



Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes

Herausgegeben von der BIOLOGISCHEN BUNDESANSTALT
FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT BRAUNSCHWEIG
unter Mitwirkung der PFLANZENSCHUTZÄMTER DER LÄNDER

VERLAG EUGEN ULMER · STUTTGART

11. Jahrgang

April 1959

Nr. 4

Inhalt: Methoden zur Bodenuntersuchung auf nichtzystenbildende Nematoden (Goffart) — Verbesserte Technik für Versuche mit Spinnmilben (Dittrich) — Über das Auftreten von *Ophiostoma piceae* (Münch) bei einer Rindenerkrankung des Weißdorns (Schneider) — Rhabarberfäule durch *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. (Nienhaus) — Ist Pflanzenschutz wirtschaftlich? — Mitteilungen — Literatur — Stellenausschreibung — Personalnachrichten — Amtliche Pflanzenschutzbestimmungen Neue Folge — Berichtigungen zu Merkblatt Nr. 10.

DK 631.427.23:631.467.2

Methoden zur Bodenuntersuchung auf nichtzystenbildende Nematoden

Von Hans Goffart,

Biologische Bundesanstalt, Institut für Hackfruchtkrankheiten und Nematodenforschung, Münster/Westf.

Zu den nichtzystenbildenden Nematoden gehören neben Stengelälchen (*Ditylenchus* spp.) und Blattälchen (*Aphelenchoides* spp.) vor allem freilebende Nematoden, die als Ekto- oder Endoparasiten an bzw. in Wurzeln leben. Hauptsächlich sind es Angehörige der Gattungen *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Rotylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Hoplolaimus* und *Criconeoides*, die an den Erscheinungen der „Bodenmüdigkeit“ weitgehend beteiligt sein können. Für den Nachweis dieser Nematoden, insbesondere für ihre quantitative Erfassung, sind die zur Gewinnung zystenbildender Nematoden geeigneten Verfahren (2) wegen der besonderen Lebensweise der freilebenden Nematoden und ihrer Empfindlichkeit gegenüber Trockenheit nicht verwendbar.

Schon beim Entnehmen der Proben sind gewisse Vorschriften zu beachten. Bodenproben sollten möglichst aus der Rhizosphäre junger Wurzeln genommen und sogleich in einen Plastikbeutel verpackt werden. Vielfach empfiehlt es sich, den Wurzelballen einer Pflanze vorsichtig aus dem Boden zu heben und ihn dann in einen Plastikbeutel fest zu verpacken, damit er während des Transports nicht auseinanderfällt. Die Proben sollten bald untersucht werden; notfalls müssen sie bis dahin an einem kühlen Orte aufbewahrt werden.

Anstelle von Boden können auch junge Wurzeln, Stengel und Blätter in kleingeschnittenem Zustand zur Untersuchung kommen, die genau wie eine Bodenprobe zu behandeln sind.

Bei allen Verfahren, die zur Gewinnung nichtzystenbildender Nematoden entwickelt wurden, kommt es auf eine möglichst saubere und vollständige Trennung der Nematoden von Bodenteilchen und pflanzlichen Gewebestücken an. Einige der gebräuchlichen Methoden sollen nachstehend behandelt werden, ohne daß auf kleine Abänderungen, die hier und da vorgenommen wurden, im einzelnen eingegangen wird.

1. Das Trichterverfahren nach Baermann

Das älteste und heute mit gewissen Abänderungen noch brauchbare Verfahren ist die Baermann-Methode. Bei dieser werden Trichter mit einem oberen

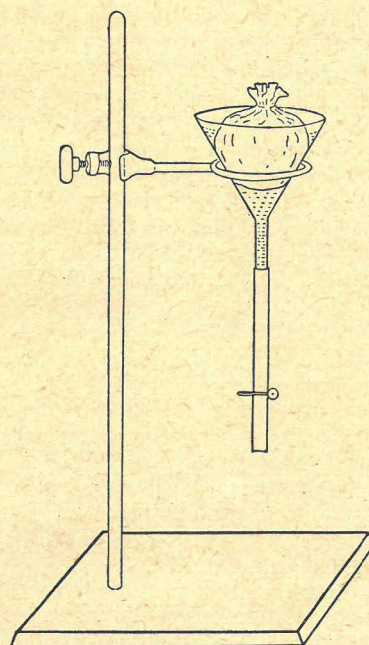


Abb. 1 Baermann-Trichter (alte Form).

Durchmesser von 10 bis 15 cm und einem Öffnungswinkel von mindestens 50° verwendet (Abb. 1). Der Trichter trägt am unteren Ende ein Stück Gummischlauch, der mit einem dicht schließenden Quetschhahn versehen ist. Die Bodenprobe (etwa 20 ccm) wird in der alten Form in einen Gazebeutel eingefüllt und der Trichter von der Seite aus langsam so weit mit Wasser gefüllt, daß die Bodenprobe unter Wasser taucht. Während der Versuchsdauer muß die Apparatur erschütterungsfrei aufgestellt sein, da sonst zuviel Erdteilchen in den Trichtermund gelangen, die die spätere Untersuchung er-

schweren. Nach 24 Stunden sind bereits viele Alchen in das Wasser abgewandert und infolge ihrer spezifischen Schwere zu Boden gesunken. Durch Öffnen des Quetschhahns werden dann etwa 10 ccm Wasser in eine mit einem Raster versehene flache Schale abgelassen und die hierin befindlichen Alchen unter einem Binokular ausgezählt. Das beschriebene Verfahren hat mehrere Nachteile. So ist es im allgemeinen nur für kleine Boden- und Pflanzenproben verwendbar. Bei größeren Mengen muß eine Serie von Trichtern angesetzt oder eines der nachfolgend beschriebenen Verfahren benutzt werden.

