

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Nematologie und Wirbeltierkunde, Münster

Bestimmung der Varianzquellen bei Probenahme und Laboruntersuchung auf wandernde Wurzelnematoden

Assessing the sources of variance in sampling and extraction of migratory root nematodes from soil

Von U. Dorka und J. Müller

Zusammenfassung

Zur Bestimmung der Populationsdichten wandernder Wurzelnematoden wurden auf einer Fläche von 0,25 ha 30 Bodeneinstiche entnommen und zu einer Sammelprobe vereinigt. Diese Probenahme wurde zwanzigmal wiederholt, jede der Sammelproben wurde gemischt und anschließend in 24 Teilproben à 100 g Boden aufgeteilt. Der Besitz der insgesamt 480 Teilproben mit den drei Gattungen *Merlinius*, *Amplimerlinius* und *Pratylenchus* wurde mittels Zentrifugation in Magnesiumsulfatlösung bestimmt. Durch Zusammenstellen unterschiedlicher Probengrößen und Verrechnen der zugehörigen Variationskoeffizienten mittels Regressionsanalyse wurden die Fehlergrößen ermittelt, die auf die Probenahme im Feld und auf die Entnahme von Teilproben aus einer Sammelprobe entfallen. Bei einem durchschnittlichen Besitz von 134 *Merlinius* sp., 168 *Amplimerlinius* sp. und 430 *Pratylenchus* sp. in jeweils 100 g Boden ergaben sich Probenahmefehler im Feld von 25,8 %, 14,7 % und 16,5 %. Wenn die Fehler bei der Entnahme von Teilproben diese Größenordnung nicht überschreiten sollen, müssen bei *Merlinius* sp. und *Amplimerlinius* sp. jeweils 5 × 100 g Boden untersucht werden, während bei *Pratylenchus* sp. eine Teilprobe à 100 g Boden ausreicht. Unter den hier untersuchten Bedingungen liegen die Gesamtfehler dann zwischen 38 % und 23 %.

Abstract

A bulk sample of 30 soil cores was taken from an area of 0.25 ha for the assessment of population densities of migratory root nematodes. This sampling procedure was repeated 20 times. Then each bulk sample was mixed and divided into 24 subsamples of 100 g soil each. Using the centrifugation technique with magnesium sulphate, numbers of *Merlinius* sp., *Amplimerlinius* sp. and *Pratylenchus* sp. in all 480 subsamples were determined. Figures for various sample sizes were arranged out of these data. Regression analyses were made with the coefficients of variation accompanying the different sample sizes, and the errors due to field sampling and to subsampling, respectively were calculated. With average numbers of 134 *Merlinius* sp., 168 *Amplimerlinius* sp., and 430 *Pratylenchus* sp. in 100 g soil, field sampling errors of 25.8 %, 14.7 %, and 16.5 % were determined. On condition that subsampling errors should not exceed this scale, 5 × 100 g soil have to be examined for *Merlinius* sp. and *Amplimerlinius* sp., whereas for *Pratylenchus* sp. one 100 g subsample is sufficient. In this investigation, total errors were between 38 % and 23 %.

Voraussetzung für eine erfolgreiche integrierte Bekämpfung pflanzenparasitärer Nematoden ist neben einer genauen Artbestimmung auch eine hinreichend sichere Ermittlung der Populationsdichten. Die Nematodenverteilung weist in den meisten Feldern eine ausgeprägte Herdbildung auf, so daß

arbeits- und zeitaufwendige Probenahmeverfahren eingesetzt werden müssen, wenn brauchbare Aussagen über die durchschnittliche Besatzdichte erzielt werden sollen (BARKER and CAMPBELL, 1981; NOE and CAMPBELL, 1985; PROCTOR and MARKS, 1974). Im allgemeinen werden 20–50 Bodeneinstiche von einer bestimmten Fläche entnommen und zu einer Sammelprobe vereinigt (SCHMITT et al., 1990). Sind die Einstiche so klein, daß das Gewicht der Sammelprobe unter etwa 500 g liegt, so kann sie mit den verfügbaren Extraktionsmethoden meist vollständig untersucht werden. Größere Probenmengen werden in der Regel gemischt, und nur eine Teilprobe wird zur Abschätzung der Besatzdichte der fraglichen Nematodenart untersucht. Die Größe der Teilprobe ist weitgehend festgelegt durch die Extraktionstechnik, und diese wiederum richtet sich nach der Nematodenart, die untersucht werden soll.

