温州蜜柑の緑かびおよび青かび病に関する 研究 (第5報)

罹病果皮組織における Pectin 分解と d-Galacturon 酸の作用

宮 川 経 邦*

Tsunekuni MIYAKAWA : Studies on the green and blue molds of Satsuma orange (5).

Decomposition of pectin in the rotted orange peel tissues and the action of
d-galacturonic acid on the peel.

温州蜜柑の貯蔵病害の中で最も侵害力の強い緑かびおよび青かび病は果皮面の傷口から侵入し、急速な軟化症状を呈して腐敗するのが特徴である。この罹病果皮組織には軟化とともに pH の低下がみられるが、これは pectin の分解によつて遊離した d-galacturon 酸に基づくものである¹⁾。

Green²⁾ は orange の果皮の軽微な傷口 (0.5mm 以下の深さ) から *Penicillium* 菌が侵入するためには酸によつて黄皮側の抵抗力を破ることが必要であり、発病機構には部分的に酸が関与しているものとした。さらに同氏は抵抗力を破る系において酵素による pectin 質の分解が重要な役割をもっていることを推察したが、罹病組織から酵素作用を検出できず、この面から *Penicillium* 菌の侵害機構を究明することが必要であると述べた。

著者は既報において *P. digitatum* および *P. italicum* が *in vitro* でかなり強い pectin 分解酵素を産生することを明らかにしたが、ここではさらに罹病初期の果皮組織から多量の d-galacturon 酸が検出されることと関連して病原菌の侵害に際しての pectin 分解作用と果皮組織に対する殺生および軟化作用の機構とについて実験ならびに考察を試みた。なお *Penicillium* 菌に対する柑果の抵抗力がほとんど果皮部分に存在すること³⁾ から、これらの実験は果皮を対象として進めることにした。

この研究について九大農学部吉井教授より懇篤な御指導を戴き、徳島果樹試安達場長より終始御指導と御援助を戴いた。謹謝の意を表する。

I. 供試材料および実験方法

全実験を通じて共通の材料および実験方法の概要は

* 徳島県果樹試験場

次のとおりである。

(1) 供試菌および果実 前報⁴⁾までに供試した菌株ならびに温州蜜柑果実と同じであるが、接種試験に供試した未熟果は9~10月の着色前のものを採取して用いた。

(2) 培地の調製および培養方法 培養液は100ml 容のコルベンに20ml ずつ分注して100°C、15~20分間滅菌後、病原菌胞子を移植して25°C で静置培養した。

(3) ペーパークロマトグラフ 東洋ろ紙 No. 52(2 次元用)を用い、試料は端より6cm の線の上に2cm 間隔につけ、上昇法によつて展開した。

(4) 柑果皮組織の軟化 (maceration) の観察

方法 a) 100ml コルベンに被検試料液約20ml をとり、径8mm のコルクボーラーで打ち抜いた果皮切片を投入、トルエンを滴下して30°C、24時間後に軟化の有無をしらべた。

方法 b) 果皮面に径5mm のコルクボーラーを用いて果肉部に達しない程度の穿孔を作り、綿球に浸した試料液を接触して30°C 湿室に24時間保つた(第3図)。軟化の判定にはa)では軟化の程度をピンセットを用いてそれぞれ+ (軟化)、± (軟化の傾向を認める) および- (変化なし) の3段階に分け、b)では穿孔の周辺より軟化した程度および範囲を観察して測定した。

(5) 未熟果に対する病原菌の接種 果皮面の1カ所(径5mm 程度の範囲内)に深さ1mm 程度の刺傷を10カ所与え、供試液を浸したガーゼに病原菌胞子を附着せしめて附傷部に接触、24~25°C 湿室に24時間保つたのちガーゼを除去してさらに同温度に保持して発病せしめた。

II. 実験結果

(1) 罹病果皮組織にみられる遊離酸の増加と d-galacturon 酸の検出

努めて無菌的に剥皮して 3~4cm の大きさに切断した温州蜜柑の生果皮 20g を滅菌シャーレにとり、*P. digitatum* および *P. italicum* の孢子を接種後 25°C に保つて罹病せしめた。罹病果皮は搾汁前に 99~100°C の蒸気で10分間処理したのち、200ml (20倍量) の蒸留水を加えて磨砕搾汁し、ろ液について N/10 NaOH による滴定中和量を求めた。接種後 1~5 日間における罹病果皮内の遊離酸の生成状況は第 1 図に示すとおりである。

