

sich absetzenden Körperchen können mit einer feinen Pipette aufgenommen werden. Ein Aufsammeln aller Zysten ist bei diesem Verfahren nicht nötig.

Von den aufgesammelten Zysten werden je 6—10 Körperchen mit einem Tropfen Wasser auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckglas oder mit einem zweiten Objektträger bedeckt und dann unter einem Mikroskop oder einer binokularen Lupe bei mindestens 30facher Vergrößerung betrachtet. Innerhalb der Gattung *Heterodera* unterscheiden wir nun zwei verschiedene Zystenformen: den runden und den zitronenförmig-ovalen Typ. Der runde Typ ist gekennzeichnet durch die Ab- rundung des Hinterendes bei gleichzeitiger kugeliger Gestalt des Rumpfes. Zu diesem Typ gehört nur das Kartoffelälchen¹⁾. Neben den normal entwickelten Zysten (Abb. 1) treten infolge ungünstiger Lebensbedingungen zuweilen notreif gewordene kleinere und etwas schlankere Gebilde auf, die aber auch dann noch eine rund-ovale Gestalt haben (Abb. 1, untere Reihe). Sie können lebensfähige Brut führen. Mißbildungen sind beim Kartoffelälchen selten und brauchen hier nicht berücksichtigt zu werden. Häufig findet man aber bei der Durchsicht von Präparaten rotbraune, rundliche Körperchen von Zystengröße (Abb. 6), die stets ohne Hals und leer sind. Ihre Schale ist härter als die der Zysten und spröde. Auf der Schale sind eine Anzahl unregelmäßig verteilter Punkte erkennbar, die wesentlich größer sind als die mehr in Wellenlinien angeordneten sehr feinen Pünktchen auf der Zystenschale. Vermutlich handelt es sich bei den Gebilden um Samenkapseln.

Dem zitronenförmig-ovalen Typ gehören alle übrigen *Heterodera*-Arten an (Abb. 2—5). Bei diesen ist das Vulva und After tragende Hinterende mehr oder weniger stark vorgewölbt. Nur die gelegentlich auftretenden Gräserälchen (*Heterodera punctata* Thorne²⁾) haben einen birnförmig entwickelten Körper ohne hintere Vorwölbung, doch sind Vulva und After hier viel deutlicher ausgeprägt als bei notreif gewordenen Kartoffelälchenzysten. Von den voll entwickelten Zysten des Kartoffelnematoden sind sie ohne weiteres zu unterscheiden. Bei den Angehörigen des zitronenförmig-ovalen Typs erfolgt die Feststellung der Artzugehörigkeit am sichersten durch den Infektionsversuch.

Zeigen die aufgefundenen Zysten die in Abb. 1 wiedergegebene Gestalt, dann überzeugt man sich durch Druck mit einer kräftigen Nadel auf das Präparat, ob die Zysten gesunden Brutinhalt haben oder leer sind. Nur Zysten mit lebensfähigem Inhalt sind zu werten. Lebensfähige Eier, Embryonen und Larven sind hell und mehr oder weniger durchsichtig. Braun oder

¹⁾ Die sehr selten beobachtete *Heterodera cacti* ist trotz des kugeligen Rumpfes dem zitronenförmig-ovalen Typ zuzurechnen, da das Hinterende vorgewölbt ist.

²⁾ Eine nähere Beschreibung dieser für Deutschland neuen Art erfolgt demnächst an anderer Stelle.

schwarz verfärbte Brut ist dagegen als verpilzt anzusprechen. Leere Zysten enthalten oft eine Anzahl leerer Eihäute. Werden nur leere Zysten in einer Probe festgestellt, kann auf eine nochmalige Untersuchung verzichtet werden, wenn andere Sammelproben einen positiven Befund ergeben haben. Bei einem negativen Ergebnis sollte jedoch nochmals eine Mischprobe gezogen werden.

An Zeitaufwand werden von einer eingearbeiteten Kraft für das Abwiegen und Ausschlämmen einer Bodenprobe 5 Minuten, für die Prüfung des Siebrückstandes auf Zysten und Untersuchung einiger von ihnen weitere 5—10 Minuten benötigt, doch kann die letztgenannte Arbeit je nach den vorliegenden Verhältnissen auch mehr Zeit erfordern.

