までに検定を終了できる。したがって残りの球根を種球として植え付ける以前に淘汰できるので、株単位システムを応用した種球供給体系に組み入れやすい。

しかし、さらに本検定法の精度を高めるためには、ウイルスフリー球が再汚染した場合の退色発現時期を明らかにする必要があり、また退色発現を促進させる環境条件、例えば光や温度条件などを解明する必要がある。

摘 要

アイリスはウイルスフリー化によってりん葉が紫色化（アントシアニンの集積）することに着目し、逆にその色の退色程度を指標としたウイルス保毒の簡易検定法を検討した。6段階の退色評価基準に従って供試材料を電子顕微鏡による dip 法でウイルス粒子保毒の有無を検定したところ、退色(+)はウイルス粒子を認めず、退色(++)

以上でウイルス粒子を認め保毒が確認できた。電子顕微鏡検定で、りん葉以外の供試材料部位ではウイルス粒子を検定できなかったのに対し、同個体のりん葉退色は明らかにウイルス保毒を示唆する退色程度(++)であって、本検定法が簡便であるばかりでなく精度も高いと考えられたので、本法はアイリスモザイクウイルスの保毒株の検定に実用できる。

引用文献

- 1) SILVER, C. N. and ELBERTSEN, M. (1973) Bloembollencultuur 83: 966-997.
 - 2) 平田良樹 (1981) 未発表.
 - 3) FRANCIS, O. (1950) Phytopathology 55: 504.
 - 4) ISHIKURA, N. (1980) Experientia 36: 656-657.
 - 5) AMERHEIN, N. and HOLLÄNDER (1979) Planta 144: 385-389.
- (1981年5月29日 受領)

カンキツかいよう病斑から得られる抗菌性物質

太田 孝彦 (長崎県果樹試験場)

Antibacterial substances isolated from leaves infected with citrus canker.

Takahiko ŌTA (Nagasaki Fruit-Tree Experiment Station, Ōmura, Nagasaki 856-01)

カンキツかいよう病斑から得られる抗菌性物質については、野中・松崎¹⁾、野中ら²⁾によって、トロビタオレンジの葉の病斑部から phytoalexin 様物質が分離され、それが孢子発芽伸長を強く阻害することが認められた。また、福久・河野³⁾はセミノール他2種の発病葉から薄層クロマトグラフィー (TLC) によってプレート上で紫外線で蛍光を発するいくつかの物質を分離し、そのなかにかいよう病菌の増殖を阻害し、発病を阻止する物質が存在すると報告している。

この3つの報告によって、発病葉に抗菌性物質が存在することは明らかとなったが、いずれの報告もこれら抗菌性物質についての検討は十分なされていない。

そこで筆者は、かいよう病斑から得られる抗菌性物質の中で、とくにかいよう病菌に抗菌力を示す物質について、それを単離し、その定量法を明らかにする目的で試験を行い、2, 3の知見が得られたので、その概要について報告する。

抗菌性物質の抽出

ナツダイダイに自然発病した病葉を1月に採集し、病斑部を切り取って、その100gを用い野中・松崎¹⁾の方

法に従いエタノールで抽出し、40℃、減圧下でエタノールを除き水溶液とした後、遠沈によって上澄液を得た。水溶液からかいよう病菌に抗菌力を持つ物質を抽出する溶媒は石油エーテルでは不十分で、酢酸エチルやクロロホルムが良好であった。このため水溶液から酢酸エチルで3回抽出し、酢酸エチル相を取って減圧下で溶媒を除き残渣を得た。これを5mlのエタノールに溶かし粗抽出液とした。