第 1 図 罹病果皮組織内の遊離酸の増加
(罹病果皮 10g を中和するに要する N/10 NaOH 量)

この結果から罹病果皮組織には初期に遊離酸が増加し、腐敗程度が進むにしたがつて減少することが認められた。

次にこの遊離酸の定性試験を試みた。すなわち罹病果皮の搾汁液をペーパークロマトグラフによつて展開し (n-ブタノール・酢酸・水, 5:2:3), BPB で呈色した結果 1 コの明瞭な spot が検出された。各種の有機酸および d- α -galacturon 酸の標品と比較した結果, Rf の一致ならびに検出された spot がアニリン・酢酸によつても呈色反応を示すことから d- α -galacturon 酸であることを確認した。これは pectin の分解によつて生じたものであり、罹病果皮内に強い PG 作用がみられることと一致する。すなわち罹病果皮組織では pectin の分解によつて d-galacturon 酸を生じ、

侵害した菌に摂取されるまえには一時的に集積するものと考えられる。なおこの実験の範囲内では他の酸は検出できなかった。また罹病果皮の搾汁液に CaCl_2 を添加しても沈殿はみられなかったので、pectin の中間的な分解物としての pectin 酸は存在しないものと思われる。しかし両病原菌は pectinmethylesterase 作用をもっている⁴⁾、果皮組織内の pectin の分解過程としては pectin 酸が生成されても、強い PG 作用が付随していることから pectin 酸としての集積は起こらないのであろう。

次に罹病果皮組織内における d-galacturon 酸の生成量を、滴定酸度およびペーパークロマトグラフ上の spot の大きさを定量的標品と比較することによつて推定した。両方法による定量値はほぼ一致し、25°C において 2~4 日間に罹病果皮内には生果皮重のほぼ 2% 以上の d-galacturon 酸が生成されることが推定できた。なおこれは一定量の罹病果皮組織を均質化した試料についての数値であるから、病原菌の侵入初期の組織にはさらにそれ以上の濃度の d-galacturon 酸が遊離するものと考えられる。

(2) 2, 3 の *Penicillium* 菌による罹病果皮組織内の polygalacturonase (PG) 作用の比較

P. digitatum および *P. italicum* を接種した罹病果皮組織内に多量の d-galacturon 酸が生成されることは強い pectin 分解が起こっていることを示すものであり、前報⁴⁾の結果を裏づけるものであるが、ここではさらに 2, 3 の *Penicillium* 菌の侵害した柑果組織内の PG 作用を確かめ、*P. digitatum* および *P. italicum* の場合と比較した。供試試料および実験結果は第 1 表に示すとおりである。なお PG 作用力の測定は pectin 酸を基質とした反応液の還元力の増加度によつて求めた。また反応液 (反応前後) の pH は各菌株の培養ろ液にみられる PG 作用の好適範囲としてほぼ 3.9~4.3 の範囲になるように調整した。

この結果から *Penicillium* 菌による柑果の罹病組織にはいずれにも PG 作用がみられるが、培養ろ液内にみられる場合に比べて⁴⁾、病原力の強い菌ほど PG 作用が大きいことは明らかである。

(3) Pectin を添加した果皮抽出成分培地における病原菌の遊離酸の生成

罹病初期の果皮組織内には多量の遊離酸がみとめられ、それが pectin の分解に基づく d-galacturon 酸であることを確かめたが、もし d-galacturon 酸以外には遊離酸が生じていないとすれば、pectin を含まない培地では遊離酸の増加がみられないものと考えられ

第1表 *Penicillium* 菌の侵害した柑果組織内の Polygalacturonase 作用

罹病果 ^a	酵素液濃度 ^b	実験-1	実験-2
<i>P. digitatum</i>	原液	3.6	3.9
	2倍希釈	3.0	3.5
	4倍々	2.1	—
<i>P. italicum</i>	原液	—	4.3
	2倍希釈	—	3.9
	4倍々	—	—
<i>P. expansum</i>	原液	0.9	1.3
	2倍希釈	0.6	0.8
	4倍々	0.3	—
<i>P. purpurogenum</i>	原液	3.0	2.0
	2倍希釈	2.2	1.0
	4倍々	1.5	—
<i>Penicillium</i> sp.	原液	—	0.8
	2倍希釈	—	0.4

