

Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse
Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft
Band: 73 (1963)

Artikel: Versuche über die Wachstumsförderung von Cladophora- und Rhizoclonium- Kulturen durch Bakterienstoffe
Autor: Thomas, E.A.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-51568>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 23.02.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Versuche über die Wachstumsförderung von *Cladophora*- und *Rhizoclonium*-Kulturen durch Bakterienstoffe

Von *E. A. Thomas*

Meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. Ernst Gäumann,
mit Verehrung und Dankbarkeit zum 70. Geburtstag gewidmet

Eingegangen am 1. Oktober 1963

Einleitung

Verschiedentlich haben wir erwähnt, dass *Cladophora glomerata* und teilweise auch *Rhizoclonium hieroglyphicum* sich in den Monaten Mai bis Juli an den Ufern einiger Schweizer Seen plötzlich in riesigen Massen entfalten (Thomas, 1956/57, 1960a und b), wobei die genannten Algen in der jahreszeitlich ablaufenden Stufenfolge der Uferalgenesellschaften eine besonders auffällige Erscheinung darstellen (1961a, c und d, 1962b). Ähnliche Wucherungen dieser grünen Fadenalgen beobachtete ich in österreichischen Seen und vielen anderen europäischen Seen und Flüssen sowie im Lake Mendota (Wisconsin) und anderen amerikanischen Gewässern. Offensichtlich gehören die Cladophoraceen zu jenen Uferalgen, die im Süßwasser quantitativ am meisten in Erscheinung treten. Dies ist mit ein Grund, warum ich mich seit einigen Jahren mit der Kultivierung solcher Algen befasse.

Obschon in der Natur üppig wachsend, stellen *Cladophora* und *Rhizoclonium* der Kultivierung erhebliche Schwierigkeiten in den Weg, worauf schon W. Heering (Pascher, 1921, Heft 7, S. 14) hinwies, gestützt auf Untersuchungen von Brand (1898, 1899, 1901, 1908/09). So traten in unseren bakterienfreien Reinkulturen Ermüdungserscheinungen auf; speziell in den Wintermonaten erfolgte bei üblicherweise günstigen Nährböden oder Nährlösungen trotz künstlicher Beleuchtung kein oder fast kein Wachstum. Deshalb liess ich einerseits einen Doktoranden, Herrn J. Schürmann, im Rahmen seiner Dissertationsarbeit auf chemischem Wege prüfen, ob im Wasser des Zürichsees gelöste organische Stoffe nachweisbar seien, die das Wachstum von Cladophoraceen beeinflussen; diese Arbeit steht jetzt vor dem Abschluss. Andererseits versuchte unser Mitarbeiter Herr R. Cramer, an unseren Reinkulturen von *Cladophora glomerata* und *Rhizoclonium hieroglyphicum* das Wachstum auf Agar durch die Zugabe von Bakterien zu stimulieren, was erfreulicherweise gelang; ihm verdanke ich auch die Durchführung der meisten dieser Arbeit zugrunde liegenden Laboratoriumsarbeiten.

Eine von uns aus dem Pfäffikersee isolierte absolute Reinkultur von *Chlamydomonas* hat ebenfalls die Eigenschaft, das Wachstum der genannten Algen zu fördern. Die Cladophoraceen scheinen somit ähnlichen Gesetzmässigkeiten zu folgen wie andere Algengruppen (cf. Lefèvre, 1952, 1958; Ruschmann, 1956; Saunders, 1957). Im Anschluss an Keimzahlbestimmungen im Zürichseewasser und im Abwasser der Kläranlage von Uster isolierten wir deshalb vorläufig weitere 37 Bakterienstämme, um auf etwas breiterer Basis die Wirksamkeit von Bakterientätigkeit auf das Wachstum von Cladophoraceen beurteilen zu können. Wir beabsichtigen, die limnologische Bedeutung dieser Erscheinungen in einem weiteren Rahmen zu studieren. Die folgenden Ausführungen berichten über unsere ersten systematischen Versuche nach vorangehenden Vorversuchen.

Herrn Prof. Dr. A. Grumbach, Institut für Medizinische Mikrobiologie an der Universität Zürich, danke ich herzlich für die Bestimmung eines das Wachstum von Cladophoraceen fördernden Bakteriums, ferner Herrn Prof. Dr. A. Hasler, Direktor des hydrobiologischen Laboratoriums der Universität Madison (Wisconsin), und seiner Assistentin, Miss Mary Flach, für die Zusendung von lebenden Cladophoraceen aus dem Lake Mendota.

Den Organen des Schweizerischen Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung sowie der Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich verdanke ich die Förderung dieser Arbeiten sehr.

1. Verwendete bakterienfreie Algenreinkulturen

In einer früheren Arbeit berichteten wir, auf welche Weise wir von *Cladophora* und *Rhizoclonium* Reinkulturen herstellten (Thomas, 1961b und 1962a). Wir verfügten für *Cladophora glomerata* aus dem Zürichsee über die Klone 1 bis 5 und für *Rhizoclonium* über die Klone 1 bis 4. Es gelang, alle diese Klone bakterienfrei zu kultivieren. In einer Periode des Zeit- und Personalmangels gingen indessen die Klone R_3 und R_4 ein, und die Klone Cl_1 , Cl_2 und Cl_3 erlitten sekundäre Infektionen, ebenso R_2 . Wir versuchen gegenwärtig, aus diesen Klonen Reinkulturen zurückzugewinnen.

Sodann gelang es, von Cladophoraceen aus dem Lake Mendota (Wisconsin USA) zwei bakterienfreie Klone zu isolieren sowie drei weitere, pilz- und algenfreie, aber noch nicht bakterienfreie Klone. Dank der Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. A. Hasler war es mir möglich, den Bewuchs der Ufersteine dieses Sees im September 1962 an Ort und Stelle zu besichtigen.

Für die nachstehenden Versuche verwendeten wir die beiden Klone *Cladophora* Cl₅ und *Rhizoclonium* R₁, die sich seit der Isolierung als bakterienfrei erwiesen hatten. Zwar vermutet C. van den Hoek in seiner tiefgreifenden Arbeit über die europäischen *Cladophora*-Arten (1963) auf Grund unserer Zeichnungen, es könnte sich beim Klon R₁ um eine *Cladophora*-Art handeln. Unsere *Rhizoclonium*-Klone stammen aber von Zürichseealgen, die äusserst selten verzweigt sind; falls die Gattung *Rhizoclonium* aufrechterhalten wird, teilen wir diesen Klon nach wie vor letzterer Gattung zu (cf. Tafeln 1–8). Wir hoffen, später mehr über die Unterschiede zwischen den beiden Gattungen aussagen zu können, und beabsichtigen, dabei vorzugehen im Sinne von Brand (1899, S. 220): «Ich sehe es daher als eine Hauptaufgabe der Neuzeit an, nicht nur neue Algenformen zu entdecken, sondern auch die Bedeutung der schon genannten genauer kennenzulernen.»

2. Herkunft und erste Charakterisierung der geprüften Bakterienstämme

Das erste für unsere Versuche mit *Cladophora* und *Rhizoclonium* isolierte Bakterium bezeichneten wir mit S₁. Es stammt aus dem Zürichsee und bildet auf Difco-Plate-Count-Agar rote, körnige, matte Kolonien. Herr Prof. Grumbach hatte die Freundlichkeit, die charakteristischen Eigenschaften dieser stäbchenförmigen Keime zu ermitteln:

KCN	—	Adonit	—
OF-Nährboden Difco	blau	Salicin	—
Indol	—	Dulcit	—
Beweglichkeit	+	Inosit	—
Urea	+ (verzögert)	Saccharose	—
Mannit	—	Trehalose	—
Lactose	—	Maltose	—
KNO ₃	—	Rhamnose	—
Simmons-Citrat	—	Arabinose	—
Simmons-Glucose	—	Xylose	—
Glucose	—	Oxydase	+
Voges Proskauer	—	Gelatine	—
Methylrot	—	Katalase	+

Auf Grund dieser Eigenschaften handelt es sich nach Mitteilung von Herrn Prof. Grumbach um ein *Corynebacterium rubrum*; optimale Farbstoffbildung trat auf Kartoffeln auf.

Weitere 37 für Versuche mit *Cladophora* und *Rhizoclonium* isolierte Bakterienstämme bezeichneten wir mit S₂ bis S₃₈. Sie sind im folgenden in ihrem Wachstum auf Difco-Plate-Count-Agar kurz charakterisiert, wobei

auch ihre Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, mit «Gelatine positiv bzw. negativ» vermerkt ist. Ferner ist der Fundort angegeben.