2. Verbesserte Verfahren zum Isolieren von Nematoden unter Zugrundelegung des Trichterverfahrens nach Baermann

Als nachteilig wird beim Baermann-Verfahren die geringe Ausbeute an Nematoden und die oft noch starke Verschmutzung durch Bodenbestandteile empfunden, die ein Auszählen erschweren. Manche Nematoden

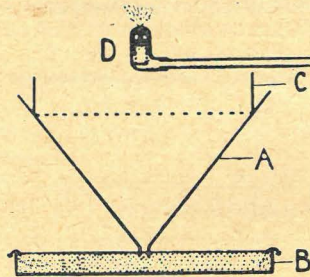


Abb. 2. Sprühgerät (nach Seinhorst).

werden auch infolge unzureichenden Sauerstoffs inaktiv und sind dann nicht mehr erfassbar. Aus diesen Gründen wurden mehrfach Verbesserungen vorgenommen, von denen zwei Verfahren beschrieben seien:

a) Sprühverfahren nach Seinhorst

Das Gerät besteht aus einem weiten Trichter, der in eine flache Schale ausmündet (Abb. 2). Das mit Alchen besetzte Material wird auf ein Sieb gebracht, das mit Filterwatte¹⁾ ausgelegt ist. Darüber befindet sich ein feiner Sprühkopf, der die Pflanzen dauernd feucht hält. Die Alchen wandern aus und gelangen durch die Filterwatte und den Trichter in die Schale.

b) Doppeltrichter-Verfahren nach Homeyer

Homeyer beschreibt die Methode folgendermaßen²⁾:

Das zu untersuchende Pflanzenmaterial wird auf ein mit Filterwatte ausgelegtes Sieb (Abb. 3) im inneren Trichter einem Sprühregen ausgesetzt, wodurch die Alchen zum Austreten veranlaßt werden. Mit dem Sprühregen, der dauernd frischen Sauerstoff an das Pflanzenmaterial bringt, werden die bereits ausgestretenen Nematoden und die Fäulnisbakterien mit auf den Trichtergrund genommen. Hier setzen sich die Nematoden allmählich ab, während die Fäulnisbakterien mit dem überschüssigen Wasser im äußeren Trichter langsam aufsteigen und abfließen.

Damit nicht auch die Nematoden mit dem aufsteigenden Wasser fortgespült werden, muß die Steiggeschwindigkeit des Wassers im äußeren Trichter geringer als die Fallgeschwindigkeit der Nematoden sein. Es werden z. B. bei einer Steiggeschwindigkeit im oberen Drittel

¹⁾ Anstatt Filterwatte können notfalls auch Melitta-Filter (Melitta-Werke Bentz & Sohn, Minden/Westf.) verwendet werden. Lieferant für Filterwatte ist die Firma Brokades, Stheemann & Pharmacia, Nijmegen, Holland.

²⁾ Für die freundliche Überlassung der noch nicht veröffentlichten Methode nebst Abbildung sage ich Herrn Dr. Homeyer meinen verbindlichsten Dank. Eine genaue Beschreibung wird später von Dr. Homeyer an anderer Stelle veröffentlicht werden.

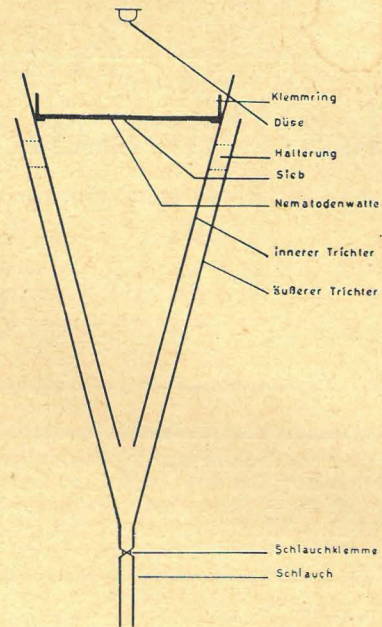


Abb. 3. Doppeltrichter (nach Homeyer).

des Trichters von 80 cm/Std. praktisch keine adulten *Ditylenchus dipsaci*, bei einer solchen von 40 cm/Std. keine *Meloidogyne*-Larven mehr fortgespült.

Sollen Nematoden aus Blatt- oder Stengelmaterial isoliert werden, so reicht im allgemeinen eine Sprühzeit von etwa 6 Stunden aus. Handelt es sich dagegen um Pflanzenwurzeln, so sind mindestens 12 Stunden erforderlich. Etwa eine halbe Stunde vor Entnahme der Alchen vom Trichtergrund darf nicht mehr gesprüht werden, damit sich die noch schwebenden Nematoden absetzen können.

3. Dekantier- und Siebverfahren nach Christie und Perry

Ursprünglich wurde von Cobb ein Verfahren entwickelt, bei dem der zu untersuchende Boden mehrfach mit Wasser vermischt und gründlich umgerührt wurde. Die Flüssigkeit wurde dann jedesmal dekantiert und durch Siebe von 1 mm, 200 μ , 100 μ und 50 μ gegossen. Jede der 4 Proben enthält dann hauptsächlich Nematoden einer bestimmten Größenklasse. Nach dem Absetzenlassen wird der Bodensatz untersucht. Auf diese Weise können Alchen aus größeren Bodenproben gewonnen werden, jedoch ist die Methode zeitraubend, und viele Alchen gehen verloren.

