

Vergleichende Untersuchungen über die Bildung antibiotischer Stoffe durch *Penicillium*-Arten*

Von KONRAD BERNHAUER und JOHANN RAUCH

(Z. Naturforschg. 4b, 208—219 [1949]; eingegangen am 20. April 1949)

Herrn Professor Dr. C. Neuberg zum 70. Geburtstage gewidmet

Angesichts der großen Zahl der *Penicillium*-Arten und Hemmstoffe läßt sich die Frage, ob bestimmte Beziehungen zwischen dem Vermögen zur Hemmstoffbildung und dem mykologischen System der Pilzgruppe *Penicillium Link* bestehen, z. Zt. noch nicht endgültig beantworten. Das unterschiedliche Verhalten bestimmter Testorganismen gegenüber den einzelnen Hemmstoffen („antibiotisches Spektrum“) ermöglicht aber mit Hilfe des Strichtestes einen Überblick über das Hemmstoffbildungsvermögen in den einzelnen Pilzsektionen. Es konnte gezeigt werden, daß gewisse Hemmstoffe vor allem durch Vertreter bestimmter Sektionen oder Subsektionen des mykologischen Systems gebildet werden. Dies gilt besonders für Penicillin, Claviformin und Citrinin, die überwiegend in bestimmten Subsektionen auftreten. Andere Hemmstoffe, wie die Penicillinsäure, scheinen mehr über das ganze *Penicillium*system verstreut zu sein.

Die Prüfung ergab ferner, daß es keine Sektion oder Subsektion des *Penicillium*-Systems gibt, in der keine hemmstoffbildenden Vertreter aufzufinden wären. Der Einfluß der Nährbodenzusammensetzung macht sich auf die Hemmstoffbildung häufig sehr stark bemerkbar. Die eindeutige Beantwortung der Frage, ob ein Pilz zur Hemmstoffbildung befähigt ist oder nicht, ist daher erst durch eingehende Prüfung der verschiedensten Nährböden möglich. Unter den untersuchten 375 *Penicillium*-Arten und -Stämmen erwiesen sich 165 (= 44%) als aktiv.

Zahlreiche Vertreter der Pilzgruppe *Penicillium Link* wurden bereits im Hinblick auf ihr Vermögen zur Bildung antibiotischer Stoffe geprüft. Wilkins und Harris haben zunächst 34, sodann 33 und schließlich 100 *Penicillium*-Arten und Stämme untersucht¹. Atkinson u. Mitarbb. prüften zunächst 68 und dann weitere 50 *Penicillien*²; Rao, Mohan u. Sreenivasaya³ testeten 27 *Penicillium*kulturen, und Brian und Hemming⁴ haben 65 Vertreter dieser Pilzgruppe geprüft. Von den umfassenden Arbeiten über die Gewinnung guter Penicillin-Bildner kann hier abgesehen werden. Die Zielsetzung bei fast allen diesen Untersuchungen war einerseits die Auffindung therapeutisch wirksamer Hemmstoffe, andererseits die Ermittlung solcher Pilzstämmen, die zur Bildung bestimmter Antibiotika in besonders

hohem Ausmaß befähigt sind. Unter den durch *Penicillium*-Arten gebildeten Hemmstoffen sind bis heute etwa 14 isoliert und identifiziert worden.

Bei unseren in den Jahren 1943 bis Anfang 1945 durchgeführten Untersuchungen über die Hemmstoffbildung durch *Penicillien* hatten wir uns u. a. auch die Frage vorgelegt, ob bestimmte Beziehungen zwischen dem Vermögen zur Hemmstoffbildung und der Stellung der betreffenden aktiven Pilze im mykologischen System bestehen. Da gerade diese Fragestellung bis heute nur wenig beachtet wurde, erscheint uns die Veröffentlichung der Ergebnisse gerechtfertigt, auch wenn die betreffenden Experimentalarbeiten bereits einige Jahre zurückliegen. Es erschienen dabei vor allem zwei Fragen von Interesse, nämlich

* 4. Mitt. in der Veröffentlichungsreihe „Über die Bildung antibiotischer Stoffe durch Mikroorganismen“ aus dem vormaligen Institut für Biochemie und Nahrungsmittelchemie der Deutschen Technischen Hochschule in Prag. Über die Ergebnisse dieser Arbeit wurde am 2. Okt. 1944 gelegentlich einer Penicillin-Tagung in Berlin-Babelsberg und sodann am 21. Mai 1948 auf der Vortragstagung der Ges. Deutscher Chemiker in Wiesbaden referiert. Vgl. Angew. Chem. (A) 60, 249 [1948]. — 3. Mitt. vgl. A. Grosser und W. Friedrich, Z. Naturforschg. 3b, 425 [1948].

¹ W. H. Wilkins u. G. C. M. Harris, Brit. J. exp. Pathol. 23, 166 [1942]; 24, 141 [1943]; 25, 135 [1944].

² N. Atkinson, Austr. J. exp. Biol. Med. Sci. 21, 15 [1943]; N. Atkinson, R. A. W. Sheppard, N. F. Stanley u. K. M. Rainsford, ebenda 22, 227 [1944].

³ T. N. R. Rao, R. R. Mohan u. M. Sreenivasaya, J. Sci. Ind. Research (India) 4, 377 [1945]; Chem. Abstr. 40, 3497 [1946].

⁴ P. W. Brian u. H. G. Hemming, J. Gen. Microbiol. 1, 158 [1947].

1. ob die Fähigkeit zur Hemmstoffbildung im allgemeinen für bestimmte Gruppen des mykologischen Systems charakteristisch ist, bzw. ob bestimmte Antibiotika durch Vertreter bestimmter Sektionen oder Untersektionen gebildet werden, oder ob die Grenzen des mykologischen Systems hierfür belanglos sind;

2. ob das Vermögen zur Hemmstoffbildung eine konstante und damit charakteristische Eigenschaft der Pilze ist bzw. wieweit diese Fähigkeit von der Art der Pilzzüchtung, also den äußeren Bedingungen, sowie evtl. vom Fundort neu isolierter Kulturen abhängt.

Angesichts der großen Zahl von Penicillien und der durch diese gebildeten Hemmstoffe ist naturgemäß eine erschöpfende Beantwortung zur Zeit noch nicht möglich. Im folgenden kann daher nur ein kleiner Beitrag zu diesen Fragen geliefert werden.

Um die große Zahl der durchzuführenden Prüfungen bewältigen zu können, wählten wir den Fleming'schen Strichtest⁵, da dieser für unsere Zwecke am einfachsten erschien und auch von zahlreichen anderen Autoren als brauchbar befunden wurde⁶. Als Substrate dienten zwei verschiedene Nährboden-Mischungen, die aus Bestandteilen von Pilz- und Bakterien-Nährböden zusammengesetzt waren, um so gleich einen Beitrag zur Frage 2 liefern zu können. Als Testorganismen benützten wir je einen ausgewählten Stamm von *Staph. aureus*, *B. mesentericus* und *E. coli*, da dadurch eine gewisse Differenzierung von Hemmstoffen möglich erschien, wodurch ein Beitrag zu Frage 1 geleistet werden kann. Zur Ermittlung des vollständigen „antibiotischen Spektrums“ im Sinne Waksman's⁷ und damit für eine verbindlichere Aussage über die Art der gebildeten Hemmstoffe sind allerdings weitaus mehr Testorganismen erforderlich. *Pseudomonas pyocyanea* ließen wir als Testorganismus bald fort, da durch dieses Bakterium besonders der *Staph. aureus* stark gehemmt wurde, wodurch das Ergebnis bei gleichzeitiger Verwendung derselben Testplatte in Frage gestellt wird. Der Grad der Wirkung ergibt sich in Abhängigkeit von dem durch die Diffusion bedingten Konzentrationsgefälle aus der Breite der Hemmzone. Dabei ist natürlich die Art des Hemmstoffes (Mol.-Gew.), die Temperatur, die Luftfeuchtigkeit und das Alter der Pilzkultur auf der Platte von Einfluß. Die experimentell festgelegten Versuchsbedingungen müssen daher für vergleichende Untersuchungen stets genau eingehalten werden. In

⁵ A. Fleming, Brit. J. exp. Pathol. 10, 226 [1929].

