

# Über die Bildung von konzentrischen Zonen einiger Helminthosporium-Arten in Reinkulturen.

Von

Yosikazu Nisikado.

[Am 26, März 1930.]

---

## Kapitel I. Einleitung.

Während der Pilzkulturenversuche kann man manchmal verschiedene konzentrische Zonen erkennen. Die Bildung dieser Zonen ist sehr verschieden je nach den Arten der Pilze, den Eigenschaften der benutzten Nährböden, sowie dem Wechsel der Temperatur und des Lichtes. Die Flecken einiger durch Pilze hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten zeigen zuweilen konzentrische Zonen, die oft als Merkmal einer bestimmten Krankheit erkennbar sind. In Japan finden sich viele solche unter den Namen „Ringfäule“ (Rinmon-byô) bekannten Pflanzenkrankheiten. Bei dieser Ringfäule weisen die Flecken sehr deutliche konzentrische Zonen auf. Daher erscheint es sehr interessant, den Ursachen zur Bildung der konzentrischen Zonen in Reinkulturen nachzuforschen.

In bezug auf die Bildung dieser Zonen verschiedener Pilze haben MILBURN (1904), MOLZ (1907), HUTCHINSON (1907), HEDGCOCK (1906), STEVENS und HALL (1909), GALLEMAERTS (1910), RIEDEMEISTER (1908), MUNK (1912), BISBY (1925) und HEIN (1930) viele Versuche angestellt.

Besonders hat HEDGCOCK (1906) die Pilze *Cephalothecium*, *Penicillium*, *Mucor* und *Hormodendron* studiert. Nach diesem werden konzentrische Zonen gebildet, wenn die Kulturen dem Tages- oder blauen Licht ausgesetzt sind. Dagegen erscheinen keine Zonen, wenn die Kulturen im Dunkeln oder im roten Licht gehalten werden. Nach MOLZ (1906) werden die konzentrischen Zonen in den Kulturen von *Sclerotinia fructigena* durch den Wechsel des Tageslichtes und der Dunkelheit gebildet. Im Dunkeln erzeugt dieser Pilz die Konidien sehr spärlich.

GALLEMAERTS (1910) erkannte, daß die Bildung der konzentrischen Zonen in *Cephalothecium roseum* durch abwechselnde Helligkeit und Dunkelheit verursacht wird. Das Licht hemmt die Konidienbildung des oben genannten Pilzes. Abwechselnde Wirkung des roten, braunen oder blauen Lichtes und der Dunkelheit verursacht die Bildung der konzentrischen Zonen. Bei konstanter Helligkeit oder Dunkelheit aber werden keine Zonen geschaffen.

BISBY (1925) hat die Wirkung von Licht und Temperatur auf die Bildung der konzentrischen Zonen in den Kulturen von *Fusarium discolor sulphureum* festgestellt. Wenn die Kulturen eine viertel oder halbe Stunde dem hellen Tageslicht ausgesetzt werden, so können sie die mit bloßem Auge wahrnehmbaren Konidien erzeugen. Eine sechs Minuten lange Belichtung durch eine 25 Kerzen starke Kohlenglühlampe in der Entfernung von 1 Meter verursacht Zonenbildung. Die gleiche Wirkung zeigt eine zwei oder zwei einviertel Minuten lange Belichtung durch eine Tungstenglühlampe. Die Zonen können auch durch abwechselnde Temperaturen in konstanter Dunkelheit hervorgerufen werden.

Die Ergebnisse der oben beschriebenen vielen Verfasser beweisen, daß die Bildung der konzentrischen Zonen durch die folgenden Faktoren bedingt wurden:

1. Arten der Pilze.
2. Eigenschaften der benutzter Nährböden.
3. Wechseln der Stärke und Eigenschaft des Lichtes.
4. Wechseln der Kultur-Temperaturen.

In Folgendem wird ein Ergebnis eines vom Verfasser selbst angestellten Versuches über die Bildung von konzentrischen Zonen an einigen Arten der Gattung *Helminthosporium* dargestellt.

