HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Untersuchungen über die Pilze auf dem getrockneten Boniten oder "Katsuobushi"
Author(s)	HANZAWA, Jun
Citation	The journal of the College of Agriculture, Tohoku Imperial University, Sapporo, Japan, 4(5), 215-242
Issue Date	1911-12-20
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/12502
Type	bulletin (article)
File Information	4(5)_p215-242.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Untersuchungen über die Pilze auf dem getrockneten Boniten oder „Katsuobushi".[1]

Von

Jun Hanzawa, *Nōgakushi.*

Asst. Prof. der angewandten Mykologie, an der landw. Fakultät der Tōhoku Kaiserl. Universität zu Sapporo.

(Unter Assistenz von **Saichi Miyauchi.**)

(Mit Tafeln XIX—XXIII.)

Von alters her kennen wir in Japan den getrockneten Boniten oder "Katsuobushi" als Genussmittel und Spezialität. Die jährliche Produktion an Katsuobushi ist sehr gross, und ihr Wert erreicht etwa ein Fünftel der gesamten Meeresproduktion. Nach unseren statistischen Berichten (1908)

1) Katsuobushi heisst verkürzt auch Katsubushi und ist im Volke kurz als Katsu oder Fushi bekannt. Katsu—hart, o—Fisch, fushi oder bushi—Teilstück eines der Länge nach gevierteilten Fischfleischstückes—vergl. *Genkai* 1898, p. 892.—also Katsuobushi—Teilstück von künstlich hartgetrocknetem Fischfleisch. Im japanischen Sprachgebrauch bezeichnet Fushi auch einen Astknoten, weshalb sich aus einer gewissen Ähnlichkeit in der Farbe, Härte und Form mit dem getrockneten Fischfleisch der Namen Katsuobushi ohne Schwierigkeit auch als Hartfischastknoten erklären liesse. Somit ist Katsuobushi ein Gattungsnamen, denn es wird ausser dem Fleisch vom Katsuo oder Bonitfisch auch das von Makrelen, Tunfischen, Haifischen und Urumeiwashi gewonnene, geräucherte und dann getrocknete, holzharte Fischfleisch gemeiniglich als Katsuobushi bezeichnet, aber diese Sorten tragen ausserdem folgende eigene Namen (Spezialnamen): Sababushi, Magurobushi oder Shibibushi, Samebushi oder Fukabushi und Urumebushi. In vorliegender Arbeit verstehen wir unter Katsuobushi nur das eigentliche Bonitfischfleisch.

ist die Produktion an Katsuobushi allein 7151,640.5 Kilogramm und der Wert 6514477 Yen, während der Gesamtwert aller Meeresprodukte 35491, 742 Yen ist.[1]

Katsuobushi ist das verarbeitete Fleisch der Fischart Gymnosarda affinis Cantor[2] oder Bonite (Bonitfisch oder Bonito). Dem frischen Fische schneidet man zuerst den Kopf und die Flossen weg, nimmt die Eingeweide heraus, halbiert ihn und entfernt die Wirbelsäule; sodann wird jede Hälfte nochmals halbiert. Darauf wird der Fisch gekocht, ausgegrätet und wiederholt geräuchert und zuletzt getrocknet. Endlich lässt man auf den einzelnen Stücken einen Schimmel entstehen.

Man verwendet den Katsuobushi in der Weise, dass man ihn zuerst mit einem Messer oder einem besondern Instrumente (ähnlich einem Reibeisen oder Krauthobel) zerkleinert und pulverisiert, dann mit Wasser abkocht, wodurch, wie bei der Fleischbrühe, Ernährungs- und Geschmackstoffe extrahiert werden. Die Qualität des Katsuobushi wird von der Qualität des Extraktstoffes bestimmt und ist grösstenteils von den Arten der Pilze abhängig.[3]

Die chemische Natur der Extraktstoffe des Katsuobushi ist in früherer Zeit von Kitao[4] studiert worden, wobei er Gelatine, Kreatin, Kreatinin, Xanthin, und Hypoxanthin in den stickstoffhaltigen Substanzen nachgewiesen hat. In letzter Zeit untersuchten U. Suzuki und K. Yoshimura[5] unter Mitwirkung von M. Yamakawa und Irie dieselben Stoffe, und wiesen in ihnen Xanthin, Hypoxanthin, Kreatin, Histidin und Carnosin isoliert nach. Im hiesigen chemischen Laboratorium sind von M. Koba-

1) Twenty fifth statistical Report Dept. Agr. and Comm., Japan, 1910, p. 373.

2) K. Otaki, T. Fujita and T. Higurashi, Fishes of Japan, Vol. 1, No. 1, 1903, p. 5.

3) M. Yukawa, Journ. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo. 1911, Vol. 1, No. 3, p. 357. „Im Handel ist das getrocknete Fleisch, das mit grünlichen Schimmelpilzen bedeckt ist, teurer als das mit gelben Pilzen".

4) Zitiert von Tsuji, *Nikushoku Hen*, Tokyo, 1894; K. Oshima, U. S. Dept. Agr. Office Expt. Stations-Bull. No. 159, 1905, pp. 19—20.

5) U. Suzuki, K. Yoshimura, M. Yamakawa und Irie, Journ. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo. 1909, Vol. 1, No. 1, pp. 21—34; und K. Yoshimura, Journ. of the Tokyo Chem. Soc. Vol. XXIX, p. 1149.

yashi[1] unter Leitung des Herrn Prof. K. Oshima Untersuchungen über die Beziehungen der Verschimmelung und der Zusammensetzung des Boniten angestellt worden, und dabei ergab sich dass durch den Verschimmelungsprozess die Extraktstoffe vermehrt werden, wobei die schon von D. Tsukamoto[2] über diesen Punkt geäusserte Vermutung bestätigt wurde.

Wenn die getrockneten und geräucherten Bonitfischfleischteile (25–26% Wasser enthaltend[3]) der Luft ausgesetzt werden, so entstehen manche saprophytischen Mikroorganismen und erregen Fäulnis. Einige Pilzarten spalten die Fette ab, lösen die Eiweissstoffe und bereichern dadurch die Extraktstoffe. Die bei der Fabrikation tätigen erfahrenen Arbeiter kennen die der Katsuobushibereitung günstigen Pilzarten und wissen, dass die Verschimmelung unentbehrlich ist. Aus diesem Grunde haben bisher die Praktiker bei der Herstellung von Katsuobushi die Verschimmelung oder "Kabitsuke" angewandt. Man unterscheidet an ihr drei Stadien, nämlich die erste, zweite und dritte Kabitsuke, oder "Ichibankabi", "Nibankabi" und "Sanbankabi".

Bei der ersten Kabitsuke wird das Bonitfleisch in Gefässe getan und in ein Zimmer oder einen erwärmten Raum gestellt. Nach 10 Tagen ist die Oberfläche von manchen Schimmelpilzen bedeckt. Sollte das Bonitfleisch nicht gleichmässig mit Pilzen überzogen sein, so wird der Gefässinhalt neu eingepackt oder in andere Kübel verbracht. Nach 7—8 Tagen wird das Fleisch gleichmässig verschimmelt sein, nun legt man es auf Matten oder andere Unterlagen und lässt es 2 Tage im Sonnenlichte trocknen, schliesslich bürstet man den Schimmelüberzug ab.

Bei der zweiten Kabitsuke werden die ausgebürsteten Boniten gleicherweise in Gefässe wie die vorigen gepackt und nach 13—14 Tagen herausgenommen, getrocknet und wieder gebürstet.

1) M. Kobayashi, Dissertation (der landw. Fakultät der Tōhoku kaiserl. Universität zu Sapporo im Juni 1909 vorgelegt, aber noch nicht veröffentlicht).

2) D. Tsukamoto, *Magurobushi Chōsa Hōkoku, Meiji 30 Nendo Suisan Chōsa Jigio Hōkoku.* (Report of Fish Commission for the year 1897. Imp. Fish. Bur. Japan) 1900. pp. 194—196.

3) T. Yoshioka, *Shizuokaken Katsuobushi Chōsa Hōkoku.* (Report of Fish Commission for the year 1897. Imp. Fish. Bur. Japan) 1900, p. 179.

Bei der dritten Kabitsuke, welche 14—15 Tage dauert, wiederholt sich derselbe Vorgang.

Nunmehr werden Pilze an der Oberfläche des Boniten nicht mehr vorkommen. Der Herstellungsprozess von Katsuobushi wird dadurch zu Ende geführt, dass man die Boniten nochmals in Kübel packt, nach 20—30 Tagen herausnimmt und sie einen Tag lang trocknet. Bei diesem Verfahren werden sie völlig trocken und dauerhaft und gelangen sodann in den Handel.

Den Praktikern[1] ist ein guter Pilz bekannt, der sog. "Aokabi" (der blaue Schimmel). Diese Pilzart wächst an verhältnismässig gut getrockneten Boniten. Wenn die Trocknung nicht vollständig ist, wachsen blaugelbe oder blaugrüne Schimmelpilze; an dem fettreichen Boniten entwickeln sich dagegen gelbe Pilze. Ihre wissenschaftlichen Namen sind aber nicht genau bekannt.

Die Untersuchungen über die Pilze, welche auf der Boniten-Oberfläche sich entwickeln, sind sehr spärlich. Nach den Berichten der Fischerei-Versuchsstation zu Fukushima[2] und auch Tsukamotos[3] ist der am Boniten wachsende Pilz eine zur Aspergillus oder Eurotium gehörige Art, welcher mit Hülfe von Enzymen das Fett abspaltet und die unlöslichen Eiweissstoffe löslich macht und in aromatische Basen und Amide zersetzt, wodurch die Geschmackstoffe des Katsuobushi vermehrt werden.

M. Shirai[4] berichtet, dass Aspergillus flavus Link auf dem Katsuobushi wachse.

Ich habe an dem Katsuobushi, welcher in Hokkaido (Urakawa, Prov. Hidaka) erzeugt wird, nachstehende Pilzarten isoliert gefunden: Aspergillus albus, Asp. sp. (mit gelblichbraunem Pilzrasen, vielleicht zu Asp. ochraceus gehörend), Asp. glaucus (der eigentliche Katsuobushi Pilz), Penicillium glaucum, Hefe (wilde Hefe) und Bakterien (orangegefärbter Micrococcus). Bei dem späteren Stadium des Katsuobushi-Verschimmelungsprozesses habe ich nur eine Art, nämlich Aspergillus glau-

1) H. Yamaguchi, Katsuobushi-Bereitungsmethode. 1896.