Christie und Perry haben die Dekantiermethode mit dem Baermann-Verfahren kombiniert. Nach Trennung der groben Bestandteile mit einem Sieb vor. 1 mm Maschenweite wird in den Baermann-Trichter eine aus festem Musselin (100 μ) hergestellte Kalotte gehängt, deren oberer Saum einen verzinkten, jedoch nicht zusammengelöteten Drahttring trägt. Anschließend wird so viel lauwarmes Wasser eingefüllt, bis die Musselinkalotte teilweise gefüllt ist, aber noch genügend Raum für die Aufnahme der Suspension bildet. Nach kurzem Umrühren der Suspension gießt man sie in die Kalotte. Die sogleich absinkenden Bodenteilchen werden durch Öffnen der am unteren Ende des Trichters befindlichen Schlauchklemme abgelassen. Dann bleibt der Trichter mehrere Stunden lang (am besten über Nacht) erschütterungsfrei stehen. In dieser Zeit setzen sich die Alchen ab und können nachher durch Öffnen des Quetschhahns gewonnen werden.

Das Kombinationsverfahren weist gegenüber der ursprünglichen Methode einige Verbesserungen auf, doch erfordert das Verfahren auch jetzt noch viel Zeit, die

Proben sind oft noch von vielen Bodenteilchen durchsetzt, und auch die Ausbeute befriedigt nicht immer. Besonders zeitraubend und wenig befriedigend sind natürlich Untersuchungen von Lehm- und Tonböden, bei denen nur mit sehr kleinen Bodenproben gearbeitet werden kann (vgl. Abschn. 5).

4. Spülkanne nach Oostenbrink

Das jetzt gebräuchliche Gerät³⁾ (Abb. 4) ist eine Verbesserung des von Oostenbrink früher (5) beschriebenen Apparats. Es besteht aus einer eng zulaufenden Kanne mit Tülle, in die von unten ein Schlauch mit Korken eingeführt wird. Dieser führt zu einem am Grunde der Kanne aufgesetzten, am Kopfende perforierten Rohr von 4 cm Breite und 8 cm Länge. Außerdem

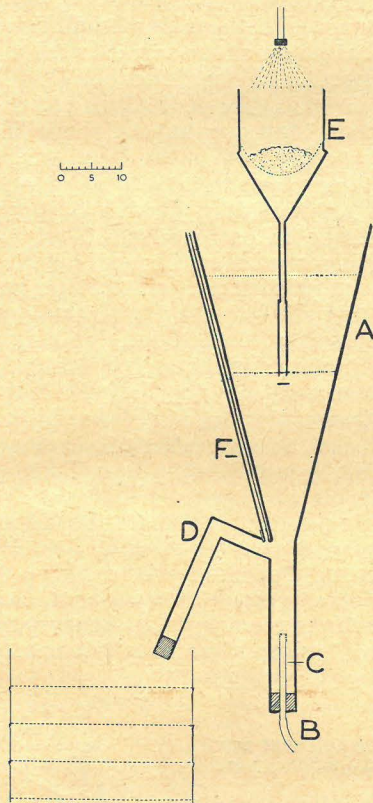


Abb. 4. Spülkanne (nach Oostenbrink; Schema). (Mit freundl. Genehmigung des Pflanzkrankheitsdienstes, Wageningen).

enthält die Kanne einen Überlauf, unter dem ein Siebsatz aufgestellt ist. Über der Kanne ist ein Sieb von 1 mm Maschenweite mit Trichter zur Aufnahme der Bodenprobe angebracht. Zur Kontrolle des Wasserspiegels wird ein Plastikrohr außerhalb des Trichters montiert. Bei Inbetriebnahme des Geräts muß das Trichterrohr eben unterhalb des Wasserspiegels ausmünden.

Die zu untersuchende Probe (100 und 400 ccm) wird in feuchtem Zustande auf das Sieb ausgebreitet und mit Hilfe einer darüber angebrachten Brause, die etwa 700 ccm Wasser in der Minute liefert, in die Kanne gespült (Abb. 5). Gleichzeitig dringt ein Gegenstrom von 400 ccm in der Minute durch das am Boden der Kanne befindliche Rohr ein, der Algen und feine Bodenteilchen hochwirbelt und sie durch den Überlauf auf den Siebsatz gelangen läßt. Das Waschen einer Probe dauert 10 bis 15 Minuten. Wenn die Bodenprobe in den Trichter gespült ist, wird die Wasserzufuhr abgestellt. Reini-

³⁾ Herrn Dr. M. Oostenbrink (Wageningen) danke ich für die freundliche Überlassung einer Beschreibung der verbesserten Spülkanne mit Abbildungen.