Übersicht über die Stämme S_1 bis S_{38} :

1. Zürichsee, Oberfläche; rot, körnig, matt; Gelatine negativ.
2. Zürichsee, aus *Rhizoclonium*-Rohkultur, Dampfschiffsteg Thalwil; weiss, halbmatt; Gelatine negativ.
3. Zürichsee an *Cladophora*, Bootshaus Jachtklub; hellgelb bis zitronengelb, glänzend; Gelatine negativ.
4. Zürichsee an *Cladophora*, Bootshaus Jachtklub; braunorange, matt; Gelatine negativ.
5. Zürichsee, Oberfläche; gelb bis gelbbraun, lackartig glänzend; Gelatine negativ.
6. Zürichsee, Oberfläche; gelb bis orange, matt; Gelatine negativ.
7. Zürichsee, Oberfläche; weiss bis graugelblich, glänzend; Gelatine positiv.
8. Kläranlage Uster; orange, glänzend; Gelatine positiv.
9. Zürichsee, Oberfläche; zinnoberrot, matt, runzelig; Gelatine negativ.
10. Lake Mendota (Wisconsin), auf Cladophoraceen; hellbraun, matt, warzig, färbt Agarsubstrat gelbbraunlich; Gelatine negativ.
11. Kläranlage Uster; hellgelb bis hellorange, matt, runzelig; Gelatine positiv.
12. Kläranlage Uster; braunorange bis rostbraun, glänzend; Gelatine positiv.
13. Kläranlage Uster; weiss bis bräunlich, glänzend; Gelatine positiv.
14. Kläranlage Uster; orangerot, lackartig glänzend; Gelatine negativ.
15. Zürichsee, Ufer bei Eisbedeckung, Stäfa; blauviolett bis schwarz, runzelig, glänzend; Gelatine negativ.
16. Kläranlage Uster; zitronengelb, lackartig matt, durchsichtig; Gelatine positiv.
17. Zürichsee, 120 m Tiefe im freien Wasser; zartrosa, färbt Agar gelblich; Gelatine negativ.
18. Zürichsee, 120 m Tiefe; weissbräunlich, lackartig, glänzend; Gelatine negativ.
19. Zürichsee, 120 m Tiefe; weiss, halbmatt, färbt Agar schwach rötlich; Gelatine negativ.
20. Zürichsee, 120 m Tiefe; rötlich, bräunlich bis fast farblos werdend, matt, runzelig; Gelatine positiv.
21. Zürichsee, 120 m Tiefe; weiss, färbt Agar braun, glänzend; Gelatine negativ.

22. Zürichsee, Oberfläche; orange, glänzend; Gelatine negativ.
23. Zürichsee, 120 m Tiefe; orange bis orangebräunlich, lackartig; Gelatine negativ.
24. Kläranlage Uster; braun, färbt Agar schwarzbraun; Gelatine positiv.
25. Kläranlage Uster; weiss, rot werdend, färbt Agar dunkelviolett; Gelatine positiv.
26. Kläranlage Uster; weiss, runzelig, matt; Gelatine negativ.
27. Kläranlage Uster; weissgelblich, rot werdend, matt; Gelatine positiv.
28. Kläranlage Uster; hellrot, matt; Gelatine negativ.
29. Kläranlage Uster; weissgrau, leicht runzelig; Gelatine negativ.
30. Kläranlage Uster; weiss, glänzend; Gelatine negativ.
31. Kläranlage Uster; braunrot, lackartig glänzend, färbt Agar hellbraun; Gelatine positiv.
32. Kläranlage Uster; weiss, durchsichtig; Gelatine negativ.
33. Kläranlage Uster; gelb bis ockerfarbig, lackartig glänzend, durchsichtig; Gelatine positiv.
34. Kläranlage Uster; weiss, schwach rötlich, lackartig glänzend; Gelatine positiv.
35. Kläranlage Uster; gelblich, runzelig, halbmatt; Gelatine positiv.
36. Kläranlage Uster; gelborange, lackartig glänzend; Gelatine positiv.
37. Kläranlage Uster; gelb, rostfarbig werdend, glänzend; Gelatine positiv.
38. Kläranlage Uster; gelb-ocker, lackartig glänzend; Gelatine negativ.

3. Einfluss von Bakterium S_1 auf das Wachstum von *Cladophora* Cl_5 und *Rhizoclonium* R_1 auf Agarnährböden

Für die Herstellung des Nährbodens liessen wir 10 g Agar in kaltem Zürichsee-Oberflächenwasser quellen, wechselten das Wasser zweimal, gaben als Zusätze 200 mg KNO_3 , 50 mg $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, 20 mg Ferrosulfat, 100 mg $Na_2HPO_4 \cdot 2 H_2O$ und füllten mit Zürichseewasser auf einen Liter auf. Nach dem Sterilisieren gossen wir in 24 Petrischalen je 16 ml des flüssigen Agars und liessen die sterilen Platten vorerst vier Tage stehen; die Schichtdicke des Agars betrug etwa 2,6 mm.

Am 6. Mai 1963 verteilten wir auf sechs Platten je zwei Tropfen einer Aufschlämmung von Bakterium S_1 in steriler physiologischer Kochsalzlösung; die gleiche Menge gaben wir bei weiteren sechs Platten in der Weise zu, dass wir die Agarschicht mit sterilem Spaten zur Hälfte hoben, so dass sich die Bakterien nachher über die halbe Fläche verteilt zwischen

Glas und Agar befanden, während hier die Agaroberfläche bakterienfrei blieb.

Am 8. Mai beimpften wir nun mit dem Algenstamm Cl_5 bzw. dem Stamm R_1 je sechs bakterienfreie Platten mit je zwei etwa 5 mm langen Impfstücken. Ebenso legten wir auf je sechs mit Bakterium S_1 unterschichteten sowie auf je sechs mit Bakterienflecken versehenen Agaroberflächen je zwei etwa 5 mm lange Impfstücke. Bei allen Impfalgen handelt es sich um in Zürichseewasser gezogene Reinkulturen. Die beimpften Platten lagen während der Versuchsdauer bei Zimmertemperatur am Tageslicht eines Nordfensters, Agarschicht gegen oben.

Bei den in Berührung mit Bakterium S_1 auf der Agaroberfläche liegenden Impfstücken von R_1 beobachteten wir bei Lupenvergrößerung nach drei Tagen die ersten winzigen Auswüchse, nach fünf Tagen bei allen zwölf dieser Impfstücke. Auch bei einigen Impfstücken von Cl_5 , die mit Bakterien in Berührung waren, entstanden nach drei Tagen die ersten Auswüchse, während die letzten dieser zwölf Impfstücke erst nach sechs Tagen auswuchsen.

Auf jenen Platten, bei denen sich Bakterium S_1 lediglich unter dem Agar (also zwischen Agarschicht und Glas) befand, begann das Auswachsen der Impfstücke mit einiger Verzögerung; sowohl bei R_1 als auch bei Cl_5 traten die ersten Auswüchse nach vier Tagen auf, während die letzten Impfstücke dieser beiden Zwölferserien erst nach acht Tagen mit dem Wachstum begannen.

Die aus dem flüssigen Medium auf ganz bakterienfreie Platten übertragenen Impfstücke von R_1 und Cl_5 zeigten während des ganzen Versuches nicht das geringste Wachstum, sondern starben gegen das Versuchsende ab. *Cladophora* (Tafeln 1 und 2) verhielt sich in dieser Beziehung gleich wie *Rhizoclonium* (Tafeln 3 und 4).

In Abbildung 1 ist der Zuwachs der mittleren Gesamtfadenlänge je eines Thallus von Cl_5 und R_1 im Verlaufe der ersten 14 Tage nach der Beimpfung aufgezeichnet. Während die aus Lösung auf Agar übertragenen Impfstücke ohne Bakterien nicht das geringste Wachstum zeigten, wuchsen jene Impfstücke am besten aus, die direkt mit dem Bakterium S_1 in Berührung standen. War das Algenimpfstück durch eine Agarschicht vom Bakterium S_1 getrennt, so vermochte es dennoch auszuwachsen, wenn auch mit etwas gedämpfter Geschwindigkeit. Der vom Bakterium S_1 ausgeschiedene wachstumsfördernde Stoff vermag somit durch den Agar hindurchzudiffundieren und auch dann seine Wirksamkeit zu entfalten. Dieses Erkenntnis ist insofern von Bedeutung, als es jetzt bereits gelingt, die Wirksamkeit des Bakterienstoffes auszunützen, ohne auf bakterienfreie Algenreinkulturen zu verzichten.

