

## Die antibiotische Aktivität von Clitocybin und Nebularin aus *Leucopaxillus giganteus* und *Clitocybe nebularis*<sup>1</sup>

(Mit 2 Abbildungen)

W. R. MÜLLER-STOLL<sup>2</sup>

Am Drachenberg 1, DDR-1570 Potsdam

Eingegangen am 28.5.1989

Müller-Stoll, W. R. (1990) – The antibiotic activity of clitocybine and nebularine from *Leucopaxillus giganteus* and *Clitocybe nebularis*. Z. Mykol. 56(1): 167–186.

Key Words: *Basidiomycetes*, *Leucopaxillus giganteus*, *Clitocybe nebularis*, antibiotic activity, clitocybine, nebularine.

Summary: The clitocybine producing fungus *Leucopaxillus giganteus* prosper the best on liquid substratum such as extracts from carrots, malt or yeast; room temperatures (18–21 °C) is most favourable for growth of fungus. During the growth the fungus only little clitocybine permeate in outward medium; the most part was treasured up endocellular in mycelium. Addition of metal-ions increase not only the growth of fungus but also the formation of antibiotics. Research carried out with mycelium extracts indicate the presence of a thermo-stabil antibioticum during clitocybine is not thermo-stabil. Bacteria tested against clitocybine *Chromobacter violaceum*, *Sarcina lutea* and *Staphylococcus aureus* were most sensitive, during *Bacterium prodigiosum* and *Streptococcus hemolyticum* were completely insensitive. From seeds testes against clitocybine nearly in every degree of age in fungus-cultures *Papaver dubium* was inhibited totally. It was confirmed that antibiotic activity of clitocybine after heating up to 120 °C disappeared, during nebularine from *Clitocybe nebularis* was totally stabil against heating.

Zusammenfassung: Der Clitocybin produzierende Pilz *Leucopaxillus giganteus* gedeiht am besten auf flüssigem Nährboden aus Karottenextrakt, Malzextrakt und Hefeauszug; eine Temperatur von 18–21 °C ist für das Wachstum des Pilzes am günstigsten. Während seines Wachstums gibt er nur wenig Clitocybin an das Außenmedium ab; das meiste wird endozellulär im Mycelium gespeichert. Ein Zusatz von Metall-Ionen zum Substrat hat nicht nur Einfluß auf das Wachstum des Pilzes, sondern auch auf die Antibiotica-Bildung. Die mit Myzelextrakten durchgeführten Untersuchungen deuten auf Spuren eines thermostabilen Antibioticums hin, während das eigentliche Clitocybin nicht thermostabil ist. Von den gegen Clitocybin geprüften Bakterienstämmen erwiesen sich *Chromobacterium violaceum*, *Sarcina lutea* und *Staphylococcus aureus* am empfindlichsten, während *Bacterium prodigiosum* und *Streptococcus hemolyticum* gegen clitocybinhaltige Lösungen völlig unempfindlich sind. Von den gegen Clitocybin geprüften Samen wird fast in jeder Altersstufe der Pilzkulturen *Papaver dubium* 100%ig gehemmt. Es wird bestätigt, daß die antibiotische Wirkung von Clitocybin nach Erhitzung auf 120 °C verschwindet, während Nebularin aus *Clitocybe nebularis* völlig hitzestabil ist.

1 Der Diplombiologin Brigitte Angsten möchte ich herzlich dafür danken, daß sie unter meiner Anleitung alle Versuche zur Clitocybin- und Nebularin-Frage in meinem früheren Botanischen Institut in Potsdam durchgeführt hat.

2 In memoriam Wilhelm Schwartz, 4.10.1896–27.11.1987, meinem hochverehrten Lehrer, der mich in Karlsruhe in die Geheimnisse der Botanik und Mikrobiologie eingeführt hat.

## 1. Einleitung

Dem französischen Pharmazeuten Hollande gelang es 1944, aus Fruchtkörpern und Mycelien alpiner Formen von *Laucopaxillus (Clitocybe) giganteus* Sowerby ex Fr., dem Riesen-Krempentrichterling, und von *Leucopaxillus (Clitocybe) candidus* Bres. Singer, dem Weißen Krempentrichterling (Michael-Hennig, Bd. 1, 1968: 223; Bd. 3, 1964: 198) mehrere antibiotisch wirksame Substanzen nachzuweisen, die er Clitocybin nannte; damit war eine weitere Gruppe von Antibiotika gefunden worden (vgl. Klosa 1952, Opperman & Karve 1954). Rivière et al. (1947 a, b) setzten die Untersuchungen an Clitocybinfort und fanden, daß es aus einer globulinartigen Fraktion besteht; sie soll zu 90 % an der Gesamtaktivität beteiligt sein und eine ätherlösliche Fraktion mit Heterosid-Charakter besitzen. Hollande gelang es, das Clitocybin in kristallinem Zustand aus Extrakten von Fruchtkörpern zu gewinnen. Von neueren Forschern wird *Leucopaxillus giganteus* und *L. candidus* zu einer Art zusammengefaßt; *L. candidus* heißt dann *L. giganteus* var. *albus* (Michael-Hennig 1964, S. 198).

Mittlerweile sind auch in anderen *Clitocybe*-Arten antibakterielle Substanzen nachgewiesen worden. Löfgren et al. (1949) isolierten aus *Clitocybe nebularis* (Batsch ex Fr.) Quéf., dem Nebelgrauen Trichterling (Michael-Hennig 1968: 228) das Nebularin; auch Anchel et al. (1950) berichten über den in Nordamerika vorkommenden, stark giftigen Pilz *Clitocybe illudens* (Schweiniz) Sacc. (Michael-Hennig 1964: 201), der das Illudin produziert; als aktives Agens beschreiben sie zwei Antibiotica Illudin M und Illudin S. Wie gezeigt werden konnte, sind Nebularin und Illudin mit den Clitocybin nicht identisch; sie unterscheiden sich von Clitocybin u. a. durch ihre Hitzebeständigkeit.

Locquin (1947) hat die Behauptung aufgestellt, das Clitocybin enthalte als Hauptkomponente Blausäure (H-C ≡ N); auch Prof. Dr. Roger Heim, Paris (1946) erklärte, daß er das Clitocybin mit gleicher Wirkung durch Blausäure ersetzen könne. Doch haben Rivière et al. (1947 b) durch genaue experimentelle Daten bewiesen, daß das nicht der Fall ist.

Meisser et al. (1988) berichteten über *Mycobacterium bovis*, *M. smegmatis*, *M. avium*, *M. phlei*, vor allem aber über *M. tuberculosis*. Blevins & Perry (1980) beschäftigten sich mit einem Stamm von *Mycobacterium vagae* (IDBS). Canetti (1970) legt als Herausgeber die Fortschritte in der Tuberkulose dar. Weiszfeiler (1969) schrieb über die Variabilität der Mycobakterien und über atypische Mycobakterien-Keime. Ratledge (1976) beschäftigte sich mit den Tuberkelbakterien im allgemeinen und ihrem Fortschritt in der Mikrobiologie.

Parthier (1969) gab als Herausgeber eine Übersicht über neuere Antibiotika und ihre molekularbiologischen Wirkungen. Auch Gottlieb und Show (1967) berichteten über Antibiotika, ihre Wirkungsweise und Biosynthese. Schließlich berichten Fleck et al. (1978) und Brux et al. (1978) über ein neues Antibiotikum aus *Actinomadura rubra*, das Maduramycein, seine Isolierung, biologische Aktivität und seine Wirkungsweise auf die T3-Phagen-spezifische RNA-Synthese in vitro. Aus höheren Pilzen (*Agaricales* und *Polyporales*) wurden außer Clitocybin und Nebularin u. a. folgende Antibiotika gewonnen: Polyporin, Lacturoviolin, Pleurotin, Bioformin, Irpexin und andere.