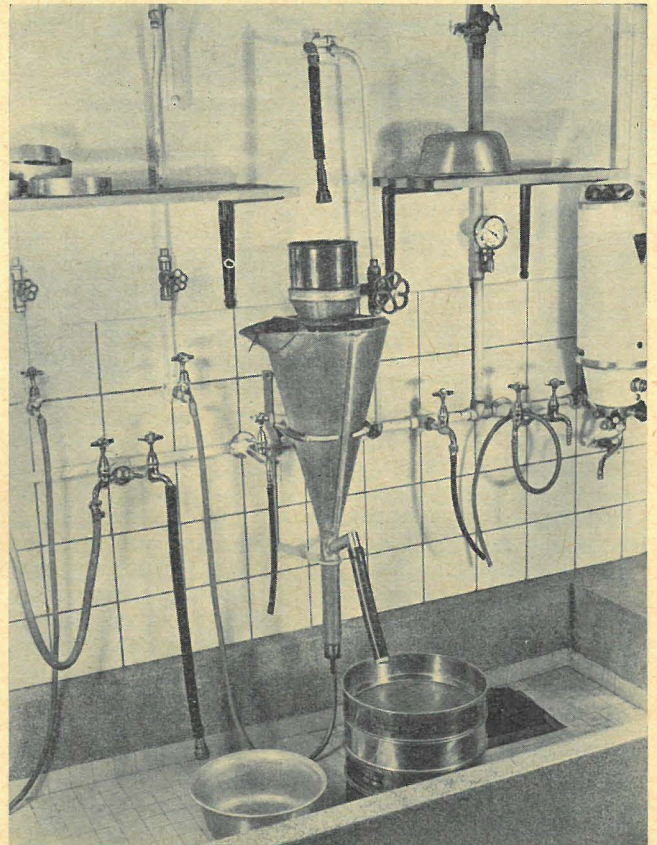


Abb. 5. Spülkanne (nach Oostenbrink; montiert). (Mit freundl. Genehmigung des Pflanzkrankheitsdienstes, Wageningen).

gen des Apparates geschieht durch Lösen des Stopfens am Grunde der Kanne.

Nach Extraktion erfolgt durch mehrfaches Sieben eine weitere Trennung der Algen von feinen Bodenteilchen. Meist werden hierfür 2—4 Siebe von 50 μ Maschenweite (30 cm Durchmesser) benötigt. Der in den Sieben verbleibende Rückstand wird dann in eine Schale gespült und von hier aus auf kleine mit Wattefiltern ausgelegte Siebe von 100 μ Maschenweite übertragen, die in einer flachen mit Wasser gefüllten Schale stehen, und ein wenig Wasser nachgegossen. Der Wasserspiegel muß dann den unteren Rand des Siebes berühren. 12—24 Stunden später haben die aktiven Algen das Filter passiert und sich in der Schale angesammelt, während die Bodenteilchen auf dem Filter zurückgeblieben sind. Für größere Bodenproben (1000 ccm und mehr) sind Kannen mit größerem Fassungsvermögen zur Aufnahme der sich absetzenden Bodenteilchen zu benutzen. In diesem Falle muß der unterhalb des Überlaufs befindliche äußere Mantel des Geräts bauchartig erweitert werden.

5. Zwei-Erlenmeyerkolben-Verfahren nach Seinhorst



Abb. 6. Trichterförmiges Ansatzstück zum Aufsetzen auf den Erlenmeyerkolben.

Das von Seinhorst entwickelte Verfahren ist eine vereinfachte Methode des unter 6. beschriebenen komplizierteren Geräts. Zur Ausstattung gehören 2 Erlenmeyerkolben (1 l und 2 l) mit angeschliffenem und abnehmbarem, 18 cm langem Ansatzstutzen (Abb. 6), — die beiden Stücke sind zweckmäßigerweise durch Glashäkchen und Drahtspiralen miteinander zu verbinden. 3 Bechergläser (500 ccm), 1 großer Trichter mit

Dr. J. A. M. Fischer, Leiter
Institut für Phytopathologie

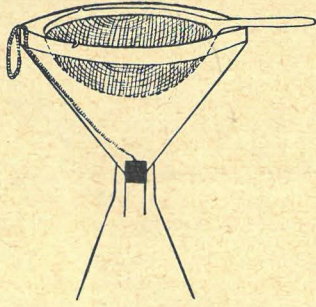


Abb. 7. Gerät zur homogenen Verteilung der Bodenprobe in Wasser (nach Seinhorst).

Korken und Bindfaden, 1 Eimer und 1 Haushaltssieb (1 mm). Von der zu untersuchenden von groben Teilen bereits getrennten Bodenprobe werden 500 ccm in den Eimer gefüllt und mit 600 bis 700 ccm Wasser gut verrührt. Dann wird das Haushaltssieb auf den Trichter gelegt, der am oberen Teil des Trichtervorstoßes durch einen Korken mit Bindfaden verschlossen ist und auf den 2 l fassenden Erlenmeyerkolben aufgesetzt (Abb. 7). Man gießt die Bodenaufschwemmung durch das Sieb, schwenkt es unter leichtem Umrühren bei eingesetztem Korken in der im Trichter stehenden Flüssigkeit gut aus, bis nur noch grobe Teilchen zurückbleiben, zieht dann den Korken am Bindfaden heraus und läßt die Flüssigkeit in den Erlenmeyerkolben abfließen.

Stark lehm- oder tonhaltige Böden sind mehrere Stunden vorher in Wasser unter Zusatz von Natriumoxalat aufzuweichen. Wenn dieser Zusatz nicht genügt, wird die Aufschwemmung durch ein 1-mm-Sieb gegossen, anschließend in einen Mixer gefüllt und bei schwacher Umdrehung höchstens 10 Sekunden lang hier belassen. Um Beschädigungen der Messer zu vermeiden, dürfen sich in der Probe keine Steinchen mehr befinden. Die dem Mixer entnommene Suspension wird dann, wie vorher beschrieben, in den Erlenmeyerkolben gefüllt und diesem das trichterförmige Ansatzstück aufgesetzt. Darauf wird das Ganze geschüttelt, umgedreht, wobei der Zeigefinger das Ausfließen der Flüssigkeit verhindert — auch ein Stopfen kann verwendet werden, der nach dem Aufsetzen des Kolbens entfernt wird — und mit dem Ansatzstück auf den zweiten vorher mit Wasser gefüllten Kolben B von 1 l Inhalt aufgesetzt (Abb. 8).

