附記す

(1) 里村 : 農化, 第 297 号 (昭 28).

(3) 朝井, 斎藤 : 農化, 25, 307 (昭 27).

(2) 石丸, 外山 : 醸雑, 28, 215 (昭 25).

Summary

Raw dilute extract of the dry, mycelial mass *Sclerotinia libertiana* formed by bran culture was found to have a considerably strong enzymatic degumming action of eamic fibre.

Though the optimum temperature for the maceration action of vegetable tissue is 40°C, the depectinising action of fibre was performed favourably at the room temperature (17~24°C) than at 37°C, and in 24 hrs. at 24°C, rate of pectin dissolved reached to 80~90%, but hardly proceeded any more with prolonged time.

Rew extract had lost the degumming activity gradually by leaving it at 37°C, but scarcely did at 24°C, and could be used for degumming repeatedly. As a result of examining the joint effect of enzymatic degumming and alkali scouring, it seemed to be obvious that quantity of alkali and heat consumed could be reduced less than half.

麦角菌に関する研究 (第 20 報)

液内培養でも Agroclavine をやや多量に生産する 1 変異株の分離

阿部又三, 山野藤吾, 高津嘉春, 楠本 貢 (財団法人 醸酵研究所)

昭和 27 年 7 月 5 日 受理

Researches on Ergot Fungus. Part 20. Isolation of a Mutant Productive of Agroclavine rather Excellently even in Submerged Culture.

By Matazō ABE, Tōgo YAMANO, Yoshiharu KŌZU, and Mitsugi KUSUMOTO

(The Institute for Fermentation, Osaka)

著者等はさきに⁽¹⁾液内培養では麦角アルカロイドが表面培養の場合とは異つてカモジグサ型⁽²⁾ (agroclavine 生産種, アルカロイドの多量生産種) の菌株によつてさえも極めて微量にしか生産されないことを認め、且つそれが培養法そのものが不適当で、菌がその本然の発育を辿りにくいのに基いているとの結論を得た。事実著者等が前報⁽³⁾で得た実験成績もある程度までこの結論の妥当なことを示していると考えられる。従つて液内培養法で麦角アルカロイド、特に表面培養では多量に生産される agroclavine を表面培養の場合と同程度にまで多量に生産するためには培養法そのものを吟味して見る必要のあるのは勿論のことであるが、同時に菌の方も通常の液内培養法の下でもある程度までその本然の発育を辿り得るような特殊のものを選択する必要があると考えられるのである。培養法についていえば、既に報告したように⁽¹⁾麦角アルカロイドは通気培養よりも振盪培養でかえつて顕著に生産されるというような状態にあり、且つその振盪培養で培養に直接酸素を通じるとかその培養を酸素に富んだ環境で行うとかしても、なるほどそれによつて菌の繁殖そのものは大いに助長されるが、しかしアルカロイドはかえつて生産されない。最近 SIM 等⁽⁴⁾も麦角菌の振盪培養を行い、ほぼ同様のことを認めている。すなわち、液内培養で培養法そのものを吟味するといつてもこれは少くとも現在のところその手がかりが見出されない。これに対して液内培養でもある程度まで本然の発育を辿り得るような菌株を選択することには検討を加えて見る余地があるようである。

既に報告したように⁽¹⁾、カモジグサ型麦角菌の多くの菌株のうちには液内培養で他にくらべて agroclavine をやや顕著に生産するもののあるのが認められるのであり、また前報⁽³⁾で得た多くの人工変異株のうちにも少数ながら少くとも表面培養では原株よりも多量の agroclavine を生産するもののあるのが知られたところである。勿論これらの少数の変異株は液内培養でも agroclavine を原株よりも多量に生産すると考えられるのであるが、しかしここに問題になるのは、既に前報でも指摘したように⁽³⁾これらの一応優良株であると認められる菌株が果して左様なものとして遺伝的に固定しているものであるかどうかということである。由来麦角菌の培養では細胞のいわゆる内的素因が刻々に動揺しており、多くはそれによつてたとえ同一の菌株でも実験を反復するごとにアルカロイド生産産力の上で区々の成績を示すものである⁽⁵⁾。従つて、上述のように一応は優良株であると目される菌株も実際はそのようなものではないかも知れないとの疑問が大いに持たれるわけであるが、しかしこれを明確に判断することの出来る実験成績は従来何も得られていない。