表中の数字は 30°C, 24時間後の反応液(基質 5 : 酵素液 1) 5ml の還元力の増加 (0.02N- I_2 量(ml)) を示す。

^a *Penicillium* sp. は貯蔵庫内に発生した自然感染による発病果, 他は接種後 24°C において発病せしめたもので, いずれも病斑周囲の罹病初期の果皮の部分を取り取って供試した

^b 罹病果組織に10倍量 (1g/10ml) の水を加えて磨砕, ろ過した液を原液とした

る。したがって両病原菌の酸生成を培地内において確かめるとともに, pectin 含有の有無と遊離酸生成との

関係をしらべた。培地としては80%メタノールで抽出し, 活性炭で脱色後濃縮して果皮成分濃度が 20g/l になるように蒸留水に溶解し, pectin (citrus pectin) または glucose をそれぞれ0.5%の割合に添加したものを供試した。常法により 25°C, 2~10日間静置培養後, ろ液の滴定酸度を求めた(第2図)。その結果 pectin 添加区では明らかに遊離酸が増加したが, glucose 添加区では全く遊離酸の生成を認めなかった。この結果から両菌は pectin を含まない果皮抽出成分培地では遊離酸を生成しないことがわかり, ペーパークロマトグラフによる結果を裏づけるものである。

(4) 柑果皮組織の軟化を起こす条件

pectin を多く含む植物組織は pectin 分解酵素群, いわゆる protopectinase によつて軟化 (maceration) を起こすが, 酸もまた類似の作用をもっている¹⁾。Green²⁾ は, *Penicillium* 菌の侵害に対する orange 果皮の抵抗力が pectin 質にあること, pectin 質は pectin 質の分解 (pectic decomposition) を起こす酸によつて破壊され, さらに酸が細胞膜を柔軟化 (softening) させる作用をもっていることから, *Penicillium* 菌の作用が酸に類似していると述べた。またシュウ酸塩, アルカリ性の EDTA (ethylene diamine tetraacetate) 溶液によつても植物組織の軟化が起こる³⁾。したがってこれらの既往の結果を総合して柑果皮組織に軟化作用を示す酵素以外の温和な諸条件について実験を行ない, 罹病状態の構成に関与する諸条件の考察を試みた。供試した物質は有機酸, 有機酸塩, リン酸塩緩衝液および EDTA で, 方法 a) によつて柑果皮切片に対する軟化作用の有無をしらべた(第2表)。その結果柑果皮組織片は酸, シュウ酸塩, pH 2.4 以下の緩衝液およびアルカリ性の EDTA 溶液によつて軟化した。これは細胞膜物質中の pectin 質の離解, あるいは細胞の結合に関与する pectin 酸塩の溶脱に起因するものと考えられる^{1,5)}。

(5) d-Galacturon 酸および病原菌の培養ろ液による果皮組織の軟化

一般に軟化症状を呈する罹病組織の形成には病原菌の pectin 分解酵素が関与するとされているが, さらに酸にも植物組織を軟化する作用があることは前項の実験で明らかである。一方柑果皮組織には多量の pectin が含まれているから, 病原菌が生産する polygalacturonase によつて生成された d-galacturon 酸が, ある時期までかなり多量に遊離することも前述の通りである。したがってこの物質が酸としての作用力をもっているもの

第2図 果皮抽出成分培地における遊離酸の生成 (培養ろ液 100ml を中和するに要する N/10 NaOH量)

第2表 柑橘果皮組織片（黄皮側, flavedo）に対する軟化作用

供試物質	濃度	M/10	M/25	M/50	M/100	M/500	M/1,000
Oxalic acid		+	+	+	+	—	—
Citric acid		+	+	+	—	—	—
Tartaric acid		+	+	+	—	—	—
NH ₄ -oxalate		+	+	±	±	—	—
Na-oxalate		+	+	+	±	—	—
Na-citrate		—	—	—	—	—	—
EDTA (pH 8.7~9.4)			+	+	+	±	—
〃 (pH 4.8)			—	—	—	—	—
Phosphate buffer pH 2.2		+					
〃 pH 2.4		+					
〃 pH 2.6		—					
〃 pH 3.5		—					
〃 pH 9.2		—					
Dist. water		—					