⁶ So z. B. von Brian u. Hemming⁴ bei der Prüfung zahlreicher *Aspergillus*-, *Penicillium*-, *Fusarium*- und *Trichoderma*-Stämme, oder von A. H. Hervey, Bull. Torrey Bot. Club 74, 476 [1947], bei der Prüfung von 500 Basidiomyceten.

⁷ S. A. Waksman, E. Bugie u. H. Ch. Reilley, Bull. Torrey Bot. Club 71, 107 [1944].

diesem Fall ist auch die Reproduzierbarkeit befriedigend, wobei natürlich ein gleicher physiologischer Zustand der Pilzkultur und der Testorganismen die Voraussetzung ist. Die Hemmzone selbst ist fast stets sehr regelmäßig und deutlich⁸.

Die experimentellen Daten zeigt Tab. 1a—f. Die Pilze sind im Sinne der Fragestellung gemäß dem mykologischen System angeordnet⁹. Bei der Pilzart selbst ist deren Herkunft vermerkt; zahlreiche Stämme wurden vom Baarnschen Centralbureau voor Schimmelcultures (C.B.S.) bezogen und sind mit (B) bezeichnet. Die anderen Pilze, mit (e) bezeichnet, waren frisch isoliert und in der mikrobiologischen Abteilung des Instituts bestimmt worden¹⁰. Dabei wurde wenigstens auf die Feststellung der Gruppenzugehörigkeit Wert gelegt, soweit nicht eine vollständige Identifizierung stattfand. Die bei den einzelnen Pilzen auf den beiden Nährböden I und II (vgl. unten) beobachtete Hemmzone gegenüber den drei Testorganismen ist in den Tabellen vermerkt. Dazu diene folgende Zeichenerklärung:

Hemmwirkung: entweder Hemmzone in mm oder +,
keine Hemmwirkung: 0,
nicht geprüft: offenes Feld.

Die Anordnung der Arten innerhalb jeder Sektion oder Subsektion erfolgte gemäß dem Hemmvermögen, und zwar einerseits nach der Wirkungsbreite und andererseits nach der Wirkungsintensität. Zum Vergleich ist in einer eigenen Spalte das antibiotische Verhalten der Pilze angeführt, soweit diesbezügliche Unterlagen in der Literatur vorhanden sind. Die betreffende Spalte ist durch die Bezeichnung L.A. (Literatur-Angabe) gekennzeichnet. Die dort gemachten Angaben sind durch die eigenen Befunde ergänzt. Es wurden hier nur die positiven Ergebnisse eingetragen. Schließlich ist vermerkt, welche Hemmstoffe nach den bisherigen Befunden durch die verschiedenen Penicillien gebildet werden. Dabei wurden folgende Abkürzungen verwendet:

Pen.	= Penicillin,
Pen.S.	= Penicillinsäure,
Citr.	= Citrinin,
Clav.	= Claviformin (identisch mit Patulin, Expansin, Penicidin, Clavacin, Clavatin und Tercinin),
Pub.	= Puberulsäure und Puberulonsäure,
Spin.	= Spinulosin,
Gl.S.	= Gladiolinsäure,
Tar.	= Tardin,
Glio.	= Gliotoxin,
N.M.Ph.	= Nor-Mycophenolsäure,
Gr.	= Griseofulvin,
G.S.	= Gentisinsäure,
G.A.	= Gentisinalkohol.

⁸ Bedauerlicherweise sind unsere gesamten Lichtbilder (zumeist Farbaufnahmen) verloren gegangen.

⁹ Nach Thom, The Penicillia, Baltimore [1930] und A. Niethammer, Technische Mycologie, F. Enke Verlag, Stuttgart [1947].

¹⁰ Frau Prof. Dr. A. Niethammer sei auch hier für die Durchführung der Bestimmungen bestens gedankt.

Pilz-Species	St. au.		Mes.		Coli		L. A.	Hemmstoff
	I	II	I	II	I	II		
Sektion A: Monoverticillata-stricta.								
Untersekt. 1: Ascogena								
P. javanicum van Beyma (B)	20	22	5	0			+	
Nicht hemmend: P. stipitatum Thom (B).								
Untersekt. 2: Sclerotigena								
P. Thomii Maire (B)	3	3	8	0	2	0		
P. sclerotium v. Beyma (B)	1	0	3	0	0	0		
Nicht hemmend: P. spec. (e).								
Untersekt. 3: Floccosa								
P. Trzebinsky Zal. (e)	14	0	20	0	17	0		
P. spinulosum Thom (B)	3	0	9	0	4	0	+	(Spin.) ¹¹
P. restrictum Gilman et Abbot (B)	10	0	18	0	0	0		
P. lacticum Mazé et Perrier (B)	12	4	0	0	0	0		
P. spec. (e)	11	8	0	0	0	0		
P. spec. (e)	10	10	0	0	0	0		
P. roseo-maculatum Biourge (B)	0	0	0	0	0	0	+	
Nicht hemmend: P. flavo-cinereum Biourge (B), P. roseo-pupureum Dierckx (B), P. Trzebinsky Zal. (B), P. virididorsum Biourge (B), P. spec. 8 Stämme (e).								
Untersekt. 4: Funiculosa								
P. Terlikowskii Zal. (B)	1	0	2	0	3	0	+	(Glio.) ¹²
P. cinerascens Biourge (B)	23	25	0	15	0	0	+	
P. phaeo-janthinellum Biourge (B)	0	12	0	11	0	0	+	(Citr.) ¹³
P. citreo-sulfuratum Biourge (B)	2	1	4	0	0	0	+	(Citr.) ¹³
P. carmino-violaceum Dierckx (B)	32	25	0	0	0	0		
P. griseum Sopp (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Pen.S.) ¹⁴
Nicht hemmend: P. decumbens Thom (B), P. Adametzi Zal. (B), (e), P. citreo-viride Biourge (B), P. fellulatum Biourge (B), P. Paczorskii Zal. (B).								
Untersekt. 5: Velutina								
P. brunneo-viride v. Szilvinyi (B)	25	8	19	16	15	5		
P. jantho-citrinum Biourge (B)	13	13	10	10	12	10		
P. Oledzkii Zal. (B)	0	14	0	12	0	10		
P. citreo-nigrum Dierckx (B)	25	25	25	16	0	0		
P. implicatum Biourge var. aureo-marginatum Thom (B)	36	0	35	0	0	0		
P. implicatum Biourge (B)	17	9	17	10	0	0	+	(Citr.) ¹³
P. lividum Westl. (B)	3	0	2	0	2	0	+	(Citr.) ¹³ , Pen.S. ¹⁴
P. spec. (e)	15	5	12	2	0	0		
P. spec. (e)	25	20	17	12	0	0		
P. sublateritium Biourge (e)	10	6	2	0	0	0		
P. flavidorsum Biourge (B)	0	2	3	0	0	0		
P. aurantio-brunneum Dierckx (B)	8	4	0	1	0	0		
P. turbatum Westl. (B)	2	0	0	0	0	0	+	(Pen.) ¹⁵
Nicht hemmend: P. Dierckxii Biourge (B), P. candido-fulvum Dierckx (B), P. jantho-citrinum Biourge (e), P. frequentans Westl. (B), P. glabrum (Wehmer) Westl. (B), P. sublateritium (B), P. viride-albo v. Szilv. (B), P. spec. 2 Stämme (e).								
Sektion B: Monoverticillata-ramigena								
P. velutinum v. Beyma (B)	5	3	2	0	0	1		
Nicht hemmend: P. Charlesii Smith (B), P. Waksmani Zal. (B), P. ramosum (Bain. et Sart) Westerdijk (B), P. spec. (e).								

Tab. 1a. Gruppe I: Monoverticillata.

Notatin und Corylophilin werden nicht angeführt, da das durch diese erzeugte biogene Wasserstoffperoxyd nicht unmittelbar zu den Antibiotika gezählt werden kann.

¹¹ A. E. Oxford u. H. Raistrick, Chem. and Ind. **61**, 128 [1942].

Die in der betreffenden Spalte gemachten Angaben beziehen sich nur teilweise auf den an der betreffenden

¹² P. W. Brian, Trans. Brit. Mycol. Soc. **29**, 211 [1946].

¹³ A. V. Pollock, Nature [London] **160**, 331 [1947].

