

カンキツ褐色腐敗病ならびに緑かび病の病徴進展機作の比較*

正子 朔・滝本晃一・桂 琦一

HAJIME MASAGO, KOUICHI TAKIMOTO and KIICHI KATSURA : Comparison of the mechanism of the development of disease symptoms between green mold disease and brown rot of Citrus

要旨：ミカン果実を侵かす *Phytophthora citrophthora* および *Penicillium digitatum* の示す病徴はきわめて対照的である。前者が果実を褐変せしめるが軟腐を起さないのに比して後者は変色はほとんど起らずいちじるしく軟腐せしめる。本研究はこの病徴に相違を来たす原因を明らかにするために行なったものである。*P. citrophthora* は同じ *Phytophthora* 属でも、*P. capsici* に較べて軟化酵素の活性は低く、また *Pen. digitatum* よりも低い。両菌が寄主に侵入するとともに罹病部 pH が低下し始め、2—3日後に *P. citrophthora* の軟化酵素の最適 pH 域の外に出てしまう。しかし *Pen. digitatum* の軟化酵素の最適 pH 域は低いところにあるため軟化はさらに進行する。またミカン果皮中に *P. citrophthora* の軟化酵素活性をいちじるしく阻害する物質が含まれているのと相まってミカン果実で *P. citrophthora* による軟化は進行しないものと考えられる。*Pen. digitatum* の軟化酵素は endo-polygalacturonase (endo-PG) を、*P. citrophthora* は endo-PG とともに exo-polygalacturonase (exo-PG) も分泌しているようである。pectin esterase (PE) および trans-eliminase (TE) 活性は両菌ともにほとんどみとめられない。褐変原因と考えられる phenol 類は果皮中には chlorogenic acid のみしかみとめられなかったが、これは両菌の発育ならびに PG 分泌に対してほとんど阻害を示さないようであった。解剖所見によっても褐変部位を越えて *P. citrophthora* の菌糸が伸展していることが見られる。

I 緒 言

カンキツ果実を侵かす糸状菌病のうちで収穫前に発生する *Phytophthora citrophthora* による褐色腐敗病と主として収穫後に蔓延する *Penicillium digitatum* による緑かび病はいずれも大害を招くものとして知られている。しかもこの2つの病徴の間にはいちじるしいちがいが見受けられる。前者は病名の示すように患部を褐変させるが軟化を生ずることにはないのに反して、後者は果実にほとんど変色を起さずいちじるしい軟化をする。同一の植物が侵される際侵入する菌の相違によって引き起される植物側の反応の相違はきわめて興味を呼び起こす問題であるが、今回は、「軟腐」と「褐変」という2つの現象にしぼって考察を加えたい。

「軟腐」すなわち組織軟化は pectin 分解酵素が主役を果していると言われるが他に arabinase¹¹⁾ や cellulase^{3, 4, 12)} も軟化を起因することが知られてい

る。*Phytophthora capsici* について筆者らが行なった研究¹⁰⁾ では強力な endo-polygalacturonase (PG) ならびに未知の軟化酵素が菌によって分泌され、寄主にいちじるしい軟化を起すことが明らかになった。しかしこの場合組織の褐変は起らない。*Phytophthora porri* もおおむね褐変を伴わない疫病菌である。一方ここでとり上げた *P. citrophthora* 及び *P. palmivora*、*P. infestans* などによる褐変をともなう疫病も多い。

組織褐変は寄主体内に含まれる phenol 類が、植物あるいは菌起源の phenolase などによって酸化され quinone を経て melanin 様物質を生ずることによって起ることが多いとされている²¹⁾。この phenol 類の多くのものは侵入菌糸の発育^{5, 16, 17)} ならびに pectin 分解酵素活性を抑制することが知られている^{1, 3, 6)}。筆者らはこの諸事実がここにとり上げた温州ミカンの2つの疾病の病徴にどのように関与するかを明らかにするために本実験を行なったものである。

*京都府立大学農学部植物病理学研究室 (業績 98号)

Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.

