

# 抗菌性物質を含む植物葉上への抗菌性物質の 浸出と葉上微生物数<sup>※</sup>

江川<sup>※※</sup> 宏・達山<sup>※※</sup> 和紀・赤井<sup>※※※</sup> 重恭<sup>※※※</sup>  
洪<sup>※※※</sup> 春洋・麓<sup>※※※</sup> 次郎・木幡<sup>※※※</sup> 欣一<sup>※※※</sup>

Hiroshi EGAWA, Kadzunori TATSUYAMA, Shigeyasu AKAI,  
Chun-Yiang HONG, Jiro FUMOTO, and Kin-ichi KOBATA

## Leaching of Antifungal Substance onto the Leaves and Total Number of Microorganisms on the Leaves of Several Plants Containing Antifungal Substance

### 緒 言

抗菌性物質を含む植物に関する報告は多く<sup>1)</sup>, 筆者らもシラキ<sup>2)</sup>, ドウダンツツジ<sup>3)</sup>, ユーカリ<sup>2 6)</sup>, カクレミノ<sup>4)</sup>などに含まれる抗菌性物質を単離しその構造を決定したが, 実際場面においてこれらの物質がどのような役割を果たしているかは明らかでない。植物葉上には種々の病原性, 非病原性の微生物が存在していると思われるが, 筆者らは, 植物体内の抗菌性物質がこれらの微生物にどのような影響を及ぼしているかを知るために, 葉上への抗菌性物質の浸出と, 葉上微生物数の変化について検討した。

### 実 験 材 料

#### 1. 供試植物

実験にはすでに抗菌性物質が単離構造決定されているイチョウ *Ginkgo biloba* L., カクレミノ *Dendropanax trifidus* MAKINO, シラキ *Sapium japonicum* PAX. et HOFFM., ドウダンツツジ *Enkianthus perulatus* SCHNEID. と筆者らの予備実験で抗菌性物質を含むことが明らかにされたアツバキミガヨラン *Yucca gloriosa*

L., イスノキ *Distylium racemosum* SIEB. et ZACC., サザンカ *Camellia sasanqua* THUNB., ヤマモミジ *Acer palmatum* THUNB. subsp. *matsumurae* THUNB., 対照として抗菌性物質を含まないボケ *Chaenomeles lagenaria* KOIDZ. の9樹種について検討した。

又, 葉上微生物数を測定するにあたって, 季節的な変動などを考慮するために(調査月日によって供試樹種数は異なるが)上述の9樹種以外に下記の19種の樹種についても調査した。

オガタモノキ *Michelia compressa* (MAXIM.)  
LINN.

カラタネオガタマ *Michelia fuscata* BLUME.

カラコギカエデ *Acer aidzuense* (FRANCH.)  
NAKAI

ゲッケイジュ *Lauris nobilis* LINN.

コデマリ *Spiraea cantoniensis* LOUR.

シジミバナ *Spiraea prunifolia* SIEB. et ZUCC.

ツバキ *Camellia japonica* L.

トキワマンサク *Loropetalium chinense* OLIV.

トネリコバカエデ *Acer negundo* LINN.

トベラ *Pittosporum tobira* (THUNB.) AIT.

ハコネウツギ *Weigela coraensis* THUNB.

ハナスオウ *Cercis chinensis* BUNGE.

ハナミズキ *Cornus florida* LINN.

ヒイラギナンテン *Mahonia japonica* DC.

ビョウヤナギ *Hypericum chinensis* L.

ヘビノボラズ *Berberis sieboldii* MIQ.

※ Studies on the antimicrobial substances (4)  
※※ 島根大学農学部 Fac of Agr, Shimane Univ.,  
Matsue, JAPAN.  
※※※ 京都大学農学部 Fac. of Agr., Kyoto Univ., Kyoto,  
JAPAN.  
※※※※ 京都府立植物園 The Kyoto Botanical Garden,  
Kyoto, JAPAN.