著者等は今回麦角菌において自然的にせよ人為的にせよ遺伝的に原株よりもアルカロイドを多量に生産する性

質を有する変異株というものが果して得られるものであるかどうかを明かにしたい考えから、さきにラヂウムなどを照射して得た多数の変異株⁽³⁾を含む約 1000 余のカモジグサ型の菌株についてそれぞれのアルカロイド生産能を再吟味して見た。なお著者等はこのような変異株が得られる場合、それらが果して著者等の推論のように表面培養でだけでなく液内培養でもアルカロイドを原株よりも多量に生産するかどうかということをも確認したい考えからこの実験を表面、振盪両培養法によつて行つた。既に知られるように、ある種の菌株から麦角アルカロイドを原株よりも多量に生産する変異株を適確に選り出すということには困難があるのであつて、この目的を果すためには他に何等か適当な方法が案出されなければならないところなのである。而して元来 *sphacelia* の細胞が健全であるとか不健全であるとかということはその細胞に菌本来の発育を辿る能力があるとかないとかということを示す意味で阿部が用いている⁽⁶⁾ところであるが、既に明かにされているように、1 菌株でも *sphacelia* の細胞がより健全な状態にある場合はアルカロイドをより多量に生産する性質を示す反面、より好氣的に迅速に繁殖する性質をも示すものである⁽⁵⁾。この事実からして著者等は本実験では供試の各菌株のアルカロイドを生産する状態を調べる傍ら、それぞれの示す酸素呼吸能をも調べて見るならばその目的が達せられるのではないかとの考えを懷くに至つた。しかし実際には多数の菌株の諸種の状態にあるものについて——酸素吸収能を測定するのに多大な困難が感じられたばかりでなく、それらの測定値からは必ずしも決定的な成績が得られないことも知られた。而して著者等は諸種の検討を重ねた結果、結局 1 菌株でも細胞が不健全な状態にある程葡萄糖その他の糖類を C-給源とする培養基上に発育する過程で培養基中に多量のアルコールを集積するという事実をもつてこの面の判別に資することにした。その結果、ラヂウムなどを照射して得た形態的に特異な性質を示す諸種の変異株においてもまた細胞のいわゆる内的素因が刻々に動揺して、実験を反復するごとに区々の成績が得られたが、しかしそれらもまた好氣的に繁殖し易い状態にある程アルカロイドを多量に生産することが認められた。同時にそれらの変異株のうちに 1 株だけ極めて好氣的に繁殖する性質を有し、表面培養では勿論、液内培養でもアルカロイドを他のいずれよりも多量に生産するものがあることが知られ、所期の目的を達することが出来た。すなわち、これによつて始めて人為的に麦角アルカロイドを原株よりも多量に生産する性質を有する変異株の得られるものであることが明かにされ、且つ表面培養で麦角アルカロイドを原株よりも多量に生産する変異株は液内培養でもこれを原株よりも多量に生産するものであることも確認された。また本実験結果により始めて液内培養法で麦角アルカロイドを多量に生産するための方策についての著者等の前述のような考え方の妥当なことが立証されたばかりでなく、液内培養では麦角アルカロイドがカモジグサ型の菌株によつてさえも微量にしか生産されないという事実についての著者等のさきの推論に対する一つの証差も得られたわけである。なおここに得られた唯一のいわゆる優良株も表面培養では *agroclavine* を培養濾液 100 cc 当り 50~60 mg の割合にまで生産するのに対して、液内培養(振盪培養)ではこれを結局培養濾液 100 cc 当り 3~5 mg の程度にしか生産せず、とうていこれをもつて直ちに液内培養による *agroclavine* の工業的生産を実現し得ると思われなかつた。

実 験 の 部

前述のように著者等は本実験の目的を達するために供試の各菌株の表面、振盪両培養でアルカロイドを生産する状態と表面培養でアルコールを集積する状態とを次のようにして同時に検討した。

