



Title	人工培養基上に於ける黒穂病菌の孢子形成に就て
Author(s)	榎本, 鈴雄; ENOMOTO, Suzuo
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 1(3), 256-274
Issue Date	1953-03-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11524
Type	departmental bulletin paper
File Information	1(3)_p256-274.pdf



人工培養基上に於ける黒穂病菌 の孢子形成に就て

榎本 鈴雄

The spore formation of smut fungi on artificial culture media

Suzuo Enomoto.

I. 緒 言

黒穂病菌は純活物寄生菌と考えられた時代もあつたが、1883年 Brefeld¹⁾はその多くの種類を用いて、孢子の發芽試験を行い、孢子が培養液中に於て發芽生育する状態を明らかにしたばかりでなく、*Tilletia Tritici* (*T. Caries*) は孢子を形成するに至つたことを報告した。續いて1895年 Herzberg¹⁰⁾は數種の黒穂病菌の培養を行い *Ustilago Tritici* が培養基上に孢子様のものを形成することを報告した。其の後久しく此の種の報告がなく、Brefeld等の孢子形成に關する報告を疑問視するものさへあるに至つた。然るに1921年 Kniep¹³⁾が *Urocystis Anemones* の人工培養基上に於ける孢子形成を報告して以來、1924年 Sartoris²²⁾は *Ustilago Hordei* 等數種の黒穂病菌につき、Schaffnit²³⁾と Rump²¹⁾は *Ustilago Hordei* につき、Koudelka¹⁵⁾は *Ustilago Scorzoneræ* と *U. Tragopogonis* につき、Stempell²⁵⁾は *Etylonia Ranunculi* と *E. Calendulae* につき、Wang²⁶⁾は *Ustilago Avenae*, *U. levis* 及び *U. Crameri* につき Wernham²⁷⁾は *Urocystis gladioli* につき、是等の菌が培養基上に於て孢子を形成することを報告した。

然し、Kniep, Sartoris 其の他の諸氏の報告した方法によつて、同じ種類の黒穂病菌を培養して

も、必ずしも孢子を形成せしめ得るとは限らず、又孢子形成を報告した研究者自身が同一の方法を繰り返しても、常に陽性の結果を得るとは限らぬ。此の點に關して詳細な研究報告のあることを聞かない。

余は1929年以來黒穂病菌の人工培養に關する研究に従事し、先ず Sartoris の行つた方法を用い、次に其の他各種の方法で *Ustilago unda* をはじめ多種類の黒穂病菌の培養を行い、孢子を形成せしめようと試みたが何れも不成功に終つた。然るに偶々1936年春、甘酒汁寒天培養基上に *Ustilago nuda* と *U. Hordei* が孢子を形成したのを認めた。甘酒汁寒天は從來普通に使用して來た培養基であるが、この上に孢子が形成されることはなかつた。それが1936年に至つて初めて陽性の結果を呈したのである。これは如何なる理由によるかを攻究した。從來使用して來た甘酒汁寒天は、甘酒を濾過した液に、直に寒天を加へて製したが、孢子形成を認めた甘酒汁寒天は、甘酒汁を長く貯藏する爲めに一度煮沸殺菌し、生じた沈澱物を培養基製造に際して濾過除去した液に寒天を加へて製したものであつた。そこで筆者は甘酒汁をアルコールで処理し、生じた沈澱物を除去した上で培養基を作り、上記の黒穂病菌を培養した。その結果は多數の孢子形成を認めたのである。甘酒汁の煮沸又

はアルコールの處理によつて生ずる沈澱物は、主として蛋白質等の窒素化合物であるから、これを除去すれば窒素分は減少する。従つて、糖の量が多く窒素の量が少ない培養基上に、黒穂病菌の孢子が良く形成されることが推定せられた。茲に於て、再び Sartoris の用いた麦芽糖寒天培養基に、*Ustilago nuda* と *U. Hordei* を培養した處、何れもよく孢子を形成した。茲に起る疑問は 1929 年以來 Sartoris の方法は勿論、其の他種々の方法を用いて培養を行つて來たが、遂に孢子を形成せしめ得なかつたのに、1936 年になつて始めて成功したのは、如何なる理由によるかと云うことである。1936 年春、培養基上に孢子を形成した菌は、1929 年以來培養に用いたものとは採集の時を異にする別の菌株であつて、菌の系統が異ると考えられる。依つて 1937 年には種々異なる材料から分離した菌株を用いて培養を行つて次のことを明かにした。

即ち、培養基上に孢子を形成するか否かは菌の系統によつて大いに異なることを知つたのである。培養によつて、黒穂病菌の系統に關する研究を行つた人には Christensen 及び Stakman¹⁾、Rodenhiser²⁰⁾ 等があるが、培養基上に於ける孢子の形成が系統によつて異なることに關して Schaffnit²³⁾ は、*Ustilago Hordei* の孢子形成は培養基の如何よりは黒穂病菌の材料の如何によると述べ Rodenhiser は *Ustilago nuda* と *U. Triticum* の孢子形成は系統によつて差異があると述べた。

黒穂病菌の小生子が兩性異体 (heterothallic) であることは、Knip¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾、Dickinson⁷⁾ 其の他多くの學者の認めるところであるが Zillig²⁸⁾、Stakman 及び Christensen²⁴⁾ は、單一の小生子から生じた菌絲を寄生植物に接種しても發病せしめるに至らず又孢子も形成されないと述べた。

筆者は、個別に採集した *Ustilago nuda*, *U. Triticum*, *U. Zeae*, *U. Avenae* の、培養基上に孢子を作らない 5 系統の培養をそれぞれ A, B, C, D, E. と名づけ、AB, AC, AE, BC, BD, BE……等の 10 組合せを作つて、甘酒汁寒天培養基の上に培養したが全く孢子の形成を認めなかつた。

此の様に培養基上に孢子を形成しない系統は是等の如何なる組合せを作つて培養しても孢子を

作らないことを知つた (圖版 10 参照)。

之を要するに、黒穂病菌が人工培養基上に孢子を形成するには、培養基中に糖分が著しく多く、窒素化合物が著しく少ないと云う營養條件の外に培養菌が孢子を形成する系統であることを必要とするのである。この要旨⁶⁾ は、1938 年札幌農林學會研究發表會に於て發表し、更に種類によつてそれぞれ孢子形成に適する培養温度のあることを明かにして、1942 年と 1948 年に其の要旨^{7,8)} を發表した。

培養基の上に黒穂病菌が孢子を形成する條件は以上述べた通りであるが、本研究に於ては孢子形成に適当な炭素及び窒素源と、その適量とを決定する爲めに試験を行い、又培養基上に於ける孢子形成の経過を仔細に觀察した結果、黒穂病菌の孢子は從來考えられた様に厚膜孢子ではなく、厚膜の菌絲細胞中に形成せられる内生孢子であることを認めた。

これ等の研究経過及び結果の概要を報告する。

北海道大學名譽教授伊藤誠哉博士、教授柄内吉彦博士、教授福士貞吉博士は本研究に對して絶えず指導を賜り、又故名譽教授宮部金吾博士は 30 餘年絶えざる指導と援助とを賜つた。茲に記して感謝の意を表す。又化學上の問題に關して指導を賜つた教授中村幸彦博士、助教授伊藤光治博士及び本研究に對し各種の援助と便益を與へられた教授田川隆博士、助教授村山大記氏、東北大學農學研究所長教授坂本正幸博士、其の他研究材料を寄與せられた、多くの諸氏に感謝の意を表す。

II. 糖の種類と黒穂病菌孢子形成との關係

黒穂病菌の孢子が培養基上に形成される一つの條件は、培養基中の糖の多量であることは明かであるが、如何なる種類の糖が孢子の形成に適するかを詳かにする爲め、1938 年 5 月から 6 月に至る期間、麦芽糖、蔗糖、葡萄糖、果糖、乳糖をそれぞれ 5% 加用した寒天斜面培養基 (第一磷酸加里 1.25%, 硫酸マグネシウム 0.3%, 寒天 2%) 上に、黒穂病菌の培養を行い、生育狀況と孢子形成状態に就て觀察した。此の試験に用いた菌は *Ustilago nuda*, *U. Triticum*, *U. Hordei*, *U. Shiraiana*, *U. anthracinum*,

U. reticulata, *U. Poae*, *U. Kusanoi*, *Tilletia Tritici*, *T. foetens* の10種で、何れも培養基上に胞子を形成することを確めた系統であつた。

この試験結果によると、麦芽糖、蔗糖、葡萄糖は菌絲の生育にも、胞子の形成にも、好適し、その間に殆んど差異を認めなかつたが、果糖は、*Ustilago Shiraiana* には適したが、その他の供試菌に關しては、やや劣り、乳糖は供試菌の何れにも不適當であつて、菌絲の生育並びに胞子の形成が著しく劣つた。

