

小米上的一種新黑穗病

[*Neovossia setariae* (Ling) comb. nov.]*

俞大綏 婁隆后

一九四七年的秋季，婁隆后在北京西郊羅道莊北京農業大學的小米試驗裏面首先發現在小米穗上所發生的一種新黑穗病，由於它的症狀和病原菌和小米粒黑穗病的 (*Ustilago crameri* Korn) 完全不同，因此給小米的這種黑穗病的中文名稱爲墨黑穗病，以區別於小米的其它的黑穗病。

在一年前，我們曾在北京西郊農業大學的校園內採得狗尾草 [*Setaria lutescens* (Weigel) Hubbard] 的黑穗病，(圖2) 這個黑穗病是凌立^[7]在四川首先發現的，他認爲其病原菌是一個新種，定名爲 *Tilletia setariae* sp. nov. 我們在北京所採得的狗尾草黑穗病菌，經檢查後，發現它所誘引的症狀和它的形態都和凌立所發表的紀錄相同，僅祇是厚壁孢子的體積大小，略有出入，實際我們在各型 *Setaria lutescens* (Weigel) H. Hubb. 的植株上面所看到的孢子堆和厚壁孢子，在體積上均有些差別，這或許是由於寄生型類不同的結果，因此我們認爲在北京所採得的狗尾草上面的黑穗病菌就是 *Tilletia setariae* Ling，但是我們還沒有進行相互接種試驗。無論如何，根據世界各國的記錄，這個黑穗病在小米上面還是第一次的報導。

小米墨黑穗病所表現的症狀和病原菌的形態以及厚壁孢子的萌芽紀錄如下：

孢子堆摧毀整個子房，很少作局部的摧毀；孢子堆包藏在子房的外皮內，在田間，起初呈綠色到深綠色逐漸變成墨綠色，由於子房外皮乾化，最後變成黑色。孢子堆的形狀，在不同的小米品種上面有所差別，有的呈球形或長球形比健全的種子僅略大，因此在田間較難察辨，但在大多數品種上面的孢子堆呈長圓堆形或長卵形，最大的可達五毫米長和三毫米寬，一般的約二·五到三·五毫米長和二到二·五毫米寬，因此孢子堆突出到穎的外面，穎不受侵害，貼着在孢子堆基部的兩面(圖一)。每個穗上的孢子堆數目自一個多到二〇多個，這也和品種以及環境條件有關，一般多在五到一〇個之間。在田間，如延遲收穫期或在較晚的品種上面，大多數的孢子堆自頂端破裂散出其中所含有的厚壁孢子，但在收穫期很早已前，亦復有許多破裂的孢子堆。在收穫中，孢子堆容易整

* 我們感謝林傳光先生校閱本文和提出寶貴意見。

個的落在田內,又檢查自病田內收穫的小米,在脫粒後也摻雜有孢子堆。孢子堆裏面的厚壁孢子羣體略帶黏性,呈黑色,其中有時摻雜有少量可以視見的植株組織。在顯微鏡下作檢查,看到有正常的厚壁孢子和不孕性的細胞,它們都是單生的。正常的厚壁孢子,根據它們的顏色濃度,黃或淺棕色一直到深棕色,似乎代表不同的成熟程度。厚壁孢子球形或略扁球形,外面有一層截頂鱗片狀突起體包圍。厚壁孢子連同外孢子,直徑 21.6—32.4 微米平均 25.7 微米,外包的鱗片狀體層,2.5—3 微米,無色透明(圖三 a)偶爾看到有帶柄的厚壁孢子,約 15 微米長,但有許多孢子上面有短的突起狀體,長度僅 5 微米上下(圖三 b)。不孕細胞,無色透明,球形,卵形橢圓形,或梨形,時常有厚的外壁,體積大小差別很大,直徑大都是 19—23 微米,它們和厚壁孢子的數目比例大致是 1 比 7 到 1 比 5。