2) Bericht der Fischerei-Versuchsstation zu Fukushima, 1906.

3) D. Tsukamoto, l. c.

4) M. Shirai, A List of Japanese Fungi hitherto known, 1905, p. 10.

cus gefunden.[1])

Später entdeckte M. Yukawa[2]) an dem Katsuobushi, welcher in Shizuoka erzeugt wird, zwei neue Aspergillus Arten: Aspergillus melleus (die bernsteinfarbige Sorte) und Asp. Gymnosardae (die grüne Art). Zuweilen fanden sich noch ausserdem Asp. albus, Verticillium glaucum, Penicillium glaucum, Mucor racemosus und andere Pilze vor. Von diesen beiden neuen Arten kommt die grüne Art vorzüglich auf teureren Waren vor, während die mit bernsteinartiger Farbe auf den geringeren Sorten der Proben gefunden wird, aber sie können deswegen noch nicht für die gute oder geringe Qualität verantwortlich gemacht werden. Nach den Praktikern soll der sog. Blauschimmel (Aokabi) für die Bonitenbereitung der beste sein, Yukawa meint indessen, dass die grüne Art (Asp. gymnosardæ) möglicherweise auch gut sei[3]). Ich[4]) habe bei meinen frühern Untersuchungen diese grüne Art (Asp. Gymnosardae) in Hokkaido nicht gefunden, die hier vorkommende grüne Art ist immer Asp. glaucus und Asp. flavo-viridescens. Yukawas Aspergillus melleus, vielleicht mit Asp. Okazakii, Yagi[5]) nahe verwandte Art, ist gelb (bernsteinartig) und wird auch auf gutem Katsuobushi gefunden, aber die Praktiker behaupten, dass gelber Schimmel, welcher an den fettreichen Teilen des Boniten sich entwickelt, nicht gut sei für die Bereitung von Katsuobushi. Ich[4]) habe in einigen Fällen auf dem in Hokkaido erzeugten Katsuobushi eine ähnliche Art gefunden, aber ihre Entwickelung ist beschränkt und von Asp. glaucus und Penicillium glaucum unterdrückt, weshalb sie für die Katsuobushibereitung keine wichtige Art sein kann.

Der Zweck vorliegender Untersuchungen ist, die Pilzarten, welche an dem Bonitenfleisch sich entwickeln, genau kennen zu lernen und ihre Wirkungen auf den Katsuobushi zu studieren.

---

1) Dissertation Kobayashis, l. c.

2) M. Yukawa, Journ. of the Scientific Agricultural Society (Nogaku-Kwai-Ho), 1910, 93, pp. 11—18; 1911, 102, pp. 10—14, Taf. 1; 366, Taf. XVII.—XVIII.

3) Yukawa, l. c. p. 362– „Dieser Pilz ist als "Awokabi" bekannt und im praktischen Gebrauch sehr wichtig zur Fabrikation des Katsuobushi".

4) Dissertation Kobayashis, l. c.

5) K. Okazaki, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., 1907, pp. 481—484, Taf. 1—2.

Das Material, welches wir bei den Versuchen benutzten, war von Muroran und Urakawa in Hokkaido geschickter Bonite. Diesen setzten wir in langen Glaszylindern in den auf 25—26° C. erwärmten Brutschrank. Für die Trocknung haben wir Heissluft angewandt.

Bei diesen Versuchen haben wir viele Mikroorganismen isoliert gefunden, unter denen die nachbeschriebenen neun Pilzarten sind: Aspergillus glaucus; Asp. flavo-viridescens n. sp.; Asp. candidus; Asp. ochraceus; Penicillium glaucum; Cladosporium herbarum; Catenularia fuliginea; Oospora glabra n. sp. und Torula sp.

I. Die erste Verschimmelung.

Das geräucherte Fleisch enthält viel Wasser und eine reichliche Menge Nährstoffe, daher entwickeln sich alle vorbezeichneten Arten (excl. Oospora). Im Folgenden beschreiben wir die Zustände des Wachstums der hauptsächlichsten Pilzarten auf dem Boniten und die Beschaffenheit seiner Oberfläche.

1. Der Entwickelungsverlauf der Pilze an dem Boniten.

a) Aspergillus glaucus.

Diese Art wächst an den verhältnismässig gut getrockneten und fettreichen Teilen der Oberfläche z. B. an den Hautteilen. Zuerst sind die Pilze als hellweisses Myzel sparsam entwickelt, allmählich werden sie dicht, nach einigen Tagen bringen sie ein kurzes Luftmyzel hervor und an dem Gipfel bilden sich weisse Köpfchen aus, welche anfänglich blauweiss bis hellgrün, dann grün, zuletzt grünlichbraun sind. Nach und nach verbreiten sich die Pilzdecken auf der ganzen Oberfläche, bis sie schliesslich vollständig damit bedeckt ist.

Dann werden die verschimmelten Boniten in Heissluft getrocknet und gebürstet. Beim Bürsten trennen sich die Pilzrasen leicht ab, und an der

Oberfläche des Boniten bleiben keine Flecken zurück. Die Oberflächenbeschaffenheit des Katsuobushi ist daher gut und bereitet der nächsten Verschimmelung keine Schwierigkeiten.

Die Praktiker[1] sagen, der gute Pilz bei der Katsuobushibereitung sei eine blaue Schimmelart, welche an dem völlig getrockneten Boniten wachse und beim Abbürsten keine Flecken hinterlasse. Unsere grüne Art Aspergillus glaucus besitzt gleiche Eigenschaften und dürfte diejenige Art sein, die von den Praktikern als die gute angesehen wird.

b) Penicillium glaucum.

Diese Art wächst an den verhältnismässig fettarmen aber wasserreichen Teilen der Boniten-Oberfläche. Die Pilzrasen sind anfangs klein, rund, weiss und dichter als bei Aspergillus glaucus. Alsdann vergrössern sich die Decken, werden blaugrün bis graublau, zuletzt ist der Katsuobushi von blaugrünen Pilzdecken umhüllt. Dieser Schimmel wird leicht von Aspergillus glaucus unterschieden durch den Mangel an Köpfchen und an der Farbe der Pilzdecken. Die Pilzrasen haften zähe an dem Fleische; daher können wir sie nicht leicht durch blosses Abbürsten trennen, auch verbleiben Flecken an der Oberfläche des Boniten. Daher ist die Beschaffenheit der Oberfläche nicht gut, und es kommt nicht leicht zur nächsten Verschimmelung, wenn nicht statt der Bürste ein Messer oder ein anderes Instrument beim Abkratzen gebraucht wird, wodurch aber das Gewicht und der Wert sich verringern.

Aus diesem Grunde ist diese Art zur Bonitenbereitung nicht vorteilhaft, und dies wird durch das Urteil der Praktiker bestätigt.

c) Torula sp. oder "Nidokabi".

Diese Art wächst an den sehr wasserreichen Teilen der Bonitenoberfläche. Die Kolonie ist anfangs hell wässerig, wird beim Austrocknen milchweiss und die Boniten werden wie mit einer weissen Farbschicht umhüllt,

1) H. Yamaguchi, l. c.

welche wir nicht durch blosses Bürsten vom Fleische trennen können, sie muss daher vor der zweiten Verschimmelung abgeschabt werden, weshalb diese Art für die Bonitenbereitung nicht günstig ist. Die Praktiker sagen, "Nidokabi" sei dem Katsuobushi schädlich[1].

d) Aspergillus flavo-virideseens n. sp.

Die Rasen sind anfangs klein und weiss, werden dann gross und bei der Konidienbildung orangegelb, zuletzt grün, aber die Färbung findet nur in der Mitte der Rasen statt, ihre Randpartien bleiben weiss oder gelb. Diese Art unterscheiden wir von Penicillium glaucum leicht von blossem Auge durch die Anwesenheit der Köpfchen und von Aspergillus glaucus durch die gelbgrüne Färbung des Rasens; doch ist diese Art nicht so häufig wie die beiden andern, weshalb sie die Oberfläche des Boniten nicht beträchtlich beeinflusst.

e) Cladosporium herbarum und Catenularia fuliginea.

Cladosporium herbarum und Catenularia fuliginea wachsen selten auf dem Boniten, wenn sie dennoch vorkommen, werden sie leicht von Aspergillus und Penicillium überwuchert, daher wird die Katsuobushioberfläche nicht so stark beeinflusst. Cladosporium herbarum ist ein olivengrüner Schimmel und bildet schwarze Myzelhäute; Catenularia fuliginea ist ein schokoladefarbiger Schimmel und bildet kleine Polster auf der Oberfläche des Boniten.

f) Aspergillus ochraceus und Asp. albus.

Diese beiden Aspergillus Arten wachsen selten auf dem Boniten, wenn sie trotzdem vorkommen, wie Cladosporium herbarum und Catenularia fuliginea, werden sie leicht von Aspergillus glaucus und Penicillium glaucum überwuchert, daher wird die Ober-

1) H. Yamaguchi, l. c.

fläche nicht so stark beeinflusst. Aspergillus ochraceus ist ein gelblich brauner Schimmel und bildet anfangs weisse Myzel-Rasen wie Aspergillus glaucus, aber später werden diese gelbbräunlich. Aspergillus albus ist ein weisser Schimmel.

2. Beziehungen zwischen den wachsenden Pilzarten und der Trockenheit des Boniten-Fleisches.

Ueber die Beziehungen zwischen Wassergehalt des Nährbodens und Wachstum der Pilze stellte Bremer[1] bei Baumwollsaatmehl fest, dass bei einem Wassergehalt von 14% Eurotium repens sich zu vermehren beginnt, ihm folgt Eurotium rubrum, bei 20% Wasser treten Oidium-Arten, bei 25% Penicillium auf. Erst wenn der Wassergehalt bis auf 30% gestiegen ist, setzt die Tätigkeit von Bakterien, in erster Linie von Heu- und Kartoffebazillen, ein.

Der Wassergehalt unseres gekochten, getrockneten und geräucherten, aber nicht verschimmelten Katsuobushi ist nach Herrn Yoshioka 25—26%, daher können sich die Mikroorganismen gut entwickeln. Vornehmlich treten an dem wasserreichen Boniten Torula und Penicillium und an dem verhältnismässig getrockneten Boniten Aspergillus glaucus auf. Aber an demselben Fleischstück zeigen sich auch wasserarme und wasserreiche Teile, die Häute sind wasserarm, da hier nur Aspergillus glaucus vorkommt; an den wasserreichen Fleischteilen aber entwickeln sich Penicillium und Torula.