＋（軟化してピンセットで容易に貫通する），±（軟化の傾向は認められるが貫通できない），—（軟化を認めない）

であれば、前述の結果から柑橘果皮組織に対しても何らかの影響を与えるものではないかと想像されるので、ここでは d-galacturon 酸の標品を供試して柑橘果皮組織におよぼす作用をしらべた。同時に培養ろ液の作用についてもあわせて観察した。培養液は 0.2% の pectin を含む asparagine-glucose (1 l中に asparagine 2g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄・7H₂O 0.5g, glucose 5g および 5g/l 濃度の peel extract を含む) であるが、*P. digitatum* の胞子を移植後 25°C で静置培養して得たろ液をさらに Seitz ろ過器によつて無菌的にろ過して方法 a) および b) によつて供試した。

それらの結果は第3表に要約したとおりである。すなわち d-galacturon 酸は 2% 以上で方法 a) によつて果皮組織の黄皮側に対して軟化作用を示した。また培

第3図 柑橘組織に対する軟化作用の観察
(打点部分は軟化の範囲を模式的に示す)

養ろ液の作用力は黄皮側、特に表皮側に対して d-galacturon 酸より劣っていたが、白皮側に対しては強い影響を与えた。しかし方法 b) によると培養ろ液も表皮側に対して顕著な軟化現象を示し、罹病組織類似の症状を再現した。また培養ろ液はその pH を調節した場合、中性よりもアルカリ側において、すなわち PG 作用の pH 域以外でも軟化作用がみられた。このことは（方法 b）軟化作用と PG 作用との関係から考えて一見矛盾するようであるが、接触処理後の供試液の pH は組織中では当然酸性側へ移行することを考慮しなければならない。このことは方法 a) では同じ pH 域でも組織片

に軟化が起こらないことからもうかがわれる。さらに第4表に示す実験結果から明らかのように、柑橘果皮切片を投入浸漬した培養ろ液内には果皮組織内の pectin が分解して生じた酸が溶脱していることがみとめられる。この処理液は CaCl₂ の添加によつてゲルを生ずることから、その中に pectin 酸をも含んでいることがわかるが、これらは培養ろ液の pectin 分解酵素により生成、溶出したものであることは明らかである。

(6) 未熟果に対する各種の物質の発病助長作用

温州蜜柑の未熟果（10月中旬以前の未着色果）は成熟果（着色果）に比べて *P. digitatum* および *P. italicum* のいずれを附傷接種しても発病率が低い（第5表）。しかし附傷した部分を稀酸で処理するか、これらの溶液に病原菌の胞子を浮遊あるいは懸濁して接種すると、発病率が著しく高くなることが観察された。また未熟果においても発病後の病斑の進展速度は成熟果に比べて劣らないので、未熟果は表皮上からの病原菌の侵入に際してある種の抵抗力を示すものと考えられる。この抵抗力の機構は明らかでないが、接種時に glucose, asparagine などの病原菌の発育に役立つ C, N 源、あるいは胞子の発芽促進作用の強い柑橘皮煎汁などを添加しても発病力を助長する作用は明らかでなく、酸または培養液 (asparagine-glucose, (NH₄)₂SO₄-glucose 培地) などを添加するときわめて高い発病率が得られた（第6表）。同様にして pectin の分解によつて生ずる d-galacturon 酸にもその作用がみられた。

第3表 d-Galacturon 酸および *P. digitatum* の培養ろ液による柑果皮組織の軟化

実験 No.	供 試 液	pH	方 法 a)	方 法 b)
1	d-Galacturon 酸 4.0%	2.2	＋（軟 化）	3.5～4.0mm ^a
	〃 2.0	2.4	＋（ 〃 ）	4.0～4.5
	〃 1.0	2.6	±（軟化の傾向）	3.0～4.0
	〃 0.5	2.8	－	3.0～3.5
	Dist. water	5.0	－	0.5～1.0（軟化不明瞭）
2	培養ろ液 ^b (dist. water 稀釈) ^c	6.6	± (pH 4.6) ^d	4.0～4.5 mm(軟 化 顕 著)
	(buffer 〃)	2.4	＋ (〃 2.6)	3.0～3.5 (〃)
	(〃)	3.7	± (〃 3.7)	2.0～2.5 (〃)
	(〃)	5.4	± (〃 4.5)	3.0～4.0 (〃)
	(〃)	6.2	± (〃 5.8)	3.0～3.5 (〃)
	(〃)	7.0	± (〃 6.8)	3.0～3.5 (〃)
	(〃)	7.6	－ (〃 7.4)	3.0～3.5 (〃)
	Dist. water	5.0	－	0～0.5（軟化不明瞭）
3	培養ろ液 ^b + d-galacturon 酸 2.0%	2.4		3.0～4.0mm(軟 化 顕 著)
	培養ろ液（熱処理） ^e	6.6		0.5～1.0（軟化不明瞭）
	培養ろ液（無処理）	6.6		3.0～4.0（軟 化 顕 著）

