

Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente.

Von

Dr. J. Schroeter.

,''

Die kleinen Organismen, welche am häufigsten in ihren bewegten Formen als Bacterien, in ihren unbewegten als Bacteridien bezeichnet werden, stimmen darin überein, dass sie stickstoffhaltige, organische Stoffe (Protoplasmamassen) mit grosser Energie zur eigenen Ernährung verbrauchen, und dabei specifische Stoffe mannigfacher Art bilden.

Von diesen Producten fallen eine Reihe von Pigmenten mit am meisten in die Augen. Es sind lebhaft gefärbte Färbungen der verschiedensten Art, die wir aus farblosen Protoplasma-Gebilden entstehen sehen, allein begleitet von massenhafter Entwicklung solcher kleiner Organismen, die wir demnach als alleinige Ursache der Farbenbildung ansehen müssen.

Eine Reihe von Culturen, die grösstentheils in den Wintermonaten 1868 bis 1870 im pflanzenphysiologischen Institute zu Breslau vorgenommen wurden, hatten den Zweck, Beobachtungen über derartige Pigmentbildungen zu sammeln. In Folgendem sollen kurz die erhaltenen Resultate nach der Reihe der Farben zusammengestellt werden.

Roth. Keine dieser Pigment-Bildungen hat bis auf die neueste Zeit so weitreichende Aufmerksamkeit erregt, wie die, als: „blutendes Brod,“ „Rothwerden der Speisen“ u. s. w. bekannte Erscheinung. Es ist ein keineswegs seltenes Phänomen, welches nur dann, wenn es unter besonderen Umständen oder in auffallender Verbreitung auftrat, Beachtung gefunden hat.

In Breslau wurde diese Pigmentbildung vor einigen Jahren in grösserer Ausbreitung beobachtet, und dabei das Phänomen durch Prof. Ferdinand Cohn besprochen (Abhandlungen der Vaterländischen Gesellschaft für schlesische Cultur 1850). In geringerer Ausdehnung stellt sie sich hier fast jährlich ein, und ich sah sie

sich auf ausgelegten Kartoffelstücken in Häusern der verschiedensten Stadttheile entwickeln.

Dem pflanzenphysiologischen Institut wurde im Herbst 1868 von Herrn Redacteur Oelsner eine an ihrer ganzen Oberfläche roth gewordene Kartoffel eingeliefert. Von dieser wurde 6 Wochen später das Material zu Culturen entnommen, die den ganzen Winter hindurch fortgeführt wurden. Hierdurch schienen sich reichliche Keime in den Institutsräumen verbreitet zu haben, denn in der Folge bedurfte es nur des Auslegens von Nährsubstanz, um ziemlich sicher das Auftreten von rother Färbung in kleinen Theilchen zu erhalten, die dann beliebig vermehrt werden konnten. Nachdem in den letzten Jahren die absichtlichen Culturen eingestellt worden sind, scheinen sich die Keime ganz verloren zu haben, denn Prof. F. Cohn theilte mir mit, dass er die rothe Substanz nicht mehr erhalten hat, wiewohl er sehr darauf geachtet.

Spontan tritt die rothe Färbung in Form äusserst kleiner rosen- oder pfirsichblüthrother Schleimtröpfchen auf, die anwachsen bis zur Grösse eines starken Stecknadelknopfes, dann sich verflachen, zusammenfliessen und einen flachen Ueberzug über die Nährsubstanz bilden.

Der Schleim war dicht erfüllt mit den kleinen elliptischen Körperchen, welche von Ehrenberg zuerst gesehen und als *Monas prodigiosa* beschrieben worden sind. Sie blieben sich während der ganzen unveränderten Zunahme der rothen Substanz gleich, an Grösse sowohl als an Gestalt, sie zeigen in ihrer Schleim-Substanz gar keine, bei Wasser-Zusatz nur die gewöhnliche Molecularbewegung, sie sind daher nach oben angenommener Unterscheidung als *Bacteridium prodigiosum* (Ehrenberg unter *Monas*) zu bestimmen. (Sette beschrieb die rothen Schleimklümpchen schon 1824 als *Zoogalactina imetropa*, sah aber die einzelnen, sie constituirenden Organismen nicht, deshalb kann dieser Name keine Priorität für die Bezeichnung der Körperchen beanspruchen.)¹⁾

¹⁾ Es fanden sich zuweilen, und zu Zeiten, wo die oben beschriebene Bacteridienbildung nicht auftrat, auf Kartoffelscheiben Schleimtröpfchen von ähnlicher Farbe ein. Sie unterscheiden sich durch eine etwas hellere Abstufung der Farbe, dann dadurch, dass sich die Farbe während der ganzen Dauer ihrer Ausbreitung nicht änderte, auch durch Säuren und Alkalien nicht verändert wurde. Dabei breitete sich die Substanz flacher aus und erschien trockener. Bei mikroskopischer Betrachtung zeigte es sich, dass sie ganz aus einer Hefe bestand, welche in ihrer Form von der gewöhnlichen Bierhefe nicht zu unterscheiden war. In alten Culturen nahmen die Zellen Kugelform an und wurden grösser, frisch ausgesät sprosssten sie, und bildeten kleine eiförmige Glieder wie Bierhefe. Die Zellen erschienen in Membran und Inhalt farblos.

Die Körperchen erscheinen farblos. Es wäre dies noch kein Grund, anzunehmen, dass sie nicht die Träger der rothen Färbung sind, sie könnten nur in grösserer Masse gefärbt erscheinen. Es ist indess anzunehmen, dass sie das Pigment nur in den sie umgebenden Schleim abscheiden, weil durch denselben andere Körper z. B. Pilzmycelien gefärbt werden und zwar in ihrem Inhalt, ohne dass die Bacteridien in die gefärbten Partien gelangen.

Als Medium zur weiteren Entwicklung wurden Kartoffeln (gekocht und roh), Stärkekleister, Mehlbrei, Weissbrod, Hühner-Eiweiss (gekocht und roh), Milch, Fleisch (gekocht und roh) benutzt.

Auf rohen Kartoffeln, rohem Eiweiss und Fleisch fand keine Weiterverbreitung statt, während sie auf denselben Substanzen gekocht sehr üppig war. Es ist also für dieselbe nicht blos eine Nährsubstanz erforderlich, sondern diese muss sich auch in einem besonderen prädisponirten Zustande befinden. (Eine benutzbare Analogie für die Fortentwicklung von Contagien oder Miasmen im Körper.)