## 2. Methode

Wenn nichts anderes angegeben, erfolgte die Herstellung der Kultursubstrate mit Potsdamer Leitungswasser; für die Gewinnung von Erdextrakten diente im allgemeinen stark humose Gartenerde, manchmal auch lehmige Erde, kurz als Lehm bezeichnet; die mit Aqua dest. im Verhältnis 1:1,2 im Dampftopf 30 Min. erhitzt, anschließend filtriert und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt wurde. Für den Karotten-Hefe-Extrakt wurden 500 g feingeschnittene Karotten (Rüben von *Daucus silvaticus* Hoffm.) mit 10 g Bäckerhefe in 1 l Aqua dest. zwei

Stunden im Dampftopf erhitzt und anschließend ebenfalls filtriert. Nach Abfüllen der Nährlösungen auf die Kulturgefäße sterilisierten wir je nach Kolbeninhalt dreimal im Dampftopf bei 100 °C oder im Autoklaven bei 120 °C. Anschließend wurden die Kolben mit jungen Kulturen von *Leucopaxillus giganteus* beimpft. Das Ausmaß des Pilzwachstums wird durch den sog. „Deckungsgrad“ charakterisiert, worunter das Verhältnis der Myceldecke zur Oberfläche des Kultursubstrates zu verstehen ist; beispielsweise bedeutet der Deckungsgrad 5, daß das Mycelium das ganze Kultursubstrat überwuchert hat, und Deckungsgrad 1, daß ein Fünftel der Substratoberfläche vom Mycelium bedeckt wurde. Selbstverständlich kennzeichnet der Deckungsgrad das Pilzwachstum nur bei Verwendung gleicher Kulturgefäße und gleicher Substratmengen. Nach entsprechenden Vorversuchen wurde die antibiotische Wirkung der Kulturflüssigkeiten mit dem Zellstoffstreifen-Test (zwölf Zellstofflagen 10 x 50 mm) und später mit dem Zylinder-Test (äußerer Durchmesser des Glaszylinders 12 mm) und zur Kontrolle der Ergebnisse teilweise mit dem Löschpapierstreifen-Test (10 x 50 mm) bestimmt (vgl. Kłosa 1952). Mit beiden Methoden konnten Mengen von 0,3 ml getestet werden; die hinsichtlich der Hemmwirkung erhaltenen Ergebnisse waren gut miteinander vergleichbar.

Die Testplatten enthielten 2 %igen Agar, dem meist 2 % Malzextrakt und 2 % Witte-Pepton zugesetzt wurden; der mit 10,6 %iger Sodalösung eingestellte pH-Wert betrug 7,2. Die Testbakterien der 48 Stunden alten Kulturen wurden kurz vor dem Auftragen der Lösungen in parallelen Strichen gitterförmig aufgeimpft. Teilweise wurde der Zylinder-Test so modifiziert, daß wir in den etwas abgekühlten Testagar 0,1 ml einer Bakteriensuspension gleichmäßig verteilten; in einem solchen Fall wurde mit 0,5 ml Testlösung pro Glaszylinder bzw. Testplatte gearbeitet. Die Bebrütung erfolgte bei 37 °C; die Auswertung geschah nach 24 und 48 Stunden. Beim Durchmesser der Hemmungshöfe, d. h. Durchmesser ohne die Breite des Zylinders bzw. Papierstreifens, handelt es sich meist um Mittelwerte aus jeweils acht Bestimmungen; es war festzustellen, daß oft schon nach 48 Stunden die Hemmwirkung der Testlösungen wieder schwächer wurde.

Unsere Pilzstämmen von *Leucopaxillus giganteus* wurden von Herrn Kersten sen. (Halle/Saale) aus einigen Fruchtkörpern isoliert. Wir haben auch Versuche über die antibiotische Wirkung von Nebularin aus *Clitocybe nebularis* durchgeführt; die dazu benötigte Pilzkultur stammt aus dem Institut für Forstwissenschaften Eberswalde, Bereich Rohholzforschung und Holzschutz.

### 3. Wirkungen durch Substrat und Temperatur

#### a) Einfluß des Nährmediums

Das Wachstum des Mycels von *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur (etwa 18 °C) ist in Tabelle 1 zusammenfassend dargestellt. Während die vorwiegend synthetischen Substrate nur ein geringes Wachstum zeigten (Lösungen nach Czpek-Dox bis Henneberg I), wirkten sich organische Lösungen, vor allem Malzextrakt mit 0,5 % Pepton und Erdextrakt sehr günstig auf das Wachstum des Myceliums aus; nur auf derartigen Kulturmedien bildeten sich dichte Myceldecken von wattiger Beschaffenheit. Malzextrakt allein scheint dabei günstiger zu sein als Malzextrakt mit 0,5 % Pepton.

Das Verhalten des Pilzes auf festem Substrat (Agar) im Vergleich zu den Lösungen ist recht verschieden. Auf Nähragar nach Czapek, Plaut und Sabouraud wuchs *Leucopaxillus giganteus* besser als auf den entsprechenden Lösungen, wohingegen er auf Nähragar nach Nord und auf Malzextrakt verschiedener Zusammensetzung deutlich schlechter wuchs (Tab. 2).

Aus Tabelle 1 geht hervor, daß ein Zusatz von Erdextrakt verschiedener Art einen wachstumsfördernden Einfluß ausübt, so daß die zunächst ungünstige Wirkung eines Zusatzes von 0,5 % Pepton kompensiert wird. Die mit verschiedenen Erd- und Lehmextrakten erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt; wie die mittlere Höhe der Myceldecken zeigt, wirken alle Bodenauszüge günstig auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus*, während der Bodenextrakt im Vergleich zu den Kontrollen auf den Deckungsgrad ohne nennenswerten Einfluß waren (vgl. Tab. 1).

Die zur Herstellung der Bodenauszüge verwendete Erde eignet sich nicht als Substrat für den Pilz; da sein Wachstum auf Lehm recht schlecht war, ist anzunehmen, daß die mit diesem Substrat erhaltenen, ziemlich unbefriedigenden Ergebnisse teilweise auf ungenügende Belüftung des Pilzes zurückzuführen sind (Tab. 4). Tab. 1 hat gezeigt, daß Erdex-

Tabelle 1:  
Einfluß des Nährmediums auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur

100 ml-Erlenmeyerkolben, 25 ml Nährlösung	Deckungsgrad nach		Mycelium nach 20 Tagen
	20 Tagen	70	
CZAPEK – DOX	+	+	–
CZAPEK – THOM	+	+	–
HENNEBERG II	+	+	–
RAHLIN	+	+	–
WÖLTJE	+	0,8	–
PLAUT	+	1,2	–
READER	+	2,0	–
HENNEBERG I	+	3,4	–
2,5 % Malzextrakt mit 0,5 % Pepton	2,5	4,0	sehr dünn
NORD modifiziert	4,4	5,0	dünn
2,5 % Malzextrakt	5,0	5,0	ziemlich dünn
2,5 % Malzextrakt mit humosem Erdextrakt	5,0	5,0	dicht, wattig
2,5 % Malzextrakt mit 0,5 % Pepton und humosem Erdextrakt	5,0	5,0	sehr dicht, wattig

trakte das Pilzwachstum günstig beeinflussen können und vor allem die ungünstige Wirkung von 0,5 %igem Pepton kompensieren kann. Es war auch zu prüfen, wie sich höhere Pepton-Zusätze zum Erdextrakt auf das Pilzwachstum auswirken. Außerdem interessierte uns ein Vergleich dieses Nährmediums mit dem schon von Hollande benutzten Karotten-Hefe-Substrat (Rivière et al. 1947 a, b, Hollande 1949). Aus Tab. 5 ist ersichtlich, daß die Kompensation des Pepton-Effektes nicht sofort eintritt, wenn die Substanz in 2 %iger Konzentration in der Nährlösung vorliegt; andererseits aber lassen die Werte des Trockengewichts des Myzels erkennen, daß der Ausgleich später erfolgt und *Leucopaxillus*

Tabelle 2:  
Einfluß von Nähragar in Petrischalen auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur

20 ml Nähragar in Petri- schalen (9 cm Durchmesser)	Deckungsgrad nach	
	15 Tagen	50
CZAPEK-DOX	0,5	1,3
PLAUT	0,8	2,7
SABOURAUD	1,2	3,3
NORD modifiziert	1,8	3,5
2,5 % Malzextrakt	2,5	3,7

Tabelle 3:

Einfluß verschieden hergestellter Erdextrakte auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur.

a) Erde in Aqua dest. 1:1 im Dampftopf 30 min. erhitzt und filtriert;

b) Erde in Aqua dest. 1:1 30 min. geschüttelt und filtriert. D = Deckungsgrad, H = Mycelhöhe in mm; + = Pilzwachstum sehr spärlich.