モッコク *Ternstroemia japonica* THUNB.  
 ユズリハ *Daphniphyllum macropodium* MIQ.  
 ユリノキ *Liriodendron tulipifera* L.

いずれも京都府立植物園内の常に一定の樹木を用いた。

2. 供試菌

抗菌性の検定に用いた供試菌は *Cochliobolus miyabeanus* (S. ITO et KURIBAYASHI) DRECHSLER (*Helminthosporium oryzae* BRED A et HAAN) KU-13 であって、京都大学農学部保存菌である。

実験方法

1. メタノール抽出物の抗菌性検定

供試植物葉中の抗菌性物質の有無は、葉のメタノール抽出物の抗菌性を検討することによって判定した。生葉 1g をメタノール 10ml で抽出し、メタノールを揮散させた後に常法によって *C. miyabeanus* の分生孢子発芽試験を試みた。発芽率 0.0% で、対照区 (水) に対して明らかに阻止効果の認められる場合に抗菌性物質を含むと判定した。

2. 葉上での分生孢子発芽試験

葉上への抗菌性物質の浸出は、葉上での *C. miyabeanus* の発芽によって調査した。植物の生葉をペトリ皿中の湿室に入れ、*C. miyabeanus* 分生孢子懸濁液を 3 滴葉の上のせ、有傷葉はカミソリ刃にて切れ込みを入れその上に懸濁液をのせてそれぞれ 28°C、7 時間後に分生孢子的発芽率を調査した。

3. 分生孢子発芽試験による植物葉メタノール抽出物および植物葉上浸出物中の抗菌性物質有無の年間調査

抗菌性物質の有無および葉上への浸出は、1971年4月を第1回とし、以後5月11日、6月2日、8月2日、11月13日、1972年3月6日の6回にわたって植物の葉を採取し、メタノール抽出物、有傷、無傷葉上にて分生孢子発芽試験を試みた。しかし植物によっては天候、落葉などのため調査出来なかった月日もある。

4. 葉上微生物の調査

生葉をリーフパンチで無菌的に切り抜き、殺菌試験管に入れ 10ml の殺菌脱イオン水を加え、振盪器で 30 秒かくはんした。この 0.1ml を 10ml の殺菌脱イオン水で希釈した。希釈

液 0.1ml を殺菌ペトリ皿のジャガイモ蔗糖寒天培地に加え、固化させ、28°C、10日間培養後糸状菌、放線菌、細菌に分けて菌数を調査した。

5. 葉上微生物数の表わし方

葉上微生物数は季節、天候などによる変動がはげしい。したがって測定した菌数そのもので調査月日が異なる場合は比較検討することが出来ない。供試植物の他に同時に調査した樹種 3~19種の調査時の微生物数の平均値を求め (供試植物も計算に加えた)、この平均値で各樹種の微生物数を割って比を出した。この比で各調査月日間の比較を行なった。数値が 100 以上の場合は平均値より微生物数が多い場合で、少ない場合は微生物数が平均より少ないことを示している。又各樹種の年間の微生物数の多少を推定するために調査時に得られた比の値の平均値を求めて比較した。糸状菌の全微生物数に対する比の場合も同様に計算し表わした\*。

6. 植物成分の順次抽出法

植物抽出物のどの抽出部に抗菌性物質を含むかを知る目的で第1図のように順次抽出を試みた。生葉をメタノールで抽出し、水に溶解して、n-ヘキサン、ベンゼン、酢酸エチル、ブタノールの順に抽出し、各抽出部について分生孢子発芽試験で抗菌性の検定を行なった。

