

Zur Farbstoffbildung und Conidienkeimung bei *Penicillium variable* WEHM.

Von RUD. MEYER.

(Aus dem Bacter. Laboratorium des Techn.-Chem. Instituts der Technischen Hochschule Hannover).

(Mit 2 Textfiguren.).

1. Farbstoffbildung.

Penicillium variable ist bekanntlich durch Erzeugung eines eigenartigen gelbroten Pigments ausgezeichnet¹⁾, dessen Natur und Bildungsbedingungen ich im letzten Jahre an der Hand einer größeren Reihe von Versuchen aufzuklären versuchte²⁾. Das jetzt vorliegende Endresultat ist leider nicht so, wie es nach den anfänglichen Experimenten erwartet wurde; es stellte sich im Verlauf der Arbeit heraus, daß das leicht veränderliche Pigment schwer zu fassen ist, sein Auftreten in den Culturen überdies an einer gewissen Unregelmäßigkeit leidet. Immerhin glaube ich über die bisherigen Versuche kurz berichten zu sollen.

In der Regel erscheint der Farbstoff nur unterseits der Decken, oft in einer ganz bestimmten (mittleren) Zone der dicht verwebten Pilzhaut, wie das an Querschnitten unschwer festzustellen ist, bisweilen jedoch auch schon in ganz jungen, noch nicht Conidien-bildenden Mycelien, diese orangerot färbend, während sie in anderen Fällen schneeweiß sind. Diese Erscheinung ist bislang völlig unaufgeklärt, ähnliches beobachtet man bekanntlich an Culturen von *Aspergillus niger* und anderer Pilze, wo die Erscheinung des gelegentlichen Pigmentauftretens ebenso auffällig ist³⁾. Das Pigment wird bei *P. variable* nicht in festem Zustande abgeschieden (so

1) WEHMER, C., Über Variabilität und Speciesbestimmung bei *Penicillium* (Mycolog. Centralbl. 1913, 2. — Vgl. R. MEYER, Apoth.-Ztg 1913, Nr. 75. — *P. variable* ist nach neuerdings angestelltem Vergleich von den ähnlichen Species WESTLINGS deutlich verschieden.

2) Über gelbe Pigmente bei *Penicillium*-Arten liegen schon zahlreiche meist kurze Angaben vor. STOLL fand gelben Farbstoff bei „*P. glaucum*“ LK. in Hyphen auf Zuckergelatine und -agar, der rasch in die Nährlösung diffundierte; ähnlich bei *P. olivaceum* WEHM., *P. purpurogenum* LK. und *P. rubrum* GR., bei den beiden letzteren in Form von Körnchenabscheidung an den Hyphen. THOM erwähnt gelbes Pigment bei zwei Arten, löslich in Alcohol und in seiner Entstehung vom Substrat abhängig. DIERCKS gibt orange, citronengelbe und gelbrote Färbungen bei mehreren seiner Pilze an. KLÖCKER sah bei seinem *P. Wortmanni* gelbe Farbstoffkörnchen. DOEBELT erwähnt bei *P. africanum* DOEB. gelben und roten Farbstoff, besonders schön auf Asparaginlösung, schwächer bei anorganischer Stickstoffquelle. CENI bildet gelbe bis gelbrote Deckenunterseiten seines „*P. glaucum*“ ab. WEIDEMANN sah bei dem *P. kiliense* einige Substrate gelb gefärbt, bei *P. juglandis* war die Deckenunterseite farblos bis gelbrot. WÄCHTER beobachtete bei mehreren Formen seiner nicht benannten Pilze (*P. glaucum*) gleiche Färbungen. Ähnlich BAINIER u. a., der wie früher schon ZUKAL den Versuch genauerer Characterisierung dieser gelben Pigmente machte, vgl. dazu WEHMER, diese Zeitschrift, 1913, 2, 196, 202. Offenbar handelt es sich um verschiedene Farbstoffe, wie schon die BAINIERSchen Angaben zeigen.

3) Bei *A. niger* (s. MILBURN, Centralbl. Bact. II, 1904, 13, 268) entsteht der Farbstoff nur im Dunkeln, bei *Mucor Rouxii* auf Reis cultiviert nicht bei 40°, sondern nur bei Zimmertemperatur (WEHMER, Centralbl. Bact. II 1900, 6, 363), ziemlich regellos aber beim echten Hausschwamm (Vgl. WEHMER, Pigmentbildung bei *Merulius lacrymans*. Ber. Botan. Ges. 1912, S. 321). Solange man die Chemie solcher Pigmente nicht kennt, erübrigen sich Speculationen über ihre Bildungsbedingungen, es hat also auch keinen rechten Sinn von „Hemmungsfarben“ oder dergleichen zu sprechen.

bei *P. luteum* ZUK.)¹⁾, sondern färbt die Zelle gleichmäßig gelb, es erscheint sowohl in belichteten wie in Dunkelculturen, am schnellsten zwischen 20° und 27°, träger bei 8—11° (langsameres Wachstum!), nicht mehr oberhalb 27°.