Die Abschätzung der Dichte des Nematodenbesatzes im Feld ist mit einer relativ großen Unsicherheit behaftet, weil sie in der Regel auf einer sehr kleinen Stichprobe basiert. Die durch die begrenzte Zahl von Einstichen bedingte Streuung von Untersuchungsergebnissen wird als Probenahmefehler (VK_p) bezeichnet. Wird nun die Zahl der Einstiche erhöht, um die Aussagekraft zu verbessern, so wächst die Sammelprobe bald auf eine Bodenmenge an, die mit vertretbarem Aufwand nicht mehr vollständig untersucht werden kann. Trotz gründlichen Mischens entsteht durch die Entnahme einer Teilprobe ein zusätzlicher Fehler, der hier als Mischprobenfehler (VK_m) bezeichnet wird. Am Ende des Arbeitsablaufs sind die Nematoden im allgemeinen in einer definierten Wassermenge suspendiert, und ihre Gesamtzahl wird durch Auszählen eines Aliquots ermittelt. Auch dieser Arbeitsschritt ist mit einem statistischen Fehler (VK_z) behaftet. Die drei genannten Fehler ($VK_p + VK_m + VK_z$) ergeben den Gesamtfehler (VK_g) eines Untersuchungsergebnisses.

Über die Größenordnung der einzelnen Fehlerquellen, die mit der Erfassung des Zystennematoden *Heterodera schachtii* verbunden sind, wurde in früheren Arbeiten berichtet (MÜLLER 1983a, b; 1988; 1990).

Die Ergebnisse können nicht ohne Vorbehalt auf andere Nematodenarten übertragen werden, da deren Biologie teilweise erheblich abweicht. Bei den wandernden Wurzelnematoden, die hier interessieren sollen, entfällt insbesondere die Aggregation von Individuen innerhalb der Zysten, so daß eine günstigere Vorhersage zur Sicherheit der Untersuchungsergebnisse erwartet wurde. Es war aber unklar, welche Teilprobenmenge von einer Sammelprobe untersucht werden muß, um bei minimalem Aufwand ein Maximum an Aussagegicherheit zu erreichen.

1 Material und Methoden

1.1 Probenahme im Feld

Die Untersuchung erfolgte auf einem Feld mit Lehmboden, auf dem Wintergerste gestanden hatte und das bereits gepflügt war. Auf einer Teilfläche von 25 × 100 m wurden auf drei parallel verlaufenden Längslinien jeweils 10 Einstiche mit einem Probenahmebohrer von 20 mm Durchmesser entnommen und zu einer Sammelprobe vereinigt. Diese 30 Einstiche ergaben bei 20 cm Einstichtiefe zwischen 2,5 und 3 kg Boden. Die Probenahme wurde auf leicht versetzt liegenden Längslinien innerhalb derselben Fläche zwanzigmal wiederholt. Die 20 dabei erhaltenen Sammelproben wurden bis zur Aufarbeitung im Kühlraum bei 4 °C gelagert.

1.2 Entnahme von Teilproben

Die bei dieser Untersuchung benutzte Extraktionstechnik war für Probenmengen von 100 g Boden geeignet. Daher wurde jede Sammelprobe in 24 Teilproben aufgetrennt; der übrigbleibende Rest wurde verworfen. Vor dem Auftrennen wurde der Boden durch ein Sieb von 10 mm Maschenweite fünfmal gemischt. Der gesamte Arbeitsvorgang ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

1.3 Extraktion und Zähltechnik

Zur Isolierung der freilebenden Nematodenformen wurde das Zentrifugationsverfahren in Magnesiumsulfatlösung (Dichte = 1,2 kg/l) eingesetzt (GOORIS and D'HERDE, 1972). Die gewonnenen Nematodensuspensionen wurden in Rollrandgläschen überführt, mit TAF fixiert (SOUTHEY, 1970) und auf eine Menge von 10 ml eingestellt. Jeweils 1 ml davon wurde mikroskopisch bei 40- bis 100facher Vergrößerung ausgezählt, wobei nur Individuen der Gattungen *Merlinius*, *Amplimerlinius* und *Pratylenchus* berücksichtigt wurden.