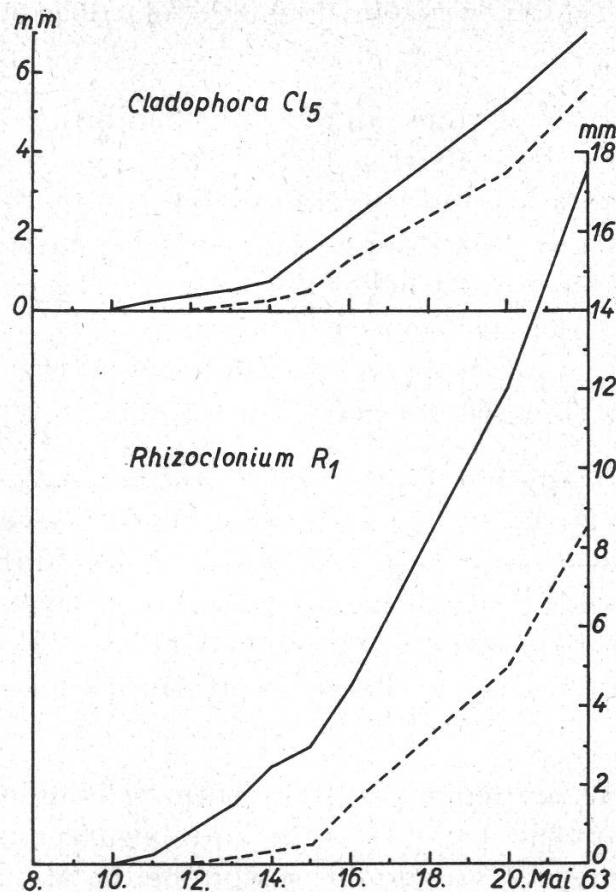


Abbildung 1

Mittlere Zunahme der Fadenlänge der Klone Cl_5 und R_1 auf Mineralsalzagar; ausgezogene Linie bei Berührung der Algen mit Bakterium S_1 , gestrichelte Linie in bakterienfreier Reinkultur, jedoch nur durch eine 2,6 mm dicke Agarschicht von Bakterium S_1 getrennt

In einem weiteren Versuch brachten wir in die Mitte einer Algenagarplatte eine Aufschlammung von Bakterienstamm S_1 und legten auf die Agaroberfläche in verschiedenen Abständen Impfstücke von *Cladophora* Cl_5 . Bei sechs parallel angelegten Platten bestimmten wir nach sechs Wochen den gesamten Zuwachs an Algenfäden in Millimetern, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht:

Abstand vom Bakterienfleck	mm	4	8	16	30
Mittlerer Zuwachs	mm	6,9	1,6	0,2	0

Die horizontale Ausbreitung des wachstumsfördernden Bakterienstoffes ist somit in ähnlicher Weise möglich wie die Ausbreitung von der Agarunterseite zur Agaroberseite.

4. Prüfung von 38 Stämmen von Wasserbakterien auf die Fähigkeit, das Wachstum von *Cladophora* und *Rhizoclonium* zu fördern

Die in diesem Versuch verwendeten Impfkulturen von *Cladophora* und *Rhizoclonium* sind in sterilem Zürichseewasser gewachsen; zum Zuschneiden gleich grosser Impfstücke brachten wir sie vorübergehend auf eine sterile Agarfläche.

Zur Verwendung gelangte im folgenden Versuch derselbe Algennährboden, wie unter Abschnitt 3 genannt. Auf dem in Petrischalen gegossenen Algenagar beimpften wir in der Mitte der Oberfläche knapp 4 cm² mit Platinöse mit je einem Stamm der Bakterien S₁ bis S₃₈. Drei Tage später beimpften wir je zwei Platten mit *Cladophora* Cl₅ und mit *Rhizoclonium* R₁ in der Weise, dass ein Impfstück in der Mitte auf dem Bakterienfleck lag, ein zweites Impfstück in 0,5 cm Entfernung und ein drittes in 2–3 cm Entfernung vom Bakterienfleck. Die Platten blieben an einem Nordfenster bei diffusem Licht und Zimmertemperatur; der Versuch dauerte vom 5. August bis 2. September 1963.

In Tabelle 1 ist das gesamte Wachstum der Impfstücke in Millimetern als Mittelwert von je zwei Proben angegeben. Die Bakterienstämme 2, 34, 10, 19, 20, 1 und 6 spornten in diesem Versuch sowohl *Cladophora* als auch *Rhizoclonium* deutlich zum Wachstum an. Die Bakterienstämme 16, 30, 12, 11, 13, 18 und 27 vermochten den *Cladophora*-Klon nur ganz schwach zum Wachstum anzuregen, während *Rhizoclonium* eine grössere Förderung erfuhr. Die Bakterienstämme 7, 23, 15, 31, 21 und 25 veranlassten die *Cladophora*-Impfstücke nicht zum Auswachsen, schienen aber doch deren Absterben zu verhindern; bei *Rhizoclonium* verursachten sie noch ein erkennbares Auswachsen.

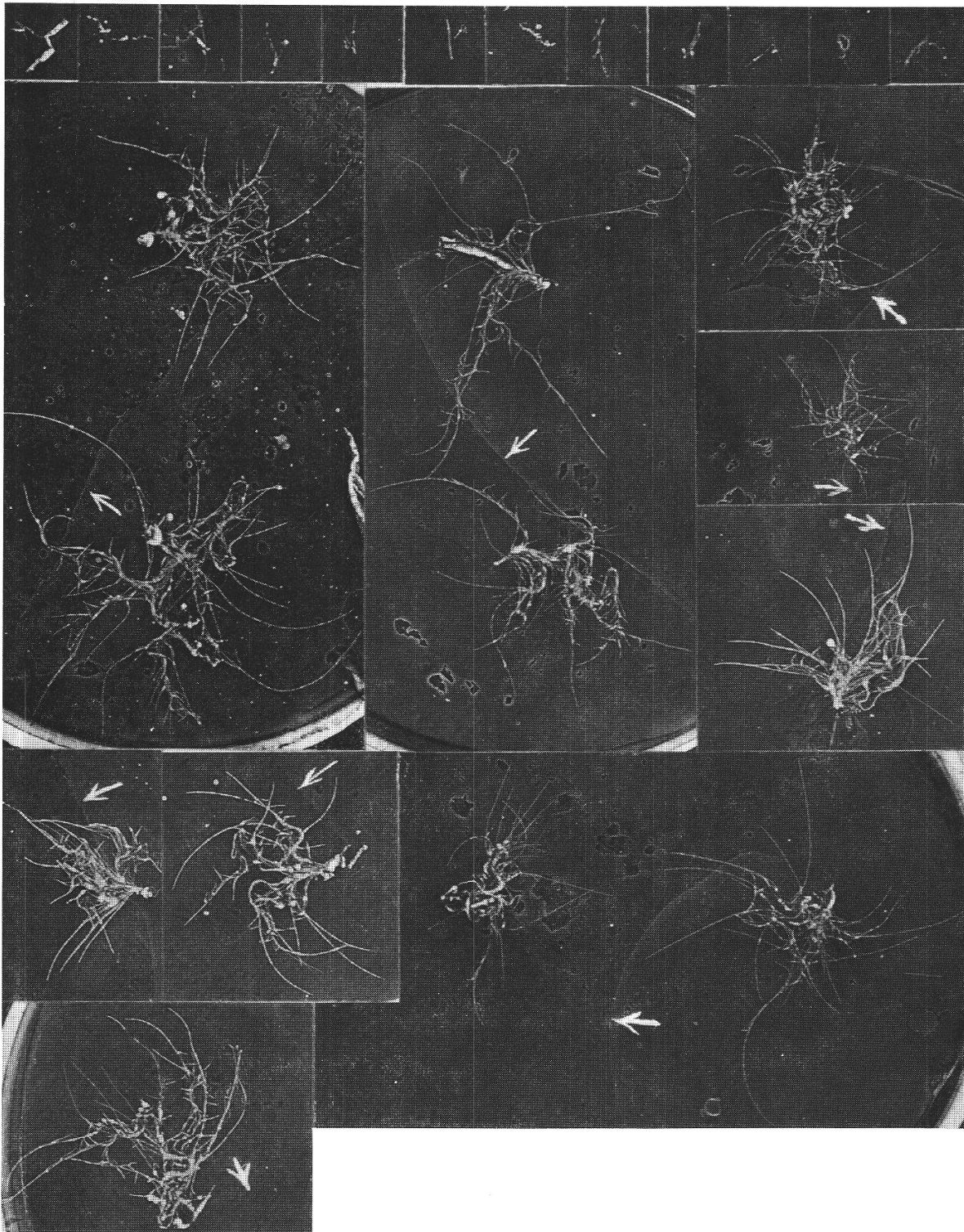
Einen eigenartigen Einfluss übten die Bakterienstämme 3, 4, 32 und 9 aus; wenn sich die Bakterienkolonie in 0,5 cm Entfernung vom *Cladophora*-Impfstück befand, erfolgte eine Förderung, während das Impfstück bei Berührung mit den Bakterien abstarb. Ähnlich verhielt sich *Rhizoclonium*, wobei allerdings bei Berührung der Bakterien teilweise noch Wachstum erfolgt. Bei keinem der übrigen Bakterienstämme beobachteten wir irgendeinen Einfluss auf *Cladophora*; diese aus sterilem Seewasser auf den Algenagar übertragenen Impfstücke starben ab. Auf das Wachstum des *Rhizoclonium*-Klons hatte eine grössere Zahl der Bakterienstämme einen gewissen Einfluss; nur die Bakterienstämme 5, 8, 14 und 17 liessen auch diese Impfstücke absterben.