## Kapitel II. Versuche über den Einfluss des Lichtes und der Temperatur.

Es folgen nun einige Versuche über den Einfluss des dritten und vierten der oben beschriebenen Faktoren. In bezug auf diese beiden wurden viele Versuche mehrmals gemacht, die meistens dieselben Ergebnisse zeigten. Deswegen möchte der Verfasser in Folgendem das Resultat eines von ihm angestellten Versuches ziemlich ausführlich beschreiben.

*Helminthosporium*-Arten gedeihen sehr gut auf kohlenhydratreichen Nährböden, wie z. B. Malzextraktagar. Die Kolonien werden hier ganz schwarz, und konzentrische Zonen kann man nicht erkennen. Dagegen kann man solche Zonen sehr deutlich wahrnehmen, wenn man den Pilz auf Nährböden, wie Reisstrohdekotagar, kultiviert. Deshalb wurde auch bei diesem Versuch das Reisstrohdekotagar als Nährboden gebraucht. Unter den vom Verfasser verwendeten *Helminthosporium*-Arten haben die folgenden ziemlich deutliche konzentrische Zonen in Reinkulturen gezeigt:

1. *Helminthosporium Oryzae* BREDA DE HAAN, Stamm, Nr. 45.
2. *Helminthosporium* sp. isoliert von *Imperata arundinacea*, Stamm, Nr. 95.
3. *Helminthosporium Maydis* NISIKADO et MIYAKE, Stamm, Nr. 245.
4. *Helminthosporium Setariae* SAWADA, Stamm, Nr. 256.

Diese vier verschiedenen Stämme von *Helminthosporium*-Kulturen wurden unter den folgenden vier ungleichen Bedingungen kultiviert:

Nr. 1. Im dunklen Thermostat bei 20°C.

Nr. 2. Im dunklen Thermostat bei 30°C.

Nr. 3. Im dunklen Thermostat abwechselnd bei 30°C und 22°C, und zwar von 7 Uhr morgens bis 7 Uhr abends bei 30°C, und von 7 Uhr abends bis 7 Uhr morgens bei 22°C.

Nr. 4. Im hellen Thermostat, in dem das zerstreute Licht durch die Türen gelangen kann, bei 30°C konstant.

In jedem Thermostat wurde ein automatischer Thermograph aufgestellt, der die Temperatur jedes Thermostates registriert. Alle diese Thermostaten wurden bis zum Ende des sechsten Tages ungeöffnet und ruhig stehen gelassen. Sodann wurden die Ergebnisse dieser Kulturen untersucht, die in der folgenden Tabelle übersichtlich geordnet sind:

Tabelle 1.

Verhältnis des Lichtes und der Temperatur zur Bildung  
der konzentrischen Zonen in den Kolonien  
von *Helminthosporium*-Arten.

	<i>Helm. Oryzae</i> , Stamm Nr. 45	<i>Helm. Setariae</i> , Stamm Nr. 256	<i>Helm. Maydis</i> , Stamm Nr. 245	<i>Helm. sp. aus Imperata</i> , Stamm Nr. 95
Dunkelkulturen bei 20°C	—	—	—	—
Dunkelkulturen bei 30°C	—	—	—	—
Dunkelkulturen bei abwechselnd 22° und 30°C	++++	++	++	+++
Abwechselnd Licht- und Dunkelkulturen bei 30°C	+++	++	++	++

Der Grad der Bildung der konzentrischen Zonen ist durch folgende Zeichen ausgedrückt: (—) keine, (+) schwache, (++) ziemlich starke, (+++) starke, (++++) sehr starke Bildungen der konzentrischen Zonen.

