

## Schwarzverfärbung von Schweine- und Rinderfett durch *Pseudomonas fluorescens*

Black spots on pork and beef fat caused by *Pseudomonas fluorescens*

L. KRÖCKEL

### Zusammenfassung

Aus Proben von kühl gelagertem, verdorbenem Rinder- und Schweinefett mit schwarz-fleckigen Verfärbungen wurden Melanin bildende Stämme von *Pseudomonas fluorescens* isoliert. Derartige Stämme wurden bisher in der Literatur nicht beschrieben. Reinkulturen dieser Isolate waren in der Lage schwarze Farbabweichungen auf gezielt beimpftem Schweinespeck und Gelbwurst hervorzurufen. Die Schwarzfärbung bei Schweine- und Rinderfett ist ein relativ seltenes, dafür aber umso auffälligeres Phänomen und weist deutlich auf einen fortgeschrittenen Verderb der betroffenen Fleischoberflächen hin. Die Umstände der Isolierung der verantwortlichen Bakterien deuten auf eine enge Verderbsassoziation (Biofilm) aus Hefen und Bakterien hin, bei der die Hefe möglicherweise das Wachstum der Melaninbildner fördert.

### Summary

Melanin-producing strains of *Pseudomonas fluorescens* were isolated from refrigerated spoiled pork and beef fat displaying spots with black discolourations. Such strains have not been described in the literature so far. Pure cultures of the isolates were able to produce black discolourations on deliberately inoculated pork-back fat and white emulsion-type sausage (*gelbwurst*). Black discolouration of pork and beef fat is a relatively rare but quite eye-catching phenomenon and an obvious sign of advanced spoilage of the affected meat surfaces. The circumstances of isolation of the responsible bacteria point to a spoilage association or biofilm in which the yeasts possibly promote bacterial growth.

---

<b>Schlüsselwörter</b>	Rinderfett – Schweinefett – Schwarzfärbung – <i>Pseudomonas fluorescens</i> – Melanin – Bakterien – Hefen – Biofilm
<b>Key Words</b>	beef fat – pork fat – black discolouration – <i>Pseudomonas fluorescens</i> – melanin – bacteria – yeast – biofilm

---

### Einleitung

Unverpacktes oder in sauerstoff- und CO<sub>2</sub>-durchlässige Folie verpacktes Fleisch wird im Allgemeinen durch psychrotrophe GRAM-negative Bakterien verdorben. Im Temperaturbereich zwischen 0 und 5 °C überwiegen bei normalen pH-Werten von „rotem Fleisch“ die *Pseudomonas* Arten *Ps. fragi*, *Ps. fluorescens* und *Ps. lundensis*. Fett und Bindegewebe verderben leichter. Aufgrund ihrer höheren pH-Werte und ihres geringeren Gehaltes an Milchsäure und Kohlenhydraten setzt der Aminosäureabbau sehr frühzeitig ein

(LÜCKE und TROEGER, 2007). Pilze und Hefen spielen beim Verderb von Frischfleisch normalerweise nur eine Rolle, wenn dieses bei Temperaturen um -5 °C gelagert wird. Arten der Pilz Gattungen *Thamnidium* und *Chrysosporium* können unter diesen Bedingungen Weiß- und Schwarzfleckigkeit hervorrufen (LOWRY und GILL, 1984 cit. in LÜCKE und TROEGER, 2007).

Bei spanischen Pökelfleischprodukten (Rohschinken, Rohwürsten) wurde *Carnimonas nigrificans*, ein den Bakteriengattungen *Halomonas* und *Zymobacter* nahe-

stehendes apathogenes, GRAM-negatives, Katalase-positives, obligat aerobes unbegeißeltes Stäbchen als Verursacher einer Schwarzfleckigkeit identifiziert (ARNAU und GARRIGA, 1993, 2000; GARRIGA *et al.*, 1998). Frische Flecken auf Rohschinken erscheinen zunächst rostfarben, werden dann aber innerhalb von 24 h tiefschwarz.

Nicht beschrieben wurde bisher hingegen eine mit Pseudomonaden assoziierte Schwarzverfärbung (grau- bis blauschwarz) bei kühl gelagertem Rinder- und Schweinefett. Im Folgenden wird gezeigt, dass derartige Verfärbungen auf Rinder- und Schweinefett durch *Pseudomonas fluorescens* verursacht werden. Entsprechende Stämme wurden von auffälligen Proben aus Hefe/Bakterien-Assoziationen isoliert, identifiziert und als Verursacher verifiziert. Der biochemische Hintergrund ist den verfügbaren Literaturdaten zu Folge die Bildung eines Melanins aus der Aminosäure Tyrosin.