第一次厚壁孢子萌芽試驗是用 1947 年所採集的孢子在 1948 年 7 月進行的,其後自 1953 年冬季到 1956 年底陸續的但無系統的進行多次試驗。試驗的方法是把厚壁孢子經消毒水洗滌幾次後,攔在盛有普通水,蒸餾水,營養液(1% 葡萄糖,1% 硝酸鹽,普通水)和水洋菜培養基的小玻璃皿萌芽。在試驗中,一部分感光一部分不感光,感光處理是把盛有孢子的玻璃皿在日光,擴散光,電燈光和紫外光下作不同長短時間的暴光,以後攔在溫箱內或室內萌芽。我們用小米上面的和狗尾草上面的墨黑穗病菌同時作萌芽試驗。

萌芽時,孢子表面裂口,自裂口處長出一根粗而短,無隔膜的原菌絲,一般 6—8 微米寬,長度差異很大,大都達到 15 微米以內即產生担孢子,有的原菌絲可能長到 70 微米以上還不產生担孢子。原菌絲頂端鈍平或略突起,上面有不很明顯的小突起體,上面產生初生担孢子,束生,數目自 18—60,它們不相互結合。初生担孢子,無色透明,無隔膜,狹而長,略彎曲或直,23—46 × 1.5—2.2 微米,大都是 28—35 × 2 微毫米(圖四),達到一定的時候,初生担孢子自原菌絲的頂端射落。我們僅祇有一次看到初生孢子萌芽,長出菌絲,上面形成次生担孢子。

我們用小米和狗尾草墨黑穗病菌厚壁孢子作萌芽試驗所獲得的結果大都和林傳光^[5,6]用水稻墨黑穗病菌所作的孢子萌芽試驗的結果相同;下面是幾個較重要的經驗;厚壁孢子必需通過一個休眠期纔能萌芽,根據我們所獲得的試驗結果,這個休眠期至少是八個半月到九個月,試用各種處理方法打破休眠期,都沒能成功;向未感光的厚壁孢子不能萌芽,但間有幾個玻璃皿,一直攔在暗處,有極少數幾個孢子萌芽,萌芽百分率至少小於二千分之一;孢子在 10—30°C 下均能萌芽,在 25°C 和 25°C 以上似乎萌芽率較高;孢子萌芽最早的時間,是在開始進行後的第六天,萌芽百分率很低,以後百分率繼續增加,有時到四星期後仍在增加,但每次試驗的結果差別很大,這似乎和孢子的休眠期和孢子的成熟期均有關係;所獲得的孢子最高萌芽率約 17% 上下(一直觀察到四星

期), 一般的為 3—5%。

已往報導在小米屬上面所發現的腥黑穗病菌科菌種所誘起的黑穗病, 據我們所知道的, 有下面的四種病原菌種。

1. *Tilletia echinosperma* Ainsworth: 1941 (南非) 寄主 *Setaria sphacelata* Staff et H. Hubbard, *S. longiseta* Beauv.
2. *Tilletia zendeli* Hirschorn 1942. (阿根廷) 寄主 *Setaria argentina* (Herm.) Hitch
3. *Tilletia setariae* Ling 1942 (中國) 寄主 *Setaria lutescens* (Weigel) H. Hubbard
4. *Tilletia setaricola* Pavgi et Thirumalachar 1952 (印度) 寄主 *Setaria intermedia* R. et S.

以上四種 *Tilletia* 屬的菌種, 都是在野生的 *Setaria* 種上面所發現的, 我們知道在南非州和印度, 栽培小米的地區很多, 但是在這些地區還沒報道有小米的墨黑穗病。根據文獻記錄, 這四種菌的形態, 簡單的摘錄如下:

Tilletia echinosperma Ainsworth^[1]: 孢子堆在子房裏面, 3—5 毫米長, 2—3 毫米寬, 外面包有淡棕色韌的厚膜, 在頂端開裂, 散出半黏性淡棕色孢子羣體, 其中包含雙叉狀的孢子梗, 不孕性孢子和不成熟的及成熟的孢子, 不孕性孢子球形, 扁球形, 無色, 直徑 12—28 微米, 外表密蓋尖的小刺, 孢子球形到扁球形; 淡金黃色到橄欖青棕色, 直徑 16—20 微米, 外表密蓋無色或略帶微色的尖刺 2—4 微米長。