Die oben gegebene Tabelle zeigt, daß die Kulturen im dunklen Thermostat bei konstanter Temperatur (20°C und 30°C beide) keine konzentrischen Zonen gebildet haben. Dagegen haben die im Dunkeln bei abwechselnder Temperatur auf gewachsenen Kulturen deutliche konzentrische Zonen gezeigt. Die Kulturen, die bei konstanter Temperatur in Dunkelheit und Helligkeit täglich abwechselnd gehalten wurden, haben auch deutliche konzentrische Zonen ergeben. Das Bild in Tafel XXIX beweist sehr klar diese Ergebnisse. Diese Tatsache wurde schon im Jahre 1925 von BISBY beschrieben. In Folgendem möchte der Verfasser die Ergebnisse der Besichtigung von Kolonien aller Kulturen unter verschiedenen Bedingungen beschreiben, um die Eigenschaften der konzentrischen Zonen einer jeden von ihnen eingehend zu erklären.

I. Versuch. Über *Helminthosporium Oryzae* Breda de Haan, Stamm, Nr. 45.

[Nr. 1. Dunkelkulturen bei 20°C.] Keine konzentrischen Zonen sind gebildet. Zuerst kann man weisse Hyphen im Zentrum (Durchmesser ca. 15 mm) bemerken, und die anderen äußeren Teile der Kolonien sind ziemlich dunkel. Verhältnismässig gute Sporenbildung und sehr geringes Luftmyzel. [Nr. 2. Dunkelkulturen bei 30°C.] Keine konzentrischen Zonen. Die Kolonien gedeihen besser als die von Nr. 1. bei 20°C. Sehr üppige Sporenbildung und sehr geringes Luftmyzel. [Nr. 3. Dunkelkulturen bei abwechselnd 30° und 22°C.] Deutliche konzentrische Zonen, die nicht durch die Menge von Luftmyzel entstehen, sondern nur durch die Färbung (Dunkelung) von Myzel im Substrat. Der bei 30°C gewachsene Teil der Kolonie ist wenig gefärbt, obwohl der bei 20°C gewachsene ziemlich deutliche Färbung aufweist. In der Menge der Sporenbildung bei den beiden Temperaturen gibt es keine großen Unterschiede. [Nr. 4. Abwechselnd Dunkel- und Hellkultur bei 30°C.] Deutliche konzentrische Zonen sind gebildet. Aber sie sind nicht so deutlich wie die bei abwechselnden Temperaturen hervorgerufenen. Während der Helligkeit wird mehr Luftmyzel gebildet, wenn auch in der Dunkelheit mehr Sporen entstehen. In den dunklen Kulturen kann man manchmal wenig gefärbtes Myzel im Substrat bemerken. Kurz gefasst, werden die von *Helminthosporium Oryzae* gebildeten konzentrischen Zonen durch den Grad der Färbung von Myzel im Substrat bei abwechselnder Temperatur und durch die Menge der Konidien- und Luftmyzelbildung bei abwechselnder Helligkeit und Dunkelheit geschaffen.

II. Versuch. *Helminthosporium* sp. aus *Imperata arundinacea*, Stamm, Nr. 95.

[Nr. 1. Dunkelkultur bei 20°C.] Keine konzentrischen Zonen haben sich gebildet. Die Kolonien sind tiefolivgrün gefärbt und die Sporen über die ganze Oberfläche verbreitet, mit Ausnahme etwa 2 mm vom Rande. [Nr. 2. Dunkelkultur bei 30°C.] Keine konzentrischen Zonen. Aehnlich, aber nur etwas größer im Durchmesser und heller als die bei 20°C gewachsenen Kolonien. [Nr. 3. Dunkelkultur bei abwechselnd 30° und 22°C.] Konzentrische Zonen sind gebildet, aber nicht deutlich. Luftmyzelbildung ist sehr gering. Das Myzel im Substrat ist bei 20° etwas dunkler als bei 30° Temperatur, sodass man die konzentrischen Zonen erkennen kann. [Nr. 4. Abwechselnd Dunkel- und Hellkultur bei 30°C.] Die Bildung des Luftmyzels ist nur gering und zeigt in der Entwicklung keinen Unterschied zwischen Dunkelheit und Helligkeit. Bei Dunkelheit wurden mehr Sporen als in der Helligkeit gebildet, dadurch kann man die konzentrischen Zonen wahrnehmen.