実験結果および考察

植物成分のメタノール抽出物の抗菌性と有傷葉、無傷葉上での分生孢子発芽試験の結果によって8種 (I~

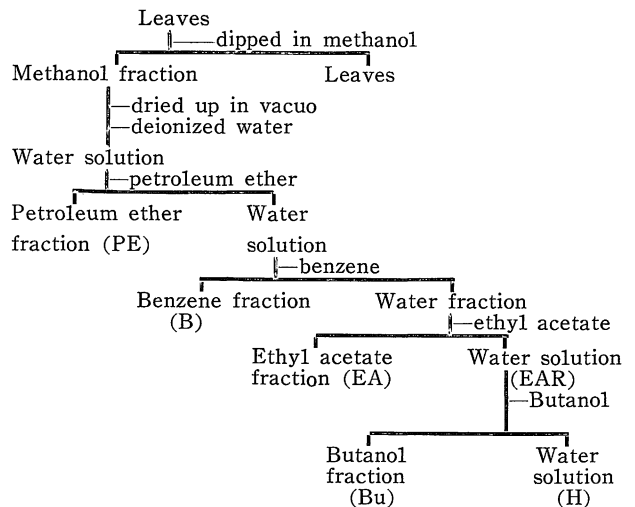


Figure 1. Fractionation of extracts from the leaves by organic solvents

\* 同一の計算は下記の文献を参照のこと。  
 江川 宏・益子道生・上山昭則・松尾卓見：日菌誌，9(2)：89~93，1968。

Ⅷ) の類型に分けると、供試 9 樹種は第 1 表のとおり分類出来る。しかしⅢとⅦの例は見出されなかった。このうちⅠとⅡは葉中の抗菌性物質が葉上に浸出してくる機会が多いことが考えられる。この検定を年間を通じて行なった結果が第 2 表である。樹種によっては春から秋にかけて第 2 表の類型 (Ⅰ～Ⅷ) の年間の経過が異なる

Table 1. Leaching pattern of antifungal component from the leaves and example plant species showing leaching.

Antifungal activity in the methanol fraction of the leaves	Inhibitive activity of conidium germination on wounded leaves	Inhibitive activity of conidium germination on healthy leaves	Example of plant species	Leaching pattern
+	+	+	<i>D. trifidus</i> (Old leaves May 11, June 2)	I
		-	<i>D. trifidus</i> (Old leaves Apr. 30, New leaves Aug. 2) <i>C. sasanqua</i> (Apr. 30)	II
	-	+	—————	III
		-	<i>A. palmatum</i> (May 11, Aug. 2) <i>D. racemosum</i> (New leaves Aug. 2, Nov. 13, Mar. 6) etc.	IV
-	+	+	<i>Y. gloriosa</i> (May 11)	V
		-	<i>Y. gloriosa</i> (June 2)	VI
	-	+	—————	VII
		-	<i>C. lagenaria</i> etc.	VIII

Table 2. Annual change of leaching pattern of antifungal component from the leaves of several plants

Date, tested	Apr. 30 1971	May 11 1971	June 2 1971	Aug. 2 1971	Nov. 13 1971	Mar. 6 1972
<i>G. biloba</i>	—	VIII	VIII	IV	IV	—
<i>Y. gloriosa</i>	—	V	VI	IV	II	I
<i>A. palmatum</i>	—	IV	IV	VIII	IV	—
<i>D. trifidus</i> New leaves	—	IV	IV	II	IV	II
Old leaves	II	I	I	—	—	—
<i>E. perulatus.</i>	IV	—	IV	IV	VIII	—
<i>S. japonicum</i>	IV	—	IV	VIII	VIII	—
<i>D. racemosum</i> New leaves	—	—	VIII	IV	IV	IV
Old leaves	IV	—	VI	—	—	—
<i>C. lagenaria</i>	—	VIII	VIII	VIII	VIII	—
<i>C. sasanqua</i>	II	—	IV	IV	II	I

が、第3表の6類型(A~F)に分類されるようである。イチョウはA, ヤマモミジ, シラキ, ドウダンツツジはB, カクレミノ, サザンカはC, アツバキミガヨランはD類似型(D'とする), イスノキはE, ボケはF型であった。すでに報告したユーカリ *Eucalyptus gunnii*<sup>2)</sup> はいずれの型にも属しない、つねに春(I)→秋(I)型(G型とする)で特異な樹種であった。