2. Die quantitative Untersuchung kommt z. B. für die Bewertung verseuchter Böden in Frage, die Versuchszwecken dienen oder die vom Kartoffelanbau ausgeschlossen waren und nach Einschaltung nichtanfälliger Pflanzen nun wieder mit Kartoffeln bestellt werden sollen. Die Entnahme von Bodenproben erfolgt wie unter 1 angegeben, doch ist zu berücksichtigen, daß infolge der starken Schwankungen im Seuchegrad eine größere Anzahl von Einzelproben zu ziehen sind. Um die Einheitlichkeit der Erdproben zu gewährleisten, geht man stets von lufttrockenem Boden aus, der vorher durch Sieben von groben Bestandteilen befreit wurde. Für die Untersuchung wählen manche Forscher statt des Gewichtsmaßes das Raummaß und prüfen 50 oder 100 ccm Boden.

Die aufgeschlämmte Probe ist bei kräftigem Wasserstrahl und ohne Rückstand durch einen Siebsatz zu gießen und der Inhalt des unteren und — stichprobenweise — des mittleren Siebes in je eine Porzellanschale zu entleeren. Das Aussuchen der Zysten muß sorgfältig erfolgen, wobei man den Boden öfters umrührt oder ihn in möglichst dünner Lage auf mehrere Schalen verteilt. Die ausgesonderten Zysten sind dann, wie oben beschrieben, auf ihren Inhalt unter einem optischen Gerät zu untersuchen.

Für dieses Verfahren läßt sich ein Zeitmaß nicht angeben, da es sich nach der Höhe der Bodenverseuchung richtet. Auch hier sind die Siebe nach jeder Bodenprobe durch Umdrehen gründlich zu säubern.

Werden in 100 g (75 ccm) Erde mehr als 8 mit lebensfähiger Brut angefüllte Zysten gezählt, können Kartoffeln beim Vorliegen ungünstiger Faktoren (Trockenheit, empfindliche Sorte, unzureichende Ernährung), schon Depressionserscheinungen zeigen.

Grundsätzlich lassen sich die geschilderten Verfahren auch zur Gewinnung von Zysten anderer *Heterodera*-Arten verwenden. Es sei aber noch einmal darauf hingewiesen, daß in diesem Fall die Zystenform kein einwandfreies Beweismittel für die Artzugehörigkeit darstellt. Diese Frage kann nur auf dem Wege über den Infektionsversuch entschieden werden.

Über die Wirkung von E 605-Präparaten auf Bodenbakterien

Von C. Stapp

Auf Grund einer Anfrage wurden Versuche eingeleitet, die darüber Aufschluß geben sollten, ob mit der Anwendung von E 605-Präparaten als Schädlingsbekämpfungsmittel in der Landwirtschaft und im Gartenbau etwa ein nachteiliger Einfluß auf die Mikroorganismen des Bodens, insonderheit die Bodenbakterien, verbunden sei. Die Frage scheint deshalb gerechtfertigt, weil z. B. bei der Bekämpfung der Zwiebelfliege die stark giftigen Mittel in wäßriger Lösung direkt in den Boden gebracht werden.

Bei der Auswahl der Bakterien für die ersten Untersuchungen waren mit Absicht recht unterschiedliche

Arten ausgesucht worden. Neben sporen- und nichtsporenbildenden Ubiquisten wurden auch pflanzenpathogene Spezies herangezogen. Insgesamt handelte es sich um folgende Kulturen:

1. *Bacillus mycoides*
2. *Bacillus asterosporus*
3. *Azotobacter chroococcum*
4. *Azotomonas insolita*
5. *Pseudomonas fluorescens*
6. *Pseudomonas pyocyanea*
7. *Sarcina flava*
8. *Bacterium phytophthorum*

9. *Bacterium medicaginis* var. *phaseolicola*
 10. *Pseudomonas tumefaciens*.

An E 605-Präparaten kamen Folidol in 0,1%iger und E 605 forte in 0,015%iger Konzentration zur Anwendung.

Die ersten orientierenden Versuche wurden

- a) in wäßriger Lösung,
 b) in Nährlösung und
 c) auf Nähragar

angesetzt.

Zu a): In Kulturröhrchen wurden je 5 ccm Leitungswasser eingefüllt, dreimal sterilisiert und nach dem Erkalten soviel der jeweiligen E 605-Präparate steril zugesetzt, daß die oben angegebenen Konzentrationen erreicht waren. Ein Erhitzen der Präparate muß auf jeden Fall vermieden werden.

Zu b): Als Nährlösung wurde eine Vitambakt-Bouillon benutzt von pH 7—7,5, der die jeweiligen E 605-Präparate wie unter a) steril zugesetzt worden waren.