1.4 Verrechnung der Daten

Ziel dieser Untersuchung war eine quantitative Bestimmung der Fehler VK_p , VK_m und VK_z , um ihren Anteil am Gesamtfehler (VK_g) bewerten zu können. Dazu wurde zunächst die

Gesamtvarianz für die Daten der 100-g-Proben berechnet. Für größere Probenmengen von 200, 300, 400 g usw. wurden Einzelergebnisse zusammengefaßt. Deren Varianz errechnet sich daher aus 20×12 , 20×8 , 20×6 Werten usw. Da alle 20 Sammelproben vollständig (bis auf einen kleinen verworfenen Rest) untersucht wurden (24×100 g), spielte VK_m im Endergebnis für die Sammelproben keine Rolle mehr. Die zugehörige Streuung muß also auf die Probenahme im Feld (VK_p) und auf die Zähltechnik (VK_z) zurückgehen.

Für die Berechnung von VK_z wurden die Suspensionen aus drei Rollrandgläschen jeweils zehnmal mit je 1 ml ausgezählt, wobei die entnommene Suspension anschließend immer zurückgeschüttet wurde. Aus den dabei gefundenen Streuungen wurden die Variationskoeffizienten (VK_z) berechnet. Wird VK_z vom Gesamtfehler (VK_g) der vollständig untersuchten Sammelproben abgezogen, so ergibt sich VK_p .

Für die Berechnung des Mischprobenfehlers wurden die Streuungen der 24 Teilprobenwerte (à 100 g Boden) einer Sammelprobe herangezogen. Entsprechende Daten für größere Probenmengen wurden durch Kombination der Einzelwerte erzielt, aus denen VK_m auch für Probengrößen von 200, 300, 400 und 600 g berechnet wurde. Da nicht nur eine, sondern 20 Sammelproben vorhanden waren, konnten für die folgenden Regressionsanalysen für jede Probengröße 20 Werte verwendet werden. Das gefundene Ergebnis enthält nicht nur die durch das Mischen (VK_m), sondern auch die mit dem Auszählen eines Aliquots verbundene Streuung (VK_z). Da VK_z bereits bestimmt wurde, läßt sich auch VK_m berechnen. In den Darstellungen wurde es aber vorgezogen, beide Fehlerquellen nicht zu trennen, da sie in der Praxis eng aneinander gekoppelt sind (wird mehr Boden untersucht, so werden auch mehr Nematoden ausgezählt). Sie können zusammen als Laborfehler ($VK_m + VK_z$) bezeichnet und dem Probenahmefehler (VK_p) gegenübergestellt werden.

Durch Regressionsanalysen wurde die Beziehung zwischen den Probengrößen und den zugehörigen Variationskoeffizienten berechnet und die Anpassung für Gerade-, Logarithmus-, Exponential- und Potenzfunktion ermittelt. In den Abbildungen sind die Potenzfunktionen wiedergegeben, da sie das höchste Bestimmtheitsmaß (r^2) aufweisen.

Definitionen und Abkürzungen

- Sammelprobe: durch 30 Einstiche auf dem Feld gewonnene Bodenprobe von 2400 g
- Teilprobe: nach dem Mischen der Sammelprobe entnommene Bodenmenge von 100 g
- VK_g : Gesamtfehler
- VK_p : Probenahmefehler
- VK_m : Mischprobenfehler
- VK_z : Zählfehler
- ($VK_m + VK_z$): Laborfehler
- r^2 : Bestimmtheitsmaß

2 Ergebnisse

2.1 Gesamtfehler

Nach der Analyse aller Sammelproben zeigte sich, daß die drei Nematodengattungen in dem untersuchten Feld in unterschiedlichen Populationsdichten vorkamen:

- Merlinius* = 134 Tiere pro 100 g Boden
- Amplimerlinius* = 168 Tiere pro 100 g Boden
- Pratylenchus* = 430 Tiere pro 100 g Boden

Aufgrund dieser Differenzen war zu erwarten, daß die statistische Sicherheit der gefundenen Werte auf unterschiedlichem Niveau liegen würde. Um dies zu prüfen, wurden

