

## スイカ果実に発生した腐敗症状

伊藤実佐子<sup>1</sup>・横山とも子・竹内妙子  
(千葉県農業総合研究センター)

## Occurrence of Rot Symptoms on Watermelon Fruits

Misako ITOU<sup>2</sup>, Tomoko YOKOYAMA and Taeko TAKEUCH

## 摘 要

1999～2001年に千葉県内のスイカ産地で果実が腐敗し、収穫・出荷・輸送中に果実花落ち部より白い泡が噴き出す症状が発生し問題となった。菌の分離・同定を行ったところ、Enterobacteriaceae (腸内細菌科) に属する細菌によるものであることがわかった。

1999～2001年に千葉県富里市のスイカ産地で、原因不明の果実腐敗症状が発生した。発生農家数は数件であり、また発生果数も全収穫果数の1%弱と極めて少ない発生状況であったが、その症状が激しいため問題となった。ここではこれら症状の原因を究明したので、その概要を報告する。

## 材料および方法

## 1. 発生状況および症状

2001年5月～6月に富里市における本症状の発生圃場において発生状況および病徴を調査した。

## 2. 原因菌の分離

2000年及び2001年に現地圃場4カ所より採取したスイカ腐敗果実を切断し、切断果肉面より5mm角の果実片を切り出して9m<sup>3</sup>の滅菌水に懸濁後、1白金耳を普通寒天培地(肉エキス5g, ペプトン10g, NaCl 2.5g, 寒天20g, 蒸留水 1l, pH7.0)に画線し28℃で培養した。単コロニー分離を数度繰り返し、コロニーが単一になった段階で、分離菌をスキムミルク分散媒に懸濁し、-80℃で凍結保存した。

## 3. 接種試験

各圃場から優先的に分離された4菌株(菌番号:S-1, S-2, S-3, S-5)を選び、スイカ果実への接種試験を行なった。供試菌株をPSA平板培地で28℃約48時間培養後、約10<sup>8</sup>CFU/m<sup>3</sup>の濃度になるよう滅菌蒸留水に

懸濁した。果実花落ち部分を70%エタノールで表面消毒し、花落ち外縁際に注射器で供試菌懸濁液約0.1m<sup>3</sup>を注入接種した。接種は、2001年6月11日に行い、無加温ガラス室に保持後、6月19日に果実の腐敗程度を調査した。

## 4. 原因菌の同定

原因菌の細菌学的性状を簡易同定キット(API50CH)等を用いて調べた。また、分離菌から山田(1993)の方法に従いゲノムDNAを抽出した。採取したDNAをテンプレートとして27Fプライマー(AGAGTTTGATCMTGGCTCAG)及び1492Rプライマー(TACGGTTACCTTGTTACGCTT)を用いてPCRを行い、16SrDNAのほぼ全長を増幅した。PCR産物を回収した後、pT7BlueT-Vector(Novagen)に挿入し、大腸菌DH5に導入した。PCR産物が導入されたクローンからプラスミドDNAを精製し、DNAシーケンスキット(Big Dye™, Applied Biosystems)を用い反応させた後、DNAシーケンサー(ABI377, Applied Biosystems)により塩基配列を決定した。なお、ベクターのシーケンス用プライマー以外に、16S-1106R(TGCGCTCGTTGCGGGACTTA)及び16S-418F(TGCCGCGTGTATGAAGAAGG)プライマーを作製し、内部配列を決定した。相同性検索は、ホモロジー検索プログラム(BLAST及びFASTA)を用いて行った。

1 現在、千葉県病害虫防除所

2 Address: Chiba Prefectural Plant Protection Office, Daizenno-cho804, Midori-ku, Chiba-shi 266-0006, Japan  
2003年5月14日受領