## Material und Methoden

**Mikroorganismen.** Die Melanin bildenden Bakterienstämme wurden von MEA<sup>+</sup>-Agar (Malzextrakt-Agar pH 5,6 [Merck] mit 125 mg Novobiocin/l [Serva] aus Abstrichen einer schwarz verfärbten Stelle des Speckanteils eines verdorbenen, mehr als 7 Tage aerob bei 7 °C gelagerten Schweinekoteletts (nicht in Abb. 1 gezeigt; Isolate *Ps. fluorescens* C und D) und von Primär-

platten (RBCA-Agar [Rose Bengal Chloramphenicol Agar], Oxoid) aus Abstrichen von verdorbenem, kühl gelagertem Rinderfett isoliert (Abb. 1; Isolate *Ps. fluorescens* M1/2, M2/2 und M3/2). Als Referenzstämme dienten *Ps. fluorescens* DSM 50090, *Ps. putida* DSM 291 und ein Pseudomonas-Isolat von frischem Rindfleisch (Stamm PS79 von Y.J. Lee [1985], mittels API 20NE zu 98 % als *Ps. putida/fluorescens* identifiziert). Die Anzucht der Mikroorganismen erfolgte routinemäßig auf Standard-I-Medium (Merck) bei 30 °C (Bakterien) sowie auf MEA<sup>+</sup> bei 25 °C (Hefen).

**Identifizierung und Charakterisierung von Bakterienisolaten.** Zur Identifizierung der Isolate wurde ein polyphasischer Ansatz auf der Grundlage morphologischer, biochemischer, physiologischer und genetischer Merkmale herangezogen. Zellmorphologie, Beweglichkeit, GRAM-Verhalten, sowie Katalase- und Oxidase-Reaktion wurden mittels mikrobiologischer Standardmethoden erfasst. Biochemische Merkmale wurden mittels API-20NE Galerie (Biomérieux) getestet und mit Hilfe eines miniAPI-Systems (Biomérieux) ausgewertet. Die Fähigkeit zur Bildung fluoreszierender Pigmente wurde auf King's B Agar überprüft (KING *et al.*, 1954). Zusätzlich wurde das Wachstum auf einem Minimalmedium (KRÖCKEL und FOCHT, 1987) und auf Czapek Hefe-Autolysat-Agar (CYA-Agar) (PITT und HOCKING, 1997) untersucht.

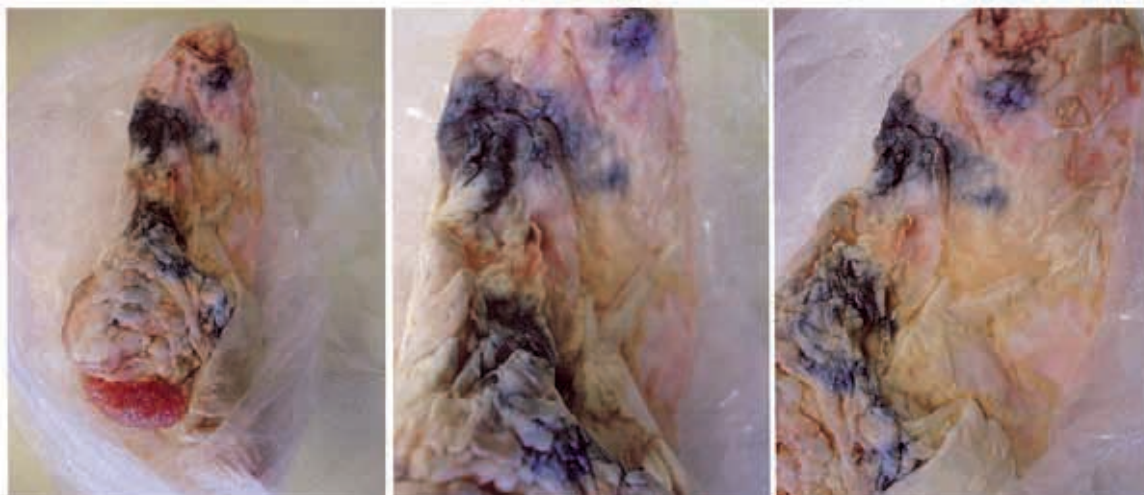


Abb. 1: Mikrobiell bedingte Schwarzverfärbung auf einem unter aeroben Bedingungen kühl gelagertem Rinderfett (Fotos: Dr. Annegret Bantleon, Vermold)

Der Nachweis der Zugehörigkeit der Isolate zur Gattung *Pseudomonas* erfolgte durch spezifische Amplifikation eines 986-988 bp großen DNA-Abschnittes im 16S rRNA Gen nach WIDMER *et al.* (1998). PCR-Primer wurden von Sigma-Genosys (Steinheim) bezogen. Genomische DNA für PCR-Reaktionen wurde nach CANCELLA *et al.* (1992) isoliert (KRÖCKEL, 1997). Eine vorläufige molekulargenetische Charakterisierung erfolgte mittels DNA-Fingerprinting (BOX-PCR) (LOUWS *et al.*, 1994; SELENSKA-POBELL *et al.*, 1995; KRÖCKEL, 1997). Als DNA-Polymerase wurde *illustra*<sup>TM</sup> rTaq DNA-Polymerase von GE Healthcare (Freiburg) eingesetzt. Die PCR-Reaktionen wurden in einem PxE 0.5 Thermal Cycler mit Heizdeckel im TubeControl Modus (Thermo Electron Corp.) durchgeführt.