Zu c): Als Nähragar wurde das für die einzelnen Bakterienarten gebräuchliche Substrat, z. B. für *Bac. mycoides* und *Bac. asterosporus* Glukose-Bouillon-Agar, für *Bact. phytophthorum* Kartoffelagar, für *Pseud. tumefaciens*, die Fluoreszenten und *Sarcina flava* Vitambakt-Agar, für *Azotobacter chroococcum* Möhrenagar genommen. Die E 605-Präparate wurden diesen Nährböden kurz vor dem Erstarren (bei 42 bis 45° C) zugesetzt und die Röhrchen sofort schräg gelegt, um eine schnelle Abkühlung zu erzielen.

Selbstverständlich wurde für jede Serie und jede Bakterienart eine Kontrolle ohne E 605-Zusatz belassen.

Die Beimpfung der Serien a) bis c) geschah gleichmäßig mit je einer kräftigen Öse Bakterienmaterial am 16. 1. 1950; die beimpften Röhrchen wurden sämtlich in einen Thermostaten von 28° C gebracht. Serie a) blieb 24 Stunden darin, dann wurden aus jedem Röhrchen jeweils 3 Ösen voll nach vorherigem guten Umschütteln auf die entsprechenden festen Agarnährböden übertragen. Wenn eine schädigende Wirkung der E 605-Präparate auf die Mikroorganismen ausgeübt werden würde, dann müßte, so wurde gefolgert, sich diese am stärksten in der wäßrigen Aufschwemmung bemerkbar machen, weil in ihr infolge Nährstoffmangel keine oder doch nur eine unbedeutende Vermehrung der eingeeimpften Bakterienzellen stattfindet. Der längere Aufenthalt im Wasser dürfte die Organismen, soweit sie dies überhaupt überleben, sogar besonders empfindlich machen. In b) und c) könnten dagegen die vorhandenen Kolloide schon eine Abschwächung der Giftwirkung herbeiführen¹⁾.

Von den beimpften Wasserröhrchen der Kontrolle in der Serie a) waren nach 24 Stunden nur die Röhrchen Nr. 2, 7 und 9 vollständig klar, die übrigen mehr oder weniger schwach trübe, desgleichen die der Folidol- und der forte-Reihe.

Nach Abimpfung auf feste Substrate zeigte sich

- Bac. mycoides*: ungeschwächt in allen 3 Reihen;
Bac. asterosporus: in der Folidol-Reihe hinsichtlich der Gasbildung noch stärker als in der Kontrolle, in der forte-Reihe desgleichen, trotz dünneren Belages;
Azotob. chroococcum war schon in der Kontrolle ohne Entwicklung geblieben, bei Folidol-Zusatz war eine sich nach und nach bräunende Kolonie entstanden, und in der forte-Reihe war wiederum keine Entwicklung eingetreten;
Azotomonas insolita ergab in Reihe 1 und 2 eine gleichstarke Entwicklung, während in Reihe 3 nur, wenn auch zahlreiche, Einzelkolonien auftraten;
Pseud. fluorescens hatte in den beiden ersten Reihen ebenfalls ein gleichstarkes Wachstum, nur in der 3. Reihe wiederum Einzelkolonien;
Pseud. pyocyanea ließ keine Unterschiede im Wachstum in allen 3 Reihen erkennen;

Sarcina flava war allein durch die Behandlung sehr stark geschwächt. In den Kontrollröhrchen entwickelten sich nur vereinzelt bis 4 Kolonien, die Reihen 2 und 3 blieben ohne Wachstum;

Bact. phytophthorum ließ nachteilige Einflüsse der E 605-Präparate auf seine Entwicklung nicht erkennen;

Bact. medicaginis var. *phaseol.* war wiederum nur durch die Vorbehandlung zum Absterben gebracht worden;

Pseud. tumefaciens erbrachte in Reihe 1 ein gleichmäßiges Wachstum auf der Agaroberfläche, in Reihe 2 und 3 waren zahlreiche dicht gelagerte Einzelkolonien entstanden.

Unter den besonders erschwerenden Bedingungen durch die Vorbehandlung, die schon allein *Azotobacter chroococcum*, *Sarcina flava* und *Bact. medicaginis* var. *phaseol.* fast oder vollständig zum Absterben gebracht hatte, war bei den anderen Organismen nur teilweise eine recht geringe Schädigung durch die E-Präparate zu verzeichnen, wobei sich E 605 forte noch ein wenig stärker schädigend erwies als Folidol. In keinem der letzteren Fälle war es aber zu einer bedeutenderen Wuchshemmung gekommen.