Um die Beziehungen zwischen dem Wassergehalt des Fleisches und dem Verschimmeln zu untersuchen, bereiteten wir wasserreiche und wasserarme Stückchen Bonite oder Bonitenpulver, dies brachten wir in kleine Schalen und infizierten mit Aspergillus glaucus, Penillium glaucum und Torula sp.

1) Bremer, Die fettverzehrenden Organismen u. s. w., 1902; F. Löhnis, Handbuch der landwirschaftlichen Bakteriologie 1911, p. 61.

Bei diesen Versuchen sehen wir Asp. glaucus sich nur an wasserarmen Stellen entwickeln und Penicillium glaucum und Torula sp. an nur wasserreichen. Alsdann ist es wünschenswert, dass man zur Züchtung nur guten Aspergillus glaucus verwendt und die Trocknung mit gehörigem Fleiss ausführt, sonst entwickelen sich Penicillium glaucum und Torula sp., und die Oberflächen werden schlecht. Wenn man Aspergillus glaucus auf der wasserarmen Bonitenoberfläche kultiviert, reift er in 5 Tagen völlig.

3. Beziehungen zwischen Verschimmelung und Temperatur.

Das Wachstum der Pilze wird stark beeinflusst von der Temperatur, denn jeder Pilz hat für sein Wachstum eine bestimmte Temperaturgrenze. Unser Katsuobushi-Pilz Aspergillus glaucus wächst in der Versuchszimmer-Wintertemperatur sehr langsam, erst nachdem die Pilze in den 25° C. warmen Brutschrank eingestellt sind, nimmt die Entwickelung einen guten Verlauf. Dagegen sind Penicillium glaucum und Torula sp. nicht so empfindlich und gedeihen gut auch in der Zimmertemperatur des Winters.

In unserem Laboratorium war die Temperatur während 10 Tagen 30° C. am Tage und 3—4° C. in der Nacht. Die Temperaturschwankungen sind folgende:

	Am Tage			In der Nacht	
	8,30 V.M.	1,30 N.M.	5,00 N.M	Maxim.	Minim.
1. Tag.	20,0° C.	29,0° C.	18,0° C.	—	—
2. „	28,0° C.	24,0° C.	22,0° C.	27,0° C.	2,0° C.
3. „	12,0° C.	29,0° C.	15,0° C.	29,0° C.	3,0° C.
4. „	22,0° C.	19,0° C.	15,0° C.	21,0° C.	4,0° C.
5. „	22,0° C.	13,0° C.	12,0° C.	22,0° C.	8,0° C.
6. „	18,0° C.	24,5° C.	15,0° C.	25,0° C.	5,0° C.
7. „	19,0° C.	25,0° C.	19,0° C.	26,0° C.	8,5° C.
8. „	18,0° C.	27,0° C.	20,0° C.	25,0° C.	10,0° C.

9. „	17,0° C.	26,0° C.	19,0° C.	25,0° C.	10,0° C.
10. „	19,0° C.	25,0° C.	18,0° C.	25,0° C.	9,0° C.

In dieser wechselnden Temperatur entwickelte Aspergillus glaucus nach 2 Tagen Myzel, am 3. Tage wurden die Konidienköpfchen blauweiss aber nur in der Mitte des Rasens; nach 6 Tagan färbte sich der Pilzrasen grün, aber die Peritheeien entwickelten sich nicht. Der in den 25—26° C. warmen Brutschrank eingestellte Aspergillus glaucus hingegen entwickelte nach 1 Tage Myzel, nach 2 Tagen wurden die Konidienköpfchen in der Mitte des Rasens blauweiss, nach 4 Tagen in der Mitte grün, und es kamen Peritheeien in Würzenährlösungen vor, nach 5 Tagen erschienen Peritheeien auch in Shoyu- und Koji-extrakt, nach 6 Tagen reiften die Peritheeien, und die Konidienrasen wurden tief grün.

Penicillium glaucum entwickelt in der Zimmertemperatur nach 2 Tagen weissen, nach 3 Tagen in der Mitte blauweissen, nach 5 Tagen tiefblauen Rasen, aber in dem Brutschrank nach 1 Tage Myzel, wird am 3. Tage strohgelb oder hellblau in der Mitte, am 4. Tage blau in der Mitte, am Rande strohgelb und am äussersten Rand hellweiss, nach 4 Tagen werden die Rasen gleichmässig blau, nach 5 Tagen tiefblau.

Torula sp. entwickelt in der Zimmertemperatur am 3. Tagen kleine Kolonien, die sich nach und nach vergrössern. Im Brutschrank dagegen entwickeln sich schon nach 1 Tage kleine Kolonien, die allmählich grösser werden. Nach 4 Tagen erreicht diese Kolonie eine beinahe dreimal grössere Ausdehnung als in der Zimmertemperatur.

Aspergillus flavo-viridescens entwickelt in der Zimmertemperatur nach 3 Tagen etwas Myzel, nach 5 Tagen wird er strohweiss in der Mitte. Im Brutschrank jedoch entwickelt sich nach 1 Tage Myzel, nach 2 Tagen werden die Rasen weiss, nach 3 Tagen in der Mitte hellstrohgelb, nach 4 Tagen blaugelb.

Nach den obigen Versuchen erkennen wir, dass die in den 25—26° C. warmen Brutschrank eingestellten Pilze gut gedeihen und nach 5—6 Tagen alle reifen; in der Zimmertemperatur im Winter geht hingegen die Entwickelung von Aspergillus glaucus sehr schlecht vor sich. Auf Penicillium glaucum hat der Temperaturwechsel keinen Einfluss; aber As-

pergillus glaucus hat zum Gedeihen Tag und Nacht gleichmässige Temperatur nötig.

4. Die Beziehungen zwischen Verschimmelung und Fettgehalt.

Das Fett wird von vielen Mikroorganismen als Kohlenstoffquelle benützt. So fanden Haselhoff und Mach[1], dass angefeuchtetes, schimmelpilzhaltiges Reismehl in 2—4 Monaten etwa 85% des Fettes verlor. Penicillium glaucum und Aspergillus Oryzae sind für diese Zersetzung in erster Linie verantwortlich zu machen. Bei bis 20% Wassergehalt wird nur das Fett angegeriffen. In ähnlicher Weise beeinflussen die Schimmelpilze auch das Fleisch des Boniten. An den vermutlich fettreichen Teilen des Bonitenfleisches entwickeln sich Aspergillus glaucus und Torula sp., Penicillium glaucum dagegen tritt an den fettarmen Teilen auf; und zwar Aspergillus glaucus an den wasserarmen und Torula sp. an den wasserreichen Teilen des Katsuobushi. An den sehr fettreichen Teilen kann sich auch Aspergillus glaucus nicht mehr entwickeln.

Wir bereiteten einen fettarmen und durch Aufgiessen von extrahiertem Bonitenfett einen fettreichen Katsuobushi-Mehl-Nährboden, welcher entweder kein oder 5,0—30% Fett enthielt. Auf diesem Nährboden kultivierten wir Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum und Torula sp. Torula entwickelt sich gut auf jedem Nährboden; Penicillium glaucum gedeiht gut auf fettfreiem und schlecht auf 5—10% fetthaltigem Nährboden; aber auf 20% fetthaltigem Nährboden kommt es gar nicht fort. Aspergillus glaucus entwickelt sich nicht auf diesem Nährboden, vielleicht ist die Ursache davon auf den grossen Wassergehalt zurückzuführen.

1) Haselhoff und Mach, Landw. Jahrb. 1906, Bd. 35, p. 455; Löhnis, Handb. d. landw. Bakt., p. 60.

5. Aenderungen der Zusammensetzung des Bonitenfleisches durch Pilzwachstum.

U. Suzuki[1] und seine Mitarbeiter haben manche Zersetzungsprodukte der stickstoffhaltigen Substanzen aus Katsuobushi-Extrakt isoliert. Kobayashi[2] stellte fest, dass die Extraktstoffe während des Verschimmelungsprozesses vermehrt werden. In durch Aspergillus niger zersetztem Erbsenmehl fand J. Kosjatschenko[3] neben Ammoniak noch Tyrosin, Leucin, Histidin, Arginin und Lysin. Bei der Katsuobushibereitung ist das Vorkommen von einigen Mikroorganismen stets notwendig. Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum und Torula sp. kommen regelmässig an dem in Hokkaido gewonnenen Bonitenfleisch vor, und diese Pilze besitzen mehr oder weniger Stickstoffzersetzungsfähigkeit. Wenn sich auf dem Gelatine-Nährboden Penicillium glaucum und Torula sp. entwickeln, so verflüssigen sie die Gelatine. Durch Aspergillus glaucus wird die Gelatine kaum oder nur langsam verflüssigt.

Wir untersuchten die Veränderung der Zusammensetzung des Bonitenfleisches. Wir schnitten es in kleine Stücke und kultivierten darauf nach Sterilisierung Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum und Torula sp. einen Monat lang. Dann wurde es getrocknet, gebürstet, pulverisiert und analysiert.

	Wasser	Gesamt N.	Eiweiss N.	Nicht-Eiweiss N.	Fett	Asche
Ohne Pilzwachstum.....1	15,10	11,90	10,74	1,16	7,50	3,25
„ „ 2	—	14,01	12,17	1,24	8,83	3,96
Mit Asp. glaucus...1	11,74	12,97	11,00	1,97	6,92	3,13
„ „ „ ...2	—	14,69	12,46	2,23	7,70	3,58

1) U. Suzuki, l. c.

2) M. Kobayashi, l. c.

3) J. Kosjatschenko, Russ. Journ. f. experim. Landw., 1903, 4. p. 450; Löhnis, l. c. 61.

Mit Pen. glaucum...1	9,80	12,48	11,00	1,48	8,45	3,53
„ „ „ ...2	—	14,10	12,43	1,67	9,37	3,91
„ Torula sp.....1	10,24	12,77	11,10	1,67	6,94	3,56
„ „ „ 2	—	14,23	12,37	1,86	7,72	3,99

Nach dieser Analyse ist der grösste Wasserverzehrer Penicillium glaucum und nächst diesem Torula sp. und Aspergillus glaucus. Die Zersetzung der Eiweisssubstanzen ist fast gleich bei den drei Arten, aber Penicillium glaucum verzehrt an Nicht-Eiweisssubstanzen mehr als die anderen Arten, Aspergillus glaucus hingegen vermehrt die Nicht-Eiweissstoffe.