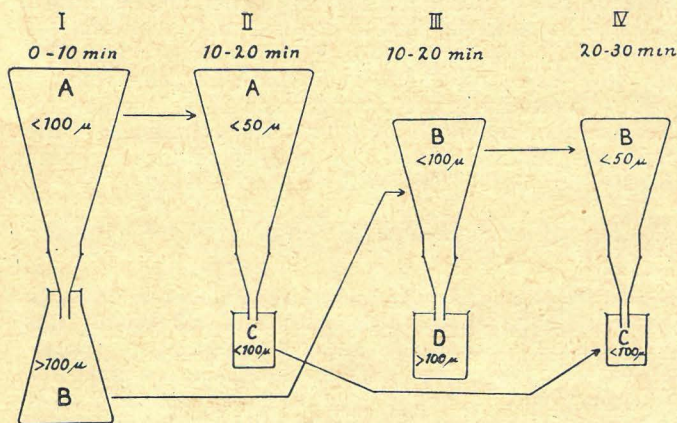


Abb. 8. Zwei-Erlenmeyerkolben-Verfahren. Arbeitsverlauf (nach Seinhorst).

Bodenteilchen $> 250 \mu$ sinken dann in 5—7 Minuten, Teilchen $> 100 \mu$ in 20 Minuten in den Kolben B. In gleichem Maße steigt Wasser nach oben. Durch die dabei entstehende Gegenströmung werden die meisten Nematoden und die Bodenteilchen $< 50 \mu$ in dem oberen Kol-

ben zurückgehalten. Nach 10 Minuten wird der Kolben A abgenommen, geschüttelt und in ein mit Wasser gefülltes Becherglas (C) gestellt. Kolben B, der jetzt die größeren Teilchen und die größeren Nematoden enthält, wird ebenfalls auf ein mit Wasser gefülltes Becherglas (D) gestellt. Nach 10 Minuten wird nochmals unterbrochen und Kolben B für 10 Minuten auf das Becherglas C gestellt. Zum Schluß, d. h. 30 Minuten nach dem Ansetzen der Probe, sind in den beiden Kolben kleine Alchen und Bodenteilchen $< 50 \mu$, im Becherglas C größere Nematoden und Bodenteilchen $< 100 \mu$. Der Inhalt der beiden Kolben wird nun drei- bis fünfmal durch ein Sieb mit 50μ Maschenweite gegossen, wobei der Siebrückstand jedesmal in eine Porzellanschale gespült wird. In gleicher Weise wird der Inhalt von Becherglas C durch ein 100μ -Sieb gegossen und der Rückstand aufgefangen. Um auch die in Becherglas D vorhandenen Alchen zu gewinnen, rührt man den Inhalt um und gießt ihn nach 1 bis 2 Minuten, wenn sich die groben Bestandteile wieder abgesetzt haben, durch ein 250μ -Sieb. Der Siebrückstand wird mit dem der Kolben und des Becherglases C vereinigt. Man gewinnt auf diese Weise eine Alchensuspension, die noch mehr oder weniger stark durch Bodenteilchen verunreinigt ist. Zur endgültigen Trennung muß sie vorsichtig durch ein 50μ -Sieb von 10 cm Durchmesser, in das 1 oder 2 Blatt Filterwatte gelegt sind, gegossen werden. Dieses Sieb besitzt 3 bis 4 mm große Gummifüßchen oder einen Bügel aus Kupferdraht (Abb. 9) und wird in eine Petrischale gestellt, die so weit mit Wasser gefüllt ist, daß der Wasserspiegel gerade das Wattefilter berührt. Die Alchen kriechen hindurch und sammeln sich in der Petrischale. Da die Alchen-Boden-Suspension auf dem Filter nicht mehr als 1 mm dick sein darf, müssen bei stark humosem Boden u. U. mehrere Siebe mit Füßchen bzw. Bügel angesetzt werden. Nach 6 bis 12 Stunden haben sich die Alchen in der Petrischale gesammelt und werden dann in einen 100 ccm fassenden Meßzylinder überführt. Wenn sich die Nematoden am Boden abgesetzt haben, wird das überflüssige Wasser vorsichtig abgesaugt. Dadurch erhält man eine sehr konzentrierte Alchensuspension. Die Untersuchung und quantitative Auswertung erfolgt dann auf die unter 6b mitgeteilte Weise.

6. Extraktionsapparat nach Seinhorst

Das heute vielfach benutzte Gerät (Abb. 10) arbeitet wie die Spülkanne nach Oostenbrink mit einem konstanten Gegenstrom von Wasser. Es besteht aus folgenden Teilen:

- 1 Erlenmeyerkolben (A) (2 l) mit Ansatzstück (B) und Korken (C),

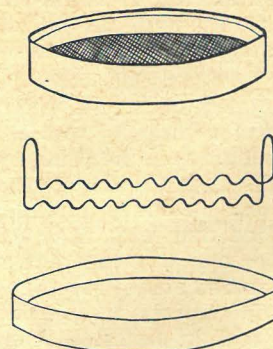


Abb. 9. Siebanordnung zur Gewinnung von Alchen. Oben Sieb, Mitte Bügel, unten Petrischale.