次にこのような樹種の抗菌性物質はどのような有機溶

剤によって抽出されるかの検討を行なった。この結果が第4表である。アツバキミガヨランはn-ヘキサンとブタノール, サザンカはブタノールと水, ドウダンツツジは酢酸エチルとその残渣の2抽出部に抗菌性物質が認められた。この結果(第4表)から第2表のI, IIをしめすC, Dに属する樹種の3例のうち2例までブタノールおよび水に溶解する抗菌性物質を含んでいた。しかし酢酸エチル抽出物の抗菌性物質を含む樹種はこの実験の範

Table 3. Change of leaching pattern from Spring to Winter

Annual leaching pattern	Chang of leaching pattern		Example of tested plants
	Spring	→ Winter	
A	VIII	IV	<i>G. biloba</i>
B	IV	VIII	<i>A. palmatum</i> <i>E. perulatus</i> <i>S. japonicum</i>
C	II (I)	IV	<i>D. trifidus</i> <i>C. sasanqua</i>
D	IV	II (I)	<i>Y. gloriosa</i>
E	IV	IV	<i>D. racemosum</i>
F	VIII	VIII	<i>C. lagenaria</i>
G*	I (II)	I (II)	<i>Eucalyptus gunnii</i>

\* previous paper

Table 4. Antifungal activity of the fractions extracted from the leaves of several plants by organic solvents

	Fractions from the leaves					Residue of ethyl acetate
	Petroleum ether	Benzene	Ethyl acetate	Butanol	Water	
<i>G. biloba</i>	-	-	+	-	-	
<i>Y. gloriosa</i>	+	-	-	+	-	
<i>A. palmatum</i>	-	-	-	+	-	
<i>D. trifidus</i>	-	-	+	-	-	
<i>E. perulatus</i>	-	-	+			-
<i>S. japonicum</i>	-	-	+	-	-	
<i>D. racemosum</i>	-	-	-	-	+	
<i>C. lagenaria</i>	-	-	-	-	-	
<i>C. sasanqua</i>	-	-	-	+	+	

+ : Antifungal active - : inactive

圃ではA, B, Cの種々の類型に属していた。  
供試9樹種の葉上微生物数について調査した。調査した実数で示したのが第5表である。前述したように、葉

上微生物数は季節によって変動があるので、各調査月日に同時に調査した樹種3~19種の葉上微生物数の平均値との比で比較した。この計算された値が第6表である。

Table 5. Total number of microorganisms found on the leaves of several plants

Date, tested	Nos. of microorganisms/cm <sup>2</sup> of the leaves						
	Apr. 30, 1971	May 11, 1971	June 2, 1971	Aug. 2, 1971	Nov. 13, 1971	Mar. 6, 1972	
<i>G. biloba</i>	—	1391	541	21	107	—	
<i>Y. gloriosa</i>	—	46	448	2	49	28	
<i>A. palmatum</i>	—	1761	156	321	1175	—	
<i>D. trifidus</i>	New leaves	—	364	2134	299	2446	522
	Old leaves	—	1119	241	—	—	—
<i>E. perulatus</i>	14	—	320	199	593	—	
<i>S. japonicum</i>	841	—	1868	192	1534	—	
<i>D. racemosum</i>	New leaves	—	—	3381	577	400	9181
	Old leaves	—	—	967	—	—	—
<i>C. lagenaria</i>	—	910	364	95872	165	—	
<i>C. sasanqua</i>	—	—	184	70	935	143	
Species number of tested plants	3	23	28	25	20	12	
Mean number of microorganisms on the leaves of tested plants	285.0	1806.3	1007.1	549.7	532.5	264.1	

Table 6. Ratio\* to the mean value of number of total microorganisms on the leaves of tested plants