Von den anderen Substanzen erfolgte die Zunahme am geringsten auf geronnener Milch, sodann auf Stärkekleister, mehr auf gekochten Kartoffeln, Mehlbrei, am üppigsten auf geronnenem Eiweiss.

In den ersten 12 Stunden war eine Ausbreitung nicht wahrzunehmen, in den ersten 24 Stunden war sie sehr gering, dagegen am zweiten und besonders am dritten Tage am stärksten. Bis dahin verbreitete sich die Färbung centrifugal von der Infectionsstelle mehrere Centimeter weit und bildete zuweilen so dicke Schleimmassen, dass dieselben nach abhängigen Stellen abflossen. Ueber den fünften Tag hinaus konnte die Weiterentwicklung auf demselben Medium meist nicht fortgeführt werden.

Licht ist zur Bildung des Pigmentes nicht nöthig, aber ebenso wenig scheint der Abschluss desselben die Entwicklung zu fördern, denn gleichzeitige Aussaaten auf Kartoffelscheiben hatten unter einer Glasglocke frei im Zimmer stehend und in einem finsternen Raume aufbewahrt nach 2 und 3 Tagen ungefähr gleiche Ausbreitung erlangt.

Die Färbung bildet sich immer nur an der Oberfläche der Nährsubstanz, freier Zutritt der Luft ist also wohl zu ihrer Bildung erforderlich. Weizenbrei wurde mit einer ziemlich bedeutenden Menge der Bacteridienmasse angerührt, so dass sie gleichmässig in dem Brei vertheilt wurde. Dieser wurde darauf in ein cylindrisches Glasgefäss gebracht. Nach 3 Tagen hatte sich der rothe Stoff sehr stark vermehrt und bildete auf der Oberfläche eine dicke gleichmässige rosenrothe Schicht. Im Inneren war der Brei ungefärbt geblieben und seine Oberfläche hob sich, von der Seite betrachtet, als ein rother

Saum von der inneren Masse ab. Ein gewisser Grad von Luftfeuchtigkeit ist zur Fortbildung des Pigments nöthig, doch braucht derselbe nur so gross zu sein, dass die Oberfläche der Nährsubstanz am Eintrocknen gehindert wird. In den Wintermonaten genügte das Ueberdecken mit einer geräumigen Glasglocke, das Einschliessen in eine Pappschachtel, um die ganze Entwicklung durchzuführen.

Die gewöhnliche Zimmertemperatur, welche bei Tage durchschnittlich etwa 12 Grad betrug, in der Nacht aber bedeutend sank, genügte zur reichlichen Fortpflanzung der Massen. Erhöhte Wärme im Wardschen Kasten bis zu 32° R. gesteigert, schien das Wachstum nicht wesentlich zu befördern.

Die Bacteridien greifen lebhaft ihre Nährsubstanz an. Besonders deutlich ist dies auf Kartoffeln zu sehen. Die rothen Schleimklümpchen umgeben sich sofort mit einem bläulichen Hofe, der sich bei der Weiterentwicklung immer vergrössert und auch in die Tiefe erstreckt. Auf der Höhe der Culturen stellt sich sowohl bei Benutzung von Kartoffeln als der vom Eiweiss ein prägnanter Geruch ein, welcher weiterhin ähnlich stark und unangenehm wird wie der von faulendem Fleische, wiewohl er von ihm verschieden erscheint.

Auf Kartoffeln und Eiweiss nahmen die Bacteridienmassen schnell eine scharlach- resp. blutrothe Farbe an, und erhielten sich in dieser Abstufung während des zunehmenden Wachstums. Wenn dann die Masse sich über die ganze Nährsubstanz ausgebreitet hatte, war die Aehnlichkeit mit Blut recht bedeutend. Am fünften Tage nach der Aussaat wurde die Farbe meist heller, ziegelroth, orange und ging dann später immer mehr ins gelbliche über. Endlich verlor sich die rothe Farbe ganz, und die Cultur-Fläche erschien mit einer schmutzig gelblichen, flüssigen Schleimmasse überzogen.

Wenn man diese Zerstörung der Farbe nicht abwartet, sondern den blutrothen Schleim abtrocknen lässt, so färbt er sich wieder karminroth, wird immer dunkeler und trocknet endlich zu einer dunkel kirschrothen, fast schwarzen Kruste zusammen.

Auf Mehlbrei, Weissbrod und Stärkekleister behielt die Masse gewöhnlich andauernd karminrothe Farbe, doch wenn sich in Vertiefungen der Nährflächen grössere Mengen anhäuften, wurden sie meist auch hier blutroth.

Das Blutroth ist wohl die normale Farbe des hier betrachteten Bacterienpigmentes, denn bei dieser Färbung erhielt es sich während der Zeit der üppigsten Vegetation, und dabei blieb die Reaction immer neutral.

Die Umänderung des Farbstoffes in Orangen-, Ziegelroth, Gelb

entspricht der Veränderung, welche derselbe durch Alkalien erleidet. Es ist leicht zu constatiren, dass die Bildung eines alkalischen Stoffes auch im Verlaufe der Vegetation die Ursache der Verfärbung ist, denn bei Beginn der orangerothern Verfärbung wird neutrales Lakmuspapier durch den Schleim blau gefärbt, eine Reaction, welche bei der späteren Farbenänderung immer stärker wird.

Mit Beginn der Verfärbung bemerkt man unter dem Mikroskope in dem Schleime das Auftreten bewegter Bacterien. Dieselben nehmen immer zu, ihrer Menge entsprechend auch die alkalische Reaction und die Entfärbung. In dem schmutziggelben Schleime wimmelt es endlich nur noch von solchen Organismen, während die unbewegten Körperchen verschwunden scheinen.

Man könnte geneigt sein zu glauben, dass sich die ruhenden Bacteridien in die lebhaft bewegten Elemente umgewandelt hätten, dass zwischen dem rothen Bacteridien-Schleime und den Bacterien ein Verhältniss obwaltete, wie zwischen *Zoogloea* und *Bacterium Termo*. — Da sich aber Bacterien, wie die genannten, auch ohne vorheriges Auftreten von *Bd. prodigiosum* auf den benutzten Nährsubstanzen einfinden, muss zugegeben werden, dass sich die Bacterien auch parasitisch in dem rothen Schleim niederlassen können, und dann vielleicht die Bacteridien zu ihrer Ernährung verbrauchen. Jedenfalls sind sie es, die den alkalischen Stoff bilden und durch dessen weitere Entwicklung das rothe Pigment zerstören.