[I] 各菌株の表面、振盪両培養でアルカロイドを生産する状態について

実験方法 :- 培養条件 : 表面、振盪いずれの培養でも菌がアルカロイドを比較的多量に生産すると知られている条件⁽¹⁾を適用した。すなわち次の如くである。**培養基 :** 表面培養の場合はマンニット 5%, 琥珀酸アンモニア 0.8%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03% の組成の水溶液を琥珀酸で pH 5.2 に調節し、これを 200 cc 容三角瓶に 60 cc ずつ分注して調製したものを、また振盪培養の場合はマンニット 3%, 琥珀酸アンモニア 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03% の組成の水溶液を琥珀酸で pH 5.2 に調節し、これを既報⁽¹⁾の 300 cc 容振盪培養瓶に 50 cc ずつ分注して調製したものをそれぞれ使用した。**菌株 :** 本邦各地でカモジグサ、カニヅリグサ、オホウシノケグサ等に着生していた麦角から分離したいわゆるカモジグサ型菌種⁽²⁾約 300 株及びこれらのうちの数株にラヂウム或は紫外線を照射して得た菌株⁽³⁾のうち、形態上、寄生能力上、或はアルカロイドまたは麦角色素生産能力上それぞれ多少とも特徴があると認められたもの約 700 株を供試した。いずれの菌株も供試するに先だつて更にいくつか純粋分離したが、その分離には個々の分生孢子の液内で形成する小聚落を釣り上げるという前報で案出した方法⁽³⁾を採用した。而してこれらの菌株を供用するに当り、それぞれを新たに分生

胞子懸濁液として一定の麦芽汁-寒天斜面(Bilg. 8°, pH 5.4~5.6, 寒天 3%; 内径 1.7 cm の試験管に 8 cc ずつ分注して調製したもの)上に均一に塗布し, 26~28° の下に 8, 12 及び 14 日間放置した。接種並びに培養; 上記各菌株の諸種の斜面培養から菌苔をほぼ完全に剥ぎとり, それぞれを殺菌水 5 cc 中で攪碎して分生胞子懸濁液をつくり, それらを表面培養の場合は 1~3~5 滴ずつ, 振盪培養の場合は 2~5 滴ずつ上記の各培養基中に滴下して接種し, 24~26° の下で静置または振盪した。なお振盪培養は既報の振盪機⁽¹⁾により, 振盪回数 140 r. p. m. 振幅 3~4 cm の条件の下で行った。**アルカロイド生産状態の比較:** 本実験でも各菌株のアルカロイドを生産する状態はアルカロイドの培養基中に集積される状態, C-給源としてのマンニットの消費される状態, 培養基の pH の変化する状態及び菌苔の増殖する状態を調べることによつて比較した。この場合諸測定も従来と同様の方法によつて行つた。すなわち, 培養基におけるアルカロイド agroclavine の量は培養濾液そのものが *p*-dimethylaminobenzaldehyde-硫酸液⁽⁷⁾で与える呈色度を agroclavine の酒石酸溶液が同試薬で与えるそれと比色して定量し, 培養基中のマンニットの量は SMIT⁽⁸⁾の方法に準拠して定量した。**実験結果:** 一従来と同様にいずれの菌株においても菌齡, 接種量その他の条件により, また実験を反復する度にそれぞれ全く同一の成績というものは得られなかつたが, しかしそれぞれの有するアルカロイド生産能は従来よりも一層明確に判別された。而してさきにラヂウムを照射することによつて得られ, 一応原株よりもアルカロイドを多量に生産

Fig. 1. Cultural Processes in Three Surface Cultures with Highest Agroclavine Yields Each.

Each culture was grown at 24~26° in a 200 cc Erlenmeyer's flask containing 60 cc of the medium composed of mannitol (5%), ammonium succinate (0.8%), KH_2PO_4 (0.1%), and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.03%) (pH 5.2).

The data 1, 2, and 3 were obtained by the mutant A 11, the original strain KK, and the mutant A 112 U, respectively. The same applies to the other figures.

たのち, 前者は 200 cc 容三角瓶に 50 cc ずつ, 後者は 100 cc 容三角瓶に 40 cc ずつ分注して調製したものを使用した。**アルコール集積状態の比較:** アルコールの培養基中に集積される状態は勿論, 前項の場合と同様に C-給源の消費される状態, 培養基の pH の変化する状態及び菌苔の増殖する状態をも同時に調べることによつて菌株間の比較をとつた。この場合も諸測定は従来と同様の方法で行い, アルコールの量も MARTIN 等⁽⁹⁾の方法に準じて定量した。**実験結果:** 本実験でも各菌株において培養上の諸条件により, また実験を反復することによりそれぞれ全く同一の成績というものは得られなかつたが, しかしそれぞれの特徴はある程度まで明瞭に把握された。而してここに得られた成績を前項で得られたそれと照らし合わせて見るにアルカロイドをより多量に生産する状態にあるもの程発育の過程でアルコールをより僅少にしか集積しないという従来認められているアルカ