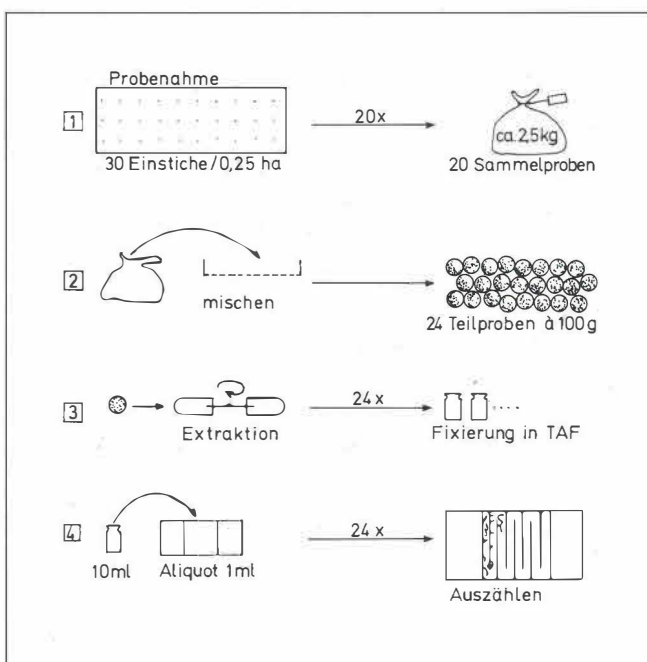


Abb. 1. Schematische Darstellung des Ablaufs der Untersuchung.

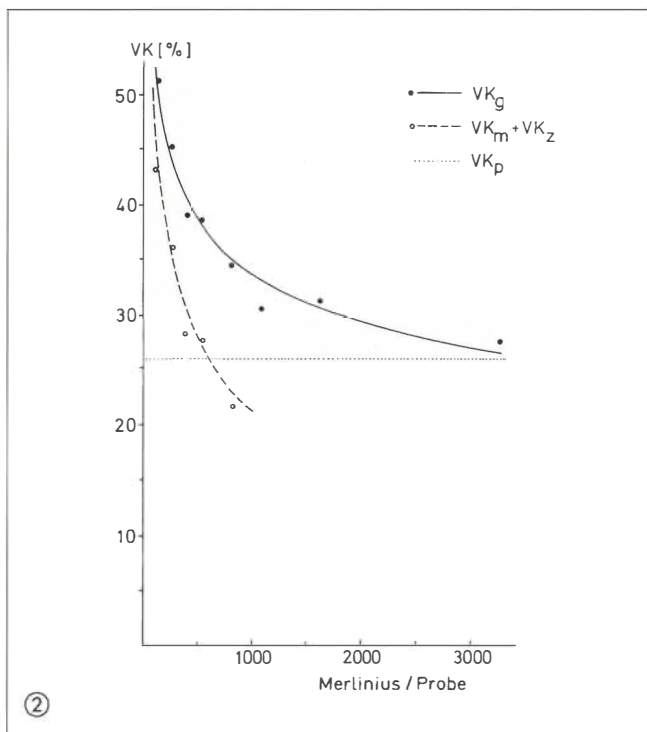


Abb. 2. Beziehungen zwischen der Anzahl *Merlinius* sp. je Probe und der Höhe der zugehörigen Variationskoeffizienten
 Gesamtfehler (VK_g): $y = 136,1 \cdot x^{-0,20}$
 Probenahmefehler (VK_p): $y = 25,8$
 Laborfehler ($VK_m + VK_z$): $y = 294,9 \cdot x^{-0,38}$

