

オオムギ磨砕物によるタマネギ腐敗病菌 *Burkholderia cepacia* への抗菌活性の検討

川邑菜々美

(農研機構東北農業研究センター)

Antibiotic activities of homogenized barley seedlings against sour skin of onion caused by

Burkholderia cepacia

Nanami KAWAMURA

(NARO Tohoku Agricultural Research Center)

1 はじめに

東北地域では、水田転換作物として加工業務用タマネギの産地化を進めている。その取り組みの中で、りん茎に腐敗症状を示す細菌病害が問題となっている。東北におけるタマネギの腐敗症状は、タマネギ腐敗病菌 *Burkholderia cepacia* を中心に複数種によって引き起こされ⁵⁾、病原菌によって薬剤耐性が異なるため適切な防除が難しい⁶⁾。そのため、農薬だけに依存しない防除手段の検討が必要である。

そこで、タマネギ腐敗球の農薬非依存的な抑制方法として、オオムギリビングマルチを活用して害虫の天敵を増殖・温存する虫害防除技術⁷⁾に着目した。タマネギで使用する場合、本法は害虫ネギアザミウマをその天敵に捕食させて被害を抑制する技術であるが、オオムギリビングマルチ付近のタマネギでは腐敗球の減少も観察されている。この現象は、細菌の感染経路となりうるアザミウマの食害痕が減少すると腐敗病の発病率も低下する²⁾ことが報告されていることから、オオムギ自体が直接的に腐敗の抑制に作用したのではなく、天敵によって食害痕を減らされたことで腐敗球を抑制したことによると推測できる。しかし、オオムギには、ホルダチンなどの抗菌活性のある物質が複数含まれている³⁾にもかかわらず、オオムギの抗菌活性により病原細菌の増殖が抑制され、オオムギが直接的に腐敗球の発生を抑制している可能性については検討されていない。

そこで、本試験ではオオムギリビングマルチが抗菌活性により圃場で直接的に腐敗球の発生を抑制できるかを検討するために、まず、タマネギ腐敗病菌である *B. cepacia* に対し、オオムギ植物体そのものが抗菌活性を示すか確認した。さらに、その抗菌活性が植物体の部位に依存的であるか確認するために土壤に接している根と接していない葉に分けてそれぞれ抗菌活性を確認した。また、本抗菌活性の加熱処理による影響について確認した。

2 試験方法

(1) オオムギの栽培

本試験のオオムギはマルチムギワイド（品種：シンジュボシ、カネコ種苗）を用いた。

種子は水道水に浸水後、水道水で湿らせたキムタオ

ルで包み 20℃で3日間催芽処理をし、570 mL ポリポッド (TOKAI 社) に葉さじ約 2 杯分播種した。用いた培養土（ニッピ園芸培土、日本肥糧株式会社）は、オートクレーブで 121℃、120 分の滅菌処理を二回行った後、ポッドに約 400 mL 充填した。オオムギの栽培は、高城ら⁴⁾を参考に、明期を 17℃で16時間、暗期を 10℃で8時間に設定した人工気象器内で7日間栽培したものを試験に供試した。

(2) オオムギの磨砕処理

供試オオムギは水道水で根を3回洗浄して培養土を取り除き、キムタオルで水分を除去した。葉は洗浄せず用いた。その後、植物体の種子より上を切断し、種子を含む根側と種子を含まない葉側に分け、それぞれ約 20g を回収した。

回収した試料に対し、16m L の 10mM HCl を加え、ミキサーで2分間破碎した。破碎後、試料に 2g の珪砂を加え、10分間乳鉢で磨砕した。磨砕後、半分量ずつを 50mL 遠沈管に移し、2500rpm (587 × g) で10分間遠心分離した。その後、上清を捨て、遠沈管に残った沈殿物をオオムギ磨砕物として試験に供試した。

(3) オオムギ磨砕物の調整と加熱処理

(2) で得られた根と葉の磨砕物を 60mm 円形シャーレに移し、50℃程度に冷ました 5mL の 1% 寒天（寒天末、ナカライテスク社）を加えて固めたものを、オオムギ未オートクレーブ区（未 AC 区）として用い、(2) の磨砕物を事前に 121℃、10 分で AC した後、滅菌の為に同様に AC した 1% 寒天で固めたものを、オオムギオートクレーブ区（AC 区）として、実験に用いた。

(4) 抗菌活性の評価

供試菌株は、東北農業研究センター内で採取され、タマネギ腐敗させる *Burkholderia cepacia* と確認された 1 菌株用いた。

抗菌活性は後藤・瀧川の「抗生物質感受性」の試験方法¹⁾で調査した。具体的には、*B. cepacia* を滅菌水 5 mL に 10 μL 白金耳 1 杯を懸濁し (10¹²cfu/mL 程度)、懸濁液 50 μL を 50℃程度に冷却した試験培地（肉エキス 5g、ペプトン 10g、NaCl 2.5g、グルコース 10g、寒天 15g、pH 7.0) 10mL に懸濁し固めた。また、本試験ではペーパーディスクの代わりに、(3) で調整した植物磨砕物を細菌懸濁培地に直接静置した。抗菌活性の評価は、28℃で24時間培養後、磨砕物の周辺の細菌増殖（生育阻止円の形成）の有無で評価した。陽性対照として 20 mg/mL テトラサイクリン塩酸塩水溶液