Dass auf Stärkekleister und Mehlbrei die Färbung karminroth wurde, scheint mir dem Einfluss einer schnell sich bildenden Säure zuzuschreiben zu sein, im Stärkekleister ist eine solche bald nachzuweisen.

Es war nicht schwer, die Culturen zu Ende zu führen, ohne dass sie durch Schimmelbildung gestört wurden. Dazu mochte die nur mässig hohe Temperatur während der Culturperiode beitragen, besonders aber auch der Umstand, dass die gekochten Nährsubstanzen sogleich nach ihrem Herausnehmen aus dem Wasser inficirt und isolirt wurden. Mehrmals wurde Bildung von Schimmel auf dem Substrat absichtlich nicht vermieden. Die Mycelien wuchsen dabei zum Theil in die Bacteridienmassen hinein, bei spärlicher Entwicklung auch direct auf der rothen Substanz, bei üppigem Wachsthum um die rothen Flecken herum. In letzterem Falle wird die Masse bald dünnflüssig, nimmt eine tief kirschrothe, etwas zu violett neigende Färbung an und erhält sich in diesem Zustande oft wochenlang.

Eine solche Farbumänderung bringen manche Säuren in dem Pigment hervor. In der That zeigt auch die obige kirschrothe Sub-

stanz eine schon durch Lakmuspapier nachweisbare saure Reaction. Es scheint, dass bei der üppigen Vegetation der Schimmelpilze reichliche Säure-Ausscheidung Statt findet, wodurch das Pigment verändert wird.

Wenn Schimmelpilze auf der rothen Substanz wachsen, so werden sie gewöhnlich theilweise selbst roth gefärbt. Es sind jedoch nur die unteren Glieder der kriechenden Mycelien, welche die Färbung annehmen. In diesen erscheint das Protoplasma contrahirt und durch und durch roth. Auch die Membranen der Hyphen werden nicht selten gefärbt, nur erscheinen sie gegen den Inhalt viel blasser. Auch die Zellhäute der Nährsubstanz nahmen nicht selten blasserrothe Farbe an. Die lebenden Schimmelrasen, welche sich über den rothen Massen erhoben, erschienen farblos, bei fructificirendem *Mucor* stieg das Pigment nie in die Fruchthyphen auf, nur wenn diese umfielen oder abstarben wurden sie, wie die Sporenköpfchen, roth. Es scheint demnach, dass nur das getödtete Protoplasma die Färbung annimmt.

Einmal beobachtete ich eine üppige Entwicklung von *Penicillium* auf der rothen Bacteridienmasse. Die Fruchthyphen hatten sich meist zu dicken fleischigen Stielen verbunden (*Coremium*). Mit blossem Auge betrachtet sahen die ganzen Rasen goldgelb aus. Bei mikroskopischer Untersuchung erschien in dem unteren Theil des kriechenden Mycels das contrahirte Protoplasma karminroth, an dem Grunde der Fruchthyphen war der Inhalt orangeroth, weiter oben goldgelb gefärbt; dieselbe Farbe hatten die Sporen. Hier hatte sich der lebende Pilz also aus dem rothen ein gelbes Pigment gebildet.

Werden die auf Kartoffeln oder auf Eiweiss gezogenen blutrothen Massen in Alkohol gebracht, so löst sich der Farbstoff vollständig. Die Tinctur lässt sich klar abfiltriren und es bleiben auf dem Filtrum nach gehörigem Auswaschen nur ungefärbte Theile zurück.

Die Tinctur hat eine brennend orangerothe Farbe. Abgedampft bleibt eine dunkelkarminrothe Kruste in der Schale. Wasser löst von derselben nichts auf. Aether bleibt darüber ebenfalls farblos, er löst aber dennoch einen Theil des Farbstoffes, denn wenn man ihm nach dem Abgiessen Essigsäure zusetzt, so wird er rosenroth gefärbt. Die Säure, welche sich nicht mit ihm mischt, bleibt farblos am Boden des Glases.

Alkohol löst den ganzen Farbstoff wieder in der ursprünglichen orangerothen Färbung. Diese Tinctur reagirt neutral, sie ist in diesem Zustande ein scharfes Reagens auf Säuren und Alkalien: ein Tropfen Säure färbt sie lebhaft karminroth, ein Tropfen einer alkalischen Lösung färbt sie gelb.

Schwefelsäure färbt die Tinctur erst karminroth, in grösserer Menge zugesetzt, schön veilchenblau. Erst ein sehr starker Zusatz der Säure entfärbt die Tinctur zu einer gelblichen Flüssigkeit, in welcher Alkalien die Farbe nicht mehr herstellen.

Salpetersäure und Essigsäure färben karminroth, später leicht violett, aber nicht so intensiv wie Schwefelsäure.

Chlorwasserstoffsäure in geringer Menge zugesetzt färbt anfangs lebhaft karminroth, doch bedarf es nur eines etwas stärkern Zusatzes, um vollständig zu entfärben. Die rothe Farbe wird dann durch Alkalien nicht wieder hergestellt.

Ammoniak, ebenso Kali-Lösung färben die Tinctur hellgelb. Säuren stellen die orangerothe Farbe wieder her.

Ebenso entfärbt ein Tropfen Schwefelammonium. Durch Kochen wird die rothe Farbe wieder zurückgerufen.

Wird der Farbstoff mit einem Theile der Kartoffeln, auf denen er sich entwickelt hat, gekocht, so entsteht ein gleichmässig pfirsichblüthroth gefärbter Kleister. Zusatz von viel Schwefelsäure verwandelt denselben in eine klare veilchenblaue Flüssigkeit.

Die orangerothe ebenso wie die durch Säuren carminroth gefärbte Tinctur färben vegetabilische Zellmembranen schwach, animalische Theile (Wolle, Seidenfäden) sehr intensiv. Diese schon früher oft genug hervorgehobene tingirende Kraft wird praktisch unverwerthbar dadurch, dass die Farbe durch das Tages-Licht in wenigen Tagen zerstört wird. Es ist auch mir nicht gelungen, eine Verbindung zu finden, durch welche das Pigment haltbar gemacht werden könnte, nur die durch Schwefelsäure aus dem rothen Kleister gebildete veilchenblaue Flüssigkeit sah ich wochenlang ihre Farbe unverändert behalten.