III. 培養基中の糖の量と黑穗病菌胞子形成との關係

黑穗病菌胞子形成に關する糖の適量を知るため、蔗糖、麦芽糖、葡萄糖を各0.2%、5%、10%、15%、20%、25%、30% 加用した前記の寒天培養基に、*Ustilago nuda*, *U. Tritici*, *U. Hordei*, *U. antheorum*, *U. Poae* の5種を培養して豫備試験を行つたが、何れの菌も含糖量5%以上の場合に胞子を形成し、

糖の量の増加に従つて胞子の形成は益々良好となつた。然し15%以上では最高30%に至るまで明かな差は認められなかつた。よつて、次の試験を行つた。本試験に於ては寒天の使用を避け、脱脂綿を用いた。脱脂綿は豫め、先ず稀硫酸で煮沸し、蒸溜水で洗滌した後、更に、稀苛性加里液で煮沸し、再び蒸溜水でよく洗滌し、次に、純アルコール及びエーテルで洗滌し、乾燥したもの0.5gを、綿栓を施した殺菌試験管に入れ、是に所定の培養液0.4c.c.を注入して2回蒸氣殺菌を行つた後、黑穗病菌を接種した。蔗糖の適量試験には *Ustilago nuda* 等7種の黑穗病菌を用い、麦芽糖に關しては *Ustilago reticulata* を除く6種を用いた。

1. 麦芽糖の量と黑穗病菌胞子形成との關係

1938年8月4日培養基上に供試菌類の胞子を接種し、胞子形成の狀況を調査した。其の結果を要約して次表に示した。

表中の+の多少は胞子形成の多寡を示し、-は胞子が形成されなかつたことを現す。

第1表 麦芽糖の量と黑穗病菌胞子形成との關係

觀 察 年 月 日	含糖量 (%)	黑 穗 病 菌 名					
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Tritici</i>	<i>U. antheorum</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. Shiraiana</i>
VIII. 8.1938	0	-	-	-	-	-	-
"	0.5	-	-	+	-	-	-
"	2	-	-	+++	-	-	-
"	5	-	-	++++	-	-	-
"	10	-	-	+++++	-	-	-
"	15	-	-	+++++	-	-	-
"	20	-	-	++++	-	-	-
VIII.11.1938	0	-	-	-	-	-	-
"	0.5	+	-	+	-	+	-
"	2	++	+	+++	±	++	-
"	5	+++	+++	++++	+	+++	-
"	10	+++	++++	+++++	++	++++	-
"	15	+++	+++++	+++++	++	++++	-
"	20	++	++	+++++	+	+++	-
VIII.15.1935	0	-	-	-	-	-	-
"	0.5	+	-	+	+	+	-
"	2	++	++	+++	++	++	-
"	5	++++	++++	++++	+++	+++	-
"	10	+++++	+++++	+++++	++++	++++	-
"	15	+++++	+++++	+++++	++++	++++	-
"	20	++++	+++++	+++++	+++	+++	-

観 察 年 月 日	含糖量 (%)	黒 穂 病 菌 名					
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Triticci</i>	<i>U. antherarum</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. Shiraiana</i>
VIII.20.1938	0	—	—	—	—	—	—
"	0.5	+	—	+	+	+	±
"	2	++	++	+++	++	++	++
"	5	++++	++++	++++	+++	+++	+++
"	10	++++++	++++++	++++++	++++	++++	+++
"	15	+++++++	+++++++	+++++++	++++	++++	+++
"	20	+++++++	+++++++	+++++++	++++	++++	++
VIII.25.1938	0	—	—	—	—	—	—
"	0.5	+	—	+	+	+	+
"	2	++	++	+++	++	++	++
"	5	++++	++++	++++	+++	+++	+++
"	10	++++++	++++++	++++++	++++	++++	++++
"	15	+++++++	+++++++	+++++++	++++	++++	++++
"	20	+++++++	+++++++	+++++++	++++	++++	++++

2. 蔗糖の量と黒穂病菌孢子形成との關係

1938年8月4日供試菌類の孢子を培養基上に

接種し、孢子形成狀況に就て觀察した。其の結果を要約して次表に示した。

第 2 表 蔗糖の量と黒穂病菌孢子形成との關係

観 察 年 月 日	含糖量 (%)	黒 穂 病 菌 名						
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Triticci</i>	<i>U. Shiraiana</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. antherarum</i>	<i>U. reticulata</i>
X.14.1938	0	—	—	—	—	—	—	—
"	2	—	±	+++	±	—	—	—
"	5	—	±	++++	+	—	—	—
"	10	—	±	+++++	+	—	±	—
"	15	—	±	+++++	+	—	±	—
"	20	—	—	+++++	+	—	±	—
"	25	—	—	+++++	+	—	±	—
"	30	—	—	++++	+	—	±	—
X.18.1938	0	—	—	—	—	—	—	—
"	2	+	+	+++	+	±	±	±
"	5	+++	+++	++++	++	±	++	+
"	10	++++	++++	+++++	+++	+++	++++	++++
"	15	+++++	+++++	+++++	+++	+++	++++	++++
"	20	+++++	+++++	+++++	+++	+++	++++	++++
"	25	++++	++++	++++	+++	+++	++++	++++
"	30	+++	++++	++++	++++	++	++++	++
X.26.1938	0	—	—	—	—	—	—	—
"	2	+	+	+++	+	±	+	±
"	5	+++	+++	++++	+++	±	++	+
"	10	++++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++
"	15	+++++	+++++	+++++	++++	++++	++++	++++
"	20	+++++	+++++	+++++	++++	++++	++++	++++
"	25	+++++	+++++	+++++	++++	++++	++++	++++
"	30	++++	+++++	++++	++++	+++	++++	+++

觀 察 年 月 日	含糖量 (%)	黑 穂 病 菌 名						
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Tritici</i>	<i>U. Shiraiana</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. antherarum</i>	<i>U. reticulata</i>
XI. 2. 1938	0	—	—	—	—	—	—	—
〃	2	+	+	+++	+	±	+	±
〃	5	+++	+++	+++++	+++	±	++	+
〃	10	++++	++++	+++++	++++	+++	+++++	+++++
〃	15	+++++	+++++	+++++	++++	++++	+++++	+++++
〃	20	+++++	+++++	+++++	++++	++++	+++++	+++++
〃	25	+++++	+++++	+++++	++++	++++	+++++	+++++
〃	30	+++++	+++++	+++++	++++	++++	+++++	++

培養液中の麥芽糖の含量 0.5% と 2% とには、胞子の形成極めて少なく、5% 以上含量が多い程胞子の形成が多い。然し20%に於ては15%に於けるよりも胞子の形成が遅延する傾向があつたが、時日を経るに従つて次第に増加するのを常とした。

蔗糖に関しては、供試菌の種類によつて多少の差異はあつたが、含量が多い場合に胞子形成は良好で、その少ない場合に劣等であつた。然し20%以上の濃度に於ては、胞子の形成は遅延し、特に30%液では此の傾向が著しいばかりでなく、胞子の形成量もやや少ないのを常とした。

IV. 培養基中の窒素化合物の量と黒穂病菌胞子形成との關係

黒穂病菌の胞子形成條件として、培養基中の窒素化合物の量は、他の菌類に比べて少であつて若し、これが過多に失すれば胞子は形成されないことは、實驗によつて既に明かである。本實驗に於ては、胞子形成に對する窒素の適量を知る爲めに、數種の窒素化合物を種々の異つた量に與へて胞子形成の狀況を觀察した。

1. ペプトンの量と黒穂病菌胞子形成との關係

1938年6月27日、ペプトンの量を異にする培養液に、*Ustilago nuda* 等5種の黒穂病菌を接種し、培養試験を行つた。その結果を次表に要約して示した(圖版11参照)。

第 3 表 ペプトンの量と黒穂病菌胞子形成との關係

年 月 日 觀 察	ペプトン の 量 (%)	黑 穂 病 菌 名				
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Tritici</i>	<i>U. Shiraiana</i>	<i>U. antherarum</i>
VII. 4. 1938	0	+	++	++	+	++
〃	0.05	+++	++++	++++	+++	+++
〃	0.2	+++	+++	+++++	+++	+++
〃	0.6	—	+	++	+	+
〃	1	—	—	+	—	—
VIII. 13. 1938	0	++	++	+++	++	++
〃	0.05	++++	++++	+++++	+++	+++
〃	0.2	++++	++++	+++++	++++	+++
〃	0.6	+	+	++	+	+
〃	1	—	—	+	—	—