In der Serie b) wiesen die Bouillon-Röhrchen mit Folidol- bzw. forte-Zusatz gegenüber denen der Kontroll-Bouillon-Röhrchen im Verlauf der Beobachtungszeit bis auf eine Ausnahme keine nennenswerten Unterschiede auf. *Azotobacter chroococcum* hatte sich in allen 3 Reihen nur schwach entwickelt, da Bouillon ein für diesen Stickstoffbinder wenig geeignetes Nährsubstrat darstellt; andererseits muß aber doch berücksichtigt werden, daß sich gerade *Azotob. chroococcum* bei früheren Versuchen²⁾ mit Natriumchlorat, diesem Unkrautbekämpfungsmittel gegenüber besonders empfindlich gezeigt hat. Auch *Bact. medicaginis* var. *phaseolicola* brachte kaum eine Trübung hervor; da es sogar auf Bouillon-Agar nur sehr dünne Beläge bildet, ist das nicht verwunderlich. Am 23. 1. 1950 waren die Röhrchen mit *Sarcina flava* in allen 3 Reihen noch gleich aussehend, die Bouillon war kaum getrübt. Am 2. 2. hatte sich in der Kontrollreihe ein gelber Oberflächenring entwickelt, und die Bouillon zeigte auch eine deutlichere Trübung, in den Reihen mit dem E 605-Zusatz war eine stärkere Entwicklung aber nicht zu verzeichnen.

Auf den für die einzelnen Bakterienarten jeweils geeigneten Nährböden der Serie c) waren in allen 3 Reihen die Mikroorganismen zur Entwicklung gekommen, und in der Wachstumsstärke waren keine auffallenden Unterschiede zwischen den Kontrollen und denen mit E 605-Zusatz im Laufe der Beobachtung festzustellen. Bemerkenswert sei nur, daß die Braunfärbung des Substrats durch *Pseud. tumefaciens*, die in der Kontrolle gut zutage trat, in den beiden E 605-Reihen ausblieb.

Wenn demnach schon auf die untersuchten, auf Agarnährböden gehaltenen Mikroorganismen keine bemerkenswerten schädigenden Einflüsse der E 605-Präparate zu erkennen waren, so ist erst recht nicht zu erwarten, daß solche Schädigungen bei derselben Konzentration im Boden auftreten; es hat sich nämlich häufig gezeigt, daß bei gleichem Wirkungsgrad im Boden größere Mengen eines Mittels notwendig sind, als in oder auf künstlichen Nährsubstraten. Dazu kommt ferner, daß nach früheren Beobachtungen²⁾ selbst bei anfänglichen Hemmungen oder noch deutlicheren Schädigungen die überlebenden Bakterien sich schließlich doch so stark vermehren, daß mengenmäßige Unterschiede im Keimgehalt nach gewisser Zeit nicht mehr feststellbar sind.

Am 23. 1. wurden dennoch Versuche mit Erde angesetzt. In große irdene Töpfe wurde rohe, gesiebte

- a) Felderde,
 β) Gartenerde und
 γ) Komposterde

eingefüllt und mit je 50 ccm einer dicken Aufschwemmung eines Bakterien-Gemisches, bestehend aus:

Bacillus mycoides,
Bacillus asterosporus,
Pseudomonas fluorescens und
Azotobacter chroococcum

getränkt und gut gemischt. Die Töpfe blieben dann 10 Tage im warmen Gewächshaus stehen und wurden feucht gehalten. Darauf wurde die Erde herausgeschüttet und in dünnen Lagen zum Abtrocknen ausgebreitet. 24 Stunden später wurden jeweils 500 g dieser Böden entweder nur mit 50 ccm Leitungswasser (als Kontrolle) oder mit 50 ccm einer 0,1%igen Folidollösung bzw. einer 0,015%igen Lösung von E 605 forte getränkt und wieder gut durchmischt in sauberen Töpfen im Gewächshaus aufgestellt, wobei die Böden stets gleichmäßig feucht gehalten und hin und wieder durchmischt wurden. Nach 3—4wöchiger Einwirkungsdauer wurde versucht, die 4 eingepflichten Bakterienarten wieder aus kleinen Proben der 3 verschiedenen Böden zu isolieren.

Für *Bac. mycoides* eignet sich Möhrenagar sehr gut, mit dem Verdünnungsplatten angelegt wurden. Die darauf entstandenen charakteristischen Kolonienformen dieses Bodenbakteriums erleichterten seine Erkennung sehr.

Bac. asterosporus ließ sich ohne Schwierigkeit in Schüttelkulturen mit Glukose-Bouillon-Agar auf Grund seiner starken Gasbildung, seiner charakteristischen Sporangienform und der Glykogenspeicherung identifizieren.