Vor dem Spectroskop zeigt die alkoholische Lösung des Farbstoffes sehr charakteristische Eigenthümlichkeiten¹⁾.

Die orangerothe Flüssigkeit zeigte bei stärkster Concentration eine vollständige Absorption aller Strahlen jenseits 59, gegen die vorderen Theile des Spectrums scharf abgeschnitten. Bei Verdünnung ein schwarzes breites Absorptions-Band von 62 bis 68, sodann Verdunkelung, von 75 wieder vollständige Absorption.

Wenn die Tinctur nach Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure

1) Zur Untersuchung wurde ein Stativ-Spectroskop von Rexroth benützt, bei welchem das Spectrum durch eine darauf geworfene Scala in 150 Theile getheilt wird. Die Scala wird so niedergestellt, dass der Anfang des Natrium-Streifens auf 50 zu stehen kommt.

intensiv karminroth gefärbt war, zeigte sich bei stärkster Concentration die scharf abgeschnittene Absorption schon von 56 an, bei Verdünnung 2 war die Absorption von 59 an scharf abgeschnitten, etwas Blau und Violett schimmerte von 100 ab durch. Bei grösserer Verdünnung 3: Schwarzer Absorptionstreifen von 59 bis 80, dann Verdunkelung bis 110. Bei noch stärkerer Verdünnung 4: Tief-schwarzer Absorptionstreifen von 61 bis 68 von da abnehmende Trübung bis 68.

Die durch Schwefelsäure violett gefärbte Tinctur zeigte ein schwarzes Absorptionsband von 59 bis 68, Trübung bis 80, also fast dieselben Erscheinungen, nur wurden mehr blaue und violette Strahlen durchgelassen.

Um das hier betrachtete Pigment mit anderen Farbstoffen zu vergleichen, wurden zunächst einige rothe Pilzfarbstoffe untersucht, die möglicherweise hätten ähnliches Verhalten zeigen können, da sie auch ohne Einfluss von Chlorophyll gebildet sind.

Arcyria punicea Pers. enthält in Capillitium und Peridium einen rothen Farbstoff, der sich nur schwach in warmem Wasser, schnell und vollständig in Alkohol löst. Die Farbe der Capillitien ähnelt den jungen, rosenrothen Bacteridien-Colonien, die der Farbstofflösung ist orangeroth, etwas bräunlich. Durch Schwefelsäure wird die Farbe nicht verändert, eben so wenig durch Salzsäure, durch Salpetersäure wird sie beim Erwärmen zerstört; durch Ammoniak wird sie violett-roth gefärbt.

Agaricus (Amanita) muscarius L. besitzt in der Haut seines Hutes ein Pigment, welches dem des frischen auf Eiweiss cultivirten *B. prodigiosum* ähnlich erscheint. Aus der abgezogenen Haut des Hutes wird durch Alkohol der Farbstoff sehr vollständig gelöst, auch in Wasser ist er theilweise löslich. Die Tinctur besitzt eine schöne hellgelbgrüne Fluorescenz. Säuren bringen keine Farbeveränderung hervor, ebensowenig Alkalien. Spectroskopisch untersucht zeigte eine gesättigte Lösung keinen Absorptionstreifen, sondern nur eine zunehmende Trübung des Spectrums von 70, von 74 an Absorption.

Die Haut des Hutes von *Russula integra* L. in ihrer rothen Form besitzt einen rothen Farbstoff, der in gewöhnlichem Spiritus eine rosenrothe Tinctur giebt, ebenso wie die schwach angesäuerte Lösung des Pigmentes von *B. prodigiosum*. Absoluter Alkohol löst den Farbstoff gar nicht, kochendes Wasser aber schnell bis zur stärksten Concentration. Die Lösung ist purpurroth, etwas ins Violette spielend, sie fluorescirt schön hellblau. In starker Concentration lässt

die Flüssigkeit fast nur rothe Strahlen durch, das Spectrum ist verdunkelt von 51 an, Absorption beginnt bei 54. Bei einiger Verdünnung zeigt sich ein Absorptionstreifen von 58 bis 64, dann Trübung und von 70 ab wieder Absorption. Alkalien und Säuren verändern die Farbe nicht.

Die Rasen eines kleinen Becherpilzes: *Peziza sanguinea* Pers. ähneln in ihrer Farbe sehr den eingetrockneten Massen des *Bd. prodigiosum*. In Alkohol löst sich ihr Farbstoff mit granatrother Farbe. Durch Zusatz von Ammoniak wird die Tinctur bräunlich, dann braungrün. Schwefelsäure verändert sie anfangs gar nicht, erst durch längere Einwirkung tritt Verfärbung ein. Die Lösung lässt bei starker Concentration vom Spectrum nur rothe Strahlen durch (36 bis 44), bei doppelter Verdünnung auch grüne (bis 80). Die durch Ammoniak umgeänderte Tinctur zeigt zwei blasse: von 46 bis 49 und 53 bis 56 und Absorption der Strahlen von 70 ab¹⁾).

Die angeführten Reactionen werden genügen, um festzustellen, dass keiner der hier verglichenen Farbstoffe aus verschiedenen Familien der Pilze mit dem Pigment, welches durch *Bacteridium prodigiosum* gebildet wird, Aehnlichkeit hat.

Ebensowenig kommen ihm die Farbstoffe aus Blüten und Früchten phanerogamischer Pflanzen nahe. Bei keinem derselben fand ich die schnelle Entfärbung durch Alkalien, und ebensowenig bei spectroscopischer Untersuchung das charakteristische Absorptionsband in Grün.