**Beimpfungsversuche.** Frischer Schweinerückenspeck sowie Gelbwurstscheiben wurden mit den Melanin bildenden Isolatensorten *Ps. fluorescens* C, M1/2, M2/2 und M3/2, den Referenzstämmen (s. o.) sowie Reinkulturen der Hefeisolate inokuliert und aerob 2-5 Tage bei RT sowie 5-13 Tage bei 5-7 °C inkubiert. Dazu wurden je 10 µl einer verdünnten Suspension aus gewaschenen Zellen ( $10^6$ - $10^7$  KBE/ml) einer Flüssigkultur auf dem möglichst keimarm vorbereiteten Testsubstrat verteilt oder Koloniematerial direkt auf dem Speck/Wurst-Substrat verrieben.

## Ergebnisse

**Isolierung und Identifizierung.** Die schwarz verfärbten Stellen beim Rinderfett (Durchmesser >2 cm) zeigten unter der Stereolupe keinen offensichtlichen Hinweis auf mikrobielles Wachstum. Beim Schweinespeck war im Bereich der Schwarzverfärbung (Durchmesser >5 mm) eine Kolonie mit einer wollfilzartigen Morphologie zu erkennen. Die lichtmikroskopische Untersuchung dieser Kolonie wies auf eine Bakterien/Hefe-Assoziation hin (kleine bewegliche Stäbchen, Hefen mit Pseudomycel). Auf den RBCA-Primärplatten der Abstriche vom Rinderfett lagen vor allem *Pseudomonaden* und Hefen (*Geotrichum* sp.) vor (BANTLEON, 2007). Die Pseudo-

monaden erschienen auf RCBA als dunkelrote, schleimige Kolonie.

Aus den Abstrichen vom Schweinespeck entwickelten sich auf Standard-I-Agar ausschließlich Bakterienkolonien (*Brochothrix*, sowie nicht näher untersuchte bräunliche und gelbliche Bakterienkolonien). Auf Malzextraktagar wurden bräunliche, schleimige Kolonien mit einem schwarzen Zentrum beobachtet (Mischkulturen aus Hefen und Bakterien). Die lichtmikroskopische Untersuchung dieser Kolonien wies auf eine Mischung von Hefen und stäbchenförmigen Bakterien hin. Sequentielle Reinheitsausstriche auf Standard-I und MEA<sup>+</sup> Agar führten schließlich zur Isolierung nicht pigmentierter Hefen und schwach pigmentierter Bakterienkolonien, wobei letztere das Agarmedium bräunlich erscheinen ließen (Abb. 2a). Standard-I-Flüssigkulturen der Bakterienisolate zeigten eine typische grauschwarze Zone im Bereich der Gas/flüssig-Grenzschicht. (Abb. 3).

Bei den Melanin bildenden Isolatensorten handelte es sich um GRAM-negative, Oxidase-positive, bewegliche, obligat aerobe, kleine Stäbchenbakterien, die mittels API 20NE Galerie zu 99,9 % als *Ps. fluorescens* identifiziert wurden. Auf King's B Agar wurde ein wasserlösliches, unter UV-Licht grünlich fluoreszierendes Pigment gebildet. Auf einem Saccharose haltigen Nährboden (CYA-Agar) erfolgte Levanproduktion (Abb. 2). Die spezifische PCR nach WIDMER *et al.* (1998) zur Identifizierung von *Pseudomonas (sensu stricto)* war positiv für die Melaninbildner und die Referenzstämmen.

**Wachstum auf verschiedenen Nährmedien.** Auf Standard-I-Agar erfolgte eine wenig ausgeprägte, auf Minimalmedium und CYA-Agar eine sehr markante Produktion von Melanin durch die *Ps. fluorescens* Isolate (Abb. 2). Der wasserlösliche Charakter des gebildeten Melanins ist gut zu erkennen. Auf Minimalmedium erschienen die Kolonien mehr oder weniger farblos bis weißlich, auf CYA dagegen tiefschwarz. Ursache dafür dürfte sein, dass ein großer Teil des Melanins in der die Bakterienzellen umgebenden Schleimhülle (Levan)