(Contribution No. 98)

昭和47年7月27日受理

II 実験材料および方法

1. 供試菌：*Phytophthora citrophthora* (R. E. et E.H. Smith) Leonian (和歌山株，京都府立大学植物病学研究室保存菌)，*Penicillium digitatum* Saccardo (温州ミカンより滝本分離株)
2. 菌の接種：28°C，7日間 PDA 培地上で生育せしめた菌そうの周縁部において殺菌した径 5mm のコルクボーラを用いてうち抜いたディスクを，70% ethanol で表面殺菌をした果実に無傷のまま密着せしめた。接種後十分に湿度を保った殺菌した密閉容器に入れ28°C においた。また 5mm 角に殺菌脱脂綿を切り遊走子けん濁液¹³⁾を浸ませたものも接種に用いた。
3. 軟化力試験：罹病組織を 5mm 角に切りとり 1g 秤量した上 10ml の脱イオン水を加え potter により homogenize し遠心分離 (5,000rpm, 20分間) した上清を粗酵素液とした。この酵素液 2ml に対し基質としてキュウリ切片 (径 7mm 厚さ 0.5mm) を加えて 20時間 30°C で反応させて軟化力を調べた。軟化力判定の基準は以下の指標によった。0：まったく変化なし，1：指にて形を保ちながら潰れる，2：指にてバラバラになる，3：試験管の上まではこわれながらももち上り指にて簡単に潰れる，4：試験管上部にもち上らずバラバラに砕ける，5：試験管を軽く振るのみでバラバラになる。
4. 粗酵素液の調製：あらかじめ PDA 培地上において 28°C 5日間培養した両菌の菌そう周縁部を径 5mm のコルクボーラで打ち抜き，つぎの培地に接種し 28°C で振とう培養をした。
培地は peptone 5g, saccharose 15g, pectin 1g, KH₂PO₄ 2g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5g, thiamine 15mg を脱イオン水で 1l にしたものを振とう培養用フラスコに 500ml ずつ分注し 1気圧 15分間殺菌をした¹⁰⁾。
P. citrophthora は11日間，*Pen. digitatum* は5日間それぞれが最高の軟化力を示す日数培養し，東洋濾紙 No. 2 で濾過，濾液を硫酸 0.9飽和で塩析した。1昼夜 5°C に保ったのち，16,000G, 45分間遠沈をし，沈澱を 0.01 M phosphate buffer (pH6.3) に溶解し，同じ buffer に対し透析して得られた溶液を粗酵素液とした。
5. 蛋白質の定量：蛋白質の定量は Cu-Folin 法により島津ボッシュロムの分光光度計 (Spectronic 20) の 750m μ により吸光度により測定した。
6. pectin 分解酵素活性測定のための基質精製：市販 pectin は吉川の方法により精製し¹⁰⁾，sodium poly pectate は 25% pectin 溶液に 0.5 N NaOH を 100ml 加えて 2時間 0°C に放置して鹼化し，conc HCl を数

滴加えて pH を 2.0以下にしたのち 70% について 100% ethanol で数回洗浄し，最後に ether で脱水風乾して得た¹⁰⁾。

7. 粘度測定法¹⁰⁾：精製 pectin の 1% 溶液 3ml を 1.2ml の McIlvain buffer で pH を調節，その 3.5ml に適当に希釈した粗酵素液 1.5ml を加えて 5ml とし 35°C で粘度測定をした。Ostwald 粘度計により分解率は梶の式により算出した。

8. TBA 試験¹⁵⁾：McIlvain buffer により pH8.0 に調節した pectin 溶液 3.5ml に適当に希釈した酵素液 1.5ml を加えて 30°C において 2.5時間反応させ，反応後 1ml に 0.5N HCl 5ml を加え，さらに thiobarbitalic acid (TBA) 10ml を加えて 100°C，1時間加熱した。所定時間後室温まで冷却し遠沈し上清を 480—580m μ で吸光度を測定した。

9. 還元糖の定量¹²⁾：粘度降下測定の際に作成した反応液を 17時間反応させたのち，その 1.5ml に DNS 試薬を等量加え 100°C において 15分間加熱，所定時間経過後直ちに 40% ロッセル塩溶液 0.5ml を加えてよく振り遠沈し，上清について 575m μ にて吸光度測定をした。glucose anhydrous を標準にえらんだ。

10. PE 活性の測定⁹⁾：McIlvain buffer によって所定 pH に調節した pectin 1% 溶液 5ml に適当に希釈した粗酵素液 1ml を加えて 30°C，4時間反応させた。反応終了後指示薬として BTB 試薬 0.1ml を加え，0.05 N NaOH で滴定した。

11. Cx 酵素の活性測定：市販 Na-CMC 0.5% 溶液について pectin の場合と同様にして粘度降下法により測定した。

12. TLC による phenol 類の検出⁷⁾：ガラス板に silica gel G を 250 μ の厚さに塗布したものを使用に当って 1時間加熱して活性化させた。benzene : methanol : glacial acetic acid (45 : 8 : 4) を用いて展開し，benzidine 5g を HCl 14ml に溶解し脱イオン水によって 1l にしたものと 10% NaNO₂ 水溶液とを等量混合したものを発色剤として噴霧し 105°C で 1—2分おくことによって phenol 類の検出をした。