¹⁴ W. Friedrich, Diss. Prag u. Graz [1947].

Pilz-Species	St. au.		Mes.		Coli		L. A.	Hemmstoff
	I	II	I	II	I	II		
Sektion A: Velutina.								
Untersekt. 1: Elliptica-magna								
<i>P. obscurum</i> Biourge (B)	20	14	5	2	0	0	}	+ (Glio.) ¹⁶
<i>P. obscurum</i> Biourge (e)	16	12	2	0	2	1		
<i>P. atramentosum</i> Thom (B)	0	10	0	9	0	4	}	+ (Citri.) ¹⁷
<i>P. digitatum</i> Sacch. (B)	2	0	1	0	2	0		
<i>P. chloro-leucon</i> Biourge (B)	41	27	5	0	0	0	}	+ (Pen.) ¹⁵
<i>P. citrinum</i> Thom (B)	2	0	2	0	0	0		
<i>P. citrinum</i> Thom (e)	8	3	4	6	0	0	}	+ (Pen.) ¹⁵
<i>P. rubrum</i> Graßberger-Stoll (B)	0	0	3	0	0	0		
<i>P. spec.</i> (e)	2	0	4	0	0	0	}	+ (Pen.) ¹⁵
<i>P. rubens</i> Biourge (B)	0	0	0	0	0	0		
Nicht hemmend: <i>P. oxalicum</i> Currie-Thom (B), <i>P. Duponti</i> Griffon et Maubl. (B), <i>P. umbonatum</i> Olsen-Sopp (B), <i>P. corylophilum</i> Dierckx (B), <i>P. Westlingi</i> Zal. (B), <i>P. chloro-leucon</i> Biourge (e).								
Untersekt. 2: Radiata								
<i>P. chrysogenum</i> Thom (B)	10	8	0	0	0	0	+	Pen. ¹⁸
<i>P. notatum</i> Westl. (B)	20	18	0	0	0	0	+	Pen. ¹⁸
<i>P. baculatum</i> Westl. (B)	40	35	0	0	0	0	+	Pen. ^{15, 19}
<i>P. brunneo-rubrum</i> Dierckx (B)	35	30	0	0	0	0	+	Pen. ¹⁹
<i>P. cyaneo-fulvum</i> Biourge (B)	25	22	0	0	0	0	+	Pen. ¹⁹
<i>P. citreo-roseum</i> Dierckx (B)	45	26	0	0	0	0	+	Pen. ^{19, 20}
<i>P. griseo-roseum</i> Dierckx (B)	47	30	0	0	0	0	+	Pen. ^{19, 21}
<i>P. meleagrinum</i> (e)	12	8	0	0	0	0	+	Pen. ²²
<i>P. chlorophaeum</i> Biourge (B)	0	0	0	0	0	0	+	
Nicht hemmend: <i>P. virescens</i> Bainier (B), <i>P. meleagrinum</i> Biourge (B).								
Untersekt. 3: Velutina-restricta								
<i>P. puberulum</i> Bainier (e)	29	22	5	6	0	0	+	(Pen.S.) ²³ , (Pub.) ²⁴
<i>P. Biourgii</i> Dierckx (B)	0	8	0	2	0	0		
<i>P. Melinii</i> Thom (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Clav.) ²⁵
Nicht hemmend: <i>P. puberulum</i> Bain. (B).								
Untersekt. 4: Stellata								
<i>P. griseo-brunneum</i> Sopp (e)	20	0	19	0	17	0	+	Pen. ¹⁹
<i>P. griseo-brunneum</i> Sopp (e)	33	33	0	0	0	0	+	
<i>P. Weidemanni</i> Westl. var. <i>fuscum</i> Arnaudi (B)	10	0	11	0	0	0		
<i>P. virescens</i> Sopp (B)	10	0	3	0	0	0		
<i>P. vesiculosum</i> Bain. (e)	5	0	2	0	0	0		
<i>P. roqueforti</i> Thom (e)	9	0	3	0	0	0	+	
<i>P. suaveolens</i> Biourge (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Pen.S.) ²⁶
Nicht hemmend: <i>P. roqueforti</i> Thom (B), <i>P. roqueforti</i> Thom, var. <i>viride</i> (B), <i>P. Biourgei</i> Arnaudi (B), <i>P. Stilton</i> Biourge (B), <i>P. vesiculosum</i> (B), <i>P. atroviride</i> Dierckx (e), <i>P. spec.</i> (e).								
Untersekt. 5: Asperula								
Nicht hemmend: <i>P. asperulum</i> Bain. (B).								

Tab. 1b. Gruppe II: Asymmetrica.

¹⁵ H. W. Florey, N. G. Heatley, M. A. Jennings u. T. J. Williams, Nature [London] **154**, 269 [1944].

¹⁶ R. P. Mull, R. W. Townley u. C. R. Scholz, J. Amer. chem. Soc. **67**, 1626 [1945].

¹⁷ Hetherington u. H. Raistrick, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **220**, 269 [1931]; F. P. Coyne, H. Raistrick u. R. Robinson, ebenda Ser. B **220**, 297 [1931].

¹⁸ Zahlreiche Literaturangaben.

¹⁹ Über die Bildung von Penicillin durch die mit der Note 19 bezeichneten Pilze wird in einer folgenden Mitteilung berichtet werden.

²⁰ J. W. Foster u. E. O. Karow, J. Bacteriology **49**, 19 [1945].

²¹ G. Pauletta, Farmaco sci. e tec. **1**, 89 [1946].

²² H. Killian, Privatmitteilung.

²³ A. E. Oxford, H. Raistrick u. G. Smith, Chem. and Ind. **61**, 22 [1942].

²⁴ A. E. Oxford, H. Raistrick u. G. Smith, Chem. and Ind. **61**, 485 [1942].

²⁵ J. Kent u. N. G. Heatley, Nature [London] **156**, 295 [1945].

²⁶ R. O. Karow, H. B. Woodruff u. J. W. Foster, Arch. Biochemistry **5**, 279 [1944].

Pilz-Species	St. au.		Mes.		Coli		L. A.	Hemmstoff
	I	II	I	II	I	II		
Sektion B: <i>Brevi-compacta</i>								
<i>P. Hagenii</i> Zal. (B)	0	32	0	28	0	30		
<i>P. stoloniferum</i> Thom (e)	23	17	1	1	0	3		
<i>P. spec.</i> (e)	10	0	12	0	9	0		
<i>P. brevi-compactum</i> Dierckx (B)	3	3	15	14	0		+	(N.M.Ph.) ²⁷
<i>P. spec.</i> (e)	21	15	0	2	0	0		
<i>P. griseo-brunneum</i> Dierckx (B)	12	2	5	0	0	0		
<i>P. Szaferi</i> Zal. (e)	36	34	0	0	0	0		
Nicht hemmend: <i>P. Bialowiezense</i> Zal. (B), <i>P. stoloniferum</i> Thom (B), <i>P. erectum</i> (B), <i>P. crassum</i> (e), <i>P. Szaferii</i> (e), <i>P. spec.</i> 3 Stämme (e).								
Sektion C: <i>Lanata-typica</i>								
<i>P. aurantio-albidum</i> Biourge (B)	23	10	23	8	23	5		
<i>P. aurantio-candidum</i> Dierckx (B)	25	0	26	0	25	0		
<i>P. aurantio-candidum</i> Dierckx (e)	12	11	17	24	12	10		
<i>P. fusco-glaucum</i> Biourge (B)	7	0	12	0	5	0		
<i>P. Raciborskii</i> Zal. (B)	18	12	16	12	0	0		
<i>P. Raciborskii</i> Zal. (e)	0	0	7	0	0	0		
<i>P. lanoso-viride</i> Thom (B)	0	12	0	5	0	0	+	
<i>P. ochraceum</i> (Bain.) Thom (B)	0	2	0	5	0	0		
<i>P. aurantio-virens</i> Biourge							+	(Pub.) ²⁴
Nicht hemmend: <i>P. lanosum</i> Westl. (B), <i>P. bifforme</i> Thom (B), <i>P. commune</i> Thom (B), (e), <i>P. lanoso-griseum</i> Thom (B), <i>P. flavido-marginatum</i> Biourge (B) (e), <i>P. camemberti</i> Thom (B), <i>P. camemberti</i> Thom var. <i>Rogeri</i> Thom (B), <i>P. lanoso-coeruleum</i> Thom (B), <i>P. ochraceum</i> (Bain.) Thom var. <i>macrosporum</i> Thom (B), <i>P. spec.</i> 2 Stämme (e).								
Sektion D: <i>Lanata-divaricata</i>								
<i>P. guttulosum</i> Abbot (B)	0	42	0	30	0	0		
<i>P. canescens</i> Olsen-Sopp (B)	0	27	0	8	0	0	+	
<i>P. spec.</i> (e)	11	23	0	4	0			
<i>P. Kapuscinskii</i> Zal. (B)	15	12	0	0	0	0		
<i>P. Janczewskii</i> Zal. (B)	0	5	0	0	0	0	+	(Gr.) ²⁸
<i>P. janthinellum</i> Biourge (e)	2	3	0		0			
<i>P. lilacinum</i> Thom (B)	0	0	0	0	0	0	+	
<i>P. Chrzaszcii</i> Zal. (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Citr.) ¹³
Nicht hemmend: <i>P. albidum</i> Olsen-Sopp (B), <i>P. Soppii</i> Zal. (B), <i>P. nigricans</i> Bain. (B), <i>P. Jensenii</i> Zal. (B), <i>P. matris-mearae</i> Zal. (B).								
Sektion E: <i>Funiculosa</i>								
<i>P. griseo-fulvum</i> Dierckx (B)	45	23	0	18	0	0	} +	(Gr.) ²⁹ , (G.S.) ³⁰
<i>P. griseo-fulvum</i> Dierckx (e)	48	46	21	20	0	0		
<i>P. solitum</i> Westl. (B)	12	0	21	5	17	5		
<i>P. terrestre</i> Jensen (B)	5	0	10	0	0	0	+	
Nicht hemmend: <i>P. daleae</i> Zal. (B), <i>P. griseo-fulvum</i> Dierckx (e), <i>P. spec.</i> (e).								