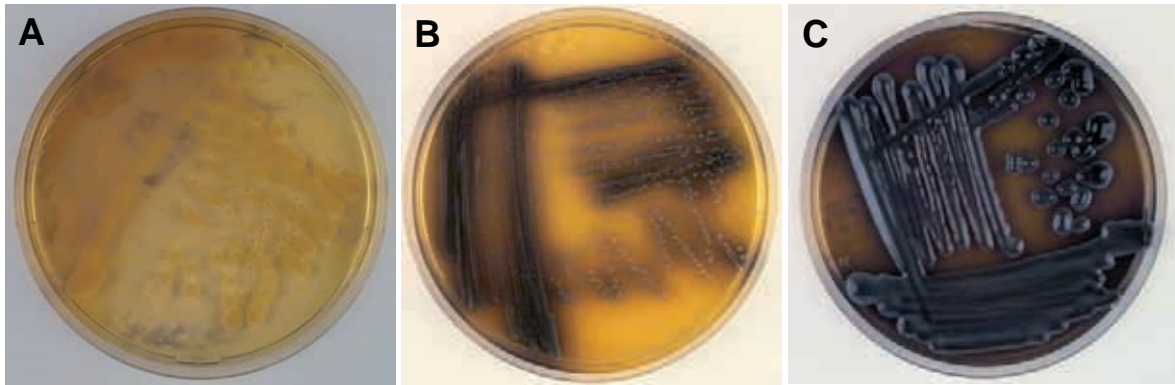


Abb. 2: Wachstum von *Ps. fluorescens* Stamm C auf Standard-I-Agar (A), Minimalmedium (B) und CYA-Agar

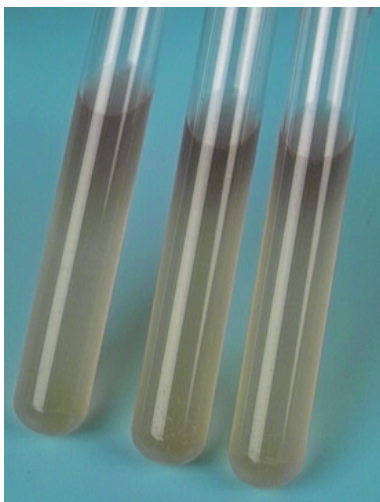


Abb. 3: Wachstum Melanin bildender *Ps. fluorescens* Isolate (Stämme C und D) in Standard-I-Flüssigmedium

zurückgehalten wird. Eine durch Melaninproduktion hervorgerufene hellbraune bis schwarze Verfärbung der Substrate der API 20NE Galerie zeigte sich bei *Ps. fluorescens* C und D bei Glucose (GLU), L-Arabinose (ARA), D-Mannose (MNE), D-Mannitol (MAN), N-Acetyl-Glucosamin (NAG), Kalium-Gluconat (GNT), Caprat (CAP), Malat (MLT), Tri-Natrium-Citrat (CIT) (Abb. 4). Die hellbraune Verfärbung des Nährmediums mit Malat und Citrat zeigte eine nur schwache Melaninproduktion an. Am intensivsten war die Melaninproduktion (Schwarzfärbung!) in Ge-

genwart von Glucose und Mannitol. Die Isolate *Ps. fluorescens* M1/2, M2/2 und M3/2 zeigten außer bei MLT und CIT eine graue Einfärbung der Substrate.

Die genetischen Fingerabdrücke der Isolate C und D von Schweinekotelett waren identisch. Sie unterschieden sich deutlich von jenen der Referenzstämmen, insbesondere auch von *Ps. fluorescens* DSM 50090 (Abb. 5). Fingerprints der Isolate *Ps. fluorescens* M1/2, M2/2 und M3/2 wurden bisher noch nicht erstellt.

