

Zur Problematik der quantitativen Erfassung von *Heterodera schachtii* mit Hilfe von Bodenuntersuchungen

I Ermittlung des Nematodenbesatzes in Mischproben

On the problem of estimating population densities of *Heterodera schachtii* by soil sampling and extraction
I Estimation of the population density in mixed soil samples

Von J. Müller

Zusammenfassung

Bei der Untersuchung von Mischproben auf den Besatz mit *Heterodera schachtii* wurde das Extraktionsverfahren in einzelne Abschnitte gegliedert, um den zu verschiedenen Arbeitsgängen gehörenden statistischen Fehler bestimmen zu können. Sowohl die Zahlen der Zysten in einer Mischprobe als auch die der Eier und Larven in einer Suspension entsprachen weitgehend der Poisson-Verteilung. Der zu erwartende Fehler hängt hier von der Zahl der Individuen ab und kann entsprechend beeinflußt werden. Eine kritische Größe ist dagegen der Fehler des Zysteninhaltes. Die Zahl der Eier und Larven pro Zyste ist sehr starken Schwankungen unterworfen, die einen wesentlichen Teil des Gesamtfehlers ausmachen. Bei der Untersuchung von Mischproben muß deshalb bei vertretbarem Arbeitsaufwand mit einem Gesamtfehler von 20–40 % gerechnet werden.

Abstract

Different parts of the extraction procedure were investigated separately, in order to determine the statistical error which is due to consecutive steps of the method. Cyst counts from mixed soil samples as well as egg counts from a suspension followed the Poisson distribution. The corresponding error depends on the number of individuals counted and can be adapted as necessary. Most critical, however, is the variation of the cyst content. Numbers of eggs and larvae per cyst had a high coefficient of variation, composing an important part of the total error. For the extraction of eggs and juveniles of *H. schachtii* from mixed soil samples, with a reasonable expense of work, a total error of 20–40 % must be accepted.

Bodenuntersuchungen zum Nachweis pflanzenparasitärer Nematoden sind sehr arbeitsaufwendig und dadurch teuer. Dennoch besteht wenig Klarheit darüber, welche Sicherheit einem bestimmten Ergebnis zukommt und welche Entscheidungen darauf gegründet werden können. Bei jeder Bodenuntersuchung wird aus einer sehr großen Grundgesamtheit nur eine Stichprobe entnommen, die immer mit einem Fehler behaftet ist. Grundlegende Gedanken zur Größe dieses Fehlers wurden in einigen früheren Arbeiten dargelegt (ANScombe 1950; JONES 1955; FENWICK 1959; SOUTHEY 1974). Darin wird deutlich, daß auch bei perfekter Extraktionsmethodik jedes Ergebnis einer bestimmten Irrtumswahrscheinlichkeit unterliegt. Unter praktischen Bedingungen wird die Bewertung von Untersuchungsbefunden zusätzlich

dadurch erschwert, daß in verschiedenen Labors unterschiedliche Methoden zur Erfassung der Nematoden eingesetzt werden. Ihre Vergleichbarkeit untereinander wurde nur in wenigen Fällen geprüft. Die zahlreichen möglichen Fehlerquellen werden meistens unterbewertet, so daß die Aussagekraft eines Ergebnisses häufig falsch eingeschätzt wird.

Unsere Erfahrungen beim Nachweis von Verseuchungen gehen zum großen Teil auf Arbeiten mit Kartoffelnematoden zurück. Hier ist oft nur die Entscheidung zu treffen, ob Nematoden vorhanden sind oder nicht, und dabei reicht der Nachweis von Zysten aus. Für *Heterodera schachtii* ist dagegen die Fragestellung anders. Hier ist zusätzlich eine genaue Bestimmung der Populationsdichte erforderlich, was die Erfassung des Zysteninhaltes notwendig macht. Die Anzahl der Eier und Larven in einer Zyste ist aber so großen Schwankungen unterworfen, daß ihre Auszählung unerläßlich ist. FENWICK hat schon 1942 die Angabe von Zystenanzahlen als unzureichend abgelehnt! Diese Forderung ist nicht nur im Versuchswesen und bei der Mittelprüfung berechtigt, sondern auch bei Festlegung einer Schadensschwelle. Bei den folgenden Ausführungen werden deshalb die Zahlen der Eier und Larven besonders berücksichtigt.