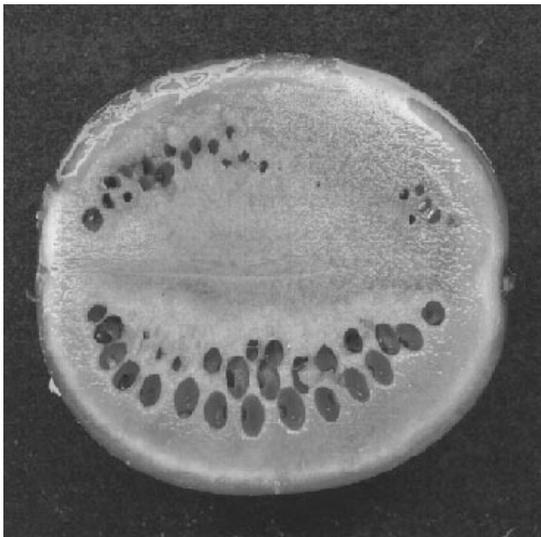
## 結果および考察

## 1. 発生状況および症状

本症状は1999年～2001年にかけて、5月上旬～6月上旬収穫のハウス半促成栽培スイカで発生を確認した。収穫・出荷・輸送中には外見健全に見えたスイカ果実の花落ち部分より白い泡が噴き出し（第1図）、果実を切断すると果肉が腐敗し種子の周囲に明瞭な空洞を生じていた。また切断面からも激しい発泡が起こり、空洞化した種子の周囲に白汁液が充満した（第2図）。なお、発生は100%有機の特殊堆肥（乾血、骨粉、肉骨粉、肉類、ヤシガラ、パームアッシュ等）を使用している生産者に集中する傾向があった。



第1図 花落ち部位より白い泡を噴き出した果実



第2図 果実の腐敗と種子の周囲の空洞化

## 2. 菌の分離および接種試験

果実腐敗症状を示したスイカ果肉からは、糖（ブドウ糖1%）を添加した普通寒天培地上で円形、流動性、やや粘性のある乳白色のコロニーが優先的に分離された。分離菌の接種4～8日後に、スイカ果実花落ち部位より白い泡が噴き出し、果肉が腐敗して種子の周囲が空洞化する原症状が再現された（第1表）。果肉腐敗は未熟果に比べて成熟果の方が激しく、果肉腐敗部からは接種菌と同一の細菌が再分離された。

## 3. 原因菌の同定

供試した全ての分離菌は、グラム陰性桿菌、グルコース発酵（F）、オキシダーゼ活性陰性、カタラーゼ活性陽性、硝酸塩還元性陽性となり、同一な細菌学的性状を示した。また、BLAST及びFASTAの相同性検索の結果はほぼ同一となり、S-1菌は*Citrobacter amalonaticus*と98.1%、S-2・3・4菌は*Pantoea agglomerans*と99%以上の、S-5菌は*Enterobacter aerogenes*と99.2%の高い相同性を示した（第2表）。以上の細菌学的性状と遺伝的相同性より、スイカ果実の腐敗症状はこれらEnterobacteriaceae科（腸内細菌科）に属する細菌（多田・渡辺、1998）によるものであることが明らかになった。

本症状は外観状健全に見える果実に突然発生するこ

第1表 スイカ果実腐敗症部より分離した細菌の病原性

供試菌株 の種類	成熟果	未熟果	
		交配後約30日	交配後約15～20日
S-1	+++	+	+
S-2	++	+	+
S-3	++	+	+
S-4	++	+	+
S-5	++	+	+
対照（滅菌水）	-	-	-

注) - : 発病なし, + : 果肉の一部が褐変腐敗,  
++ : 種子の周囲の空洞化をともなう果肉腐敗,  
+++ : 白い泡が吹き出る果肉腐敗

第2表 16SrDNAの相同性検索の結果

分離 菌株	最上位にランク された細菌名	相同性(%)
S-1	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	98.1
S-2	<i>Pantoea agglomerans</i>	99.5
S-3	<i>Pantoea agglomerans</i>	99.7
S-4	<i>Pantoea agglomerans</i>	99.2
S-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>	99.2

注) 相同性はBLASTの結果を表示

とや、白い泡を噴き出して果肉腐敗する(種子の周囲が空洞化する)など、既報のウリ科に発生する細菌病に比べ特徴ある症状を示した。

分離された3種類の菌はいずれも人や動物の腸管や自然界の土壌及び水に広く分布する細菌として一般的に知られている(Holt, G. J. et al., 1993)。原因菌の感染時期, 感染経路など不明な点はあるが, 本症状の発生は産地の中でも特殊な有機質肥料を使用していた一部の生産者に集中する傾向があった。2002年から同肥料の使用は中止され, 本症状の発生もほとんど見られなくなったが, 今後とも腸内細菌科の細菌による発病

については注意する必要がある。

#### 引用文献

- 山田哲治(1993)植物病原性微生物研究法(脇本哲監修). ソフトサイエンス社, 東京. pp. 359.
- Holt, G. J. et al. (1993) *Bergey's Manual of Determinatives Bacteriology*(9th ed.), Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland. pp. 177 - 184.
- 多田宜文・渡辺雅保(1998)微生物学入門. コロナ社, 東京. pp. 80.