Über den Einfluss der Bakterienstoffe der Stämme S₁, S₂, S₃, S₁₀, S₁₆, S₁₇, S₁₉, S₂₀, S₃₃ und S₃₄ geben die Tafeln 5 und 6 Auskunft, sowohl hinsichtlich der Beeinflussung von *Cladophora* als auch von *Rhizoclonium*.

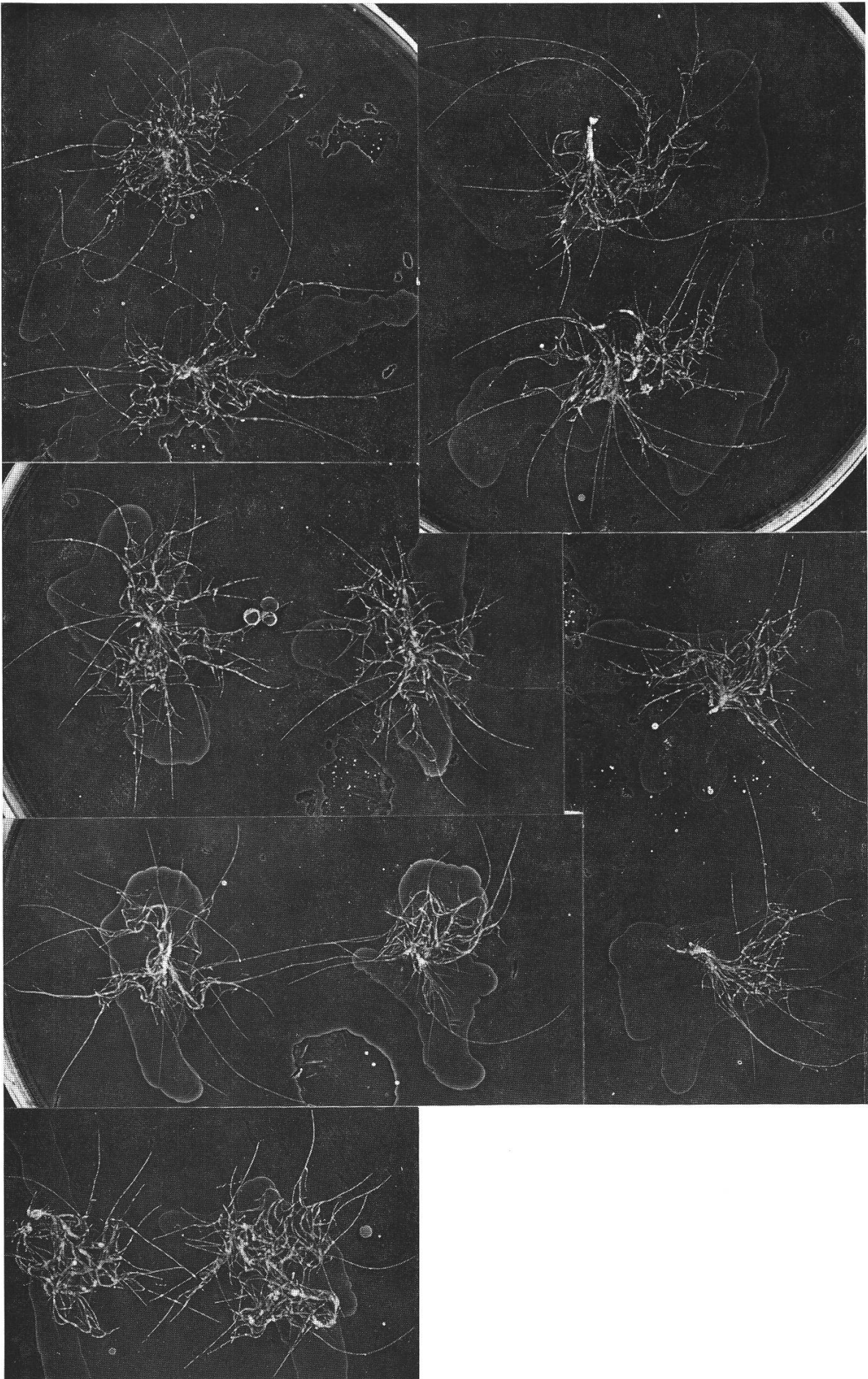
Tabelle 1
Wachstum auf Algenagar in Millimetern

Bakterienstamm S ₁ -S ₃₈	Abstand vom Bakterienfleck cm					
	<i>Cladophora</i> Cl ₅			<i>Rhizoclonium</i> R ₁		
	0	0,5	2-3	0	0,5	2-3
2	16	6,5	1	14	5	4
34	9,5	1,5	0	6,5	+	0
10	8,5	5	2	11	6	4
19	8,5	5,5	0	9,5	2,5	1,5
20	8,5	3	0	11,5	3	+
1	7,5	4	0	9,5	9	6
6	5	1	+	8	3	5
16	2	1	0	6,5	2	+
30	2	1	0	5,5	2	0
12	1	1,5	0	4,5	4	3,5
11	1	1,5	0	4,5	1,5	0
13	1	1	0	3,5	2	+
18	1	+	0	4	2	+
27	1	+	0	1,5	1	+
7	+	+	0	6	5,5	+
23	+	0	0	4,5	2,5	3
15	+	0	0	4	3,5	+
31	+	0	0	3	1,5	0
21	+	0	0	1,5	1	+
25	+	0	0	1,5	1	+
3	0	2,5	1,5	2,5	4,5	1
4	0	2	+	2	2,5	0
32	0	1	0	+	1,5	0
9	0	+	0	0	1,5	1,5
26	0	0	0	3	1,5	+
29	0	0	0	2,5	1	1
22	0	0	0	2	1,5	+
28	0	0	0	2	1,5	0
33	0	0	0	2	1	0
35	0	0	0	1,5	+	0
38	0	0	0	1,5	+	0
36	0	0	0	1	+	0
24	0	0	0	1	0	0
37	0	0	0	1	0	0
5	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0