In Untersuchungen zum Fehler bei der Erfassung von Nematoden wird häufig nur zwischen der Probenahme auf dem Feld und der weiteren Verarbeitung im Labor unterschieden. Bei den eigenen Versuchen wurde jedoch deutlich, daß zur Klärung der Ursachen für schwankende Ergebnisse eine weitere Differenzierung sinnvoll ist. In dieser Arbeit wird das Thema deshalb in folgende drei Abschnitte gegliedert:

- I Ermittlung des Nematodenbesatzes in Mischproben
- II Ermittlung des Nematodenbesatzes in Feldproben
- III Einfluß von Bearbeiter und Extraktionsmethodik

Methodik

Zur Bestimmung des Nematodenbesatzes, ausgedrückt als Zahl der Eier und Larven von *H. schachtii* je Bodeneinheit, wurde das Zentrifugierverfahren mit Zuckerlösung eingesetzt (MÜLLER 1980). Dabei ist das Heraussuchen von Zysten aus Bodenresten im allgemeinen nicht erforderlich. Zur Beantwortung spezieller Fragen waren auch die Zahlen der Zysten von Interesse. In diesen Fällen wurde außer durch Zentrifugation auch mit der Kanne nach FENWICK (1940) ausgeschlämmt und dann weiter nach der Alkoholmethode extrahiert (SEIN-

Tab. 1. Zahlen für Eier und Larven in den Böden A und B

	Boden A (je 100 g)		Boden B (je 250 g)	
	natürliche Zahlen	aus log-Transformation	natürliche Zahlen	aus log-Transformation
\bar{x}	1059	994	4329	4233
s	347		981	
VK %	33		23	
VG _u	380	441	2278	2715
VG _o	1739	2242	6380	6600
n	20		19	

HORST 1970). Im letzten Schritt können die Zysten unter dem Stereoskop vom Filterpapier gesammelt und annähernd vollständig erfaßt werden. Bei sachgerechter und gewissenhafter Ausführung lassen sich mit beiden Verfahren – Zentrifugation und Fenwickkanne – vergleichbare Ergebnisse erzielen.

Zur Bestimmung der Zahlen für Eier und Larven wurden die Zysten mit ca. 5 ml Wasser in ein Kunststoffröhrchen gespült und darin von einer rotierenden Spindel zerquetscht (GOFFART 1958). Von der resultierenden Suspension wurde einmal oder mehrfach ein Aliquot von 1 ml ausgezählt. Die dabei benutzten Zählkammern wurden in Anlehnung an die Daten von PETERS (1952) aus Plexiglas selbst gefertigt. – Im Teil I dieser Arbeit wird nur die quantitative Erfassung von *H. schachtii* aus Mischproben untersucht. Dabei wird unter einer Mischprobe eine größere Menge Boden aus einem verseuchten Feld verstanden, in der die Zysten des Rübennematoden möglichst gleichförmig verteilt sein sollen. Um dies zu erreichen, wurden die untersuchten Böden mindestens fünfmal durch ein grobes Sieb von ca. 15 mm Maschenweite gesiebt. Die von der Mischprobe nach Gewicht entnommenen, gleich großen Bodenmengen (100 bzw. 250 g) werden Einzelproben genannt.

Aus den gefundenen Zahlen für Zysten bzw. Eier und Larven je Bodeneinheit wurden Vertrauensbereiche berechnet, die einen Eindruck von der Zuverlässigkeit eines Extraktionsergebnisses vermitteln. Da die Varianzen der Zahlen für Eier und Larven stärker ansteigen als die zugehörigen Mittelwerte, wurden die gefundenen Daten zunächst logarithmisch transformiert. Die logarithmische Transformation ($x' = \log x + 1$) hat sich in vielen Fällen bei nematologischen Untersuchungen bewährt (PETERS 1948; JONES 1955; MORIARTY 1960). Die Vertrauensgrenzen wurden für $P = 5\%$ nach der Formel

$$VG_u = \bar{x} - t \cdot s_1$$

$$VG_o = \bar{x} + t \cdot s_1$$

berechnet (COCHRAN 1972).