	Alter der Kulturen in Tagen					
	5		22		38	
	D	H	D	H	D	H
a) humose Gartenerde	+	0	4,8	17,4	4,8	20,8
sandiger Lehm	+	0	5,0	13,7	5,0	19,8
b) humose Gartenerde	+	0	5,0	15,2	5,0	20,3
sandiger Lehm	+	0	5,0	14,2	5,0	20,0
Kontrolle (ohne Erdextrakt)	+	0	5,0	4,0	5,0	6,0

*giganteus* dann auf einem peptonhaltigen Substrat eine bessere Entwicklung aufweist. Im Vergleich mit der mit Karotten-Hefe-Lösung gemachten Erfahrungen zeigen, daß sie noch eine etwas bessere Wirkung auf die Pilzentwicklung haben, ein Effekt, der nicht durch eine schnellere Anfangsentwicklung, sondern durch die Erzeugung einer größeren Trockenmasse des Myceliums zu späterer Zeit gekennzeichnet ist (Abb. 1a-c).

Eine Abhängigkeit der Hemmung von *Leucopaxillus giganteus* auf verschiedenen Nährmedien konnte nicht eindeutig ermittelt werden, obwohl, wie aus den Tab. 6 und 7 hervorgeht, der Pilz die seinem Wuchs entsprechenden ernährungsbedingten Beziehungen aufweist (siehe Tabelle 3).

Tabelle 4:

Einfluß verschiedener Bodenarten auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur; + Pilzwachstum sehr spärlich.

Substrat in 100 ml-Erlenmeyerkolben	Deckungsgrad nach	
	10 Tagen	20
humose Gartenerde (20 g)		
mit Aqua dest. (10 ml)	+	1,0
mit 2,5 % Malzextrakt (10 ml)	+	3,0
sandiger Lehm (20 g)		
mit Aqua dest. (10 ml)	+	+
mit 2,5 % Malzextrakt (10 ml)	+	+
Torfmulle (10 g)		
mit Aqua dest. (20 ml)	+	+
mit 2,5 % Malzextrakt (20 ml)	+	3,3

Tabelle 5:

Einfluß von Erd- und Karotten-Extrakt auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur; Grundnährlösung 2,5 % Malzextrakt; A = mit humosem Erdextrakt, B = mit humosem Erdextrakt, 2 % Pepton und 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , C = mit Karotten- und Hefeextrakt; Mycelhöhe nicht genau meßbar, + = Pilzwachstum sehr spärlich.

Nährlösung 35 ml in 200 ml Erlenmeyerkolben	Deckungsgrad nach 30 Tagen	Mycelhöhe in mm nach 30 Tagen	Trockengewicht des Mycels in mg nach	
			70 Tagen	100
A	4,9	3,8	263	346
B	+	+	494	635
C	4,6	3,8	620	687

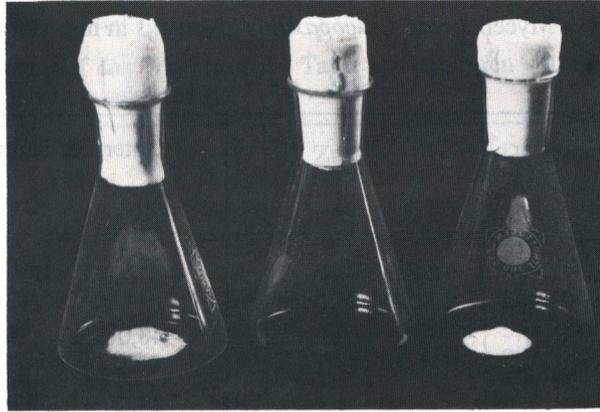
## b) Einfluß der Temperatur

Die in verschiedenen Temperaturbereichen durchgeführten Kulturversuche zeigten, daß sich *Leucopaxillus giganteus* bei Raumtemperatur (18–21 °C) am besten entwickelt; dagegen sind höhere oder niedrige Temperaturen weniger günstig (Tab. 8). die Angaben in Tab. 9 bestätigen auch die Ergebnisse der Tab. 1 und 2, daß das Pilzwachstum auf flüssigem und festem Substrat je nach der verwendeten Nährlösung unterschiedlich ist.

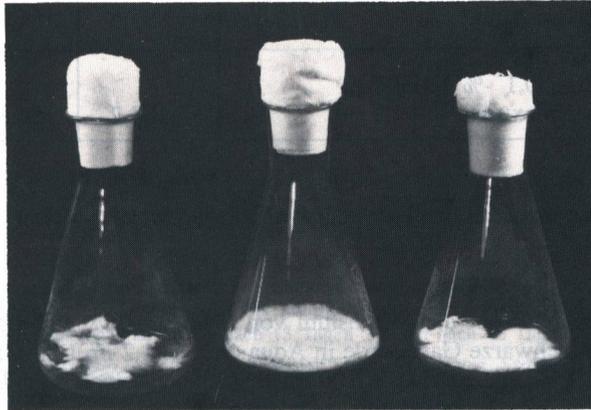
Tabelle 6:

Wachstum von *Leucopaxillus giganteus* auf verschiedenen Substraten; D = Deckungsgrad, H = Mycelhöhe in mm; + = Pilzwachstum sehr spärlich.

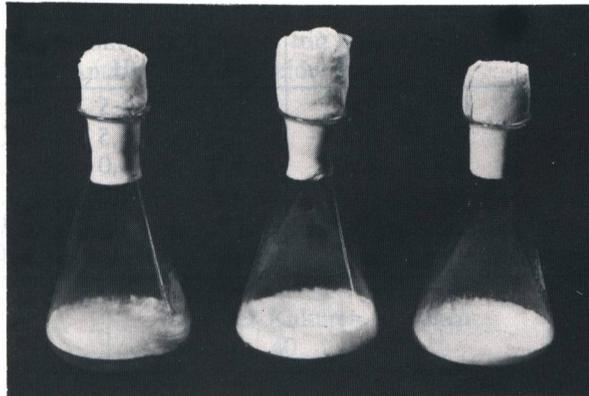
Nährlösung 35 ml in 200 ml Erlenmeyerkolben	Alter der Kulturen in Tagen							
	20		24		30		45	
	D	H	D	H	D	H	D	H
2,5 % Malzextrakt	3,6	4,2	4,1	3,6	5,0	5,7	5,0	11,1
2,5 % Malzextrakt und 0,1 % $\text{KH}_2\text{PO}_4$	2,5	1,4	3,0	1,8	4,8	3,9	5,0	9,0
2,5 % Malzextrakt und Lehmextrakt	3,9	2,9	4,5	4,0	5,0	6,1	5,0	10,3
2,5 % Malzextrakt und humoser Erdextrakt	4,1	3,2	4,6	4,6	5,0	7,2	5,0	12,3
2,5 % Malzextrakt und 2 % Pepton, 0,1 % $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , humoser Erdextrakt	+	0	+	0	+	0	1,5	+



a



b



c

Abb. 1: Einfluß von Erd- und Karotten-Extrakt auf das Wachstum der Mycelien von *Leucopaxillus giganteus*. a = Wachstum nach 11 Tagen, b = nach 45 Tagen, c = nach 63 Tagen. Grund-Nährlösung 2,5 % Malzextrakt mit humosem Erdextrakt (= A), mit humosem Erdextrakt, 2 % Witte-Pepton und 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (= B), mit Karotten- und Hefe-Extrakt (= C). Lösung B zeigt das beste Wachstum.