Tilletia zendeli Hirschorn^[3]: 孢子堆在子房內, 4—11 毫米長 3—4 毫米寬, 孢子羣體黑色, 其中包含有寄主組織和菌絲混合成的結合物, 不孕細胞散存孢子羣體內; 孢子球形, 黃金色到深棕色直徑 13—16 微米, 表面有疣起物到細齒狀體, 外孢子 0.5—1 微米。

Tilletia setariae Ling^[7]: 孢子堆在子房內, 卵形和闊橢圓形 4—5 毫米長 2.5—3 毫米寬, 開始外面包有厚而綠的寄主組織的膜, 孢子羣體黑色, 半黏性。孢子表現不同程度的發育, 成熟孢子不透明, 大都球形到扁球形, 外表包有截短的鱗狀突起體 1.5—2.5 微米長。孢子直徑 21.5—33 微米, 大都是 23—28.5 微米。不孕性細胞數目不多, 無色, 厚壁, 大都比孢子較小。

Tilletia setaricola Pavgi et Thirumalachar^[10]: 孢子堆在子房內, 外面包有厚的棕色膜, 破裂後散出孢子。成熟孢子球形, 暗肉桂——棕色, 沒有無色透明的膜, 直徑 17.5—25 微米, 平均 21 微米。外孢子厚, 具有 5—6 個角形綫紋, 5 微米厚, 沒有不稔性的細胞。

我們沒有機會直接檢查上面這四個菌種的代表標本。據紀錄, *T. echinosperma*, *T. zendeli*, 和 *T. setariae* 的外孢子的構造都和 *T. setariae* 不同。但根據檢查歷年在

北京和 1954 年在四川所採集的狗尾草上面的墨黑穗病, (*Tilletia setarica* Ling), 我們認為小米上面的墨黑穗病菌, 就是 *Tilletia setarica* Ling。

在腥黑穗菌科裏面, *Tilletia* 和 *Neovossia* 兩個屬是十分相近的。Kornicke^[4] 在 1879 年建立 *Neovossia* 屬, 它的主要的特性如下: 孢子堆在子房內, 孢子羣體半黏性到粉狀; 孢子單生在特殊的孕性絲上, 它保留在孢子上面, 成為孢子的一根無色透明的長柄狀物, 孢子萌芽時產生短的原菌絲, 絲端束生長而狹的初生担孢子, 它們不相互結合: 初生担孢子在營養液內萌芽, 長出菌絲, 產生兩型的次生担孢子。

自從建立 *Neovossia* 這個屬以後, 有許多原先是隸屬於 *Tilletia* 屬的菌種被轉入到 *Neovossia* 屬裏面, 主要的理由是根據孢子外面有鞘和有短的柄狀附著物, 並認為它相當於 *Neovossia* 菌種的柄狀物, 例如 *Tilletia molinia* 的孢子有明顯的柄狀物被轉入 *Neovossia* 屬, 又 *N. iowensis* Hume 也有明顯的柄狀物。至於許多其它自 *Tilletia* 屬轉入 *Neovossia* 屬的菌, 柄狀物不是一定明顯的。Padwick 和 Khan^[9] 把水稻墨黑病菌 *Tilletia horrida* Takahashi 轉入 *Neovossia* 屬是根據以下的幾個特性: 原菌絲頂端束生的初生担孢子的數目比 *Tilletia* 屬菌的較多; 初生担孢子不相互結合; 外孢子厚, 無色, 表面有小疣狀物, 它比 *Tilletia* 屬菌的外孢子較發達, 並呈膠性; 僅祇侵染穗上面的少數幾個種子。Tullis 和 Johnson^[11] 研究水稻墨黑穗病菌也同意 Padwick 等的看法, 認為這個菌應轉到 *Neovossia* 屬裏面。它們給 *Neovossia* 屬的紀錄作如下的修正“孢子堆通常在子房內, 形成多少呈粉狀的孢子羣體; 孢子單生在單根特殊孕性菌絲的腫大的頂端上面, 孕性菌絲貼接孢子和通常逐漸狹窄成長的或破斷的無色附著物。有某些附著物可能保存甚至在成熟的孢子上面。孢子萌芽產生原菌絲, 在它的頂端束生大量的絲狀初生担孢子。初生担孢子不相互結合, 長出菌絲, 菌絲產生兩型的次生担孢子”。Tullis 等認為 *Neovossia* 屬具有四個特性以區別於 *Tilletia* 屬。這些特性是: 初生担孢子不相互結合; 產生兩型次生担孢子; 孢子有附著物; 和初生担孢子甚多約 20 到 60 個。