Die verwendeten Abkürzungen bedeuten:

\bar{x} = Mittelwert

s_1 = Standardabweichung des Einzelwertes

n = Zahl der Wiederholungen

t = Wert für t bei $P = 5\%$ aus der t-Tabelle

VK = Variationskoeffizient $\left(= \frac{s_1 \cdot 100}{\bar{x}} \right)$

VK₁ = Variationskoeffizient der Zysten je Probe

VK₂ = Variationskoeffizient der E+L je Zyste

VK₃ = Variationskoeffizient bei Auszählen der E+L in Suspension

VK_t = VK_{1, 2, 3}

VG_u = untere Vertrauensgrenze

VG_o = obere Vertrauensgrenze

E+L = Eier und Larven

Ergebnisse

1. Erfassung von Eiern und Larven aus Mischproben

Wird aus einer gründlich gemischten Erdprobe eine Serie von Einzelproben extrahiert, so findet man in den Einzelproben unterschiedliche Zahlen von Nematoden. Die gefundenen Einzelwerte streuen um den aus ihnen errechneten Mittelwert. Wird der für die Streuung gefundene Wert (s) durch den Mittelwert (\bar{x}) geteilt, so erhält man den Variationskoeffizienten (VK), der ein prozentuales Maß für die Streubreite der Einzelwerte ist. Dieser Wert wird auch als Fehler bezeichnet.

Die Erfahrung zeigt, daß Extraktionsergebnisse aus unterschiedlichen Böden auch unterschiedliche Fehler aufweisen. Ein Beispiel dafür gibt Tab. 1 mit den Böden A und B. Die hier gefundenen Variationskoeffizienten von 33% bzw. 23% sind für Mischproben als normal anzusehen; in besonderen Fällen können auch höhere oder niedrigere Werte gefunden werden. Es erhebt sich die Frage, in welchem Ausmaß der Fehler durch methodische Mängel bei der Extraktion bedingt ist bzw. welcher Anteil als unvermeidbar hingenommen werden muß. Um die Frage beantworten zu können, muß die Verteilung der Nematoden in der Mischprobe bekannt sein. Auf Grund zahlreicher Literaturangaben wird hier davon ausgegangen, daß die Zysten von *H. schachtii* in einer Mischprobe in Poisson-Verteilung vorliegen (JONES 1955; FENWICK 1959; WEBER 1972). Es gilt dann, daß die aus einer Serie von Einzelproben errechnete Varianz (s^2) etwa in der Größenordnung des Mittelwertes (\bar{x}) liegt.

Die Dichte von *H. schachtii* in den Böden A und B wird in Tab. 1 nicht als Zystenzahl, sondern als Zahl der Eier und Larven angegeben. Für diese Werte sind die Varianzen 114- bzw. 222mal so groß wie die Mittelwerte, so daß Poisson-Verteilung nicht vorzuliegen scheint. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Zahl der Zysten in einer Probe relativ klein ist im Vergleich zu der verhältnismäßig großen Zahl an Eiern und Larven, die jede einzelne Zyste enthält. Durch die Multiplikation von Zystenzahl mal Inhalt wird die Varianz der errechneten Werte für Eier und Larven um ein Vielfaches größer als der Mittelwert. Der gleiche Effekt tritt auch dann auf, wenn Eier und Larven in einer Suspension ausgezählt werden müssen. Da in der Regel nur ein Aliquot von 1 ml erfaßt werden kann, müssen die gezählten Individuen mit der Menge der Suspension multipliziert werden. Auch die dabei errechneten Werte weisen Varianzen auf, die eine starke Abweichung von der Poisson-Verteilung anzeigen.

Rückschlüsse auf die Nematodenverteilung in einer Mischprobe können deshalb normalerweise aus den vorliegenden Zahlen für Eier und Larven je Bodenprobe nicht gezogen werden. Die Kenntnis der Verteilung ist aber erforderlich für eine Aussage darüber, welcher Fehler bei der Extraktion als unvermeidbar hingenommen werden muß bzw. wo Verbesserungen im Arbeitsverlauf möglich sind. Zur Lösung des Problems werden im folgenden die einzelnen Schritte des Extraktionsverfahrens getrennt untersucht.

2. Erfassung von Zysten aus Mischproben

Bei den meisten Extraktionsverfahren wird angestrebt, die je Bodeneinheit vorhandenen Zysten vollständig zu erfassen und zu zählen. Aus solchen Zahlen müßten deshalb Aussagen zur Verteilung möglich sein. Bei gründlicher Durchmischung des Bodens ist zu erwarten, daß alle Einzelproben die gleiche Chance haben, eine bestimmte Zahl von Zysten zu enthalten. Die Verteilung der Zysten würde dann einer Poisson-Verteilung folgen (WEBER, 1972). Poisson-Verteilung ist aber nur

Tab. 2. Zystenzahlen in den Böden C und D (je 250 g)