Tabelle 7:

Trockengewicht der Mycelien von *Leucopaxillus giganteus* in mg; Durchschnittswerte für ein Kulturgefäß.

Nährlösung 35 ml in 200 ml Erlenmeyerkolben	Alter der Kulturen in Tagen		
	40	50	65
2,5 % Malzextrakt	69,0	84,0	133,2
2,5 % Malzextrakt mit 0,1 % $\text{KH}_2\text{PO}_4$	48,0	72,8	118,6
2,5 % Malzextrakt mit Lehmextrakt	84,0	98,6	154,8
2,5 % Malzextrakt mit humosem Erdextrakt	97,6	106,2	161,4
2,5 % Malzextrakt mit 2 % Pepton, 0,1 % $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , humosem Erdextrakt	103,2	154,8	258,0

Tabelle 8:

Einfluß der Temperatur auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus*;  
25 ml Erdextrakt (schwarze Gartenerde in Aqua dest. 1:1,2 im Dampftopf 30 min. erhitzt  
und filtriert) und 2 % Malzextrakt in 100 ml Erlenmeyerkolben. D = Deckungsgrad, H =  
Mycelhöhe in mm, + = Pilzwachstum sehr spärlich.

Temperatur °C	Alter der Kulturen in Tagen					
	7		20		40	
	D	H	D	H	D	H
15	0,5	+	3,7	1,5	5,0	6,4
18	0,8	2,5	5,0	5,5	5,0	12,0
21	1,5	3,0	5,0	9,0	5,0	15,0
27	+	0	1,3	1,0	3,2	1,5
30	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0

Tabelle 9:

Einfluß der Temperatur auf das Wachstum 24 Tage alter Kulturen von *Leucopaxillus giganteus*; + = Pilzwachstum sehr spärlich.

Substrat 25 ml in 100 ml Erlenmeyerkolben	Zusätze	Deckungsgrad nach 24 Tagen bei	
		18 °C	27 °C
Nährlösung nach NORD	4 % Maltose	3,3	+
Nähragar nach NORD	4 % Maltose	2,4	+
2,5 % Malzextrakt-Lösung	etwas Aneurin	5,0	+
2,5 % Malzextrakt-Agar	Aneurin	2,0	0
Nährlösung nach SABOURAUD	—	1,0	+
Nähragar nach SABOURAUD	—	1,0	0
Nährlösung nach PLAUT	—	0,6	+
Nähragar nach PLAUT	—	1,5	0

#### 4. Clitocybin in der Kulturflüssigkeit

a) *Leucopaxillus giganteus* getestet gegen *Chromobacterium violaceum* und andere Bakterien

Als Kultursubstrat diente eine Malz- und Erdextrakt enthaltende Lösung, zu je 25 ml in 100 ml Erlenmeyerkolben abgefüllt; auf diesem Medium zeigte *Leucopaxillus* bei Raumtemperatur ein schnelles und üppiges Wachstum (vgl. Tabellen 1, 5, 6). Der Deckungsgrad betrug nach 13 Tagen 2,2 und nach 20 Tagen bereits 5,0.

Die Nährlösungen verschieden alter Pilzkulturen wurden gegen *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacterium fluorescens* und *B. pyocyaneum* auf die Anwesenheit von Clitocybin geprüft. Wie Tab. 10 zeigt, wirken erst die älteren Kulturen auf die Bakterien stark wachstumshemmend; dabei ist *Staphylococcus aureus* gegenüber der antibiotica-haltigen Lösung am empfindlichsten. Der Pilz scheidet während seines Wachstums zunächst nur wenig Clitocybin in das Kultursubstrat aus; er tritt erst später in das Stadium intensiverer Antibiotica-Bildung bzw. Antibiotica-Ausscheidung ein.

Tabelle 10:

Hemmwirkung einer Nährlösung von *Leucopaxillus giganteus* auf das Wachstum verschiedener Bakterien-Arten, gemessen am Durchmesser der Hemmhöfe in mm.

Teststämme	Alter der Kulturen in Tagen		
	25	40	55
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,5	9,5
<i>Bacillus subtilis</i>	1	3,5	8,5
<i>Bacterium fluorescens</i>	0	1,1	4,0
<i>Bacterium pyocyaneum</i>	0	1,0	6,4

Die von *Leucopaxillus giganteus* bewachsenen Nährlösungen hemmten nicht nur das Bakterienwachstum, sondern wirkten sich auch keimhemmend auf die Samen höherer Pflanzen aus (Tab. 11). Die größte Empfindlichkeit gegenüber Clitocybinhaltiger Lösung zeigten Samen von *Papaver dubium*, deren Keimung unabhängig vom Alter der Pilzkulturen fast vollständig unterdrückt wurde; demgegenüber konnten zumindest die Nährlösungen jüngerer Pilzkulturen bei den widerstandsfähigeren Samen-Arten einen derartig starken Hemmeffekt noch nicht auslösen.

Im Verlauf unserer Untersuchungen wurden aus verschiedenen Nährlösungen stammende Kultursubstrate des Pilzes nach verschiedenem Wachstum gegen einige Bakterienstämme getestet; dabei erwiesen sich *Chromobacterium violaceum*, *Sarcina lutea* und *Staphylococcus aureus* gegen Clitocybin am empfindlichsten, wobei in einzelnen Fällen die Hemmhöhe bis zu 6,6 mm betragen können. *Bakterium prodigiosum* und *Streptococcus hemolyticus* wurden durch Clitocybin in ihrer Entwicklung überhaupt nicht beeinträchtigt. Die Beziehungen zwischen dem Alter der Kulturen von *Leucopaxillus giganteus* und der Hemmwirkung der Nährlösung waren nicht immer typisch ausgeprägt, doch kann man im allgemeinen sagen, daß die 45–80 Tage alten Kulturen meist als besonders wirksam bezeichnet werden können (Tab. 12). In den Lösungen sehr alter Kulturen trat eine Verminderung des Hemmeffektes ein; das Nachlassen der hemmenden Wirkung ist wahrschein-

Tabelle 11:

Hemmwirkung eines Nährsubstrates von *Leucopaxillus giganteus* auf die Keimung einiger Samen; Keimprozent nach 5 Tagen; N = Keimung auf Nährsubstrat, W = Keimung auf mit Wasser befeuchtetem Filtrierpapier als Kontrolle; P = Keimhemmung in %.