13. phenol 類含有培地の調製：培養液 1l 中に pectin 10g, maltose 5g, peptone 5g, Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 1g, KH₂PO₄ 500mg, MgSO₄ · 7H₂O 250mg を含み，その上に chlorogenic acid, caffeic acid, pyrocatechol, coumalic acid および pyrogallol のうち 1つを 10⁻³M になるように添加し，50ml の三角フラスコに 25ml ずつ分注し殺菌した。なお phenol 類をまったく含まない区を設け対照区とした。

III 実験および結果

1. 接種による病徴観察

温州ミカン， レモン， ナツミカン， ピーマンおよびキュウリの果実， ジャガイモ塊茎， ニンジン根を供試し， *P. citrophthora*， *P. capsici* および *Pen. digitatum* を接種し 28°C に 3 日保ったのち病徴を観察した。(Table. 1)

Table 1. Pathogenicity of 3 causal fungi to several plants and their symptoms at 28°C for 3 days

Pathogens	Test plants for pathogenicity						
	Unshu orange	Summer orange	Lemon	Red pepper	Potato	Carrot	Cucumber
<i>P. citrophthora</i>	+ B	+ B	+ B	-	-	-	-
<i>P. capsici</i>	-	-	-	+ M	-	-	+ M
<i>Pen. digitatum</i>	+ M	+ M	+ M	-	-	-	-

+ : Pathogenic, - : Non pathogenic, B : Browning, M : Macerating

P. citrophthora による褐変は温州ミカンがもっともいちじるしくピーマン， レモン， ナツミカンの褐変はあまりはっきりとしたものではなかった。罹病部には軟化症状はまったく見られずかさかさ， わずかに浸潤状態であった。この褐変が始まるのは接種 2 日後であって 4 日目からは白い菌そうが見え始める。菌糸はこの褐変部より先行し褐変によって菌糸の生長が抑制されているような所見は顕微鏡的にも見られなかった。

一方 *Pen. digitatum* は温州ミカン， レモン， ナツミカンを浸かすことができいちじるしい軟化を示したが褐変は見られなかった。この両菌による病徴進展の速度は 28°C においては *P. citrophthora* の方が

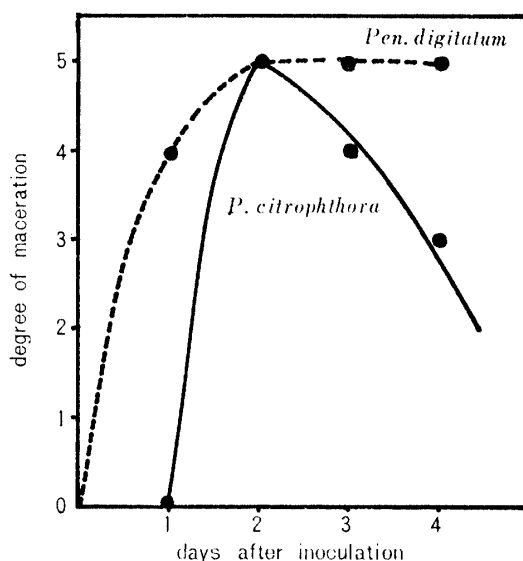


Fig. 1. Production of macerating enzyme in the lesion of Citrus fruit infected by *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

わずかに速かった。同じ疫病菌であっても同時に接種した *Phytophthora capsici* は褐変を起さず軟腐して菌糸は進展した。

2. 罹病部抽出液の軟化作用

温州ミカンに両菌を接種後 1, 2, 3, 4 日目に病変部を接種点を中心として 5mm 角に切りとりこの部分の抽出液についての軟化力の変化を測定したところ， Fig. 1 に示す結果を得た。

Pen. digitatum の方は軟化活性を持続していたことはいちじるしい相違点であった。

3. 培養液の軟化力の比較

PDA 培地にあらかじめ培養した両菌を所定培地に移植し振とう培養をしたものより培養液を得， 塩

析， 透析した粗酵素液について軟化力を比較した。

Pen. digitatum が最大軟化力を示すに必要な最少蛋白量 (0.03mg/ml) で両者のキュウリ切片に対する軟化力を比較した結果を Fig. 2 に示す。*Pen. digi-*