	Boden C		Boden D	
	natürliche Zahlen	aus log-Transformation	natürliche Zahlen	aus log-Transformation
\bar{x}	125	126	127	128
s	9,2		8,3	
VK %	7,3		6,6	
VG _u	106	107	109	111
VG _o	144	146	144	147
n	25		20	

dann zu erwarten, wenn der Boden optimal gemischt wurde und wenn eine perfekte Extraktionsmethode eingesetzt wird. Die Ergebnisse in Tab. 2 zeigen, daß diese Forderungen erfüllt werden können. Die Varianzen erreichen nicht einmal die Größe der Mittelwerte, der Fehler ist also sogar etwas kleiner als nach Poisson zu erwarten. Diesem Ergebnis muß jedoch mit Mißtrauen begegnet werden, denn die Varianz sollte theoretisch mindestens in der Größe des Mittelwertes liegen.

3. Auszählen von Eiern und Larven in einer Suspension

Die extrahierten Zysten werden in Wasser zerquetscht, so daß die Eier und Larven frei werden. Meistens ist die Besatzdichte in den untersuchten Böden so hoch, daß nicht alle Eier und Larven gezählt werden können. Es tritt deshalb bei diesem Arbeitsgang ein weiterer Fehler auf, weil nur ein Aliquot ausgewertet wird. Die Größe des Fehlers läßt sich im voraus abschätzen, denn jedes Aliquot hat die gleiche Chance, eine bestimmte Zahl von Eiern und Larven zu enthalten. Die gefundenen Werte müßten der Poisson-Verteilung folgen. Der Fehler ist dann direkt abhängig von der Menge der ausgezählten Individuen (JONES 1955; FENWICK 1959; WEBER 1972). –

Tab. 3. Erfassung von Eiern und Larven in Suspensionen (Mittelwerte aus 20 Zählungen)

Extraktion	\bar{x} (E + L/1 ml)	s	VK %
1	57	9,7	17,0
2	110	11,4	10,4
3	93	10,8	11,6
4	67	8,0	11,9
5	61	7,5	12,3
6	80	9,8	12,2
7	56	6,7	12,0
8	87	9,1	10,5
9	71	8,6	12,1
10	86	9,4	10,9
\bar{x}	76,8	9,2	12,0

Tab. 4. Zahlen für Zysten und für E+L in Boden C

	Zysten je Probe	E + L (gezählt in 1 ml (Suspension = 250 ml))	E + L je Probe	E + L je Zyste
\bar{x}	125,3	124,0	31 000	247,36
s	9,21	17,68	4 423	28,63
s ²	84,8	312	19 562 929	819
VK %	7,35	14,26	14,26	11,58
n	25	25	25	25
VG _u				188
VG _o				306

Tab. 5. Zahlen für Zysten und für E + L in Boden D

	Zysten je Probe	E + L gezählt in 1 ml (Suspension = 40 ml)	E + L je Probe	E + L je Zyste
x	126,85	108,35	4 334	34,15
s	8,36	23,8	952	7,04
s ²	69,9	566	906 320	50
VK %	6,59	21,97	21,97	20,62
n	20	20	20	20
VG _u				19
VG _o				49

Wie viele Eier und Larven gezählt werden sollen, hängt einerseits von der geforderten Genauigkeit ab, andererseits aber auch von den technischen Möglichkeiten. In den hier beschriebenen Versuchen wurden die Suspensionen so eingestellt, daß in einem Aliquot von 1 ml 50 bis 150 Eier und Larven waren. Unter günstigen Bedingungen ist dann mit einem Fehler zwischen 8 % und 15 % zu rechnen.

Die tatsächlich erreichten Werte sind in Tab. 3 dargestellt. Von einer Mischprobe wurden 10 Einzelproben extrahiert und die 10 Suspensionen mit Eiern und Larven auf je 65 ml eingestellt. Von jeder Suspension wurde 20 mal 1 ml ausgezählt; die dabei ermittelte durchschnittliche Zahl an Eiern und Larven zeigt die Tabelle. Im Durchschnitt aller 10 Extraktionen ergab sich ein Wert von 76,8 Eiern und Larven je Aliquot, was bei Poisson-Verteilung zu einem Fehler von 11,4 % führen müßte. Dieser Fehler ist ein Minimum und unvermeidbar; er kann größer sein, wenn methodische Fehler hinzukommen. Der gefundene Wert von 12 % kommt dem Optimum sehr nahe, so daß an dieser Stelle wesentliche Verbesserungen nicht mehr erreicht werden können.