すると認められた変異株のうちに 1 株だけ真に左様な性質を有しているものがあること, しかもその変異株は表面培養だけでなく振盪培養でも他のいずれの菌株よりもアルカロイドを多量に生産することが見出された。この変異株はさきに A 11 株として報告⁽³⁾した菌株であるが, ここにその表面, 振盪各培養でアルカロイドを最も多量に生産した場合の成績を図示すると Fig. 1~2 の如くである。なお各図には比較のためにカモジグサ型菌種として典型的な 1 菌株 KK とさきに A 112 U 株として報告⁽³⁾した形態的にも明かに退化的な性格の認められる 1 変異株との各培養でアルカロイドを最も多量に生産した場合の成績をも掲げた。

〔II〕各菌株の表面培養でアルコールを集積する状態について

実験方法: 培養条件 本実験は前項のそれと平行して行つたものであり, 従つて供試の菌株は前項の実験で供試したそれと全く同一のものである。また接種法, 培養法等もすべて前項の表面培養の場合と全く同様にして行つた。ただ, 培養基だけでは C-給源として葡萄糖を用いたものと蔗糖を用いたものとの 2 種類, すなわち, 葡萄糖または蔗糖 5%, 琥珀酸アンモニウム 0.8%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% の組成の水溶液をそれぞれ琥珀酸で pH 5.6 に調節し

Fig. 2. Cultural Processes in Three Shaking Flask Cultures with Highest Agroclavine Yields Each.

Each culture was grown at 24~26° in a 300 cc shaking flask containing 50 cc of the medium composed of mannitol (3%), ammonium succinate (1%), KH_2PO_4 (0.1%), and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.03%) (pH 5.2).

Fig. 3. Cultural Processes in Three Surface Cultures with Lowest Alcohol Production Each (1).

Each culture was grown at 24~26° in a 200 cc Erlenmeyer's flask containing 50 cc of the medium composed of glucose (5%), ammonium succinate (0.8%), KH_2PO_4 (0.1%), and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.05%) (pH 5.6).

ロイドとアルコールとの生成上の相反関係⁽¹⁰⁾が判然と見出され、勿論前項の実験でアルカロイドを他のいずれよりも多量に生産する菌株であるとして選択された1変異株 A 11 株は本実験で他のいずれよりも迅速に繁殖する性質を示し、アルコールも他のいずれよりも少量にしか集積しないことが認められた。

ここに前項の実験で例示した3種の菌株がアルコールをそれぞれ最も少量にしか集積しなかつた場合の成績を図示すると Fig. 3~4 の如くである。

なお著者等は本実験を行う傍ら、各菌株の振盪培養でアルコールを集積する状態をも調べて見たが、それにより多くの変異株のうちには表面培養の場合と異う成績を示すもののあることが知られた。例えば上例の3種の菌株のうちでも A 112 U 株は振盪培養で極めて迅速に繁殖し、しかもアルコールを KK 株よりもかえつて僅少にしか集積しないということが知れたが、このような変異株は呼吸機能の面で原株と可なり異つたものになつ

Fig. 4. Cultural Processes in Three Surface Cultures with Lowest Alcohol Production Each. (2).

Each culture was grown at 24~26° in a 100 cc Erlenmeyer's flask containing 40 cc of the medium composed of sucrose (5%), ammonium succinate (0.8%), KH_2PO_4 (0.1%), and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.05%) (pH 5.6).

ていると認められる。なおまた、Fig. 4 からもうかがわれるように、どの種のもでも麦角菌が蔗糖を唯一の C-給源とする培養基に繁殖する場合は蔗糖は勿論先ず還元糖に転化されて消費されるが、その還元糖は蔗糖がほぼ転化しつくされたのちに始めて消費されるようになる。このことは培養条件、例えば N-給源の有無或はその種類の如何に拘らず同様に認められるところであるが、ただその条件の如何によつて当然一定濃度の蔗糖の転

化しつくされるに至るまでの時間に差があり、N-給源のない状態の下ではそれが極めて長い。而してどのような条件の下でも菌は蔗糖を転化することによつて実質的な増殖はしない。