Otto Erdmann hat der Pigmentbildung durch Bacterien eine neue interessante Seite abgewonnen, indem er zeigte, dass einige dieser Producte in ihren Reactionen auffallend mit gleichartigen Anilinfarben übereinstimmen. (Dr. Otto Erdmann. Bildung von Anilinfarben aus Proteinkörpern. Im Journal für praktische Chemie, herausgegeben von O. L. Erdmann und G. Werther Leipzig 1866. S. 385—407.) Um seine Beobachtungen zu wiederholen und etwas zu erweitern, untersuchte ich das chemische und spectroscopische Verhalten einer Fuchsinlösung, welche in ihrer Färbung ganz mit der karminroth

¹⁾ Die *Peziza* erscheint bei schwacher Vergrößerung schwarz, von einem blutrothen Filz umgeben. Unter dem Mikroskop zeigt sich der Filz aus dünnen, granatrothen Fäden gebildet. Die *Peziza* selbst besteht aus einem rothen und einem grünen Theile. Roth ist das Gewebe des Bechers, besonders die Rinde, grün sind die Paraphysen und Schläuche. Durch Ammoniak werden die Fäden des Filzes spangrün gefärbt, während das Grün der Paraphysen wie vorher saftgrün erscheint. Schwefelsäure verändert die Farben nicht.

gemachten Lösung des obigen Bacteridienpigmentes übereinzustimmen schien¹⁾.

Der Farbstoff ist in Alkohol vollkommen, aber auch in Wasser zum Theil löslich.

Schwefelsäure in geringer Menge färbte violett, beim Zusatz einer grösseren Quantität tritt Entfärbung ein, viel schneller als bei der Tinctur von *B. prodigiosum*. Ebenso verhielt sich Salpetersäure. Essigsäure veränderte die Farbe nicht.

Chlorwasserstoffsäure entfärbte schon in geringer Menge zugesetzt. Kalilösung stellte Anfangs die rothe Farbe wieder her.

Ein Tropfen Ammoniak entfärbte sofort. Die Tinctur wurde wasserhell, nicht gelblich wie bei *B. prodigiosum*. Durch Kochen und durch Zusatz von Säuren wurde die rothe Farbe wieder hergestellt. Wie Ammoniak verhält sich auch Schwefelammonium.

Spectroskopisch untersucht zeigte eine stark concentrirte Lösung eine scharf abgeschnittene Absorption aller Strahlen jenseits 53, es wurde also Gelb und Grün vollständiger absorbirt, als in der karmirothen Bacteridien-Tinctur. Bei starker Verdünnung erschien ein scharf begrenzter Absorptions-Streifen zwischen 56 und 61 und Trübung des übrigen Grüns²⁾.

Es geht aus diesem Vergleiche hervor, dass das Anilinroth ganz wesentliche Aehnlichkeiten mit unserem Bacteridienpigmente hat. Gemeinsam ist beiden die Violettfärbung durch Schwefelsäure und Salpetersäure, die Entfärbung durch Salzsäure, Ammoniak und Schwefelammonium, sogar ein ähnliches spectroskopisches Verhalten.

Dabei finden sich aber immer noch scharf ausgesprochene Verschiedenheiten. In wieweit die grosse Aehnlichkeit des Verhaltens gestattet, auf chemische Verwandtschaft der beiden Farbstoffe zu schliessen, vermag ich nicht zu entscheiden.

1) Diese und die in der Folge zur Vergleichung benützten Anilinfarben, wurden durch den Docenten der Chemie in Proskau Herrn Dr. Friedländer freundlichst mitgetheilt.

2) Ein Anilingrün zeigte, in Spiritus gelöst, vor dem Spectroskope einen breiten Absorptionsstreifen in Roth (bei schwacher Concentration 38 bis 44) und Verdunkelung von Blau und Violett (von 96 an). Mischt man dieses Anilingrün mit etwas Fuchsinlösung, so erhält man eine grüne, roth schimmernde (nicht deutlich fluorescirende) Tinctur, welche Absorptionsstreifen in Roth und Grün und Verdunkelung von Blau und Violett, mithin eine oberflächliche Aehnlichkeit mit Chlorophylltinctur hat.

Orange. Die Schleimmassen des *B. prodigiosum* treten unter den erwähnten Umständen als orangerother Schleim auf.

Es besteht aber gewiss auch eine Bildung orangerother Pigmentes, welche mit der genannten Erscheinung nicht im Zusammenhange steht.

Ich sah während der beschriebenen Culturen zwischen den lebhaft rosenrothen Tröpfchen des *B. prodigiosum* auch kleine pomeranzenfarbene Klümpchen auftreten, und erhielt dieselben auf ausgelegten Kartoffelstücken auch ohne jene. Sie wuchsen von stecknadelkopfgrossen Kugelehen zu weitverbreiteten Flecken an, behielten von Anfang bis zu Ende dieselbe Pomeranzenfarbe, und bestanden ganz aus unbewegten Körperchen.

Gelb. Bei den Bacteridienculturen auf Kartoffelstücken stellten sich ausser den aufgeimpften, überhaupt häufig noch fremde Colonien von kleinen Organismen aus derselben Familie ein. Von diesen erschienen am häufigsten solche in Gestalt kleiner hellgelber Tröpfchen. Anfangs mohnsamengross, wachsen sie in etwa 3 Tagen zur Grösse eines halben Pfefferkornes heran, dann vergrössern sie sich nicht mehr, sondern vertrocknen, wobei sie ziemlich regelmässig eine flach schildförmige Gestalt, mit spitz hervortretender nabelförmiger Mitte annehmen. Sie fanden sich bei den meisten Culturen spontan ein, es gelang aber nicht sie in grösserer Menge zu cultiviren.

Die Tröpfchen bestanden aus elliptischen unbewegten Körperchen, etwas grösser als *Bact. prodigiosum*. Ihr Inhalt erschien unter dem Mikroskop farblos, stark lichtbrechend.

Schwefelsäure und Alkalien veränderten die gelbe Farbe nicht¹⁾.

1) Auf einer Mitte November 1868 zur Bacterienkultur ausgelegten gekochten Kartoffel fanden sich nach einigen Tagen chromgelbe Häufchen, welche sich durch ihre trockene bröckelige Beschaffenheit schon von vornherein von den Bacterien-Schleimklümpchen unterschieden. Es fand sich, dass sie ganz aus Sarcine bestanden. Die einzelnen Individuen erschienen farblos, zu den charakteristischen packetähnlichen Colonien gruppiert. Das Institut besitzt Original Exemplare der *Sarcina ventriculi* von Suringar, die der hier vorgefundenen vollkommen gleich.

Von den unregelmässigen sogenannten sarcineartigen Concretionen, welche sich häufig auf Kartoffeln, z. B. bei alten Hefeculturen bilden, ist die ächte Sarcine völlig verschieden.