在另一方面, 凌立^[8]對於這兩個屬的看法提出如下的意見; 當前作為 *Neovossia* 屬的兩個特性是初生担孢子的數目比 *Tilletia* 屬菌所產生的較多和初生担孢子不相互結合。他認為這兩個特性似乎都不能作為區分這兩個屬的標準, 由於當前研究 *Neovossia* 屬菌的孢子萌芽, 還僅祇限於很少數的幾個菌種, 今後可能發現有某些菌種產生中間數目的初生担孢子, 並有結合作用似乎沒有分類學的價值, 初生担孢子不直接結合僅表示初生担孢子可能僅具有繁殖細胞以及繁殖器官的功能。初生担孢子結合可能延遲到後期。因此, 他在 1953 年所發表的“中國黑穗菌目”一文內^[8]仍保留 *Tilletia Setariae* 這個學名。

Tullis 和 Johnson^[11]根據研究水稻墨黑穗病菌和狼尾草 (*Pennisetum alopecusroides*) Spreng. 墨黑穗病菌交互接種的結果, 認為兩者同是 *Neovossia Barclayana* Brefeld。在

1879年 Brefeld^[2] 在 *Pennisetum triflorum* Nees 和 *P. orientale* Rich 發現一種黑穗病, 它認為其病原菌是一個新種, 命名為 *Neovossia Barclayana*, 它的形態是: 孢子堆摧毀子房, 受病子房略腫大, 深色; 孢子深棕色, 球形, 直徑 17—20 微米, 表皮有網紋, 厚壁, 有不孕性細胞。Brefeld 曾進行萌芽試驗。

Tullis 和 Johnson 用 *T. horrida* 的次生担孢子接種四種狼尾草, *Pennisetum glaucum*, *P. setaceum*, *P. alopecuroides* 和 *P. villosum*。他們把消毒的脫穎種子種在玻皿內的水洋菜培養基上面, 用 *T. horrida* 的次生担孢子接種幼芽, 結果是 *P. glaucum* 和 *P. alopecuroides* 發病, 其它兩種狼尾草和水稻均未發病。這個菌在水稻上面原先的孢子直徑是 18—26 × 26—35 微米, 接種到狼尾草後所產生的孢子, 其直徑是 16—22 × 22—35 微米。孢子的體積和外表的劃紋都因寄主不同而有所差別。他們認為狼尾草和水稻上面的墨黑穗病的原菌都是 *Neovossia Barclayana* Brefeld 並認為某些狼尾草的種比水稻較易感染。Tullis 等的試驗, 證明水稻墨黑穗病菌能侵染狼尾草的幼苗誘起系統性的感染而不摧毀穗上全數的子房, 同時水稻的菌能侵害不同屬的狼尾草, 這些問題都值得作深入的研究, 特別是用 *Setaria*, *Oryzae* 和 *Pennisetum* 三個不同屬的寄主作交叉的接種試驗, 可能給黑穗病的寄生性, 提出一些新的事實。