注意 培養に用いた *Ustilago Tritici* は比較的多量に窒素化合物を含有する培養基にも胞子を形成する系統である。

2. アンパラギンの量と黒穂病菌胞子形成との関係

1938年12月14日, アスパラギンの量を異に

する培養液に *Ustilago nuda* 等7種の黒穂病菌を接種し, 培養を行つた。その結果を次表に要約して示した。

第4表 アスパラギンの量と黒穂病菌胞子形成との関係

観 察 日 年 月 日	アスパラギンの量 (%)	黒 穂 病 菌 名						
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Triticci</i>	<i>U. anthearum</i>	<i>U. Shiriana</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. reticulata</i>
XII. 20. 1938	0	—	—	—	—	—	—	—
"	0.05	—	—	+++	—	—	++	—
"	0.2	—	—	+++++	—	—	+++	—
"	0.5	—	—	++++	—	—	++	—
"	1	—	—	+	—	—	—	—
XII. 28. 1938	0	—	+	—	+	—	—	—
"	0.05	+	+++	++++	++++	+++	+++	—
"	0.2	—	++	+++++	+++	+++	+++	—
"	0.5	—	—	++++	++	++	++	—
"	1	—	—	++	+	+	±	—
I. 4. 1939	0	—	+	+	+	+	+	—
"	0.05	+++	++++	++++	++++	+++++	+++	+++
"	0.2	++	+++	+++++	++++	++++	+++	++
"	0.5	—	±	++++	++	++	++	—
"	1	—	—	++	+	+	±	—

注意 菌株は何れも前実験に用いたもので, *Ustilago reticulata* は初め25°に於て培養し菌絲が充分に生育したものを20°内外の温度に移した温度と胞子形成の章参照。

3. 尿素の量と黒穂病菌胞子形成との関係

1938年11月12日尿素の量を異にした培養基

に, *Ustilago nuda* 等7種の黒穂病菌を接種して, 培養を行つた。その結果を次表に要約して示した。

第5表 尿素の量と黒穂病菌胞子形成との関係

観 察 日 年 月 日	尿 素 量 (%)	黒 穂 病 菌 名						
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Triticci</i>	<i>U. anthearum</i>	<i>U. Shiriana</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. reticulata</i>
XI. 19. 1938	0	—	—	±	—	—	±	—
"	0.05	—	—	++++	+	—	—	—
"	0.2	—	—	++	+	—	—	—
"	0.5	—	—	—	++	—	—	—
"	1	—	—	—	+	—	—	—
XI. 26. 1938	0	—	+	±	—	—	±	—
"	0.05	—	+++	++++	++	+	—	—
"	0.2	—	+	+++	+++	±	—	—
"	0.5	—	—	—	+++	—	—	—
"	1	—	—	—	+	—	—	—
XII. 1. 1938	0	—	+	±	±	±	±	—
"	0.05	±	+++	+++++	++	++	—	—
"	0.2	—	+	+++	+++	++	—	—
"	0.5	—	—	—	+++	+	—	—
"	1	—	—	—	++	—	—	—

觀察年月日	尿の素量 (%)	黑穂病菌名						
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Triticci</i>	<i>U. antherarum</i>	<i>U. Shiraiana</i>	<i>U. Poae</i>	<i>U. retioulate</i>
XII. 19.1938	0	+	+	+	+	+	±	-
"	0.05	+++	+++	+++++	+++	+++	±	+
"	0.2	++	+	+++	++++	++	±	++
"	0.5	+	-	-	+++	+	±	-
"	1	-	-	-	++	-	-	-

4. 硝酸アンモニウムの量と黑穂病菌胞子形成との關係

1938年6月8日, 硝酸アンモニウムの量を異

にした培養基に, *Ustilago nuda* 等5種の黑穂病菌を接種して, 培養を行つた。その結果を次表に要約して示した。

第6表 硝酸アンモニウムの量と黑穂病菌胞子形成との關係

觀察年月日	硝酸アンモニウムの量 (%)	黑穂病菌名				
		<i>Ustilago nuda</i>	<i>U. Hordei</i>	<i>U. Triticci</i>	<i>U. Shiraiana</i>	<i>U. antherarum</i>
VI. 14. 1938	0	-	-	-	-	-
"	0.05	-	-	+	+	+
"	0.2	-	-	+	+	+
"	0.5	-	-	+	-	-
"	1	-	-	-	-	-
VI. 20. 1938	0	-	-	-	-	-
"	0.05	-	-	++	+	+
"	0.2	-	-	++	+	+
"	0.5	-	-	+	+	-
"	1	-	-	-	-	-
VI. 28. 1938	0	-	-	-	-	-
"	0.05	+	++	++	+	+
"	0.2	-	-	++	+	+
"	0.5	-	-	+	+	-
"	1	-	-	-	-	-

ペプトン, アスパラギン, 尿素, 及び硝酸アンモニウムの黑穂病菌胞子形成に關する窒素源としての適否, 並びに, それ等の適量を知る爲に本試験を行つた。ペプトン及びアスパラギンは最も好適し, 尿素は劣り, 硝酸アンモニウムを與えた場合には胞子の形成は著しく少なかつた。

胞子形成に對する窒素化合物の適量は, その種類により, 又黑穂病菌の種類によつて多少の差異はあつたが, 一般に0.05乃至0.2%で胞子の形成が最も良好で, 0.5%に達すれば衰へ, 1%では特殊の系統の菌株が例外的に胞子を形成することがあるのみで, 一般には胞子を作らない。無窒素

の標準培養では極めて僅少ではあるが, 胞子を生ずる場合が多い。

V. 寒天培養基の含糖量及び含窒素量と黑穂病菌胞子形成との關係

前行の炭素源と窒素源に關する培養試験の結果, 黑穂病菌の人工培養基に於ける胞子形成は含糖量5%以上, 含窒素量0.2%以下の場合に良好であることが明かになつた。依つて供試菌が乾杏浸出液寒天や, 馬鈴薯煎汁寒天上に胞子を形成しないのは, 是等培養基の含糖量と含窒素量とが不適當な爲であつて, 甘酒汁を煮沸して沈澱物を除

去して調製した寒天培養基上によく胞子を形成するのは、糖と窒素の量が適當になるからであると想像される。此の様な推定の當否を實驗により確める爲め、是等の培養基に含まれる糖と窒素化合物の量、並びに、培養基に加用された、寒天の含窒素量について定量分析を行つた。窒素はケルダール微量法、糖は乾杏浸出液と甘酒汁はベルトラン法、馬鈴薯煎汁はハーゲドルン-エンセン微量法に依つた。

本定量試験の結果は下の通りであつた。

第 7 表

	糖量 (葡萄糖として)	窒素量
乾杏浸出液	3.681%	0.59%
馬鈴薯煎汁	0.204	0.209
甘酒汁	8.374	0.0036
寒天		0.242808

上表によると、黒穗病菌の胞子形成用培養基としては、乾杏浸出液は糖の量が少なく、窒素の

量が多きに失し、馬鈴薯煎汁は窒素量は適當であるが糖の量が極めて少ない。甘酒汁では糖の量は好適であるが、含窒素量は少きに失する嫌いがあるが、寒天には約 0.243% の窒素を含むから、是を加えることによつて窒素量は概ね適當となる。

馬鈴薯煎汁は窒素の含量は適量に近く、糖の含量が著しく不足だから、是に適當の糖を加えれば、黒穗病菌の胞子形成に適當となる理である。依つて 1939 年 12 月 8 日、10% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天と、從來使用して來た 1% 蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天の 2 種の培養基を用いて *Ustilago nuda* 等 8 種の黒穗病菌の培養を開始した。その結果 10% 蔗糖加用馬鈴薯寒天培養基には、多くの胞子が形成せられたが、1% 蔗糖加用馬鈴薯寒天培養基には全く胞子形成を見ないか、又は極めて僅少の胞子を認める程度に止まつた (圖版 12 参照)。

本試験の経過及び結果を次の表に要約して示した。

第 8 表 蔗糖 10% 及び 1% 加用馬鈴薯煎汁寒天培養基上に黒穗病菌の胞子形成

觀察年月日	黒 穗 病 菌 名 及 び 蔗 糖 の 量							
	<i>Ustilago nuda</i>		<i>U. Hordei</i>		<i>U. Tritici</i>		<i>U. anthearum</i>	
	10%	1%	10%	1%	10%	1%	10%	1%
XII. 20. 1939	Shell Pink 色の菌叢培養基の 1/2 ~ 1/3 を被う	色は 10% と同様であるが、生育は 10% の 1/3 程度に過ぎない	菌叢の生育状態と色は <i>Ustilago nuda</i> に似て居るが生育はより良好である	菌叢の生育と色は <i>Ustilago nuda</i> に似て居るがより生育は悪い	培養基の全面白色又は Shell Pink 色の菌叢で被われる	菌叢の色は 10% の場合と同様であるが、生育は 1/2 に過ぎない	菌叢は白色乃至 Pale Vinaceous lilac 色をなし培養基の表面は粗糙である	菌叢の色等は 10% と同様であるが生育は培養基の 1/2 を占めるに過ぎない
XII. 28. 1939	菌叢は培養基の全面を被う	菌叢は培養基の全面を被うに至らない	培養基の全面に胞子を生じ黒色となる	胞子の形成を認めない	培養基の全面に胞子を呈する	胞子の形成を認めない	菌叢の一部黒色となり胞子を形成した	胞子の形成を認めない
I. 4. 1940	胞子を形成し Isabella color を呈する	菌叢は培養基の全面を被い Pale Grayish Vinaceous をなし胞子を作らない	28日に於けると同様である	胞子の形成を認めない	28日と異ならない	菌叢は Ecra-Drab 色となり、胞子の形成を認めない	培養基の全面に胞子出来て黒色となつた	白色の菌叢に Pale Vinaceous 色を混じ其上に黒色の部分を認めるが胞子は出来ない
I. 11. 1940	培養基の全面に胞子を生じ黒色となる	胞子を生じない	何等變化を認めない	同上	何等の變化を認めない	同上	4日と同様である	同上