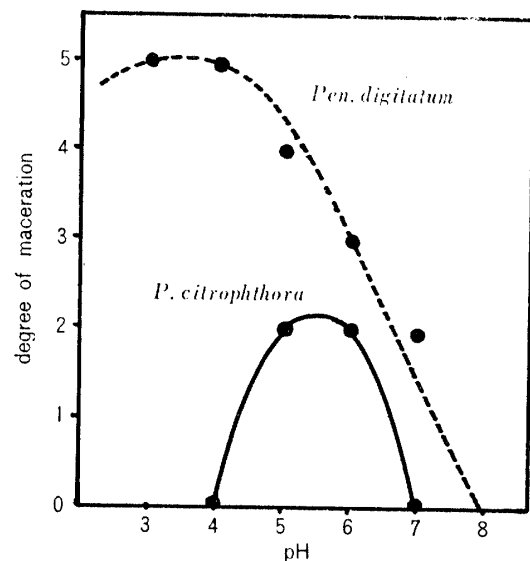


Fig. 2. Influence of pH on maceration of cucumber discs after 20 hr at 30°C in the crude enzyme prepared from the culture filtrates of *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

tatum が圧倒的に軟化力が強く *P. citrophthora* はこの蛋白量ではきわめて低い軟化力しか示さなかった。また好適 pH は *Pen. digitatum* が 3-4, *P. citrophthora* が 5-6 であった。両者ともアルカリ側ではまったく軟化活性を示さなかった。

4. pectin 分解酵素活性

前項で得た粗酵素液について粘度低下率から両菌の

pectin 分解酵素活性を比較すると蛋白当り *Pen. digitatum* の方が、*P. citrophthora* よりかなり活性が高い。(Fig. 3) 両菌ともアルカリ側では活性がきわ

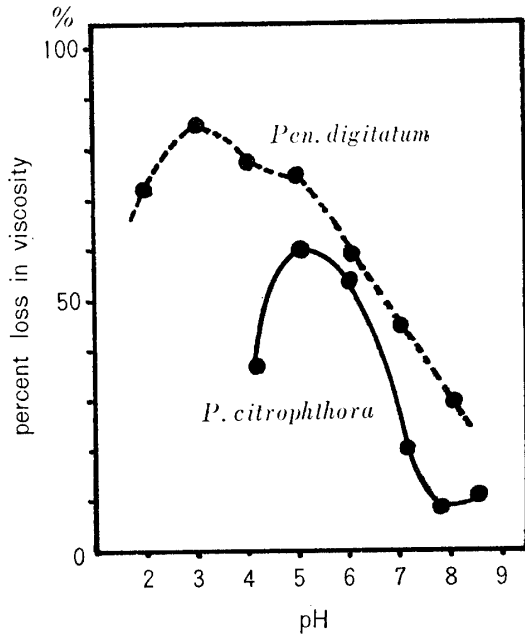


Fig. 3. Effect of pH on viscosity-reducing activity for pectin in 45 min. by crude enzyme prepared from the culture filtrate of *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

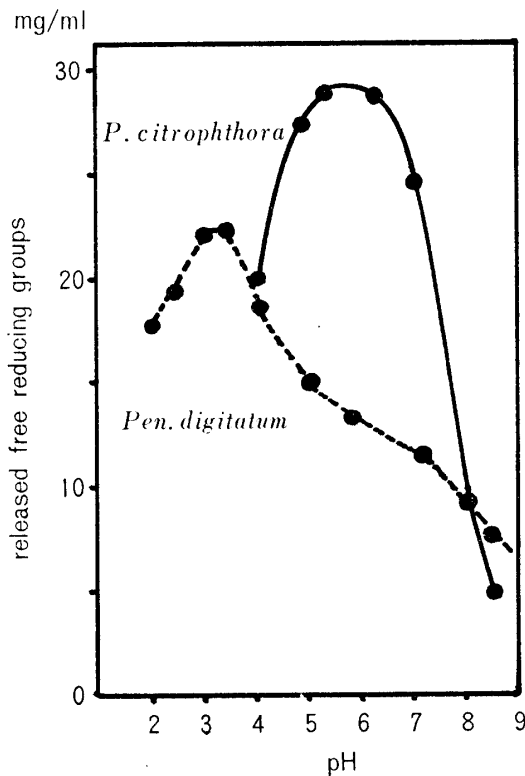


Fig. 4. Effect of pH on liberation of reducing groups from pectin after 17 hr at 35°C kept with crude enzyme of *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

めて低く *Pen. digitatum* は pH 5.0 以下, *P. citrophthora* は 6.0 以下で急激な活性の低下がみられた。両菌の好適 pH 域を比較すると *P. citrophthora* は 4.5—6.0 と比較的狭いのに対して *Pen. digitatum* は 2.0—5.0 とかなり広い。*Pen. digitatum* の pectin 分解酵素は酸性側ではかなりの範囲に涉って活性を維持するものと思われる。一方遊離還元糖量を比較すると Fig 4 に示すように *Pen. digitatum* の方が *P. citrophthora* に比べてかなり少ない。