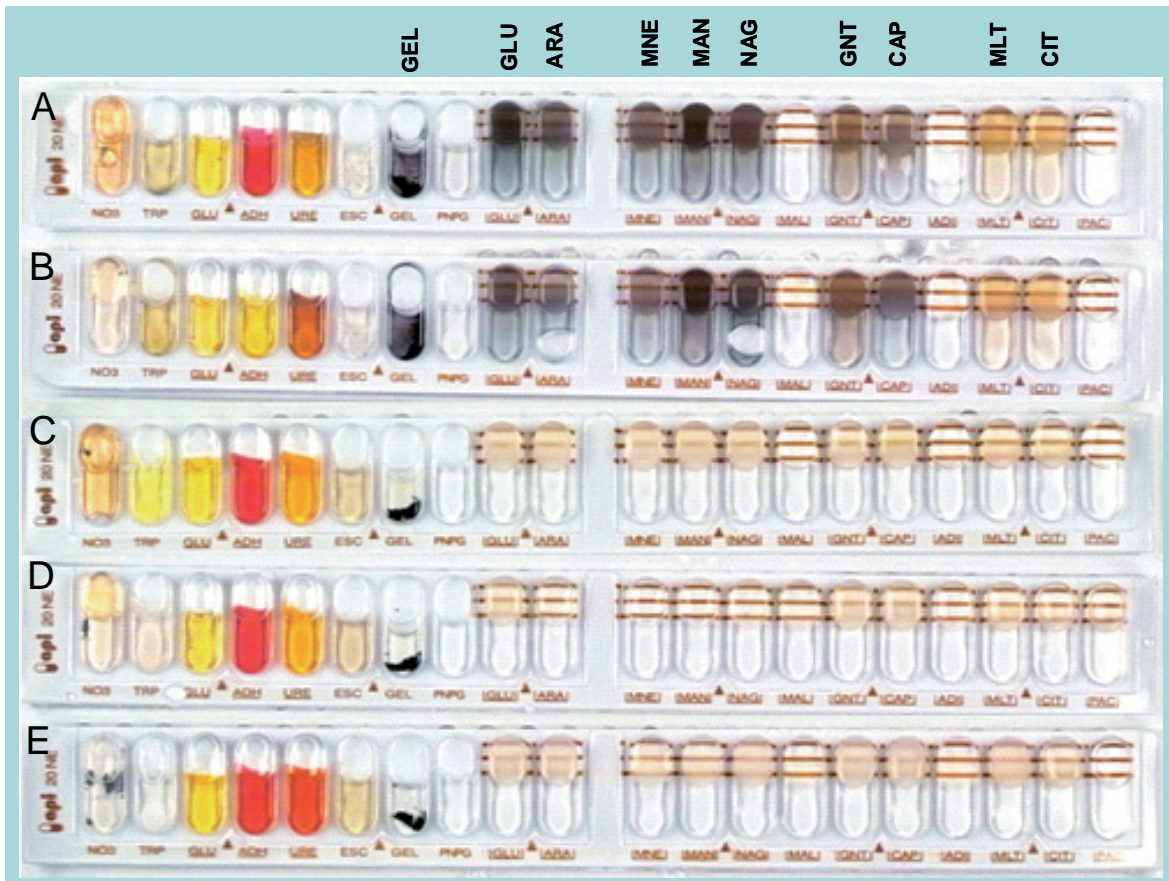


Abb. 4: Wachstum Melanin produzierender *Ps. fluorescens* Stämme auf den Substraten der API 20NE Galerie im Vergleich zu Melanin negativen Referenzstämmen. A, Stamm C; B, Stamm, D; C, *Ps. fluorescens* DSM 50090; D, *Ps. putida* DSM 291; *Pseudomonas* sp. PS 79 von Rindfleisch

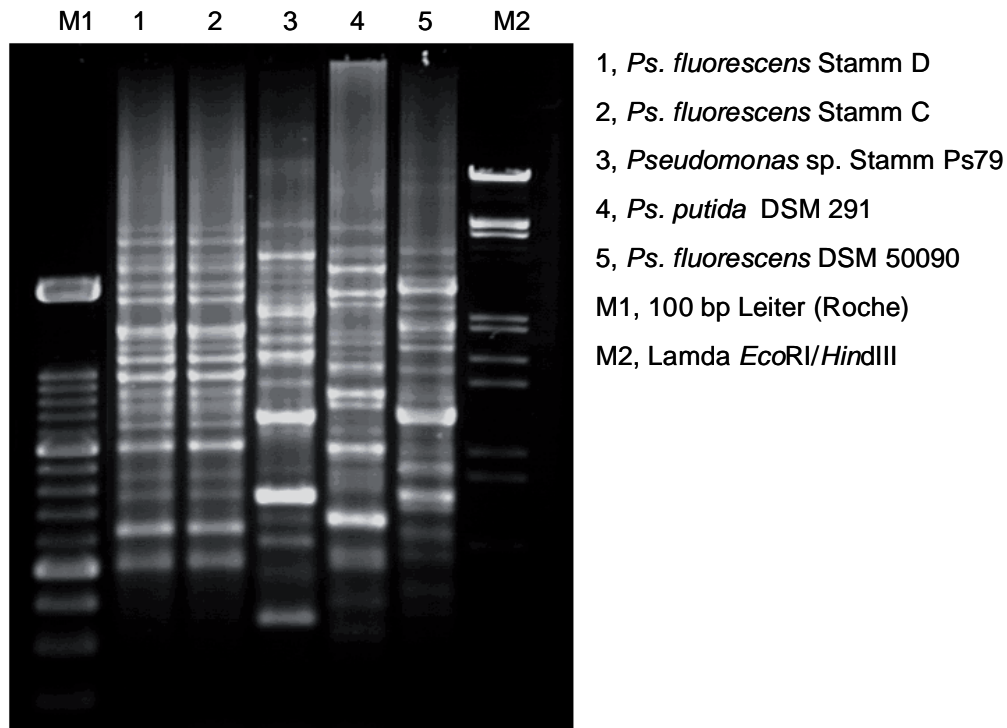


Abb. 5: Genetischer Fingerabdruck (BOX-rep-APD) der Melanin bildenden *Ps. fluorescens* Stämme C und D im Vergleich zu drei Referenzstämmen der Gattung