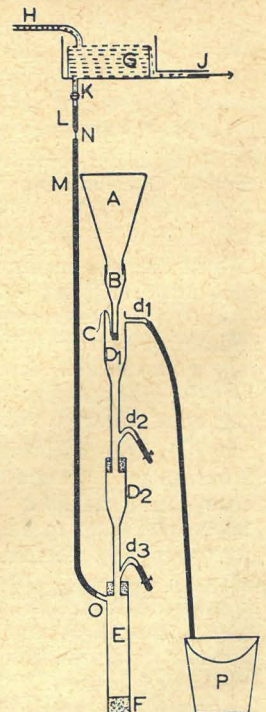


Abb. 10. Extraktionsapparat (nach Seinhorst).

2 besonders geformten Trichtern (D_1 und D_2), von denen D_1 eine Trichterlänge von 18 cm und eine Rohrlänge von 25 cm besitzt; bei D_2 betragen die entsprechenden Längenwerte 16 bzw. 17 cm. Der obere Durchmesser mißt bei beiden Trichtern 4 bis 5 cm, der untere 2 bzw. 1,5 cm. Die Trichter besitzen winklig gebogene Stützen (d_2 und d_3) am Trichtervorstoß und sind durch Gummistopfen miteinander und mit dem Behälter E verbunden. Der obere Trichter hat außerdem noch einen Überlauf (d_1).

1 Sammelbehälter für grobe Bodenteilchen (E), der am Boden durch einen Gummistopfen (F) verschlossen ist; es ist dafür zu sorgen, daß dieser durch den Wasserdruck nicht herausgedrückt wird.

1 mit Wasser gefülltes Vorratsgefäß (G) mit Zulauf (H) und Überlauf (I), das für einen konstanten Wasserdruck sorgt. Es besitzt einen Abflußstutzen mit Hahn (K).

2 Gummischläuche (L und M), die durch eine Injektionsnadel Nr. 1 (N) miteinander verbunden sind. Der untere Teil des Gummischlauchs führt zum Stutzen (O) des Sammelbehälters (E).

1 Eimer (P) zum Auffangen des aus D_1 überlaufenden Wassers.

Die Apparatur ist an einem kräftigen Stativ von 1,80 m Länge lotrecht zu befestigen.

Der Gummischlauch wird an den Abflußstutzen des unter konstantem Wasserdruck stehenden Gefäßes angeschlossen. Bei geöffnetem Hahn läuft das Wasser durch die Injektionsnadel und den unteren Teil des Gummischlauchs und gelangt in den Ansatzstutzen des Sammelbehälters. Von hier aus steigt es bis zum Überlauf am oberen Trichter und wird durch einen Gummischlauch in dem darunter stehendem Eimer aufgefangen. Der Wasserstrom ist abhängig von dem Abstand zwischen dem konstanten Wasserspiegel im Vorratsgefäß und der Öffnung der Injektionsnadel. Durch Variieren dieses Abstandes kann leicht für alle erforderlichen Wassermengen reguliert werden. Es wurde gefunden, daß ein Wasserstrom von 20 ccm in der Minute zur Trennung der für den vorliegenden Zweck in Betracht kommenden Alchen genügt.

Die Gewinnung der Alchen erfolgt, wie auch bei den vorher beschriebenen Verfahren, in zwei Phasen, der Extraktion und dem eigentlichen Siebvorgang.

a) Die Extraktion

Vor der Benutzung wird das Gerät mit Wasser gefüllt und der Wasserstrom durch Öffnen des Hahns (K) in Gang gebracht. Dann wird die von groben Teilen befreite und mit Wasser zu einer Suspension gut verrührte Bodenprobe von 500 ccm durch einen Durchschlag mit Trichter in den Erlenmeyerkolben gespült und dieser mit dem Ansatzstück umgekehrt auf den oberen Trichter aufgesetzt. Zwanzig Minuten später wird der Kolben abgenommen, da dann alle Teilchen $> 50 \mu$ den Kolben verlassen haben. Nach weiteren 10 Minuten sind die Teilchen auch aus den Trichtern abgesunken und befinden sich nunmehr in dem unteren Behälter. Durch Öffnen des Quetschhahns wird nun der Inhalt des Trichters D_1 in den unter dem Überlauf stehendem Eimer (P) entleert. Hinzu kommt ferner der im Erlenmeyerkolben verbliebene Rest der Suspension. Der Inhalt des Trichters D_2 wird in einen besonderen Eimer geleitet, kann aber namentlich bei kleineren Bodenproben der im ersten Eimer zusammengewaschenen Suspension hinzugefügt werden. Der im unteren Behälter (E) zurückbleibende Rest wird durch Öffnen des Stopfens (F) in einem anderen Gefäß aufgefangen und weggegossen.

Auf diese Weise lassen sich etwa 90% der Alchen gewinnen. Bei kleineren Bodenproben kann die Trennzeit im Apparat verkürzt werden. Eine Probe von 250 ccm benötigt bei Innehaltung der oben genannten Bedingungen etwa 10 Minuten, bevor der Erlenmeyerkolben von Bodenteilchen $> 50 \mu$ geleert ist, und weitere