^a 30°C, 24時間接触後の軟化距離（第3図参照）^b 25°C, 5日間培養後 Seitz ろ過器で無菌的にろ過^c 蒸留水および M/10 phosphate buffer 1/2 量を添加^d 30°C, 24時間後の pH^e 99～100°C, 10分間の処理第4表 方法a)により柑果皮切片を投入浸漬した *P. digitatum* 培養ろ液内の酸の増加（30°C, 24時間処理後）

供 試 液	切 片 添 加 量 (g/10ml)	pH		酸度増加量 ^a (0.1N NaOH(ml))	備 考
		処理前	処理後		
培 養 ろ 液 ^b	1 g	6.2	3.9	2.6	CaCl ₂ 添加によりゲル化
	2	6.2	3.9	4.1	〃
	無 添 加	6.2	6.2	—	CaCl ₂ によりゲル化せず
培 養 ろ 液 ^c (100°C 処理)	1 g	6.0	5.0	0.9	
	無 添 加	6.0	6.0	—	〃

^a 処理液 25ml を中和するに要した 0.1N NaOH 量（切片処理区—無処理区）^b 0.2% pectin 加用 asparagine-glucose, 25°C, 5日間培養後 Seitz ろ過器で無菌処理^c の試料を 100°C 蒸気で10分間処理

第6表 未熟果に対する *P. digitatum* の
発病力を助長する作用

実験 No.	月日	供 試 物 質	濃 度	供試 果数	発病 果数 ^a
1	10.2	Orange peel decoction	1g/100ml ^b	6	3
		Orange juice		6	6
		Dist. water		6	1
2	9.24	Citric acid	0.5%	10	9
		Oxalic acid	0.25	10	9
		Orange peel decoction	1g/100ml	10	0
		Dist. water		10	1
3	10.4	Phosphate buffer pH3.2	M/10	10	10
		Dist. water		10	1
4	9.7	Oxalic acid	M/100	10	7
		〃	M/500	10	3
		〃	M/1,000	10	2
		Citric acid	M/100	10	10
		〃	M/500	10	6
		d-Galacturonic acid	0.5%	10	9
		〃	0.1	10	7
5	9.13	〃	0.05	10	1
		Phosphate buffer pH2.4	M/10	10	10
		〃		10	10
		〃		10	9
		〃		10	9
		〃		10	3
		〃		10	0
		〃		10	0
		(NH ₄) ₂ SO ₄ -glucose ^c		10	10
6	9.18	Dist. water		10	0
		Asparagine	0.2%	10	2
7	10.7	Dist. water		10	5
		Pectin	0.5%	8	8
		Glucose	1.0	8	2
8	10.14	Asparagine-glucose ^d		8	8
		(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5%	8	5
		KH ₂ PO ₄	〃	8	7
		Dist. water		8	2

実験：No. 1 (1959), No. 2~3 (1960), No. 4~8 (1961)

^a 25°C, 4~5 日後 ^b 乾燥柑皮 1g を 100ml に煮沸煎出 ^c (NH₄)₂SO₄ 2g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, glucose 10g および 10g/l 柑皮抽出成分を水 1l に溶解

^d (NH₄)₂SO₄ を asparagine でおきかえる

第5表 温州蜜柑の未熟果に対する
P. digitatum の接種と発病状況

実 験 年 次	採取月日	供試果数	発病果数 ^a
1 9 6 0	9.24	20	3
	10. 4	10	1
	10.11	10	5
	10.25	20	16
	11.15	20	20
1 9 6 1	9. 7	10	0
	10.14	8	0

^a 25°C, 5日後

また pectin の添加によつて発病率が高くなつたのは pectin の分解によつて pH が低下するためではないかと考えられる。

III. 考 察

Green²⁾ は *P. digitatum* および *P. italicum* を柑果に接種する際に、果皮面の浅い傷(深さ 0.5mm)では酸の添加によつて高い発病率が得られることを観察し、酸には果皮の抵抗力を破壊する作用があるものと考えた。また *Penicillium* による感染には部分的には酸が関与するが、なお酵素作用の面からの研究が必要であることを述べた。著者は熟果に対する接種方法を用いて未熟果に *P. digitatum* を接種しても発病率がきわめて低いことを観察したが、酸を添加することによつて発病率が著しく高くなることを認めた。一般に酸は pectin 質を多く含む植物組織の軟化を起こし、いわゆる protopectinase と類似の作用を示すものであるが¹⁾、これは植物組織に対しては一種の殺生作用となることが考えられる。