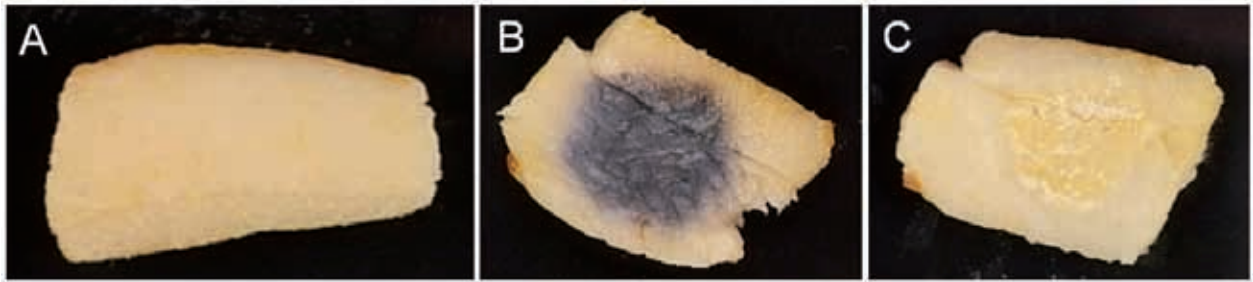


Abb. 6: Schwarzverfärbung von gezielt beimpftem Schweinespeck durch *Ps. fluorescens* Stamm C nach 4 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur. A, unbeimpft; B, mit *Ps. fluorescens*; C, mit Hefe aus der ursprünglichen Bakterien/Hefe-Assoziation

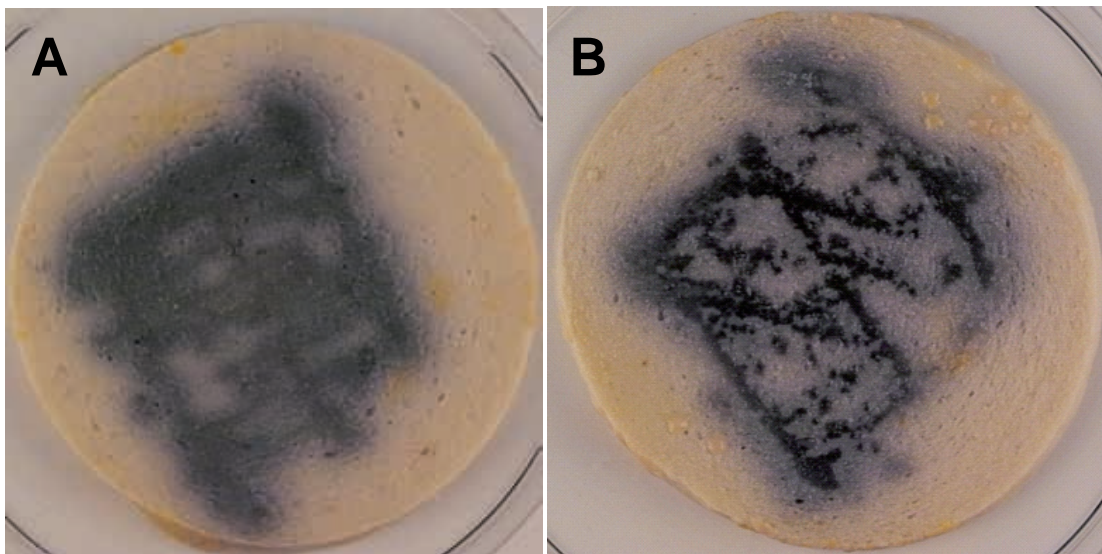


Abb. 7: Schwarzverfärbung von gezielt beimpfter Gelbwurst durch *Ps. fluorescens* Stamm C nach 4 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur. A, *Ps. fluorescens*; B, *Ps. fluorescens* + Hefe

**Beimpfungsversuche.** In Beimpfungsversuchen konnte nur in Gegenwart Melanin bildender Pseudomonaden eine Schwärzung von Schweinespeck und Gelbwurst beobachtet werden. Die Reinkulturen der isolierten Hefen waren dazu nicht in der Lage (Abb. 6 und 7). Auf Gelbwurst führte die gleichzeitige Anwesenheit von Bakterien und Hefen zu einer lokal stärker ausgeprägten Schwärzung. Ursache dafür ist möglicherweise eine Melaninanreicherung in der Mischkolonie oder eine verstärkende Wirkung der Hefe auf die Melaninbildung. Bei Kühl- und Zimmertemperatur wurden vergleichbare Ergebnisse erhalten.