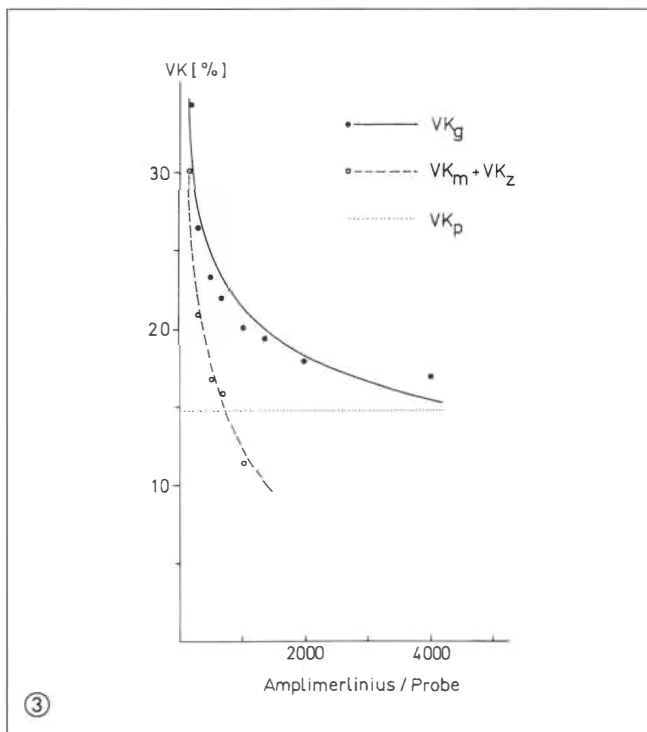
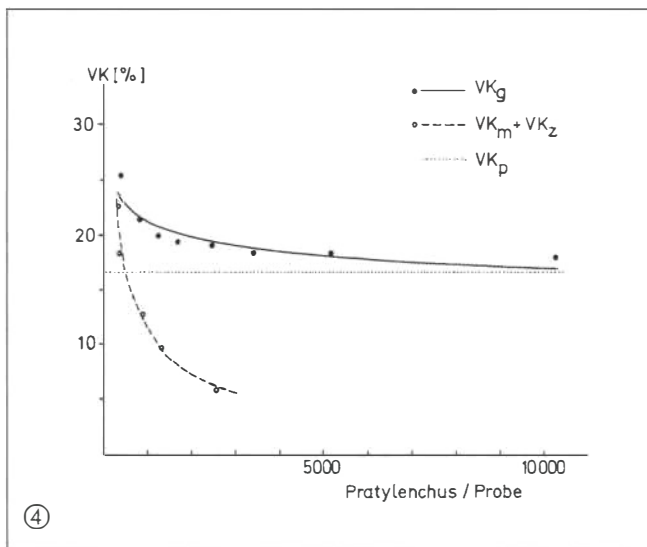


Abb. 3. Beziehungen zwischen der Anzahl *Amplimerlinius* sp. je Probe und der Höhe der zugehörigen Variationskoeffizienten
 Gesamtfehler (VK_g): $y = 96,4 \cdot x^{-0,22}$
 Probenahmefehler (VK_p): $y = 14,7$
 Laborfehler ($VK_m + VK_z$): $y = 457,7 \cdot x^{-0,53}$

Abb. 4. Beziehungen zwischen der Anzahl *Pratylenchus* sp. je Probe und der Höhe der zugehörigen Variationskoeffizienten
 Gesamtfehler (VK_g): $y = 43,2 \cdot x^{-0,10}$
 Probenahmefehler (VK_p): $y = 16,5$
 Laborfehler ($VK_m + VK_z$): $y = 879,1 \cdot x^{-0,63}$



zunächst Regressionsanalysen mit den Variationskoeffizienten durchgeführt, die bei verschiedenen Probengrößen (und entsprechenden Nematodenzahlen je Probe) für den Gesamtfehler bestimmt worden waren. In den Abbildungen 2, 3 und 4 sind sie als durchgezogene Linien dargestellt. Die Potenzfunktionen lauten $y = 136,1 \cdot x^{-0,20}$ (*Merlinius*, $r^2 = 0,96$), $y = 96,4 \cdot x^{-0,22}$ (*Amplimerlinius*, $r^2 = 0,93$) und $y = 43,2 \cdot x^{-0,10}$ (*Pratylenchus*, $r^2 = 0,79$). Das unterschiedliche Niveau der Kurven bestätigt die erwartete Beziehung zwischen der Höhe der Populationsdichte und der Sicherheit der Ergebnisse. So ist bei Untersuchung von 100 g Boden bei *Merlinius* mit einem Variationskoeffizienten von etwa 51 %, bei *Pratylenchus* dagegen von nur 23,5 % zu rechnen.

2.2 Zählfehler

Bei optimaler Durchmischung der Nematoden in der Flüssigkeit sollte eine Poisson-Verteilung vorliegen, so daß sich der Zählfehler nach $VK_z = 100 \cdot x^{-0,5}$ berechnet. In früheren

Untersuchungen mit Larven von *Heterodera schachtii* konnte gezeigt werden, daß dies annähernd erreichbar ist (MÜLLER, 1983a). Wie aus Abbildung 5 zu erkennen ist, passen sich auch die Daten der hier untersuchten Gattungen der Poisson-Verteilung (durchgezogene Linie) gut an. Da für alle Ergebnisse dieser Untersuchung bekannt ist, wie viele Tiere in der Zählkammer tatsächlich ausgezählt wurden, läßt sich VK_z für alle Probengrößen berechnen.