Durch unsere Analysen lässt sich nicht leicht feststellen, welche Pilze für die Katsuobushi-Bereitung gut sind. Penicillium glaucum vermindert den Wassergehalt, zersetzt viel an Eiweisssubstanzen und verzehrt viel Nicht-Eiweiss. Die Beschaffenheit der Oberfläche des Katsuobushi verschlechtert sich, wenn man die Pilze nicht wegbürstet.

Aspergillus glaucus vermindert den Wasser- und Fettgehalt und zersetzt die Eiweisssubstanzen und vermehrt die Nicht-Eiweisssubstanzen. Die Beschaffenheit der Oberfläche des Katsuobushi wird besser, wenn man die Pilzflecken gleich entfernt.

Torula sp. wirkt an der Zusammensetzung ähnlich wie Aspergillus glaucus aber man kann die Pilzkolonien nicht genau von der Bonitenoberfläche trennen, daher wird deren Beschaffenheit schlechter, und man ist gezwungen, sie vor der nächsten Verschimmelung abzuschaben, wodurch allerdings das Gewicht der fabrizierten Katsuobushi verringert wird. Daher ist diese Art für die Katsuobushibereitung nicht empfehlenswert.

Wir erkennen den Einfluss des Wassergehaltes an der Entwickelung der obenbeschriebenen Arten. Bei grossem Wassergehalt entwickeln sich Penicillium glaucum, Torula sp. und andere fäulniserregende Bakterien und Pilze, daher müssen wir, um das Wachstum der schädlichen Mikroorganismen zu verhindern, die gekochten und geräucherten Fleischstücke, völlig austrocknen lassen.

Wenn das Fleisch völlig trocken geworden ist, können sich Penicillium glaucum und Torula sp. nicht entwickeln, und es ist nur Aspergil-

lus glaucus entwickelungsfähig. Da er zudem die Katsuobushi-Zusammensetzung gut beeinflusst, und die Beschaffenheit der Oberfläche durch ihn verbessert wird, ist Aspergillus glaucus ein geeigneter Pilz zur Katsuobushi-Bereitung.

II. Die zweite Verschimmelung.

Die Pilzarten, welche viel Wasser zu ihrem Wachstum nötig haben, können sich bei dem geringen Wassergehalt des Bonitenfleisches im zweiten Verschimmelungsprozess nicht entwickeln. Yoshioka[1] stellt den Wassergehalt des Bonitenfleisches nach dem ersten Verschimmelungsprozess auf 20—21% fest. Aus diesem Grunde können sich Penicillium glaucum und Torula sp. nicht entwickeln, sondern nur Aspergillus glaucus. Indessen ist die Entwickelung von Aspergillus glaucus sehr gering, auch die Bildung der Konidienköpfchen ist nicht gross und die Farbe derselben ist weiss-blau. Ebenso ist die Bildung der Perithecien sparsam und die Dimensionen der Blasen, Konidien und Perithecien sind sehr klein, und die Pilze zeigen viele verschiedene abnorme Gestalten.

III. Die dritte Verschimmelung.

Der Wassergehalt des Bonitenfleisches wird während des Verschimmelungsprozesses nach und nach vermindert und ist schon nach der zweiten Verschimmelung sehr gering. Yoshioka[2] stellt in diesem Stadium 19—20% Wasser fest. Das Wachstum der Mikroorganismen wird bei der dritten Verschimmelung noch schlechter als bei der zweiten, und auch das Wachstum des Aspergillus glaucus kann kaum erfolgen, deshalb sind die Rasen

1) Yoshioka, l. c. p. 178.
2) Yoshioka, l. c. p. 179.

oder Pilzdecken locker und über die Oberfläche zerstreut, die Dimensionen der Pilze sind sehr klein, und die Gestalt der Blasen und Konidienträger ist sehr abnorm.

Beschreibung der isolierten Pilze des Katsuobushi.

Zur Isolierung und Reinkultur der Pilze benützten wir den Nährboden, den man gewöhnlich für Schimmelpilze gebraucht, nämlich: 1.) flüssigen Nährboden: Würze, Katsuobushi- und Koji-Extrakt, Glucose-, Saccharose-, Asparagin-Rohrzucker- und Tanninlösung, Glyzerin und Milch. 2.) festen Nährboden: Kartoffeln, Brot, Mochi, Reisbrei, Käse, Koji-, Würze-, Shoyu- (Soja-), Katsuobushiextraktagar und Kojigelatine.

Aspergillus glaucus Link.

Nomura, Tokyo Bot. Mag., XI, 1897, pp. 31—33; Matsumura, Index Plantarum Japonicum, I. (1904) 131; Saito, Journal of the College of Science, Tokyo, 1904, XVIII, Art. 5, Taf. 3, Fig. 10; T. B. M., 23, 1909, p. 328; Takahashi, Journal of the College of Agriculture, Tokyo, 1909, Vol. 1, p. 133.

Syn. Asp. glaucus var. minimus Hanzawa, Hanzawa und Miyauchi, Oyashio, 1911, No. 3, p. 28; The Journ. of the Fisheries Society of Japan, 1911, No. 341, p. 17. Fig. 1—3.

(Pl. XIX. Fig. 1—8.)

Die Konidienrasen sind anfangs schneeweiss, später blauweiss, grün bis tiefgrün, werden schliesslich unansehnlich graugrün bis graubraun. Die Konidienträger haben meist eine dünne Wand (0,5μ), hellen, glatten, farblosen, aber dicken Stiel und grosse Köpfchen und sind 0,5—1,0 mm hoch und ca. 4—16μ dick. Die Blasen sind kugelig bis schwach oval (kolbenförmig); allmählich in den Stiel übergehend, werden sie meist gross, ca. 40μ (14—55μ) im Durchmesser. Die Sterigmen sind einfach, kurz, 6—15μ

lang und 4—7μ breit, gedrungen, plump, allseitig radial ausstrahlend. Die Konidien sind sehr gross, doch ungleich, 6—17μ lang, 6—12μ breit, kugelig oder oval, dickwandig, fein gekröuelt, auch glatt im ersten Stadium.

Die Perithecien sind kleine, kugelige, zartwandige, hellcitronen-bis braungelbe oder braunrote Gebilde, 100—155μ im Durchmesser, meist reichlich entstehend. Die Wand ist einschichtig, zahlreiche kugeligovale Asci, 12—21μ lang, 10—16μ breit, umschliessend, mit 6—8 flach ellipsoidischen, farblosen oder braunrot gefärbten glatten Sporen, 4—8μ lang, 4—6μ breit.

Diese Art entwickelt sich gut entweder auf vegetabilischen oder tierischen Substraten; am günstigsten ist ihre Entwickelung auf Würze-, Koji- und Shoyuagar oder Gelatine. Es findet keine oder nur geringe Gelatineverflüssigung statt, und sie ist mit blossem Auge nicht zu erkennen. Die Milch koaguliert nicht. In Glukose-Nährlösung entwickelt diese Art sich gut, die Rasen werden braunrot, und der Zellinhalt wird plasmolysiert. In stickstoffreien Glukose-, Asparagin-Rohrzucker- und Glyzerinlösungen ist die Entwickelung schwieriger und es bildet sich manche abnorme Gestalt.

Diese Art gedeiht gut nur in einer Temperatur von 25—26° C.; kommt jedoch noch fort in Zimmertemperatur selbst zur Winterszeit, jedoch sehr langsam.

Diese Art besitzt Emulsin, Lipase, Maltase, Amylase, Invertase, Inulase und Protease (?).

Diese Art kommt ausser auf getrocknetem Bonitenfleische oder Katsuobushi auch auf allen andern getrockneten Meeresprodukten vor, nämlich: auf getrocknetem Hering (Migaki-Nishin), geräuchertem Hering (Kunsei-Nishin), getrockneten Heringseiern (Kazunoko) und auf Heringsmehl (Nishin-Kasu) u. s. w.

Unter den grünen und perithecienbildenden Aspergillus-Arten ist der Aspergillus glaucus Link[1] mit unserer Art in nähere Verwandschaft zu bringen. Aber vom Aspergillus glaucus Link unterscheidet sich der unsrige dadurch, dass seine Dimensionen gewöhnlich kleiner sind, keine oder nur geringe Gelatineverflüssigung erkennbar ist, und das Wachstum

1) C. Wehmer, Memoire de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève, 1901, Tome XXXIII 2me Partie). No. 4, p. 65.

unter 25—26° C. sehr schlecht erfolgt. Daher haben wir unsere Pilzart früher als Varietät des Aspergillus glaucus Link angeführt.

Aspergillus flavo-viridescens Hanzawa n. sp.,

Hanzawa u. Miyauchi, Oyashio, 1911, No. 3. p. 31; The Journ. of the Fisheries Society of Japan, 1911, No. 341, p. 20, Fig. 4—5.

(Pl. XXI. Fig. 1—4.)

Die Pilzrasen erscheinen anfangs schneeweiss, dann werden sie gelb und grünlichgelb. Bei älteren Kulturen geht die Färbung schliesslich von unansehnlichem Grün bis ins schmutzig Dunkelbraune über und sie zeigen das Ansehen von Mischkulturen, bestehend aus weissen, gelben, ockergelben und blaugrünen Pilzarten[1]. Die Konidienträger sind schlank und nehmen nach oben, dem Köpfchen hin, allmählich zu und bilden schliesslich eine Blase. Die Stiele haben eine Länge von 0,5 mm. Die Blase ist kugelig oder keulenförmig und hat einen Durchmesser von 8,4—24μ. Auf dem oberen Teil Blase stehen zahlreiche, radial ausstrahlende, verzweigte Sterigmen. Die primären Sterigmen sind etwa 4,8μ lang und 4μ breit. Die sekundären Sterigmen befinden sich zu zweien oder dreien an den kürzeren primären Sterigmen, und sind 8—12μ lang, am Scheitel derselben sitzen lange Konidienketten. Die Konidien sind klein, stets kugelförmig, farblos, dünnwandig, mit feinen Stacheln versehen und messen 3,2—3,5μ im Durchmesser. Die Anlagen der Schlauchfrüchte konnten wir auf festem und auf flüssigem Nährboden beobachten.