P. digitatum および *P. italicum* は罹病初期の果皮組織内に pectin の分解によつて多量の d-galacturon 酸を生成した。この物質は果皮組織に対しては単独で罹病組織に類似した軟化を起こし、未熟果に対しては発病を助長する作用があつた。すなわち罹病果皮組織と類似の軟化症状は PG 作用の強い病原菌の培養ろ液ならびに d-galacturon 酸の溶液によつて実験的にほぼ再現できるので、罹病組織の形成にこの両者が関与するものと考えられる。しかしその中で d-galacturon 酸自体がどの程度の役割を果たしているかをとりだして考えることは困難であるが、方法 a) と b) との観察結果を比較すると、ほぼ次のことが推察できるものと思われる。すなわち PG 作用の強い培養ろ液内に柑果皮組織片を投入した場合(方法 a)) では d-galac-

uron 酸溶液中に投入した場合に比べて表皮側（黄皮）の軟化が不十分であるが、果皮面の穿孔部分にろ液を接触せしめた場合（方法b）には表皮側も軟化する。一般に柑果皮の表皮側は酵素作用をもつた培養ろ液よりも酸によつてよりよく軟化されることから、方法a）では PG 作用によつて d-galacturon 酸が生成されても液中に溶脱して作用できないが、それに対して方法b）では生成物がそのまま集積して表皮側の軟化を助長することが可能ではないかと思われる。このことは PG 作用の強い培養ろ液に d-galacturon 酸を添加した場合に組織に対する軟化力はかえつて強くなる傾向があることからもうかがわれる。すなわち pectin 含量の高い植物組織に polygalacturonase 作用の強い病原菌が侵害する際には、PG 作用の進行とともにそれによつて生成された d-galacturon 酸が協力的に、あるいはむしろ優先して罹病組織の形成に関与する可能性がありそうに思われる。

また Green²⁾ が解剖観察の結果から推察したように罹病組織の形成に部分的にでも酸が関与しているものであれば、やはり d-galacturon 酸が遊離集積することは無視できない役割を果たしているものと考えられる。

IV. 摘 要

1. *P. digitatum* および *P. italicum* に侵害された

柑果皮組織内には強い polygalacturonase (PG) 作用が見出され、初期の罹病組織には多量の d-galacturon 酸が遊離することが観察された。

2. 両病原菌は果皮抽出成分あるいはそれに glucose を加用して培地とした場合には遊離酸を生成しないが、pectin を添加したときには遊離酸として d-galacturon 酸を生成した。

3. d-Galacturon 酸は他の酸と同様に柑果皮組織に対して軟化作用 (maceration) を示し、pectin 分解酵素とともに組織の病変に重要な役割を果たしているものと想像される。

4. d-Galacturon 酸は未熟果に対しては発病を助長する作用があり、他の酸と同様に果皮組織の抵抗力を破壊するものと考えられる。(1962.4.25 受理)

引用文献

1. Foster, J. W. (1949). Chemical activities of fungi. New York, N. Y. pp. 546-551.
2. Green, F. M. (1932). Jour. Pomol. Hort. Sci. 10: 184-215.
3. 宮川経邦 (1962). 日植病報 27: 71 (講要).
4. 宮川経邦 (1962). 日植病報 27: 129-137.
5. 小沢潤二郎 (1954). ポリガラクトクロナーゼに関する研究. 岡山大学大農農研. pp. 66-85.

Summary

High activity of polygalacturonase was found in the orange peel tissue invaded by *Penicillium digitatum* and *P. italicum*, and a remarkable amount (more than 2 per cent) of free d-galacturonic acid was detected in the tissues of early stage of infection.

Both fungi did not produce titratable free acid — d-galacturonic acid — in culture media of peel extract, unless pectin was added.

Orange peel tissues were macerated *in vitro* with culture filtrate of the causal fungi, and also with d-galacturonic acid. It would, therefore, be possible that the d-galacturonic acid produced in the affected tissue might act to macerate the orange peel in association with the pectic enzymes produced by the invading fungi.

d-Galacturonic acid showed an activity of promoting infection of unripe fruit by *Penicillium*, suggesting that d-galacturonic acid, in the same manner with other acids, brings about destruction of resistance in the rind tissue.