Testsaamen		Alter der Kulturen in Tagen							
		25	29	32	36	40	44	47	53
<i>Panicum miliaceum</i> L.	N.	–	7	22	28	–	–	–	–
	W.	–	98	96	83	–	–	–	–
	P.	–	<b>93</b>	78	67	–	–	–	–
<i>Setaria italica</i> (L.) P.B.	N.	–	25	34	45	–	–	–	–
	W.	–	100	100	98	–	–	–	–
	P.	–	<b>75</b>	66	54	–	–	–	–
<i>Setaria viridis</i> (L.) P. B.	N.	–	6	8	17	–	–	–	–
	W.	–	95	96	89	–	–	–	–
	P.	–	<b>94</b>	92	81	–	–	–	–
<i>Papaver dubium</i> L.	N.	–	5	0	0	0	0	6	5
	W.	–	84	100	100	100	94	97	75
	P.	–	94	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	94	93
<i>Lepidium sativum</i> L.	N.	30	16	7	0	0	10	25	37
	W.	41	40	46	59	36	30	37	37
	P.	27	60	85	<b>100</b>	<b>100</b>	67	32	0
<i>Sinapis alba</i> L.	N.	46	8	2	0	0	0	20	29
	W.	94	100	92	100	95	97	93	95
	P.	51	92	98	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	78	64

Tabelle 12:

Hemmwirkung einiger Nährlösungen von *Leucopaxillus giganteus* auf das Wachstum verschiedener Bakterien, gemessen am Durchmesser der Hemmungshöfe in mm; Grundnährlösung 2,5 % Malzextrakt, AC = mit 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , B = mit Lehmextrakt, C = mit humosem Gartenerdeextrakt, D = mit 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2 % Pepton und humosem Erdextrakt, EC = ohne Zusätze.

1 = *Chromobacterium violaceum*, 2 = *Sarcina lutea*, 3 = *Staphylococcus aureus*, 4 = *St. pyogenes* var. *albus*, 5 = *Escherichia coli*, 6 = *Bacillus subtilis*, 7 = *Bacterium pyocyaneum*, 8 = *B. fluorescens*.

Alter der Kulturen in Tagen		Bakterien-Arten							
		1	2	3	4	5	6	7	8
A	45	13,3	5,0	8,0	8,3	8,9	1,9	1,8	1,0
	60	17,4	17,6	14,6	3,9	4,6	5,9	2,0	1,4
	110	10,9	9,8	9,1	0	3,1	7,9	0	0
	135	7,6	3,2	6,3	0	1,0	0,6	0	0
B	45	11,0	11,3	13,6	9,8	1,3	5,8	3,4	2,1
	60	13,9	20,1	11,0	7,4	2,4	6,4	1,4	1,5
	110	6,2	2,2	4,0	0	1,2	6,0	0	0,8
	135	15,6	1,8	0,4	0	0,9	2,8	0	0,3
C	45	13,3	12,9	10,8	10,0	1,8	0,5	2,0	1,9
	60	24,7	21,2	14,0	3,3	4,3	2,9	0,8	1,7
	110	17,7	3,4	6,6	0	2,3	4,6	0	0,4
	135	6,8	2,6	4,7	0	0,1	1,8	0	0,1
D	80	7,3	8,3	1,6	0	1,4	1,8	0	1,2
	110	17,4	8,8	5,9	0	2,2	8,1	0	0,4
	135	3,1	3,5	1,2	0	0	0,8	0	0,1
E	45	7,8	3,5	5,0	4,4	1,4	0,5	1,0	1,5
	60	11,4	5,6	5,3	0	2,1	1,8	1,6	2,4
	110	9,4	2,3	6,6	0	4,1	4,0	0	0,3
	135	4,1	1,6	0,5	0	0,1	0,2	0	0,2

lich eine Folge von Autolyseprozessen, durch welche die Clitocybin-Produktion inaktiviert bzw. teilweise zerstört wird.

Eine Beziehung zwischen dem Alter der Pilzkulturen und dem Clitocybin-Gehalt des Kulturmediums kommt auch dann zum Ausdruck, wenn Erlenmeyerkolben mit zwei seitlichen Ansätzen benutzt wurden; dem Kultursubstrat 3,5 %ige Malzextraktlösung und eine Spur Aneurin wurden in zeitlichen Abständen aus einem der seitlichen Ansätze jeweils 10 ml entnommen und gleichzeitig 10 ml frische Nährlösung durch den zweiten Ansatz hinzugefügt. Die erste Testung des Kultursubstrates auf ihre antibiotische Wirkung erfolgte 40 Tage nach der Beimpfung bzw. 10 Tage nach Erreichung des Deckungsgrades 5; die Ergebnisse zeigen, daß die hemmende Wirkung des Nährmediums zunächst ansteigt und

Tabelle 13:

Hemmwirkung einer Nährlösung (2,5 % Malzextrakt und eine Spur Aneurin) von *Leucopaxillus giganteus* auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* und *Chromobacterium violaceum*, gemessen am Durchmesser der Hemmungshöfe in mm.

	Alter der Kulturen in Tagen							
	60	70	75	85	95	100	110	115
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,9	4,3	6,3	<b>8,9</b>	6,6	5,7	4,7	3,5
<i>Chromobacterium violaceum</i>	4,3	7,0	15,4	<b>17,0</b>	12,6	5,5	5,8	3,9

später wieder abnimmt (Tab. 13). Die Zeit der stärksten Hemmwirkung liegt bei solchen Versuchen zwischen dem 70. und 95. Tag; der Grund dafür, daß erst bei erheblich älteren Kulturen starke Hemmwirkungen auftreten, ist offenbar auf die andersartige Kulturmethode zurückzuführen. Jedes Kulturgefäß wurde mit 250 ml Nährlösung beschickt, so daß die Anreicherung des Clitocybins eine erheblich längere Zeit in Anspruch nehmen mußte als bei den Versuchen mit nur 35 ml Nährlösung. Da wir in jedes Gefäß 250 ml Nährsubstrat gegeben haben und außerdem in gewissen Zeitabständen 10 ml frische Nährlösung zusetzten, kommt eine Erschöpfung des Kultursubstrates als Ursache für den auch hier beobachteten Rückgang der Clitocybin-Produktion bzw. des Clitocybin-Gehaltes der Nährlösung offenbar nicht in Betracht; die Ursachen müssen in einem anderen Zusammenhang gesehen werden.

#### b) Wirkung von Metallionen auf die Clitocybin-Produktion

Als Grundnährsubstrat diente eine mit einer Spur Aneurin versetzte, mit Aqua dest. hergestellte, 2,5 %ige Malzextraktlösung, der die einzelnen Salze in verschiedener Konzentration zugegeben wurden (Tab. 14). Das Pilzwachstum wurde durch die Metallionen z. T. erheblich beeinflusst; ein besonders gutes Wachstum war z. B. nach Zugabe von stark verdünnter  $\text{CaCl}_2$ -Lösung zu beobachten, wohingegen  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{MnCl}_2$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$  und  $\text{ZnSO}_4$  vor allem in höheren Konzentrationen stark hemmend wirkten. Das Kulturmedium von *Leucopaxillus giganteus* wurde nach 60tägiger Bewachung gegen *Staphylococcus aureus* und *Chromobacterium violaceum*, die sich als sehr clitocybinempfindlich erwiesen hatten, getestet. Einige aufschlußreiche Ergebnisse sind in Tab. 15 zusammenfassend dargestellt; es zeigte sich nämlich, daß im Gegensatz zu den Angaben der Tab. 12 zwischen Pilzwachstum und Hemmwirkung des Nährmediums teilweise deutliche Beziehungen bestehen; die Calcium enthaltenden Substrate, auf denen der Pilz recht gutes Wachstum zeigte (Tab. 14), wirkten auch auf die Testbakterien besonders stark hemmend, wohingegen der das Pilzwachstum negativ beeinflussende  $\text{ZnSO}_4$ -Zusatz auch eine gegenüber den Kontrollen erheblich geringere antibiotische Wirkung zur Folge hatte (vgl. auch Erlenmeyer et al. 1958).

Tabelle 14:

Einfluß von Metallo-Ionen auf das Wachstum von *Leucopaxillus giganteus*; Grundnährlösung 2,5 % Malzextrakt in Aqua dest. mit einer Spur Aneurin (25 ml im 100 ml Erlenmeyerkolben); D = Deckungsgrad, H = Mycelhöhe in mm.