Bei Zimmertemperatur wächst Aspergillus flavo-viridescens günstig auf jedem Nährboden; die Entwickelung auf flüssigem Nährboden ist nicht so gut wie auf festem, doch gedeihen sie noch besser als Aspergillus glaucus.

Sie verflüssigen Gelatine stark. Auf Asparagin-Rohrzuckerlösungen wer-

1) Die Pilzrasen in den Kulturgläsern sind nicht einfarbig, sondern weisen verschiedene Farbentöne auf, und zwar erscheinen sie in den obersten Teilen weiss, dann gelb, und in den unteren Teilen grünlich blau.

den die Pilzrasen braunrot, und die Lösungen verfärben sich gleichartig. Sie wachsen nicht in Glyzerin- und Tanninlösungen. Auf Brot wächst diese Art üppig mit reichlicher Konidienbildung und kompakter Myzelentwickelung.

Diese Art besitzt Protease, Emulsin, Diastase, Tyrosinase, Invertase und Maltase.

Unter den verzweigten grünen Aspergillus-Arten ist der Aspergillus nidulans Eidam[1] trotz beträchtlichem Unterschiede mit unserer Art in näheren Vergleich zu bringen. Yukawas Asp. Gymnosardae[2] steht in nächster Beziehung mit unserer Art, aber die Dimensionsverhältnisse sind verschieden.

Vergleich der Dimensionen der beiden Arten.

	Asp. Gymnosardae	Asp. flavo-viridescens
Konidienträger	1—2,5 mm	0,5 mm
Blasendurchmesser	20—40μ	8,4—24μ
Primäre Sterigmen	10—20$\mu \times$ 5—6μ	4,8 $\times$ 4μ
Sekundäre Sterigmen	10$\mu \times$ 2—3μ	8—12μ
Konidien	4—6μ	3,2—3,5μ

Aspergillus ochraceus Wilhelm, Beiträge zur Kenntnis der Pilzgattung Aspergillus, Strassburger Inaug. Dissert., Berlin, 1877, p. 66; Wehmer, Gattung Aspergillus, p. 114 und 138.

(Pl. XX, Fig. 1—4.)

Die Pilzrasen erscheinen anfangs schneeweiss, dann werden sie ockergelb bis gelbbraun. Die Konidienträger sind sehr stattlich, Stiel derbwandig, 2μ dick, bräunlichgelb. Die Wand des Stieles ist mit gleichfarbigen Wärzchen besetzt, 1 mm lang und 8,4—21μ breit. Köpfchen ellipsoidisch, rauh, scharf abgesetzt vom Stiel, 30—50μ (33 $\times$ 46μ) im Durchmesser, allseitig mit schlanken, radial ausstrahlenden, gedrängten, verzweigten Sterigmen besetzt; diese

1) Wehmer, l. c.; K. Saito, l. c.

2) Yukawa, l. c. pp. 363—365.

mit 2—4 länglichen keil- oder kegelförmigen sekundären Sterigmen, die primären keulenförmig, 8μ lang, 3—4μ breit, die sekundären 12,6μ lang, 2,4μ breit.

Konidien kugelig oder ellspsoidisch, farblos oder gelblich mit feinen Warzen (nicht glatt), 4μ ($4 \times 3.2\mu$) im Durchmesser. Sklerotien sind nicht vorhanden.

Unter den verzweigten, gelben und gelbbraunen Aspergillus-Arten haben wir in Japan nachstehende fünf Arten: Asp. sulfureus Fresenius[1] Asp. Rehmi Zukal (?)[1], Asp. Ostianus Wehmer[1], Asp. Okazakii, Yagi[2] und Asp. melleus Yukawa[3].

Im Vergleich mit den auf dem Katsuobushi vorkommenden gelbbraunen Arten zeigen die folgenden nachbezeichnete Unterscheidungsmerkmale. Asp. Okazakii schwefelgelbe Konidienrasen, glatte Konidien, farblose Stiele und lange sekundäre Sterigmen; Asp. sulfureus glatte Konidien und grosse Blasen; Asp. Rehmi kurze Konidienträger, schlanke Stiele, lange sekundäre Sterigmen und glatte Konidien; Asp. Ostianus meist glatte Konidien, meist einfache Sterigmen und schlanke Stiele. Zu diesen fünf Arten kann Yukawas Asp. melleus in nächste Verwandschaft gebracht werden, aber seine Konidien sind stets glatt und die Sterigmen länger.

Vergleich der Dimensionen.

	Asp. melleus	Asp. ochraceus
Konidienträger	0,7—1 mm	1 mm
Stieldicke	7—25μ	8,4—21μ
Stielwanddicke	0,5—0,7μ	2μ
Köpfchendurchmesser	50—250μ	71—126μ
Blasendurchmesser	20—50μ	30—50μ($33 \times 46\mu$)
Primäre Sterigmen	$10—22 \times 2,5—4\mu$	$8 \times 3—4\mu$
Sekundäre Sterigmen	$10—16\mu(—30\mu) \times 1—2\mu$	$12,6 \times 2,4\mu$
Konidiendurchmesser	2,5—4μ	4μ($4 \times 3,2\mu$)
Sklerotiendurchmesser	0,3—0,7 mm.	—

1) Saito, T. B. M. Vol. 23. No. 270, 1909, p. 329.

2) Okazaki, C. B. II. XIX, 1907, No. 16/18, pp. 481—484 (Taf. I u. 2); Saito, T. B. M. Vol. 23, No. 270, 1909, p. 329.

3) Yukawa, l. c. pp. 358—362.

Wir haben bis jetzt keine Sklerotien gefunden, aber die von uns untersuchte Art steht mit Asp. ochraceus Wilhelm in sehr inniger Verwandtschaft.

Aspergillus candidus (Link) Wehmer, Mémoires de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève, Tome XXXIII (2me partie) No. 4, 1901, p. 95 und 141, Taf. III. Nr. II.

(Pl. XX. Fig. 5—8.)

Der Pilzrasen schneeweiss, in alten Kulturen ins Gelbliche verfärbt. Die Konidienträger sind aufrecht oder gebogen und nehmen nach oben, dem Köpfchen hin, allmählich zu und bilden schliesslich eine Blase. Die Stiele haben eine Länge von 0,5—1 mm. und eine Breite von 8—12μ. Die Köpfchen messen 100—150μ im Durchmesser. Die Blase ist kugelig oder keulenförmig und hat einen Durchmesser von 20—30μ (30 × 25μ). Auf der Blase stehen zahlreiche, radial ausstrahlende, entweder verzweigte oder einfache Sterigmen. Die unverzweigten Sterigmen sind 8—12μ lang und die verzweigten 18—24μ in der Länge. Die primären Sterigmen sind12—14μ lang, 4,8—6,4μ breit. Die sekundären Sterigmen befinden sich zu zweien oder dreien an den langen primären Sterigmen und sind 6,4—10μ lang, 2,5—3μ breit, am Scheitel derselben befinden sich lange Konidienketten. Die Konidien sind ellipsoidisch, rundlich, punktiert oder glatt und messen 3—4,2μ im Durchmesser. Unter den weissen Aspergillus-Arten Japans führen Saito[1] und Yukawa[2] Asp. albus an; aber die von uns untersuchten Arten haben ausserdem rundliche, auch ellipsoidische und feinkörnige Konidien, weshalb sie vielleicht nicht mit Asp. albus, wohl aber mit Asp. candidus identisch sind.

1) Saito, J. C. S. 1904, XVIII. Art, 5 Fig. 15; T. B. M. Vol. 23. No. 270, 1909, p. 329.

2) Yukawa, Journ. Coll. Agric., Imp. Univ. Tokyo. Vol. 1. No. 3, 1911, p. 357.

Penicillium glaucum Link.

J. Matsumura, I. P. J. I, 1904, 157; K. Saito, J. C. S. XVIII, 1904, Art. 5, Taf. II, Fig. 2; T. B. M. XXII, 1908, No. 252, p. 10; J. Hanzawa und S. Miyauchi, Oyashio, 1911, No. 3, p. 31; The Journ.of the Fisheries Society of Japan, 1911, No. 341, p. 20, Fig. 11.

(Pl. XXII, Fig. 9—12.)

Auf gutem Nährboden entwickelt sich diese Art zu einem weissen, dicken Pilzrasen, welcher nach der Konidienbildung blaugrün wird. Die sterilen Pilzfäden sind gefächert und verzweigt und 3—4μ breit. Die Konidienträger stehen aufrecht und wachsen dicht durch und nebeneinander. Die Länge der Stiele verändert sich mit der Beschaffenheit des Nährbodens, meistens sind sie 200—400μ lang und 4—5μ breit, an den Spitzen pinselartig verzweigt, d. h. die Aeste dringen unter der Querwand reihenweise seitwärts hervor, und darauf stehen die flaschenförmigen Sterigmen (letzte Zweige der Konidienträger), und an ihren Spitzen sitzen lange Konidienketten. Die Konidien sind kugelig oder oval, glatt und messen 3—4μ im Durchmesser, anfangs sind sie farblos, dann werden sie blau. Die Perithecien haben 250—300μ im Durchmesser, und sie erscheinen oder bleiben aus je nach Beschaffenheit des Nährbodens. Coremien dagegen bilden sich nicht auf jedem Nährboden. Diese Art verflüssigt Gelatine und peptonisiert Milch.

Sie besitzt Protease, Emulsin, Amidase, Amylase, Lipase, Invertase und Maltase.

Torula sp.

J. Hanzawa und S Miyauchi, Oyashio, 1911, No. 3, p. 32; The Journ. of the Fisheries Society of Japan, 1911, No. 341 p. 21, Fig. 10.

(Pl. XIX, Fig. 9.)

Die Pilzkolonien sind weisslich, feuchtglänzend und schleimig, beim Trocknen werden sie dunkelweiss. Der Mittelteil der Kolonie ist grobkörnig und an den Randteilen wellenartig. Dir Zellen sind kugelig, haben eine Fettkugel in der Mitte und messen 3—6μ im Durchmesser. Sporen bilden sie nicht. Sie verflüssigen weder Gelatine, noch ändern sie Milch, und entwickeln kein Gas aus den Zuckerlösungen.

Cladosporium herbarum (Pers.) Link.

K. Saito, J. C. S. XVIII. 1904, Art. 5, Fig. 1.; J. Hanzawa und S. Miyauchi, Oyashio, No. 3, p. 32; The Journ. of the Fisheries Society of Japan, 1911, No. 341, p. 21. Fig. 6—8. (Pl. XXI. Fig. 5—8.)