一方両菌ともに TBA 試験において 550m μ 付近にほとんど吸収を示さないこと、pH 8.0 付近の粘度低下率がきわめて低いことから TE 活性はほとんど有しないものと思われる。sodium poly pectate を基質とした場合も粘度低下率でみたところでは両菌の粗酵素液の間に活性の程度の相違もなく、pH 特性も大体において似通っており 5.5—6.5 付近に peak をもち、アルカリ側ではほとんど活性をみる事ができなかった。(Fig 5)

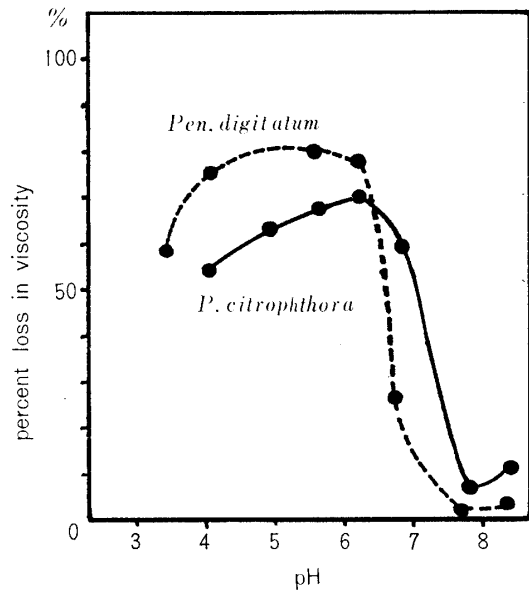


Fig. 5. Effect of pH on viscosity-reducing activity for sodium polypectate in 45 min. by crude enzyme prepared from the culture filtrate of *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

PE活性は Table. 2 に示すように *P. citrophthora* からのものに pH 7.0 付近においてわずかに活性を見たが *Pen. digitatum* にはほとんどみられなかった。

5. cellulose 分解酵素活性

市販 Na-CMC を基質として粘度降下法により活性を調べたところ Fig. 6 に示すように両菌ともに若干の活性を有し、*P. citrophthora* は 3.5, *Pen.*

Table 2. Comparison of the PE activity of the crude enzyme prepared from *P. citrophthora* and *Pen. digitatum*

Pathogens	pH of reaction mixture				
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
<i>P. citrophthora</i>	0	0.031	0.038	0.075	0.038
<i>Pen. digitatum</i>	0	0	0	0.018	0

Number shown specific activity as units/mg protein, where 1 unit equalled to 1 mole carboxyl groups released/min.

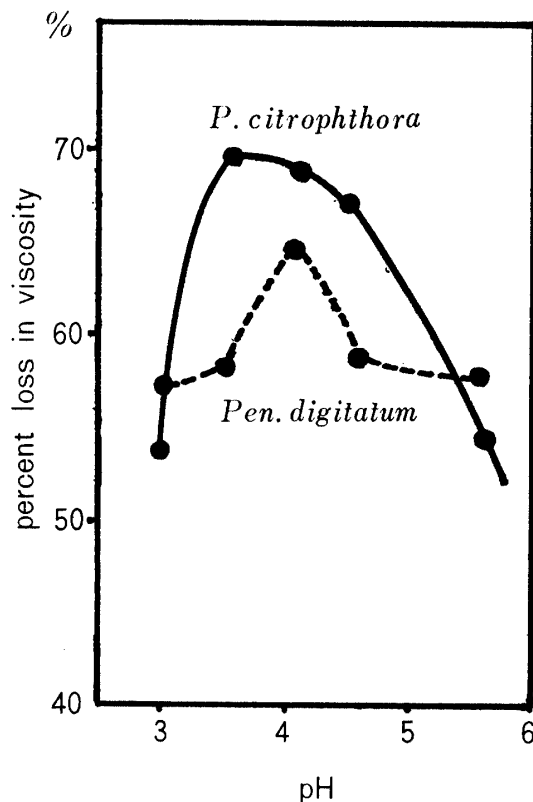


Fig. 6. Influence of pH on cellulolytic activity of crude enzyme prepared from the culture filtrate of *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

digitatum は 4.0 に最適 pH をもつものようであった。

6. ミカン果皮褐色変部 methanol 抽出液¹⁸⁾中の phenol 類

罹病部 1g 当りを 10ml の methanol とともに homogenize し後濾過し、残渣に少量の methanol を加えて一昼夜放置後濾別し、前日の濾液と合する。これを 35°C で減圧乾燥し、またさらに methanol を加えて減圧乾燥し水分を完全に除いた上、methanol に溶解し遠心分離し (5,000rpm, 20分) methanol 不溶性の物質を除いた。上清液を減圧乾燥して methanol を除いたのち、水を加えてけん濁液とした。同時に対