我們同意 Padwick 和 Khan 以及 Tullis 和 Johnson 把水稻墨黑穗病菌轉到 *Neovossia* 屬裏面, 除他們所指出的一些特性以外, 在外孢子的發展和生物學特性方面這兩個屬確實也有所不同, 為明確起見, 不妨把它們分為兩個屬。根據觀察小米黑穗病的結果我們認為它和狗尾草的黑穗病都可以暫定名為 *Neovossia setariae* (Ling) comb. nov. 至於它是否就是 *Neovossia Barclayana* Brefeld 還有待於交互接種試驗來證明。同時, *T. echinosperma* Ainsworth, *T. zeudeli* Hirschorn 和 *T. setaricola* Pavgi et Thinalachar 的形態和生物學特性都和 *T. setariae* Ling 相似, 我們建議把它們都轉入 *Neovossia* 屬內; *Neovossia echinosperma* (Ainsworth) Comb. nov., *N. zeudeli* (Hirsch) comb. nov. 和 *N. Setaricola* (Pavgi et Thir.) comb. nov.

已往我們在各地進行調查並和參加華北各省的小米育種試驗, 一直未曾發現有這個病害, 近年來在北京作觀察, 看到它似乎在發展中, 因此這個病害的來源問題, 是很值得進行更多的調查研究。有關這個病菌的生物學特性, 寄主範圍, 侵染寄主的過程, 厚壁孢子萌芽等等的問題還在研究中, 因此暫時還不能作比較深入的討論, 本文的目的祇是報道在小米上發現有這一種新的黑穗病。

參 考 文 獻

- [1] Ainsworth, G. C. Contributions towards the fungus flora of Uganda. IV. The Ustilaginales of Uganada. Proc. Linn. Soc. Lond. 153:95, 1941.
- [2] Brefeld, O. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologia. 12: 99—236, 1895.
- [3] Hirschorn, E. Una especie nueva del genero 'Tilletia' ('T. zendelii', n. sp.) Rev. Argent. Agron. 10(2): 186—189, 1943.
- [4] Kornicke, Fr. Neovossia. Oester. Bot. Zeitschr. 9: 217—218, 1879.
- [5] Lin, C. K. Factors affecting the germination of chlamydospores of *Tilletia horrida* Tak. Col. Agr. & For. Univ. Nanking Bull. 45: (N. S.) 1—11, 1936.
- [6] ———, (林傳光) 稻粒黑穗病菌孢子萌發中感光作用。植物病理學報 1(2): 183—190, 1955.
- [7] Ling, L. A contribution to the knowledge of the Ustilaginales in China. Myc. Paper 11: 2—18, Imp. Myc. Inst. 1945.
- [8] ———, The Ustilaginales of China. Farlowia 4(3): 305—347, 1953.
- [9] Padwick, G., and A. Khan. Notes on Indian Fungi II. Myc. Papers 10:2—4. Imp. Myc. Inst., 1944.
- [10] Pavgi, M. S., and M. J. Thirumalachar. Notes on Indian Ustilagineae IV. Mycologia 44:318—324, 1952.
- [11] Tullis, E. C. and A. G. Johnson. Synonymy of *Tilletia horrida* and *Neovossia Barclayana*. Mycologia 44: 773—788, 1952.

A NEW SMUT OF FOXTAIL MILLET (*SETARIA ITALICA* BEAUV.) CAUSED BY *NEOVOSSIA SETARIAE* (LING) COMB. NOV.

T. F. YU and L. H. LOU

(ABSTRACT)

In the fall of 1947, a new smut disease was found on the foxtail millet (*Setaria italica* Beauv.) in the experimental field of Peking Agricultural College, Peking, China. The smut infected only a few ovaries in the spike. The infected ovaries hypertrophied and protruded out of the glumes, 2.5—3.5 mm. long and 2—3 mm. broad. At maturity the black spore mass was exposed by the rupturing of the outer tough membrane. The chlamydospores showed different stages of development. As the spores matured, their color was at first light and then dark cinnamon brown and later dark brown with many becoming almost opaque. They were spherical to subspherical with hyaline episporangia composing of truncate scale-like projections in sectional view. Occasionally, remains of the sporiferous hyphae were seen on both the immature and matured spores. The spores were measured 21.6—32.4 μ in diameter with a mean of 25.7 μ and the episporangia measured 2.5—3 μ in width. The sterile cells were numerous and measured 19—23 μ in diameter.