Die Pilzdecken sind olivengrün und bedecken die Nährsubstrate mit schwarzen Häuten. Die Konidienträger wachsen gerade in die Höhe, an dem Scheitel und an den Seiten sitzen die Konidien. Die Konidien sind kugeligoval bis kugelig, olivengrün, 12—25μ lang und 5—10μ breit. Manchmal kommt eine Querwand vor, und die Konidien werden zweizellig. Das Myzel ist 4—10μ breit, gleichfarbig wie die Konidien, anfangs dünnwandig und gleichmässigen Inhalt besitzend, aber später wird es dunkelfarbig und dickwandig.

Diese Art peptonisiert Milchkasein und verflüssigt Gelatine. Die Entwickelung der Pilze ist auf festem Nährboden besser als in flüssigem; Asparagin-Rohrzuckerlösung ist für ihre Entwickelung ausnahmsweise günstig. Auf Rohrzucker- oder Glukoselösungen entwickeln sie sich spärlich und verbreiten sich nicht auf der ganzen Oberfläche. Auf Glyzerin-Nährlösung ist die Entwickelung schlechter.

Catenularia fuliginea Saito. J. C. S. XVIII, Art. 5, 1904, p. 51, Taf. II, Fig. 4; T. B. M., XX. 1906, p. 60; J. Hanzawa und S. Miyauchi, Oyashio, 1911, No. 3, p. 32.; The Journ. of the Fisheries Society of Japan, 1911, No. 341, p. 21,

Fig. 9.

(Pl. XXII, Fig. 1—8.)

Die Pilzrasen sind anfangs klein und rundlich, dann werden sie gross, bilden terrassenförmige Polster und sind schokoladenfarbig. Die Konidienträger sind nicht verzweigt, schlank, etwas dicker als das sterile Myzel, spatelförmig und tragen am Scheitel sehr lange Ketten von konidien. Die Konidien bilden sich oidienartig von Hyphen, sie teilen sich in kleinere Zellen, in denen sich die Konidien bilden, chlamydosporenartig, anfangs zylindrisch umhüllt mit Mutterzellen-Membran, dann werden sie kugelig oder eckig. Die Konidien sind braunfarbig und besitzen feine Stacheln, 3—5μ im Durchmesser.

Ihre Verflüssigung der Gelatine ist schwach, und sie peptonisieren das Milchcasein. Auf festem Nährboden ist ihr Wachstum sehr üppig, auf flüssigem Nährboden dagegen ungünstig; jedoch entwickeln sie sich etwas besser auf Asparagin-Rohrzuckerlösung, Glyzerin, Rohrzucker- und Glukoselösung.

Zuerst fand sie Lindner[1] in Deutschland, der sie Schokoladen-Pilze nannte und nachher Saito[2] in Japan, der ihnen den Namen Catenularia fuliginea beilegte.

Wir haben auf verschiedenen Nahrungsstoffen dieselben saprophytisch gefunden.

Oospora glabra n. sp.

(Pl. XXIII.)

Zwecks Sterilisation brachten wir einmal mit Aspergillus glaucus verschimmelten und wieder gereinigten Katsuobushi in einen mit Chloroform-

1) Lindner, Atlas der Mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde, 1903.; Mikroskopischen Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, IV. Aufl. 1095, p. 337.

2) K. Saito, Untersuchungen über die Atmosphärischen Pilzkeime, (1. Mitteilung), Journ. Coll. Sc. Imp. Univ. Tokyo, Japan. XVIII, Art, 5. 1904, p. 51.; Nachtrag zu der Abhandlung „Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime, I", Bot. Magazine, Tokyo, Vol. XX, p. 60. 1906.

dämpfen gefüllten Probierzylinder; trotzdem entwickelte sich nach längerer Zeit auf dem Katsuobushi ein weisslicher Schimmelüberzug. Der Katsuobushi schied einen Ammoniak und Trimethylamin ähnlichen, stinkenden Geruch aus und reagierte stark alkalisch.

Bei Übertragung dieses weissen Überzuges auf verschiedene Nährböden zeigte sich kein Wachstum.

Rasen anfangs weiss, mehl- oder hautartig, später werden sie unbedeutend bräunlich, ausgebreitete Überzüge bildend. Myzel verzweigt, septiert, 4μ breit. Traghyphen kurz, aufsteigend, etwas angeschwollen und zugespitzt. Konidien in langen Ketten wachsend, aber leicht zerfallend, Gestalt sehr mannigfaltig, ei- und citronenförmig, kugelig, ellipsoidisch, an der Basis abgeplattet und am Scheitel etwas zugespitzt, 8—12½μ lang, 8—10½μ breit, hyalin. Die Wände der Konidien sind dick und messen 1½μ.

Unter den Ammoniak entwickelnden weissen Pilzarten befindet sich Penicillium brevicaule Saccardo var. glabrum Thom (für Arsen-Nachweis benützt). Die morphologischen und physiologischen Eigenschaften sind nach Thoms' Beschreibung[1] dieselben wie bei unserer Pilzart (abgesehen von dem Fehlen der sklerotienbildenden Fähigkeit und von der Wachstumsfähigkeit auf Gelatine.). Somit ist ein Zweifel an der Identität beider Arten nicht ganz ausgeschlossen.

Diese Art zur Penicillium-Gattung zu stellen, ist nach unserer Ansicht unrichtig; richtiger ist es wohl, diese Art der Gattung Oospora unterzuordnen.

---

1) Charles Thom. l. c. p. 48:— „Colonies white or only slightly yellowish tinged in all gelatin media, grow not at all or with difficulty on agar of most formulae. Aerial portion consisting of short, closely crowded conidiophores making a powderly surface overgrown by loosely trailing hyphae and ropes of hyphae, spreading broadly over the substratum. Conidiophores, short, mostly 10—30μ, arising directly from submerged hyphae or numerously and irregularly borne as perpendicular branches of the superficial hyphae and rope of hyphae. Conidial fructifications from simple chains of spores to fairly complex penicillate groups of branchlets resembling P. brevicaule, but mostly less complex. Conidia obovate, pyriform 7—8 by 8—10μ or almost globose, 7—9μ, smooth, white, rather thickwalled and retaining their power to germinate for many months. In old potatoe and other cultures black sclerotia are formed in the substratum but do not produce asci. Liquefies gelatin rapidly (within one week), gives a stong alkaline reaction and ammoniacal odor."

Zusammenstellung der Resultate.

1) Die Pilzarten, welche auf dem Katsuobushi sich entwickeln, sind die folgenden neun. Aspergillus glaucus Link, Aspergillus flavo-viridescens n. sp., Asp. candidus, Asp. ochraceus Wilhelm, Penicillium glaucum Link, Torula sp., Cladosporium herbarum (Pers.) Link, Catenularia fuliginea Saito und Oospora glabra n. sp. Besonders Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum und Torula sp. gedeihen reichlich auf dem Katsuobushi. Im letzten Stadium der Verschimmelung entwickelt sich nur Aspergillus glaucus.

2) Sie beeinflussen die Oberfläche des Katsuobushi bei der Verschimmelung auf ganz verschiedene Weise. Aspergillus glaucus verbessert die Oberfläche; Penicillium glaucum und Torula sp. verschlechtern sie.

3) Auf dem völlig getrockneten und wasserarmen Bonitenfleische entwickelt sich Aspergillus glaucus, an dem wasserreichen Katsuobushi Penicillium glaucum und Torula sp.

4) Penicillium glaucum und Torula sp. gedeihen besonders in Zimmer-Temperatur; Aspergillus glaucus entwickelt sich besonders bei 25—26° C.

5) An den fettreichen und wasserarmen Teilen des Katsuobushi gedeiht jedoch nur Aspergillus glaucus.

6) Die Zusammensetzung des Katsuobushi nach seiner Verschimmelung ist verschieden nach den verschiedenen Pilzarten, d. h. Penicillium glaucum vermindert den Wassergehalt, verzehrt mehr Nichteiweissstoffe als Aspergillus glaucus und Torula sp., aber nur die letztern spalten mehr Fett ab.

7) Der geeignete Pilz zur Katsuobushibereitung ist wohl Aspergillus glaucus Link.

Den 3. November 1911.

Erklärung der Tafeln.

Pl. XIX.

Fig. 1—8. Aspergillus glaucus von Katsuobushi isoliert.

Fig. 1. Konidienträger mit Konidien. a, b, c von Katsuobushi; d von Kojiagar; e, f, g anormale Gestalt auf Nährboden gezogen; h, i von Katsuobushi beim spätern Stadium des Verschimmelungsprozesses.

Fig. 2. Sterigmen. j von Katsuobushi; k von Nährboden.

Fig. 3. Konidien (o, p).

Fig. 4. Perithecien. m, Jüngere; n, Reifere.

Fig. 5. Perithecienwand.

Fig. 6. Asken mit Sporen.

Fig. 7. Sporen (q, r).

Fig. 8. Entwickelungsstadium der Perithecien.

Fig. 9. Torula sp.

Pl. XX.

Fig. 1—4. Aspergillus ochraceus.

Fig. 1. Konidienträger. a, b Konidienträger mit Köpfchen; c, d Konidienträger mit Blasen; e, e' Blasen mit Sterigmen; f untere Teile der Konidienträger.

Fig. 2. Verzweigte Sterigmen (g, h).

Fig. 3. Anormale Gestalten der Konidienträger. i Kopfähnliches Gebilde ohne Blasen, welches direkt aus dem Myzel sich entwickelt. j, k Teil von einem derartigen Gebilde; l Sterigmen direkt aus Myzel.

Fig. 4. Konidien (m, n, o).

Fig. 5—8. Aspergillus candidus.

Fig. 5. Konidienträger (p, q, r).

Fig. 6. Sterigmen mit Konidien (s, t).

Fig. 7. Anormale Gestalten der Konidienträger. u. Verzweigte Konidienträgen mit einfachen Sterigmen. v, Blasen mit einfachen Sterigmen. w, Einfache Konidienträger von Blasen hervorgehend. x, Sterigmen direkt aus Myzel.

Fig. 8. Konidien (y, z).

Pl. XXI.

Fig. 1—4. Aspergillus flavo-viridescens. n. sp.

Fig. 1. Konidienträger (a, b, c, d, e).

Fig. 2. Sterigmen, einfache (f, h, i, j) und verzweigte (g, k).