Von bemerkenswertem Einfluß ist die physikalische Beschaffenheit des Cultursubstrats in vielen Fällen; mit Ausnahme von gekochtem Reis gaben feste Nährböden bislang nur farblose Deckenunterseiten (Stärke, Brot, Kartoffeln, Zusätze zur Nährlösung von 3% Agar, 10% Gelatine). auf halbflüssigen trat die Färbung häufiger auf (Agar 0,5%, Gelatine 1—1,5%, Stärkekleister 2%), auf flüssigen gewöhnlich, sofern auch die sonstigen Umstände günstig waren. Dabei scheint die besondere chemische Reaction der Culturflüssigkeit nicht ohne Einfluß, neutrale bis schwach alcalische Flüssigkeiten (Zusatz von 1—4 ccm n/10 NaOH auf 100 ccm) gaben besonders schöne Farben, und zwar sowohl bei Saccharose (5—10%), Dextrose, Dextrin, wie auch bei Glycerin (10—20%) als Kohlenstoff-Quelle, dagegen nicht bei Lactose oder Bierwürze. Auch für richtige Deutung dieser Versuche wäre genaue Kenntniss der chemischen Natur des Farbstoffs Vorbedingung.

Ein gewisser Einfluß kommt der besonderen Stickstoff-Quelle zu. Ammoniaksalze der Phosphorsäure, Salzsäure und Oxalsäure sowie Pepton lieferten mir nur farblose Decken, Farbe erschien jedoch bei Verwendung von Ammonium-Nitrat, -Sulfat, -Citrat, -Malat, -Tartrat und besonders Asparagin (1% der Stickstoffverbindung), nicht regelmäßig bei Kaliumnitrat, auch Intensität sowie Umfang der Färbung waren ungleichmäßig. Bald färbt sich die ganze Unterseite der Decke, bald nur einzelne Stellen. Angesichts des Fehlens einer befriedigenden Deutung auch dieser Experimente begnüge ich mich hier mit einem kurzen Resumé der Versuche; sie wurden sämtlich mit 100—500 ccm Substrat in sterilem Kolben unter Watteverschluß und Conidienimpfung aus Reincultur bei Zimmertemperatur (20° ca.) ausgeführt.

Gute Entwicklung des Pilzes scheint immerhin Vorbedingung der Pigmentbildung zu sein, verlangt werden also neben einer Kohlenstoff- und Stickstoff-Quelle (1%) an Mineralsalzen: Kaliumphosphat (0,5%) und Magnesiumsulfat (0,25%), sonstige Zusätze sind zwecklos; fehlt dagegen eine dieser vier Verbindungen, so resultiert eine kümmerliche Vegetation, genau wie bei anderen Pilzen.

Eine kurze tabellarische Übersicht mag die referierten Feststellungen hier ergänzen.

(Tabelle s. p. 74.)

Aus den von der Culturflüssigkeit abgehobenen Pilzdecken kann der Farbstoff durch Lösungsmittel (Alcohol, Benzin) mit gelber Farbe extrahiert werden, in sehr geringfügigem Maße geht er anscheinend schon in Wasser über. Die alcoholische Lösung verfärbt sich bei Eindampfen auf Wasserbad alsbald und liefert so nur einen amorphen braunen, wohl aus Zersetzungsproducten bestehenden Rückstand. Offenbar muß richtiger ohne Mitwirkung von Wärme oder im Vacuum bei niedrigerer Temperatur eingeengt werden, wozu mir bislang Material und Gelegenheit fehlten, meine auf größeren Glaskolben herangezüchteten Pilzdecken waren verbraucht. Mit der alcoholischen Lösung, dargestellt nach vorherigem Auswaschen der Decke mit destilliertem Wasser, wurden gleichzeitig einige

1) ZUKAL, H., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen (s. Ber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien 1889, 98, 1. Abt., Math.-Natw. Cl., 561).

Gelbfärbung der Deckenunterseite in Culturen mit verschiedenen C- und N-Quellen.