以上 [I] 及び [II] の実験結果から見るに A 11 株なる 1 変異株は原株よりもアルカロイドを多量に生産するいわゆる優良株として真に固定したものであると断定される。ここにこの変異株は前述のように極めて好氣的であり、液内培養でも比較的多量のアルカロイドを生産する性質を有しているという外に概略次のような諸性質を有している。すなわち、その *sphacelia* の顕微鏡的形態については既に報告⁽³⁾した通りであるが、その液内聚落は固い球状を呈し、その表面聚落（培養基：麦芽汁-寒天、Bil. 8°, pH 6.0, 寒天 3%）は拡がりの速さがやや小、放射性的の皺襞を生ずることなく、概して山高、輪廓が不規則であるが明瞭、菌核化し易く、殆んど麦角色素を生産せず、且つ寒天に顕著な亀裂を生ずる。またその *sphacelia* の細胞は熱、アルコール、食塩等に対する抵抗性がやや小であり、且つ既に報告⁽³⁾したように元の寄主に寄生する性質を全く喪失している。而してその *sphacelia* の發育と養分、温度、pH その他の外的条件との間の関係、或はその分生孢子の染色性等では何等の特徴も認められない。

考 察

著者等は前報⁽³⁾でラヂウム、紫外線などを照射して得た大多数のものが寄生する性質、菌核化する性質、アルカロイドを生産する性質などで著しく弱化している事実やそれらの形態上の性質などからラヂウムなどの *sphacelia* に対して及ぼす影響のうちに全面的に退化的な要素のあることを認め、それより麦角菌にラヂウムなどを照射して原株よりも進化的な変異株を造成するということには殆んど期待がかけられないとの見解を表明したところである。

事実、本実験でもこのようにして得られた殆んどすべての変異株が原株よりも嫌氣的であり、特にその形態が酵母状に変つてしまったもののうちには静置培養でも液内にだけ繁殖して殆んど表面に浮上しないものさえあることが認められた。また本実験でたまたまアルカロイドを原株よりも多量に生産するいわゆる優良株として選択された唯一の変異株も元の寄主に寄生する性質を完全に喪失しており、麦角色素を殆んど生産せず、且つ熱、アルコール、食塩などに対する耐性も原株よりは幾分か劣つているという事実が認められ、さきの見解の妥当であることが知られた。しかし同時にこの変異株だけは他のものと異つて原株よりも明かに好氣的に迅速に繁殖し、より本質的な發育をするという事実も見出されたが、これによつて見るにこの変異株は一面では原株よりも進化的な性格を有していると認められるのである。このことは応用上の見地からも勿論多大な関心の持たれるところであるが、またこの変異株がなるほど元の寄主に寄生する性質を失つてはいるけれども同時に他のいずれかの植物に寄生する能力を新たに獲得している可能性をも示していると考えられる。すなわち、麦角菌はラヂウム、紫外線などの影響の下でその *sphacelia* の諸形態だけでなく、その菌核化する性質、アルカロイド或は麦角色素を生産する性質、分生孢子を形成する能力などでどのようにも変わり、その寄生する性質も単にこれを喪失するようになるだけでなく、上述のように新たに他の寄主を選択するようになるということさえも考えられるのである。然るに既に報告⁽³⁾したように菌はこの際決して原株のと異うアルカロイドを生産するには至らないようであつて、このことは分類学上の見地からも極めて興味のある事柄であると考えられる。元来、麦角菌でも「種」別の基準は主としてその果体の諸形態の上に置かれているが、実際にはそのような純形態上の性質のみをもつては同定し得られないものが多いのであつて、さきに阿部⁽¹¹⁾はそのような分類の方法によるならば麦角菌ではすべてを 1 「種」に包括してしまう方がむしろ妥当であろうとの考えをさえ表明したところである。但し、STÄGER⁽¹²⁾は早くから麦角菌でもその純形態の上では差異が認められなくてもその寄生性に差異があるときはこれを「変種」とし、なおその上に分生孢子の大きさにも差異が認められるようなときはこれを別の「種」として命名するという方法を採用している。これは現在のところ麦角菌を分類する方法として最も安全なものと考えられるが、しかし上述のような事実から見るに麦角菌でこの分類法を採用するに当り、更に菌が主要なアルカロイドとしてどのようなアルカロイドを生産するかということをも考慮に入れるならば近遠の関係を一層明瞭にし得られるものと信じられる。

要 約

1) ラヂウム或は紫外線を照射して得た多数の変異株を含む 1000 余株のカモジグサ型菌種についてそれぞれのアルカロイド生産能を再吟味した。2) さきにラヂウムを照射して得た A 11 株なる 1 変異株が表面培養で