觀 察 年 月 日	黑 穂 病 菌 名 及 び 蔗 糖 の 量							
	<i>U. Poae</i>		<i>U. Shiraiana</i>		<i>Tilletia Triticici</i>		<i>T. foetens</i>	
	10%	1%	10%	1%	10%	1%	10%	1%
XII. 20. 1939	白色の菌叢は培養基の $\frac{2}{3}$ 以上を被い、中央部に黒色を呈し胞子形成の徴を示した	白色纖細の菌絲を生じ胞子形成の徴は示さない	白色の菌叢は接種點を中心として發育した	色等は10%の場合と同様であるが菌の發育は微弱である	培養基の全面 Shell Pink 色の菌叢で被われた	10%の場合と同様である	Shell Pink 色の菌叢で培養基の $\frac{2}{3}$ 以上を被つた	菌叢の色等は10%の場合と同様であるが生育 $\frac{1}{3}$ に過ぎない
XII. 28. 1939	培養基の全面が黒色となり胞子を形成した	白色の菌叢を生じ全く胞子を形成しない	其後菌の生育は進まない	同上	同上	同上	培養基の全面は菌叢で被われたが胞子の形成は認めない	10%の場合と同様である
I. 4. 1940	28日と何等變化を認めない	Pale Grayish Vinaceous 色の菌叢を生じ胞子は全く形成しない	菌叢は黒色の塊状をなし胞子を形成した	菌叢の生育と胞子の形成は僅かである	Pale Grayish Vinaceous 色の菌叢を生じ其 $\frac{1}{2}$ は黒變し胞子を形成した	全く胞子を形成しない	Shell Pink 色の菌叢の周囲が黒色となり胞子形成の徴を現わした	全く胞子を形成しない
I. 11. 1940	同上	同上	同上	同上	培養基の全面黒色となり胞子を形成した	胞子形成を認めない	全面黒色となり胞子を形成した	全く胞子を形成しない

上の實驗で明かな様に、普通の菌類培養に用いる培養基上に黑穂病菌が胞子を形成しないのは窒素と糖の含量が不適當である爲めであつて、糖の含量過少な1%蔗糖加用馬鈴薯寒天に、其の不足した糖を加へることにより、又窒素の過多な、甘酒汁から窒素化合物を除去することによつて、胞子を形成せしめ得たのである。猶其の後、甘酒汁は使用する麴によつて、煮沸しても、沈澱を生じないものも、あることを知つた。

又常に使用する蔗糖寒天の蔗糖の代りに15%の飴を加えて製した、飴寒天培養基上に、上記8種の *Ustilago reticulata*, *U. Kusanoi* を加えた10種の黑穂病菌の培養を行つたが、何れもよく胞子を形成した。

VI. 各種黑穂病菌の培養基上に於ける胞子形成

黑穂病菌の胞子を形成せしめるには、培養基中の窒素化合物の含量が少なく、糖分の多いことが必要であるが、種類によつては、例えば *Tubercinia*

Triticici の如く、窒素化合物の含量が比較的大で、糖分の少ない培養基に胞子を形成するものもある。又 *Ustilago Triticici* は普通には窒素化合物が著しく少なく、糖分の含量が多い培養基上にも胞子を形成するが、系統によつては窒素化合物の含量が比較的多い培養基上に胞子を作ることがある。又黑穂病菌の多くは培養温度が25°内外で胞子を形成するのを常とするが、*Ustilago grandis*, *U. Rabenhorstiana*, *U. Panici-glauci* 等は此の程度の温度では適當な培養基を用いても胞子を作らない。

本章に於ては、かかる特異な性質をもつ數種の黑穂病菌と、未だ記述しないものと、前章に簡単に記述した *Ustilago reticulata* に關する培養試験の經過及び結果に就て述べる。

1. キバナノアマナ黑穂病菌 *Ustilago Ornithogali* (Schm. et Kunze) Magnus.

1935年5月22日北大農學部附屬植物園で採集し、分離培養を行い、是を數種の培養基に20°で培養した處、甘酒汁寒天と乾否浸出液寒天培養基上にも胞子を形成した。然し當時は是を胞子

と断定することを躊躇したが、各種の黒穂病菌について研究を進むるに従つて、遂に胞子であることを明かにしたのである。

甘酒汁(沈澱を除去しない液)寒天培養基上には接種後1週間で厚い菌叢を生じ、Light Pinkish Cinnamon 色を呈し次第に Pinkish Cinnamon 色となり、18日を経過すると上層部に胞子を生じて黒色となる。

乾杏寒天培養基上の菌叢は初め Pale Pinkish Cinnamon 色であつたが、後 Pale Congo Pink 色となり、18日を経過すれば Congo Pink 色となり上部に胞子を形成して黒色乃至黒褐色となつた。

2. ヨシ黒穂病菌 *Ustilago grandis* Fr.

1939年9月26日札幌郊外厚別で採集した材料から分離し、數種の培養基に接種して25°に保ち培養試験を行つたが、3週間を経過しても胞子を形成しなかつたから、是等の培養の一部を17—18°に移した處、甘酒汁寒天培養基に於てのみ菌叢の中央部が黒色となり、やや硬化して、この部分に胞子の形成せられたのを認めた。然しそのままに保管した培養には、尙お胞子の形成を認めなかつたが、是を低温(18—20°)に移した處十數日の後甘酒汁寒天上に胞子を形成した。

3. キンエノコロ黒穂病菌 *Ustilago Panici-glauci* (Wallr.) Wint.: 1939年9月18日札幌郊外で採集

4. 蓼黒穂病菌 *Ustilago reticulata* Liro: 採集年月日、採集地同上

5. アキメヒシバ黒穂病菌 *Ustilago Rabenhorstiana* Kühn.: 1939年9月21日札幌郊外で採集

6. 蓼黒穂病菌 *Sphacelotheca Hydropiperis* (Schum) de Bary.: 1939年9月18日札幌郊外で採集

上記4種の黒穂病菌を、何れも採集當日甘酒汁寒天培養基に接種して分離を行い、10月初めに飴寒天培養基に移植して、室温に保存した處、11月初めに4種共に胞子を形成した。然し以後は温度が著しく低下した爲め、室温では生育しなかつた。よつて是を25°に於て飴寒天培養基上に培養し、菌絲が充分に生育した後、17—18°の低温に移したるに、數週間の後胞子を形成した。*Ustilago reticulata* と *Sphacelotheca Hydropiperis* は發育した菌叢の全面に胞子を生じ、黒色を呈したが、

Ustilago Panici-glauci と *U. Rabenhorstiana* は菌叢の中央部のみが黒色となり、ここに胞子を形成した(培養温度と胞子形との章参照)。

7. 黍黒穂病菌 *Sorosporium Syntherismae* (Peck.) Farlow.

本菌に關しては、1933年以來北大附屬農場で採集したものに就て、種々の培養基を用い種々の温度で培養を行つたけれども、遂に胞子の形成を見なかつたが、1936年9月初旬に札幌郊外盤之澤で採集した菌を分離培養して、9月中頃數種の培養基に接種し、25°で培養を行つた。其の後定温器の故障の爲め温度が不明となつた期間があつた後に、11月末甘酒汁寒天培養基上に生育の菌叢上に、黒色の部分を生じ、ここに多數の胞子が團塊をなして形成された。この胞子は寄主植物上のものと同様であつた。其の後屢々各地から本菌を採集して培養を行つたが、全く胞子を形成しないか未熟の胞子を生ずるに止まつたが、偶々1947年8月札幌市豊平で採集したものが25°に於て甘酒汁寒天の外、蔗糖寒天培養基上にもよく胞子を形成した。

8. サジオモダカ黒穂病菌 *Doassansia Alismatis* (Nees.) Cornu.

