

# 新技術 解説

## 簡便な植物病原細菌の抗菌剤感受性 検定手法（ディスク拡散法）

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構  
東北農業研究センター

つじ  
達

みず  
瑞

え  
枝

### はじめに

植物病原細菌は、穀物や野菜、果樹から花卉や芝草まで幅広い作物に感染し、ひとたび病害が発生すると、好適な条件下では爆発的なアウトブレイクを起こす。近年では、気候変動に伴う高温やゲリラ豪雨の影響により、細菌性植物病害（以下細菌病）による損失がより拡大している。さらに、長引く高温多湿条件のためか、これまであまり問題とならなかった日和見病原細菌による病害と経済的損失の報告が相次いでいる。

ヒトを含む動物でも、植物でも、細菌感染に対しては抗菌剤が卓効を示す。抗菌剤は、細菌のタンパク質の機能や DNA の合成を阻害して直接的なダメージを与え、病害の発生や拡大を防ぐことができる。その一方で、抗菌剤には耐性の発達が付きものである。最初の抗菌剤であるペニシリンが一般に普及したのは 1940 年代だが、1942 年にはすでにアメリカで最初のペニシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) の発生が報告されている (RAMMELKAMP and MAXON, 1942)。植物病害の分野でも、ストレプトマイシンでは *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae*, *Ps. marginalis*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Pantoea agglomerans* ほか、カスガマイシンでは *Acidovorax avenae*, *Burkholderia glumae*, *X. citri* subsp. *malvacearum*, *Pa. agglomerans*, オキシテトラサイクリンでは *Ps. syringae*, *Ps. syringae* pv. *syringae*, *X. arboricola* pv. *pruni*, *Agrobacterium tumefaciens* ほか、オキシリニック酸では *E. amylovora*, *A. avenae*, *B. glumae* など、多くの細菌種で耐性菌の発生が報告されている（誌面の都合から個々の引用は割愛する）。これらは抗菌剤の存在により発達したいわば後天的な耐性だが、一方で細菌には先天的と呼べる耐性を示すものがある。つまり、他種の細菌が生産する抗菌物質への防御手段として、生まれつきの耐性を持っている細菌がいる。このこ

とは、ストレプトマイシン耐性イネ白葉枯病菌が自然界において高率に分布していること（脇本・向, 1963）、ストレプトマイシン耐性にかかわる遺伝子群が、人類の社会活動が活発ではない北極の永久凍土から検出された (PETROVA et al., 2009) ことからわかる。

抗菌剤耐性 (Antimicrobial resistance, AMR) の発達を防ぎつつ先天的な耐性を回避して、効果的な薬剤防除を行うためには、植物病原細菌の抗菌剤感受性をあらかじめ明らかにしておく必要がある。防除対象とする細菌の抗菌剤感受性にそぐわない不用意な薬剤散布により、耐性菌を選択的に生存させ、病害をより拡大させる恐れがあるためである。抗菌剤感受性を明らかにする方法としては、動物や植物上での生物検定と、培地を用いた感受性検定がある。しかし、生物検定にはそれぞれの分野において実施上のハードルがあり、生物を用いるため結果が安定しないこともある。一方、培地上での感受性検定は、生物上での効果と必ずしも直結するものではないが、抗菌剤感受性の傾向を短期間で知ることが可能である。急速に蔓延する細菌病への対応や、耐性菌発生の緊急事態においては、有効な検定手法であると言える。

培地を用いた細菌の抗菌剤感受性検定手法として、世界の医療や畜産の分野では、主に Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines と European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) という二つの標準的な手法が確立されている。検査方法としては、ディスク拡散法（ペーパーディスク法）と希釈法（寒天培地希釈法・MIC 法）が一般的で、それぞれ耐性の閾値が設定されている。ところが、植物病原細菌の分野では齊一的な手法が存在しないために、先行研究によって実験方法がばらばらで、数多くの貴重な結果を比較検討することができない。植物病原細菌での検定手法としては、後藤・瀧川 (1984) の方法（抗生物質感受性、植物防疫 38 号 p.482）、植物防疫特別増刊号 No.4 (1998) 「植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル I」、植物防疫特別増刊号 No.12 (2009) 「植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II」および微生物遺伝資源利用マニュアル No.36 (2014) 「植物病原細菌の薬剤感受性」

A Simple and Convenient Antimicrobial Susceptibility Testing Method for Plant Pathogenic Bacteria (Disk Diffusion Method).  
By Mizue TSUJI

(キーワード：細菌, 抗菌剤, 感受性, 耐性)