Vielleicht ist das Schmarotzen auf stärkemehlhaltigen Nahrungsmitteln ausserhalb des menschlichen Körpers häufiger. Mit diesen könnte sie in den Magen gelangen und sich weiter entwickeln.

Verschieden von dieser Pigmentbildung ist die in der sogenannten gelben Milch. Ich sah dieselbe zuerst spontan im Januar 1869 auftreten. Gekochte Milch, welche im pflanzenphysiologischen Institute in einem weiten Glasschälchen frei der Luft ausgesetzt war, wandelte sich nach einigen Tagen ziemlich plötzlich in eine citronengelbe Flüssigkeit um. Kleine Portionen derselben wurden jetzt in Schälchen gekochter und ungekochter Milch übertragen, zur Controle nicht inficirte Milch verdeckt daneben gestellt. In dieser entstand keine Gelbfärbung, aber auch in der ungekochten Milch entwickelte sich die Färbung nicht weiter. Die gekochte inficirte Milch gerann nach 24 Stunden, während sich die nicht inficirte 6 Tage unverändert hielt. Nach 2 Tagen zeigte sich deutlich beginnende Gelbfärbung. Dabei wurde die geronnene Masse weicher, die Molkenflüssigkeit nahm zu. Nach und nach lockerte sich der Zusammenhang des geronnenen Käsestoffes immer mehr, er zerfiel in kleinere Gerinnsel, die sich mit der fortschreitenden Bildung gelber seröser Flüssigkeit immer mehr verkleinerten. Nach etwa 6 Tagen war die Milch vollständig in eine citronengelbe wässrige Flüssigkeit verwandelt, in der nur noch kleine Käsestofflocken herumschwammen, dieser war also unter Bildung des Pigmentes verzehrt worden.

In späterer Zeit beobachtete ich die Erscheinung noch öfter, und ich konnte dann durch Uebertragung beliebige Mengen gekochter Milch gelb färben, während mir in ungekochter Milch der Versuch immer fehl schlug.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fand sich die gelbe Milch immer dicht erfüllt von lebhaft bewegten stäbchenförmigen Bacterien, die ich von denen, welche das Sauerwerden der Milch begleiten, nicht unterscheiden konnte, doch waren sie bedeutend zahlreicher vorhanden als in der gewöhnlichen, farblosen sauren Milch. Sie sind wohl identisch mit Ehrenberg's *Vibrio synxanthus*, können also als *Bacterium xanthinum* (Ehrenberg) bezeichnet werden.

Die Reaction der gekochten Milch, anfangs neutral, wurde kurz nach der Inficirung sauer, mit Beginn der Gelbfärbung und der Zunahme der Bacterien trat alkalische Reaction ein, dieselbe nahm zu und wurde zuletzt sehr stark. Die Reihenfolge der Reactionen ist also hier dieselbe wie bei anderen Bacterien-Culturen. Die Entwicklung derselben beginnt mit einer sauren Reaction, im weiteren Verlauf wird dann ein alkalischer Stoff ausgeschieden.

Die Bacterien erschienen unter dem Mikroskop farblos. Wurde die gelbe Flüssigkeit filtrirt, so lief sie klar ab, auf dem

Filtrum blieben Bacterien und Käsestofflocken als graue Masse zurück.

Das Pigment scheint immer schon einige Zeit vorher gebildet zu werden, ehe es in die Augen fällt. Ich fand, dass die Molkenflüssigkeit, welche am dritten Tage nach der Infection bedeutend zugenommen hatte aber nur sehr wenig gefärbt war, bei Zusatz von Alkalien lebhaft gelb gefärbt wurde. Die gelbe Farbe wurde hier wahrscheinlich durch die noch vorhandene Milchsäure verdeckt.

Eine Beobachtung, welche ich bei den letzten Culturen machte, scheint für den Zusammenhang der dieses Pigment bildenden Bacterien mit anderen Organismen der Familie zu sprechen. Wenn ich *Bacteridium prodigiosum* auf gekochte Milch übertrug, verbreitete es sich wenig weiter. Einigemal sah ich, dass darauf die Molkenflüssigkeit eine bläuliche Farbe bekam und bedeutend zunahm, nach einigen Tagen folgte dann plötzlich die Gelbfärbung der Serums unter massenhafter Bildung der bewegten Bacterien und Auflösung des Käsestoffs. Dass hier wirklich eine Umwandlung der Bacteridien Statt gefunden, möchte ich noch nicht behaupten.

Die filtrirte Flüssigkeit erschien vollkommen klar, intensiv citronengelb mit einem geringen Schimmer zu Grün. Beim Eindampfen wurde sie dunkler, bernstein- resp. honiggelb, und trocknete auf der Abdampfsehale zu einer gelbbraunen Kruste ein.

In Alkohol und Aether löste sich von dem so eingetrockneten Pigmente nicht das Mindeste.

In Wasser wurde es vollkommen aufgelöst.

Alkalien: Aetzkali, Ammoniak, veränderten die gelbe Farbe nicht.

Säuren (Essigsäuren, Schwefel-, Salpeter-, Salzsäure) entfärbten sofort, und schon beim Zusatz geringer Mengen.

Alkalien riefen sodann die gelbe Farbe wieder zurück.

Vor dem Spectroskop zeigte die gelbe Lösung nur eine mit der Concentration zunehmende Trübung der Strahlen diesseits und jenseits Gelb, keinen charakteristischen Absorptionsstreifen.

Zum Vergleiche mit diesem Pigmente wurde ein Farbstoff untersucht, welcher mir als „Anilingelb“ übergeben worden war. Er löste sich in Alkohol und Aether zum Theil, aber nur sehr unvollkommen, dagegen vollständig in Wasser.

Die wässrige Lösung erschien in geringer Concentration citronengelb mit einem leichten Schimmer zu Grün, in starker Concentration honiggelb. Alkalien veränderten die Farbe nicht. Säuren entfärbten

sofort; Alkalien stellten die gelbe Farbe wieder her, nur in etwas geringerer Intensität.

Spectroskopisch untersucht zeigte die Lösung keinen bestimmten Absorptionsstreifen, nur eine Verdunkelung der nicht gelben Strahlen.