Kohlenstoffquelle	Stickstoffquellen			
	Salpetersaur. Ammon	Kali- Salpeter	Asparagin	Pepton
Saccharose	+ + +	+ +	+ + +	0
Lactose	0	0	0	0
Glycose	+ + +	+	+	0
Glycerin	+ +	0	+	0
Stärke	+	0	0	—
Dextrin	+ + +	0	0	—
Würze	0	+	+	—
Alcohol	+ +	0	0	—
<hr/>				
3% Agar-Agar (als Zusatz)	0	0	0	
15% Gelatine (als Zusatz)	0	0	0	
5% Stärke	+	0	+	

Reactionen angestellt, die ich kurz erwähne: Schwache Rötung von blauem Lackmus, Unwirksamkeit auf FEHLINGSche Lösung und Kaliumpermanganat, Nichtfällbarkeit durch Tanninlösung, Refractometerwert = 1,37024; im Spectroscop wurden von hellgrün ab sämtliche Farben absorbiert. Natürlich war bei der gegebenen Sachlage die Reinheit der Lösung nicht zu kontrollieren.

Setzt man gelbe Deckenstücke eintrocknend der Wirkung des Sonnenlichtes aus, so bleicht die Farbe im Verlauf einiger Tage aus, im Dunkeln hält sie sich in den bei 40° getrockneten Decken länger (Beobachtungsdauer 3 Wochen), ebenso bei Aufbewahrung in Lösungen von schweflicher Säure oder Formalin. Da auch lebende Decken auf der Nährlösung allmählich ausblassen, so dürfte die Substanz im normalen Verlauf der Dinge (also im Stoffwechsel) gleichfalls wieder verschwinden, somit nur temporär und auch ungleichmäßig erzeugt werden. Schnell wirken verdünnte Alcalien auf den Farbstoff unter sofortiger Entfärbung, Zusatz von Säuren regenerieren ihn jedoch sogleich, so daß Alkali keine Zersetzung, sondern nur eine wenig eingreifende Veränderung bewirkt. Starke Säuren (Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure) färben die mit ihnen benetzten Deckenstücke oft tiefrot. Offenbar wäre eine erfolgreiche Aufklärung der chemischen Natur dieser eigenartigen Substanz von physiologischem Interesse, bislang war das aus obigem Grunde nicht möglich.

2. Die Conidienkeimung.

Die Entwicklung der alten Sammelspecies „*Penicillium glaucum*“ ist früher schon von E. LOEW¹⁾ und BREFELD²⁾ genauer verfolgt. Die

1) LOEW, ERNST, Zur Entwicklungsgeschichte von *Penicillium* (Jahrb. Wissensch. Bot. 1869/70, 7, 472—507).

2) BREFELD, Botanische Untersuchung über Schimmelpilze, 2. Heft. Die Entwicklungsgeschichte von *Penicillium* (Leipzig 1874).

von diesen beschriebene Keimung der Conidien weicht von der des *P. variabile* in einigen Punkten ab; es kommt hier weder zu einer Durchbrechung des Exospors (LOEW), noch sind die keimenden Conidien kugelig (BREFELD). Der Vorgang wurde von mir im flachen hängenden Tropfen (lediglich steriles Wasser) auf hohlgeschliffenem Objektträger näher verfolgt. Schon nach 24 Stunden findet man stark verquollene Conidien, von fast doppeltem Durchmesser (bis ca. 6μ), die rasch zur Keimschlauchbildung übergehen und sich dabei deutlich in die Länge strecken, ohne aber die Durchbrechung eines besonderen Exospors zu zeigen (s. Abb. 1). Regel ist ein Keimschlauch, seltener findet man deren zwei, dann gewöhnlich einander gegenüber austretend; Septenbildung folgt sehr schnell.

Bisweilen beobachtet man Fusion zweier Keimschläuche, wie solche ähnlich auch schon von obengenannten Forschern gesehen ist, ebenso

die Abschnürung von Conidien am Ende der kaum 1 mm langen Schläuche, aber nicht durch kugelige Anschwellung der Spitze (LOEW), sondern durch deutliche Wandbildung mit nachfolgender Abrundung und Trennung der jungen Organe (s. Abb. 2). Unter den gleichen Umständen — also bei Keimung in nährstofffreiem Substrat (Wasser), das offenbar diesen schnellen Verlauf des Entwicklungscyclus zur Folge hat — kommt es mehrfach zur Bildung winziger Conidienträger bereits an den jungen Keimschläuchen, die in den Luftraum der Kammer hinausragen, wie es ähnlich auch BREFELD abbildet. Diese kleinen Träger zeigen in den Einzelheiten des morphologischen Aufbaues große Übereinstimmung mit