Tafel 1

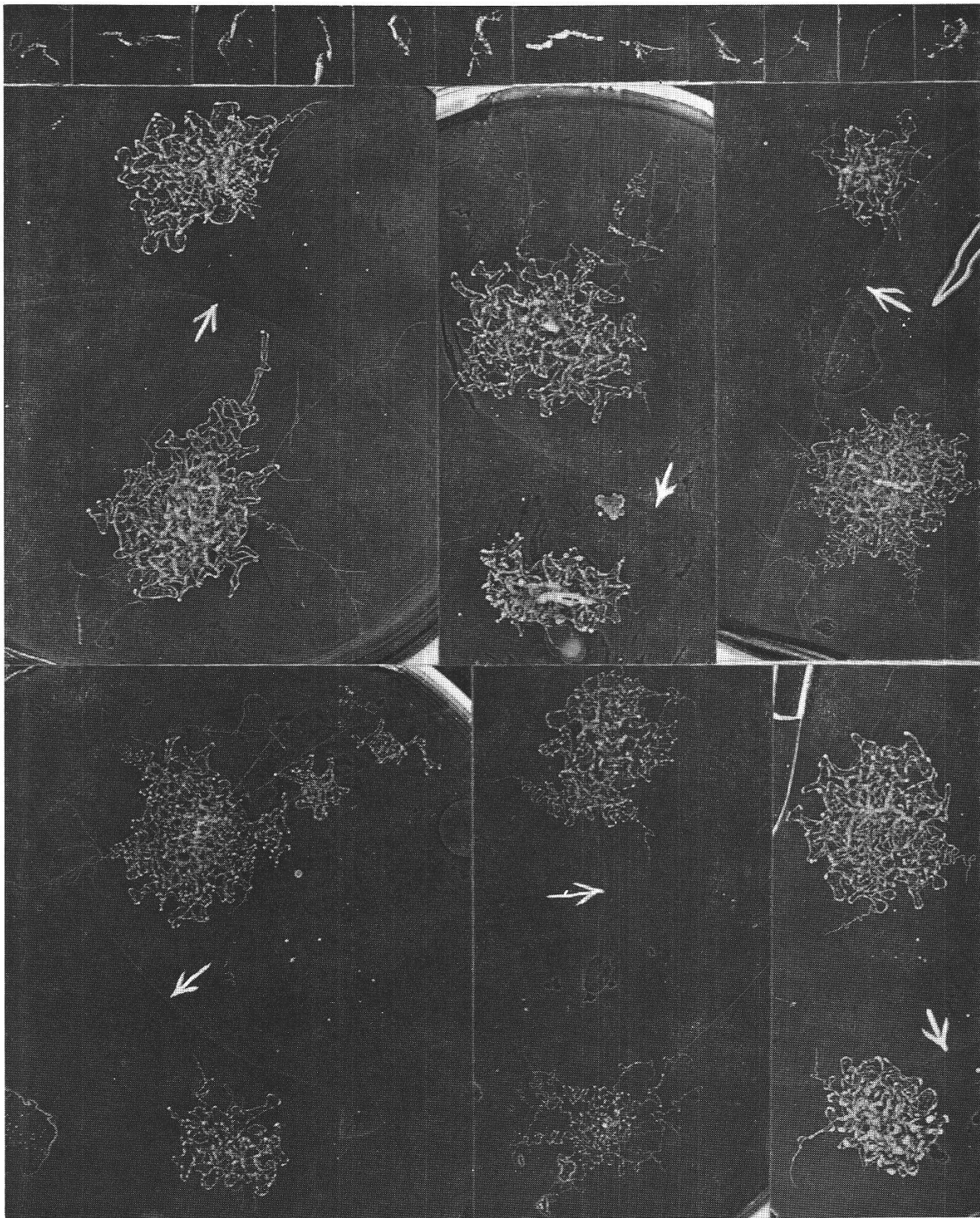


Cladophora-Klon Cl₅, Impfstücke aus Lösung auf Mineralsalzagar übertragen, nach fünfwöchiger Versuchsdauer. Oberste Reihe in absoluter Reinkultur; übrige Kolonien durch Agarschicht von Bakterium S₁ getrennt, das sich zwischen Agar und Glas ausbreitet; weisse Pfeile deuten auf äusseren Rand der Bakterienausbreitung. Natürliche Grösse



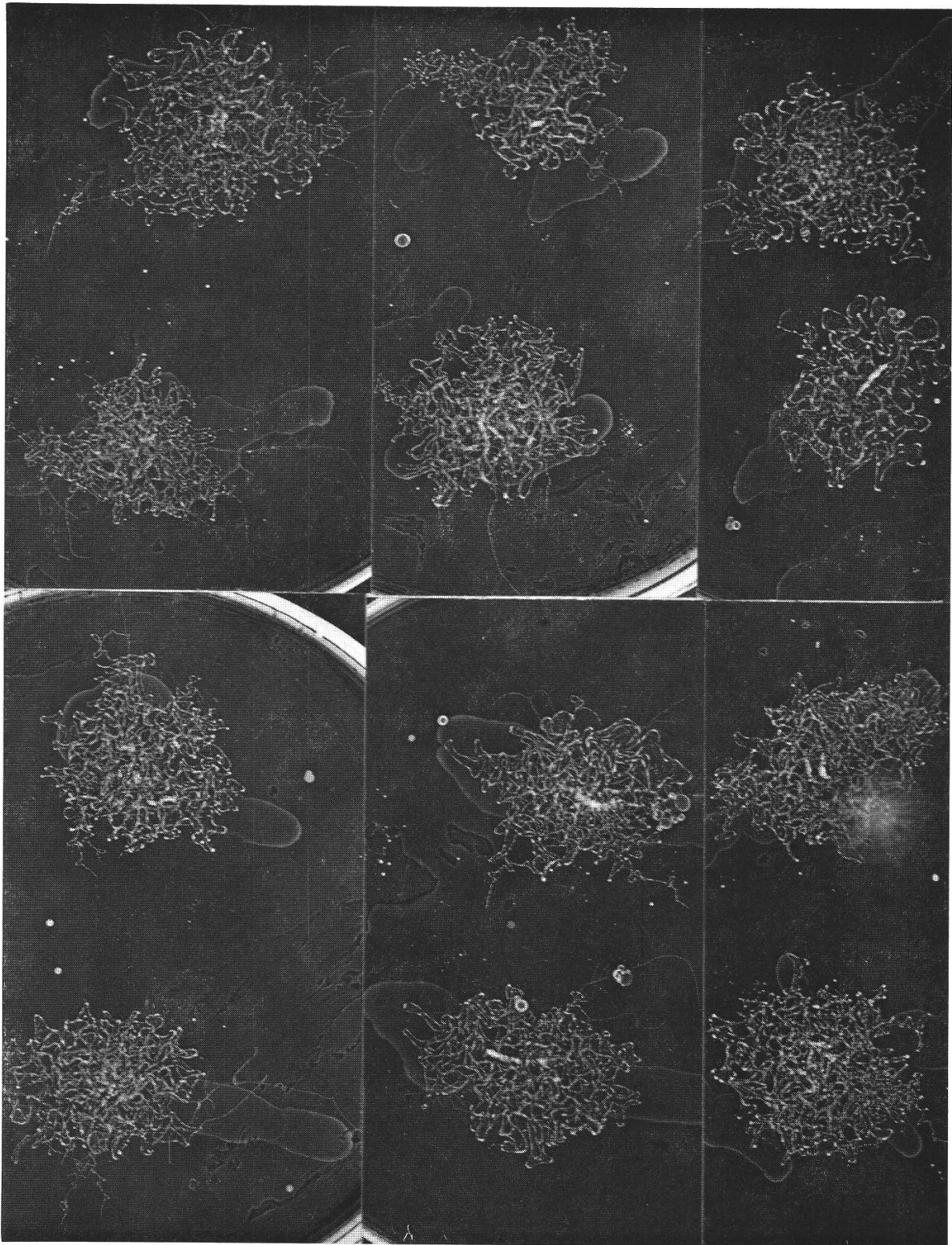
Wie Tafel 1, jedoch Bakterium S₁ mit *Cladophora*-Klon Cl₅ auf dem Agar. Natürliche Grösse

Tafel 3



Rhizoclonium-Klon R₁, Impfstücke aus Lösung auf Mineralsalzagar übertragen, nach fünf-
wöchiger Versuchsdauer. Oberste Reihe in absoluter Reinkultur; übrige Kolonien durch
Agarschicht von Bakterium S₁ getrennt, das sich zwischen Agar und Glas ausbreitet; weisse
Pfeile deuten auf äusseren Rand der Bakterienausbreitung. Natürliche Grösse

Tafel 4



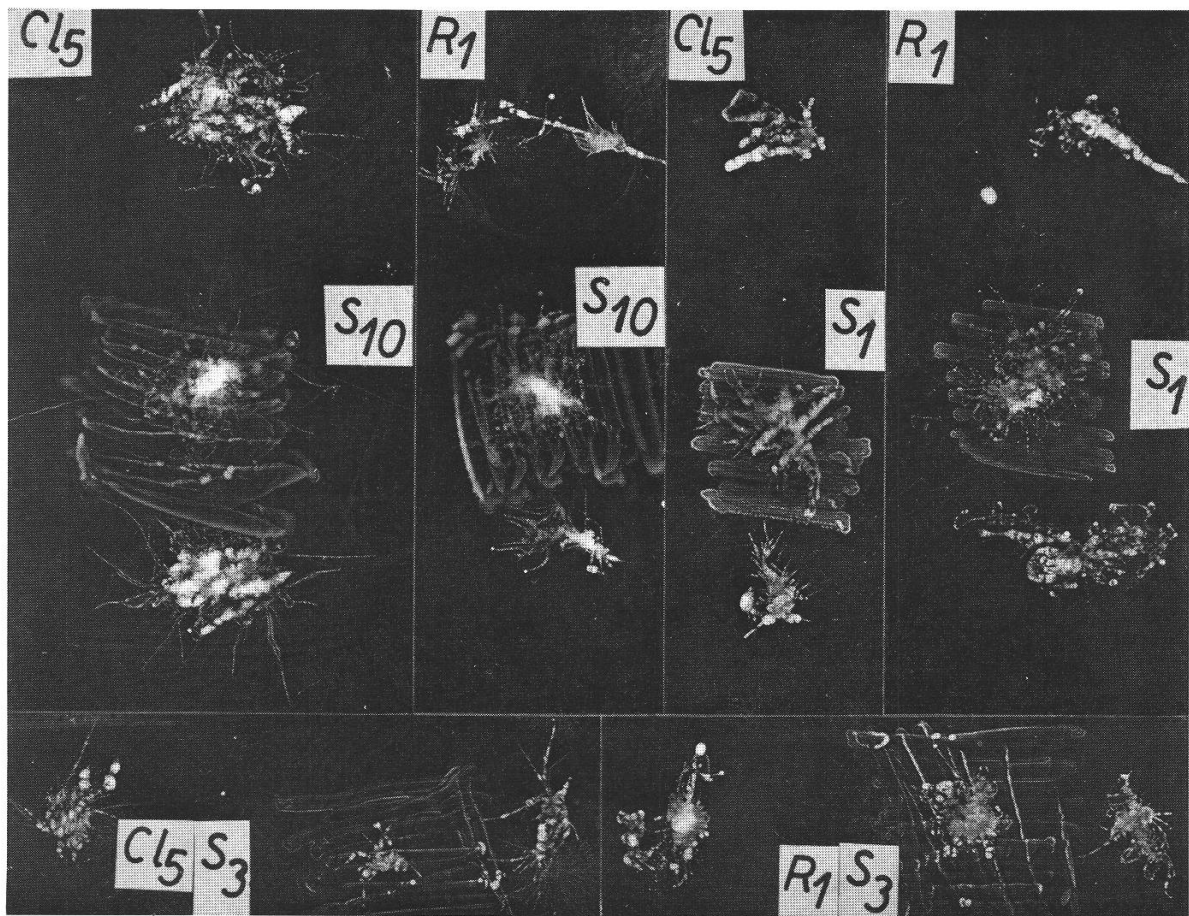
Wie Tafel 3, jedoch Bakterium S₁ mit *Rhizoclonium*-Klon R₁ auf dem Agar.
Natürliche Grösse