Zusätze	Konzentration Mol/l	Alter der Kulturen in Tagen					
		D	H	D	H	D	H
NaCl	10 <sup>-1</sup>	2,2	1,2	2,7	1,3	3,8	2,2
	10 <sup>-3</sup>	3,2	1,6	3,9	2,4	5,0	6,0
	10 <sup>-5</sup>	3,2	2,0	4,0	2,6	5,0	4,9
KCl	10 <sup>-1</sup>	3,0	2,1	3,9	2,6	4,9	4,9
	10 <sup>-3</sup>	2,4	2,0	3,4	3,2	4,3	4,2
	10 <sup>-5</sup>	3,2	2,6	3,8	3,4	4,7	6,0
CaCl <sub>2</sub>	10 <sup>-1</sup>	3,2	1,8	3,8	2,9	4,7	4,6
	10 <sup>-3</sup>	3,5	2,8	3,8	4,5	5,0	7,5
	10 <sup>-5</sup>	4,0	3,0	4,9	4,0	5,0	6,8
MgCl <sub>2</sub>	10 <sup>-1</sup>	3,1	1,3	3,8	2,3	4,8	4,5
	10 <sup>-3</sup>	3,0	12,6	4,4	3,0	5,0	5,0
	10 <sup>-5</sup>	3,4	1,8	4,4	3,1	5,0	6,0
FeCl <sub>3</sub>	10 <sup>-5</sup>	3,3	1,8	4,7	2,8	5,0	4,0
MnCl <sub>2</sub>	10 <sup>-3</sup>	2,0	1,2	2,7	1,7	4,1	2,3
	10 <sup>-5</sup>	2,5	1,3	4,2	2,8	5,0	4,5
KMnO <sub>4</sub>	10 <sup>-3</sup>	0,6	2,0	1,2	2,1	3,2	2,5
	10 <sup>-5</sup>	3,9	2,1	4,8	3,5	5,0	6,9
CuSO <sub>4</sub>	10 <sup>-4</sup>	1,3	1,6	2,5	1,7	2,7	2,0
	10 <sup>-5</sup>	3,2	2,4	4,1	3,1	4,9	4,8
ZnSO <sub>4</sub>	10 <sup>-4</sup>	2,4	1,3	2,7	2,0	4,8	3,2
	10 <sup>-5</sup>	2,4	1,5	2,8	2,8	4,9	4,3
Kontrolle ohne Zusatz		12,8	1,3	4,0	2,5	4,7	3,2

### 5. Nachweis des Clitocybins im Mycelium

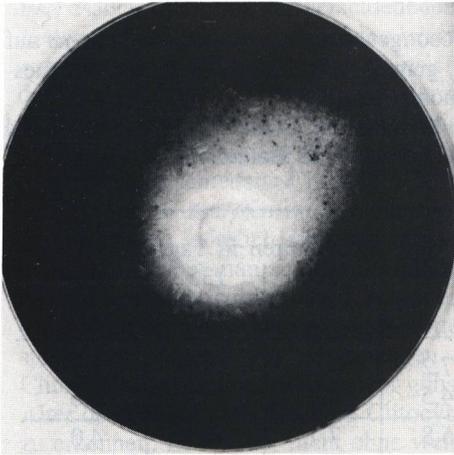
Nach Rivière et al. (1947a) handelt es sich beim Clitocybin um ein endocelluläres Antibioticum, das nur in geringen Mengen in das Kulturmedium ausgeschieden wird; da wir jedoch eine recht erhebliche antibakterielle Wirkung auch im Außenmedium nachweisen konnten, mußte festgestellt werden, in welchem Ausmaß das Mycelium von *Leucopaxillus giganteus* das antibiotische Agens enthält. Der Pilz wurde zu diesem Zweck auf Erd- oder Karotten-Extrakt enthaltende Kultursubstrate beimpft; nachdem der Deckungsgrad 5 bei allen Versuchen erreicht war (Tab. 5), wurden aus dem *Leucopaxillus giganteus*-Mycelium gewonnene Extrakte gegen *Chromococcus violaceus* getestet (Abb. 2); als Vergleich überprüften wir auch die Kulturlösungen des Pilzes auf ihre antibakterielle Wirkung (Abb. 2a-b).

Tabelle 15:

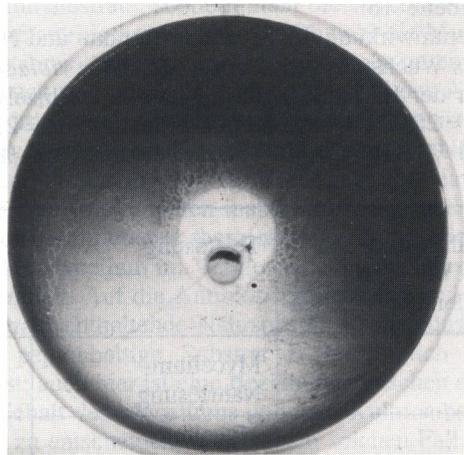
Hemmwirkung von Metall-Ionen-haltigen Nährlösungen von *Leucopaxillus giganteus* auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* und *Chromobacterium violaceum*; gemessen wurde der mittlere Durchmesser der Hemmungshöfe in jeweils 8 Einzelversuchen in mm.

Zusätze	Konzentration Mol/l	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>
NaCl	10 <sup>-3</sup>	8,4	8,5
	10 <sup>-5</sup>	6,8	8,6
CaCl <sub>2</sub>	10 <sup>-1</sup>	9,3	8,4
	10 <sup>-2</sup>	11,8	9,3
	10 <sup>-3</sup>	10,9	9,6
	10 <sup>-4</sup>	10,0	9,8
	10 <sup>-5</sup>	7,7	6,5
MgCl <sub>2</sub>	10 <sup>-1</sup>	7,4	8,5
	10 <sup>-3</sup>	9,6	10,4
	10 <sup>-5</sup>	9,5	9,0
FeCl <sub>3</sub>	10 <sup>-4</sup>	6,3	6,0
	10 <sup>-5</sup>	8,2	8,1
	10 <sup>-6</sup>	8,5	10,9
MnCl <sub>2</sub>	10 <sup>-4</sup>	6,0	6,8
	10 <sup>-6</sup>	5,4	5,2
KMnO <sub>4</sub>	10 <sup>-3</sup>	4,9	6,5
	10 <sup>-4</sup>	6,5	7,2
	10 <sup>-5</sup>	9,5	8,8
CuSO <sub>4</sub>	10 <sup>-4</sup>	5,5	4,9
	10 <sup>-5</sup>	7,9	9,7
ZnSO <sub>4</sub> +	10 <sup>-4</sup>	5,2	4,7
	10 <sup>-5</sup>	4,3	4,2
	10 <sup>-6</sup>	4,4	4,3
Kontrolle ohne Zusatz		7,2	6,8

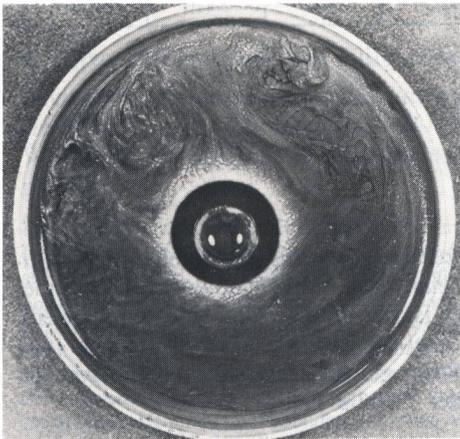
Bei der Herstellung der Mycelextrakte gingen wir von 100mg fein zermörsertem Mycelpulver aus, das mit 3 ml Aqua dest. im Autokalven 30 min bei 120 °C unter 1 atm Überdruck ausgezogen wurde; durch das Autoklavieren trat, wie Kontrollversuche ergaben, keine größere Minderung der Hemmwirkung ein. Dieser Befund steht im Widerspruch zu Hollande (1945) und Rivière et al.(1957 a), nach deren Auffassung das Clitocybin thermolabil ist, nämlich eine völlige Inaktivierung zwischen 70 und 80 °C erleidet. Unsere Beobachtungen kann man dadurch erklären, daß das von uns benutzte Mycelium auch eine thermostabile antibiotische Komponente enthält (vgl. dazu Tab. 17 und 18). Es sei daran erinnert, daß das aus *Clitocybe nebularis* und aus *C. illudans* isolierte Nebularin und Illudin als thermostabil erkannt wurde (Löfgren et al. 1949, Anchel et al. 1950).