Es besteht nach diesem Vergleiche wieder eine sehr grosse Aehnlichkeit in dem Verhalten des Pigments der gelben Milch gegen einige Reagentien, mit dem einer Anilinfarbe von gleicher Farbenabstufung.

Grün. Auf ausgelegten Stücken gekochter Kartoffeln sah ich einigemal eine fleckweise Grünfärbung eintreten. Die Farbe war ein dunkles Saftgrün, sie begann am Rande der Scheiben, breitete sich excentrisch aus und drang etwas in die Nährsubstanz ein. Eine Schleimauflagerung war nicht vorhanden, Bacterien vermochte ich nicht aufzufinden. So sehr ich auch geneigt bin, diese Pigmentbildung bei Abwesenheit jeder anderen Ursache, auf Bacterien zurückzuführen, so kann ich sie doch nur als zweifelhaft in den Kreis dieser Betrachtungen ziehen.

Eine genauer bekannte Production von grünem Farbstoff durch Bacterien findet in dem sogenannten grünen Eiter Statt. Nach den von Anderen darüber vorgenommenen Untersuchungen, wird er durch bewegte Bacterien gebildet. Ich habe mehrfach grünen Eiter auftreten sehen, aber nicht in grosser Ausbreitung und unter Umständen, die mir eine mikroskopische und chemische Prüfung nicht möglich machten. Die Farbe war in diesen Fällen immer gleichmässig spangrün, etwas nach Blau übergehend. Auffällig war die, schon andererseits hervorgehobene Thatsache, dass das Pigment nicht sowohl an dem Eiter haftet, der die Bacterien enthält, sondern in die Fäden der aufgelegten Charpie und Compressen einzieht und diese in weiter Ausdehnung färbt. Es geht daraus hervor, dass auch hier nicht die Bacterien Träger des Farbstoffes sind, sondern dass er von diesen in die umgebende Flüssigkeit ausgeschieden wird.

Blau. Auf einer im Anfang Januar 1870 zur Bacteriencultur ausgelegten gekochten Kartoffelscheibe wurde eine umfangreiche sehr intensive Blaufärbung beobachtet. Sie nahm schnell zu, so dass die Scheibe in der Ausdehnung mehrerer Centimeter davon eingenommen wurde, und schritt auch in die Tiefe fort und durchdrang nach und nach das Gewebe bis zur entgegengesetzten Seite der Scheibe. Bei mikroskopischer Untersuchung wurden im Innern der blaugefärbten

Masse keine Bacterien vorgefunden, die Membranen der Stärkekörner waren hellblau gefärbt, zwischen ihnen wucherte reichlich ein Pilzmycel, dessen contrahirter Inhalt tief indigoblau gefärbt erschien.

Von der blauen Masse wurde eine Aussaat auf frische Kartoffelstücke gemacht. Erst nach 10 Tagen zeigte sich an den Impfstellen eine blauviolette Färbung. Hier wurde das Vorhandensein kleiner elliptischer, unbeweglicher Organismen constatirt. Die Färbung schritt centrifugal fort, wurde tief indigoblau, und drang wieder weit in die Tiefe. Bei mehreren darauf wiederholten Culturen trat immer nach etwa 10 Tagen dieselbe Pigmentbildung in derselben Weise auf.

Der blaue Farbstoff wurde durch Säuren intensiv karminroth gefärbt, Alkalien stellten die blaue Farbe wieder her, Säuren färbten dann wieder roth. Das Pigment verhält sich darin ganz so wie Lakmus, zu dessen Bildung ist mithin kein den Flechten eigenthümlicher Stoff erforderlich.

Da ich im Inneren der blaugewordenen Substanz keine Bacterien, dagegen sehr constant ein Pilzmycel auffand, war ich lange geneigt, Letzterem die Blaufärbung zuzuschreiben. Diese Vermuthung musste schon deshalb aufgegeben werden, weil nicht überall in den blauen Massen Mycel nachweisbar war, und die Zellen der Nährsubstanz ebenso wie der Pilz blau gefärbt waren. Es ist anzunehmen, dass die Bacteridien sich nur an der Oberfläche vermehren und nur hier, wie *B. prodigiosum*, das Pigment bilden. Dieses scheint in Wasser löslich zu sein, und deshalb von der Oberfläche aus in die Nährsubstanz einzudringen und sie zu färben.

Das regelmässige Auftreten des Schimmels mit der Pigmentbildung in meinen Culturen erklärt sich leicht dadurch, dass von der ersten Cultur-Stelle gleichzeitig mit den Bacteridien Schimmelsporen und lebende Mycelstücke übertragen und dann immer weiter fortgepflanzt wurden.

Dieser Schimmel zeigte im Fortschritt seiner Vegetation eine bemerkenswerthe Farbenveränderung. Wenn die Hyphen als zarte Rasen aus der Nährsubstanz hervorsprossen, erschienen sie rosenroth, unter dem Mikroskop farblos. Später färbten sie sich violett, dann tief blau. Bei dem Fortschreiten der Färbung war stets ihr äusserster Umkreis von einem rosenfarbenen Schimmelflaum gebildet, an diesen grenzte ein violetter Kreis entwickelterer Hyphen, die Mitte des Fleckes, in der sich nur abgestorbene Mycelien fanden, war tief blau. Die Farben-Aenderung ist kongruent mit auf einanderfolgender Einwirkung einer Säure und eines alkalischen Stoffes

auf das Pigment. Es lässt sich daraus wohl schliessen, dass auch hier durch die Vegetation der Bacteridien anfangs saure, später alkalische Substanzen gebildet wurden¹⁾.

Das hier betrachtete blaue Pigment, ist in seinen Reactionen gänzlich verschieden von dem der blauen Milch, wie sie O. Erdmann (a. a. O. S. 405) angiebt. Nach den dort citirten Untersuchungen von Dr. Trömmel verändern Aetzkali und Natron den Farbstoff derselben in Pflirschroth, Säuren stellen die rothe Farbe wieder her. Erdmann bestätigt dies und fügt hinzu: „Ammoniak verändert die Farbe wenig ins Violett, während Essigsäure sie wieder herstellt. Salzsäure zerstört sie nicht. Salpetersäure (rauchende) zerstört sie. Chlorwasser desgleichen.“ „Die gegebenen Reactionen sind wiederum die der Anilinkörper, und zwar desjenigen Anilinblaus, das man nach A. W. Hoffmann's Untersuchungen als Triphenylrosanilin betrachtet.“

Wie es scheint wird das Pigment durch lebhaft bewegte Bacterien gebildet, welche sich in zahlloser Menge in der blauen Milch finden.