4. Zahl der Eier und Larven je Zyste

Zu den bereits beschriebenen Fehlern, die bei der Erfassung der Zysten und beim Auszählen von Eiern und Larven in einer Suspension auftreten, kommt noch ein weiterer Fehler hinzu. Die im natürlichen Boden vorhandenen Zysten sind im allgemeinen verschieden alt, sie unterlagen außerdem in unterschiedlichem Maße Umwelteinflüssen wie Temperatur, Wurzelabscheidungen und Parasiten. Der Inhalt an Eiern und Larven weicht deshalb bei einzelnen Zysten häufig deutlich voneinander ab. Diese Unterschiede bleiben auch in Mischproben erhalten.

Die gesamte Streubreite der Zysteninhalte innerhalb einer Einzelprobe ließe sich nur durch Bestimmung des Inhaltes jeder einzelnen Zyste überprüfen, was einen recht hohen Aufwand erfordert. Einfacher, und für die hier interessierende Fragestellung ausreichend, ist es, den durchschnittlichen Inhalt aller Zysten einer Einzelprobe zu ermitteln. Liegen für eine Serie von Einzelproben diese Durchschnittswerte für den Zysteninhalt vor, so kann auch der zugehörige Fehler berechnet werden.

Für die Böden C und D wurden die durchschnittlichen Zysteninhalte bestimmt (Tab. 4 und 5). Für diese Untersuchung wurden zwei in bezug auf die Fruchtfolge unterschiedliche Böden verwendet. Boden C wurde direkt nach der Kultur von Raps entnommen, auf Boden D hatten dagegen mehrere Jahre keine Wirtspflanzen gestanden. Während die Zahl der Zysten je Probe fast gleich ist (125 bzw. 127), unterscheidet sich die durchschnittliche Zahl an Eiern und Larven je Zyste um mehr als das Siebenfache. Die Berechnung der Vertrau-

ensgrenzen zeigt, daß in einer Serie von Bodenproben der durchschnittliche Zysteninhalt selbst dann von Probe zu Probe noch stark schwankt, wenn er aus über 100 Zysten ermittelt wird.

5. Wie läßt sich der Gesamtfehler verringern?

Die Auftrennung des Extraktionsverfahrens in einzelne Schritte läßt erkennen, daß sich der in Tab. 1 für Eier und Larven gefundene Gesamtfehler aus verschiedenen Einzelfehlern zusammensetzt. Die Varianz der Zystenzahlen je Probe führt zum ersten Fehler (VK₁), der zweite Fehler (VK₂) entsteht durch die Varianz der Eier und Larven je Zyste, und schließlich kommt beim Auszählen der Eier und Larven in der Suspension ein dritter Fehler (VK₃) hinzu. Aus den genannten Teilvarianzen setzt sich die Varianz der Eier und Larven je Probe zusammen. Sie müssen berücksichtigt werden, wenn der Gesamtfehler (VK_t) analysiert werden soll (SEINHORST, pers. Mitteil.).

Der aus der Varianz der Zystenzahlen je Probe errechnete Fehler (VK_t) liegt bei den Böden C und D jeweils bei etwa 7% (Tab. 4 und 5). Größere Unterschiede gibt es bei der Varianz der Eier und Larven je Zyste. Hier ist zu berücksichtigen, daß in den Werten 11,58 bzw. 20,62 der durch das Zählen der Eier und Larven in der Suspension bedingte Fehler noch enthalten ist. Wird er in Boden C, wo im Durchschnitt 124 E+L je ml gezählt wurden, mit 9% angenommen, so läßt sich der Fehler der Eier und Larven je Zyste aus der Gleichung $VK_t = (VK_1^2 + VK_2^2 + VK_3^2)^{1/2}$ berechnen. Es ist dann $VK_2 = (VK_t^2 - VK_1^2 - VK_3^2)^{1/2}$, woraus sich mit den Werten für Boden C 8,3% ergibt. Der Gesamtfehler von rund 14% entsteht also durch die Varianz der Zystenzahlen je Probe (absolut etwa 7%), durch die Varianz der Anzahl an Eiern und Larven je Zyste (absolut etwa 8%) und durch den Fehler beim Auszählen von Eiern und Larven (absolut etwa 9%). Wird die Größe der Einzelfehler relativ zum Gesamtfehler ausgedrückt, so entfallen 27% auf VK₁, 34% auf VK₂ und 39% auf VK₃. Entsprechend setzt sich der für Boden D gefundene Gesamtfehler von rund 22% absolut aus VK₁ etwa 7%, VK₂ etwa 18% und VK₃ etwa 10% zusammen. Relativ entfallen auf VK₁ 9%, auf VK₂ 72% und auf VK₃ 19% des Gesamtfehlers.