Tab. 1c. Gruppe II: *Asymmetrica*.

den Stelle angeführten, von uns benützten Stamm; sie sollen besagen, daß bei einem Stamm der dort genannten Species der angeführte Hemmstoff nachgewiesen worden ist. Dort, wo der Nachweis mit dem betreffenden Stamm von uns selbst erbracht wurde,

²⁷ Clutterbuck u. H. Raistrick, *Biochemic. J.* **27**, 654 [1933]; E. P. Abraham, ebenda **39**, 398 [1945].

²⁸ „Kräuselungsfaktor“ („curling factor“): P. W. Brian, P. J. Curtis u. H. G. Hemming, *Trans. Brit. mycol. Soc.* **29**, 173 [1946]; J. C. McGowan, ebenda **29**, 188 [1946]; identisch mit dem Griseofulvin nach: J. F. Grove u. J. C. McGowan, *Nature* [London] **160**, 574 [1947]; P. W. Brian, P. J. Curtis u. H. G. Hemming, *Trans. Brit. mycol. Soc.* **31** [1948].

ist dies dadurch kenntlich gemacht, daß der betreffende Hemmstoff nicht in Klammer gesetzt wurde, während dies in den anderen Fällen geschah.

²⁹ A. E. Oxford, H. Raistrick u. P. Simonart, *Biochemic. J.* **33**, 240 [1939].

³⁰ H. Raistrick u. P. Simonart, *Biochemic. J.* **27**, 628 [1933].

³¹ Isoliert und identifiziert durch A. Grosser.

³² Z. V. Yermolieva, T. Kaplun u. M. Levitov, *Ann. Rev. Soviet. Med.* **2**, 247 [1945]; L. M. Utkin, *Mikrobiologiya* **15**, 211 [1946]; *Chem. Abstr.* **42**, 8877 [1948]; B. A. Lyanda-Geller u. A. V. Markovich, *Mikrobiologiya* **16**, 105 [1947]; *Chem. Abstr.* **42**, 8880 [1948].

Pilz-Species	St. au.		Mes.		Coli		L. A.	Hemmstoff
	I	II	I	II	I	II		
Sektion F: Fasciculata.								
Untersekt. 1: Sclerotigena								
<i>P. gladioli</i> Machacek (B)	26	12	20	0	23	7		
Untersekt. 2: Aeruginosa								
<i>P. cyclopium</i> Westl. (e)	30	25	32	22	20	18	+	(Pen.S.) ²³
<i>P. flavo-glaucum</i> Biourge (e)	10	9	13	8	20	15	}	+ Pen.S. ³¹
<i>P. flavo-glaucum</i> Biourge (e)	0	0	0	0	9	6		
<i>P. Johannioli</i> Zal.							+	(Pub.) ²⁴
Nicht hemmend: <i>P. cyclopium</i> Westl. (B), <i>P. janthogenum</i> Biourge (B), <i>P. Johannioli</i> Zal. (B), <i>P. majusculum</i> Westl. (B), <i>P. Martensii</i> Biourge (B), <i>P. flavo-glaucum</i> Biourge (B), <i>P. spec.</i> (e).								
Untersekt. 3: Viridicata								
<i>P. olivino-viride</i> Biourge (B)	22	0	22	0	21	0		
<i>P. viridicatum</i> Westl. (B)	0	8	0	8	0	0		
<i>P. spec.</i> (e)	33	31	0	0	0	0		
Nicht hemmend: <i>P. palitans</i> Westl. (B), <i>P. verrucosum</i> Dierckx (B), <i>P. spec.</i> (e).								
Untersekt. 4: Glaucua								
<i>P. expansum</i> (Link) Thom (e)	30	28	35	30	25	20	}	+ (Clav.) ²⁵
<i>P. expansum</i> (Link) Thom (B)	0	0	7	8	5	9		
<i>P. italicum</i> Wehmer (e)	42	36	47	10	37	0	}	+ (Clav.) ²⁵
<i>P. italicum</i> Wehmer (e)	30	32	36	0	28	0		
<i>P. spec.</i> (e)	40	34	44	12	33	5		
<i>P. spec.</i> (e)	37	21	45	22	33	26		
<i>P. spec.</i> (e)	32	25	40	12	18	6		
<i>P. spec.</i> (e)	28	23	32	18	20	12		
<i>P. spec.</i> (e)	22	8	23	12	7	8		
<i>P. spec.</i> (e)	25	5	20	2	20	3		
<i>P. spec.</i> (e)	16	16	26	15	20	12		
<i>P. spec.</i> (e)	12	8	6	5	0	2		
<i>P. crustosum</i> Thom (e)	2	13	2	1			+	(Pen) ³²
<i>P. brunneo-violaceum</i> Biourge (B)	6	4	6	5	0	2		
<i>P. elongatum</i> Dierckx (B)	0	10	0	5	0	0		
<i>P. urticae</i> Bainier (B)	0	0	0	5	0	5	+	(Clav.) ²⁵
<i>P. glaucum</i> Link (e)	7	4	0	2	0	3		
<i>P. leucopus</i> Biourge							+	(Clav.) ³³
<i>P. patulum</i> Bainier							+	(Clav.) ³⁴ (G.A.) ³⁵ (Gr.) ³⁵
Nicht hemmend: <i>P. expansum</i> (Link) Thom (e), <i>P. italicum</i> Wehmer (B), <i>P. aurantio-griseum</i> Dierckx (B), <i>P. varians</i> Smith (B), <i>P. Schneggii</i> Boas (B), <i>P. crustosum</i> Thom (B), <i>P. spec.</i> 15 Stämme (e).								
Untersekt. 5: Coremiella								
<i>P. claviforme</i> Bainier (B)	46	49	46	49	46	49	}	+ (Clav.) ³⁷
<i>P. claviforme</i> Bainier (B)	45	45	45	29	45	27		
<i>P. corymbiferum</i> Westl. (e)	20	35	24	31	40	40		
<i>P. corymbiferum</i> Westl. (e)	18	25	19	27	33	28		
<i>P. corymbiferum</i> Westl. (B)	4	0	7	0	0	0		
<i>P. Godlewskii</i> Zal. (B)	50	35	25	10	0	0	+	Pen. ¹⁹
<i>P. clavigerum</i> Dem. (B)	40	2	15	0	0	0		
<i>P. granulatum</i> Bainier (e)	23	40	18	12	0	0	+	
<i>P. Krzemieniewskii</i> Zal. (B)	3	1	0	0	0	0		
<i>P. divergens</i> Bainier et Sart. (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Clav.) ³⁸ (G.S.) ³⁸ (G.A.) ³⁸
Nicht hemmend: <i>P. granulatum</i> Bainier (B), <i>P. Puterillii</i> Thom (B), <i>P. psittacinum</i> Thom (B).								