1939年8月23日札幌市苗穂で採集し、同日殺菌した鋭尖な針で組織内の胞子團を摘出し、是を甘酒汁寒天と乾杏浸出液寒天培養基上に接種し數日間室温に保存した後、甘酒汁寒天上に菌絲の發育せるを認めた。是を數種の培養基に移植し、25°及び室温に於て培養したるに、何れの培養基上にも菌絲は生育したが、胞子は接種後20日で甘酒汁寒天上のみに生じ、菌叢上に黒色の胞子形成の部分が點在するに至つた(圖版8参照)。

9. 小麥稈黒穂病菌 *Tubercinia Tritici* (Körn.) Liro.

岐阜で採集した材料を1940年5月28日乾杏浸出液寒天培養基に接種し、25°に保存し、6月14日に、發達した黒色塊狀の菌叢から菌絲をとつて是を數種の培養基上に移植して培養したるに、6月20日に至つて乾杏浸出液寒天培養基上のみ、黒色の菌絲塊を生じ、6月27日には菌叢は培養基面の半分を被うに至つた。此の一部をとつて鏡檢

したるに明かに *Tuburcinia* 属の特徴ある胞子を認めた。然しかくの如くして人工培養基上に生じた胞子の多くは、(圖版 9) に示す様に寄主植物上のものとは、多少形態を異にして居つた。本菌は其の後同様の方法で、常に胞子を形成せしめることが出来た。

10. エンレイソウ黒穂病菌 *Tuburcinia Trilli* (Jacqs.) Miyabe

1934年5月札幌市岡山で採集し、分離培養を行つたものを1936年12月甘酒汁寒天平面培養基に接種し、20—21°で培養した。菌叢の生育は十數日で停止し、Shell Pink色の圓形凸レンズ状を呈し、20日後には菌叢中に黒褐色の部分を生じ、30日後には褐色乃至黑色を呈するに至つた。此の黑色部をとつて鏡檢するに胞子は團塊をなして形成されたのを認め、その形状天然のものと同様とところがなかつた。

供試に用いた上記10種の黒穂病菌中8種は他の多くの黒穂病菌と同様に、甘酒汁寒天又は飴寒天培養基によく胞子を形成したが、*Ustilago ornithogali* と *Tuburcinia Tritici* の2種は、窒素化合物がやや多く糖の含量が多少不足の嫌いある乾杏浸出液寒天培養基上に、よく胞子を形成した。

VII. 培養温度と胞子形成との關係

既述の如く黒穂病菌は、その胞子形成に必要な栄養條件が具備すれば、25°内外の培養温度に於て、よく胞子を生ずるのを常とするけれども、種類によつては更に低き温度を適當とし、又25°よりも高い温度でよく胞子を作る種類もある。よつてここに各種黒穂病菌の胞子形成と温度との關係に就て試験を行つた。試験には何れも甘酒汁寒天培養基を用い、多くは平面培養基によつた。

1. 大麥裸黒穂病菌 *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr. 18°, 20°, 25°, 30° に於て、培養試験を行つたが25°では、培養20日で培養基の全面に胞子を生じ、黑色を呈したが、他の温度では胞子の形成が極めて少なかつた。

2. 大麥堅黒穂病菌 *Ustilago Hordei* (Pers.) Lagerh. 21°, 25°, 28°, 32—33° に於て培養試験を行つたが、培養20日にして胞子を形成し、28°で最も

多く、25°是に次ぎ、21°と32—33°に於て生育不良で、胞子の形成も僅少であつた。

3. 小麥裸黒穂病菌 *Ustilago Tritici* (Pers.) Rostr. 18°, 20°, 25°, 30° に於て培養を行つたが、何れも培養16日で菌叢の擴大を了し、25°で最も多く胞子を形成し、30°是に次ぎ、18°と20°では胞子の形成は極めて少なかつた。

4. オホヤマフスマ黒穂病菌 *Ustilago anthearum* Fries.

本菌は25°で胞子をよく作ることは既に述べたが、札幌では5月中頃に寄主植物上に胞子を生ずるから、比較的低い温度でよく胞子を形成するのではないかと考えられるので21°, 25°及び28°に於て培養したるに、28°では菌絲の生育は良好でないが、胞子の形成は早く培養8日で胞子は其の菌叢の全面に形成せられ、黑色を呈した。25°では菌絲の生育は良好であつたが、胞子の形成は少なかつた。然しながら、培養2週間後には28°では菌の生育が止まり、胞子が發芽して菌絲を生じ白色を呈する部分を認めたが、25°では菌叢の發育が益々良好で、全面に胞子を生じ黑色を呈した(圖版13参照)。21°では1箇月を経過しても、僅少の胞子を生ずるに過ぎなかつた。又本菌は30°では殆んど生育しない。

5. ナガハグサ黒穂病菌 *Ustilago Poae* S. Ito,

21°, 25°, 30° に於て培養試験を行つたが、培養20日後には25°では菌叢の全面に胞子を生じて黑色となり30°では胞子形成を認めず、21°では僅少の胞子形成を認めた。

6. キンエノコロ黒穂病菌 *Ustilago Panici-glauci* (Wallr.) Wint.

7. アキメヒンバ黒穂病菌 *Ustilago Rabenhorstiana* Kühn.

8. 蓼黒穂病菌 *Ustilago reticulata* (Nees.) Unger.

9. ヨシ黒穂病菌 *Ustilago grandis* Fir.

10. 蓼黒穂病菌 *Sphacelotheca Hydropiperis* (Schum.) de Bary.

上記の5種は、一般黒穂病菌が胞子を形成する適温25°では胞子を生じない。是等の黒穂病菌は天然では盛夏の候、寄主植物の組織中に菌絲が繁殖し、秋冷の候に至つて初めて胞子を形成する

ものであるから、人工培養に於ては先ずこれ等を 25° で培養し、菌叢が十分に發達した後、低温に移すことによつて、胞子を形成せしめることが出来るかと推測される。依つて 1940 年 12 月 13 日 25° で培養し、翌年 1 月 14 日菌絲の充分に生育した培養を 17—18° の定温器に移したるに、果して 1 月末には胞子の形成を認めた。25° にそのまま保つたものは、胞子を形成しなかつた。猶 *Ustilago reticulata*, *U. Rabenhorstiana* 及び *U. grandis* は 20° に於ても胞子形成を認めたが、恐らくは他の 2 種もそうかと思われる。

以上の實驗によつて供試黒穂病菌の胞子形成に適する温度を、概ね明かにすることが出来たが恐らくは是が、最適温度に近いものと考えられる。

余が従來研究の對象として取扱つて來た、多くの黒穂病菌の種類の中で、培養基上に於ける胞子形成温度の明かなものを挙げれば、次表の通りである。

第 9 表 培養温度と黒穂病菌胞子形成との關係

黒穂病菌名	胞子形成温度
<i>Ustilago nuda</i>	25°
<i>U. Hordei</i>	25°—28°
<i>U. Tritici</i>	25°—30°
<i>U. antheorum</i>	25°—28°
<i>U. Poae</i>	25°
<i>U. Shiraiana</i>	25°
<i>U. Kusanoi</i>	25°
<i>U. Ornithogali</i>	20°
<i>U. Panici-glauci</i>	17°—18°
<i>U. reticulata</i>	17°—20°
<i>U. Rabenhorstiana</i>	17°—20°
<i>U. grandis</i>	17°—20°
<i>Sphacelotheca Hydropiperis</i>	17°—18°
<i>Sorosporium Syntherismae</i>	25°
<i>Tilletia Tritici</i>	25°—30°
<i>T. foetens</i>	25°
<i>Tubercinia Trilli</i>	20°—21°
<i>Tub. Tritici</i>	25°
<i>Doassansia Alismatis</i>	25°

VIII. 黒穂病菌の胞子形成經過

黒穂病菌の胞子形成に就ては、既に諸家の報告が發表されて居るが、何れも大同小異であつて、是を要するに初めは無色繊細であつた菌絲

細胞のある部分が、次第に膨大して球形となり、連続して珠數狀を呈し、成熟に伴つて球形の部分は黒穂病菌胞子個有の色彩及び形態をとり、遂に互に分離して個々の胞子となると、一般にに信ぜられて現在に至つて居る。

然し余が多年に亘つて黒穂病菌に關する研究に従事したる間に、培養基上に胞子の形成せられる狀況を觀察した結果に於ては、其の經過は諸家の記述した處と趣を異にして居る。依つて以下章を分つて、黒穂病菌の胞子形成經過に關する諸家の研究の史的考察と、筆者の實驗觀察とに就て記述しようと思う。