抗菌性物質の TLC による分離

クロロホルム/メタノール (1:1, v/v) で良く洗浄したワコーゲル B-5 FM, 厚さ 500 μ の薄層板を用い、第1図に示す方法に従い、(1), (2), (3)の順に粗抽出液から抗菌性物質を分離した。すなわち、粗抽出液 2ml (20cm $\times$ 20cmの1プレート当たり 0.5ml) について、まず、溶媒 I で2重展開し、紫外線の長波長 (366nm) と短波長 (254nm) で確認して、各スポット (またはバンド) ごとに分取した。これをエタノールで溶出しろ過によってシリカゲルを除いた後、濃縮して各々 1mlのエタノール液とした。各分画液の抗菌力は、かいよう病菌の約 10⁶ cells/ml の濃度を含む半合成液体培地 2mlに、各分

画のエタノール液を0.05ml加え、27℃で2日間培養し、その濁度や細菌数（希釈平板法）によって判定した。

抗菌力が認められた分画液は、さらに溶媒Ⅱで2重展開し抗菌力のある分画液を得た。この分画液はさらに溶媒Ⅰで2重展開し、各々の分画ごとに0.5mlのエタノール液として前記の方法で抗菌力を調べた。

その結果、第1図の(3)のプレートに示すように、3つのスポットが得られ、その2つのスポット、aとcにかいよう病菌に対して抗菌力が認められた。とくにcのスポットの物質はかいよう病菌の増殖を強く阻害した。また、これらはインゲンたんそ病菌の孢子発芽伸長を20～30%阻害した（第1表）。

aのスポットは紫外線長波長で青色に発光するが短波長では識別が困難であった。cのスポットは可視光で黄色、紫外線長波長で発光せず、短波長で暗いスポット（周囲が黄白色に発光）として確認できた。

Fig. 1. Purification process by TLC; Silica gel, Wakogel B-5 FM; Solvents I, *n*-hexan/ethylacetate/methylalcohol(60:40:1, v/v); Solvents II, chloroform/ethylalcohol(100:3, v/v); Double development(12cm runs); Spots were detected in long and short wave UV light; B, blue; P, purple; W, white; Y, yellow; BG, blue green; BW, blue white; D, dark; DG, dark green.

なお、溶媒ⅠまたはⅡで粗抽出液を展開後その薄層板でプレートカルチュアを行った結果、原点にとどまる物質の中にも抗菌力を持つ物質が存在することが分ったため、次の方法でその抗菌力をcのスポットの物質と比較した。

粗抽出液1mlを溶媒Ⅰで3重展開し、原点部とcのスポット部を分取し、それぞれクロロホルム/メタノール/水(1:2:0.8, v/v)76mlで溶出した。この液は

10,000 rpm 5分遠沈しシリカゲルを除いた後、クロロホルム60ml、水24mlと混合し、10,000 rpm 5分遠沈して、水・メタノール相とクロロホルム相に分けた。これらの液は減圧下で溶媒を除き、残渣を1mlのエタノールで溶かし、前記の方法でかいよう病菌に対する抗菌力を調べた。その結果、いずれも、抗菌力は水・メタノール相にはなく、クロロホルム相に認められた。原点から得た物質は抗菌力は認められたがcのスポットの物質に比

Table 1. Inhibitory action of the purified extracts from canker leaves to microorganisms.

Spot	Number of bacteria* per ml	Germ tube length** %
a	2.7×10^7	71
c	5.5×10^5	81
Check***	2.6×10^8	100

*, *Xanthomonas campestris* pv. *citri*; **, *Colletotrichum lindemuthianum*; ***, 2.5% ethylalcohol; Eluting solvents from silica gel, ethylalcohol.

Table 2. Inhibitory action of the purified extracts from canker leaves to *Xanthomonas campestris* pv. *citri*.

Spot	Number of bacteria per ml
c	1.0×10^4
origin	9.4×10^7
Check	4.5×10^8

*, 2.5% ethylalcohol; Eluting solvents, chloroform/methylalcohol/water(1:2:0.8, v/v).

Fig. 2. The ultraviolet absorption spectra of the purified extracts by TLC from canker leaves infected with *Xanthomonas campestris* pv. *citri*.