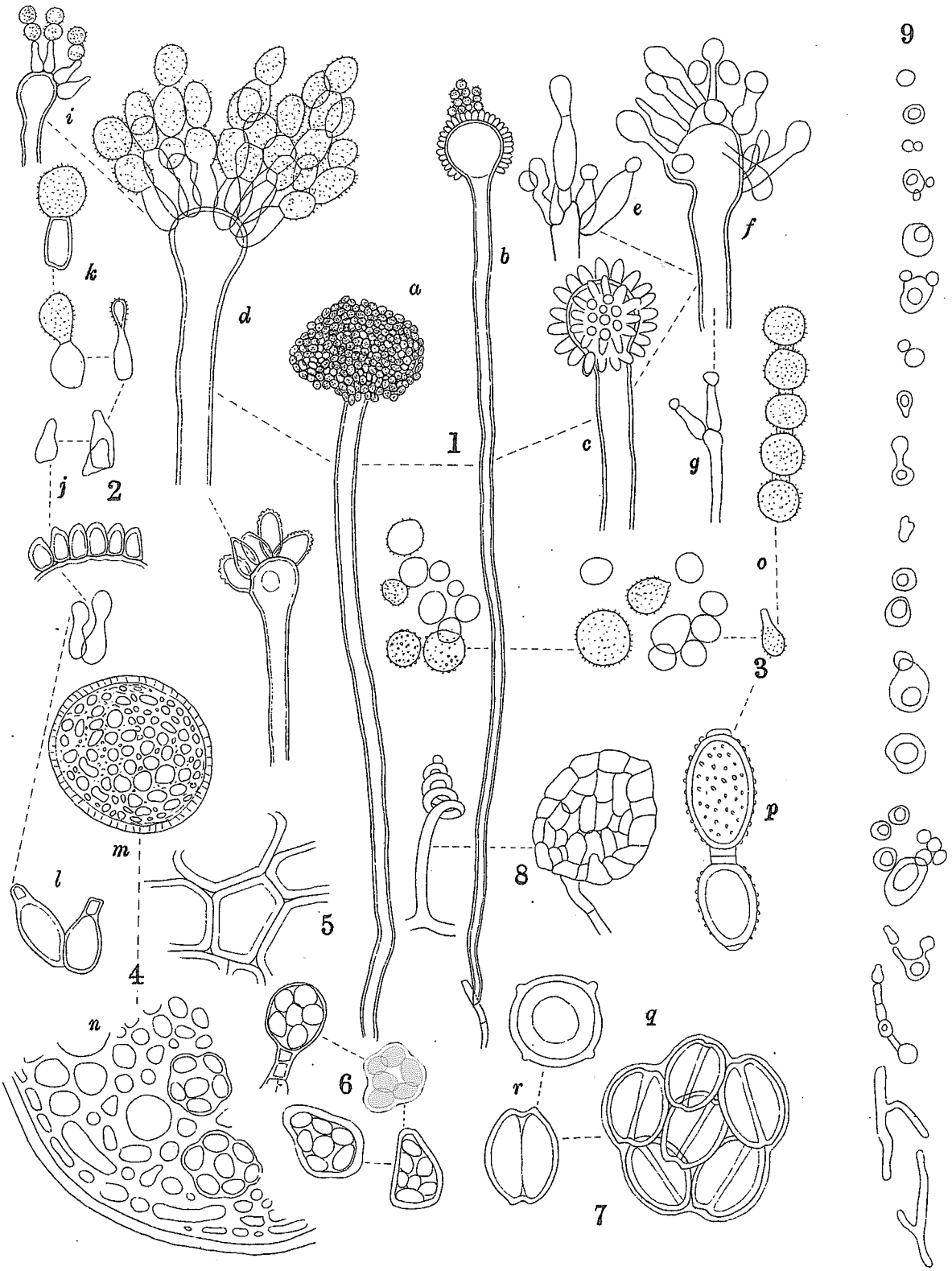
Fig. 3. Anlagen der Sklerotien (l, m); Perithecienwand (p, o).
Fig. 4. Keulenförmige Myzelien.
Fig. 5—8. Cladosporium herbarum.
Fig. 5. Konidienträger mit Konidien.
Fig. 6. Konidienträger.
Fig. 7. Chlamydosporenartige dicke Myzelien.
Fig. 8. Konidien.

Pl. XXII.

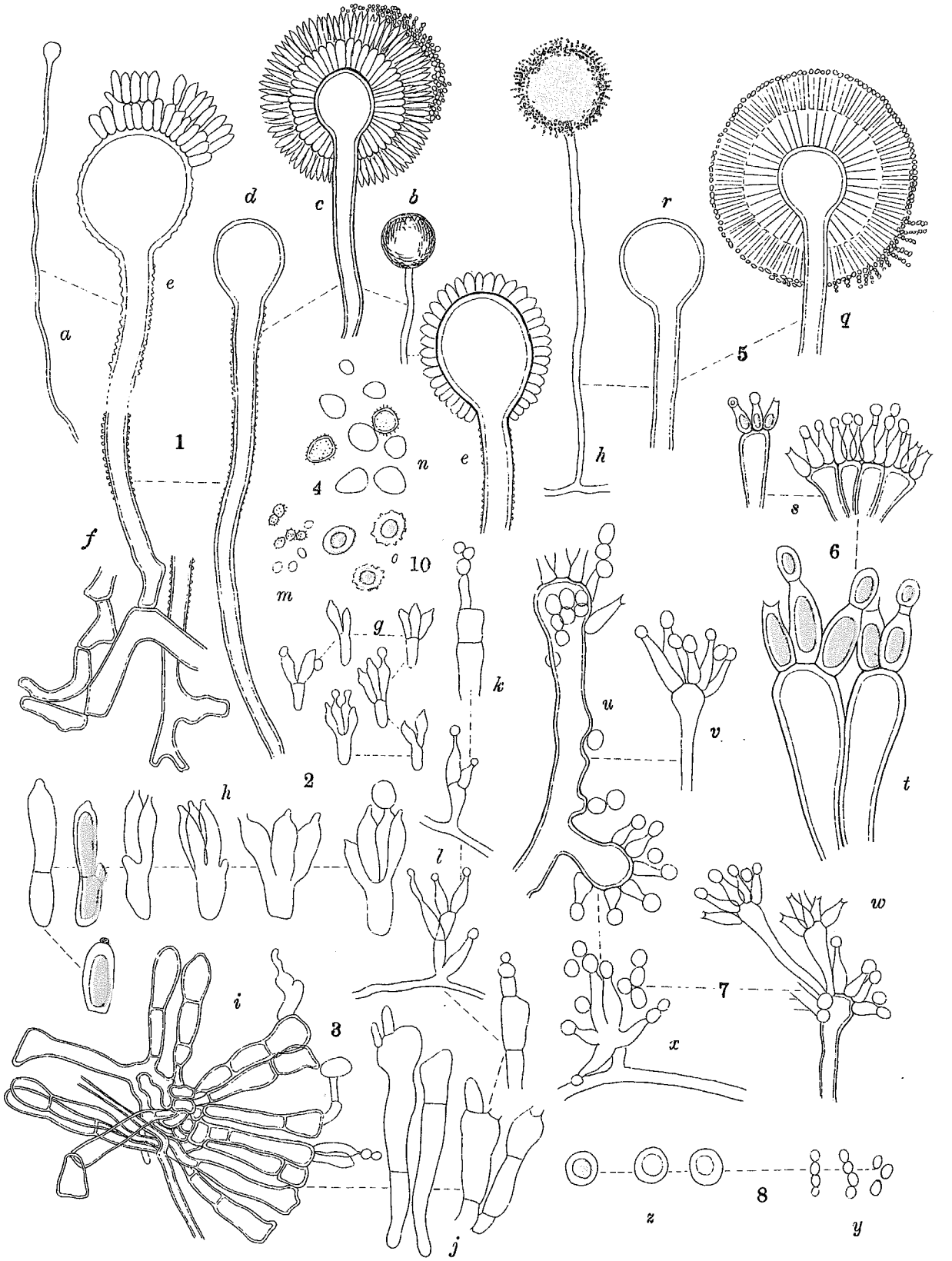
Fig. 1—8. Catenularia fuliginea.
Fig. 1. Kolonien. (Nat. Grösse).
Fig. 2. Aussenseite der Kolonien.
Fig. 3. Innenbild des Myzeliengeflechts.
Fig. 4. Konidienketten.
Fig. 6. Spatelähnlicher Konidienträger.
Fig. 7. Entwickelungsstadien der Konidien.
Fig. 8. Anormale Gestalten der Myzelien.
Fig. 9—12. Penicillium glaucum.
Fig. 9. Konidienträger mit Konidien.
Fig. 10. Konidien.
Fig. 11. Anormale Gestalten der Konidienträger und Myzelien.
Fig. 12. Perithecienanlage.

Pl. XXIII.