III. Versuch. *Helminthosporium Maydis* NISIKADO et MIYAKE, Stamm, Nr. 245.

[Nr. 1. Dunkelkultur bei 20°C.] Keine konzentrischen Zonen. Die

Kolonien sind nicht gefärbt. Weisses Luftmyzel hat sich auf der ganzen Oberfläche gebildet, aber nicht üppig. [Nr. 2. Dunkelkultur bei 30°C.] Keine konzentrischen Zonen. Die Kolonien sind nicht gefärbt und mit weissem, jedoch nicht-üppigem Luftmyzel bedeckt. [Nr. 3. Dunkelkultur bei abwechselnd 30° und 22°C.] Die konzentrischen Zonen sind erkennbar an dem Unterschied, der durch die Menge des Luftmyzels verursacht worden ist, und zwar ist die Menge des Myzels bei 30° etwas geringer als die bei 20°C. [Nr. 4. Abwechselnd Dunkel- und Hellkultur bei 30°C.] Die konzentrischen Zonen haben sich hier auch gebildet, aber nicht so deutlich wie bei den abwechselnden Temperaturen. Bei der Entwicklung während der Helligkeit ist mehr Luftmyzel und bei der Dunkelheit sind mehr Sporen gebildet worden.

#### IV. Versuch. *Helminthosporium Setariae* SAWADA, Stamm, Nr. 256.

[Nr. 1. Dunkelkultur bei 20°C.] Keine konzentrischen Zonen. Die Kolonien sind dunkelolivgrün gefärbt und mit geringem Luftmyzel bedeckt. [Nr. 2. Dunkelkultur bei 30°C.] Keine konzentrischen Zonen. Die Kolonien sind fast farblos und mit feinem, ziemlich hohem Luftmyzel bedeckt. [Nr. 3. Dunkelkultur bei abwechselnd 30° und 22°C.] Konzentrische Zonen sind wahrnehmbar. Die Bildung des Luftmyzels ist bei 30°C stärker als bei 22°C, ausserdem ist die Farbe des Myzels im Substrat bei 30°C heller als bei 22°C. Deshalb kann man die konzentrischen Zonen in diesen Kulturen deutlich erkennen, wenn man die Schalen im auffallenden Licht betrachtet. Beschaut man sie aber bei durchfallendem Licht so sind sie, nicht deutlich erkennbar, weil sich die gefärbten Zonen und die mit mehr Luftmyzel bewachsenen nicht voneinander abheben. [Nr. 4. Abwechselnd Dunkel- und Hellkultur bei 30°C.] Konzentrische Zonen sind gebildet. Im Licht wird dichteres Myzel gebildet als bei Dunkelheit. In diesem Falle sind die konzentrischen Zonen im durchfallenden Licht deutlicher wahrnehmbar als bei auffallendem.

### Kapitel III. Schlussbemerkungen.

Die konzentrischen Zonen einiger *Helminthosporium*-Arten sind durch Veränderung von Kulturbedingungen verursacht worden. Massgebende Faktoren waren Temperatur und Licht, sowohl einzeln als auch zusammen wirkend. Es sind dabei folgende Unterschiede in der Entwicklung der *Helminthosporium*-Arten beobachtet worden:

- 1) In der Stärke der Konidienbildung.
- 2) In der Stärke der Bildung von Luftmyzel.
- 3) Im Grad der Färbung des Myzels im Substrat.

Aber die einzelnen Arten verhalten sich gegenüber diesen Änderungen von Licht und Temperatur nicht gleichmässig. Diese Zusammenhänge zwi-

schen Licht, Temperatur und Bildung von Konidien und Luftmyzel sollen in einer Tabelle dargestellt werden.

Tabelle 2.