Während in Boden C die drei Einzelfehler etwa in der gleichen Größenordnung liegen, ist in Boden D die Varianz der Anzahl der E+L/Zyste dominierend.

Soll der Gesamtfehler verringert werden, so bieten sich grundsätzlich zwei Ansatzpunkte an: entweder müssen a) mehr Zysten erfaßt werden, was mehr Boden je Probe oder mehrere Extraktionen bedeutet, oder es sind b) mehr Eier und Larven aus der Suspension zu zählen. Welcher der beiden Wege erfolgreicher ist, wurde geprüft, indem beide Möglichkeiten in einem Versuch kombiniert wurden: In Tab. 6 sind die Ergebnisse 10mal wiederholter Zählungen der Eier und Larven aus einer Extraktion (\bar{x}_z) den Mittelwerten aus 10 Extraktionen mit nur je 1x gezählten Eiern und Larven (\bar{x}_E) gegenübergestellt (Einzelwerte wurden zur besseren Übersicht weggelassen). Die zugehörigen Variationskoeffizienten haben die schon bekannten Größen von ca. 20 bis 30% für die Extraktionen (= Gesamtfehler) und von ca. 10% für wiederholte Zählungen (= VK₃). Interessanter sind aber die Fehler, die sich aus den beiden Reihen der Mittelwerte errechnen lassen. Sie liegen in der Senkrechten bei den aus 10 Zählungen entstandenen Werten bei 21%, bei den Werten aus 10 Extraktionen aber nur bei 5%. Das wiederholte Zählen derselben Suspension hat also kaum eine Verbesserung gebracht.

Tab. 6. Variationskoeffizienten bei wiederholter Zählung der Eier und Larven und bei wiederholter Extraktion einer Mischprobe

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{x}_z	VK%
1											7 685	14
2											8 135	6
3											12 544	7
4											8 944	10
5											8 816	10
6											8 672	8
7											9 488	10
8											11 760	11
9											7 360	8
10											12 624	13
\bar{x}_E	9906	9613	8890	10009	8706	10015	9701	10059	9532	09597	9 603	
VK%	25	18	21	19	28	26	24	19	25	17		

Deutlich verringern läßt sich der Fehler hier nur, wenn von einer Mischprobe häufiger extrahiert wird.

Diskussion

Die aktive Ausbreitung der Larven des Rübennematoden im Feld ist gering. Es entstehen deshalb Herde mit hoher Zysten-dichte, und daneben gibt es häufig Bereiche ohne Zystenbe-satz. Biologisch gesehen liegt eine „gegenseitige Beeinflus-sung“ vor, die Zystenzahlen sind also nicht unabhängig von-einander (STELTER und RAEUBER 1962). Bei einer Misch-probe wird versucht, die Zysten so weit voneinander zu tren-nen, daß die gegenseitige Abhängigkeit aufgehoben wird. Aus einer Mischprobe entnommene Einzelproben haben dann alle die gleiche Chance, eine bestimmte Zahl von Zysten zu ent-halten. Die Zystenzahlen unterliegen hier deshalb den Gesetzmäßigkeiten der Poisson-Verteilung (ANSCOMBE 1950, FENWICK 1959, WEBER 1972). Dies gilt jedoch nur, wenn als Voraussetzungen gründliche Durchmischung des Bodens und perfekte Extraktionstechnik gegeben sind. Ist das nicht der Fall, so können in der Praxis auch größere Varianzen gefun-den werden (JONES 1955, FENWICK 1959, MORIARTY 1960).

Bei den eigenen Versuchen lag der Fehler etwas niedriger als bei Poisson-Verteilung zu erwarten. Hierfür könnten methodische Gründe verantwortlich sein, da subjektive Ent-scheidungen des Bearbeiters in das Ergebnis mit eingehen. Das Absuchen der Zysten vom Filterpapier muß von Hand durchgeführt werden und erfordert neben großer Sorgfalt und Ausdauer jedesmal die Entscheidung, ob alle Zysten gefunden sind. Wenn bekannt ist, daß Einzelproben aus einer Misch-probe vorliegen, besteht die Neigung, sich an den zuerst gefundenen Werten zu orientieren. So kann die Varianz durch den Einfluß des Bearbeiters künstlich niedrig werden.