照のため健全部についても同様の操作をしてけん濁液を得た。前者は暗褐色、後者は黄褐色を呈していた。これについて TLC で phenol 類の検出を行なったが chlorogenic acid の存在は健、病いずれにも確認されたが他の phenol 類は検出されなかった。

7. 抽出液の pectin 分解酵素活性に与える影響

粗酵素液 1ml と前記抽出液 1ml を McIlvain buffer で、pH を *P. citrophthora* の場合は 6.0, *Pen. digitatum* の場合は 4.0 に調節してキュウリ切片によって軟化力を測定した。結果を Fig. 7 に示すが *P.*

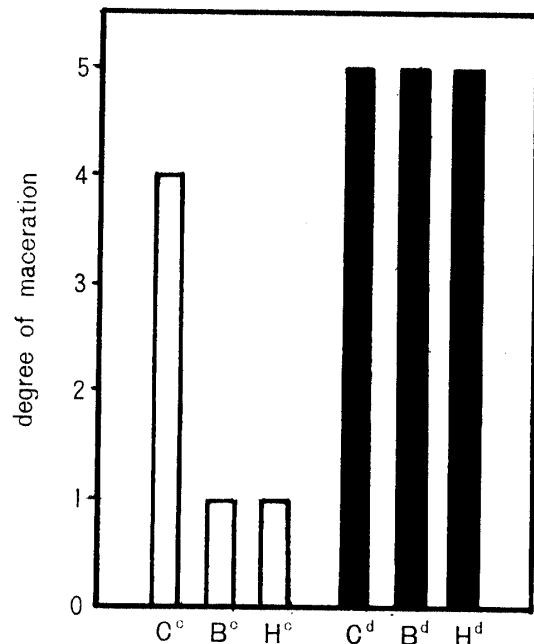


Fig. 7. Inactivation of macerating enzyme from *P. citrophthora* or *Pen. digitatum* by the extract from brown changed lesion of Citrus brown rot.

C: control, B: brownish lesion, H: healthy part, c: *P. citrophthora*, d: *Pen. digitatum*.

citrophthora の軟化力は褐色変部、健全部抽出液によってかなり強く阻害されるのに比して、*Pen. digitatum* の軟化力はまったく影響を受けなかった。しかし pectin 分解酵素活性ならびに cellulose 分解酵素活性を粘度低下法で測定したところ両抽出液とも何らの影響を示さなかった。

8. phenol 物質の作用

あらかじめ PDA 培地に 5 日前培養した両菌の菌をうをコルクボーラで打ち抜き、各種 phenol 含有培地に移植 (8 日間 28°C に保ったのち菌体を濾別し、110°C で 24 時間乾燥し菌体乾重量とした。濾液は pectin 分解酵素活性の試験に用いた。Table. 3 に示すように *P. citrophthora* ではすべての供試 phenol が菌生育

Table 3. Inhibitory action of phenolic substances on the growth and PG activity of *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

Phenolic substances	<i>P. citrophthora</i>		<i>Pen. digitatum</i>	
	Dry weight	PG activity	Dry weight	PG activity
Chlorogenic acid	0.8	0.9	0.9	0.9
Caffeic acid	0.6	0	0.8	1.0
Pyrocatechol	0.7	0	0.9	0.6
Coumalic acid	0.8	0	0.9	1.4
Pyrogallol	0.6	0	0.9	0.9

Number shown relative values as 1.0 for the sample obtained from the culture without phenolic substances.

に阻害的に働いたが, caffeic acid, pyrogallol の阻害作用がいちじるしい。しかし *Pen. digitatum* の生育はほとんどこれらの影響を受けない。

9. 罹病部総還元糖量の変化

果皮を20倍の脱イオン水とともに homogenize して 5°C に一昼夜放置後遠心分離 (5,000rpm, 20分間) し, その上清液を濾過して濾液を試料とした。

還元物質量は glucose に換算して示したが, 接種1日後が両菌の場合とも peak で2日目までは罹病部の方が健全部より多いが, さらに日がたつと減少して行く。とくに *Pen. digitatum* の方がいちじるしい。

(Fig. 8)