Date, tested	Ratio to the mean value (%)							
	Apr. 30, 1971	May 11, 1971	June 2, 1971	Aug. 2, 1971	Nov. 13, 1971	Mar. 6, 1972	Mean	
<i>G. biloba</i>	—	77.0	53.7	3.8	20.1	—	38.7	
<i>Y. gloriosa</i>	—	2.5	44.5	0.4	9.2	10.6	13.4	
<i>A. palmatum</i>	—	97.5	15.5	58.4	220.7	—	98.0	
<i>D. trifidus</i>	New leaves	—	20.2	211.9	54.4	459.3	197.7	188.7
	Old leaves	—	61.9	23.9	—	—	—	—
<i>E. perulatus</i>	—	—	31.8	36.2	111.4	—	59.8	
<i>S. japonicum</i>	—	—	185.5	349.2	288.1	—	274.3	
<i>D. racemosum</i>	New leaves	—	—	335.7	105.0	75.1	3476.3	1003.0?
	Old leaves	—	—	96.0	—	—	—	—
<i>C. lagenaria</i>	—	50.4	36.1	1744.8	31.0	—	465.6?	
<i>C. sasanqua</i>	—	—	18.3	12.7	175.6	54.1	65.2	

\*  $\frac{\text{Number of total microorganisms}}{\text{Number of mean value of total microorganisms on the leaves of tested plants}} \times 100$

\*\* These values were calculated from the number of Table 5.

便宜上、年間の平均値が40%以下のものは微生物数最少とし、41~80%を少、81~120%を平均、121~150%を多、151%以上を最多として表わせば第7表のように、供試樹種は分類される。

以上の結果から葉上への抗菌性物質の浸出と葉上微生物数との関係を考察すると、アツバキミガヨランの5月11日、11月13日、1972年3月6日の3例、カクレミノ新葉の8月2日、1972年3月6日、旧葉での5月11日、6月2日の4例、サザンカの11月3日、1972年3月6日の

2例の合計9例に抗菌性物質が浸出されたと考えられ、その時の葉上微生物数を検討すると9例中7例までは最少または少の微生物数であった。したがって葉上に抗菌性物質が浸出すると葉上微生物数の減少する傾向が認められた。

全微生物数に占める糸状菌の数について同様にして検討した。実数は第8表に示し、季節変動を考慮した計算値は第9表に示した。第9表の年間の平均値が40%以下を最少、41~80%を少、81~120%を平均、121~150%

Table 7. Interaction of the number of total microorganisms and fungi isolated from the leaves of several plants

		Number of total microorganisms				
		Fewer	Few	Median	Many	Most
Ratio of total microorganisms and fungi	Fewer					<i>D. racemosum</i>
	Few		<i>C. lagenaria?</i>			<i>S. japonicum</i>
	Median	<i>G. biloba</i>	<i>E. perulatus</i> <i>C. sasanqua</i>			
	Many	<i>Y. gloriosa</i>		<i>A. palmatum</i>		<i>D. trifidus</i>
	Most					

Table 8. Ratio\* of total microorganisms and fungi found on the leaves of several plants

Date, tested	Nos. of Fungi × 100 / Nos. of microorganisms						
	Apr. 30, 1971	May 11, 1971	June 2, 1971	Aug. 2, 1971	Nov. 13, 1971	Mar. 6, 1972	
<i>G. biloba</i>	—	86.6	7.8	71.4	100.0	—	
<i>Y. gloriosa</i>	—	98.0	42.0	50.0	81.5	92.5	
<i>A. palmatum</i>	—	63.5	68.5	53.3	62.5	—	
<i>D. trifidus</i>	New leaves	—	100.0	92.3	40.8	97.4	7.0
	Old leaves	—	40.8	53.1	—	—	—
<i>E. perulatus</i>	—	—	24.7	78.4	20.6	—	
<i>S. japonicum</i>	—	—	2.6	74.5	27.9	—	
<i>D. racemosum</i>	New leaves	—	—	1.5	22.2	46.5	0.9
	Old leaves	—	—	15.0	—	—	—
<i>C. lagenaria</i>	—	51.0	29.0	0.0	61.0	—	
<i>C. sasanqua</i>	—	—	38.6	91.4	41.2	29.8	
Species numbers of tested plants	—	23	28	25	20	12	
Mean value of ratio of total microorganisms and fungi on leaves of tested plants	—	56.7	35.5	56.4	61.6	55.8	