2.3 Probenahmefehler

Die 20 Ergebnisse der Sammelproben à 2400 g Boden weisen eine Streuung auf, die nur noch auf die Probenahme im Feld sowie auf das Auszählen eines Aliquots zurückgeht. Der Probenahmefehler berechnet sich daher nach $VK_p = VK_g - VK_z$. Im Beispiel *Merlinius* wurden in den Proben à 2400 g Boden im Durchschnitt 3263 Tiere gefunden. Der zugehörige Variationskoeffizient (= Gesamtfehler) berechnet sich nach $VK_g = 136,1 \cdot x^{-0,20}$ zu 26,4 %. Da nur 1/10 der Suspension aus-

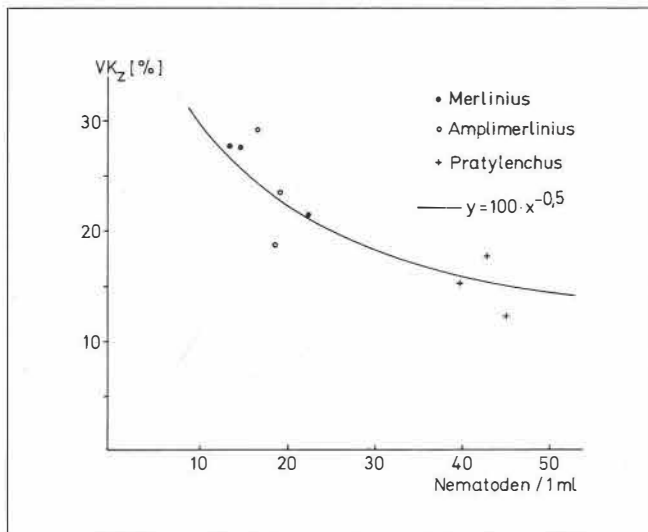


Abb. 5. Beziehungen zwischen der durchschnittlichen Nematodenzahl im Aliquot und der Höhe der zugehörigen Variationskoeffizienten (VK_z). Durchgezogene Linie: Poisson-Verteilung ($y = 100 \cdot x^{-0,5}$).

gezählt wurde, beträgt der Zählfehler $VK_z = 100 \cdot 326,3^{-0,5} = 5,54\%$. $VK_g - VK_z = (26,4^2 - 5,54^2)^{0,5} = 25,8\%$. Entsprechend ergeben sich die Probenahmefehler für *Amplimerlinius* mit $VK_p = 14,7\%$ und für *Pratylenchus* mit $VK_p = 16,5\%$. Diese Fehleranteile stecken nicht nur in den vollständig untersuchten Sammelproben, sondern in gleicher Größe auch in den Teilproben (waagerechte, gepunktete Linie in Abb. 2, 3 und 4).

2.4 Mischprobenfehler

Die mit der Entnahme einer Teilprobe verbundenen Mischprobenfehler sind in den Abbildungen 2, 3 und 4 als gestrichelte Kurven dargestellt. Die Regressionsanalysen ergaben auch hier die beste Anpassung bei den Potenzfunktionen, die $y = 294,9 \cdot x^{-0,38}$ (*Merlinius*, $r^2 = 0,96$), $y = 457,7 \cdot x^{-0,53}$ (*Amplimerlinius*, $r^2 = 0,99$) und $y = 879,1 \cdot x^{-0,63}$ (*Pratylenchus*, $r^2 = 0,99$) lauten. Der Zählfehler (VK_z) wurde bei diesen Berechnungen bewußt nicht abgetrennt, da er in seiner Größe eng an den Mischprobenfehler gekoppelt ist. Beide ($VK_m + VK_z$) können als Laborfehler zusammengefaßt werden. Dabei bleibt VK_z immer deutlich kleiner, so daß VK_m die entscheidende Bedeutung zukommt. Zum Beispiel beträgt ($VK_m + VK_z$) in Abbildung 2 (*Merlinius*) bei 500 Tieren je Probe 27,8%; VK_z liegt dann mit 50 tatsächlich gezählten Tieren bei 14,1%. VK_m errechnet sich somit aus $(27,8^2 - 14,1^2)^{0,5}$ und beträgt 24,0%.