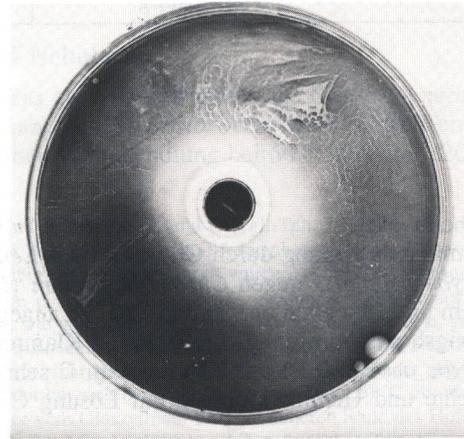
a



b



c



d

Abb. 2a–b: Nährlösung aus Medium C (2,5 % Malzextrakt, Karottenextrakt und Hefe-Extrakt) geimpft mit *Leucopaxillus giganteus* getestet gegen *Chromobacterium violaceum*. c–d: Dasselbe, jedoch Extrakte aus Mycelien aus Medium B (2,5 % Malzextrakt, 2 % Witte-Pepton, humosem Erdextrakt und 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), dasselbe jedoch aus Medium C (siehe oben); die Aufnahme d wurde im Gegenlicht aufgenommen.



Es besaßen nicht nur die verschiedenen Kultursubstrate, sondern auch die Mycelien von *Leucopaxillus giganteus* z. T. eine beachtliche antibiotische Wirkung. Obwohl die Mycel-extrakte und die Kultursubstrate hinsichtlich ihres Antibioticum-Gehaltes nicht miteinander vergleichbar sind, besteht doch der Eindruck, daß zumindest der größte Teil des Antibioticums vom Pilz selbst ausgeschieden wird; bei der Beurteilung dieser Frage ist zu berücksichtigen, daß der Mycelextrakt relativ konzentriert ist, während das in das Nährmedium ausgeschiedene Clitocybin in starker Verdünnung vorliegt. Geht man aber davon aus, daß das Clitocybin im Mycelium durch das Autoklavieren inaktiviert wurde und die Mycelextrakte lediglich ein noch nicht näher beschriebenes thermostabiles Antibioticum enthalten, kommt man zu dem Schluß, daß das Mycelium im Vergleich mit dem Nährsubstrat eine antibioticum-reiche Komponente enthält. Auf die Antibioticum-Bildung und auf die Mycelproduktion wirkte das Karottenextrakt enthaltende Nährsubstrat C am günstigsten (Tab. 5 und 16), wohingegen das peptonhaltige Substrat B hinsichtlich der Clitocybin-Produktion viel weniger günstig ist; auch hier ist eine Beziehung zwischen dem Alter der Pilzkulturen und dem Clitocybin-Gehalt des Myceliums und dem Kultursubstrat zu erkennen. Es ist aber nicht ohne weiteres zu entscheiden, ob in einem solchen Fall der Höchstwert der Clitocybin-Bildung zeitlich später liegt als bei den beschriebenen Versuchsreihen, oder ob die Antibioticum-Produktion periodisch bzw. rhythmisch erfolgt (Tab. 10, 12, 13, 16).

## 6. Hitze-Abhängigkeit von Clitocybin und Nebularin

Sowohl Clitocybin aus *Leucopaxillus giganteus* als auch Nebularin aus *Clitocybe nebularis* wurden gegen *Chromobacterium violaceum* und *Staphylococcus aureus* nach einem Wachstum der Pilze bei 20 °C sowie nach einer Vorbehandlung bei 60 °, 80 ° und 120 °C getestet.

Die Pilze wurden in 200 ml-Erlenmeyerkolben mit 35 ml Nährlösung b und C (vgl. Tab. 16) kultiviert. In der Impfkammer haben wir drei Ösen der Testkeime frischer Bakterienkulturen auf Agarsubstrat in einer Flasche mit sterilem Aqua dest. durch Schütteln möglichst gleichmäßig suspendiert; danach wurden 10 ml Bakteriensuspension in den noch flüssigen Agar gemischt. Dann wurde ein durch eine Flamme gezogener Zylinder auf den erstarrten Agar gelegt, um ein Einsinken zu verhindern. Die geernteten Mycelien wurden mit Aqua dest. gewaschen, etwa 10 Tage bei 38 °C getrocknet und gewogen; anschließend wurde 100 mg Mycelpulver mit 3 ml Aqua dest. versetzt und das Gemisch Mycelpulver und Wasser in einer Menge von 0,5 ml in die Testzylinder gegeben. Die Auswertung geschah meistens nach zwei Tagen; dann hat sich bei einer Temperatur von 20 °C ein ausreichend breiter Hemmungshof gebildet. Gemessen wurde er vom Glaszylinder bis zum äußeren Rand des Hofes in mm; aus den Petrischalen, die zusammengehörten, wurde das Mittel gebildet und ihre Anzahl in Tab. 17 und 18 in Klammern beigefügt. Die Vorbehandlung vom Nährmedium und Mycelextrakt geschah bei 120 °C im Autoklaven und 60 °C und 80 °C im Dampftopf und zwar 20 min lang; die Vorbehandlung bei 60 ° und 80 °C wurde in Tab. 17 und 18 weggelassen.

Bei *Staphylococcus aureus* waren die Hemmungshöfe um die Glaszylinder immer scharf abgegrenzt. Bei *Chromobacterium violaceum* traten neben deutlich abgegrenzten auch unscharfe Hemmungshöfe auf; der Testzylinder war zunächst von einer Zone farbloser, also toter Bakterien umgeben, die mit zunehmender Entfernung allmählich etwas mehr Farbe aufwies, bis schließlich die normale, dunkle Färbung von *Chromobacterium* in Erscheinung trat. Eine Hemmung machte sich dabei in Form mangelnder Farbstoffbildung bemerkbar; zur Beurteilung der Hemmung wurde in einem solchen Fall die ziemlich unscharf begrenzte Aufhellungszone gemessen.

In Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur (z. B. Löfgren et al. 1949) ist der Hemmstoff von *Clitocybe nebularis* sowohl aus dem Nährmedium als auch aus dem Mycelium thermostabil, d. h. er ist auch nach Erhitzen auf 120 °C noch voll wirksam; der Hemmstoff aus *Leucopaxillus giganteus* ist es aber nicht, d. h. er ist thermolabil (Tab. 17).

Tabelle 18:

Kulturmedium und Extrakte der Mycelien von *Leucopaxillus giganteus* getestet gegen *Chromobacterium* und *Staphylococcus aureus* nach Vorbehandlung bei 20 und 120 °C; angegeben ist der mittlere Durchmesser des Hemmungshofes (mm) im Zylindertest; in Klammern Zahl der jeweiligen Einzelversuche.