\*  $\frac{\text{Number of fungi}}{\text{Number of microorganisms}} \times 100$

Table 9. Ratio to the mean value of ratio of total microorganisms and fungi on the leaves of tested plants

	Date, tested	Ratio to the mean value (%)					Mean	
		Apr. 30, 1971	May 11, 1971	June 2, 1971	Aug. 2, 1971	Nov. 13, 1971		Mar. 6, 1972
<i>G. biloba</i>		—	152.7	22.0	126.6	162.3	—	115.9
<i>Y. gloriosa</i>		—	172.8	118.3	88.7	132.8	165.8	135.6
<i>A. palmatum</i>		—	112.0	193.0	94.5	110.8	—	127.6
<i>D. trifidus</i>	New leaves	—	176.4	260.0	72.3	158.1	12.5	135.9
	Old leaves	—	72.0	149.6	—	—	—	—
<i>E. perulatus</i>		—	—	69.6	139.0	33.4	—	80.7
<i>S. japonicum</i>		—	—	7.3	132.1	45.3	—	61.6
<i>D. racemosum</i>	New leaves	—	—	4.2	39.4	75.5	0.6	29.9
	Old leaves	—	—	42.3	—	—	—	—
<i>C. lagenaria</i>		—	89.9	82.8	0.0	99.0	—	67.9
<i>C. sasanqua</i>		—	—	108.7	162.1	66.9	53.4	97.8

\*  $\frac{\text{Number of ratio of total microorganisms and fungi}}{\text{Number of mean value of ratio of total microorganisms and fungi on the leaves of tested plants}} \times 100$

\*\* These values were calculated from the number of Table 8.

を多, 151%以上を最多とした。この結果供試樹種は第7表のように分類された。全微生物数の場合と同様に抗菌性物質が葉上に浸出した場合の糸状菌数への影響は, 抗菌性物質が葉上に浸出したと考えられる例が前述と同様にアツバキミガヨラン3例, カクレミノ4例, サザンカ2例の合計9例であるので, この9例の場合での糸状菌数を検討する。カクレミノ, サザンカでは1例を除いて5例で糸状菌数は少なくなっていた。しかしアツバキミガヨランのみは反対に3例中3例まで糸状菌数が多くなっていた。したがって葉上に抗菌性物質が浸出してくると葉上微生物数は減少する傾向が認められたが, 糸状菌数は樹種により少なくなる場合と多くなる場合が存在するものと考えられる。

放線菌についてはこの実験中ほとんど葉上微生物として分離されなかったので検討しなかった。

植物の葉から種々の物質が浸出してくることは古くから研究されている<sup>9)</sup>。例えば糖類, アミノ酸, 有機酸, 植物ホルモン, ビタミン, アルカロイド, フェノール物質, 無機塩などが葉上に浸出してくると報告している。したがって, 葉中の抗菌性物質が葉上に浸出してくることは当然であって, これが実際場において植物の疾病の発生と何らかの関係があるものと考えられる。一方葉上周辺において植物病原菌または葉上微生物によってフ

ァイトアレキシン様物質が形成される場合もあって, この方面の研究も多い<sup>1)</sup>。筆者らが今回取扱った植物では, 葉中の抗菌性物質の葉上への浸出の場合のみと考えられるが, 今後詳しく検討すれば, ファイトアレキシン様物質が関与している可能性も考えられる。

#### 謝 辞

本研究を行なうに際してご協力いただいた京都大学農学部附属農 業 研究施設 大谷喜代美嬢, 京都府立植物園 長村裕次係長, 中川盛四郎技師および稲沢光男技師に深謝する。