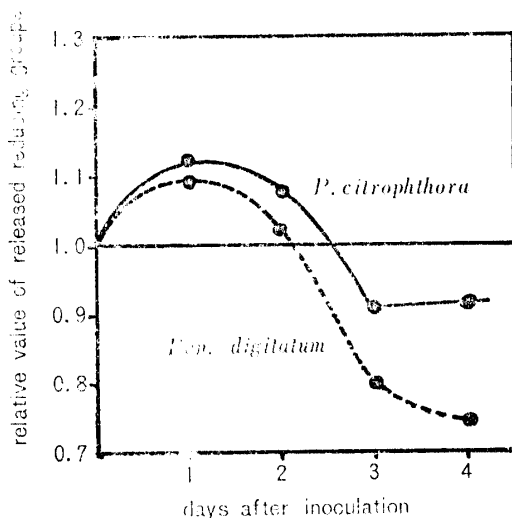


Fig. 8. Reducing groups in the lesion of Citrus fruits infected by *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

Each points were shown the relative values as 1.0 for healthy parts of the fruit.

10. 病患部 pH の変化

Fig. 9 に示すように両菌とも接種後, 日数が経つ

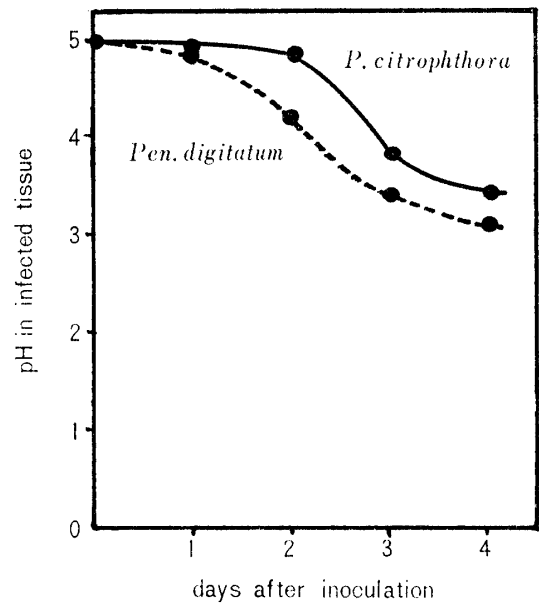


Fig. 9. pH change with development of the lesion of Citrus fruit infected by *P. citrophthora* or *Pen. digitatum*.

につれて罹病部の pH は低下する傾向にあり, その低下は *Pen. digitatum* の方がいちじるしい。十分に熟したミカンの果皮の健全部 pH は 4.9 前後であるが, 両菌ともにこれを 3.1—3.4 程度にまで低下せしめる。

IV 考 察

一般に疫病の病徴としては植物組織の水浸状変化ならびに軟化が挙げられる。また菌を寄生植物の關係においては病斑部の褐変を伴うことがある。ここに筆者らが供試した *P. citrophthora* はカンキツの果実の褐変腐敗を起因するが, 組織軟化を起さない点において, 従来検討して来た *Phytophthora capsici* とは病徴を異にしている。また同一寄主を侵害し得る *Pen. digitatum* の場合は褐変を全然起さずにいちじるしい軟化が進められる。この病徴のちがいを両菌の生理的性質と基因すると考えて検討を加えたものである。ここに用いたカンキツ類ではこの両病徴の相違は顕著である。両菌とも軟化酵素を分泌しているが, Fig. 2 に示されるように *P. citrophthora* のそれは *Pen. digitatum* に較べて活性が低く最適 pH 域が後者の 3—4 に比して, 5—6 と高いところにある。また接種後の罹病組織の軟化活性が, 後者では 2 日以後も強力に持続されるのに, 前者では 2 日後を peak として低下する。このことは Fig. 9 に示したように, 両菌とも果皮の pH を低下して行き *P. citrophthora* では 3 日後に 3.8 となりこの菌の軟化酵素の活性域からずれてしまう。一方 *Pen. digitatum* の場合は *P. citrophthora* よりも速やかに pH の低下が起り, 4

日後には 3.1 付近にまでなるが、これはこの菌の分泌する軟化酵素の活性域にあることになる。また健、病いずれの果皮中にも含まれる物質で *P. citrophthora* の軟化酵素活性はいちじるしく阻害されることと相まって *P. citrophthora* による軟化は生じ難いと考えられる。この軟化に関与する酵素は、PE, TE 活性はなく PG 活性も *Pen. digitatum* の場合に比して *P. citrophthora* の場合は粘度低下率が低い割に遊離還元物質質量が多いことから endo 型よりも exo 型の PG の働きがあることを考慮すべきであろう。