Zusammenhang zwischen Licht, Temperatur und der Bildung von Luftmyzel und Konidien bei *Helminthosporium*-Arten.

	Bei tiefer Temperatur [bei 20°C]	Bei hoher Temperatur [bei 30°C]	Im Licht	Im Dunkeln
<i>Helm. Oryzae</i> , Stamm Nr. 45.	Myzel im Substrat etwas gefärbt.	Fast keine Färbung des Myzels im Substrat.	Üppiges Luftmyzel, geringe Konidienbildung.	Fast kein Luftmyzel, üppige Konidienbildung.
<i>Helm. sp. aus Imperata arundinacea</i> , Stamm Nr. 95.	Myzel im Substrat ziemlich stark gefärbt.	Myzel im Substrat ziemlich hell gefärbt.	Üppiges Luftmyzel, geringe Konidienbildung.	Verhältnismässig wenig Luftmyzel, ziemlich gute Konidienbildung.
<i>Helm. Maydis</i> , Stamm Nr. 245.	Ziemlich üppiges Luftmyzel.	Verhältnismässig geringes Luftmyzel.	Üppiges Luftmyzel.	Wenig Luftmyzel.
<i>Helm. Setariae</i> , Stamm Nr. 256.	Wenig Luftmyzel. Ziemlich starke Färbung des Myzels im Substrat.	Üppiges Luftmyzel. Keine Färbung des Myzels im Substrat.	Üppiges und dichtes Luftmyzel.	Geringes Luftmyzel.

Wie man aus dieser Tabelle ersehen kann, hat z. B. der Pilz *Helminthosporium Oryzae*, Stamm Nr. 45, auf dem Reisstrohdekotagar bei Dunkelheit mehr Konidien, bei Helligkeit mehr Luftmyzel gebildet. Das Myzel dieses Pilzes im Medium ist bei tieferer Temperatur (20°C) dunkler gefärbt als bei höherer (30°C). Bei der Zusammensetzung dieser durch ungleiche äußere Bedingungen verursachten Verschiedenheiten der Entwicklung werden die konzentrischen Zonen ausgeprägt. Obwohl die Zonen durch abwechselnde Helligkeit und Dunkelheit oder auch Temperatur verursacht werden, sind aber die durch abwechselnde Beleuchtung gebildeten Zonen sehr verschieden in ihren Eigenschaft von den durch abwechselnde Temperatur gebildeten Zonen, und zwar werden jene durch die ungleiche Färbung des Myzels im Medium und diese durch den Unterschied in der Konidienbildung hervorgerufen. Wenn diese beiden Faktoren günstig zusammenwirken, werden diese Zonen noch deutlich erkennbar. Wird dieser Pilz z. B. im Laboratorium bei Zimmertemperatur kultiviert, so sind die konzentrischen Zonen sehr deutlich daran wahrnehmbar, daß die am hellen und warmen Tage gewachsenen Teile mit mehr Luftmyzel und weniger gefärbten Myzel im Medium versehen sind, während die in dunkler und kalter Nacht entwickelter Teile mehr Konidien und dunkelgefärbtes Myzel im Medium aufweisen. In anderen Fällen, in denen keine Konidien gebildet werden, werden die konzentrischen Zonen durch die Menge des Luftmyzels und die Färbung des Myzels im Medium verursacht. Die Bildung von Luftmyzel ist im Stamm Nr. 245 von *Helmin-*

*thosporium Maydis* bei höherer Temperatur geringer als bei tieferer, dagegen im Stamm Nr. 256 von *Helminthosporium Setariae* im umgekehrten Verhältnis. Es erscheint sehr interessant, daß die Bedingungen zur Bildung von konzentrischen Zonen gemäß den einzelnen Arten von *Helminthosporium* ganz ungleich sind, obwohl die Zonen durch dem Wechsel von Temperatur oder Licht und Dunkelheit verursacht werden.