On germination, the chlamydospores produced non-septate promycelia which bore at their tips dense head of about 18 to 60 or more hyaline, filiform, non-septated primary sporidia (1.5—2.2 \times 23—46 μ) which did not conjugate. On water agar and nutrient solutions, the primary sporidia sent out branched hyphae on which very narrowly obclavate non-septate, usually slightly curved secondary sporidia were produced. Only one kind of secondary sporidia was seen.

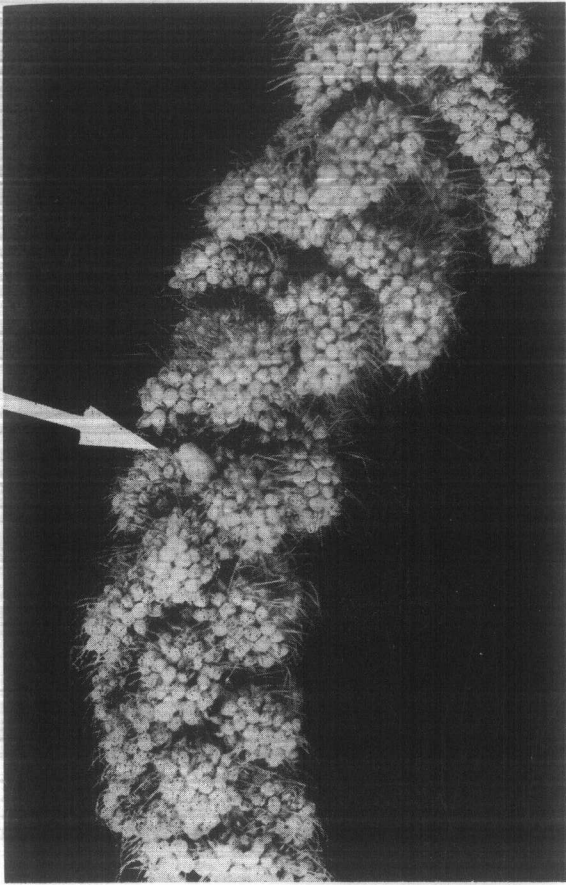
On the various species of *Setaria*, there have been recorded four species of *Tilletia*, namely, *T. echinosperma* Ainsworth on *S. sphacelota* Staff et H. Hubbard and *S. longiseta* Beauv.; *T. zundeli* Hirschhorn on *S. argentina* (Herm.) Hitch.; *T. setariae* Ling on *S. lutescens* (Weigel) H. Hubbard; and *T. setaricola* Pavgi et Thirumalachar on *S. intermedia* R. et S. As far as the writers are aware, there has been no previous record of *Tilletia* on *S. italica* Beauv., the cultivated foxtail millet. On examination of this millet smut fungus, it proved to be identical with *T. setariae* Ling.

In the family Tilletiaceae, the genera *Tilletia* and *Neovossia* are found to be very closely related and, as we know, since the establishment of the genus *Neovossia* by Kornicke in 1879, certain members of *Tilletia* which were formerly considered to belong in this genus, had been transferred to the genus *Neovossia*. For example, Padwick and Khan have placed the well known rice kernal smut fungus, *T. horrida* Tak. in the genus *Neovossia* as *N. horrida* (Tak.) Padeick et Khan. The separation of these two genera is based on certain points of difference between