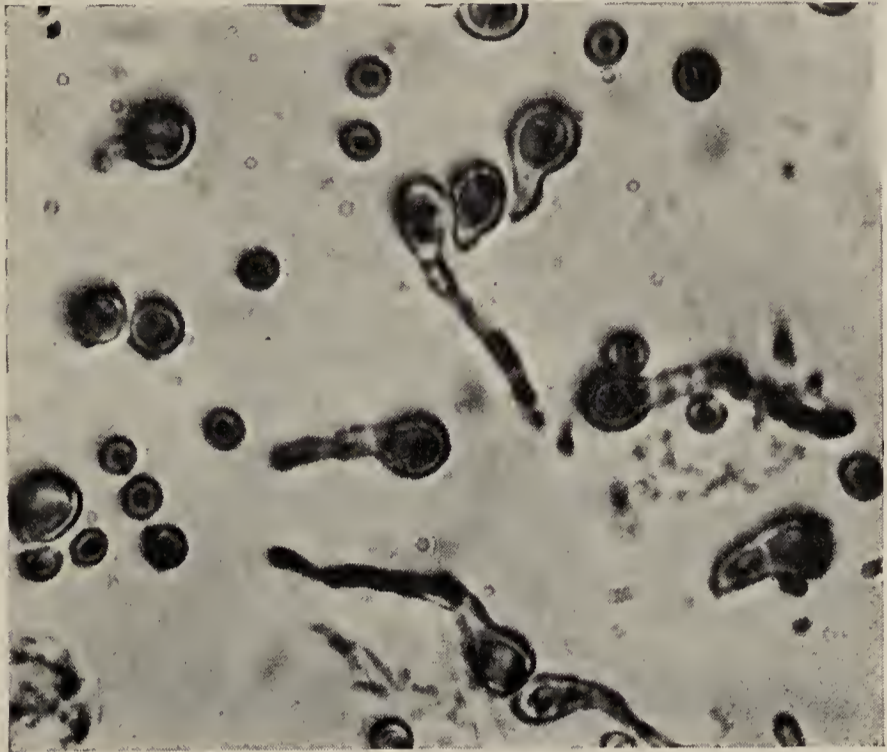


Fig. 1. Conidienkeimung im hängenden Tropfen. Quellung, Streckung und Keimschlauchbildung. Vergr. ca. 890 (Ocular 3, Obj. $5\frac{1}{2}$, SEIBERT; Microphot. Camera R. WINKEL).

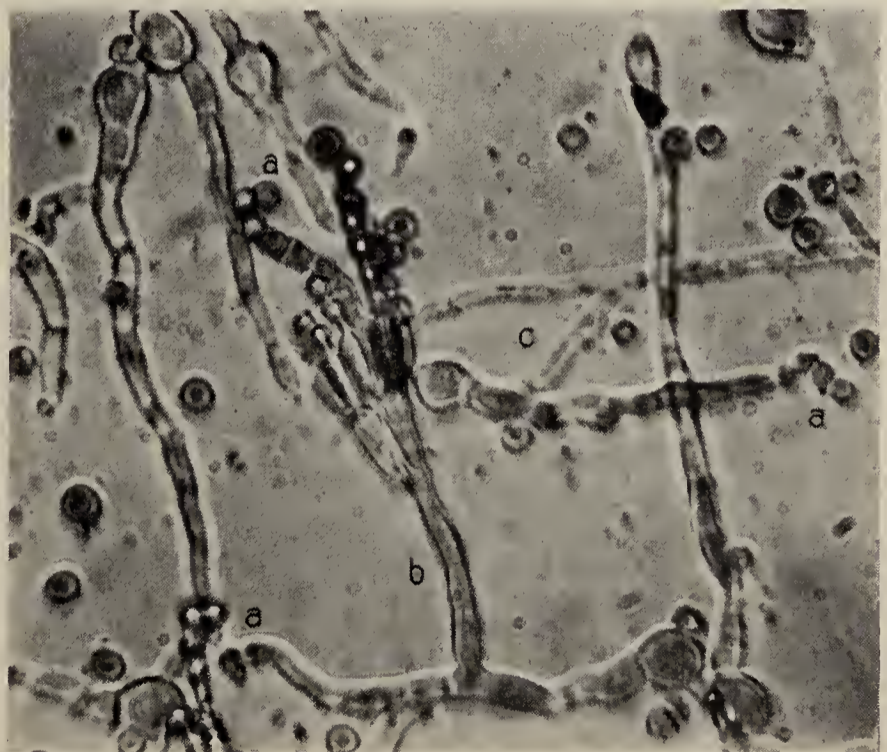


Fig. 2. Bildung von Conidien (a) und zwergigem Conidienträger (b) an Keimschläuchen, nach 3 Tagen. Bei c Fusion zweier Keimschläuche. Vergr. ca. 890 (sonst wie Fig. 1).