## Diskussion

Die beobachtete Schwarzverfärbung des Speckanteils an einem unter aeroben Be-

dingungen kühl gelagerten Schweinekotelett und einer Partie Rinderfett war eindeutig auf Melanin bildende Bakterien der Gattung *Pseudomonas* zurückzuführen. Dafür sprechen die Ergebnisse sowohl der genetischen (Nachweis der Gattungszugehörigkeit) als auch der morphologischen und physiologischen Untersuchungen der isolierten Reinkulturen in Verbindung mit deren Fähigkeit zur Schwärzung verschiedener Substrate. Die weitere Identifizierung der Isolate deutete mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine Variante von *Pseudomonas fluorescens* hin. Hinweise darauf ergaben sich aus der Fluoreszenz auf King's B Medium, der Auswertung der biochemischen Tests (API 20NE Galerie) und der Levanproduktion in Gegenwart von Saccharose. Eine Identifizierung der Art *Ps. fluorescens* mittels spezifischer PCR ist gegenwärtig nicht möglich (ERCOLINI *et al.*, 2007). Aus den

mittels BOX-PCR erhaltenen genetischen Fingerabdrücken können zurzeit noch keine eindeutigen *Pseudomonas*-spezifischen Muster angegeben werden. Die vorläufigen Ergebnisse deuten jedoch auf eine prinzipielle Eignung der Methode zur Unterscheidung von Stämmen hin.

Verantwortlich für die Melaninbildung bei *Pseudomonaden* ist in vielen Fällen das Enzym Tyrosinase, das zur Gruppe der Phenoloxidasen zählt und über einen weiten Temperatur- und pH-Bereich stabil ist. Tyrosinasen sind nahezu ubiquitär in allen Domänen des Lebens verbreitet. Ihre bekannteste Funktion ist die Bildung von Melanin aus L-Tyrosin über L-Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa) (CLAUS und DECKER, 2006). Das braune *aeruginosa*-Melanin entsteht bei Melanin bildenden Stämmen von *Ps. aeruginosa* beim Abbau von Tyrosin über Homogentisinsäure (MANN, 1969). Bei diesen Stämmen (Verlustmutanten mit einem Defekt der Homogentisicase) wird Homogentisinsäure nicht über Maleylacetacetat zu Fumarsäure und Acetessigsäure abgebaut, sondern über Benzochinonessigsäure zu einem zunächst rötlichen und dann braunen Melanin.

Melanine sind enigmatische Pigmente, die bei Bakterien, Pilzen, Pflanzen und Tieren weit verbreitet sind. Melanine ähnlicher Bauart aber unterschiedlicher biologischer Herkunft können allerdings sehr unterschiedliche spektroskopische und photochemische Eigenschaften aufweisen (HOGAN und KOLTER, 2002). Melanin spielt eine Rolle als Photoprotektans, insbesondere gegen UV-Strahlung (Douglas, 2003). Melanine absorbieren, streuen und reflektieren UV-Licht unterschiedlicher Wellenlängen, können aber auch sehr gut erbgutschädigende reaktive Sauerstoffformen (ROS) absorbieren und so die Zelle vor Strahlungseinflüssen schützen (GENG *et al.* 2008). ROS entstehen z. B. in Lösung nach UVA-Bestrahlung (400-320 nm). Bei Krankheitserregern ist die Fähigkeit zur Bildung von Melanin ein Pathogenitätsfaktor (NOSANCHUK und CASADEVALL, 2003), da es die Keime gegen die Immunabwehr des Wirts unempfindlicher macht.

Positive wie negative wechselseitige Interaktionen zwischen Hefen und *Pseudomonaden* spielen eine große Rolle in Biofilmen (DOUGLAS, 2003; HOGAN und KOLTER, 2002; GIBSON, SOOD und HOGAN, 2009; ROMANO und KOLTER, 2005). In wie weit die in dieser Studie nicht näher identifizierten Hefen das Wachstum von Melaninbildnern auf Rinder- und Schweinefett unter Kühlhausbedingungen fördern, bleibt vorerst unklar. Hefen sind bei Fleisch und Fleischerzeugnissen weit verbreitet. Sie sind aber beim Verderb von Frischfleisch gegenüber Bakterien kaum konkurrenzfähig.

Ebenso bleibt die Frage offen, woher die Melanin bildenden Varianten von *Ps. fluorescens* kommen. Sie zählen jedenfalls nicht zur „normalen“ Kühlhausflora. Die hier beobachteten Assoziationen mit Hefen legen die Vermutung nahe, dass sie nur in dieser Verbindung mit nicht Melanin bildenden *Pseudomonaden* konkurrieren können.

### Schlussfolgerungen für die Praxis

Die hier beschriebene schwarze Farbveränderung bei Rinder- und Schweinefett stellt einen nicht alltäglichen Lager Schaden von unverpacktem bzw. unter aeroben Bedingungen kühl gelagertem Fleisch bzw. Fett dar. Er ist ein deutliches Zeichen für einen fortgeschrittenen mikrobiellen Verderb. Eine weitere Verwertung der betroffenen Partien ist auszuschließen. Die Überschreitung der mikrobiellen Verderbsschwelle weist auf eine unhygienische Behandlung des Fleisches in Verbindung mit einer unsachgemäßen Lagerung hin (Überschreitung der empfohlenen Lagerzeiten und Lager temperaturen).