Zum Nachweis von *Pseud. fluorescens* wurden einige Osen der jeweiligen Böden in Bouillon-Röhrchen eingepflicht. Das Auftreten der Fluoreszenz in den Röhr-

chen und die mikroskopische Kontrolle gaben eine Bestätigung der Anwesenheit dieses Organismus.

Azotobacter chroococcum war sogar in den Böden so stark vertreten, daß eine vorherige Anreicherung, wie sie sonst bei derartigen Isolierungen gebräuchlich und notwendig ist, überflüssig war und er unmittelbar durch Plattenguß nachgewiesen werden konnte.

Es ergaben sich für alle vier Organismen weder hinsichtlich der einzelnen Böden, noch der Kontrollen und der Folidol- bzw. forte-behandelten Parallel-Reihen irgendwelche bemerkenswerten Unterschiede.

Zusammenfassung.

Die als Kontakt-Insektizide bekannten Phosphorsäureester-Präparate Folidol und E 605 forte wirken in 0,1%iger bzw. 0,015%iger Konzentration im Boden auf die mikrobielle Bakterienflora nicht erkennbar schädigend. Auch auf Nähragar ließen sich bei denselben Dosen nachteilige Einflüsse auf die untersuchten Bakterienarten nicht feststellen. Bei einzelnen Arten traten zwar, sofern diese unter ungünstigen Bedingungen gehalten wurden, geringe Benachteiligungen auf, es kam aber durch diese Präparate in den entsprechenden Dosierungen niemals zu vollständiger Entwicklungshemmung, und die überlebenden resistenten Bakterien verursachten meist bald durch ihre Vermehrung einen mengenmäßigen Ausgleich.

Literatur:

- 1) Stapp, C.: Die Wirkung von Alkylresorcinen auf pflanzenpathogene Bakterien. — *Angew. Botanik* **12**, 275—289, 1930.
- 2) Stapp, C. und Bucksteeg, W.: Untersuchungen über die Beeinflussbarkeit mikrobiologischer Vorgänge im Boden durch das Unkrautbekämpfungsmittel Natriumchlorat. — *Zentralb. f. Bakt. II. Abtlg.* **97**, 1—33, 1937.

MITTEILUNGEN

Nachtrag Nr. 8 zum Pflanzenschutzmittel- Verzeichnis 3. Auflage vom April 1950

Hexapräparate (B 2 b).

Gerlex-Spezial

Hersteller: E. Gerlach, Lübbecke/Westf.
Anerkennung: als geschmacksfreies Präparat gegen saugende und beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.

Anwendung:stäuben.

Borchers Hexatox-Staub

Hersteller: Gebr. Borchers, Goslar/Harz.
hat jetzt die Bezeichnung „Forst-Hexatox“.

Hexatox-Stäubemittel 99

Hersteller: Gebr. Borchers, Goslar/Harz.
Anerkennung: gegen saugende und beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.
Anwendung:stäuben.

Hexal-Stäubemittel

Hersteller: O. Hinsberg, Nackenheim/Rh.
Anerkennung: gegen saugende und beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.
Anwendung:stäuben.

Hexaflor-Staub

Hersteller: H. Obermann, Bünde/Westf.
Anerkennung: gegen beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.
Anwendung:stäuben.

Hora-Primax

Hersteller: Dr. Goeze & Co., Wolfenbüttel.

Anerkennung: gegen saugende und beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.

Anwendung:stäuben.

Hora-Primaxol

Hersteller: Dr. Goeze & Co., Wolfenbüttel.

Anerkennung: gegen saugende Insekten.

Anwendung: 0,1 und 0,2% spritzen.

Hortex-Spritzmittel (Emulsion)

Hersteller: E. Merck, Darmstadt.

Anerkennung: gegen saugende und beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.

Anwendung: 0,2% spritzen.

Purexol

Hersteller: H. Haury, München.

Anerkennung: gegen saugende und beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.

Anwendung:stäuben.

Rhenotox 99

Hersteller: Steinkohlenbergwerk Rheinpreußen, Homburg/Ndrh.

Anerkennung: als geschmacksfreies Präparat gegen beißende Insekten einschl. Kartoffelkäfer.

Anwendung:stäuben.

Obstbaumkarbolinolen, emulgiert (B 6 a 3)

„Roland“ Obstbaumkarbolinoleum em.

Hersteller: F. Waldmann & Co., Thedinghausen, Bez. Bremen.

Anerkennung: als Winterspritzmittel gegen allgemeine Obstbaumschädlinge.

Anwendung: 8% bei beginnendem Schwellen der Knospen 6%.