3 Diskussion

Pflanzenparasitäre Nematoden kommen auf Ackerflächen nicht gleichmäßig verteilt vor. Eine ausgeprägte Herdbildung wurde besonders für *Heterodera*-, *Globodera*- und *Meloidogyne*-Arten festgestellt, sie wird aber auch bei wandernden Wurzelnematoden gefunden (BARKER and CAMPBELL, 1981). Zentren hoher Populationsdichten einer bestimmten Art liegen dabei häufig eng benachbart zu Bereichen ohne Besatz. Es ist in der Regel aber nicht Ziel einer Untersuchung, diese Differenzen aufzudecken, sondern für Beratungszwecke wird die durchschnittliche Populationsdichte einer Fläche bestimmt. Die Flächengröße bemißt sich dabei eher nach praktischen Gesichtspunkten als nach der ohnehin nicht

bekanntenen Nematodenverteilung. Die hier gewählte Flächeneinheit von 0,25 ha, von der 30 Einstiche für eine Sammelprobe entnommen wurden, entspricht dem in der Praxis üblichen und für Routineuntersuchungen gerade noch tragbaren Aufwand.

Die zu fordernde Aussagesicherheit des Ergebnisses hängt vom Ziel der Untersuchung ab. Die Entscheidung, ob zum Beispiel ein Besatz mit Kartoffelnematoden vorhanden ist oder nicht, erfordert einen anderen Untersuchungsaufwand als eine Aussage mit Bezug zur Schadensschwelle. Weiterhin bestimmen der wirtschaftliche Wert der betroffenen Kultur, aber auch die Pathogenität der erwarteten Nematodenarten den noch akzeptierbaren Gesamtfehler (GOODELL and FERRIS, 1981). SCHMITT et al. (1990) halten für eine Untersuchung auf z. B. *Helicotylenchus dihystra* und *Hoplolaimus galeatus* 40 Einstiche pro Hektar (bei Untersuchung von 500 ml Boden) für ausreichend und akzeptieren dabei einen Variationskoeffizienten von 62%. Dagegen erhielten MCSORLEY und PARADO (1982) für *H. dihystra* und *Quinisulcius acutus* bei 30 Einstichen auf 0,25 ha einen Gesamtfehler von 20–22%. Dabei lag der durchschnittliche Besatz mit 3–5 Tieren pro 100 ml Boden deutlich niedriger als in dem von uns untersuchten Feldstück. Wir fanden bei vollständiger Untersuchung der Sammelproben Variationskoeffizienten von 15–17% für *Amplimerlinius* und *Pratylenchus*, für *Merlinius* dagegen von 26%. Diese Fehler sind praktisch ausschließlich auf die Probenahme zurückzuführen.

Bei Routineuntersuchungen können Bodenmengen von 2400 g nicht vollständig verarbeitet werden. Es muß eine Teilprobe entnommen werden, und dabei stellt sich die Frage, wie hoch der Gesamtfehler dadurch ansteigt. Als wesentliches Kriterium für die Wahl der Teilprobengröße sollte die Größe des Probenahmefehlers herangezogen werden. Würde nämlich der Mischprobenfehler den Fehler der Probenahme deutlich überschreiten, so hätte sich der hohe Aufwand bei der Probenahme im Feld nicht gelohnt. Unter der Annahme, daß die Kosten für Feld- und Laborarbeit in der gleichen Größenordnung liegen, ist die optimale Teilprobengröße im Schnittpunkt der Kurve für ($VK_m + VK_z$) mit VK_p zu finden. Darunter kann auf der Abszisse abgelesen werden, wie viele Nematoden in der Teilprobe vorhanden sein sollten. Ein Beispiel kann diese Beziehungen deutlich machen: Bei *Amplimerlinius* wurde VK_p mit 14,7% bestimmt. Der Schnittpunkt mit der Kurve für den Laborfehler ($VK_m + VK_z$) liegt bei etwa 650 Tieren je Probe, was einer Teilprobengröße von annähernd 400 g Boden entspricht. ($VK_m + VK_z$) und VK_p sind hier ungefähr gleich groß und ergeben zusammen einen Gesamtfehler von $VK_g = 23,2\%$. Würden dagegen nur 100 g Boden untersucht, so beliefe sich der Gesamtfehler auf 31,3%, wovon 27,6% allein auf den Laborfehler entfielen.

Unter Berücksichtigung der durchschnittlichen Populationsdichten der drei Arten in der untersuchten Fläche sollten Teilprobengrößen von etwa 500 g Boden für *Merlinius* und *Amplimerlinius* untersucht werden, während bei *Pratylenchus* eine Teilprobe von 100 g Boden ausreichend ist. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen kommen PROCTOR and MARKS (1974) für *Pratylenchus penetrans*. Bei Sammelproben à 2000 g Boden halten sie die Untersuchung von 5 Teilproben à 50 g Boden für erforderlich, um den tatsächlichen Wert des Nematodenbesatzes mit $\pm 20\%$ Irrtumswahrscheinlichkeit zu bestimmen.