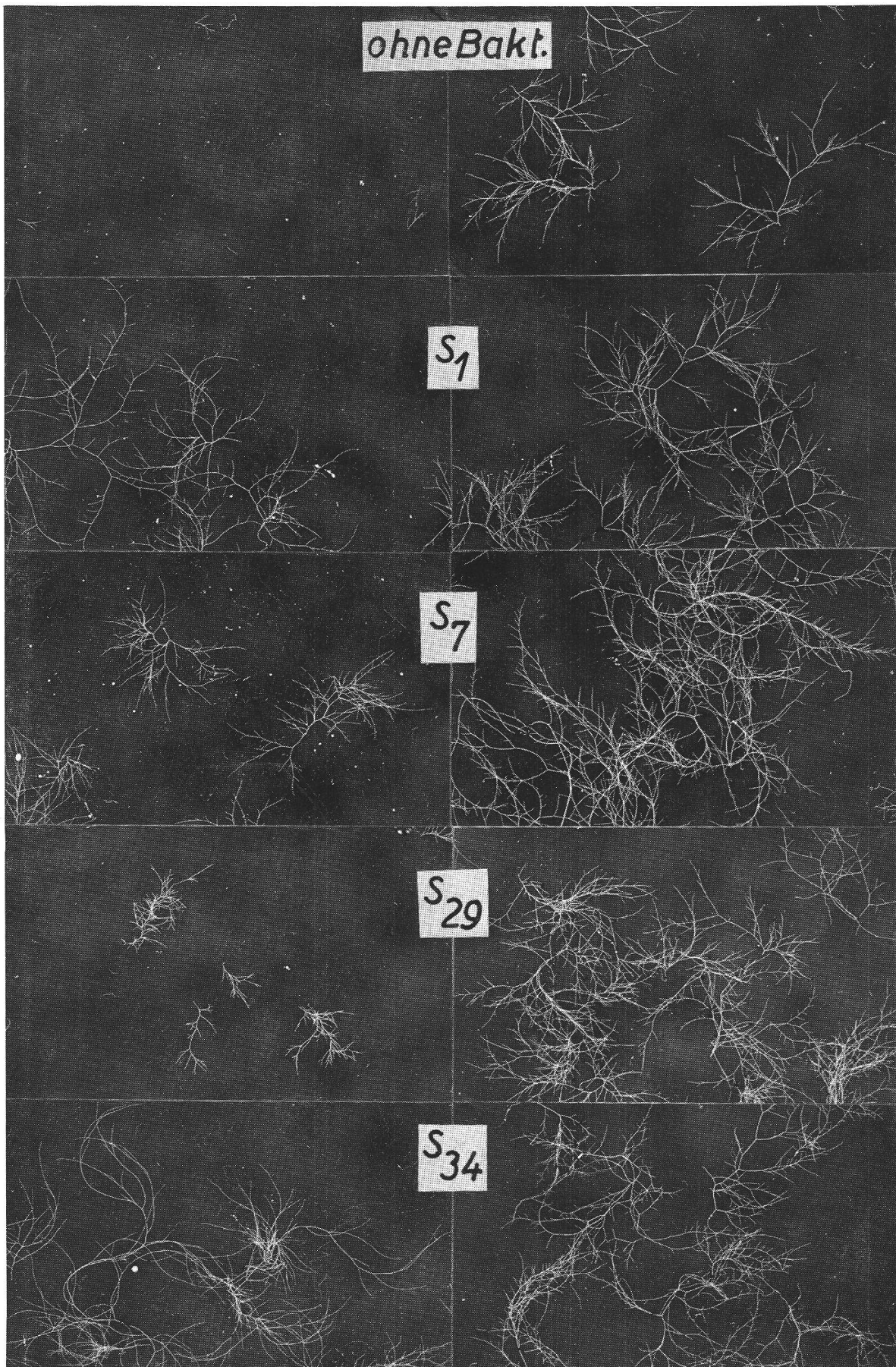
Cladophora (Cl₅) und *Rhizoclonium* (R₁) auf Algenagar; mittleres Impfstück in Berührung mit Bakterien (S₂, S₁₉, S₃₄, S₃₃, S₁₇, S₂₀, S₁₆). Unterstes Impfstück jedes Agarplattenausschnittes in der Regel mit geringerem Wachstum; geringstes Wachstum beim obersten Impfstück, das von den Bakterien am weitesten entfernt ist. Versuchsdauer vier Wochen.

Natürliche Grösse

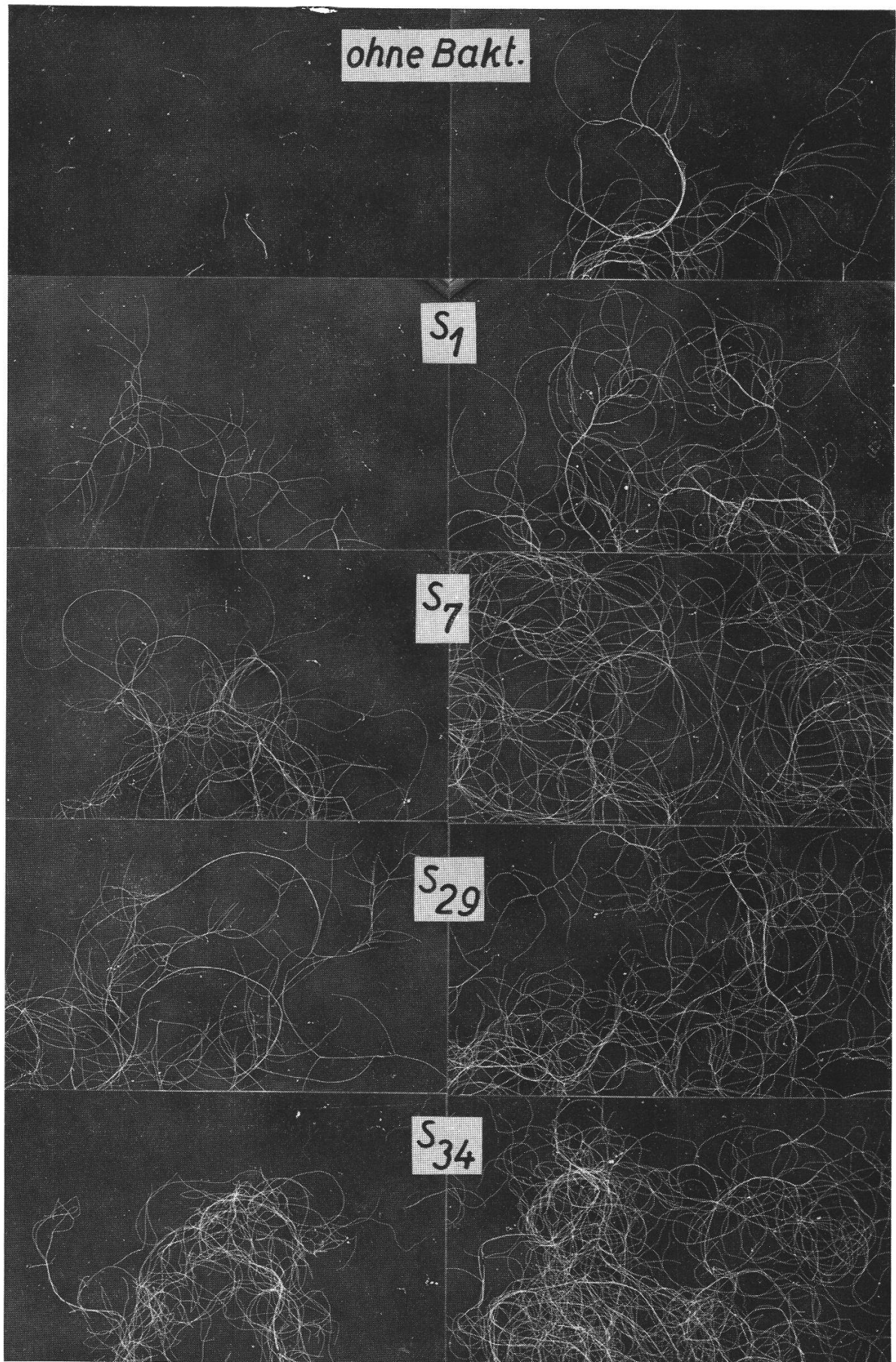
Tafel 6



Wie Tafel 5, aber mit den Bakterien S_{10} , S_1 , S_3 . Unteres (bzw. rechts liegendes) Impfstück jedes Agarplattenausschnittes mit geringerem Wachstum; geringstes Wachstum beim obersten (bzw. links liegenden) Impfstück, das von den Bakterien am weitesten entfernt ist.
Versuchsdauer vier Wochen. Natürliche Grösse



