモせん孔細菌病菌の薬剤感受性試験. 日植病報 85 (1) : 52.