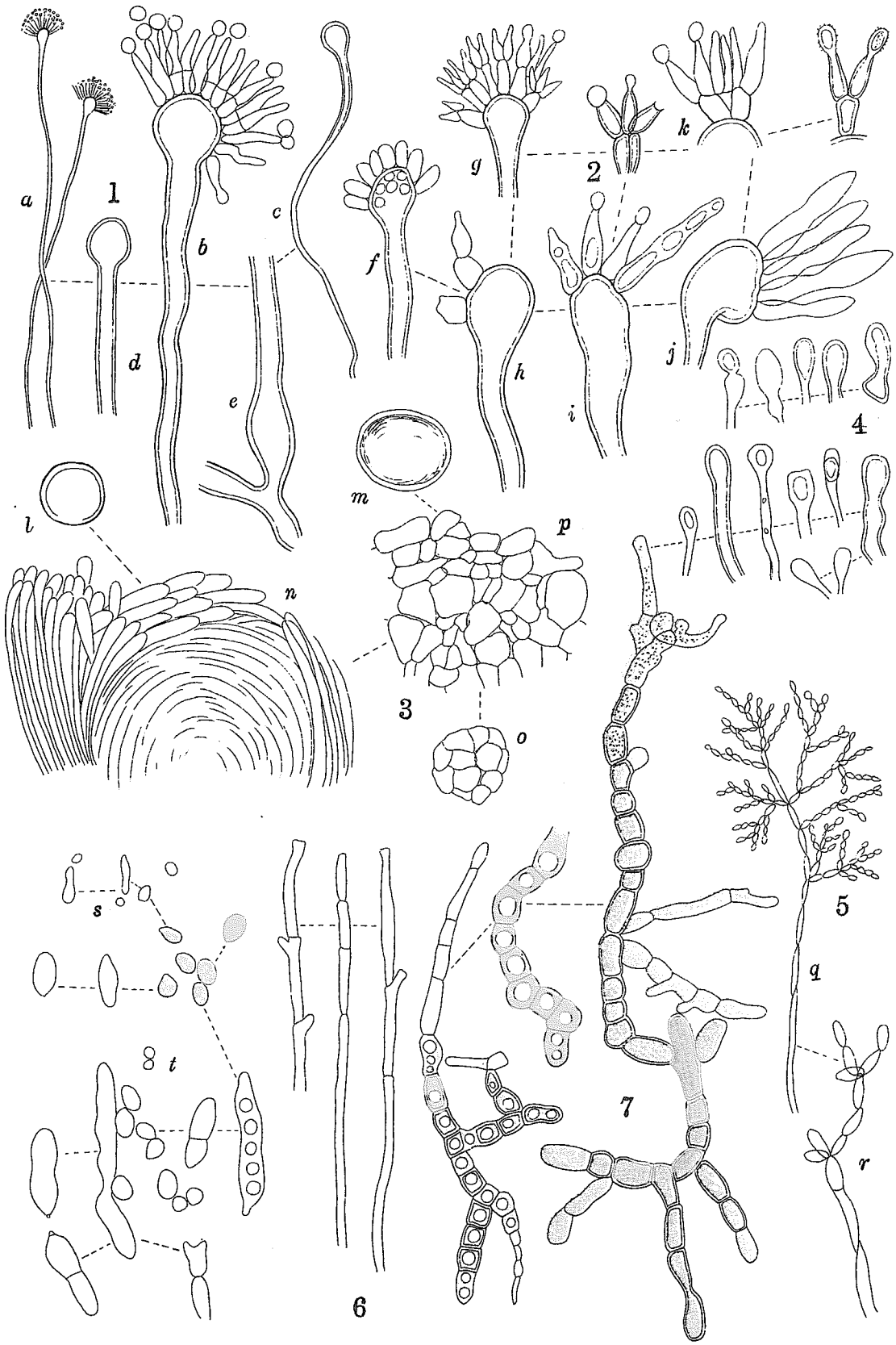
Fig. 1—6. Oospora glabra. n. sp.
Fig. 1. Pilzdecken auf der Oberfläche des Katsuobushi.
Fig. 2. Konidienträger.
Fig. 3. Desgleichen.
Fig. 4. Konidien.
Fig. 5. Verschiedene Gestalten der Konidienträger und Konidien.
Fig. 6. Keimende Konidien.



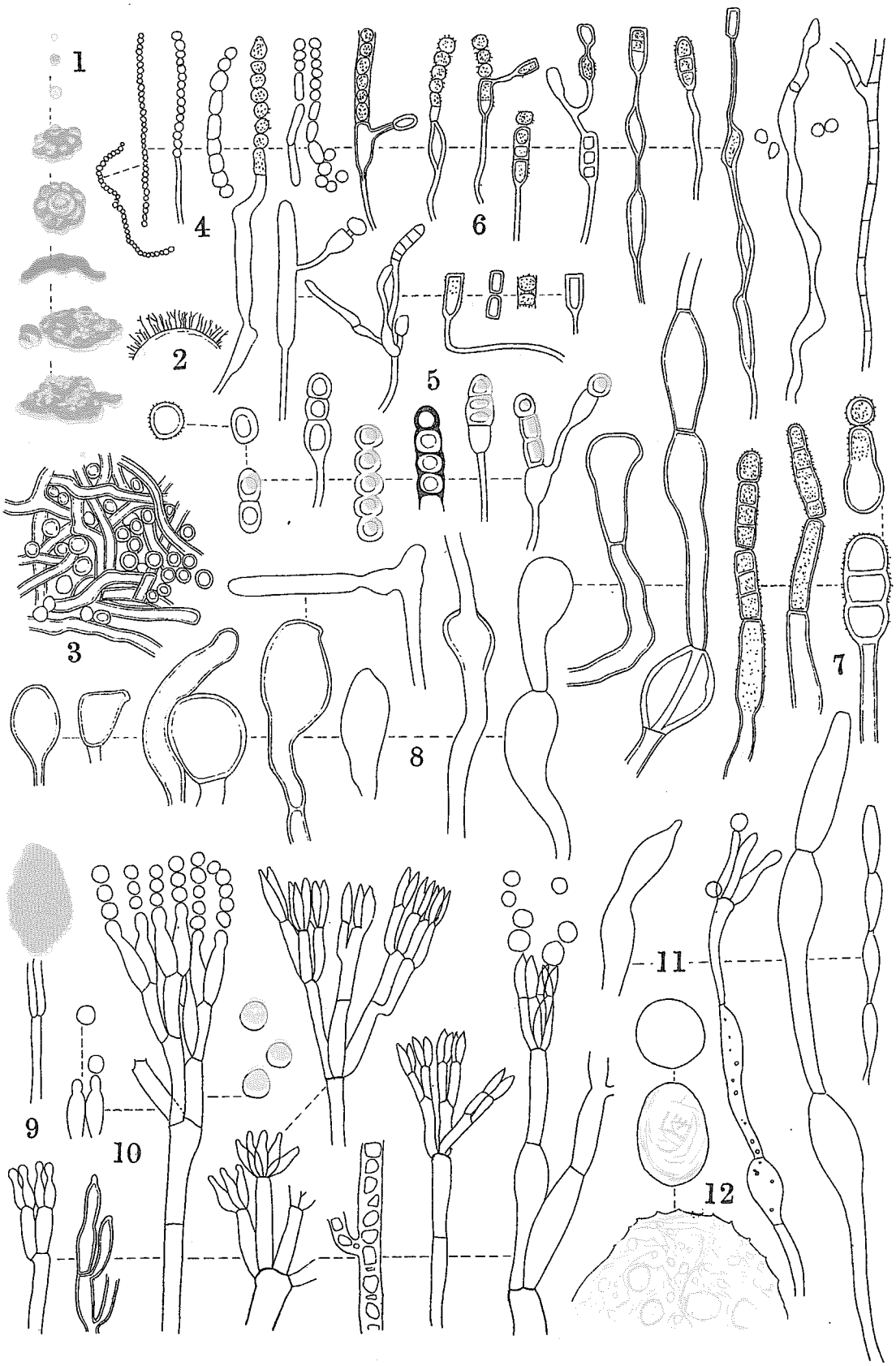
Hanzawa del.



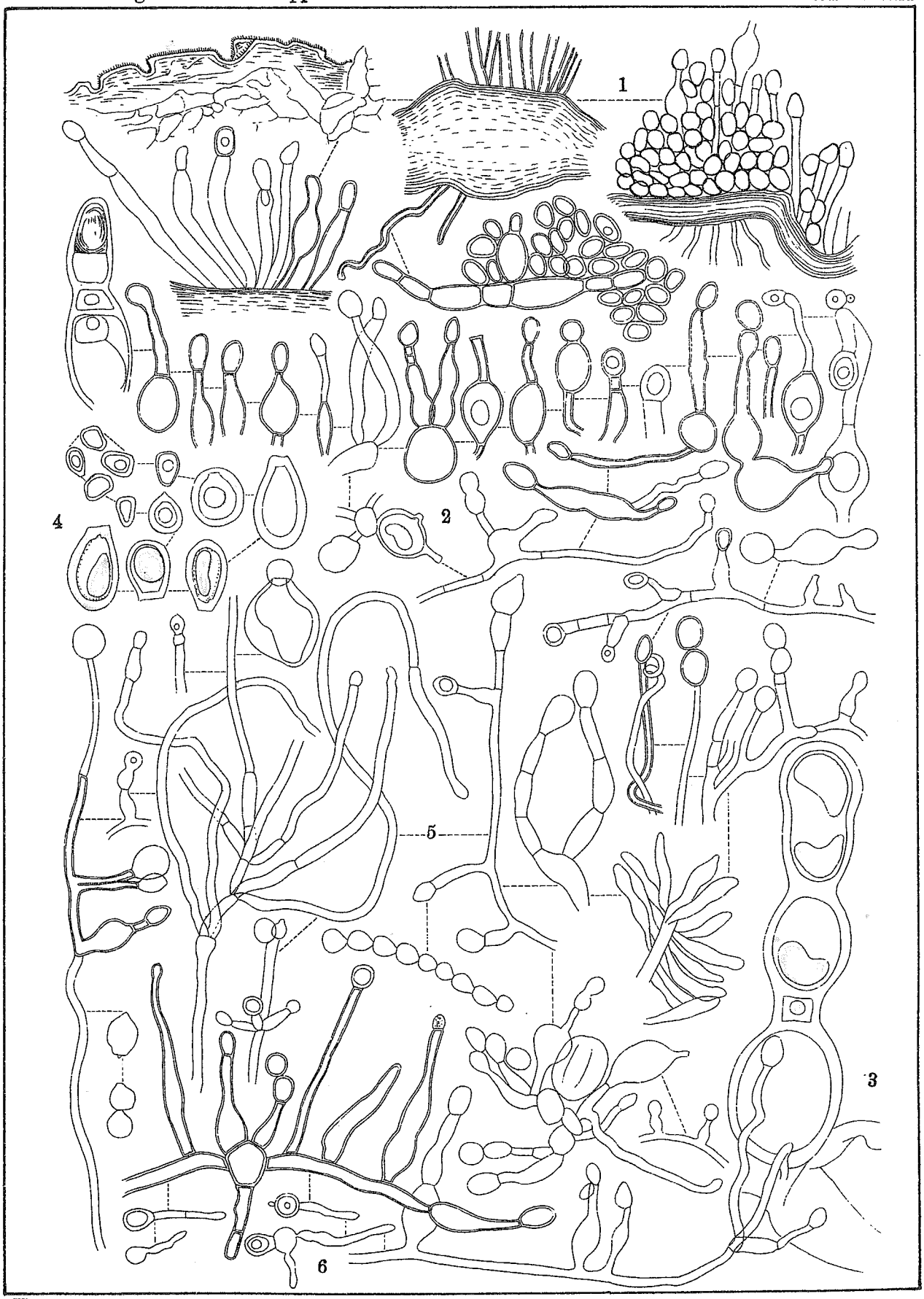
Hanzawa del.



Hanzawa del.



Hanzawa del.



Hanzawa del.