を、陰性対照として 10mM HCl を、それぞれ 30 μ L を試験培地上に静置したペーパーディスク (8 mm、厚手、ADVANTEC 社) に滴下して用いた。試験は、栽培日が異なる植物体群から 5 反復実施した。

3 試験結果及び考察

本試験では、未 AC 区の根と葉の磨砕物の周辺で、陽性対照と同様に周辺の培地が透明な状態を維持 (生育阻止円を形成) したことから、*B. cepacia* の増殖が抑制されたことが観察された (図 1、A)。しかし、AC 区では、根と葉の磨砕物の周辺で、陰性対照と同様に周辺の培地が濁ったことから、*B. cepacia* の増殖が観察された (図 1、B)。

本試験は、栽培日の異なる植物体群を用いて 5 反復行った。各反復で培地上での抑制範囲に差が見られたものの、未 AC 区の磨砕物が細菌増殖を抑制する傾向は変わらず観察され、AC 区の磨砕物は一貫して増殖抑制が観察されなかった。(表 1)

以上より、オオムギの根と葉の磨砕物の両方に *B. cepacia* の増殖を抑制できる抗菌活性があり、オオムギリビングマルチが直接的にタマネギ腐敗球の発生を抑制できる可能性が考えられた。

さらに、土壤に接する根だけでなく、接さない葉にも抗菌活性が見られたことから、植物体内に広く存在している抗菌活性と考えられた。しかし、根と葉で同じ抗菌物質等による活性であるかは更なる検討が必要である。また、本活性はオートクレーブによる加熱処理によって失活したことから、熱に不安定な特性を持つことが示唆された。

4 まとめ

本試験では、タマネギ腐敗症状に対する非農薬依存的な防除方法を検討するため、タマネギ腐敗病菌 *B. cepacia* に対して、オオムギリビングマルチで用いられるオオムギ植物体自体が抗菌活性を示すかどうか培地上で検討した。本試験で得られた結果より、未 AC 区のオオムギの根と葉の磨砕物周辺でそれぞれ細菌

の増殖を抑制することから、オオムギの根と葉に *B. cepacia* に対する抗菌活性があることが示唆され、オオムギリビングマルチが直接的にタマネギ腐敗球の発生を抑制する可能性が考えられた。また、AC 区の結果より、その活性は熱変性することが示唆された。今後は、実際にオオムギが圃場で土壤中の病原細菌密度を低下させるのか、他病原細菌種にも抗菌活性を示すのかを検討する必要がある。

最後に、本試験の実施に当たって、筆者と同所属の下田武志博士、遠瑞枝博士、上杉龍二博士より、ご助言を賜った。深く御礼申し上げる。

引用文献

- 1) 後藤正夫・瀧川雄一. 1984. 植物病原細菌同定のための細菌学的性状の調べかた (4). 植物防疫 38: 479-484.
- 2) 永坂厚・横田啓・上杉龍士・遠瑞枝・笠井友美・本庄求・菅原茂幸. 2020. 東北地域の春まきタマネギにおけるネギアザミウマ防除がタマネギ腐敗病の発生に与える影響. 北日本病虫研報 71: 62-68.
- 3) Naoki Ube, Miho Nishizaka, Tsuyoshi Ichiyanagi, Kotomi Ueno, Shin Taketa, Atsushi Ishihara. 2017. Evolutionary changes in defensive specialized metabolism in the genus *Hordeum*. *Phytochemistry* 141: 1-10.
- 4) 高城成一・森敏. 1990. 金属関連化合物の栄養生理 21-28.
- 5) 遠瑞枝. 2019. 東北地域のタマネギりん茎に発生した腐敗症状の病原細菌について. 日植病報 85: 205-210.
- 6) 遠瑞枝. 2022. 東北地域のタマネギ腐敗性病害の病原細菌とその薬剤耐性について. 殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集. 21-27.
- 7) 上杉龍二・田淵研・小西 (降幡) 令子・吉村英翔. 2020. キャベツ栽培におけるオオムギ混植とネット障壁設置が害虫とそれらの天敵に及ぼす影響. 北日本病虫研報 71: 131-13

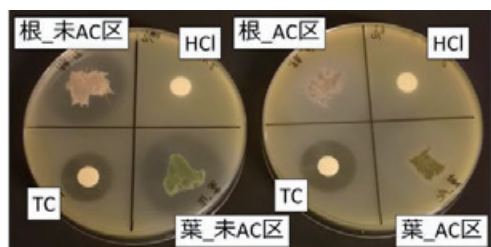


図 1 オオムギ磨砕物による

B. cepacia 懸濁培地上での増殖抑制様子

HCl : 10mM HCl (抽出溶媒、陰性対照)、

TC : 20 mg/mL テトラサイクリン塩酸塩水溶液 (陽性対照)、

(A) 未オートクレーブのオオムギ磨砕物を静置した培地、

(B) オートクレーブしたオオムギ磨砕物を静置した培地。

表 1 培地上の細菌増殖抑制評価

種子	試験日	未AC処理		AC処理		フィルター滅菌処理	
		根	葉	根	葉	HCl	TC
22年購入	220609	+	++	—	—	—	++
	220627	++	++	—	—	—	++
	220707	++	++	—	—	—	++
23年購入	230601	++	+	—	—	—	++
	230703	++	++	—	—	—	++

+: 培地上の静置物の周辺の 3mm 未満の細菌増殖を抑制する、

++: 培地上の静置物の周辺の 3mm 以上の細菌増殖を抑制する、

—: 培地上の静置物の周辺の細菌増殖を抑制しない。