den normalen auf gutem Substrat; speciell fällt da auf, daß sowohl Sterimenform wie Conidiengröße und -gestalt kaum abweichen, die nach Photographie gefertigte Abbildung 2 veranschaulicht das; durch Zeichnung können diese Verhältnisse naturgetreu kaum wiedergegeben werden, in der Regel sind solche Bilder ganz schematisch gehalten. Auch die Entwicklung der Conidien erfolgt bei unserer Species — beiläufig bemerkt — nicht in der von früheren Untersuchern für „*P. glaucum*“ angegebenen Weise, worauf an dieser Stelle aber nicht näher eingegangen werden soll.

Den Verfolg der Entwicklungsgeschichte unternahm ich vor allem; um womöglich Ascusfrüchte zu finden, die Bemühungen um diese sind jedoch bislang völlig erfolglos gewesen. Weder auf noch in den Schimmeldecken konnten zu irgendeiner Zeit „frucht“-artige Organe gefunden werden, trotzdem ich den Pilz unter den verschiedensten Bedingungen hinsichtlich Substrat und Temperatur lange Zeit cultiviert habe. Daß er bei Luftabschluß nicht zur Entwicklung kommt, brauche ich nach dem, was über den Sauerstoffbedarf solcher Pilzformen bekannt ist, kaum hinzuzufügen.

Literatur.

- CENI, C. Über den biologischen Cyclus der grünen Penicillien in bezug auf Pellagra - Endemie (Beiträge z. Pathol. Anatomie u. Allg. Pathologie 1906, **39**, 431).
- DIERCKS, FR., Essai de revision du genre *Penicillium* LINK. Bruxelles 1901.
- DOEBELT, H., Beiträge zur Kenntnis eines pigmentbildenden *Penicillium*. Inaug.-Dissert., Halle a. S. 1909.
- KLÖCKER, O., Sur la classification du genre *Penicillium*, et description d'une espèce nouvelle formant des asques (Compt. Rend. des Travaux du Labor. de Carlsberg 1903, 92).
- STOLL, O., Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von *Penicillium*-Arten. Diss., Würzburg 1904.
- THOM, C., 1. Cultural studies of species of *Penicillium* (U. S. Departm. Agric., Bur. of Anim. Ind., Bull. 118, 1910). — 2. Some suggestions from the study of dairy fungi (Journ. of Mycology 1905, **11**, 127).
- WAECHTER, W., Über die Coremien des *Penicillium glaucum* (Jahrb. f. Wissenschaftl. Bot. **48**, 1910, S. 521).
- WEHMER, Zur Morphologie und Entwicklung des *Penicillium luteum* ZUK. (Ber. Botan. Ges. 1893, **11**, 499).
- , Morphologie und Systematic der Familie der *Ascomyceten* (LAFARS Handbuch d. Techn. Mycologie 1906, **4**, 256).
- WEIDEMANN, C., Morphologische und physiologische Beschreibung einiger *Penicillium*-Arten (Centralbl. f. Bacteriol. I, II, 1907, **2**, 19).
- WESTLING, R., En ny ascusbildende *Penicillium*-art (Svensk Botan. Tidskrift 1910, **4**, H. 2, 139).
- , Über die grünen Species der Gattung *Penicillium* (Ark. f. Bot. 1911, **11**, Nr. 1. — Svensk Bot. Tidskr. 1911, **5**, 82).
- ZUKAL, H., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen (S.-Ber. Wiener Acad. 1889, **98**, 1. Abt., Math.-Natw. Cl., 561).

Referate.

MOREAU, F., Recherches sur la reproduction des *Mucorinées* et de quelques autres Thallophytes (Le Botaniste, Sér. 13, 1913, 1—36; 14 pl.).

Le noyau des *Mucorales* à l'état de repos comporte toujours une membrane nucléaire, un nucléoplasme et un nucléole, il est accompagné

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mycologisches Centralblatt. Zeitschrift für Allgemeine und Angewandte Mycologie](#)

Jahr/Year: 1914

Band/Volume: [4](#)

Autor(en)/Author(s): Meyer Rudolf

Artikel/Article: [Zur Farbstoffbildung und Conidienkeimung bei *Penicillium uariabile* Wehm 72-76](#)