Cladophora Cl₅, 17. August bis 11. September 1963, links in synthetischem, rechts in natürlichem Zürichseewasser gewachsen; oberste zwei Ausschnitte aus bakterienfreier Reinkultur, darunter beimpft mit den Bakterienstämmen S₁, S₇, S₂₉ bzw. S₃₄; überall ein Drittel der pro Erlenmeyer-Kolben gewachsenen Gesamtmenge in natürlicher Grösse



Rhizoclonium R₁, im übrigen wie Tafel 7

Von den geprüften 38 verschiedenen Wasserbakterien stimulierte somit etwa ein Fünftel das Wachstum von *Cladophora* sehr auffällig, während etwa zwei Fünftel in dieser Hinsicht wirkungslos blieben. Das Wachstum von *Rhizoclonium* wird durch eine grössere Anzahl von Wasserbakterien beeinflusst als jenes von *Cladophora*. Diese Ergebnisse beziehen sich vorläufig nur auf das Wachstum auf Algenagar.

Die Herkunft der das Wachstum der Cladophoraceen am meisten fördernden Bakterienstämme ist verschiedenartig: Im Zürichsee leben solche Bakterien planktisch im Oberflächenwasser (S_1 und S_6), andere im Tiefenwasser (S_{19} und S_{20} in 120 m Tiefe), wieder andere an *Rhizoclonium* (S_2); wirksame Stämme kommen aber auch an *Cladophora* vor (S_{10} im Lake Mendota) oder im Abwasser einer Gemeinde (S_{34} in der Kläranlage von Uster).

5. Einfluss von vier Bakterienstämmen auf das Wachstum von *Cladophora Cl₅* und *Rhizoclonium R₁* in synthetischem und natürlichem Zürichseewasser

Da die beiden Cladophoraceen sowohl in der Natur als auch unter den Bedingungen der Reinkulturen in Zürichseewasser verhältnismässig gut wachsen, versuchten wir, ein synthetisches Zürichseewasser herzustellen, um die Lebensansprüche der beiden Cladophoraceen weiter aufzudecken. Als Grundlösung stellten wir in folgender Weise ein hartes Wasser her: Zu 22 Liter entiontem Leitungswasser gaben wir 20 g CaCO_3 , reinst (purissimum, gefällt, getrocknet) und 4 g $\text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot \text{MgCO}_3 + 4 \text{H}_2\text{O}$, purissimum; durch Einleiten von Kohlendioxyd sättigten wir diese Aufschlammung mit CO_2 , schüttelten in den nächsten Tagen den Bodensatz hie und da auf und liessen dann in geschlossener Flasche im Dunkel stehen. Nach dem Dekantieren hatte das Wasser eine Karbonathärte von 44° franz. H.

Erst unmittelbar vor dem Sterilisieren mischten wir 250 ml von diesem kalkreichen Wasser mit 750 ml entiontem Leitungswasser und gaben folgende Stoffmengen zu:

1 mg KCl = 0,525 mg/l K^+ und 0,475 mg/l Cl^-

100 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ = 10,1 mg/l Mg^{++} und 40 mg/l SO_4^{--}

0,2 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ = 0,02 mg/l Fe^{++}

1,45 mg $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ = 0,9 mg/l PO_4^{---}

28,5 mg NaNO_3 = 20,8 mg/l NO_3^-

Auf diese Weise entstand ein Wasser mit einer Karbonathärte von 11° franz. H oder nach dem Sterilisieren von $10,75^\circ$ franz. H, einer Gesamt-

härte von 12,5 bis 13° franz. H und einem pH-Wert von 8,4; es entsprach also in dieser Hinsicht dem Zürichseewasser im Sommer. Da aber das Zürichseewasser im Sommer an der Oberfläche fast keine Phosphate und Nitrate enthält, fügten wir auch zum natürlichen Zürichseewasser die angegebenen Phosphat- und Nitratmengen. Nach dem Sterilisieren enthielten die beiden Wässer folgende Phosphat- und Nitratmengen:

	mg/l PO_4^{--}	mg/l NO_3^-
natürliches Zürichseewasser		
mit PO_4^{--} - und NO_3^- -Zusatz	0,9	20,5
synthetisches Zürichseewasser		
mit PO_4^{--} - und NO_3^- -Zusatz	0,85	21,0

Tabelle 2

Wachstum von *Cladophora* Cl₅ und *Rhizoclonium* R₁ in synthetischem und natürlichem Zürichseewasser mit Phosphat- und Nitratzusatz; Mittel aus drei Parallelversuchen

0 = kein Wachstum, 5 = maximales Wachstum, gemäss Tafeln 7 und 8

Bakterienzusatz (Stamm)	<i>Cladophora</i> Cl ₅		<i>Rhizoclonium</i> R ₁	
	synthetisch	natürlich	synthetisch	natürlich
kein Zusatz	0	1 ½	0	2 ¼
S ₁	1 ¼	2 ½	1 ¼	2 ½
S ₇	1 ¼	5	1 ½	5
S ₂₉	¾	3 ¾	1 ¼	4 ½
S ₃₄	1 ¾	4	2 ¾	4 ¾

Die Ergebnisse dieser Versuche sind aus Tafeln 7 und 8 sowie aus Tabelle 2 ersichtlich. Weder *Cladophora* noch *Rhizoclonium* zeigten im sterilen synthetischen Zürichseewasser das geringste Wachstum; die Impfstücke waren noch erkennbar, ohne ausgewachsen zu sein, während im sterilen Seewasser ein Wachstum erfolgte. Bei Zugabe von Bakterium S₁ oder S₇ oder S₂₉ oder S₃₄ war im synthetischen Wasser stets ein deutliches Auswachsen erkennbar, wobei *Rhizoclonium* inbezug auf die Art der Bakterien weniger wählerisch war als *Cladophora*. Die Stämme S₁ und S₃₄ erwiesen sich in der Wachstumsförderung beider Algen wie auf Agar als zuverlässig. Stamm S₇ förderte das Wachstum von *Cladophora* in Lösung deutlicher als auf Agar, und Stamm S₂₉, auf Agar gegenüber *Cladophora* inaktiv, übte doch in Lösung eine gewisse Wirkung aus.

Beide Cladophoraceen gediehen in der synthetischen Lösung ausnahmslos schlechter als im Seewasser, was vorauszusehen war, weil wir der syn-

thetischen Lösung keine Spurenelemente zugegeben hatten. Immerhin entfalteten sich alle Thalli gesund grün, ohne Blasenbildungen (Thomas, 1961 b), ohne Zellverdickungen oder -verkrüppelungen, ohne Zoosporenbildungen oder tote Zellen.

Ferner zeigt der Versuch, dass das Zürichseewasser wachstumfördernde Substanzen enthält, die beim Sterilisieren nicht restlos zugrunde gehen. Andererseits belohnen die beiden Cladophoraceen eine zusätzliche Gabe von Bakterienstoffen auch im sterilisierten Zürichseewasser mit besserem Wachstum. Ohne näher auf die morphologischen Verhältnisse eintreten zu wollen, möchten wir hier lediglich auf das teilweise veränderte Wachstum in synthetischem Wasser hinweisen für *Cladophora* zusammen mit S₃₄ (Tafel 7) und für *Rhizoclonium* zusammen mit S₁ (Tafel 8).

6. Zur Isolierung des Cladophoraceen fördernden Bakterienstoffes

Da *Cladophora* und *Rhizoclonium* einer Überführung in Reinkultur immerhin erhebliche Schwierigkeiten entgegenstellen, legten wir Wert auf die Befreiung des wachstumfördernden Stoffes von lebenden Bakterien. Erste Versuche zeigten, dass die Bakterienstämme S₂ und S₁₀ auf Plate-Count-Agar bis zu einer Temperatur von 50 °C am Leben blieben. Ein zweieinhalbstündiger Aufenthalt bei 60° genügte indessen, um diese Stämme auf dem genannten Nährboden zum Absterben zu bringen.