Tab. 1d. Gruppe II: Asymmetrica.

³³ H. Umezawa, Y. Mizuhara, K. Uekane u. M. Hagihara, *J. Penicillin* **1**, 6 [1947].

³⁴ J. H. Birkinshaw, Bracken, Michael u. H. Raistrick, *Lancet* **245**, 625 [1943].

³⁵ J. H. Birkinshaw u. Mitarbb., *Biochemic. J.* **38**, 131 [1944].

³⁶ Zitiert nach P. W. Brian, *Ann. Bot. N.S.* **13**, 59 [1949].

³⁷ H. W. Florey u. M. A. Jennings, *Brit. J. exp. Pathol.* **23**, 202 [1942].

³⁸ J. Barta u. R. Mečič, *Experientia* **4**, 277 [1948].

Pilz-Species	St. au.		Mes.		Coli		L A.	Hemmstoff
	I	II	I	II	I	II		
Sektion A: Ascogena								
<i>P. Wortmannii</i> Klöcker (B)	40	35	36	31	36	37		
<i>P. luteum</i> Zukal (e)	26	8	19	0	18	2		
<i>P. spec. Luteum-Serie</i> (e)	37	25	34	21	30	20		
<i>P. spec. Luteum-Serie</i> (e)	23	3	18	1	14	1		
<i>P. spec. Luteum-Serie</i> (e)	22	4	20	2	16	0		
<i>P. spec. Luteum-Serie</i> (e)	11	0	10	8	9	2		
<i>P. spec. (e)</i>	39	35	1	1	0	0		
<i>P. spec. (e)</i>	20	22	1	0	8	0		
<i>P. spec. (e)</i>	18	12	4	2	0	2		
<i>P. spec. (e)</i>	14	8	5	0	2	0		
<i>P. spec. (e)</i>	8	0	2	0	0	1		
<i>P. avellaneum</i> Thom et Turesson (B)	25	0	0	0	0	0	+	(Pen.) ¹⁵
<i>P. spec. (e)</i>	20	18	0	0	0	0		
Nicht hemmend: <i>P. caprelinum</i> Biourge (B), <i>P. spiculisporum</i> Lehmann (B), <i>P. luteum</i> Zukal (B) u. 3 (e)-Stämme, <i>P. spec. Luteum-Serie</i> 16 Stämme (e), <i>P. spec.</i> 12 Stämme (e).								
Sektion B: Coremigena								
<i>P. Duclauxii</i> Delacr. (B)	11	0	0	0	0	0		
<i>P. spec. Bicolor-Serie</i> (e)	12	6	0	1	0	0		
<i>P. spec. (e)</i>	32	18	7	0	0	3		
<i>P. spec. (e)</i>	3	4	0	0	0	0		
Nicht hemmend: <i>P. spec. Bicolor-Serie</i> 5 Stämme (e), <i>P. spec.</i> 4 Stämme (e).								
Sektion C: Luteo-virida								
Untersekt. 1: Funiculosa								
<i>P. luteo-viride</i> Biourge (B)	22	30	25	20	16	17		
<i>P. funiculosum</i> Thom (e)	25	18	27	15	13	15		
<i>P. funiculosum</i> Thom (B)	0	10	0	10	0	8		
<i>P. africanum</i> Doebelt (e)	20	0	8	18	7	0		
<i>P. africanum</i> Doebelt (B)	0	3	0	22	0	22		
<i>P. spec. (e)</i>	7	0	0	5	0	2		
<i>P. chrysitis</i> Biourge (B)	0	0	0	0	0	0	+	
Nicht hemmend: <i>P. minio-luteum</i> Dierckx (B) (e), <i>P. Herquei</i> Bain. et Sart. (B), <i>P. pinophilum</i> (Hedg.) Thom (B) (e), <i>P. luteo-viride</i> Biourge (B).								
Untersekt. 2: Luteo-purpurogena								
<i>P. purpurogenum</i> Fl.-St. var. <i>rubri-sclerotium</i> Thom (B)	13	11	26	16	16	16		
<i>P. spec. (e)</i>	45	44	48	42	13	18		
<i>P. spec. (e)</i>	28	26	20	28	40	42		
<i>P. spec. (e)</i>	20	27	12	29	0	0		
<i>P. spec. (e)</i>	21	25	28	13	13	20		

Tab. 1e. Gruppe III: Biverticillata-Symmetrica.

Diskussion der Ergebnisse

Manche Schlußfolgerungen aus den Tab. 1a bis 1f haben zunächst nur einen vorläufigen Charakter, da Kritik und Vorsicht geboten sind, solange nicht alle Arten der Penicillien geprüft und die durch die einzelnen aktiven Pilze gebildeten Hemmstoffe identifiziert sind. Im einzelnen lassen sich die Ergebnisse der Untersuchung folgendermaßen zusammenfassen:

1. In allen Sektionen und Untersektionen des

Penicilliumsystems sind hemmstoffbildende Vertreter auffindbar. In jenen Fällen, in denen z. B. nur ein Vertreter geprüft wurde, der sich gerade als nicht hemmend erwies, können natürlich keine Schlußfolgerungen gezogen werden. Von insgesamt 375 Penicillium-Arten und -Stämmen waren 165 (= 44%) gegenüber einem oder mehreren der Testorganismen aktiv.

2. Die Hemmstoffbildung ist von der *Art des Nährbodens* in hohem Maße abhängig. In zahlreichen Fällen wurde auf dem Nährboden I Hemm-

Pilz-Species	St. au.		Mes.		Col.		L. A.	Hemmstoff
	I	II	I	II	I	II		
Untersekt. 2: Luteo-purpurogena (Fortsetzung)								
<i>P. spec. (e)</i>	19	15	17	10	12	8		
<i>P. spec. (e)</i>	16	10						
<i>P. spec. (e)</i>	15	15		8		10		
<i>P. spec. (e)</i>	14	12	13					
<i>P. aureo-limbum</i> Zal. (e)	13	10	18	10	11	3		
<i>P. sanguineum</i> Sopp (e)	9	6	4	9	0			
<i>P. spec. (e)</i>	8	9	0	5	15	12		
<i>P. sulfureum</i> Olsen-Sopp (B)	5	10	8	7	12	12		
<i>P. spec. (e)</i>	0	12	8		10	12		
<i>P. crateriforme</i> Gilman et Abbot (B)	0	0	12	8	18	18		
<i>P. rugulosum</i> Thom (B)	0	0	11	7	11	10		
<i>P. spec. (e)</i>	0	0	12		14	9		
<i>P. spec. (e)</i>	0	0	0	15	0	16		
<i>P. spec. (e)</i>	4	0	0	0	2	0		
<i>P. spec. (e)</i>	4	4	0	2	2	0		
<i>P. spec. (e)</i>	3	2			0	0		
<i>P. spec. (e)</i>	2	4	0	0	0	2		
<i>P. spec. (e)</i>	1	3			2	1		
Nicht hemmend: <i>P. purpurogenum</i> Fl.-St. (B) 2 weitere Stämme (e), <i>P. sanguineum</i> Sopp (B), <i>P. sulfureum</i> Olsen-Sopp 4 Stämme (e), <i>P. rugulosum</i> var. <i>atricolum</i> Thom (B), <i>P. spec.</i> 25 Stämme (e).								
Sektion D: Miscellana								
<i>P. hirsutum</i> Bain. et Sart. (B)	6	5	4	11	1	0		
<i>P. tardum</i> Thom (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Tar.) ³⁹
<i>P. Namyslowskii</i> Zal. (B)	0	0	0	0	0	0	+	(Pen.) ⁴⁰
Nicht hemmend: <i>P. piscarium</i> Westl. (B), <i>P. Miczynskii</i> Zal. (B).								
Gruppe IV: Polyverticillata symmetrica								
Gattung Scopulariopsis								
<i>Sc. repens</i> Bainier (e)	29	30	12	8	0	2		
<i>Sc. spec. (e)</i>	10	8	0	0	0	4		
<i>Sc. spec. (e)</i>	15	12	0	8	0	0		
<i>Sc. spec. (e)</i>	16	10	4	5	0			
<i>Sc. brevicaulis</i> (Sacc.) Bain.	0	0	0	0	0	0	+	
Gattung Paecilomyces								
<i>Paec. Ehrlichii</i>							+	(Pen.S.) ¹⁴
<i>Paec. Burei</i> (Pollacci) Thom							+	
Einordnung unbestimmt:								
<i>P. gladioli</i> McCull et Thom							+	(Gl.S.) ⁴¹
Nicht hemmend: <i>P. amethystinum</i> (B), <i>P. simplex</i> Lindner (B), <i>P. divaricatum</i> Thom (B), <i>P. humuli</i> v. <i>Beyma</i> (B), <i>P. equinum</i> v. <i>Beyma</i> (B).								