Der Gesamtfehler hängt nicht nur von der Varianz der Zystenzahlen je Probe ab. In den untersuchten Böden waren die Varianzen der Anzahl Eier und Larven je Zyste und die der aus der Suspension gezählten Eier und Larven ebenso groß oder sogar deutlich größer. Bei dem Ziel, den Gesamtfehler so weit wie möglich zu verringern, müssen alle drei Einzelfehler in gleichem Maße berücksichtigt werden, wenn die aufgewendete Arbeit den vollen Nutzen bringen soll (SEINHORST, pers. Mitteil.). Ein Beispiel macht dies deutlich: In einer Mischprobe betragen VK₁ = 10% und VK₂ = 20%. Werden aus der Suspension 100 Eier und Larven in einem Aliquot gezählt, so beträgt VK₃ = 10%, und der Gesamtfeh-

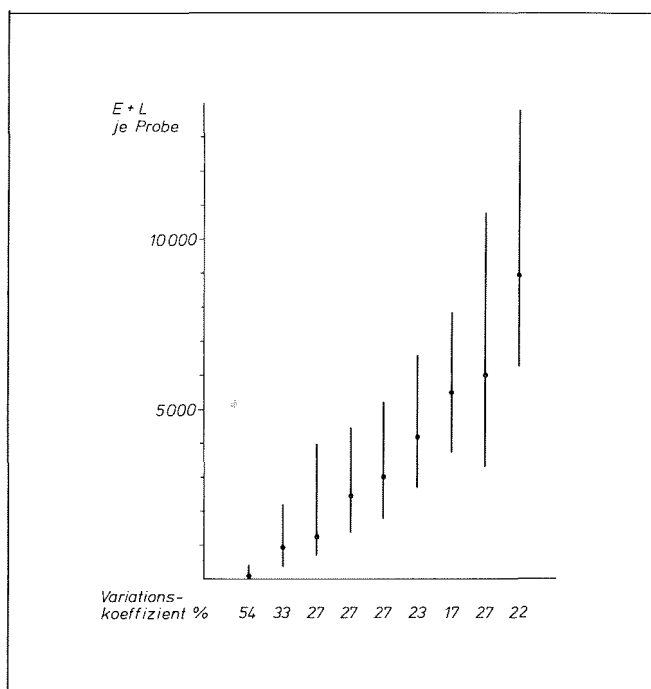


Abb. 1. Vertrauensbereiche (für $P = 5\%$ Irrtumswahrscheinlichkeit) und Variationskoeffizienten für Eier und Larven je Probe bei verschiedenen Populationsdichten.

ler errechnet sich zu $VK_t = (10^2 + 20^2 + 10^2)^{1/2} = 24,5\%$. Werden in einem Aliquot 1000 Eier und Larven gezählt, was den Aufwand wesentlich erhöht, so liegt VK_3 bei 3%. Der Gesamtfehler beträgt dann $(10^2 + 20^2 + 3^2)^{1/2} = 22,6\%$, liegt also nur unbedeutend unter dem mit viel weniger Arbeit erzielten Wert. Der hohe Aufwand beim Zählen würde sich erst dann lohnen, wenn auch VK_1 und VK_2 in der Größenordnung von 3% lägen.

Die Größe von VK_1 und VK_3 kann den Erfordernissen angepaßt werden, VK_2 aber nicht. Für die Entscheidung, welcher Aufwand bei der Extraktion sinnvoll ist, muß also zunächst der Fehler der Anzahl an Eiern und Larven pro Zyste bekannt sein. Die hier für zwei Böden gefundenen Ergebnisse lassen kein abschließendes, repräsentatives Urteil zu; sie deuten aber an, daß die Varianz der Eier und Larven pro Zyste die entscheidende Größe ist. Dabei wird der für Boden D gefundene Wert von 18,6% auch auf andere Böden übertragbar sein. Boden C mit dem niedrigen Fehler von 8,3% ist ein ungewöhnlicher Fall. Bei einem durchschnittlichen Zysteninhalt von 247 Eiern und Larven lag der Inhalt nahe dem höchsten, möglichen Wert, so daß der Fehler aus diesem Grunde nicht sehr groß sein kann. Bei vorsichtiger Schätzung dürfte VK_2 deshalb allgemein eher zwischen 15 und 20% liegen.

SEINHORST (1983) schätzt den Variationskoeffizienten der Eier und Larven pro Zyste bei Kartoffelnematoden auf 17%, hält es aber für möglich, daß er bei Rübenematoden größer ist (pers. Mitteil.). Unter dieser Voraussetzung ist es völlig ausreichend, wenn je Aliquot 50 bis 150 Eier und Larven gezählt werden, wobei mit einem Fehler zwischen 8 und 14% zu rechnen ist.

