Über den “Benikoji”-Pilz aus Formosa.

(Vorläufige Mitteilung.)

Hierzu Tafel II.

Von

Y. Uyeda.

Einleitung.

In Formosa bereitet man ein durch den chinesischen Namen “Anchū” bekanntes rothes Reisgetränk, zu dessen Herstellung man beide “Benikoji” oder “Akakoji” (rothe Reiskörner) und “Shirokoji” (weisse Mehlkuchen) oder nur den ersteren anwendet. Nach der Destillation dieses Getränks werden einige chinesische Medicinen dazu gemengt. Über die weitere Darstellungsmethode des “Anchū” kennt man bisher nichts genaues. Der “Shirokoji” wird bereitet aus Reismehl und stellt eine kleine runde Masse dar, welche leicht in ein grobes Pulver zerfällt und einen eigenthümlichen Geruch besitzt. Der “Benikoji” hat die Gestalt von Reiskörnern und eine schön glänzende dunklere Färbung. Der “Shirokoji” besteht hauptsächlich aus einer Mucorart, welche durch das Vermögen der Hefesprossung charakterisirt ist, während bei den “Benikoji” *Monascus* sp. und ein Sprosspilz sich finden. Wenn man zugleich diese beiden “Koji” zur Bereitung von “Anchū” anwendet, geht die Gärung viel kräftiger von Statten als wenn man nur den “Benikoji” in Anwendung gebracht hätte. Der rothe Farbstoff der chinesischen “Ang-khak” (Benikoji) wurde zuerst von Vorderman¹⁾ an dem aus China stammenden Material in Java untersucht. Dann studirte Dr. Went²⁾ die Morphologie und Physiologie des Ang-khak Pilzes. Auch machte Prinsen-Geerigs³⁾ eine chemische Studie über “Ang-khak.” Ich will hier einige kurze Mittheilungen über die Morphologie der “Benikoji”-Pilze aus Formosa einschliesslich ihrer Hefesprossung machen.

¹⁾ *Analecta op. bromatologicae* gebied. II. (Geneeskundig Tijdschrift von Nederl. Indië 1894. XXXIV. No. 5).

²⁾ *Annales des Sciences Naturelles. Botanique*. huitieme Serie. 1. 1895.

³⁾ *Chemiker-zeitung*. 1895. No. 57.

Die im "Benikoji" vorkommenden Pilze.

Ausser dem Monascus-Pilz, welcher einen rothen Farbstoff producirt, fand ich in dem aus Formosa stammenden Material zuweilen je eine Mucor- und Aspergillus-art. Die Benikoji-körner sind aussen dunkel-roth, dagegen im Inneren hellgranatroth gefärbt. Auf dem Querschnitt dieser Reiskörner kann man unter dem Mikroskop beobachten, dass das Mycelium des Monascus sp. diese körner durchsetzt. Die Früchte besitzen meistens einen Stiel und werden von einer Hülle umgeben; sie sind einfache Schläuche mit mehreren freien Endosporen (Fig. 1.). Im unreifen Zustand sind die Früchte mit mehreren Fetttropfen und Protoplasma mit Vacuolen erfüllt, während sie, wenn sie reif sind, mehrere Endosporen bilden. Ausser den Mycelien und Früchten sieht man in den körnern die konidien und Hefe. Im Folgenden beschränke ich mich auf die Beschreibung des Haupt-Pilzes (Monascus) oder so genannten Benikoji-Pilzes.

Kultur-methoden.

Bei meinen Untersuchungen wurden die Pilze rein kultivirt. In der Regel bedienten wir uns Böttcher's und Ranvier's feuchterkammer. Als Nährlösungen verwendeten wir zuerst ein Gemenge von 10 % Traubenzucker, 1 % Pepton, 1 % Fleischextrakt, oder Apfeldekokt mit Zusatz von 30 % Glycerin, dann Bierwürze. Dazu wird eine gewisse Menge Weinsäure beigefügt um Bakterien-entwicklung zu verhindern. Als festen Nährboden gebrauchte ich ausser dem üblichen Nähragar bezw. Gelatine, Esmarch's Kartoffelscheibe und gedämpften Reis. In allen obenbeschriebenen Nährboden, gedeiht der Pilz sehr gut, besonders im ersteren. Wenn die Pilze in der Petrischen Schale od. im Erlenmeyerschen Kolben kultivirt werden, dann gedeihen sie üppig, ihre Mycelien bilden zuerst weisse Röschen, zuletzt eine zusammenhängende Haut und schweben auf der Nährflüssigkeit. Die Mycelien sind anfangs farblos, aber werden allmählich schwach roth. Die auf der Nährflüssigkeit schwimmenden Mycelien erzeugen mehrere Fruchtanlagen, während in den unter ihnen befindlichen Mycelien die Konidien und Gemmen ausgebildet werden. Auf gekochtem Reis produciren die Pilze einen dunkel rothen Farbstoff, durch den das Substrat auch gefärbt wird. Um die Sprossung der Mikrokonidien zu studieren, machten wir die Tropfenkultur und übertrugen dann die in dieser Weise angesammelte sprossende Hefe zur Plattenkultur. Ich kultivirte die Pilze in den

Thermostaten meist bei einer Temperatur von 28°C, häufig aber auch bei anderen bestimmten Temperaturen. Die Pilze gedeihen üppig zwischen 25° and 30°C. Wir fanden, dass bei 20°C die Sporen zu keimen beginnen, und dass schon bei 38°C die Pilze in ihrem Wachsthum aufgehalten werden.

Entwicklungsgeschichte u. Morphologie.