Die Verteilung von *Pratylenchus* sp. ist im Feld offenbar weniger homogen als die der Zysten des Kartoffelnematoden (CHURCH et al., 1959). Auch für Zysten von *Heterodera schachtii* wurden in eigenen Untersuchungen geringere Probenahmefehler gefunden als hier für *Pratylenchus* sp. (MÜLLER,

1988). Bei einem Feldbesatz von 11 Zysten pro 100 g Boden lag der Probenahmefehler bei 10 %, während er hier bei 430 *Pratylenchen* pro 100 g Boden etwa 16 % erreichte. Da jedoch die bei Rüben nematoden entscheidende Varianz des Zysteninhalts (MÜLLER, 1988) bei *Pratylenchus* sp. entfällt, können Ergebnisse gleicher Aussagekraft schon mit kleineren Teilproben erreicht werden. Die für *H. schachtii* besonders im Bereich der Schadensschwelle hohen Anforderungen an die Bodenuntersuchung (MÜLLER, 1990) müssen für wandernde Wurzelnematoden daher nicht gestellt werden. In der Regel dürfte für diese Nematoden eine Teilprobe von 500 g Boden ausreichend sein, wenn die Probenahme nach gleichem Muster wie in der hier vorgestellten Untersuchung durchgeführt wird.

Literatur

- BARKER, K. R. and C. L. CAMPBELL, 1981: Sampling nematode populations. In: ZUCKERMAN, B. M. and R. A. ROHDE (eds) Plant-parasitic nematodes, Vol. 3. New York, Academic Press, pp. 451–474.
- CHURCH, B. M., H. C. GOUGH and J. F. SOUTHEY, 1959: Soil sampling procedures for potato root eelworm cysts. *Plant Pathology* **8**, 146–151.
- GOODELL, P. B. and H. FERRIS, 1981: Sample optimization for five plant-parasitic nematodes in an alfalfa field. *J. Nematol.* **13**, 304–313.
- GOORIS, J. and C. J. D'HERDE, 1972: A method for the quantitative extraction of eggs and second stage juveniles of *Meloidogyne* spp. from soil. State Nematology and Entomology Research Station, Merelbeke, Belgium.
- MCSORLEY, R. and J. L. PARRAÑO, 1982: Estimating relative error in nematode numbers from single soil samples composed of multiple cores. *J. Nematol.* **14**, 522–529.
- MÜLLER, J., 1983a: Zur Problematik der quantitativen Erfassung von *Heterodera schachtii* mit Hilfe von Bodenuntersuchungen. I. Ermittlung des Nematodenbesatzes in Mischproben. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* **35**, 132–136.
- MÜLLER, J., 1983b: Zur Problematik der quantitativen Erfassung von *Heterodera schachtii* mit Hilfe von Bodenuntersuchungen. II. Ermittlung des Nematodenbesatzes in Feldproben. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* **35**, 150–155.
- MÜLLER, J., 1989: Varianzquellen bei der Bodenuntersuchung auf *Heterodera schachtii* und deren Bedeutung für Probenahme und Extraktionstechnik. *Nematologica* **34**, (publ. 1988), 357–368.
- MÜLLER, J., 1990: Anforderungen an die Bodenuntersuchung auf den Rübenzysten nematoden (*Heterodera schachtii*) im Hinblick auf die Schadensschwelle bei Zuckerrüben. *Zeitschr. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* **97**, 563–569.
- NOE, J. P. and C. L. CAMPBELL, 1985: Spatial pattern analysis of plant-parasitic nematodes. *J. Nematol.* **17**, 86–93.
- PROCTOR, J. R. and C. F. MARKS, 1974: The determination of normalizing transformations for nematode count data from soil samples and of efficient sampling schemes. *Nematologica* **20**, 395–406.
- SCHMITT, D. P., K. R. BARKER, J. P. NOE and S. R. KOENNING, 1990: Repeated sampling to determine the precision of estimating nematode population densities. *J. Nematol.* **22**, 552–559.
- SOUTHEY, J. F., 1970: Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of agriculture, fisheries and food, London, Technical Bulletin **2**.