罹病植物における褐変のなかには、植物の含有している phenol 物質酸化にともなう抵抗反応と目されるものもあるが^{3, 6, 20)}、本実験の場合、ミカン果皮中に比較的多く含まれる phenol である chlorogenic acid によっては、*P. citrophthora* の生育がいちじるしく阻害されたり、PG 活性が低下せしめられたりすることはない。罹病組織においても菌糸が褐変部位を越えて発育していることと併せると phenol およびその酸化物が病徴進展に影響を与えているようには考えられない。

なお今後 *Pen. digitatum* が *P. citrophthora* と異なり青い果実を侵かしにくいこと、ミカン果皮に多いと云われる PE⁹⁾ との関係および *P. citrophthora* のもつ軟化酵素活性を阻害するミカン果皮成分が何であるかなどを明らかにすることによって病徴発現の機構をさらに解明したい。

V 引用文献

- 1) Akinirefon, O. A. (1968) : *Phytopath. Z.*, **63** : 153—164.
- 2) Bateman, D. F. (1964) : *Phytopath.*, **54** : 1372—1377.
- 3) Bateman, D. F. (1966) : *Ann. Rev. Phytopath.*, **4** : 119—146.
- 4) Bateman, D. F. (1969) : *Phytopath.*, **59** : 37—42.
- 5) Biehn, W. L., Kuc, J., and Williams, E. B. (1968) : *Phytopath.*, **58** : 1255—1260.
- 6) Farkas, G. L., and Kiraly, Z. (1962) : *Phytopath. Z.*, **44** : 105—150.
- 7) 古谷 力 (1964) : 薄層クロマトグラフィー第 1 集, p. 87—91, 南江堂, 東京.
- 8) Knäsel, D. (1968) : *Phytopath. Z.*, **67** : 205—213.
- 9) 真部正敏, 樽谷隆之 (1965) : 日本食品工業学会誌, **12** : 432—438.
- 10) 正子 朔, 吉川正明, 桂 琦一 (1972) : 日植病報投稿中
- 11) McLendon, J. H. (1964) : *Amer. J. Bot.*, **51** : 628—633.
- 12) Miller, G. L. (1959) : *Anal. Chem.*, **31** : 426—428.
- 13) 宮田善雄, 桂 琦一, 室川嗣夫 (1970) : 京府大学報, 農, **22** : 27—30.
- 14) Norkrans, B. (1963) : *Ann. Rev. Phytopath.*, **1** : 325—350.
- 15) Ponting, J. D., and Joslyn, M. A. (1948) *Arch. Biochem. Biophys.*, **19** : 47—63.
- 16) Rubin, B. A., and Artsikhovskaya, E. V. (1964) : *Ann. Rev. Phytopath.*, **2** : 157—178.
- 17) Sherwood, R. T. (1966) : *Phytopath.*, **56** : 279—286.
- 18) Seevers, P. M., and Daly, J. M. (1970) : *Phytopath.*, **60** : 1322—1328.
- 19) 友田正司 (1968) : 糖質実験法, p. 27—38, 共立出版, 東京.
- 20) Tourneau, D. L., Mclean, J. O. and Guthrie, J. W. (1957) : *Phytopath.*, **47** : 602—606.
- 21) 瓜谷郁三 (1966) : 植物病理の生化学, 後編, 21—34, 農業技術協会, 東京.

Summary

Among the Citrus diseases, the symptoms of the brown rot of fruit caused by *Phytophthora citrophthora* show remarkable contrast to that of the common green mold disease by *Penicillium digitatum*. The former fungus changed the host tissue to brown colour but didn't macerate it, the latter didn't change colour although marked maceration progressed. The difference of the mechanisms on the reaction of Citrus fruits against these two

fungal infections were studied in this paper.

To evaluate the macerating activity the discs of cucumber fruit and potato tuber were used. The macerating activity of the host-pathogen complex in the lesion reached a maximal peak at 3rd day after inoculation with *P. citrophthora*, but fell down during following several days. With *Pen. digitatum*, the maximal activity was continued over several days after that.

Optimum pH range for the maceration was in 5—6 for *Pen. digitatum* and in 3—4 for *P. citrophthora* respectively and the activity of the former was higher than the latter. On the other hand, pH of the lesion formed by each pathogen began to drop from 3rd day after inoculation and then reached a stationary value, 3—4, at 5th day. In this pH range the macerating enzyme secreted from *P. citrophthora* didn't show their activity,

moreover the activity was inhibited by the extracts from the pericarp of Citrus fruit.

The facts described above can explain some of the reasons by which soft rot didn't developed in the case of the brown rot by *P. citrophthora*.

Pen. digitatum have endo-PG, and *P. citrophthora* have endo- and exo-PG, but both fungi didn't secret trans-eliminase.