Tab. 1f. Gruppe III: Biverticillata-Symmetrica, und Gruppe IV: Polyverticillata symmetrica.

stoff gebildet, auf II nicht; andere Pilze verhielten sich umgekehrt. Bei manchen Arten zeigten sich auch nur quantitative Unterschiede, andere hemmten auf beiden Nährböden etwa im gleichen Maße und weitere schließlich auf keinem derselben. In diesen Fällen bleibt noch offen, ob eventuell auf anderen Nährböden Hemmstoff gebildet werden mag.

3. Die *Stammesunterschiede* sind z. Tl. sehr erheblich, was in Übereinstimmung mit zahlreichen analogen Befunden auf dem Gebiet der mikrobiologischen Chemie überhaupt steht, und daher nicht überraschend ist. Während manche Stämme einer bestimmten Species überhaupt keinen Hemmstoff bildeten, erwiesen sich andere auf dem glei-

³⁹ N. Borodin, F. J. Philpot u. H. W. Florey, Brit. J. exp. Pathol. 28, 31 [1947].

⁴⁰ V. Y. Chastukhin u. M. A. Nikolaevskaya, Mikrobiologiya 17, 3 [1948].

⁴¹ P. W. Brian, P. J. Curtis, J. P. Grove, H. G. Hemming u. J. C. McGowan, Nature [London] 157, 697 [1946]; P. W. Brian, P. J. Curtis u. H. G. Hemming, Trans. Brit. mycol. Soc. 29, 173 [1946]; J. Gen. Microbiol. 2, 343 [1948].

Gruppe	Sektion	Subsektion	Anzahl der Stämme				
			ge- prüft	aktiv gegen			
				St. au.	Mes.	Coli	
I. Monoverticillata	A. Stricta	1. Ascogena	2	1	1		
		2. Sclerotigena	3	2	2	1	
		3. Floccosa	19	6	3	2	
		4. Funiculosa	12	5	4	1	
		5. Velutina	22	13	12	3	
	B. Ramigena		5	1	1	1	
II. Asymmetrica	A. Velutina	1. Elliptica-magna	16	8	9	3	
		2. Radiata	11	8	0	0	
		3. Restricta	4	2	2	0	
		4. Stellata	14	6	5	1	
		5. Asperula	1	0	0	0	
	B. Brevi-compacta		15	7	6	3	
	C. Lanata-typica		21	7	8	4	
	D. Lanata divaricata		13	6	3	0	
	E. Funiculosa		7	4	4	1	
	F. Fasciculata		1	1	1	1	
			1. Sclerotigena	10	2	2	3
			2. Aeruginosa	6	3	2	1
			3. Viridicata	38	15	17	15
		4. Glauca	13	9	8	4	
		5. Coremiella	47	13	11	9	
III. Biverticillata-Symmetrica	A. Ascogena		13	4	2	1	
	B. Coremigena		13	6	6	6	
	C. Luteo-virida	1. Funiculosa	57	19	18	18	
IV. Polyverticillata-Symmetrica Gattung Scopulariopsis Sonstige Penicillien	D. Miscellana	2. Luteo-purpurogena	5	1	1	1	
			5	4	4	2	
			5	0	0	0	

Tab. 2. Zusammenfassung der Anzahl wirksamer Pilzstämmen innerhalb der einzelnen Sektionen und Subsektionen des Penicilliumsystems.

chen Nährboden als hochaktiv. Vielfach erwiesen sich die frisch aus der Natur isolierten Stämme als wirksam, nicht aber die betreffenden Sammlungskulturen. In manchen Fällen gelang es, durch „Auffrischung“ inaktive Kulturen in einen aktiven Zustand überzuführen. Manche von uns als inaktiv befundenen Arten wurden in der Literatur als Hemmstoffbildner beschrieben; in anderen Fällen wieder waren unsere Stämme wirksam, während die in der Literatur beschriebenen als nichthemmstoffbildend bezeichnet waren.

4. Im Verhalten gegenüber den drei Testorganismen („kleines antibiotisches Spektrum“) ergeben sich in einigen Sektionen oder Subsektionen des Penicilliumsystems recht beachtliche Unterschiede, indem sich in manchen mehr die „Staph. aureus-Hemmer“, in anderen mehr die „Coli-Hemmer“ häufen. Dies hängt mit der Art der gebildeten Hemmstoffe zusammen. Die Tab. 2 bietet einen zahlenmäßigen Überblick über die diesbezüglichen

Verhältnisse. Die daraus ableitbaren Beziehungen werden im folgenden etwas näher erörtert:

Gruppe I: *Monoverticillata* (Tab. 1a). Es ist deutlich ersichtlich, daß die hemmstoffbildenden Vertreter dieser Gruppe überwiegend gegenüber *Staph. aureus* und *B. mesentericus*, nur wenige aber gegenüber *E. coli* wirksam sind. So waren:

gegen *St. aureus* wirksam . . . 28 Pilze,
gegen *B. mesentericus* . . . 23 Pilze,
gegen *E. coli* wirksam . . . 8 Pilze.

Tab. 1a zeigt, daß durch Vertreter dieser Gruppe häufig Citrinin gebildet wird, durch das bekanntlich *E. coli* nicht gehemmt wird. Es ist daher zu vermuten, daß in dieser Pilzgruppe noch weitere Citrininbildner auffindbar sein werden. Welche Pilze in dieser Hinsicht zu prüfen wären, ist aus der Tabelle leicht zu ersehen. Es kann sich hierbei aber auch um Penicillinbildner handeln, wie der Fall des *P. turbatum* zeigt. In jenen wenigen Fällen, in denen Hemmung gegenüber *E. coli* be-

obachtet wurde, könnte es sich um Gliotoxin, Spinulosin oder Penicillinsäure handeln.

Gruppe II: *Asymmetrica*, Sekt. *Velutina* (Tab. 1b). Auch hier finden sich überwiegend Vertreter, die vor allem gegenüber *Staph. aureus* aktiv sind, und zwar:

gegen <i>St. aureus</i> wirksam . . .	24 Pilze,
gegen <i>B. mesentericus</i> . . .	16 Pilze,
gegen <i>E. coli</i> wirksam . . .	4 Pilze.

In dieser Sektion treten Penicillinbildner gehäuft auf, und zwar vor allem in der Subsektion *Radiata*. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, daß in dieser Sektion weitere Penicillinbildner aufgefunden werden können: Aber auch mit Citrinin und Puberul- und Puberulonsäure, die gleichfalls gegenüber Coli unwirksam sind, muß hier gerechnet werden. Daneben treten selten auch Penicillinsäure, Gliotoxin und Claviformin auf. Manche Arten bilden zugleich mehr als einen Hemmstoff.

Gruppe II: *Asymmetrica*, Sekt. B—E (Tab. 1c). Auch hier überwiegen die gegen *St. aureus* wirksamen Pilze weitaus die Coli-Hemmer, und zwar:

gegen <i>St. aureus</i> wirksam . . .	24 Pilze,
gegen <i>B. mesentericus</i> . . .	21 Pilze,
gegen <i>E. coli</i> wirksam . . .	8 Pilze.

Unter den *Lanata-typica* treten aber Coli-Hemmer gehäuft auf. Bisher wurden in diesen Sektionen erst wenige bestimmte Hemmstoffe tatsächlich identifiziert, und zwar Citrinin, Puberul- und Puberulonsäure sowie Nor-Mycophenolsäure.