1. 黒穂病菌の胞子形成に關する諸説

1841 年 Meyen⁷⁾ は *Elymus* に寄生する *Ustilago Hypodytes* に就て觀察を行い、菌絲細胞が次第に膨脹して胞子を形成するに至る經過を報告し、是等菌絲細胞の表面が膠狀物質で覆われると述べた。1853 年 de Bary⁸⁾ は、玉蜀黍其の他の黒穂病菌胞子が形成される狀況を觀察し、玉蜀黍黒穂病菌は初め寄主の組織中に繊細な束狀をした菌絲は肥大し、其の表面は膠狀物質で覆われ、厚膜の球形を呈した菌絲細胞が、通常の菌絲によつて珠數狀に連続し、次第に大きさを増して褐色となり、堅く且つ表面は粗となり刺毛を生ずるに至つて胞子は完成され、殘餘の菌絲は消失すると述べて居る。Fischer von Waldheim⁹⁾ は *Ustilago*, *Sorosporium* 及び *Tilletia* 屬の胞子形成に就て報告し、胞子は菌絲の肥大によつて形成せられ、菌絲の表面は膠狀物質で覆われると述べた。次で 1883 年 Brefeld¹⁾ は *Tilletia Tritici* (*T. Caries*) が培養液中で胞子を形成する状態に就て觀察したところを報告し、繊細な菌絲は次第に肥大じて、球形に膨大した菌絲細胞は、普通の菌絲によつて連続して珠數狀をなし、是等の肥大細胞が胞子となると述べた。又 1895 年同氏²⁾ は燕麥等の黒穂病菌數種の小生子を各寄主植物に接種し、胞子を生じた部分の切片を作り、其の形成状態を觀察し、膨大した菌絲細胞は膠狀物質によつて覆われて居ることを認めた。Herzberg¹⁰⁾ はムラサキハンドイの髓に麥芽浸出液を吸収させて、是に *Ustilago Tritici* を培養した處、オリブ褐色を呈する厚膜の胞子狀のものが出来たと報告

した。Oudemans¹⁹⁾は寄主植物上に於ける *Ustilago Vuijkii* の孢子生成を觀察し、孢子は菌絲の中に生じ、未熟の孢子の間は通常の菌絲により橋渡しせられて扣子を呈すると述べた。Osner¹⁸⁾は *Ustilago striaeformis* が寄主植物組織内に於ける孢子生成に就て觀察し、孢子は菌絲内に形成せられ、菌絲の外表面は膠狀膜で覆われると述べた。1921年 Kniep¹³⁾は *Urocystis Anemones* を麥芽浸出液に培養し、寄主植物上のものと異なる孢子が出来たと報告した。次で Sartoris²²⁾は *Ustilago Zeae*, *U. Heufleri*, *U. Tritici*, *U. Hordei*, *Tilletia Tritici* の孢子を培養基上に形成せしめ、何れも球形に膨れた菌絲細胞が分離して孢子となると述べ、Liro¹⁶⁾は *Luzula multiflora* 上の *Ustilago Vuijkii* の孢子形成に就て觀察し、菌絲から孢子を生成する状態を記述した。又 Rump²¹⁾は *Ustilago Hordei* の培養基上に於ける孢子形成を報告した。Stempel²⁵⁾は *Entyloma Ranunculi* と *E. Calendulae* とを培養し、是等の孢子は菌絲の先端に形成せられる外、その節間部にも形成せられることを述べ、何れの孢子も發芽したが、前者は小生子を生ぜず、後者は之を生じ *Entyloma* 屬固有の發芽状態を示したこと及び孢子形成の状況と發芽の状態を圖示した。Wang²⁶⁾は *Ustilago Crameri* が培養基上に於ける孢子形成を報告し、孢子は菌絲節間に生じ、後に至り個々に分離する。孢子に轉化する菌絲細胞は、先ず膨大して膠狀膜に圍まれ、更に膨脹すると遂に孢子は分散するに至ると述べた。Hutchins¹¹⁾は *Ustilago Zeae* の孢子の刺毛形成に就て觀察し、幼稚未熟な孢子は膠狀物質で包まれていると述べた。

2. 培養基上に於ける黒穂病菌孢子の形成經過

前章で述べた様に研究者の多くは黒穂病菌の菌絲細胞が、交互に若しくは連続して球形に膨脹し、是が分離して孢子となると考えて居る。而し是等の人々の中には菌絲細胞が膨大すると膠狀物質で覆われることを認めるものと、膠狀物質に就て何等言及していないものがある。膠狀物質の存在を認めた研究者の多くは、寄主植物上に孢子が出来たのを觀察したもので、然らざる者の多くは培養液中、又は培養基上に於ける孢子の形成を

觀察した人々である。余が供試した黒穂病菌の大部分に於ては、培養基上に孢子を形成するに當つて膠狀物質の存在を認めず、僅に *Ustilago Rabenhorstiana* と *U. Panici-glauci* の2種に其れらしきものを認めたに過ぎなかつた。de Bary, Brefeld 等が、菌絲細胞が球形に膨大して珠數狀に連続して、是等が個々に分離して孢子となると稱して其の狀を圖示して居るが、余の實驗では、Brefeld 等の圖示して居る處と同様なものの存在は常に認めるけれども、此の様な膨大した菌絲細胞は成熟の後互に分離して直に孢子となるのではなく、是は孢子母細胞で、その内に孢子が形成せられたのである。又 Oudemans は菌絲細胞の一つ一つが膨大して1個の孢子を生ずると考えたが、膨大した1個の菌絲細胞が必ずしも1個の孢子を形成するとは限らない。膨大した菌絲細胞は其の形狀が孢子に似て居るけれども、其の大きさは天然の黒穂病菌孢子に比べて著しく大きく、此の様な大形のものが縮少して小形の孢子を形成するとは考えられない。又培養基上には此の様な球形に膨大した菌絲細胞の外に、形狀、大きさ、色彩等が全く寄主植物上に出来た孢子と同様なものを認めることがあつて、此の様な顆粒が如何して形成せられたのか、又は果して眞の孢子であるか如何かを詳にする必要を感じ、仔細に顯微鏡觀察を行つた處、眞の孢子狀をした顆粒の外に、種々大きさを異にする多數の小粒を認め、大きなものは孢子大で、小形ものは微細の粒子に至るまで、順を追うて連続的な大きさの段階があることを追求することが出来た。余は此の様な小顆粒こそ未熟の孢子であつて、是等が生長、肥大、成熟して孢子となると推論した。然し是等の小顆粒は、孢子狀に膨大した菌絲細胞中に形成せられたもので、de Bary が *Ustilago antherarum* の孢子と考えたものは膨大した菌絲細胞で、是に含まれた球狀体こそ余の所謂未熟の孢子に外ならない。Brefeld は *Tilletia Tritici* に關して、菌絲細胞が次第に膨大し是等が個々に分離して孢子となるといい、其の順序を圖示して居るが、是等の孢子は膜面の網狀彫刻を缺き、表面平滑であつて、余の實驗に於て甘酒汁寒天培養基上に生じた成熟に近い未熟孢子と少しも異なる。然し此の

様な胞子は既に述べた様に又後に詳しく述べる様に菌糸細胞の膨れたものが離れて出来たのではなく膨大した菌糸細胞中に形成せられたものである。

余は數種の黒穂病菌に就て、寄主植物上に於ける胞子形成をも観察したが、菌糸細胞中に1個若しくは2,3個、時としては更に多くの未熟胞子の形成せられることがあり、培養基上の場合と毫も異るところを認めなかつた。然し寄主植物組織中に見られる菌糸細胞は、培養基上に形成せられたものよりも小さく、成熟した胞子の大きさに比し僅に數ミクロン大いばかりである。

然し Brefeld, de Bary のみならず、他の多くの學者が、球形に膨れた菌糸細胞を胞子そのものと考へたのは、其の形状が胞子に似て居るためである。

余の培養試験に於ける球形の菌糸細胞が、次第に膨大して黒褐色を呈するに至れば、此の中に形成された小粒体の存在を認めることは出来ない

が、鏡檢によつて此の球形の菌糸細胞から未熟の胞子が放出せられる状(圖版 2, 5, 6, 8, 参照)を観察することが出来る。かく胞子は成熟を待たずして菌糸細胞から離脱するから、成熟胞子の脱出する状を詳にすることが出来ないばかりでなく、培養基上には寄主植物上に於ける如く多數の成熟胞子を認めることの出来ないのは、培養基上には胞子が成熟する機會が少ないからである。

培養基上に形成せられる胞子状菌糸細胞の大きさは、黒穂病菌の種類によつて異なるけれども、その差は培養基の差異に基く大きさの相違程著しくない。大形のもの、中に多數の胞子を藏し小形ものは胞子數少く僅に1個を藏するに過ぎないか又は全く胞子を内藏しない場合も認められた。