5 Minuten für den Trennprozeß in den beiden Trichtern. Nach der Extraktion kann erst das Sieben beginnen.

b) Der Siebvorgang

Zunächst wird der Inhalt von Eimer P wiederholt (etwa 5—7mal) durch ein 50μ -Sieb von 30 cm Durchmesser gegossen und der Rückstand mit einem schwachen Wasserstrahl so lange durchgeschlämmt, bis das Wasser klar abläuft, und dann in eine Schale gespült. Gegebenenfalls verfährt man mit dem Eimerinhalt von Trichter D_2 ebenso, jedoch gießt man diesen durch ein 100μ -Sieb. Bei kleinen Bodenproben (bis zu 250 ccm Boden) kann der Inhalt beider Eimer auch zusammengewaschen und dann mehrfach durch 50μ -Siebe gespült werden. Der Rückstand der Siebe wird nun auf 50μ -Siebe von 10 cm Durchmesser, in die ein durch einen Innenring festgeklebtes Wattefilter gelegt und angefeuchtet ist, in einer Schichtdicke von höchstens 1 mm verteilt. Die Siebe stehen, wie unter 5. beschrieben, auf Gummifüßchen oder auf einem Kupferdrahtgestell in einer Petrischale, die bis zum Wattefilter mit Wasser angefüllt ist. Die Nematoden wandern nun im Laufe von etwa 12 Stunden — am besten wählt man für diesen Vorgang die Nachtstunden — in das Wasser. Die Alchenflüssigkeit wird dann in 100 ccm fassende Meßzylinder überführt und nach mehrstündigem Abstehenlassen der Flüssigkeit bis auf 10 ccm abgesogen. Vom Rückstand sind nach kurzem Umrühren oder nach Durchleiten von Luft 1—2 ccm Flüssigkeit zu entnehmen und die hierin befindlichen Alchen auszuzählen. Hierbei bedient man sich eines Zählapparats, z. B. „Statitest“ der Firma Ferrari⁴⁾, der es gestattet, bis zu 10 Arten auszuzählen. Durch Addition der gefundenen Werte und Multiplikation mit 10 bzw. 5 ergibt sich die Zahl der Alchen in der ursprünglichen Bodenmenge.

7. Vereinfachtes Siebverfahren

Im praktischen Pflanzenschutzdienst ergibt sich zuweilen die Notwendigkeit, Pflanzenwurzeln oder kleinste Bodenproben aus der Rhizosphäre der Pflanzen auf freilebende Nematoden zu untersuchen. Das trifft z. B. für Erdbeer- und Maiblumenwurzeln zu. In solchen Fällen kann man von besonderen Extraktionsverfahren absehen. Die zu untersuchenden frischen Wurzeln werden, ohne sie vorher zu waschen, in angefeuchtetem Zustande auf 50μ -Siebe gelegt. Diese sind, wie unter 4 beschrieben, vorzubereiten. Auch kleine Bodenmengen können nach Trennung von groben Bestandteilen in dieser Art untersucht werden. Nur ist darauf zu achten, daß die Schichtdicke 1 mm nicht übersteigt. Bei Sieben von 10 cm Durchmesser benötigt man für 25 ccm Boden 3 Siebe. Die Auswertung auf Nematoden erfolgt in der unter 6 b geschilderten Weise.

Zusammenfassung

Die wichtigsten Methoden zur Untersuchung von Boden- und Pflanzenproben auf nichtzystenbildende Nematoden werden beschrieben. Das ursprüngliche Trichterverfahren nach Baermann ist mehrfach abgeändert und erweitert worden. Einige verbesserte Methoden werden beschrieben, z. B. das Sprühverfahren nach Seinhorst, das Doppeltrichterverfahren nach Homeyer und das Dekantier- und Siebverfahren nach Christie und Perry. Gute quantitative Ergebnisse liefern die Spülkanne nach Ostenbrink, das Zweierlenmeyerkolben-Verfahren nach Seinhorst und das Extraktionsverfahren nach Seinhorst. Die Spülkanne nach Ostenbrink und das Extraktionsverfahren nach Seinhorst geben eine Ausbeute von 90%. Beschrieben wird ferner ein vereinfachtes Siebverfahren. Es eignet sich zur orientierenden Untersuchung kleiner Boden- und Pflanzenproben auf nichtzystenbildende Nematoden.

⁴⁾ Hersteller: Ferrari, Berlin-Frohnau, Sigismundkorso 19.

Summary

An account is given of methods for extraction of noncyst-forming nematodes. The original funnel method after Baermann has been modified and extended repeatedly. Some of the amended methods are described, for instance the Seinhorst's mistifier, the double funnel method after Homeyer and the combination of the flotation and sieving method after Christie and Perry. For quantitative results the flotation can method after Oostenbrink, Seinhorst's two Erlenmeyer flask sedimentation apparatus and Seinhorst's elutriator are convenient. The flotation can method after Oostenbrink and Seinhorst's elutriator give about 90% yield. A simplified sieving method can be used for examination of small quantities of roots and soil samples.

Literatur

1. Christie, J. R., and Perry, V. G.: Removing nematodes from soil. Proc. Helminthol. Soc. Washington **18**, 1951, 106—108.
2. Goffart, H.: Methoden zur Bodenuntersuchung auf zystenbildende Nematoden. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **10**, 1958, 49—53.

3. Goodey, J. B.: Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. 3rd ed. London 1957. 47 S. (Minist. Agric. Fish. Techn. Bull. 2.)
4. s'Jacob, J. J., en Stemerding, S.: Een handleiding voor nematologie. Versl. en Meded. Plantenziektenkund. Dienst **120**, 1956, 107 S.
5. Oostenbrink, M.: Een doelmatige methode voor het toetsen van aaltjesbestrijdingsmiddelen in grond met *Hoplolaimus uniformis* als proefdier. Meded. Landbouwhogeschool Opzoekingsstat. Gent. **19**, 1954, 377—408.
6. Seinhorst, J. W.: De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaaltje (*Ditylenchus dipsaci* [Kühn] Filipjev). Tijdschr. Plantenziekt. **56**, 1950, 289—348.
7. Seinhorst, J.: Een eenvoudige methode voor het afscheiden van aaltjes uit grond. Tijdschr. Plantenziekt. **61**, 1955, 188—190.
8. Seinhorst, J.: The quantitative extraction of nematodes from soil. Nematologica **1**, 1956, 249—267.