#### Kapitel IV. Resümee.

1) In dieser Abhandlung sind die Ergebnisse von Versuchen über die Bildung von konzentrischen Zonen in Reinkulturen einiger *Helminthosporium*-Arten.

2) Einige Arten der Gattung *Helminthosporium* zeigen sehr deutlich konzentrische Zonen auf Reisstrohdekotagar.

3) Die in diesem Versuche gebrauchten *Helminthosporium*-Arten sind *Helm. Oryzae* Breda de Haan, *Helm. Setariae* Sawada, *Helm. Maydis* Nisikado et Miyake und eine unbestimmte, von *Imperata arundinacea* isolierte Art.

4) Durch wiederholte wechselnde Wirkung von Licht und Temperatur werden Unterschiede in der Stärke der Konidien- und Luftmyzelbildung und im Grad der Färbung des Myzels innerhalb des Substrats verursacht, dadurch werden konzentrische Zonen wahrnehmbar.

5) Obwohl konzentrische Zonen nur durch eine oder durch beide dieser Faktoren bewirkt werden, ist die Natur der Zonen bei dem einzelnen Arten sehr verschieden.

#### Literatur.

- BISBY, G. R. (1925), Zonation in cultures of *Fusarium discolor sulphurum*. Mycologia XVII: 89—97.
- GALLEMAERTS, V. (1910), De la zonation des cultures de champignons en boîte de Petri. Recueil Inst. Bot. Leo Errera, 8: 299—310.
- HEDGCOCK, G. G. (1906), Zonation in artificial cultures of *Cephalothecium* and other fungi. Rpt. Mo. Bot. Gard. 17: 115—117.
- HEIN, J. (1930), Liesegang Phenomena in fungi. American Journal of Botany, 17: 143—151.
- HUTCHINSON, H. B. (1906), Über Form und Bau der Kolonien niederer Pilze. Centralbl. Bakt. II, 17: 417—427, 593—604.
- MILBURN, T. (1904), Über Aenderung der Farben bei Pilzen und Bakterien. Centralbl. Bakt. II, 13: 129—138, 257—276.
- MOLZ, E. (1906), Über die Bedingungen der Entstehung der durch *Sclerotinia fructigena* erzeugten Schwarzfäule der Aepfel. Centralbl. Bakt. II, 17: 175—188.
- MUNK, M. (1912), Bedingungen der Hexenringe bei Schimmelpilze. Centralbl. Bakt. II, 32: 353—375.
- RIEDEMEISTER, W. (1908), Die Bedingungen der Sklerotien und Sklerotienringbildung von *Botrytis cinerea* auf künstlichen Nährboden. Ann. Mycol. 7: 5—30.
- STEVENS, F. L. and HALL, J. G. (1909), Variation in fungi due to environment. Bot. Gaz. 48: 1—30.

## TAFEL XXIX.



Abb. 1.



Abb. 2.



Abb. 3.



Abb. 4.



Abb. 5.



Abb. 6.

### Erklärung der Tafel.

Einwirkung des Lichtes und der Temperatur auf die Bildung der konzentrischen Zonen in den Kolonien von *Helminthosporium*-Arten. (Die hier gegebenen Bilder sind nicht die Resultate des im Text beschriebenen Versuches, sondern die eines anderen).

Abb. 1—3. Die auf Reisstrohdekoktagar entwickelten Kolonien von *Helminthosporium Setariae* SAWADA.

Abb. 4—6. Die auf Reisstrohdekoktagar entwickelten Kolonien von *Helminthosporium Maydis* NISIKADO et MIYAKE.

Abb. 1 und 4. Die bei abwechselnder Dunkelheit und Helligkeit und konstanter Temperatur von 30°C gewachsenen Kolonien.

Abb. 2 und 5. Die bei abwechselnder Dunkelheit und Helligkeit und bei abwechselnd 30° und 15°C gewachsenen Kolonien.

Abb. 3 und 6. Die durch konstante Dunkelkultur bei abwechselnd 30° und 15°C gewachsene Kolonien.