Gleichzeitig prüfte ich, ob der wachstumfördernde Stoff eine höhere Temperatur ertrage als die ihn produzierenden Bakterien. Zu diesem Zweck gaben wir drei Tropfen einer Aufschlämmung von S₂ bzw. S₁₀ in sterile Petrischalen und mischten flüssigen Algenagar (45 °C) dazu. Nach einer Woche hatten sich kleine Bakterienkolonien gebildet, worauf je vier Platten zu Temperaturen von 20°, 37°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100°, 120° gelangten. Nach vierstündiger Exposition bei den verschiedenen Temperaturen beimpften wir die Platten durch Auflegen von je zwei 1 cm langen Büscheln von *Cladophora* Cl₅ aus Flüssigkeitsreinkultur und legten sie an ein Nordfenster. Bakterienfreie Kontrollplatten blieben bei Zimmertemperatur mit ebenfalls je zwei Impfstücken. Über die Ergebnisse des Versuches orientiert Tabelle 3.

Schon nach wenigen Tagen waren bei den verschieden behandelten Platten Unterschiede erkennbar, die nach zehn Tagen deutlich hervortraten. Reichlich gewachsen waren die Impfstücke auf den vorher bei nur 50 °C oder niedrigeren Temperaturen exponierten Platten, wo die zugesetzten Bakterien noch lebten, aber auch bei 60 und 70 °C, wo die zugesetzten Bakterien wie bei den höheren Temperaturen tot waren. Hingegen scheint

Tabelle 3

Wachstum von *Cladophora* auf vorher mit Bakterienkolonien durchsetzten Agarplatten, nach vierstündiger Exposition der Platten bei der genannten Temperatur, 14 Tage nach Beimpfen mit Cl₅

Wachstum: + = vorhanden; ++ = gut; 0 = abgestorben

Temperatur °C	Bakterienstamm S ₂	<i>Cladophora</i> Cl ₅	Bakterienstamm S ₁₀	<i>Cladophora</i> Cl ₅
20	+	++	+	++
37	+	++	+	++
50	+	++	+	++
60	0	++	0	++
70	0	++	0	++
80	0	+	0	+
90	0	0	0	0
100	0	0	0	0
120	0	0	0	0

bei 80° eine beginnende Zerstörung des wachstumsfördernden Stoffes stattzufinden, bei 90 und mehr °C sogar eine vollständige.

Die Tatsache, dass in einem Temperaturbereich von 60–80 °C zwar die Wuchsstoff liefernden Bakterien absterben, der Wuchsstoff sich aber noch nicht zersetzt, wird in unseren weiteren Versuchen erlauben, mit absoluten Reinkulturen Experimente durchzuführen, bei denen die *Cladophora*-ceen nicht unter Wuchsstoffmangel leiden. Auch für die Ermittlung der Art des wirksamen Stoffes ist dieses Charakteristikum ein erster Anhaltspunkt. Auf Grund seiner Fähigkeit, durch den Agar zu diffundieren, ist der Wuchsstoff als wasserlöslich zu bezeichnen.

Die Stoffe Vitamin B₁₂, Thioharnstoff, 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4 D), 3'Indolessigsäure (IAA), die Droop (1959) teilweise mit Erfolg verwendete, erwiesen sich in unseren Versuchen als unwirksam. Dass die Wuchsstoffverhältnisse unter Umständen recht kompliziert liegen können, legten Provasoli und Pintner (1960) dar. Weitere Untersuchungen über die Wachstumsbedingungen von *Cladophoraceen* sind im Gange.

Zusammenfassung

Hält man *Cladophora* und *Rhizoclonium* in Nährlösungen in absoluter Reinkultur und bringt sie auf einen Algenagar mit lediglich Mineralsalzzusätzen, so gehen sie zugrunde; bei Zugabe eines in seiner Beschaffenheit noch nicht bekannten Bakterienstoffes hingegen zeigen sie auf dem gleichen Agarnährboden gutes Wachstum. Dieser Stoff zersetzt sich bei einer Temperatur von mehr als 80 °C; er diffundiert durch Agar, ist also wasserlöslich. Ein das Wachstum von Cladophoraceen begünstigender Stoff aus dem Zürichseewasser erträgt mindestens teilweise 120 °C. Gibt man zu so sterilisiertem Wasser den genannten Bakterienstoff, so erfolgt besseres Wachstum. In einer aus entiontem Wasser aufgebauten mineralischen Nährlösung erfolgt kein Cladophoraceenwachstum; gibt man aber vom Bakterienstoff zu, so wachsen diese Algen verhältnismässig gut.

Zitierte Literatur

- Brand F. 1898. Kulturversuche mit zwei *Rhizoclonium*-Arten. Bot. Zbl. 74, 193–202 und 226–236.
- 1899. *Cladophora*-Studien. Bot. Zbl. 79, 145–152, 177–186, 209–221, 287–311.
- 1901. Über einige Verhältnisse des Baues und Wachstums von *Cladophora*. Beih. Bot. Zbl. 10, 481–521.
- 1908/09. Zur Morphologie und Biologie des Grenzgebietes zwischen den Algengattungen *Rhizoclonium* und *Cladophora*. Hedwigia 48, H. 1/2, 45–73.
- Droop M. R. 1959. Water soluble factors in the nutrition of *Oxyrrhis marina*. J. mar. biol. Ass. U.K. 38, 605–620.
- Heering W. 1921. Chlorophyceae IV, Siphonocladiales, Siphonales, in Pascher A. Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Jena, Gust. Fischer, 103 S.
- Lefèvre M., Jakob H., Nisbet M. 1952. Auto- et hétéroantagonisme chez les algues d'eau douce, in vitro et dans les collections d'eau naturelles. Ann. Stat. Cent. d'hydrobiologie appl. 4, 5–198.
- Lefèvre M. 1958. De l'influence des matières organiques sur la nature et l'abondance du plancton. Ann. Stat. Cent. d'hydrobiologie appl. 7, 253–267.
- Provasoli L., Pintner I. J. 1960. Artificial media for freshwater algae: problems and suggestions. The ecology of algae, 84–96 (Pymatuning symposia in ecology, special publication No. 2), ed. by C. A. Tryon Jr. and R. T. Hartman, University of Pittsburgh Press.
- Ruschmann G. 1956. Beiträge zur Mikrobiologie der *Chlorella*: *Chlorella*-Rein- und -Rohkulturen; Mikroskopische Untersuchungen der Mikroflora; Kulturelle Untersuchungen der Mikroflora. Biol. Zbl. 75, 129–149, 476–499, 576–596.
- Saunders G. W. 1957. Interrelations of dissolved organic matter and phytoplankton. The Botanical Review 23/6, 389–409.

- Thomas E. A. 1953. Zur Bekämpfung der See-Eutrophierung: Empirische und experimentelle Untersuchungen zur Kenntnis der Minimumstoffe in 46 Seen der Schweiz und angrenzender Gebiete. Monatsbull. Schweiz. Ver. Gas- und Wasserfachm. 25–32 und 71–79.
- 1956/57. Der Zürichsee, sein Wasser und sein Boden. Jahrbuch vom Zürichsee 173–208, Stäfa, Th. Gut AG.
 - 1960a. Sauerstoffminima und Stoffkreisläufe im ufernahen Oberflächenwasser des Zürichsees (*Cladophora*- und *Phragmites*-Gürtel). Monatsbull. Schweiz. Ver. Gas- u. Wasserfachm. 140–147.
 - 1960b. Rotalgenrasen und Blaualgentepiche im Zürichsee. Vjschr. Natf. Ges. Zch. 105, 297–305.
 - 1961a. Die Verschmutzung des Zürichsees und die Strömungs- und Durchflussverhältnisse bei Rapperswil. Monatsbull. Schweiz. Gas- u. Wasserfachm. 53–60, 76–83.
 - 1961b. Über eine blasenbildende Krankheit von kultivierten grünen Fadenalgen (*Cladophora* und *Rhizoclonium*). Vjschr. Natf. Ges. Zch. 106, 277–288.
 - 1961c. Wucherungen von Cyanophyceen an den Ufern des Zürichsees und deren Ursachen. Schw. Z. f. Hydrol. 23, 225–235.
 - 1961d. *Hydrodictyon reticulatum* und seine Beziehung zur Saprobität im Zürichsee und in der Glatt. Vjschr. Natf. Ges. Zch. 106, 450–456.
 - 1962a. Zink im Trinkwasser als Algengift (*Cladophora*, *Rhizoclonium*). Arch. f. Mikrobiologie 42, 246–253.
 - 1962b. Thermisch bedingte Horizontalzirkulationen, Wasserchemismus und Algenwucherungen an Zürichseeufern. Hydrobiologia 20, 40–58.
- Van den Hoek C. 1963. Revision of the european species of *Cladophora*. Diss. Leiden, E. J. Brill.