數種の黒穂病菌につき、各種の培養基上に形成せられた胞子状に膨大した菌糸細胞、即ち胞子母細胞の大きさを測定した結果を示すと次の通りである。

第 10 表 培養基上に於ける黒穂病菌胞子母細胞の大きさ

1. 小麥稈黒穂病菌 (*Ustilago Tritici*) 胞子母細胞の大きさ

培養基	直徑 (μ)																		測定數	頂級	平均價
	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22			
麥芽糖寒天	4	7	24	28	31	34	26	22	12	6	4	2							200	10	9.775
乾杏浸出液寒天				2	4	7	22	33	42	46	26	12	5	1					200	13	12.175
甘酒汁寒天		1	1	2	6	15	19	39	45	30	22	10	5	3	2				200	13	12.91

2. 大麥稈黒穂病菌 (*Ustilago nuda*) 胞子母細胞の大きさ

培養基	直徑 (μ)																													測定數	頂級	平均價
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30					
麥芽糖寒天			1	9	26	31	36	32	23	21	11	6	4																200	9	9.625	
甘酒汁寒天			1	1	2	4	9	23	33	48	39	21	10	5	1	2	1												200	12	12.05	
15% 飴寒天					1	5	8	11	13	16	21	22	28	19	14	10	8	6	5	4	3	2	2	0	1	1			200	16	15.87	
2倍に稀釋せる甘酒汁寒天	6	32	46	54	35	11	9	4	3																			200	7	6.935		

3. 大麥稈黒穂病菌 (*Ustilago Hordei*) 胞子母細胞の大きさ

培養基	直徑 (μ)																														測定數	頂級	平均價
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30						
麥芽糖寒天	1	6	21	32	43	30	26	18	11	4	6	2																	200	8	8.77		
乾杏浸出液寒天			2	5	4	9	12	22	29	49	31	20	9	5	1	1	1												200	12	11.635		
甘酒汁寒天				1	2	7	21	23	50	41	31	17	5	2															200	12	12.425		
2倍に稀釋せる甘酒汁寒天	1	28	48	43	41	19	11	5	3	0	1																	200	6	7.024			
15% 飴寒天				1	4	8	12	16	19	21	26	28	19	12	7	6	4	4	3	3	2	3	1	0	0	1		200	16	15.585			

4. オホヤマフスマ黒穂病菌 (*Ustilago anthearum*) 胞子母細胞の大きさ

培養基 \ 直徑 (μ)	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	測定數	頂級	平均價
甘酒汁寒天	3	8	8	24	31	40	44	25	10	5	2	200	13	12.02

5. 竹黒穂病菌 (*Ustilago Shiraiana*) 胞子母細胞の大きさ

培養基 \ 直徑 (μ)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	測定數	頂級	平均價		
麥芽糖寒天	1	13	39	70	42	23	6	4	2															200	6	6.32	
甘酒汁寒天					1	0	0	11	17	36	42	37	27	15	6	5	1	2							200	13	13.48
15% 飴寒天						1	2	3	6	9	16	21	23	26	32	23	17	11	5	3	1	1			200	17	16.06
2倍に稀釋せる甘酒汁寒天	3	22	40	62	36	23	5	3	1															200	6	5.955	

胞子母細胞の大きさは一定せず、特に培養基を異にすれば、大きさの變異が甚だしいことは上表で明かである。即ち大麥裸黒穂病菌は、2倍に稀釋した甘酒汁寒天培養基上では胞子母細胞の大きさ4—12μで、其の平均價6.935μに過ぎないのに、15%飴寒天培養基上に生じたものは8—29μで、平均價は15.87μである。5%麥芽糖寒天及び甘酒汁寒天培養基では、上記の二培養基上に生じたものの中間の大きさを示し、前者は5—15μで、其の平均價9.625μ、後者は5—19μで其の平均價12.05μである。又大麥堅黒穂病菌の胞子母細胞は2倍に稀釋した甘酒汁寒天培養基上では4—14μの大きさを示し、其の平均價は7.024μで、15%飴寒天培養基上では8—30μの大きさを有し、其の平均價15.585μであつた。然し麥芽糖寒天、乾杏浸出液寒天及び甘酒汁寒天培養基上では、其の大きさは上記の二培養基に生じたものの中間であつた。猶小麥裸黒穂病菌、竹黒穂病菌等も、培養基を異にするに従つて、胞子母細胞の大きさに著しい差異を生じた。然し是等母細胞に形成される胞子の大きさは母細胞の大きさととは拘りなく、ほぼ一定して居り、寄主植物上に形成せられるそれぞれの胞子の大きさと一致した。

飴寒天培養基上に形成された胞子の大きさを

示すと第11表の通りである。

上に述べた様に、培養基上に形成せられた胞子は、寄主植物上に生じたものと形状、大きさ、色彩等に差異はない。但し培養基上には成熟胞子を見ることは極めて少なく、是に反して未熟の胞子は頗る多いのを常とする。然し未熟の胞子でも成熟に近いもの大きさ寄主植物上に出来たものと異なる。然し種類特有の刺毛又は網目状彫刻等を缺き、色も淡いのを常とする。

余が實驗に供用した多くの黒穂病菌は、培養基上で、又そのある種類は寄主植物上に於ても、球狀に膨大した一見胞子の如き外觀の菌絲細胞の中に胞子が出来ることを認めた。即ち *Ustilago*, *Tilletis*, *Sorosporium*, *Sphacelotheca*, *Tubercinia*, 及び *Doassansia* 屬の胞子は胞子母細胞たる膨大した菌絲細胞中に内生するものであることが明かになつた。

Sorosporium 及び *Tubercinia* 屬の菌は胞子母細胞中に多數の胞子塊を生じ、成熟後に至つても是等が個々に分離しない點が *Ustilago* 等と異なるのみで、胞子形成の根本には差異はない。 *Ustilago Hordei*, *U. Tritici* 等に於てその未熟の胞子が母細胞から出た後、互に附着して塊をなし、恰も *Tubercinia* や *Sorosporium* 屬の胞子塊の如き外觀を呈する

第11表 胞子母細胞中に形成した胞子の大きさ

黒穂病菌名	<i>Ustilago nuda</i> ,	<i>U. Hordei</i> ,	<i>U. Shiraiana</i> ,	<i>U. grandis</i>
最大の胞子の大きさ	11 μ	10 μ	11 μ	12 μ
最小の胞子の大きさ	7	6	7	6
大多數の胞子の大きさ	8—9	7—8	8	9

ことがある(圖版 3, 5, 7 参照)。Knip¹³⁾ は培養基上に形成された *Urocystis Anemones* の胞子は、寄主植物上に生じたものと其の形状や大きさが全く等しいと述べているが、培養基上に膨れた菌絲細胞を生じたという記述から考えれば *Urocystis Anemones* の胞子も菌絲細胞中に内生することを推察出来る。Sartoris²⁾ は培養基上で、黒穂病菌の菌絲細胞が膨れて個々に分離し、寄主植物上に生じた胞子と全く同様のものになり、かくして培養基上に生じた *Ustilago Hordei* と *U. Heufleri* 胞子は、天然のものと同様の発芽をなして小生子を生じたが、*Tilletia Tritici* と *T. foetens* の胞子は発芽したが小生子は作らなかつたと述べて居る。

余の實驗では、培養によつて出來た *Ustilago Hordei* 及び *U. antheorum* の胞子は発芽して小生子を形成したが、菌絲細胞は発芽するけれども決して小生子を形成しなかつた。Sartoris が小生子の形成を認めた胞子は、肥大した菌絲細胞の分離によつて出來た厚膜胞子ではなく、菌絲細胞中に内生した眞の胞子であつたのだらうと考えられる。又 Stempell²⁵⁾ は *Entyloma Ranunculi* と *E. Colendulae* が、培養基上で菌絲の尖端及び節間の細胞が膨大して胞子となつたと述べて居るが、氏が胞子と稱して居るのは菌絲細胞が膨れて胞子状をしたものであつて、氏が是等に就て行つた発芽試験の結果によると、*Entyloma Ranunculi* は発芽するけれども小生子を形成せず、*Entyloma Calendulae* は小生子を生じたと述べ其の状を圖示して居る。然し *Entyloma* 屬に就ては、余は未だ培養試験をしていないから確實なことは言へないけれども、他の多くの黒穂病菌の場合から類推すれば、小生子を生じたのは眞の胞子即ち内生胞子で、小生子を生じないのは球状をした菌絲細胞ではないかと考えられる。

余が培養した黒穂病菌の中で、其の胞子が菌絲細胞中に内生することを確めた種類は、*Ustilago nuda*, *U. Hordei*, *U. Tritici*, *U. antheorum*, *U. Poae*, *U. Shiraiana*, *U. Kusanoi*, *U. reticulata*, *U. grandis*, *Sphaelotheca Hydropiperis*, *Sorosporium Syntherismae*, *Tilletia Tritici*, *T. foetens*, *Tubercinia Tritici*, *Tub. Trilli*, *Doassansia Alismatis* の 16 種である。