Der Fehler der Zystenanzahl je Probe kann theoretisch durch die Extraktion einer entsprechenden Bodenmenge den Erfordernissen angepaßt werden. In der Praxis ist aber nicht im

voraus bekannt, wie hoch der Besatz in den 250 g Boden ist, die von einer Flächeneinheit entnommen werden. Wenn die Schätzung für VK_2 von 15 bis 20% zutrifft, können Zystenanzahlen von mehr als 50 je Probe als ausreichend angesehen werden.

Ist der Besatz deutlich niedriger, so müßte mehr Boden untersucht werden, um den Gesamtfehler nicht über ca. 25% ansteigen zu lassen.

Bei Serienuntersuchungen von Feldproben dürfte dieser Fall recht häufig sein. Es ist deshalb zu überlegen, ob die routinemäßig untersuchte Bodenmenge von ca. 250 g nicht erhöht werden muß.

Die Vertrauensgrenzen machen die geringe Aussagekraft von nur einer Stichprobe deutlich (Abb. 1). Hat ein gründlich gemischter Boden einen Nematodenbesatz von 1000 E+L/100 g Boden, so wird ein einzelnes Extraktionsergebnis mit 95% Wahrscheinlichkeit im Bereich zwischen ca. 400 und 2200 liegen. Die tatsächlich gefundenen Werte haben diese Streubreite deutlich bestätigt. Aber selbst wenn 10 Proben aus einer großen Mischprobe entnommen und extrahiert werden, liegt der Vertrauensbereich für den dann gefundenen Mittelwert bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit noch in den Grenzen von rund 800 bis 1300. Diese Aussage gilt für Mischproben. Mit welchem Fehler bei der Erfassung von *H. schachtii* in Feldproben zu rechnen ist, wird in Teil II dieser Arbeit dargestellt.

Den Herren W. Haufe und Dr. J. W. Seinhorst danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes und für wertvolle Hinweise bei der statistischen Verarbeitung der Daten.

Literatur

- ANSCOMBE, F. J., 1950: Soil sampling for potato root eelworm cysts. A report presented to the Conference of Advisory Entomologists. *Ann. appl. Biol.* **37**, 286–295.
- COCHRAN, W. G., 1972: Stichprobenverfahren. Walter de Gruyter, New York, Berlin.
- FENWICK, D. W., 1940: Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal Helminth.* **18**, 155–172.
- FENWICK, D. W., 1942: The degree of *Heterodera* infectivity of soil and its determination. *Journ. Helminth.* **20**, 50–66.
- FENWICK, D. W., 1959: Estimation of eelworm populations: Principles and techniques. *Techn. Bull. Minist. Agric. London*, Nr. 7, 115–118.
- GOFFART, H., 1958: Methoden zur Bodenuntersuchung auf zystenbildende Nematoden. *Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* **10**, 50–53.
- JONES, F. G. W., 1955: Quantitative methods in nematology. *Ann. appl. Biol.* **42**, 372–381.
- MORIARTY, F., 1960: Laboratory errors associated with the estimation of the population density of *Heterodera* species in soil. *Ann. appl. Biol.* **48**, 665–680.
- MÜLLER, J., 1980: Ein verbessertes Extraktionsverfahren für *Heterodera schachtii*. *Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* **32**, 21–24.
- PETERS, B. G., 1948: Potato root eelworm, D-D, and soil sterilisation. I Methods and criteria. *Journ. Helminth.* **22**, 117.
- PETERS, B. G., 1952: Toxicity tests with vinegar eelworm. 1. Counting and culturing. *Journ. Helminth.* **26**, 97–110.
- SEINHORST, J. W., 1964: Methods for the extraction of *Heterodera* cysts from not previously dried soil samples. *Nematologica* **10**, 87–94.
- SEINHORST, J. W., 1983: On the distribution of cysts of *Globodera rostochiensis* in small plots and resulting sampling errors. *Nematologica*, im Druck.
- SOUTHEY, J. F., 1974: Methods for detection of potato cyst nematodes. *EPPO Bull.* **4**, 463–473.
- STELTER, H. und RAEUBER, A., 1962: Untersuchungen über Methoden der Bodenprobeentnahme zur Feststellung der Verseuchung mit dem Kartoffelnematoden *erterodera rostochiensis* Wollenweber. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzensch.* **69**, 577–586.
- WEBER, E., 1972: Grundriß der biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag Stuttgart.