**Danksagung.** Frau Jutta Popp danke ich für die ausgezeichnete technische Assistenz. Frau Dipl.-Biol. Christine Hengl (MRI Kulmbach, Arbeitsgruppe Analytik) danke ich für die Überlassung von Probenmaterial (Schweinekotelett), Frau Dr. Annegret Bantleon (Versmold) für die Überlassung von Fotos (Abb. 1) und Primärplatten von Abstrichen (Rinderfett).

## Literatur

- Arnau, J, Garriga, M (1993) "Black Spot" bei Pökelfleischprodukten. *Fleischwirtschaft* 73 (12), 1412-1413.
- Arnau, J, Garriga, M (2000) The effect of certain amino acids and browning inhibitors on the 'black spot' phenomenon produced by *Carnimonas nigrificans*. *J Sci Food Agric* 80, 1655-1658.
- Bantleon, A (2007) pers. Mitteil.
- Cancilla, RM, Powell, IB, Hillier, AJ, Davidson, BE, (1992). Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with 32P and fluorescent labels. *Appl Environ Microbiol* 58, 1772-1775.
- Claus, H. and Decker, H. (2006) Bacterial tyrosinases. *Syst Appl Microbiol* 29, 3-14.
- Douglas, LJ (2003) *Candida biofilms* and their role in infection. *Trends Microbiol* 11 (1), 30-36.
- Ercolini, D, Russo, F, Blaiotta, G, Pepe, O, Mauriello, G, Villani, F (2007) Simultaneous detection of *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, and *P. putida* from meat by use of a multiplex PCR assay targeting the *carA* gene. *Appl Environ Microbiol* 73 (7), 2354-2359.
- Garriga, M, Ehrmann MA, Arnau, J, Hugas, M, Vogel, RF (1998) *Carnimonas nigrificans* gen. nov., sp. nov., a bacterial causative agent for black spot formation on cured meat products. *Int J Syst Bacteriol* 48 (3), 677-686.
- Geng J, Yu SB, Wan X, Wang XJ, Shen P, Zhou P, Chen XD (2008) Protective action of bacterial melanin against DNA damage in full UV spectrums by a sensitive plasmid-based noncellular system. *J Biochem Biophys Meth* 70 (6), 1151-1155.
- Gibson, J, Sood, A, Hogan, DA (2009) *Pseudomonas aeruginosa-Candida albicans* Interactions: Localization and Fungal Toxicity of a Phenazine Derivative. *Appl Environ Microbiol* 75 (2), 504-513.
- Hogan, DA, Kolter, R (2002) *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science* 296, 2229-2232.
- King, EO, Ward, MK, Raney, DE (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J Lab Clin Med* 44, 310-307.
- Kröckel, L, Focht, DD (1987) Construction of chlorobenzene-utilizing recombinants by progenitive manifestation of a rare event. *Appl Environ Microbiol* 53, 2470-2475.
- Kröckel, L (1997) Differenzierung von *Lactobacillus sake* und *L. curvatus* mittels BOX-rep-APD. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach* 36. Jg, Nr. 137, 286-294.
- Louws, FJ, Fulbright, DW, Stephens, CT, de Bruijn, FJ (1994) Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. *Appl Environ Microbiol* 60, 2286-2295.
- Lücke, F.-K., Troeger, K (2007) Mikrobiologische Risiken. In: W. Branscheid, K.O. Honikel, G. von Lengerken und K. Troeger (Hrsg.) *Qualität von Fleisch und Fleischwaren*. Deutscher Fachverlag, Frankfurt a.M., pp. 553-634.
- Mann, S (1969). Über melaninbildende Stämme von *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Mikrobiol.* 65, 359-379
- Nosanchuk, JD, Casadevall, A (2003) The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cell Microbiol* 5 (4), 203-223.
- Pitt, JI, Hocking, AD (1997) *Fungi and Food Spoilage*. Blackie, Academic & Professional, London.
- Romano, JD, Kolter, R (2005) *Pseudomonas-Saccharomyces* interactions: influence of fungal metabolism on bacterial physiology and survival. *J Bacteriol* 187 (3), 940-948.
- Selenska-Pobell, S, Evguenieva-Hackenberg, E, Schwickerath, O (1995) Random and repetitive primer amplified polymorphic DNA analysis of five soil and two clinical isolates of *Rahnella aquatilis*. *Syst Appl Microbiol* 18, 425-438.
- Widmer, F, Seidler, RJ, Gillevet, PM, Watrud, LS, Di Giovanni, GD (1998) A highly selective PCR protocol for detecting 16S rRNA genes of the genus *Pseudomonas* (sensu stricto) in environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 64, 2545-2553.