べると弱かった (第2表)。

以上のことから、かいよう病斑から得られる抗菌性物質の中では、cのスポットの物質が最も抗菌力が強いと思われる。

抗菌性物質の紫外線吸収スペクトル

aおよびcのスポットの純化物をさらに溶媒ⅠとⅡで展開して再純化した後、エタノール液にして測定した。

その結果、第2図に示すようにaの物質は明瞭な極大、極小値を示さなかったが、cの物質は271NMに極大値、265NMに極小値を示した。

考 察

カンキツかいよう病斑からいくつかの抗菌性物質が得られるが、本試験ではかいよう病菌に抗菌力を示す物質に限定して検討した。

分離された抗菌性物質の中で最も抗菌力が強いと思われる物質cは、紫外線吸収スペクトルで明瞭な最大値(271NM)と極小値(265NM)を示したことから、少なくとも本物質については直接に定量が可能である。

しかし、葉中から抽出した場合、きょう雑物が多いため、この抽出、純化についてさらに検討する必要がある。今後はこの抗菌性物質のかいよう病抵抗性に果す役割について解明する予定である。

摘 要

ナツダイダイのかいよう病斑からかいよう病菌に抗菌力のある物質をTLCで分離した。その結果、紫外線長波長で青色に蛍光を発する物質と、短波長で、蛍光物質を含むシリカゲルプレート上に暗いスポットとして確認できる物質を得た。後者は得られた抗菌性物質の中で最も強い抗菌力を示し、紫外線吸収スペクトルで271NMに極大値、265NMに極小値を示した。

引 用 文 献

- 1) 野中福次・松崎正文(1973) 九病虫研究会報 19: 8-10.
 - 2) 野中福次・松崎正文・太田孝彦(1974) 九病虫研究会報 20: 97-99.
 - 3) 禰久 保・河野通昭(1980) 九病虫研究会報 26: 78-80.
- (1981年4月30日 受領)

殺 菌 剤 の 残 効 試 験

(2) 降 雨 と 薬 剤 の 流 亡

小野 公夫 (島原病害虫防除所)

Studies on the residual effect of fungicide. (2) Endurance of fungicide against rainfall. Kimio ONO (Shimabara Plant Protection Office, Shimabara, Nagasaki 855)

現在の温州ミカンの防除は、特に殺菌剤散布の場合、防除暦に従ったスケジュール散布となっている。しかし、殺菌剤は気象条件によってその残効が大きく左右され、現行のスケジュール散布では、降雨の多少により防除不足あるいは過剰防除になる恐れが大きい。従って、降雨量と薬剤の残効を明らかにすることが防除上極めて重要と考えられる。

さきに小野¹⁾は人工降雨による殺菌剤の残効を明らかにしたが、今回は自然降雨による薬剤の流亡と残効について検討したので報告する。試験を行うに当たり、薬剤の分析をして頂いた三笠化学工業㈱、トモノ農薬㈱、兼商㈱の関係各位に感謝の意を表する。

試 験 方 法

1. ミカン葉上での薬剤の流亡

普通温州ミカン7年生を用い、5月26日(快晴)に小型動噴で1樹当たり10ℓの薬剤を散布した。薬剤はデラン水和剤(1,000倍、有効成分濃度700ppm)、オキシンドー75水和剤(750倍、有効成分濃度1,000ppm)を供試した。なお、オキシンドー75水和剤には固着性展着剤(TSS)2,000倍を加用した。

分析供試葉は、散布直後および所定降雨量に達するごとに採取した。採取部位は樹冠の頂部、外周、中心、下部の4部位に分け、それぞれの部位から1回に10葉あて採取した。供試葉は葉面積を測定後、直ちにデラン水和剤については三笠化学工業㈱、オキシンドー75水和剤についてはトモノ農薬㈱に送付し、それぞれの会社に分析を依頼した。分析はいずれの薬剤も比色定量法で行われた。

2. ミカン果実での薬剤の流亡