けでなく液内培養でも agroclavine を原株よりも多量に生産する性質を有していることを認めた。3) この変異株は agroclavine を表面培養では培養濾液 100 cc 当り 50~60 mg の割合に、振盪培養では培養濾液 100 cc 当り 3~5 mg の割合にそれぞれ生産する。本菌株の振盪培養で示すこの成績は原株の振盪培養で示すその約 10 倍にも当っているが、しかしこれをもつて直ちに液内培養法による agroclavine の工業的生産を実現し得ると思われぬ。4) この変異株は原株よりも好氣的に繁殖する性質を有しており、その点で原株よりも進化的な菌株であると認められる。5) この変異株はなるほど元の寄主に寄生する性質を失つてはいるが、しかし他のいずれかの植物に寄生する能力を新たに獲得しているかも知れないと考えられる。6) 麦角菌を分類するに際し、菌が主要なアルカロイドとしてどのようなアルカロイドを生産するかということをも考慮に入れるならば、近遠の関係を一層明瞭にし得られるものと信じられる。

終りに臨み、御懇篤な御指導と御鞭撻とを賜わつた所長佐藤喜吉博士に深謝する。また、終始御懇篤な御指導を賜わっている朝比奈泰彦、中沢亮治の両先生及び坂口謹一郎先生に深甚の謝意を表す。(本報告の一部は昭和 24 年 4 月 10 日第 20 回日本農芸化学会大会で講演した)

(1) 阿部, 山野, 高津, 楠本 : 農化, 24, 416 (1951).	(10) 阿部 : 武田研究所年報, 10, 190 (1951).
(2) 阿部 : 武田研究所年報, 10, 152 (1951).	(11) 阿部 : 武田研究所年報, 10, 99 (1951).
(3) 阿部, 山野, 高津, 楠本 : 農化, 24, 471 (1951).	(12) R. STÄGER : <i>Zentbl. Bakt., II Abt.</i> , 14, 25 (1905); 17, 773 (1907); 20, 272 (1908); 27, 67 (1910); 56, 329 (1922).
(4) S. K. SIM and H. W. YOUNGKEN : <i>J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.</i> , 40, 434 (1951).	追記 : 著者等はその後ペーパー・パーティション・クロマトグラフィーによりカモジグサ型の麦角菌を含む供試のすべての麦角菌, すなわちカモジグサ型, クサヨシ型, <i>Cl. purpurea</i> TUL., ヤマアハ型, ササ型, トダシバ型, ハマニシキ型, ススキ型, ヨシ型, ツルヨシ型等の麦角菌が天然, 培養のいずれにおいても ergometrine, ペプチド型アルカロイド等の外に, agroclavine, elymoclavine (本誌, 25, 458 (1952) 参照) 及びも 1 つの未知の水溶性アルカロイドを生産することを認め, これを第 23 回日本農芸化学会大会の席上で発表してさきに阿部の報告した“麦角アルカロイドの生成に関する考察”を補足した。
(5) 阿部, 三上 : 武田研究所年報, 10, 179 (1951).	
(6) 阿部 : 武田研究所年報, 10, 129 (1951).	
(7) N. L. ALLPORT and T. T. COCKING : <i>Quart. J. Pharm. Pharmacol.</i> , 5, 341 (1932).	
(8) Jan. SMIT : <i>Z. Anal. Chem.</i> , 53, 473 (1914).	
(9) M. MARTIN and A. NOURRISSON : <i>J. Inst. Brew.</i> , 31, 431 (1925).	

Summary

1) It was found that the mutant A 11, which previously obtained from the cultures of the *Agropyrum*-type race irradiated with radium, has the property to produce more agroclavine than the original strain not only in surface culture but also in submerged culture.

2) This mutant produces agroclavine at the rate of 50~60 mg and 3~5 mg per 100 cc of the culture filtrate in surface culture and in shaking culture, respectively.

3) This mutant has more aerobic nature than the original strain, and, in this respect, it can be recognized as more evolved strain than the latter.

4) This mutant, as previously reported, can not be parasitic on the original host plants, but it may have newly acquired the ability to be parasitic on some other plants.

5) In the classification of ergot fungi, it seems desirable to take account of the principal alkaloid they produce.

Addendum :— Recently we have found by means of paper partition chromatography that all the races of ergot fungi we studied, including the *Agropyrum*-type, could produce agroclavine, elymoclavine [see our report *this Journal*, 25, 458 (1952)], and another unknown water soluble alkaloid, besides ergometrine and peptide-type alkaloids, both in nature and in saprophytic culture. we have reported this fact supplementing ABE's previous consideration on the production of alkaloids in ergot fungus at the Annual Meeting of Agr. Chem. Soc. Japan held at University of Tokyo on April 5, 1952.