#### 摘 要

葉に疾病の認められない植物の中で, 抗菌性物質を生体成分として含有している場合がある。さきに筆者らはこのような植物, 例えばドウダンツツジ, シラキなどから抗菌性物質を単離し, 構造決定したが, 葉上へ抗菌性物質が浸出する条件として, 葉中に抗菌性物質を含むものは(1)生葉のメタノール抽出物に抗菌作用があるかどうかで, 葉上への浸出の有無は(2)有傷葉上, (3)無傷葉上でイネごま葉枯病菌分生胞子の発芽試験を試みて検討した。9種の樹種について(1), (2), (3)を検討した結果は第1表のようであって, 8種の場合が考えられるが実際にはⅢとⅦは認められなかったので結局6種の類型に分けられた。

どの種類の浸出方法をとるかは、樹種により、季節によって異なるので1ヶ年に亘って調査した結果、季節変化を考慮に入れると、第2表の6種の類型に分けられた。

これらの樹種の葉中にどのような溶剤に溶ける抗菌性物質があるかを順次抽出を試み、抽出物について分生孢子発芽試験を試みた。n-ブタノール、水に可溶性の抗菌性物質を含有する葉では葉上へ浸出しやすかった。酢酸エチルで抽出される抗菌性物質は樹種により種々であった。

つぎに葉上微生物について検討したが、微生物の最も少なかったのはイチョウ、アツバキミガヨランで、カクレミノは多かった。全微生物数に占める糸状菌数の少ないのはイスノキ、シラキで、多いのはアツバキミガヨラン、ヤマモミジ、カクレミノであった。抗菌性物質の葉上への浸出によって微生物数が少なくなるのはカクレミノ、アツバキミガヨランで、多くなるのはサザンカであった。また糸状菌数が減少するのはカクレミノ、サザンカで、アツバキミガヨランは逆に増加した。

## 引用文献

1. DEVERALL, B. J.: *Phytochemical Ecology* (ed. HORBONE J. B.): 217-233, Academic Press, N. Y. & London, 1972.
2. 江川 宏・古沢 巖・赤井重恭・木幡欣一・麓 次郎・小林昭雄・小清水弘一: 関西病虫害研究会報16: 42-46, 1974.
3. FAWCETT, C. H. & SPENCER D. H.: *Fungicides II* (ed. TORGESON D. C.): 637-669, Academic Press, London & N. Y., 1969.
4. 河津一儀・野口久雄・藤下和義・岩佐順吉・江川 宏: 昭和48年度日農化大会講演要旨: 405, 1973.
5. 小林昭雄・小清水弘一・三井哲夫・江川 宏・益子道生・木幡欣一・麓 次郎: 昭和46年度日農化大会講演要旨: 367, 1971.
6. 小林昭雄・小清水弘一・三井哲夫・江川 宏・深海浩: 昭和47年度日農化大会講演要旨: 153, 1972.
7. OHIGASHI, H., KAWAZU K., EGAWA H., & MITSUI T.: *Agr. Biol. Chem.* **36**: 1399-1403, 1972.
8. TURKEY, H. B. Jr.: *Ecology of Leaf Surface Microorganisms* (ed. PREECE T. F. & DICKSON C. H.): 67-80, Academic Press, London & N. Y.

## Summary

In the previous paper, the writers isolated antifungal substances from the leaves of several plants. In this paper, leaching of the antifungal substances from the leaves of these plants was studied.

The leaching pattern was classified as shown in Table 1 (I-VIII), and six examples were observed in the tested plants. Annual change of the leaching was found to follow six patterns (A-F) as shown in Table 3.

The leaves of several plants, *Ginkgo biloba* and *Yucca gloriosa*, had fewer microorganisms, and the plants that had many microorganisms on the leaves were *Distylium racemosum*, *Sapium japonicum*, and *Dendropanax trifidus* (Tables 6 and 7).

The ratio between total number of microorganisms and fungi, showed a high value on the leaves of *Yucca gloriosa*, *Acer palmatum*, and *Dendropanax trifidus*, and a lower value in *Distylium racemosum* (Tables 7 and 9).

The relationship between the leaching of antifungal substances and number of microorganisms on the leaves was studied in these plants. The writers found a decrease in the number of microorganisms on the leaves of tested plants when antifungal substances have leached onto the leaves.