	Alter der Kultur in Tagen	<i>Chromobacterium violaceum</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		
		Nährmedium B	Nährmedium C	Nährmedium B	Nährmedium C	
Gewicht der Mycelien (g)	90	0,385	0,396	0,376	0,387	
	96	0,406	0,408	0,392	0,403	
	105	0,487	0,410	0,402	0,410	
	112	0,459	0,466	0,435	0,424	
	118	0,429	0,424	0,430	0,412	
	124	0,422	0,403	0,407	0,405	
Hemmung des Nährmediums	20 °C	90	5 (5)	5 (4)	5 (5)	5 (5)
		96	6 (6)	6 (7)	6 (7)	7 (8)
		105	6 (6)	5 (6)	6 (6)	6 (6)
		112	7 (7)	4 (8)	7 (8)	7 (8)
		118	5 (8)	5 (8)	6 (8)	6 (6)
		124	5 (8)	4 (3)	5 (8)	5 (5)
	120 °C	90	–	0 (6)	0 (4)	1 (7)
		96	0 (6)	0 (6)	0 (6)	1 (5)
		105	1 (6)	0 (8)	0 (8)	0 (5)
		112	1 (8)	0 (4)	0 (6)	0 (8)
		118	0 (6)	0 (3)	0 (4)	1 (5)
		124	0 (3)	0 (3)	0 (8)	0 (3)
Hemmung der Extrakte des Mycelium	20 °C	90	6 (5)	6 (5)	7 (3)	6 (4)
		96	7 (3)	8 (3)	8 (5)	7 (3)
		105	6 (5)	6 (3)	7 (6)	7 (5)
		112	8 (7)	5 (6)	5 (3)	5 (4)
		118	5 (5)	5 (8)	5 (6)	6 (8)
		124	4 (5)	4 (3)	3 (3)	5 (3)
	120 °C	90	1 (5)	2 (5)	1 (3)	2 (5)
		96	2 (5)	1 (4)	2 (5)	3 (4)
		105	3 (6)	2 (5)	2 (6)	3 (5)
		112	2 (5)	3 (5)	3 (5)	1 (4)
		118	1 (3)	2 (4)	2 (4)	2 (5)
		124	1 (4)	1 (5)	1 (5)	1 (5)

Immerhin konnten wir nach Erhitzen von Mycel-Extrakten des Pilzes noch eine schwache antibiotische Aktivität nachweisen.

*Leucopaxillus* wächst auf dem Nährmedium B zunächst wesentlich langsamer als auf C; während auf der Lösung mit Karotten- und Hefe-Extrakt (C) schon nach vier Wochen der Deckungsgrad 5 erreicht wurde, ist das Mycelium auf B noch wenig geschlossen. Jedoch nach weiteren vier Wochen erreicht das Mycelium auf B das gleiche Erntegewicht wie auf Lösung C. Der Extrakt aus Mycelien von *Leucopaxillus giganteus* wurde 24 h im Kühlschrank aufbewahrt; er zeigte danach die gleiche Hemmwirkung gegen *Chromobacterium* und *Staphylococcus* wie vor der Abkühlung. Nach Erhitzung auf 120 °C ist es ganz anders. In Tab. 18 sind die Hemmungshöfe gegen beide Bakterien-Arten sowohl aus dem Nährmedium als auch aus den Mycelextrakten verzeichnet; sie beziehen sich auf eine Kultur bei 20 °C und auf eine Vorbehandlung bei 120 °C. Im letzten Falle treten keine Hemmungshöfe auf oder ausnahmsweise sehr kleine. Im letzten Fall treten nur im Mycel-extrakt schwache Hemmungshöfe auf, die vermutlich auf einen hitzebeständigen antibiotischen Komponente beruhen auf, die im Innern des Mycelium gespeichert wird.

#### Literatur

- ANCHEL, MARJORI, HERVEY, ANETTE & W. J. ROBBINS (1950) – Antibiotic substances from Basidiomycetales. 6. *Clitocybe illudens*. – Proceed. nat. Acad. Sci. (Washington) 36: 300–305.
- BLEVINS, W. T. & I. I. PERRY (1971) – Efficiency of soil *Mycobacterium* during growth on hydrocarbons and related substrates. – Z. allg. Mikrobiol. 11: 181–190.
- BRUX, B., MICHEL, S., MANN, W., RICHTER, G., FLECK, W. F. & D. STRAUSS (1978) – Wirkungsweise von Maduramycin auf die T3-Phagen-spezifische RNA-Synthese in vitro. – Z. allg. Mikrobiol. 18: 603–607.
- CANETTI, G., Editor (1970) – Advances in tuberculosis research. – Bd. 17, Basel.
- ERLENMEYER, H., BÄUMLER, I. & W. ROTH (1953) – Metallkomplexe und tuberkulostatische Aktivität. Metallionen und biologische Wirkung; 14. Mitteilung. – Helv. chim. Acta 36: 941–949.
- FLECK, W. F., STRAUSS, P. G., MEYER, J. & G. POSTENDORFER (1978) – Fermentation, isolation and biological activity of maduramycine; a new antibiotic from *Actinomadura rubra*. – Z. allg. Mikrobiol. 18: 389–398.
- GOTTLIEB, D. & P. D. SHAW, Editor (1967) – Antibiotic. I: mechanism. of action. II: biosynthesis. Berlin – Heidelberg – New York.
- KLOSA, I. (1954) – Antibiotika. 332 S. (Verl. Technik) Berlin.
- HOLLANDE, A.-CH. (1945) – Lyse massive des bacelles de Koch chez la cobaye après traitement à la clitocybine. Pouvoir inhibiteur de ce produit vis-à-vis du bacille typhique, du colibacille, de bruela abortus etc. – C. r. Acad. Sci. Paris 221: 361–363.
- (1947) – La bactériostase et la bactériolyse du bacille tuberculeux par la clitocybine. – C. r. Acad. Sci. Paris 224: 1534–1536.
- (1949) – A propos de la clitocybine cristallisée. – C. r. Acad. Sci. Paris 228: 1758–1759.
- MEISSNER, G., SCHMIEDEL, A., NELLES, A. & R. PFANNENBERG (editors) (1988) – Mykobakterien und mykobakterielle Krankheiten. Teil 1: Systematik der Mykobakterien. 377 S. (VEB Gustav Fischer Verl.) Jena.
- MICHAEL, E. & B. HENNIG (1968) – Handbuch für Pilzfreunde. Bd. 1: Die wichtigsten und häufigsten Pilze. 308 S. (VEB Gustav Fischer Verl.) Jena.
- , – (1964) – Bd. 3: Heilblätter und Leistlinge. 286 S. (VEB Gustav Fischer Verl.) Jena.
- OPPERMANN, A. & A. KAVE (1954) – Untersuchungen über die Beeinflussung des Bakteriengehaltes und der Nährstoffe im Boden durch den Riesentrichterling (*Clitocybe gigantea* SOW.) – Arch. Mikrobiol. 20: 358–361.
- PARTHIER, B. (Editor) (1969) – Antibiotica. Molekularbiologische Wirkungen. Nova Acta Leopoldina 34, Nr. 188, Leipzig.
- RATLETGE, G. (1976) – The mycobacteria. Patters of Progress Microbiology, Nr. 9, 130 pp. Shildon, Co. Durham (UK).

- RIVIÈRE, CH., M. THELY & G. GAUTRON (1947 a) – Contribution á l'étude des principes antibiotiques extraits du *Clitocybe candida* (Clitocybine). – Bull. soc. Chim. Biol. 29: 857–860.
- , –, – (1947 b) – Étude de la clitocybine. L'action antibiotique est-elle due à l'acide cyanhydrique ?. – Bull. Soc. Chim. Biol. 29: 861–863.
- WEISZFEILER, I. G. (1969) – Die Biologie und Variabilität des Tuberkelbakterium und atypische Mycobakterien. Budapest.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.  
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

[www.dgfm-ev.de](http://www.dgfm-ev.de)

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**  
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**  
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**  
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**  
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigibiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1990

Band/Volume: [56\\_1990](#)

Autor(en)/Author(s): Müller-Stoll Wolfgang Richard

Artikel/Article: [Die antibiotische Aktivität von Clitocybin und Nebularin aus \*Leucopaxillus giganteus\* und \*Clitocybe nebularis\* 167-186](#)