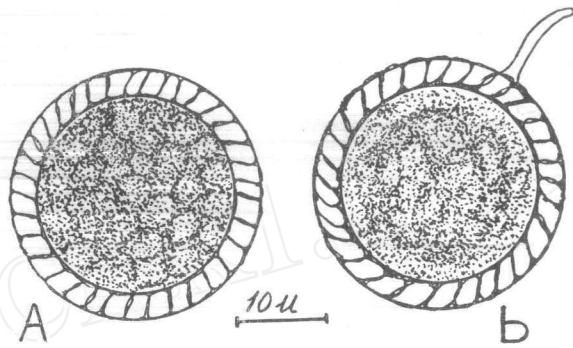
them, particularly in the germination of the chlamydo-spores. In *Neovossia*, the chlamydo-spores usually possess a conspicuous appendages; the primary sporidia are very numerous 20 to 60 in number, forming a distinct heads without conjugated; and the primary sporidia, on germination, produced two kinds of secundary sporidia. In *Tilletia*, on the other hands, the appendages of the chlamydo-spores e.i. the remains of the sporiferous hyphae usually are not evident only occasioanlly it can be seen, particularly on the immaturred spores; the primary sporidia are distictly fewer, about 12 in number and frequently conjugated; and the primary sporidia produced only one kind of secundary sporidia.

On the examination of the millet smut fungus, it was found that it possessed all the characters of the genus *Neovossia* except that the appendages were more or less fragmentary and rather sparingly persisted on the fully matured spores. On account of these facts, we are justified to place *T. setarica* Ling in the genus *Neovossia* as *N. setariae* (Ling) comb. nov. As to the other species of *Tilletia* recorded on the various species of *Setaria*, judging from their morphological characters as well as the symptoms manifested, they really belong in the genus *Neovossia* rather than the genus *Tilletia*.

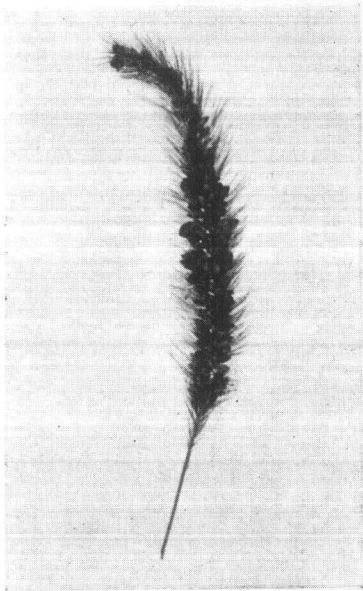
It is of special interest that, more recently, Tullis and Johnson were able to infect *Penisetum* species artificially with the rice kernal smut fungus. From the results of this cross inoculation experiment and that of the morphological studies, they came to the conclusion that *T. horrida* Tak. and *Neovossia Barclayana* Brefeld are synonymous. As to the identity of *N. setariae* with *N. Barclayaya*, it remains, however, to be ascertained.



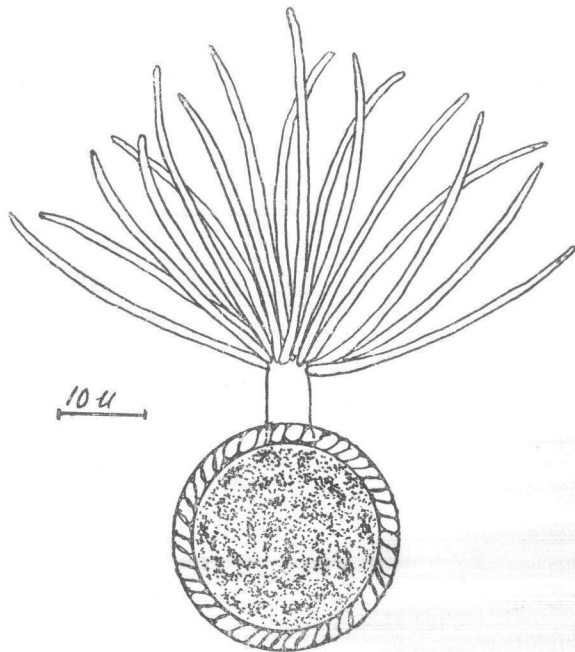
圖一. 墨黑穗病的小米病穗。箭頭指向孢子堆



圖三. 小米墨黑穗病菌的厚壁孢子
(b) 孢子上面附着有柄狀體



圖二. 墨黑穗病的狗尾草病穗



圖四. 萌發的小米墨黑穗病厚壁孢子