Gruppe II: *Asymmetrica*, Sekt. F: *Fasciculata* (Tab. 1d). Hier zeigt sich ein völlig anderes Bild. Es finden sich in großer Zahl Pilze, die gegenüber *E. coli* aktiv sind, und zwar:

gegen <i>St. aureus</i> wirksam . . .	30 Pilze,
gegen <i>B. mesentericus</i> . . .	30 Pilze,
gegen <i>E. coli</i> wirksam . . .	24 Pilze.

Die bisher bei Vertretern dieser Sektion nachgewiesenen Hemmstoffe sind — mit Ausnahme der in einem Fall nachgewiesenen Puberul- oder Puberulonsäure — gegen *E. coli* aktiv, und zwar wird durch Vertreter der Subsektion *Aeruginosa* Penicillinsäure gebildet und durch solche der Untersektionen *Glauca* und *Coremiella* Claviformin, das bereits bei zahlreichen hierher gehörigen Arten nachgewiesen werden konnte.

⁴² In einer folgenden Mitteilung wird über die eingehendere Durcharbeitung der Subsektion *Radiata* berichtet werden.

Gruppe III: *Biverticillata-Symmetrica*, Sekt. A und B (Tab. 1e). In dieser Gruppe ist der Prozentsatz an colihemmenden Pilzen gleichfalls sehr erheblich, und zwar:

gegen <i>St. aureus</i> wirksam . . .	17 Pilze,
gegen <i>B. mesentericus</i> . . .	13 Pilze,
gegen <i>E. coli</i> aktiv	10 Pilze.

Unter den Arten, die *E. coli* nicht hemmen, wurde ein Penicillinbildner wahrscheinlich gemacht. Sonstige Befunde über bestimmte Hemmstoffe liegen aus diesen beiden Sektionen noch nicht vor.

Gruppe III: *Biverticillata-Symmetrica*, Sekt. C: *Luteo-virida* (Tab. 1e). Die Hemmwirkung der Vertreter dieser Gruppe gegenüber den drei Testorganismen ist praktisch gleich:

gegen <i>St. aureus</i> wirksam . . .	25 Pilze,
gegen <i>B. mesentericus</i> . . .	24 Pilze,
gegen <i>E. coli</i> aktiv	24 Pilze.

Es häufen sich hier aber sogar Arten, die gegenüber *St. aureus* nur geringfügige oder keine Wirkung haben, die aber gegen *E. coli* stark wirksam sind. Hemmstoffe von Penicillien, für die dieses Verhalten charakteristisch ist, sind bisher noch nicht bekannt geworden. Weitere Aussagen können z. Zt. noch nicht gemacht werden, da in dieser Penicillium-Sektion noch kein bestimmter Hemmstoff identifiziert wurde.

Über die Sekt. D sowie über die Gruppe IV (Tabelle 1f) kann noch nichts Verbindliches vermerkt werden, da die Zahl der geprüften Vertreter hierfür nicht ausreicht.

Es war unsere Absicht gewesen, die Untersuchung auf alle erreichbaren Vertreter der Pilzgruppe *Penicillium* auszudehnen, um sodann in systematischer Arbeit eine Penicillium-Sektion nach der anderen im Hinblick auf die gebildeten Hemmstoffe zu untersuchen⁴², in der Meinung, daß solche breit angelegte Grundlagenforschung auch für unsere Erkenntnisse über die biologische Bedeutung der Hemmstoffe und das Zustandekommen des Vermögens zur Hemmstoffbildung von Wert werden könne. Die in dieser Richtung geplante umfassende Untersuchung konnte aus äußeren Gründen nicht zum Abschluß gebracht werden. Die bisher geleistete Vorarbeit mag aber eine gewisse Basis für die weitere Bearbeitung der angeschnittenen Fragestellung bilden.

Ferner sollen durch die mitgeteilten Ergebnisse Anregungen gegeben werden. Bei einer großen Anzahl weiterer Penicillium-Arten konnten wir eine Hemmstoffbildung nachweisen. Diese Arten erscheinen für eingehendere Untersuchungen von besonderem Interesse⁴³. Zugleich glauben wir, daß die gewonne-

⁴³ Viele der betreffenden Pilze stammen aus der Baarnschen Sammlung und sind daher leicht zugänglich. Die meisten unserer eigenen Pilzkulturen sind allerdings bedauerlicherweise verloren gegangen.

nen Befunde gewisse Fingerzeige im Hinblick auf die Auffindung bestimmter Hemmstoffe in bestimmten Sektionen des Penicillium-Systems geben, wodurch die diesbezügliche Arbeit erleichtert werden mag.

Im Laufe der Jahre sind wohl zahlreiche Penicillium-Stämme auf ihr Vermögen zur Hemmstoffbildung geprüft worden (vor allem auch in Forschungslaboratorien der Industrie), worüber aber keinerlei Veröffentlichungen gemacht wurden. Im Zusammenhang mit der aufgeworfenen Fragestellung wären aber derartige Ergebnisse von Wert, auch wenn sie negativer Natur sind, soweit dabei mit eindeutig bestimmten Pilzen gearbeitet worden ist.

Beschreibung der Versuche

(unter Mitwirkung von K. Čulik)

a) Zur Methodik des Hemmstoffnachweises durch den Strichtest

Als Gefäßmaterial für die Durchführung des Strichtestes dienten Petri-Schalen von 10 cm Durchmesser. Kleinere Schalen reichen bei starker Hemmwirkung nicht aus, größere bedingen einen unnötigen Materialverbrauch.

Nährböden. Die üblichen Bakteriennährböden (wie z. B. Bouillon-Agar) sind für das Pilzwachstum wenig geeignet, die üblichen Pilznährböden bewähren sich dagegen zumeist nicht für die Testorganismen. Bei eingehender Prüfung der Eignung verschiedener Mischungen von Pilz- und Bakterien-Nährböden entschieden wir uns schließlich für die folgenden zwei Nährböden, mit denen dann auch alle Testplatten hergestellt wurden:

Nährboden I: 3 Tle. Bouillon-Agar, 1 Tl. Bierwürze-Agar (aus 8-grädiger Bierwürze), 1 Tl. Glucose-Hefautolysat (2% Glucose⁴⁴, gelöst in 10-proz. Hefautolysat⁴⁵).

Nährboden II: 500 cm³ Czapek-Dox-Nährlösung in Leitungswasser mit 4% Glucose⁴⁴ und 1,25% Standard-I-Nährbouillon von Merck werden mit 500 cm³ Bierwürze von 8° Bllg. gemischt und mit 1,5% Agar verfestigt. An Stelle von Standard-I-Nährbouillon können für 1 l Nährboden auch 45 g Standard-I-Nähragar Merck verwendet werden. In diesem Falle erübrigt sich ein weiterer Agarzusatz.

Der Nährboden II bedingte meist ein besseres Wachstum der Penicillien, ohne daß dies aber von einer besseren Hemmstoffbildung begleitet gewesen wäre.

Als günstigste Höhe der Agarschicht in den Schalen erwiesen sich 4—5 mm. In dünnerer Schicht findet zu starke Austrocknung statt, die Testorganismen wachsen dann schlecht an, und außerdem wird die Diffusionsgeschwindigkeit der Hemmstoffe im Agar vermindert, was eine geringere Breite der Hemmzone bedingt. Aus den gleichen Gründen ist stets für ausreichende Luftfeuchtigkeit zu sorgen. Vergleichsversuche zeigten, daß bei hoher Luftfeuchtigkeit (in einer „feuchten Kammer“) die Hemmzone etwa 10 mm weiter reicht als bei normaler.

⁴⁴ Wir benützten „Neratose“, ein technisches Produkt mit 92% Reinglucosegehalt.

Testorganismen. Wir benützten stets den gleichen Stamm von *Staph. aureus*, *B. mesentericus* und *E. coli*. Andere Stämme können sich naturgemäß abweichend verhalten. Die Fortführung der Testorganismen erfolgte stets auf festen Nährböden. Für *St. aureus* und *E. coli* wurde Bouillon-Agar benützt, für *B. mesentericus* Bierwürze-Agar. Das Alter der Testkultur vor der Benützung betrug stets 2—4 Tage.