是等のほか *Ustilago Rabenhorstiana*, *U. Panici-*

glauca, *U. ornithogali* に於ても他の黒穂病菌と同様に胞子状に肥大せる菌絲細胞の形成されるのを認めるから、未だ實驗的に確證するに至つていないが、是等の胞子も菌絲細胞中に内生するものと想像される。

此の様に黒穂病菌の胞子は、培養基上でも寄主植物上でも、膨大した菌絲細胞中に内生的に形成されるけれども、猶此の外に菌絲に頂生又は側生する分生胞子を生じ、是等分生胞子の内部には胞子状の小体を認め、その状態は恰も酵母菌の胞子が細胞内部に形成された様な状を呈することを *Ustilago nuda*, *U. Tritici*, *U. Shiraiana* 等數種の黒穂病菌に於て認めた。

以上の實驗の結果によつて、黒穂病菌の胞子は内生胞子であつて、從來普通に考えられて居た様に厚膜胞子ではないことが明かになつた。従つて此の様な胞子形成の通性から見れば、黒穂病菌は擔子菌類よりも寧ろ子囊菌類に近縁である様に思われる。

Literature Cited

1. Brefeld, O.: Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, 5, 1883.
2. ———: Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, 11, 1895.
3. de Bary, A.: Untersuchungen über die Brandpilze und durch sie verursachten Krankheiten der Pflanzen, pp. 1-144, Berlin, 1853.
4. Christensen, J. J. and Stakman, E. C.: Physiological specialization and mutation in *Ustilago Zeae*, *Phytopath.*, 16, pp. 979-999, 1926.
5. Dickinson, S.: Experiments on the Physiology and Genetics of smut fungi, *Hyphal fusion*, *Proc. Roy. Soc. London, Ser. B.* 101, pp. 126-136, 1927.
6. Emonoto, S.: Spore formation of smut fungi on artificial media, *Jour. Sapporo Agric. and Forest*, 31, p. 313, 1939.
7. ———: Conditions of the smut spore formation on artificial media, *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 12, pp. 75-76, 1942.
8. ———: Culture studies on smut fungi, *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 13, pp. 70-71, 1948.
9. Fischer von Waldheim,: Beiträge zur Biologie und

- Entwicklungsgeschichte der Ustilagineen, Jahrber. f. Wiss. Bot. 7, 1869-70.
10. Herzberg, P.: Vergleichende Untersuchungen über landwirtschaftlichwichtige Flugbrandarten, zopf. Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen, 5, 1895.
 11. Hutchins, H. L. and Lutnan, B. F.: Spine development on the spores of *Ustilago Zeae*, Phytopath., 28, pp. 859-860, 1938.
 12. Kniep, H.: Untersuchungen über den Antherenbrand (*Ustilago violacea* Pers.), Ein Beiträge zum Sexualitätsproblem, ztschr. Bot. 11, pp. 275-284, 1919.
 13. ———: Über *Urocystis Anemones* (Pers.) Winter, Ztschr. Bot. 13, pp. 289-311, 1921.
 14. ———: Über Artkreuzungen bei Brandpilzen, Ztschr. f. Pilzkunde, 5, pp. 217-247, 1926.
 15. Koudelka, H.: Neue Problem in der Brandpilzflage, Nachricht über Schädlingsbekämpf. 9, pp. 100-104, 1934.
 16. Liro, J. I.: Die Ustilagineen Finnlands I, Ann. Sci. Fennicae A. 17. pp. 1-636, 1924.
 17. Meyen, F. J. F.: Pflanzenpathologie, Lehre von dem Kranken Leben und Bilden per Pflanzen, Berlin, 1841.
 18. Osner, G. A.: Leaf smut of timothy, Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Bull. 381, pp. 186-230, 1916.
 19. Oudemans, C. A. J. A.: Over twee nog onbekende fungi: *Septoria Dictyotae* en *Ustilago vuijckii*, Verslagen van de Zeitigen der Wis-en Natuurk, Afd. van de Koninkl, Akad., 3, Amsterdam, 1895.
 20. Rodenbiser, H. A.: Physiologic specialization in some smuts, Phytopath., pp. 955-1003, 1928.
 21. Rump, L.: Studien über den Gerstenhartbrand (*Ustilago Hordei* Kell. u. Sw.), Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten u. Immunität im Pflanzenreich, 2, pp. 21-76, 1926.
 22. Sartoris, G. B.: Studies in the life history and Physiology of certain smuts, Amer. Jour. Bot. 11, pp. 617-647, 1924.
 23. Schaffnit, E.: Zur Physiologie von *Ustilago hordei* Kell. u. Sw. Ber. Dtsch. Bot. Gesell. 44, pp. 151-156. 1926.
 24. Stakman, E. C. and Christensen, J. J.: Heterothallism in *Ustilago Zeae*, Phytopath., 17, pp. 827-834, 1927.
 25. Stempell, K. L.: Studien über die Entwicklungsgeschichte einiger Entyloma-Arten und über die systematische Stellung der Familie der Sporobolomycetes, Ztschr. f. Bot., 28, pp. 225-259, 1934-35.
 26. Wang, D. T.: The formation of Chlamydo-spores of *Ustilago Crameri* Koke on artificial media, Phytopath., 28, pp. 860-861, 1938.
 27. Wernham, C. C.: Chlamydo-spore production on artificial media by *Urocystis gladioli*, Phytopath., 28, pp. 598-600, 1938.
 28. Zillig, H.: Über spezialisierte Formen beim Antherenbrand, *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck., Centralbl. f. Bakt, II, 53, pp. 33-74, 1921.

Résumé

1. Though Kniep, Sartoris and others reported that the resting spores of certain smut fungi were produced on artificial media, the spores were not always formed in later experiments using the same methods as they used.

2. Since 1929, the writer has made efforts to produce smut spores on culture media, but did not succeed until the spring of 1936, when it happened that the resting spores of two smut fungi *Ustilago nuda* and *U. Hordei* were formed on "amazake" extract agar.

3. After extensive investigations, the conditions necessary for the spore formation on artificial media were made clear; viz:

- a) The content of sugar as carbon source in the media should be more than 5%, the optimum being 15%-25%.
- b) The content of nitrogenous compounds as nitrogen source in the media should be less than 0.2%.
- c) A strain of fungus that easily produces resting spores on the media should be selected.
- d) The fungi must be incubated at the temperature suitable for the development of spores.

4. Carefully observing the conditions just listed, the writer succeeded in obtaining the resting spores of the smut fungi which belong to 6 genera including 19 species. There were no difference in shape, size, and color or in other respects between the spores produced on the host plants and those obtained on the culture media.

5. The resting spores thus produced are not to be considered chlamydo-spores, as they are produced endogenously in the swollen mycelial cells which resemble chlamydo-spores.

圖 版 説 明

1. 培養基上に形成された大麥堅黒穂病菌 (*Ustilago Hordei*) の胞子母細胞。
2. 同上菌の胞子母細胞中に形成された胞子及び放出された胞子。
3. 同上菌の胞子母細胞が壊消して未熟の胞子が團塊をなして居る状態。
4. 同上菌の胞子形成の状態。
5. 培養基上に形成されたオホヤマフスマ黒穂病菌 (*Ustilago antheorum*) の胞子母細胞と未熟胞子の放出。
6. 培養基上に形成された大麥裸黒穂病菌 (*Ustilago nuda*) の胞子母細胞と是から胞子が放出される状況。
7. 同上菌の胞子母細胞が壊消して未熟の胞子が團塊をして裸出した状態。
8. 培養基上に形成されたサジオモダカ黒穂病菌 (*Doassansia Alismatis*) の胞子母細胞と是から放出された胞子。
9. 培養基上に形成された小麥稈黒穂病菌 (*Tubercinia Tritici*) 胞子の團塊。
10. 小麥裸黒穂病菌 (*Ustilago Tritici*) の培養基上に胞子を形成する系統(右)と胞子を形成しない系統(左)
11. 各々 0, 0.05%, 0.2%, 0.6%, 1%のペプトンを加用した培養液を脱脂綿に吸収させた培養基上に大堅黒穂病菌 (*Ustilago Hordei*) が胞子を形成した状(右より 0, 0.05%……)。
12. 10%蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天培養基(右)上及び1%蔗糖加用馬鈴薯煎汁寒天培養基(左)上に於ける各種黒穂病菌發育状態。前者には胞子を形成し、後者にはこれを作らぬ。
 - a. ナガハダサ黒穂病菌 (*Ustilago Poae*).
 - b. 大麥堅黒穂病菌 (*Ustilago Hordei*).
 - c. オホヤマフスマ黒穂病菌 (*Ustilago antheorum*).
 - d. 竹黒穂病菌 (*Ustilago Shiraiana*).
13. 甘酒汁寒天培養基上にオホヤマフスマ黒穂病菌 (*Ustilago antheorum*) が胞子を形成した状態。