Eingegangen am 11. Dezember 1958.

DK 595.425.082.1

Verbesserte Technik für Versuche mit Spinnmilben

Von Volker Dittrich

(Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn. Direktor: Prof. Dr. H. Braun)

Will man Spinnmilben zu Versuchszwecken halten, so kommen zwei Wege in Betracht: man kann die Tiere offen an Pflanzenteilen ziehen und untersuchen, oder man beobachtet sie in Käfigen, die an den Pflanzen angebracht sind. Für exakte Untersuchungen bietet die erste Methode große Schwierigkeiten, da leicht ein Verlust an Versuchstieren durch Abfallen, Verkleben in der angrenzenden Leimbarriere und Abwandern bei der Prüfung unter dem Binokular eintritt.

Auch die Haltung in Käfigen ist durch die Lebhaftigkeit und geringe Größe der Versuchstiere erschwert. Trotzdem wird man immer wieder auf diese Versuchsmethodik zurückgreifen, da sie durch Übersichtlichkeit des Lebensraumes der Versuchstiere und Wegfall der verschiedenen Verlustmöglichkeiten bei freier Haltung genauere Ergebnisse ermöglicht.

Dafür bedarf es freilich der Beachtung bestimmter Regeln, die Fritzsche (1955) in seiner Arbeit über die „Methodik von Laboruntersuchungen an Spinnmilben (*Tetranychidae*)“ aufgestellt hat. Vereinfachend und ergänzend lassen sie sich in vier Forderungen zusammenfassen. Ein Käfig soll

1. in Herstellung und Verwendung einfach sein,
2. Versuchstieren und -pflanzen ihre natürlichen Lebensbedingungen belassen,
3. für den Experimentierenden leicht zugänglich und mit dem Binokular zu kontrollieren sein, und
4. eine Variation der Tierspezies und der Versuchsbedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit) zulassen.

Für die Brauchbarkeit eines Versuchskäfigs ist seine Dichte gegenüber isolierten, ausgewachsenen Männchen entscheidend, da diese viel kleiner und lebhafter als die Weibchen und daher außerordentlich schwer festzuhalten sind. Ist ein Käfig männchenfest, so sind alle anderen Stadien mit Sicherheit in ihm zu halten.

Bei meinen Bemühungen, einen brauchbaren Käfig zu entwickeln, gelangte ich zu folgender Konstruktion: Eine Ringscheibe aus Plexiglas, deren Dicke 1 mm und deren Breite (Außenradius—Innenradius) 3 mm beträgt, ist Stütze und formgebendes Element (s. Abb. 1). An die

Innenkante des Ringes ist mit einem wasserfreien Klebstoff (mit organischem Lösungsmittel)¹⁾ ein etwa 10 mm breiter Streifen aus Perlongaze²⁾ zylindrisch eingeklebt. Dieser Gazezylinder bildet die Seitenwände des Käfigs. An ihrem Außenrande ist die Ringscheibe mit 6 Einschnitten versehen (Laubsäge mit Metallsägeblatt), in die ein normaler Packgummi so gezogen ist, daß er ein 0,2 mm starkes Plexiplättchen gleichmäßig auf die Käfigöffnung drückt, ohne das Gesichtsfeld zu verkleinern. Auf die Unterkante des Gazezylinders legt man zum Aufkleben des Käfigs auf das Blatt der Versuchspflanze einen mittelstarken Klebstoffwulst (Klebstoff darf nicht eingedickt sein, da er sonst nicht einwandfrei haftet!) und setzt den Käfig auf die gewünschte Stelle der Blattunterseite. Festes Andrücken ist zu vermeiden; eine sichere Haftung des Klebstoffs wird erzielt, indem man den Käfig etwas vom Blatt abzieht und wiederum andrückt, bis die Unterkante des Käfigs mit einem zusammenhängenden Klebstoffilm am Blatt haftet. Nach kurzer Trockenzeit, während deren der Käfig flach auf dem Blatt der Versuchspflanze liegen soll, kann die Pflanze mit dem Käfig wieder aufgestellt werden, der nun an

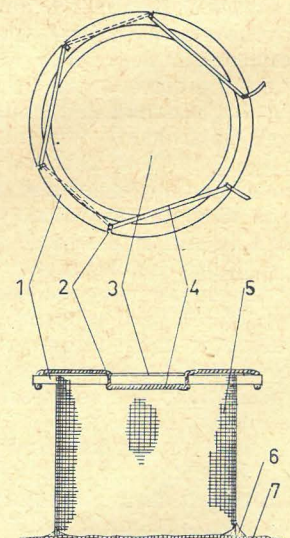


Abb. 1. Käfig für Laboratoriumsuntersuchungen (nat. Größe).

- 1 Ringscheibe aus Plexiglas.
- 2 Eingesägte Schlitz zur Befestigung des Haltegummis.
- 3 Plexideckel.
- 4 Haltegummi.
- 5 Perlongaze.
- 6 Klebstoffwulst.
- 7 Blatt der Versuchspflanze.

1) Uhu; Fa. H. und M. Fischer, Bühl (Baden).

2) 0,112 Maschenweite; Fa. Stallmann (Duisburg).