Impftechnik. Beim Beimpfen der Agarplatte mit dem Pilz in Form eines Striches muß ein Verstäuben der Konidien streng vermieden werden, da sonst die Platten unbrauchbar sind. Die Aufnahme der Sporen in einem an der Öse der Impfnadel befindlichen Wassertropfen allein genügt nicht zur Verhinderung des Verstäubens, da die Sporen mit Wasser schwer benetzbar sind. Saubere Platten erhält man jedoch auf folgende Weise: An der Glaswand des Kulturröhrchens wird mit der Öse der Impfnadel durch inniges Verreiben der Sporen mit Wasser eine Suspension hergestellt und mit dieser der Impfstrich gezogen. Das gleiche läßt sich erreichen, wenn die Sporen mit einem Tropfen einer Mischung von Glycerin, Alkohol, Gelatine und Wasser abgeimpft werden, was aber umständlicher ist.

Das Einimpfen der Testorganismen erfolgt im rechten Winkel zu dem strichförmig aufgewachsenen Pilzrasen. Die Testorganismen werden dabei stets in die gleiche Testschale in Form von zwei nebeneinander liegenden Strichen eingeimpft. Es werden daher stets 6 Impfstriche gezogen. Dabei findet niemals eine gegenseitige Beeinflussung statt, wenn die Striche mindestens 5 mm voneinander entfernt sind. Liegen die Impfstriche näher beieinander, so findet gegenseitige Hemmung von *E. coli* und *St. aureus* einerseits und von *E. coli* und *B. mesentericus* andererseits statt. *B. mesentericus* und *St. aureus* hemmen einander nicht. Diese Beobachtungen mögen natürlich nur für die benützten Stämme gelten. Die Teststriche werden so angebracht, daß *St. aureus* in der Mitte liegt. Beim Einimpfen der Testorganismen muß ein zu dichtes Auftragen des Impfmateri als vermieden werden, da sonst die Hemmwirkung nicht immer ausreicht und man ein unregelmäßiges Bild erhält. Um eine gleichmäßige und gerade ausreichende Impfung zu erzielen, geht man am besten in folgender Weise vor: In einem Schrägröhrchen der Testkultur wird unter Benützung des in diesem befindlichen Kondenswassers eine dichte Bakteriensuspension hergestellt und mit dieser unter Verwendung einer ovalen Öse, die einen breiten Impfstrich ergibt, die Beimpfung vorgenommen.

Eine besonders gleichmäßige Beimpfung mit den Testorganismen läßt sich erreichen, wenn statt der Impfnadel ein Impräcchen benützt wird (im Prinzip ebenso gebaut wie die im Haushalt üblichen Teigrädchen, jedoch kleiner, ohne Spitzen und aus Aluminium hergestellt; das Rädchen besitzt eine etwa 5 mm breite gerippte Fläche). Vor der Impfung wird das Impräcchen durch Eintauchen in Alkohol und Abbrennen sterilisiert und zur raschen Abkühlung in steriles Wasser eingetaucht. Dann rollt man es über

⁴⁵ 10-proz. in bezug auf angewendete Hefemenge.

eine mit dem Testorganismus gleichmäßig bewachsene Agarplatte⁴⁶. Dabei nimmt die gerippte Fläche Impfmateriale auf, das beim Abrollen des Rädchens auf die Testplatte übertragen wird. Man erhält so breite und gleichmäßige Impfstrieche. Diese Methode ist besonders dann zu empfehlen, wenn es gilt, instruktive und deutliche Bilder, vor allem für Zwecke der photographischen Reproduktion, zu gewinnen (vgl. oben).

Der Versuchsverlauf bei der Prüfung der Hemmstoffbildung ist folgender: Die vorbereiteten Agarplatten werden in der beschriebenen Weise mit dem *Penicillium* beimpft und bei 24–26° aufbewahrt. Es entwickelt sich alsbald ein strichförmiger Pilzrasen, der nach 4–6 Tagen 5–20 mm Breite erreicht hat. Der unbeimpfte Teil der Platte muß von Infektionen oder von aus verstreuten Sporen entstandenen Pilzkolonien völlig frei bleiben. Sodann werden senkrecht zum Pilzrasen die Teststriche gezogen, worauf 24 Stdn. bei 37° bebrütet wird. Die Teststriche sind dann ausreichend entwickelt. Die Auswertung besteht nun lediglich darin, daß die Breite der Hemm-

⁴⁶ Eine solche erhält man dadurch, daß man den Testorganismus in den abgekühlten, aber noch nicht erstarrten Agar vor dem Ausgießen in die Petrischalen einimpft.

zone gemessen wird, in der kein Wachstum der Testorganismen stattgefunden hat.

b) Anwendung des Strichtestes zur Prüfung der Penicillien

Die Stammkulturen der *Penicillium*-Stämme wurden in der Regel auf Bierwürze-Agar fortgeführt. Dies gilt auch für die Baarnschen Stämme (vgl. oben), die wir meist als Kirschagar-Kulturen erhielten. In vielen Fällen war eine wiederholte Umimpfung auf verschiedene Nährböden erforderlich, um eine gute Wachstumsfreudigkeit zu erreichen. Dabei bewährten sich besonders gut feuchte Karottenschnitzel⁴⁷. Es zeigte sich manchmal auch, daß Kulturen, die unmittelbar aus Sammlungen stammten, wo sie üblicherweise nur relativ selten weitergeimpft wurden, keine oder nur geringe Hemmstoffbildung aufwiesen. Nach öfterer Überimpfung in kurzen Zeitintervallen konnten solche Kulturen unter Auffrischung ihres Wachstumsvermögens auch in ihrem physiologischen Zustand soweit regeneriert werden, daß sie dann des öfteren zu kräftiger Hemmstoffbildung befähigt waren.

⁴⁷ Für den Hinweis auf die Eignung der Karotten zur Regenerierung von alten Kulturen haben wir Frau Prof. Dr. Ing. A. Niethammer zu danken. Auch verschiedene Rübenarten bewährten sich gut.

Wirkungsablauf von Vitamin D₂ und D₃ bei oraler und parenteraler Stoß-Behandlung Versuche an Ratten

Von ERNST AUHAGEN und CARLA KOLLSTEDE

Aus dem Physiologischen Laboratorium der Farbenfabriken Bayer,
Wuppertal-Elberfeld

(Z. Naturforschg. 4b, 219–222 [1949]; eingegangen am 14. Juli 1949)

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg nachträglich zum 70. Geburtstag gewidmet

1. Die Wirkungsdauer oraler Stoßdosen von Vitamin D₂ wächst nach Versuchen an der Ratte mit dem Logarithmus der Stoßdosis. Der täglich zur Ausschüttung kommende Anteil des Vitamin-Depots klingt also nach einer Exponential-Funktion ab.
2. Intramuskulär oder subcutan in ölicher Lösung einmalig verabfolgtes Vitamin D wird nur langsam, aber gleichmäßig resorbiert. Es schützt infolgedessen auch mit niedrigen Dosen die Ratte länger vor Rachitis, als höhere, per os gegebene Vitamingen.
3. Intravenös in kolloidaler Suspension zugeführtes Vitamin D wirkt bei der Ratte genau so wie die orale Gabe.
4. Vitamin D₂ und D₃ wirken an der Ratte qualitativ in jeder Hinsicht gleich. Quantitativ war Vitamin D₃ dem Vitamin D₂ etwa im Verhältnis 4:3 überlegen.

Seit mehr als 20 Jahren werden Vitamin-D-Präparate zur Therapie und Prophylaxe der Rachitis angewandt, und es ist dadurch gelungen, die Zahl der schweren Erkrankungen entscheidend zu senken. Trotzdem ist die Rachitis nicht verschwunden; ihre sichere Bekämpfung bleibt noch immer ein Problem, über dessen Lösung dis-

kutiert wird. Die Dosierung ist mit der Zeit immer größer geworden. In weitem Umfange wird jetzt die Stoß-Behandlung mit Dosen von 7,5 und 10 mg Vitamin D angewandt, und es fehlt nicht an Stimmen, die eine Erhöhung der Gabe auf 15 mg = 600 000 i.E. befürworten, um die Sicherheit und vor allem die Dauer der Wirkung noch zu steigern.