Es existiren also zwei specifisch verschiedene blaue Bacterien-Pigmente, das eine durch unbewegte Bacteridien, das andere durch bewegte Bacterien gebildet, ebenso, wie wir es bei dem gelben Farbstoff gesehen haben.

Violett. Eine der schönsten der hier besprochenen Pigmentbildungen sah ich im Januar 1870 auf Kartoffelscheiben, welche Herr Dr. phil. Schneider zur Bacterien- und Schimmelbildung ausgelegt hatte. Neben Häufchen des *B. prodigiosum* und den beschriebenen gelben Tröpfchen fanden sich hier Schleimklümpchen von lebhaft veilchenblauer Farbe ein. Sie wuchsen heran und flossen zu flachen Flecken zusammen, die etwa bis 6^{mm} im Durchmesser hatten. Die Masse bestand aus unbewegten, farblosen elliptischen Körperchen, grösser als *B. prodigiosum*, und von diesem dadurch weit verschieden, dass sie zu mehreren kettenartig verbunden waren.

Weitere Culturen gelangen mir nicht, und der Farbstoff wurde nicht näher untersucht.

1) Der erwähnte Schimmelpilz erwies sich bei der Sporenbildung als ein *Fusisporium*, von *F. Solani Martius* morphologisch nicht verschieden. Vielleicht sind *Fusisporium roseum* und *violaceum auct.* ähnliche Formen, die auch nur ihr Pigment von der Substanz, auf welcher sie wachsen, angenommen haben.

Braun. Anfang Januar 1868 war zur Cultur von Mucor-Gonidien ein Aufguss von Mais- und Weizen-Körnern ausgesetzt worden. Die Mucor-Mycelien waren nach üppiger Entwicklung grösstentheils zu Boden gesunken. Auf der Oberfläche bildete sich nach und nach eine dicke Schwarte von Penicillium-Mycel, die Flüssigkeit trübte sich und erfüllte sich mit lebhaft bewegten Bacterien. Nachdem die Flüssigkeit etwa drei Wochen gestanden hatte, begann sie sich plötzlich braun zu färben, und nach einigen Tagen hatte sie vollständig eine lebhaft rothbraune Farbe angenommen. Die Penicillium Kruste war an ihrer unteren Fläche braun gefärbt. Unter dem Mikroskop zeigte es sich, dass die Membran der Mycel-Zellen farblos geblieben, ihr Inhalt zusammengezogen und braun gefärbt war. Die oberen Theile des Mycels waren farblos, die Sporen hatten ihre gewöhnliche grau-grüne Farbe, es waren also auch hier wohl nur die unteren abgestorbenen Myceläste, die das Pigment angenommen hatten. Auf dem Grunde lagen braune Massen, welche aus Mycel-Stücken und Gonidien von Mucor bestanden, deren Inhalt ebenfalls geschrumpft und braun gefärbt war. Die Flüssigkeit war jetzt erfüllt von stäbchenförmigen Organismen, welche nur Molekularbewegung zeigten. Diesen Bacteridien war also die Bildung des braunen Pigmentes zuzuschreiben.

In Maisabkochung sah ich später noch einigemal dieselbe Pigmentbildung wiederkehren.

Im Januar 1870 beobachtete ich das Auftreten derselben Färbung in einer Kartoffel-Abkochung, welche längere Zeit an der Luft gestanden, und sich mit einer Schwarte von Penicillium überzogen hatte. Die Farbenabstufung war die gleiche wie in den vorigen Fällen. Die untere Seite des Schimmelüberzuges war fleckweise intensiv gebräunt. Hier fand sich ebenfalls in den Mycelstücken der Inhalt contrahirt und intensiv braun gefärbt. — Die Flüssigkeit war diesmal von lebhaft bewegten Bacterien und langen Vibrionen erfüllt.

Die Beispiele zeigen wohl zur Genüge, eine wie mannigfache Reihe von Pigmenten durch Bacterien und Bacteridien gebildet werden.

Die Organismen, welche sie bilden, sind oft schon durch unsere jetzigen optischen Hilfsmitteln je nach der Verschiedenheit der Pigmente, als verschieden zu erkennen, eine Färbung kann sogar durch mehrere unterscheidbare Organismen gebildet werden, und dann verhalten sich auch die Pigmente gegen bestimmte Reagentien ver-

schieden. Es ist vielleicht nicht unberechtigt bei jeder bestimmten Pigmentbildung einen spezifisch verschiedenen Organismus anzunehmen, und demgemäss neben einem *Bacteridium prodigiosum* (Ehrbg.) auch ein *Bacteridium aurantiacum*, *luteum*, *cyaneum*, *violaceum*, *brunneum*, neben *Bacterium synxanthus* und *B. syncyanus* (Ehrbg.) ein *B. aeruginosum* aufzustellen.

Die Pigmente werden als spezifische Stoffe von den Bakterien aus organischer, eiweisshaltiger Masse gebildet und als spezifischer Stoff ausgeschieden. Der Vorgang ist daher ganz analog der Bildung des Alkohols durch den Hefepilz und der Milchsäure durch andere Bakterien. Man kann daher den Process als Pigment-Gährung zusammenfassen.

Wie aus dem vorbergehenden zu erschen ist, haben die Verhältnisse bei Bildung der einzelnen Farbstoffe manches Gemeinsame.

Die Farbstoffbildung durch Bakterien ist an und für sich nicht auffallender, als die Farbenbildung in höheren Organismen durch den Protoplasmahalt der Zelle, es muss nur hervorgehoben werden, dass bei der einfachen und gleichmässigen Organisation der Bakterien hier das Obwalten einfacherer Verhältnisse angenommen werden kann, das fortgesetzte Studium der Bakterienpigmente kann darum vielleicht mit der Zeit beitragen, einen Anschluss über die Bildung der wichtigen Pigmentbildungen höherer Organismen zu finden.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Beiträge zur Biologie der Pflanzen](#)

Jahr/Year: 1872

Band/Volume: [1_2](#)

Autor(en)/Author(s): Schroeter J.

Artikel/Article: [Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente 109-126](#)