Wenn wir die Konidien in eine geeignete Nährlösung bringen, so keimen sie alsbald und produciren einen einzigen Keimschlauch, aber die Keimung der Endosporen geschieht nicht so schnell, wie die der Konidien, weil die Endosporen innerhalb der Sporangien eingeschlossen sind, welche von einer dickwandigen Hülle umgeben werden. Sehr selten zerbrechen diese Sporangien und werden die Endosporen ejaculirt. (Fig. 3). Die Mycelien sind reichlich quergetheilt und hier und dort sind die Anschwellungen der Hyphen sichtbar. (Fig. 4). Die Mycelien sind anfangs farblos, aber nach wenigen Tagen färben sie sich allmählich roth; selten bleiben sie für längere Zeit ungefärbt. Nachher bemerken wir auf den Hyphenenden mehrere kugelige Zellen und Fadenknäule; die ersteren sind die Makroconidien, während die letzteren die Anlage der Fruchtkörper darstellen. Diese Fruchtanlage ähnelt sehr derjenigen von *Thelebolus*.¹⁾ Die Fortpflanzung des Benikoji-Pilzes geschieht durch einzellige Sporen:—Endosporen (Schlauchsporen), Konidien und Chlamydosporen oder Gemmen.

Sporangien. Das Sporangium, welches von einer Hülle umgeben ist, besteht aus einem Schlauch, welcher mit mehreren Schlauchsporen erfüllt ist. Bereits binnen einigen Wochen nach der Aussaat findet die Ausbildung der Sporangien statt. Anfangs sind die Sporangien farblos, aber später roth gefärbt; meistens ist die Hülle farblos, während die Schlauchsporen stets gefärbt sind. Wie schon erwähnt, erscheint die Anlage der Fruchtkörper zuerst als eine Kugelzelle auf dem Mycel, dann bildet sich der Fadenknäuel, bei welchem man zuweilen wie im Fig. 7. gezeigt wird, drei Theile unterscheiden kann, nämlich das Askogen, die Pedicelzelle, und die Terminalzelle; schon früher ist der Primärhüllfaden ausgebildet. Fig. 8 zeigt einen noch weiter entwickelten Zustand der Fruchtbildung; in Fig. 9 sehen wir, dass die Askogen schon von mehreren Hyphen-ästen umschlungen werden, welche aus der Pedicelzelle entsprossen sind; in diesem Stadium wird das Hüllgewebe Hüllschicht genannt, nicht aber Hüllfaden.

¹⁾ O. Brefeld, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. IX. Heft.

(Fig. 10). Unter einigen Bedingungen können wir beobachten, dass die Primärfaden sich zu längerem Mycel verlängern. Die Früchte sind in dem ersten Stadium ihrer Bildung vollständig mit Plasma erfüllt, wenigstens können wir noch keine Differenzierung im Inhalt wahrnehmen. Diese jungen Früchte, deren Zellinhalt nicht durchsichtig ist, enthalten häufig mehrere Vacuolen; dagegen teilt sich im reifen Zustand der Zellinhalt durch die Bildung der Schlauchsporen. Die Schlauchsporen sind in der Regel ellipsoidisch oder oval. (Fig. 12); die Anzahl der Sporen in einem Schlauch schwankt, meistens zwischen 20 und 40. Die Frucht hat 28-38,5 μ Durchmesser, der Schlauch 21-32 μ , der Schlauchsporen 5-6 μ Länge und 4-5 Dicke.

Konidien. Wir können hier zwei Arten von Konidien unterscheiden; die grösseren sind die Makrokonidien, während die kleineren Mikrokonidien genannt werden. Im allgemeinen sieht man die ersteren Konidienformen häufiger als die letzteren. Zuerst schwillt das Ende eines Hyphens oder Seitenzweiges, später trennt sich dieses angeschwollene Ende allmählich durch eine Querscheidewand, wobei die oberen Conidien die ältesten sind. Solche Conidien gleichen daher mehr den Oidien. Die Makrokonidien sind kugelförmig und kommen einfach, oder seltener zu zwei oder drei Zellen verkettet vor. (Fig. 5). Die Grösse der mittleren Exemplare stellt sich auf ungefähr 6.5-8.5 μ Durchmesser. Bei der Tropfenkultur beobachteten wir manchmal, dass die rothen Körner innerhalb dieser Coniden Producirt werden, wenn die Nährflüssigkeit vertrocknet. (Fig. 13). Die Makrokonidien produciren leicht einen Keimschlauch, welcher während seiner Entwicklung die Sporangien erzeugt und auch die Conidien auf demselben Faden bildet. Die Mikrokonidien sind kugelförmig oder ellipsoidisch und stets kettenförmig verbunden. Diese kettenförmig verbundenen Konidien entstehen durch den Zerfall der Mycelkeste in einzelne Glieder in derselben Weise, wie bei *Oidium lactis*. Diese Sporen sind kleiner, als die Makrokonidien; ihr Durchmesser beträgt ungefähr 3-4 μ . (Fig. 14).

Intercalare Gemmen. Wenn der Pilz in 3 % iger Zuckerlösung kultivirt wird, gedeiht er nicht üppig; in tief in die Nährlösung hinab gesunkenen Mycelien treten die Fetttropfen in grossen Mengen auf; dann beobachtete ich, dass mehrere intercalare Gemmen ausgebildet wurden. Sie sind immer farblos, isolirt, oder zu je zweien verbunden; jede Gemme hat 5-7 μ Durchmesser. (Fig. 15).

(Fortsetzung folgt.)